



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

**Análisis de Materiales de Origen Biológico en Estado
Cristalino y Amorfo: Relación Estructura-Propiedades**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

P R E S E N T A

ALEJANDRO HEREDIA BARBERO

DIRECTOR DE TESIS: DR. VLADIMIR BASIUK EVDOKIMENKO

MÉXICO, D.F.

AGOSTO, 2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradezco muy atentamente al Consejo Nacional De Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo prestado, mediante una beca, para la realización de esta tesis.

Agradezco a mi comité tutorial y sinodales formado por la Dra. Ma. Cristina Piña, Dr. Julio Granados Arriola, Dra. Dení Rodríguez Vargas, Dra. Ma. Rosa Avila Costa, Dra. Margarita Victoria García Garduño, Dr. Abel Moreno Cárcamo, Dr. Lauro Bucio Galindo y Dr. Vladimir Basiuk Evdokimenko.

Un agradecimiento muy especial a la Dra. Cristina Piña Barba por sus enseñanzas.

A la memoria de Alexander von Humboldt descubridor de América, Carlos Marx, Federico Engels, Vladimir Ilich U, León Trotsky y Ché. Ejemplos de científicos sociales.

A la memoria de todas las personas que han perdido la vida o la libertad o a alguno de sus seres queridos en la lucha por la emancipación del ser humano o en la lucha contra la rapacidad y la injusticia.

Al pueblo mexicano y al pueblo alemán que me brindaron la oportunidad de tener una beca P.A.P.I.I.T., CONACYT, D.G.E.P. y una DAAD para mis estudios de licenciatura, maestría (México) y la última parte del doctorado en República Federal Alemana (DAAD).

A mis papás y herman@s por brindarme todo su apoyo. A mi Mamá y mi hermana Lupe.

A la memoria de mi Papá, de mi abuela Teresita, mi tía Cora y mi tía Blanca.

Agradecimientos, Vielen Dank an: Vladimir Basiuk, Lauro Bucio, Dr. Eligio Orozco, Luis Arias Romero y Olga Villamar, Antonio Villarreal, Audra Patterson, Ana María D'amore W, Sonia Puricelli, Mónica Prado V, Margarita García Garduno, Julio Granados, Cristina Piña, Ana Gpe. Hernández, Luis Lozano, Eduardo Villarreal, Roberto Hernández, Edilberto Hernández, Jorge Campa, Irma y Susi Orozco, Ivonne Rosales, Enrique Hernández, Manuel Aguilar, Miguel Bustos, María Luisa Araujo, Maestra Ana María Rocha, Armando Camacho, Fernando Barbosa, Franka y Fam. Smolarek, Tilman E. Schäffer, Chin-Chú Bui, Stephanie Barthel, Rudi Hartmann, Boguslaw Rajchel, Ivonne Delgadillo, Han der Straate, Engel G. Vrieling, Hiram Fernando Ramírez Cahero, Flavio Contreras, Alejandro Arzate y Andrés Rodríguez.

Agradecimientos especiales para Volodya Basiuk y Toño Villarreal que me acompañaron en todo momento en mi estancia en la RFA.

A mis profesores de la Facultad de Ciencias de la UNAM por darme la formación académica que tengo.

A mis excelentes tutores y sinodales.

A Lauro y Volodya, por todo.

La doctrina de Marx suscita en todo el mundo civilizado la mayor hostilidad y el odio de toda la ciencia burguesa (tanto la oficial como la liberal), que ve en el marxismo algo así como una "secta perniciosa". Y no puede esperarse otra actitud, pues en una sociedad que tiene como base la lucha de clases no puede existir una ciencia social "imparcial". De uno u otro modo, *toda* la ciencia oficial y liberal *defiende* la esclavitud asalariada, mientras que el marxismo ha declarado una guerra implacable a esa esclavitud. Esperar que la ciencia sea imparcial en una sociedad de esclavitud asalariada, sería la misma absurda ingenuidad que esperar imparcialidad por parte de los fabricantes en lo que se refiere al problema de si deben aumentarse los salarios de los obreros disminuyendo los beneficios del capital.

V. I. Lenin
TRES FUENTES Y TRES PARTES
INTEGRANTES DEL MARXISMO (1913)

Esta acumulación originaria desempeña en la economía política aproximadamente el mismo papel que el pecado original en la teología. Adán mordió la manzana, y con ello el pecado se posesionó del género humano. Se nos explica su origen contándolo como una anécdota del pasado. En tiempos muy remotos había, por un lado, una elite diligente, y por el otro una pandilla de vagos y holgazanes. Ocurrió así que los primeros acumularon riqueza y los últimos terminaron por no tener nada que vender excepto su pellejo. Y de este pecado original arranca la pobreza de la gran masa que aun hoy, pese a todo su trabajo, no tiene nada que vender salvo sus propias personas y la riqueza de unos pocos, que crece continuamente aunque sus poseedores hayan dejado de trabajar hace mucho tiempo. El señor Thiers, por ejemplo, en defensa de la propiedad, predica esas insulsas puerilidades a los otrora tan ingeniosos franceses, haciéndolo además con la seriedad y la solemnidad del estadista. Pero no bien entra en juego la cuestión de la propiedad, se convierte en deber sagrado sostener que el punto de vista de la cartilla infantil es el único válido para todos los niveles de edad y grados de desarrollo. En la historia real el gran papel lo desempeñan, como es sabido, la conquista, el sojuzgamiento, el homicidio motivado por el robo: en una palabra, la violencia. En la economía política, tan apacible, desde tiempos inmemoriales ha imperado el idilio. El derecho y el "trabajo" fueron desde épocas pretéritas los únicos medios de enriquecimiento, siempre a excepción, naturalmente, de "este año". En realidad, los métodos de la acumulación originaria son cualquier cosa menos idílicos.

Karl Marx
El capital, CAPITULO XXIV.
LA LLAMADA ACUMULACION ORIGINARIA

—Lob des Kommunismus—

Er ist vernünftig, jeder versteht ihn. Er ist leicht.
Du bist doch kein Ausbeuter, du kannst ihn begreifen.
Er ist gut für dich, erkundige dich nach ihm.
Die Dummköpfe nennen ihn dumm, und die Schmutzigen nennen ihn Schmutzig.
Er ist gegen den Schmutz und gegen die Dummheit.
Die Ausbeuter nennen ihn ein Verbrechen,
Aber wir wissen:
Er ist das Ende der Verbrechen.
Er ist kein Tollheit, sondern
Er ist das Ende der Tollheit.
Er ist nicht das Rätsel,
sondern die Lösung.
Er ist das Einfache,
Das schwer zu machen ist.
B.Brecht

Resumen

1. Introducción.

La estructura cristalina.

Historia y principios básicos
Crecimiento de cristales en biología

La estructura amorfa.

Amorfos no poliméricos (Vidrios)
Amorfos poliméricos
Biopolímeros

Las propiedades, reflejo de la composición y de la microestructura.

Mecánica
Fisicoquímica
Biología

Las estructuras híbridas de origen biológico.

a) Hueso y diente

Celda Unidad y Microcristal del Carbonato de Hidroxiapatita
Estructura Apatítica y Relación con Materiales Amorfos
Orgánico? Inorgánicos.
Colágena Tipo I.

b) Cascarones de huevo de aves

La celda unidad de la Calcita (CaCO_3).

c) Exoesqueleto de Camarón.

d) Biosilificación (Diatomeas).

Posibles macromoléculas responsables de la biosilificación.
Posibles interacciones Si? Orgánico.

e) Cristales Líquidos en la membrana de axones mielinizados.

f) Teoría del campo ligante y del campo cristalino explicar las propiedades de los biominaerales

los

2. OBJETIVOS

3. Materiales y Métodos

Difracción de rayos X (DRX)
Microscopía Electrónica de Transmisión
Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)
Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)
Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)
Espectroscopía Infrarroja (FT-IR)
Modelos Fisicoquímicos con Hyperchem.

4. Resultados

Hueso y diente

Difracción de rayos X (DRX)
Microscopía Electrónica de Transmisión
Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)
Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)
Modelos Fisicoquímicos con Hyperchem.





Cascarón de huevo de avestruz.

Difracción de rayos X (DRX)

Microscopía Electrónica de Transmisión

Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)



Exoesqueleto de Camarón.

Difracción de rayos X (DRX)

Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Modelos Físicoquímicos con Hyperchem.

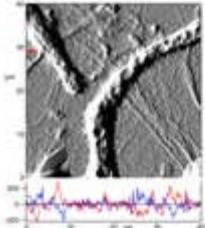


Biosilificación (Diatomeas).

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

FT-IR

Modelos Físicoquímicos con Hyperchem.



Estructura-Propiedades en Cristales Líquidos en Células de Schwann.

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Mapas de Fuerza

5. Discusión

6. Conclusión

7. Referencias

Apéndices y artículos

Apéndice 1 Cálculo de K_c y K_{sp} .

Apéndice 2. Redes y Sistemas cristalinos

Apéndice 3. Técnicas usadas

Difracción de rayos X (DRX)

El fenómeno de difracción y la ley de Bragg.

Método Rietveld.

Análisis de materiales amorfos: la ecuación de Debye

Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

El efecto túnel

Piezoelectricidad

Mapas de Fuerza.

Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)

Capacidad Calorífica.

La Temperatura de Transición Vítreo (Glass transition o T_g)

Cristalización (Temperature of crystallization T_c)

Fusión (temperature of melting, T_m)

Espectroscopía Infrarroja (FT-IR)

Modelos Físicoquímicos con Hyperchem (MF)

Teoría MM+, PM3 y Hartree-Fock o “Método de Campo Autoconsistente”

Apéndice 4. Frecuencias de FT-IR para biopolímeros aminados y algunos inorgánicos derivados del silicio.

Apéndice 5. Radicales, nomenclatura y bandas de algunos derivados del Silicio.

Resumen

La biofísica estructural establece las relaciones entre sólidos de distinta naturaleza, como los materiales amorfos y cristalinos en los tejidos, células y organelos celulares con ciertas funciones biológicas. Entender estas relaciones entre sólidos nos llevaría a poder diseñar más y mejores nanoestructuras para casi cualquier disciplina científica; desde la nanotecnología, con semiconductores híbridos orgánico-inorgánico, nanotubos, biomateriales, biomateriales liberadores de fármacos, hasta mejores materiales industriales con propiedades anisotrópicas de alta calidad, sintetizados a bajas temperaturas y presiones. Los materiales obtenidos serían materiales multifuncionales con propiedades prediseñadas por el modelo biológico que, como en el caso de la elasticidad de células y estructuras subcelulares estaría relacionada al grado de cristalización, siendo este proceso de cristalización, u ordenamiento, un regulador de estas propiedades. Los mecanismos que cambian estas propiedades y las relaciones que rigen el depósito de cristales sobre un biopolímero son todavía desconocidos y de ahí que sea importante su estudio. Se acepta ahora, que la relación amorfo—cristal es común en sistemas biológicos y que es formadora de tejidos. En estos tejidos se ha promovido también estudiar las interacciones entre los sólidos cristalinos y los amorfos en el contexto de los cambios de las propiedades (estructurales, mecánicas, fisicoquímicas, etc.) a través de la biocristalización o biomineralización. Hasta ahora, no se conoce cómo la maquinaria celular—molecular genera cristales ni cómo las propiedades en estas estructuras son modificadas mientras este proceso se desarrolla. Este trabajo se ha enfocado en obtener información estructural, y de propiedades, de ciertos tejidos que tienen interacción con cristales, así como otros que son considerados como cristales líquidos (membranas de células de Schwann) y, por último en términos de orden de estructuras amorfas. **En este trabajo se estudian mediante distintas microscopías, análisis térmicos y espectroscópicos y de modelado molecular las fases cristalinas y amorfas procedentes de tejido dental y óseo, de cascarones de huevo de avestruz y exoesqueletos del camarón mexicano, así como da un acercamiento a la biosilicificación (diatomeas y esponjas). También se incluye el estudio de membranas de células de Schwann de neuronas de roedor, para caracterizar sus propiedades mecánicas y relacionarlas con su orden molecular a gran escala.** Este estudio de las propiedades mecánicas de neuronas sometidas a la cristalización de fosfatos se lleva a cabo mediante EFA (Espectroscopía de Fuerza Atómica), siendo este estudio el primer reporte de este tipo. Los resultados experimentales y teóricos obtenidos indican que para que se dé un acoplamiento cristal-biopolímero debe existir una relación geométrica entre ambas fases y que en ocasiones estas interacciones híbridas pueden generar modificaciones en la estructura electrónica de los biopolímeros; de forma más específica esto ocurre cuando el biopolímero es un péptido, debido al carácter resonante del enlace peptídico. En el caso de la nucleación en biominerales estudiada mediante modelado molecular, resultan de central importancia los grupos funcionales aminados como “captoreos” de grupos funcionales en la fase mineral. Por otro lado, en las estructuras llamadas cristales líquidos biológicos, existen dominios de propiedades mecánicas, que podrían reflejarse en dominios de actividad biológica. Con estas observaciones llegamos a la conclusión general de que para que se genere una propiedad específica en la estructura biológica, debe existir una relación específica (geométrica-estequiométrica) entre las partes integrantes. Se incluye también un protocolo para intentar modificar las cargas en las puntas de los MFA que en un futuro podrán ser ocupadas para localización, a nivel nanométrico, de las regiones con cierta afinidad a estos grupos funcionales en las puntas del AFM.

Palabras Clave:

Biomineralización, Biopolímeros, Pruebas Mecánicas, Difracción de Rayos X (DRX) por Policristales y Amorfos, Método de Rietveld, Espectroscopía Infrarroja, Composite, Biomaterial, Microscopía Electrónica de Barrido, de Transmisión y de Fuerza Atómica, Análisis Térmico Diferencial y Gravimétrico.

SUMMARY

The structural biophysics establishes the relations among solids of different structural nature, as the crystalline and amorphous materials in the tissues, cells and organel. Understanding these interactions would carry us to be able to design more and better nano-structures for almost any scientific discipline. For example the nanotechnology regarding organic-inorganic hybrid semiconductors, nano-tubes, biomaterials, drug delivery biomaterials, to other better industrial materials with anisotropic properties. The materials obtained would be high-perform materials with pre-designed properties that would be related to the degree of crystallization. Being those degrees of crystallization the regulators of these properties.

The mechanisms that change these properties certainly are not well known and the relations that govern the deposit of crystals on a biopolymer either. It is accepted now, that the amorphous-crystal relationship is common in biological systems and that it forms many tissues. In these tissues has been promoted also to study the interactions between the crystalline solids and the amorphous to know changes their properties (structural, mechanical, physiochemical, etc.) through the biomineralization processes. Up to now, it is not known how the molecular machinery generates crystals and neither how the properties in these structures are modified while this process develops. **This work has been focused in obtaining structural information, and of the properties of certain biological tissues that interact with crystals, as well as other that they are considered as liquid crystals (membranes of Schwann cells) and its amorphous structures. In this work the amorphous and crystalline phases in the ostrich egg shells, teeth and bones, calcified shrimp carapaces diatoms algae and membranes of cells of Schwann and neurons of rodent are studied to characterize the mechanical properties, as well as the morphological thermal changes by means of infrared spectroscopy (FTIR), Differential Scanning Calorimetry (DSC) Atomic Force Microscopy and Molecular Modeling.** The obtained experimental and molecular modeling results indicate that in the interface crystal-biopolymer should exist a geometric relationship and that from time to time it is possible that those hybrid interactions could generate modifications in the electronic structure of the biopolymer; in more specific form probably when the biopolymer is a peptide. In the peptides the nitrogen-derived radicals (as the peptide bond or some N-related radicals in lateral chains) could play an important role in the hybrid interaction. In the polysaccharides the nitrogen-derived radicals could play an important role in the hybrid interaction as well. On the other hand, in the structures called biological liquid crystals (Schwann cells) the domains are evident. These domains are structures with different mechanical properties as the bulk that would be able to be reflected in some control of the biological activity. **With these observations we come to the general conclusion that a specific property in the structure is generated by means a specific hybrid relationship (geometric-stoichiometry).**

Biomineralización, Biopolímeros, Pruebas Mecánicas, Difracción de Rayos X (DRX) por Policristales y Amorfos, Método de Rietveld, Espectroscopía Infrarroja, Composite, Biomaterial, Microscopía Electrónica de Barrido, de Transmisión y de Fuerza Atómica, Análisis Térmico Diferencial y Gravimétrico.

¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.

Los materiales de origen biológico poseen una gran gama de propiedades que se deben a su geometría interna y a sus componentes químicos. Esto es producto de millones de años de ensayos en un empirismo natural, es decir, un experimentalismo permanente (Mann, S. 2001). Desgraciadamente para determinar la geometría de las estructuras y sus componentes químicos mediante algunas técnicas se debe tener una estructura casi completamente ordenada, como el caso de un cristal (Sherwood, D.1976) o en la mayoría de las veces homogénea, mientras que las estructuras biológicas no respetan estos dos últimos principios que los materiales artificiales tienen (Fig.1).

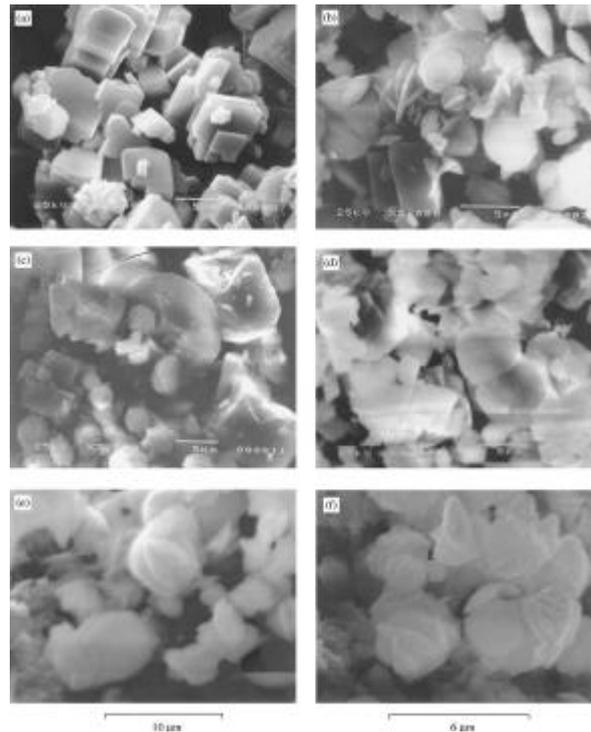


Fig. 1. Cristales de CaCO_3 crecidos en presencia de distintos aminoácidos y sobre un templete de calcita. A) Templete de Calcita B) Vaterita +Lisina, C) Vaterita + glicina, D) Vaterita + alanina, E) Sobre un sustrato de poliglicina y F) Sobre un sustrato de polimetionina (Tomado de Manoli, F. *et al* 2002).

En las estructuras biológicas, la composición química varía de un modo exuberante, donde esto a su vez se traduce en una mayor complejidad estructural. Esta complejidad estructural está representada por la interacción de dos fases principales: una biopolimérica y una cristalina. La fase biopolimérica es una macromolécula amorfa de alto peso molecular y la fase cristalina generalmente son cristalitos inorgánicos ordenados sobre la fase macromolecular (ver figura 2 y tabla 1) y un tercer grado de orden se genera, como algunos autores lo mencionan, al interactuar todo un complejo molecular que genera orden a largo alcance en regiones periódicas llamadas dominios. A este último grado de complejidad estructural se le ha comparado con la estructura de los cristales líquidos y se ha descrito de ella muy poco, aunque se ha observado en las membranas de las células de Schwann y otros tipos celulares del sistema nervioso (Arroyo, EJ and Scherer, SS 2000).

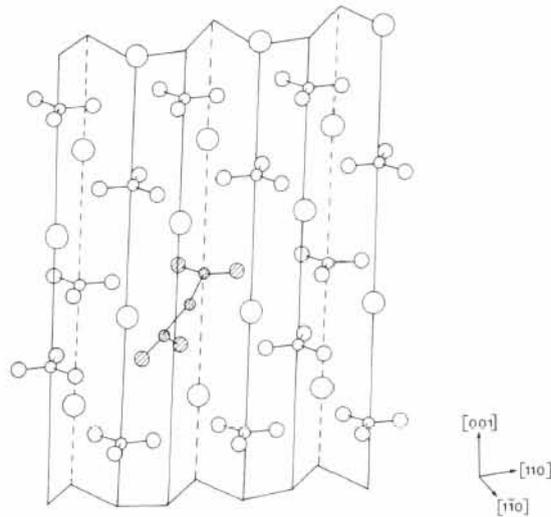


Figura 2. Modelo de interacción de cristal de calcita (plano [110]) con una superficie de malonato (Tomado de Yang, L. *et al.* 2003).

Tabla 1. Diversidad de los minerales y biopolímeros entre distintos Phyla (Modificación de la tabla de Lowenstam HA 1981).

Biopolímero	Platyhelminthes	Ectoprocta	Brachiopoda	Annelida	Mollusca	Arthropoda	Spongia	Echinodermata	Chordata	Bryophyta	Basidiomycota
Proteínas				?	+	?		+	+		
Polisacárido	?			?	+	+		?		+	+
Tipo de Material Inorgánico asociado											
Calcita	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Aragonita		+		+	+	+	+		+		
Vaterita					+	+			+		
Calcita monohidratada					+				+		
Carbonato hidratado amorfo	+				+	+			+		
Dahlita									+		
Francolita			+		+				+		
Enslita					+						
Yeso											
Magnetita					+	+			+		
Goethita					+						
Finita					+						
Ferrihidrita											+

En los sistemas biológicos conviven permanentemente las sustancias amorfas y las cristalinas. La forma en que se relacionan ambas fases y las propiedades físicas y químicas que le confieren al tejido no están actualmente determinadas y se considera que el biopolímero es el responsable de la nucleación y el crecimiento anisotrópico de la fase cristalina.

Es un consenso, más o menos general, la descripción que establece que es en los biopolímeros donde se inicia la nucleación, aunque la biomineralización es un proceso multifactorial que hasta la fecha no ha podido ser descrito completamente (Mann, 2001), pero se tienen algunos modelos de interacción ion-biopolímero basados en la interacción de iones inorgánicos con algunos grupos funcionales ubicados en los monómeros, en este caso los aminoácidos o los azúcares.

Existen muchos ejemplos de biomineralización, como son los huevos, las conchas, los dientes, las estructuras internas de las plantas, los exoesqueletos de hongos y de artrópodos y los más conocidos, los huesos.

La estructura cristalina.

La estructura cristalina se caracteriza por la repetición monótona de la celda unidad. Ésta repetición monótona se extiende en las tres dimensiones del espacio, constituyendo un sistema periódico bien definido y de traslaciones constantes según direcciones específicas. La cristalografía es el estudio de las estructuras internas de los cristales.

En 1912 se encontró que la forma y el tamaño de los patrones atómicos (celda unitaria) de repetición en un cristal podían ser determinados pasando un haz de rayos—X a través de la muestra. Este método conocido como difracción de rayos—X aparece como una nueva forma de “ver” átomos. Un ejemplo de cristal es la calcita (ver Figura 3).

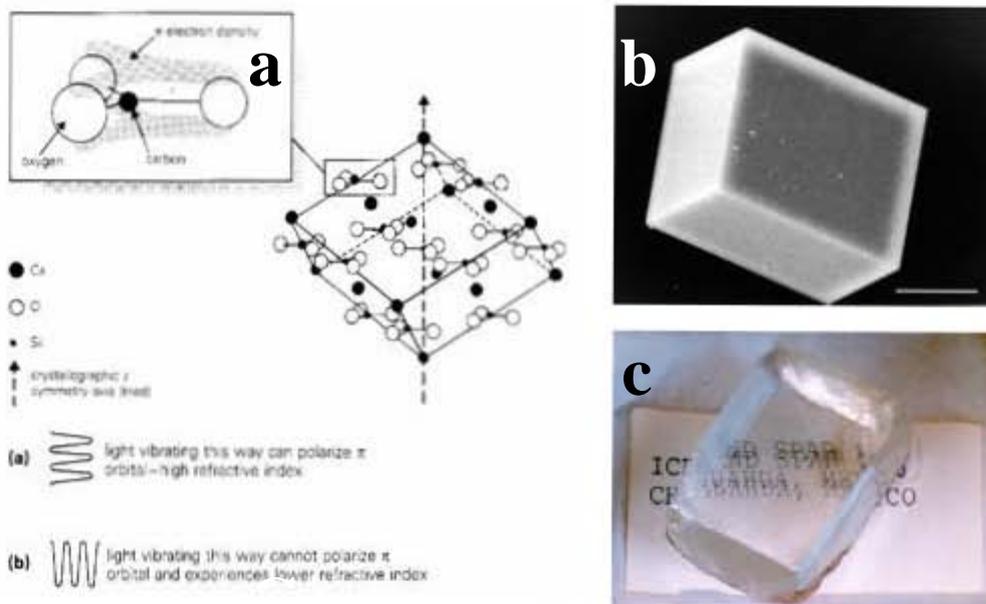


Figura 3. A) Esquema del cristal de calcita con posiciones atómicas en la celda unidad. B) Micrografía de barrido de Monocristal de calcita (barra = 20 μm). C) Monocristal de calcita y el efecto de birrefringencia típico del espato de islandia (obtenidos de google.de/bilde).

Un material altamente cristalino como el hielo presenta un patrón de difracción de picos bien definidos como el mostrado en la figura 4a, si la sustancia en estudio pierde cristalinidad, o es amorfa, como el agua líquida, se pierde la definición de los picos y estos se ensanchan (figura 4b).

Los estudios por difracción de rayos—X se hacían empleando monocristales, en general estos eran de tamaños relativamente grandes (\approx cm como para manipularlo con las manos) como el típico cuarzo comercial.

Actualmente estos análisis se hacen también en polvos con una gran cantidad de cristales y de tipos cristalinos. A este estudio se le denomina difracción de rayos de polvos y es muy utilizado en ciencia de materiales. Este tipo de estudios puede complementarse con análisis computacional (“Método de Rietveld”)

de los espectros de rayos-X. Aunque los biominales son sólidos policristalinos los estudios de rayos-X de polvos en estos son muy escasos.

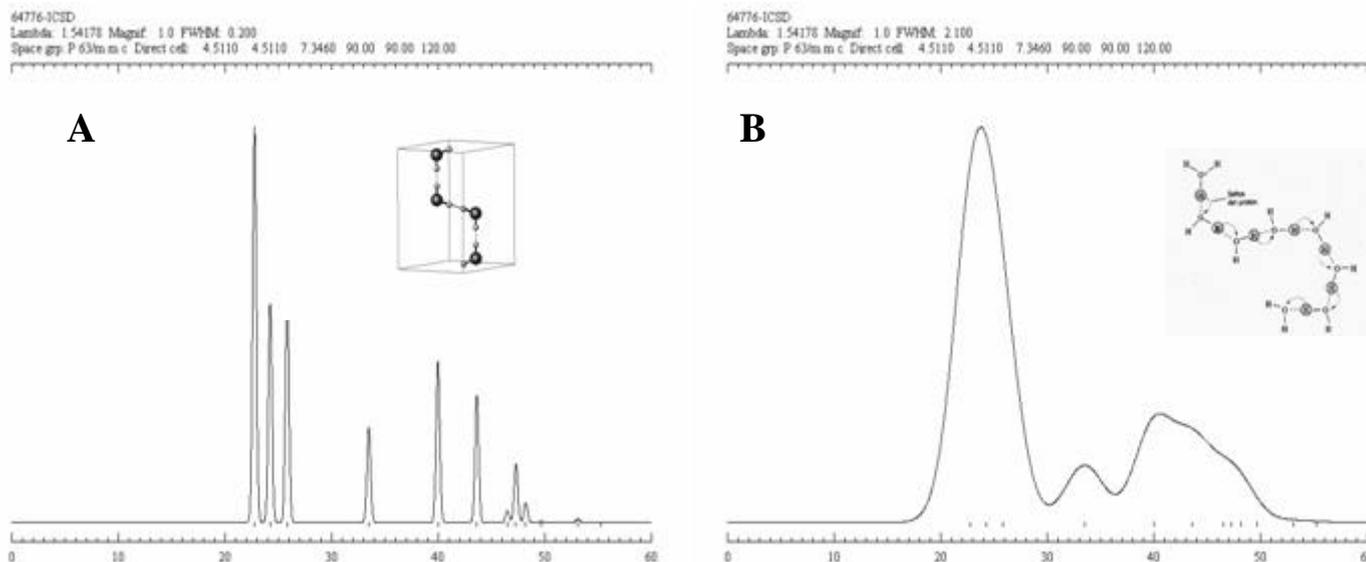


Figura 4. Difractogramas de dos tipos estructurales de agua. A) cristal de hielo que es cristalino y posee simetría hexagonal. B) Agua líquida.

Historia y principios básicos.

La estructura de los sólidos cristalinos ha sido estudiada sistemáticamente desde la época greco-latina debido a que muchos objetos comúnmente usados están compuestos por estos tipos de estructuras. Se conoce que en esta época ya se proponía la existencia de porciones indivisibles de la materia que ahora sabemos que existen, que son los átomos.

En la ciencia moderna el trabajo de M. Lomonósov (1711-1765) sobre los sólidos, de Antoine Lavoisier (1743-1794), Wilhelm Konrad Röntgen (1845-1923), Max von Laue (1879-1960) y los británicos William Henry Bragg (1862-1942) y su hijo William Lawrence Bragg (1890-1971) sobre el uso de los rayos-X y la teoría de la difracción son de gran importancia. Con más precisión la teoría de la difracción es estructurada por von Laue y posteriormente por los Bragg.

La cristalografía es el estudio de las estructuras de los cristales. El tipo de enlace químico en estas estructuras es normalmente el enlace iónico y metálico aunque en algunas ocasiones covalente, es decir, un cristal es una estructura sólida con orden atómico; este orden se reproduce en la estructura macroscópica.

Crecimiento de cristales en biología.

La termodinámica estudia la transferencia de energía (en particular calor) y sus transformaciones en los sistemas. Nuestro sistema de estudio, en todo momento, es la estructura biomineralizada; las macromoléculas y las fases cristalinas.

Los principios que determinan el crecimiento controlado de una fase cristalina sobre un biopolímero no se saben. Muchas de las aproximaciones a este tema se hacen desde el punto de vista de la fisicoquímica, pues las leyes que rigen el crecimiento de cristales abióticos y biológicos son las mismas. En el caso de los cristales biológicos las condiciones se generan localmente a partir del control del pH mediante radicales

químicos con distribuciones geométricas preestablecidas que saturan la solución cerca del biopolímero. Este control local de la nucleación y crecimiento de cristales está relacionado a algunos parámetros termodinámicos como la solubilidad y la energía libre.

La solubilidad de una sal inorgánica es el número de moles del sólido puro que se disolverán en un litro de solvente a una temperatura determinada. La disolución ocurre cuando la energía libre necesaria para romper los enlaces de la red, ΔG_r es compensada (o contrarestanda) por la energía libre en la formación de las especies en el solvente (iones hidratados = ΔG_H , y otros complejos ΔG_c). La energía libre de la solución está dada entonces por:

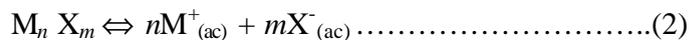
$$\Delta G_s = \Delta G_r - (\Delta G_H + \Delta G_c) \dots\dots\dots(1)$$

De forma general un compuesto iónico será altamente soluble cuando los radios iónicos del sólido sean en cierto grado distintos (que tengan por ejemplo coordinaciones y radios iónicos diferentes). De forma contraria, serán insolubles cuando sean semejantes en simetría y radio iónico. Esto es debido al empaquetamiento compacto que se genera al tener estructuras similares.

Producto de la solubilidad (ver nota “Cálculo de K_c y K_{sp} ”).

La energía necesaria para disolver una fase sólida está relacionada con el desplazamiento de las constantes de equilibrio (producto de la solubilidad K_{ps}) de este sólido.

Para el caso de un sólido con iones monovalentes tendremos:



y

$$K_{sp} = \{M^+\}^n \times \{X^-\}^m \dots\dots\dots(3)$$

Donde $\{M^+\}^n$ y $\{X^-\}^m$ son las concentraciones efectivas (actividades) de los iones en una solución en equilibrio con la fase sólida. El producto de la solubilidad, por lo tanto, es una medida del producto de la actividad en el equilibrio y representa la base para determinar las condiciones termodinámicas para la precipitación, es decir, la disminución de la energía en una región del sistema.

Si el producto de la solubilidad es menor al producto de la actividad (PA) de una solución, entonces hay precipitación hasta que K_{sp} sea igual a PA y se vuelva al equilibrio.

$$\{M^+\} = n \times s, \{X^-\} = m \times s \dots\dots\dots(4)$$

Además hay valores de K_{sp} (tabla 2) para determinar la energía libre de la solución ΔG_s :

$$\Delta G_s = -RT \ln K_{sp}, \dots\dots\dots(5)$$

donde R es la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta (Tomado de Mann, S.2001).

Tabla 2. Productos de la solubilidad (LogK_{sp}) para algunos tipos de minerales (Tomado de Mann, S.2001).

Mineral	Producto de la Solubilidad (Log K _{sp})	Configuración electrónica del:
<i>Carbonato de Calcio</i>		
Monohidratado	-7.39	Ca? [Ar]4s ²
Vaterita	-7.60	
Aragonita	-8.22	
Calcita	-8.42	
<i>Fosfatos de Calcio</i>		
Brushita (CaHPO ₄ · 2H ₂ O)	-6.4	Si? [Ne]3s ² 3p ²
Fosfato Octacálcico (Ca ₈ H(PO ₄) ₆)	-46.9	
Hidroxiapatita (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂)	-114.0	
Fluorapatita (Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂)	-118.0	
Silicatos amorfos	-2.7*	
Cuarzo	-3.7*	
<i>Óxidos de hierro</i>		
Ferrhidrita	-37.0	Fe? [Ar]3d ⁶ 4s ²
Goetita (α-FeOOH)	-44.0	
Hematita (α-Fe ₂ O ₃)	-42.0	
<i>Sulfatos del Grupo 2^a</i>		
Yeso (CaSO ₄ · 2H ₂ O)	-5.03	Ba? [Xe]6s ²
Barita (BaSO ₄)	-9.96	
Celestita (SrSO ₄)	-7.40	
<i>Otros</i>		
Atacamita (Cu ₂ Cl(OH) ₃)		Cu? [Ar]3d ¹⁰ 4s ¹

* Valores en Mol L⁻¹

El producto de la solubilidad no está completamente entendido para el fenómeno de cristalización biológica por los distintos sólidos que se forman como los que poseen enlaces covalentes (los silicatos).

Esto es, si cerca de un polímero y un grupo de iones en solución, estos intentarán acercarse entre sí por razones de carácter eléctrico. Si los iones son muy activos, la cantidad de ellos disminuirá y habrá saturación (S_R) en una región dada, lo que provoca un cambio en la energía libre de Gibbs al que se le conoce como diferencia del potencial químico (Δμ), estando este definido por:

$$\Delta\mu = KT \text{Ln } S_R \dots \dots \dots (6)$$

donde R es la constante universal de los gases y T la temperatura absoluta.

Es claro que si el valor de S_R aumenta, también lo hace el valor de Δμ, pudiendo generar así un sólido

Para que los iones que están en la cercanía de la superficie (por ejemplo de nuestro biopolímero) se acerquen y nucleen, se requiere que la energía interfacial (ΔG_I, la energía de interacción entre los componentes de la superficie. Si esta interacción es muy elevada, no podrá haber acomodo de los iones en solución) sea positiva, pero cada vez más pequeña que la energía de los enlaces en bulto ΔG_B, entre los iones en solución. Cada una de estas energías están dadas por:

$$\Delta G_I = 4\pi r^2 \sigma \dots\dots\dots(7)$$

Dónde σ es es la energía libre interfacial.

$$\Delta G_B = 4\pi r^2 \Delta G_V / 3V_m \dots\dots\dots(8)$$

Dónde ΔG_V representa la energía libre/mol asociada al cambio sólido-líquido y V_m es el volumen molar*. El punto importante es notar que en estas ecuaciones en función del radio (r) el tamaño de la estructura recién formada tiene un máximo de energía de crecimiento (ΔG_N^*) que corresponde al tamaño máximo (r^*), ver Figura 5.

$$\Delta G_N^* = 16\pi\sigma^3 v^2 / 3(KT \ln S_R) \dots\dots\dots(9)$$

$$\text{Tamaño crítico de la estructura } r^* = 2\sigma V_m / \Delta G_V$$

Todo esto indica que en un sistema que va a nuclear, factores como la cantidad de iones, la temperatura, etc. son de suma importancia. Otro factor relacionado a la nucleación y crecimiento de cristales biológicos son los templetos moleculares (Mann, S.2001) o biopolímeros en este caso. Aún no está bien establecido el papel que juegan algunos radicales en los biopolímeros, aunque parece que el papel de las regiones ácidas (negativas) es fundamental (Addadi L and Weiner S,1985). Habría, entonces que discutir el papel de regiones básicas (o positivas).

La estructura amorfa

Cuando la solidificación ocurre muy lentamente los átomos pueden arreglarse hasta formar lo que conocemos como orden cristalino. En el caso de que el enfriamiento ocurra muy rápidamente la estructura existente en el líquido, es decir, la estructura con alto grado de desorden, se mantiene. Típicos sólidos amorfos son los vidrios, aunque en biología lo son también los polímeros. Una forma de visualizar los amorfos es mediante una curva de distribución radial. Una curva de distribución radial es la gráfica que relaciona en el eje x distancias en el espacio y en el eje y la cantidad de átomos que se encuentran en esa distancia. Para un amorfo ideal no existirían distancias en las que hubiera una concentración de átomos (Figura 5a), pero en la realidad sí existen estas distancias en los amorfos (Figura 5b). El caso más extremo de orden lo tienen los cristales en que estas concentraciones de átomos a ciertas distancias son bandas, es decir, sólo están presentes para esta distancia x_n algunos átomos y para la distancia x_{n+1} tal vez no haya ningún átomo (Figura 5c).

* El **volúmen molar** de una sustancia es la relación del volúmen de la muestra de cierta sustancia por la cantidad de esta misma sustancia (en moles). En el caso de un gas ideal, es el volumen que ocupa un mol de esta sustancia (0.022414 m³ mol⁻¹ o 22.42 L/mol).

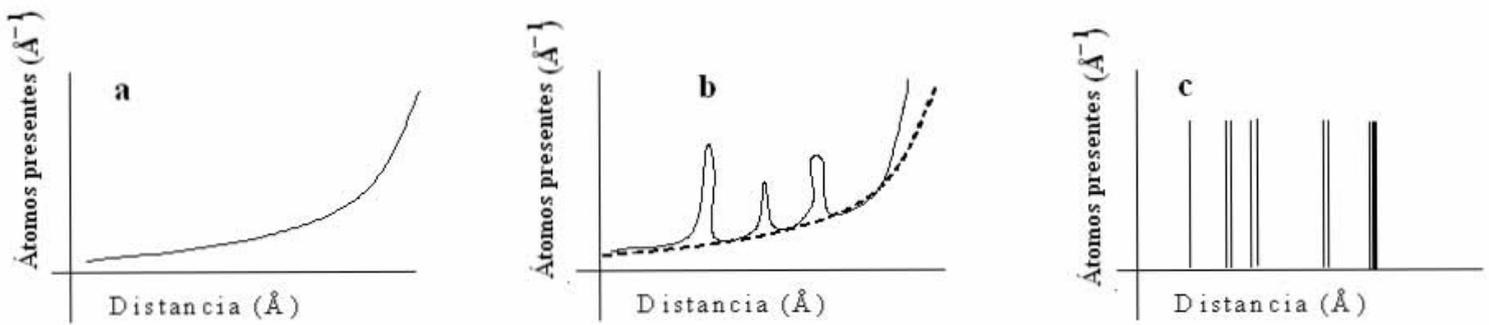


Figura 5. Gráficas de distribución radial de distintos sólidos. A) Gráfica de la distribución radial de un amorfo ideal. No se observan grupos de átomos preferenciales para un radio determinado. B) Gráfica de la función de distribución radial en un amorfo real y C) Función de distribución radial en un cristal.

Amorfos no poliméricos (Vidrios)

La estructura de los amorfos no poliméricos es semejante a la de los líquidos. No existe un arreglo definido de largo alcance y sus propiedades elásticas son isotrópicas. (Zallen, R. 1983).

Amorfos poliméricos

Son compuestos moleculares de cadena larga. Su composición química es a base de C, H, O, N, F, P, S y Si aunque pueden presentar otros elementos. En la mayoría de los casos el C y Si son la columna vertebral de las cadenas (Zallen, R. 1983).

Biopolímeros

La polimerización es la reacción que hace que los monómeros se unan. El número de monómeros en una cadena es denominado "grado de polimerización". Cuando la polimerización y el grado de polimerización son regulados mediante moléculas biológicas o dentro de la célula por la maquinaria molecular celular se denomina a este producto biopolímero y su forma tridimensional es ramificada, los tamaños de estas moléculas son casi constantes ya que son sintetizadas biológicamente. (Reyes e Hinojosa, 2000).

Las propiedades, reflejo de la composición y de la microestructura

El estudio de las propiedades mecánicas de los tejidos biológicos y especialmente de los tejidos biocristalinos resulta ser de gran interés debido a sus inusuales propiedades de tensión, compresión y corte (Einhorn, T.A. 1996.). En la ciencia de materiales la evaluación de estas propiedades es muy interesante, especialmente cuando se relacionan con la microestructura, debido a que las interacciones entre las fases cristalinas y amorfas modifican las propiedades del tejido en su totalidad. Cabe decir que estas interacciones son desconocidas y hasta ahora no hay un patrón estructural o fisicoquímico conocido al que respondan, (Bourgeat-Lami, E. 2002)

Tomando en cuenta que las propiedades elásticas de los sólidos se deben a las interacciones atómicas y moleculares (Stollberg, R. and Fitch, F. 1975), las propiedades mecánicas de materiales multicompuestos incluyendo la elasticidad, se deberán a las propiedades de cada componente y a la interacción entre estos. En los tejidos, células y estructuras subcelulares las interacciones entre las fases macromoleculares y la cristalina son las responsables de las propiedades elásticas. También el tipo de arreglo de cristales define las

propiedades mecánicas esto debido a que los mismos cristales tienen propiedades anisotrópicas dependiendo de su geometría. (Bell, M.S.*et al*, 2002).

Por esto es interesante realizar estudios de las estructuras biopoliméricas y las asociaciones de estas a las fases cristalinas; incluyendo en los análisis la evaluación de las propiedades térmicas del conjunto. Esto es posible actualmente mediante el uso de distintas técnicas como la difracción de rayos-X de polvos, la calorimetría de barrido diferencial, el modelaje molecular y distintas microscopías electrónicas convencionales, así como la microscopía de fuerza atómica. Esta última ha avanzado y desarrollado la posibilidad de hacer estudios dinámicos en materiales de origen biológico (Alonso, JL and Goldmann, WH (2003)).

Mecánica

Las interacciones entre las fases cristalinas y amorfas modifican las propiedades mecánicas de un tejido en su totalidad, son generalmente desconocidas aunque se ha propuesto una interacción principalmente geométrica entre el poliedro de coordinación del ion inorgánico y la macromolécula.

Tomando en cuenta que las propiedades elásticas de los sólidos se deben a las interacciones atómicas y moleculares (Stollberg, R. and Fitch, F. 1975), las propiedades mecánicas se deberán a las propiedades de cada componente y a la interacción entre estos.

Estas interacciones entre la fase macromolecular y cristalina son las responsables de las propiedades elásticas en los tejidos, células y estructuras subcelulares. También el tipo de arreglo de cristales genera nuevas propiedades mecánicas, esto debido a que los mismos cristales tienen propiedades anisotrópicas dependiendo no sólo de su geometría, sino de las distintas propiedades de los planos cristalinos que pueden tener distintas energías de enlace entre ellos (Bell, M.S., *et al*. 2002).

Fisicoquímica.

La fisicoquímica es prácticamente sinónimo de termodinámica. Cuando hablamos de las propiedades fisicoquímicas y su relación a la estructura, nos referimos a los cambios termodinámicos que se generan al modificar una estructura ya sea esta cristalina o amorfa. Un ejemplo de esto es la disminución de la DG en un sistema híbrido ya que de ello depende el crecimiento de la fase cristalina. (Figura 6).

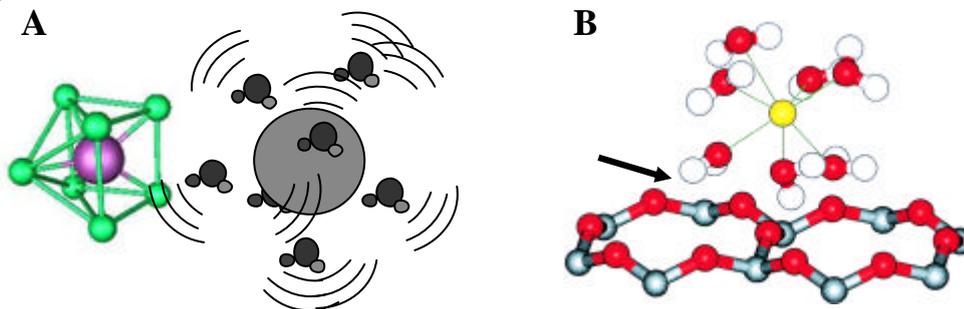


Figura 6. Modelo de interacción de iones con el solvente (en A) y distintas caras de una fase cristalina (B). Estas interacciones disminuyen la energía libre del sistema haciéndolo más estable. A) Ion sodio en solvente (NC 7) y B) Sodio con montmorillonita (de: Sposito, G, *et al* 1999) donde la flecha indica la región de disminución de la energía libre.

Biología

Las propiedades de los cristales dependen de los planos cristalinos expuestos, los cuales son ocupados por los sistemas biológicos para realizar funciones preestablecidas.

La reactividad química, la expansión térmica y las propiedades mecánicas son las características aprovechadas por las estructuras biológicas para enfrentarse al medio. En cada estructura biomineralizada hay ejemplos de esta “Ingeniería molecular” que nuclea y sintetiza estas estructuras fuera de equilibrio llamadas biominerales.

En la figura 7 se muestra un ejemplo del crecimiento anisotrópico de cristales en dos moluscos (*Pinna nobilis* Linnaeus, 1758 y *Pinctada martensii*, Dunker, 1872).

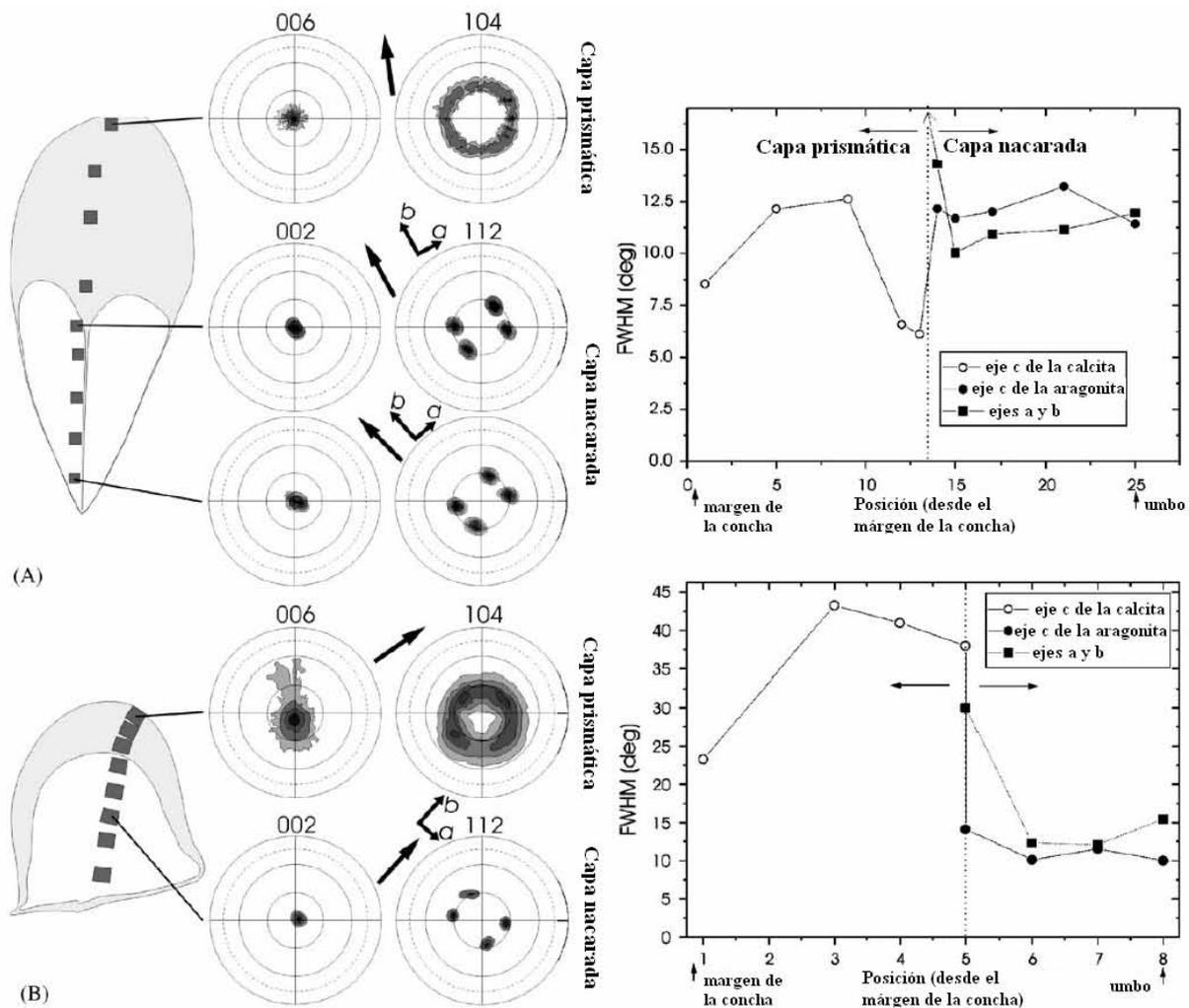


Figura 7. Diagrama del desarrollo del alineamiento de los nanocristales de calcita y aragonita en las valvas de las especies A) *Pinna nobilis* (Linnaeus, 1758) y en B) *Pinctada martensii* (Dunker, 1872). Las reflexiones de los planos (006) y (104) indican que los prismas de las capas externas están orientados perpendicularmente a la superficie de la concha y que los ejes a, b son paralelos a ésta. Las reflexiones (002) y (112) de la aragonita indican que las tabletas nacaradas se orientan homogéneamente. Las flechas indican la dirección del crecimiento (Checa, AG and Rodríguez-Navarro AB 2005).

Los ejes c de los prismas de calcita se orientan perpendicularmente a la superficie de las conchas. Esto puede ser debido a que en los cristales de calcita, la mayor resistencia a las fuerzas aplicadas en ella, está en las caras a, b que son las que quedarían expuestas al estar los ejes c perpendiculares a la superficie de la

valva; a este fenómeno se le llama texturización u orientación preferencial (Checa, AG and Rodríguez-Navarro AB 2005).

Otro ejemplo de la orientación preferencial de cristales en un sistema vivo es el de los cascarones de huevo (García-Ruiz, J. M, *et al* 1995), en donde ocurre el mismo fenómeno que en las valvas antes mencionadas; los ejes *c* de los cristales se ordenan perpendicularmente a la superficie del cascarón.

Las estructuras híbridas de origen biológico

Los materiales híbridos en biología son también *composites*. Estos son materiales multicomponentes, generalmente constituidos por fibras reforzadas o mezclas de cerámicas y polímeros con propiedades biológicas. Sus propiedades son variadas pero las mas generales son (Ozin, G.A.*et al* 1997):

1. Contienen dos o más fases estrechamente relacionadas.
2. Las fases están relacionadas por mecanismos de adhesión en la interfase.
3. Las propiedades del material compuesto son distintas de los materiales que componen cada fase.

Los materiales multicomponentes sintéticos tienen generalmente una forma homogénea, lo que los hace isotrópicos en muchas de sus propiedades. En cambio, las estructuras biominerales tienen distintas formas y están estructuralmente predeterminados para una cierta función. La diversidad estructural es muy grande en este caso. Pueden ser estructuras esferoides, barras cubiertas con un material amorfo (Mann, S. 2001), tubos con un relleno de distinta densidad a la del cristal, que a su vez pueden o no estar rodeados de una "cutícula" de material amorfo (Degens, ET, 1989.), etc. La localización de estas estructuras puede ser en la región extracelular, citoplásmica y hasta dentro de los organelos con una gran variedad de tipos cristalinos y hasta organelos completos mineralizados como el caso de magnetosomas (Esquivel, D. *et al* 2002.) o regiones específicas en los organelos, como el caso de los dominios cristalinos en las membranas celulares. Estas estructuras pueden ser cristales orgánicos o inorgánicos. Desde el punto químico hay cristales orgánicos (oxalato de calcio en forma de wewelita y weddelita) e inorgánicos y dentro de esos últimos, algunos con enlaces metálicos y propiedades magnéticas (magnetita y goetita). Estas estructuras producto de la fisicoquímica biológica son la base de la complejidad estructural de los organismos vivos que podría ser utilizada para la síntesis de nuevos materiales de alto rendimiento.

De ser posible explicar las propiedades de los materiales biológicos se conseguiría diseñar materiales con propiedades semejantes a estos. Por otro lado, la evaluación de las propiedades térmicas mediante DSC han podido establecer las interacciones entre una fase mineral (apatita) y una amorfa (colágeno tipo I). Así toda esta complejidad estructural física y química debe ser usada como herramienta para diseñar nuevos materiales.

Hueso y diente

El tejido óseo y el dental, en términos biológicos, son considerados como tejido conectivo y, en ciencia de materiales, como *composites* igual que el resto de las estructuras biominerales. El estudio de las estructuras biológicas híbridas puede alcanzar varios fines como; entender las relaciones estructura-función, dentro de un marco evolutivo, entender los mecanismos de origen, diseño y uso tecnológico. El hueso es considerado en biología un tejido conectivo especializado y éste tiene algunas funciones principales; servir de sostén, protección a tejidos y órganos y almacenar iones, así como alojar células hematopoyéticas. Lo anterior podría resumirse en dos únicas funciones; mecánicas y metabólicas (Weiner, S., *et al.* 1999). En general, los

procesos de biomineralización son poco entendidos por su gran complejidad. Esto no es una excepción para el tejido óseo.

El hueso y diente son tejidos mineralizados con sales de carbonato de hidroxiapatita (CHAp), una sal no estequiométrica de la hidroxiapatita (HAp) mineral cuya fórmula química es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, con un contenido promedio del ion CO_3^{2-} entre el 5 y 8%. La razón del estudio de la presencia o ausencia de la concentración y posición de este ion en la estructura del biomineral, radica en que le confiere distintas propiedades a algunas características como morfología, dureza y otras (Weiner, S., *et al.* 1999). En ciencia de materiales, estos tejidos son considerados, como ya se mencionó, materiales compuestos, pues están formados por más de una fase. El mineral presente en estos tejidos, puede variar sus propiedades, según los iones incluidos, y esto forma parte de uno de los grandes temas actuales de investigación. Otro de los fenómenos no comprendidos es cómo la fase biopolimérica nuclea y se asocia al policristal.

Celda Unidad y Microcristal del Carbonato de Hidroxiapatita

No se conoce exactamente la forma de los cristales de CHAp en huesos y dientes, se han considerado las formas de placas y agujas sin que ninguna cuente con el consenso general. Hay investigadores que proponen que la morfología de los cristales depende del procedimiento de obtención de los mismos. (Carter, G. Joseph. 1990).

En términos de la celda unidad (Gpo. espacial $P6_3/m$; No. 176), su composición iónica es muy variada, posee una simetría hexagonal (Figura 6), que en la parte más externa tendría seis calcio con número de coordinación 9 (denominados calcio tipo 1) y, al interior de estos, tres calcio con número de coordinación siete (calcios tipo 2), en medio de todos ellos hay iones hidroxilo considerados de poca estabilidad (Eanes, E.D. 1979).

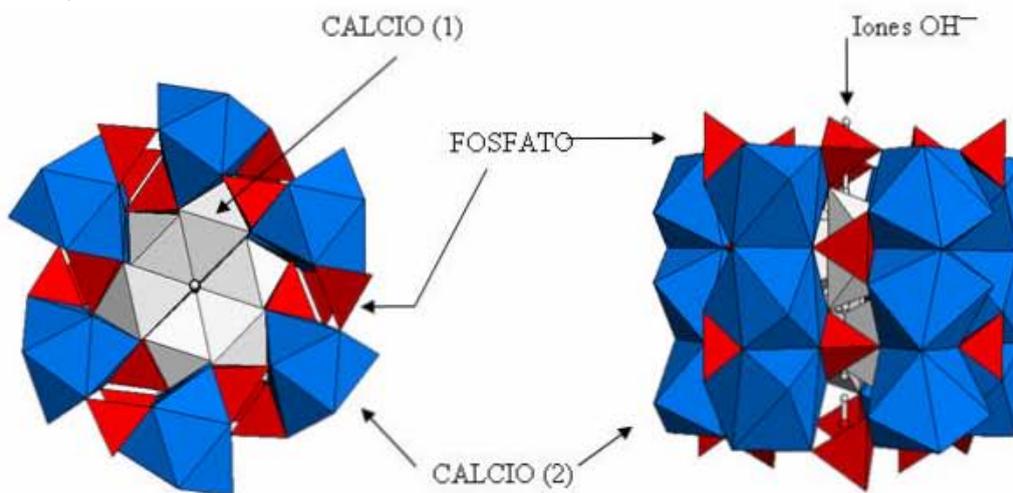


Figura 8. Modelo de cristal de apatita. Se presentan los distintos tipos de calcio (1 y 2 como número de coordinación 7 y 9 respectivamente) y los fosfatos (NC 4).

Las regiones de mayor interés son las que están relacionadas con los posibles sitios de sustitución de los carbonatos que actualmente son desconocidos (Wu, Y, *et al.* 2002))

A los iones OH de los cristales del CHAp se les ha asignado un grupo de características “inusuales” a ciertas temperaturas, como son la conductividad iónica y la susceptibilidad eléctrica (Reyes-Gasga, J *et*

al.1999). Estos fenómenos han sido estudiados ampliamente en esmalte dental, el cual está compuesto por CHAp en cerca de un 95% (Simmer, J.P., Fincham AG. 1995) y son hasta ahora dudosos.

Apatita en Hueso y Diente

El hueso provee al plasma sanguíneo (Guyton,1989) de iones para poder mantener la homeostasis del organismo a partir de hormonas. La información acerca del funcionamiento homeostático en el hueso no es reciente (Ochoterena, I. 1945) y la literatura lo confirma. Los sistemas de integración iónica al plasma no sólo contemplan la reabsorción de sustancias por sistema excretor sino también la integración de materiales presentes en hueso, sin haber a nuestro alcance una definición clara de si esta reinsertión ósea de iones, está relacionada con la fase amorfa o la fase cristalina (Vaughan, J.M. 1970). Todos estos sistemas de control del mineral óseo no son conocidos completamente, por la organización orgánico-inorgánico. Otro factor que dificulta estos estudios son las fases inorgánicas que no son cristalinas. Al referirse a la interacción de amorfos con material cristalino, no sólo nos referimos a la colágena tipo I y al carbonato de hidroxiapatita sino a otros inorgánicos también como los posibles precursores del mineral óseo y desde luego también a otros tipos de proteínas, que se considera, están relacionadas a la síntesis biológica de este tejido (Carter, G. Joseph. 1990).

Colágena Tipo I

La colágena tipo I es una de las proteínas características del tejido óseo (Rossert, J. & de Crombrughe, B. 1996) y está altamente preservada en los distintos grupos de vertebrados y está presente en una gran variedad de invertebrados (Adams, E. 1978). El conocimiento de las características estructurales de los biopolímeros que se asocian a los biominerales, nos permite proponer mecanismos de nucleación y crecimiento de cristales de origen biológico. La colágena tipo I nos lleva a acercarnos al grupo de mecanismos que originan el tejido óseo pues muchos autores proponen que la nucleación de los iones inorgánicos, como en hueso o diente, se da en esta compleja macromolécula (fig. 9), aunque hay muchos modelos de asociación entre las fibras de colágena y los cristales de Carbonato de Hidroxiapatita (Glimcher, M.J., *et al.* 1957, Weiner, S. & Traub, W. 1986).

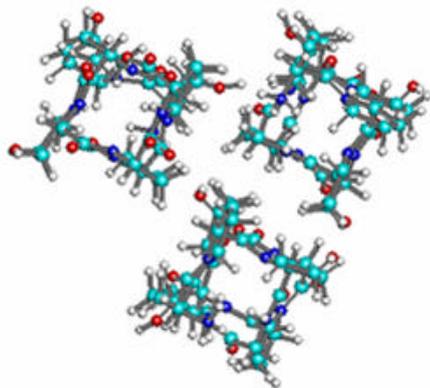


Figura 9. Modelo helicoidal de Glicina-Prolina-Hidroxiprolina. Vista perpendicular al eje longitudinal de las cadenas; la unión de tres de estas cadenas forma la colágena tipo I, esta unión es mediante puentes de hidrógeno.

Cascarón de huevo de aves

Los cascarones de huevo de ave son los biominerales más estudiados, pero no están entendidos. Estas estructuras complejas están compuestas por 4 elementos estructurales principales que son: 1. capa orgánica, 2. capa de conos, 3. capa en palizada y 4. capa cristalina (ver figura 10).

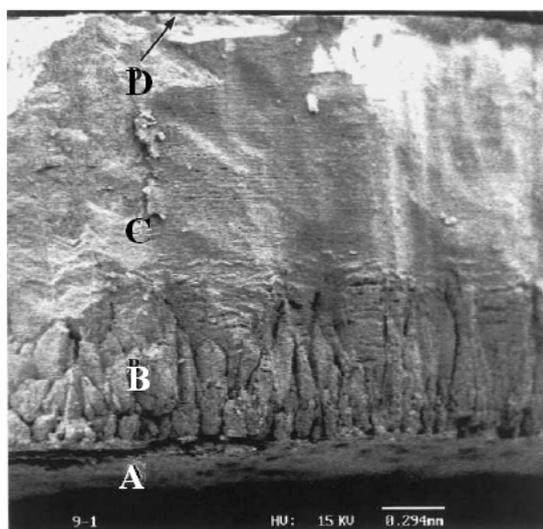


Figura 10. Esta micrografía de Barrido muestra en detalle las distintas capas en un cascarón de huevo de avestruz. A) Capa orgánica, B) Capa de conos, C) Capa en palizada y D) Capa cristalina (Tomado de Feng Q. L. 2001).

El contenido mineral de este material es calcita, aunque algunas personas han reportado también apatita (Mann, S, 2001). La fase biopolimérica está compuesta por péptidos (ovocleidina, ansocalcina, ovocalixina, etc), y quizás por proteoglicanos, que son semejantes a los del huevo de ganso y gallina. La proteína posee aproximadamente 132 aminoácidos y es rica en cisteína (Mann K y Siedler F, 2004). Para la síntesis de materiales híbridos, esta estructura resulta de gran interés, debido a que los cristales se sintetizan de forma ordenada y con tamaños predeterminados a una tasa de ≈ 5.0 g/día (Mann, S. 2001). La forma en cómo interactúa la fase polimérica y la fase cristalina no es aún conocida. También resulta interesante que la estructura se genera en un medio no celular (en el fluido uterino, en la porción distal del oviducto). Parece que el proceso de mineralización inicia con el depósito de calcita sobre materiales orgánicos en la membrana orgánica del huevo. Posteriormente el crecimiento de los cristales es radial y debido al acelerado crecimiento se genera una estructura columnar compacta (Nys, Y., *et al*, 2004)

La Celda unidad de la Calcita (CaCO_3)

Esta estructura cristalina con grupo espacial $R\bar{3}c$ (hexagonal) es de suma importancia para la biología (Figura 11). Su importancia radica en que es la fase inorgánica más exitosa en los sistemas biológicos. Las estructuras que forma pueden ser estromatolitos, cascarones de huevo conchas de moluscos y crustáceos. Algunos autores opinan que en el origen de la vida, la concentración de Ca^{++} en el océano donde la vida inició, fue extremadamente baja y da origen a la concentración intracelular de Ca^{2+} ($\approx 100 \text{ nmol L}^{-1}$). Es importante mantener las bajas concentraciones de Ca ya que el ion Ca^{++} interactúa muy fácilmente con las partes de las macromoléculas que son oxidantes causando enlaces entre estas, desestabilizando la maquinaria celular. La posibilidad de enlazarse a las macromoléculas y otros iones se debe quizás a que sus electrones están poco localizados debido a una estructura electrónica esférica ($[\text{Ar}] 4s^2$) y radio iónico relativamente grande ($\approx 1.94 \text{ \AA}$). (Degens, ET, 1989).

Es importante en la estructura de la calcita la presencia del ion CO_3^{2-} . Este ion es triangular casi plano y tiene un par electrónico resonante (Yang, L., *et al.*, 2003).

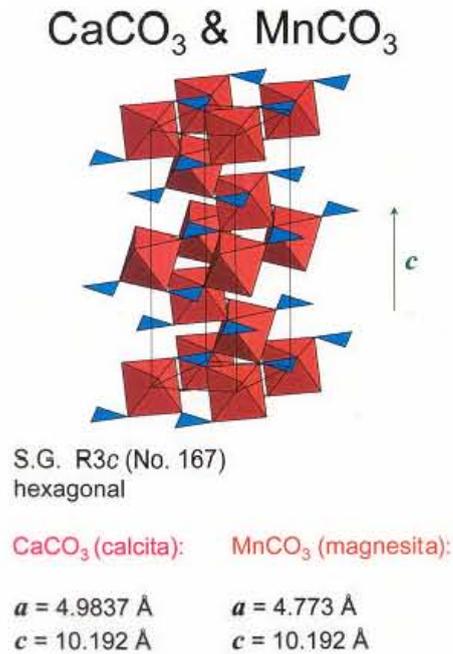


Figura 11. Estructura de la calcita en forma de poliedros de coordinación. Los poliedros de coordinación 8 (rojos) corresponden al calcio y los de coordinación 3 (azules) a carbonatos. El eje c de la celda unidad es perpendicular a las caras de los triángulos del carbonato.

Exoesqueleto de Camarón

El exoesqueleto de camarón está compuesto principalmente por alfa quitina, proteínas, glicoproteínas y regiones mineralizadas de CaCO_3 . Este material es relativamente sencillo y por lo tanto útil para estudiar el fenómeno de biomineralización. Lo que lo hace extremadamente sencillo es la composición macromolecular de alfa quitina (Figura 12) y cuya fase mineral es calcita presentándose como manchas color blanco, y cuya fase amorfa (Mikkelsen, *et al.* 1997).es un carbonato de calcio amorfo y se presenta como manchas de color café.

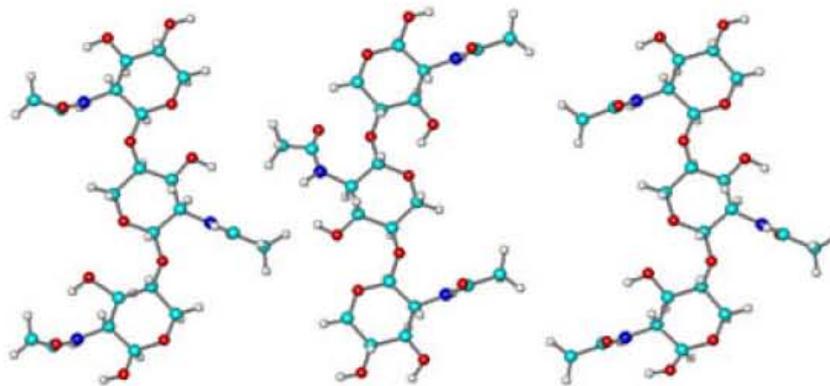


Figura 12. Modelo de α -quitina, basado en la celda unidad de la alfa quitina; los colores son Rojo-oxígeno, verde-carbón, azul-nitrógeno y blanco-hidrógeno.

Aunque es más sencillo que los otros biominerales, su complejidad sigue siendo un obstáculo para conocer los fenómenos que subyacen esta mineralización. La fase mineral, está compuesta por cristales de calcita y otros minerales amorfos que no han sido completamente estudiados.

Se han reportado otras fases cristalinas que son también derivadas del CaCO_3 como la icaíta (ikaite) y el CaCO_3 hidratado.

Lo interesante de los estudios de mineralización en exoesqueletos de crustáceos es que discuten las partes fundamentales del sistema que controla el crecimiento de la fase mineral (Mikkelsen, *et al.* 1997). Es importante recalcar que la calcita prefiere crecer en forma de romboedros pero al interactuar con la fase biopolimérica se generan estructuras esféricas. (Jimenez-Lopez, C, *et al* 2003).

Biosilicificación (Diatomeas)

La macromolécula que determina la mineralización de SiO_2 en sistemas biológicos no es aún conocida. Los materiales derivados del silicio tienen importancia especial por sus usos en electrónica, su alta resistencia mecánica, su uso para la síntesis de cerámicas, etc. Conocer cómo se forman estas estructuras biológicas traerá la posibilidad de diseñar materiales nanoestructurados (Bai J., *et al.* 2004). Por su estructura interna, los minerales de silicio se dividen en dos grupos:

- a) Los cristalinos como el cuarzo y
- b) los amorfos como el ópalo.

En las diatomeas el SiO_2 sólido no es cristalino, sino amorfo como en el ópalo (Figura 13).

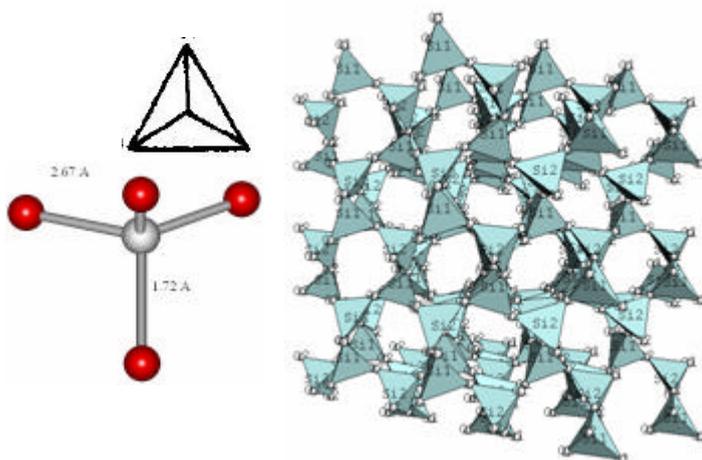


Figura 13. Modelo de la estructura interna del ópalo. En este mineral, aunque los poliedros de coordinación 4 del SiO_2 poseen la misma estructura que en el cuarzo, no hay orden cristalino (periodicidad). Podría ser que esta falta de orden fuera aprovechada por las macromoléculas para formar el sólido.

Hasta el momento no hay un modelo para la interacción entre la fase cristalina y la fase biopolimérica en diatomeas y tampoco se ha demostrado qué molécula es la responsable de esta mineralización, aunque algunos autores han propuesto que debe ser una molécula con regiones aminadas o por lo menos con regiones de pH básico (Perry CC and Keeling-Tucker T, 2000, Kröger, N., *et al.*, 2001, Cha, J.N. *et al.*, 2000).

En estas moléculas se dan las condiciones para que el Si(OH)_4 (ácido ortosilícico) polimerice hasta formar ópalo según las siguientes reacciones comenzando con el ácido silícico (Si(OH)_4) disuelto en agua:

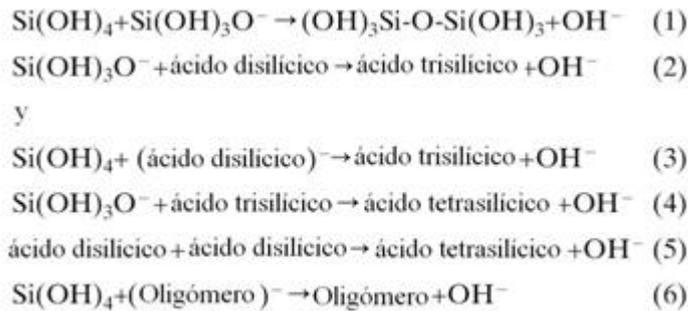


Figura 14. Reacción de polimerización del Si(OH)_4 . Obsérvese que se desprotona el ácido ortosilícico Si(OH)_4 ; lo que implica que son necesarios en este medio los radicales OH^- o un pH mayor a 7.

Posibles macromoléculas responsables de la biosilificación del SiO_2

En los años recientes se han identificado tres tipos de macromoléculas que son candidatos para realizar la biosilificación en las algas diatomeas:

El primer grupo (en algas) es el de las ***N*-metilpropilaminas o LCPA (Long Chain Polyamines)**. Este grupo de poliaminas poseen una porción similar a la estructura de las putrescinas y está unido covalentemente a las silafinas (Fig. 15).

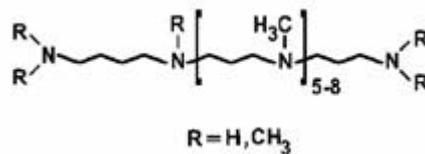


Figura 15. Poliamina de cadena larga. En el recuadro verde, la sección parecida a la putrescina.

El segundo grupo (esponjas) corresponde a las **Silicateínas** (Silicatein- α) que son proteínas del tipo de la Catepsina. Estas contienen un arreglo repetido de múltiples hidroxilos (en realidad hay tres tipos, α , β y γ , la de mayor concentración es la α y las tres son muy semejantes en sus secuencias). Estas estructuras pueden promover la condensación de silicatos y de polímeros de siloxano (siloxane) orgánicamente modificados, provenientes de los alcóxidos de silicio. La diferencia entre esta molécula y las otras, es que para esta sí existe un modelo de reacción química para la formación de ópalo (a pH neutros y condiciones normales de presión y temperatura). La silicateína α se distingue por tener una secuencia de aminoácidos hidroxilados serina y tirosina. Un ejemplo de secuencia de esta molécula es la Ser-Ser-Cys-Thr-Tyr, Ser-Ser-Arg-Cys-Ser-Ser-Ser-Ser, que posee una gran cantidad de OH y también tioles.

El tercer grupo (diatomeas) es el de las **Silafinas** (Fig. 16). Se identificaron tres tipos: Silafina 1A₁ (S1A₁), S1A₂ y Silafina 2 (S2). Silafina 1A₁ (S1A₁): Este tipo posee tres polipéptidos casi idénticos,

ricos en lisina, arginina y serina. Silafina1A₂ (S1A₂): Es igual a la S1A con una repetición adicional del tipo S1A.

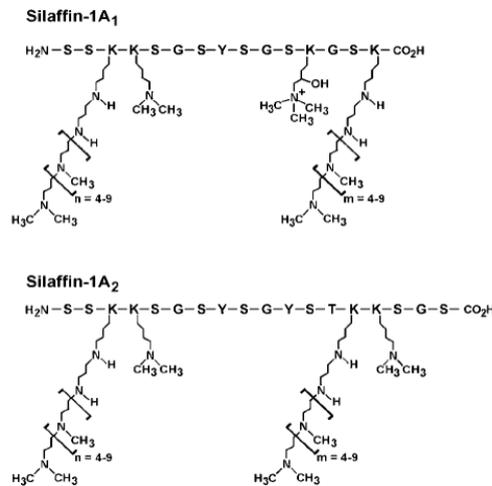


Figura 16. Moléculas de Silafina. Los aminoácidos están representados por el código de letras. Las modificaciones de las lisinas son las cadenas laterales. El tercer tipo parece no tener gran implicación en la biomineralización. Esta molécula posee las LCPA.

No se sabe si estas moléculas tienen una estructura de alfa hélice o de hoja beta. Tampoco se sabe cómo es la interacción de estas moléculas con la fase inorgánica o el ácido silícico, aunque existen modelos donde una parte de la superficie del SiO₂ se integra en el poliedro de coordinación del Silicio oxígenos de la fase biopolimérica (Figura 17).

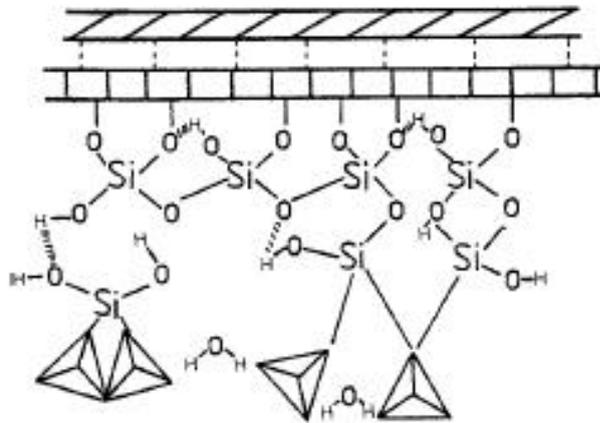


Figura 17. Modelo de interacción SiO₂ y la pared celular en una alga diatomea (Tomado de Perry CC and Keeling-Tucker T, 2000).

Los logros más considerables en el desarrollo de nanoestructuras de silicio han sido las microesferas de SiO₂·nH₂O (ópalo) y algunas microfibrillas de este mismo material. En el primer caso de las microesferas es inconsistente que se desee comparar lo biológico con lo geológico, pues en mineralogía también se encuentran microesferas (fig18 a y b). La única diferencia clara entre el biomineral de SiO₂·nH₂O (ópalo) y el inorgánico es el tamaño de las esferas. Nada que se pueda comparar a las complejas estructuras sintetizadas por la misma naturaleza biológica (Fig 18).

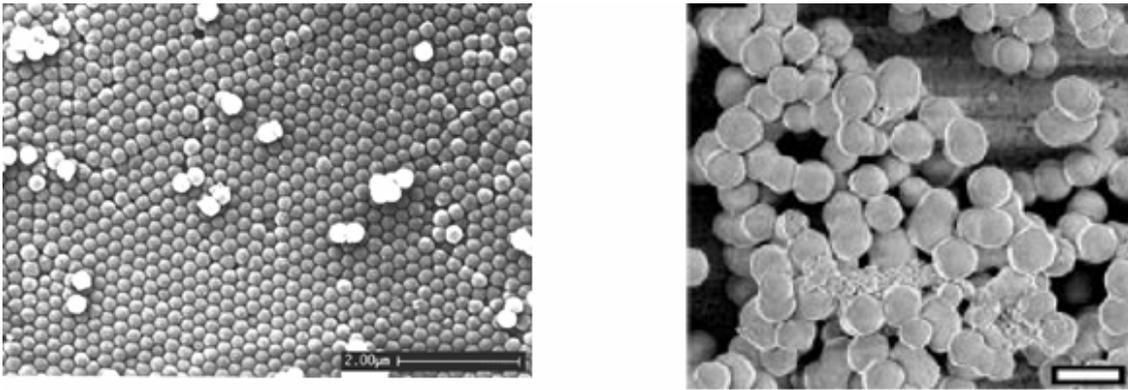


Figura 18. Esferas de ópalo ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$). A) Procedentes de un mineral (obtenida de <http://minerals.gps.caltech.edu/#Silica>) y B) de la precipitación de $\text{Si}(\text{OH})_4$ mediante silafinas (barra = 1.0 μm). Puede observarse que la única diferencia es el tamaño.



Figura 19. Dos ejemplos de algas diatomeas. A la izquierda *Gomphonema mexicanum* (Grunow) y a la derecha *Aterinella* sp. Nótese las pequeñas estructuras de SiO_2 en forma tubular con contenido de materia orgánica del organismo (a) de Nélida Abarca y b) de <http://www.oceanproaquatics.com/shop/images>.

Posibles interacciones Si? Orgánico

La importancia de conocer los enlaces asociados al Silicio y a la porción orgánica radica en la posibilidad de generar nanomateriales de silicio, hasta el momento no desarrollados. Las posibles interacciones entre la fase de ópalo y la macromolecular son de gran importancia para poder generar un modelo de interacción. En este caso existe un problema para la determinación de esta interfase, el cual consiste en que las bandas de FT-IR para $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ se traslapan con todas las bandas de los orgánicos (Tabla 3). Otra dificultad en el análisis de los sistemas Si? Orgánico es la complejidad de estas

Tabla 3. Frecuencias en el infrarrojo para cuarzo y orgánicos relacionados a algas diatomeas (Kovac N, *et al.* 2004, Coates, J 2000, Leandro, S, *et al.* 2003).

Bandas Inorgánicas	Número de onda (cm ⁻¹)	Tipo de enlace
En el cuarzo	≈ 777	} Unión Si-O-Si
	527	
	470	
Ion Silicato SiO ₄ ²⁻	1100-900	
Ion Fosfato PO ₄ ³⁻	1100-1000	
Si-OH	945	
Tetraedro SiO ₄	1100, 471	
Banda Orgánica		
Amida I	1652	C=O
Amida II	1554	N-C=O...H-N
Organo-silicatos		
	950-400 , etc	Interacción buscada

estructuras (Figura 20) que, como podrá suponerse, en las diatomeas resulta aún más complejo que en los otros casos.

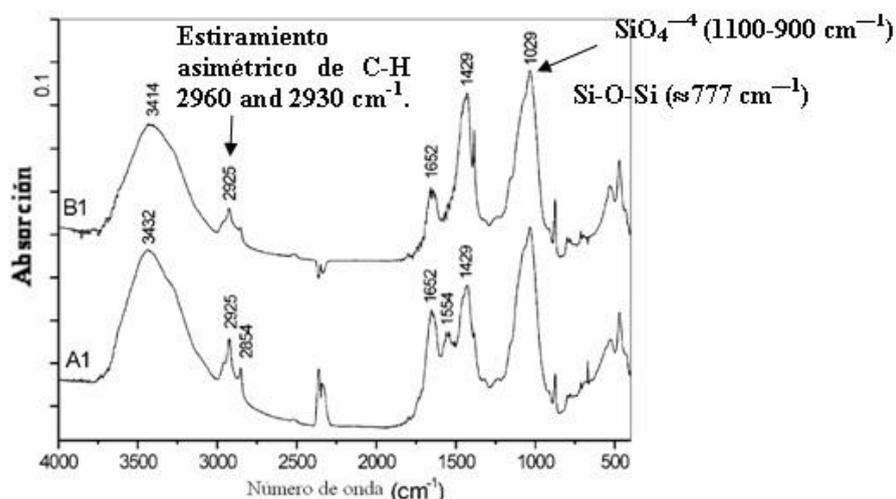


Fig 20. Estudio por FT-IR de diatomeas (Tomado de Kovac N, *et al.* 2004) de dos distintos mares. Obsérvense las bandas que diferencian a cada espectro.

Cristales Líquidos en la membrana de axones mielinizados

Muchas enfermedades derivadas del sistema nervioso periférico y central (*e.g.*, enfermedad de Diente de Charcot-Marie y esclerosis múltiple, respectivamente) están relacionadas a la degeneración de la mielina. Un nuevo acercamiento ve a la membrana de la célula de Schwann como una superficie de contenido químico estequiométrico y de gran orden molecular lo que la hace tener características de un cristal líquido (Trapp, B.D. *et al.*, 1995, Scherer, S.S. 2000). Son consideradas así por que tienen moléculas específicas localmente como en dominios moleculares (Scherer, S.S. 2000). El uso de AFM para generar imágenes y mapas de fuerza es útil en la obtención de datos sobre la estructura interna de estas células, la cual es altamente compleja. (ver figura 21).

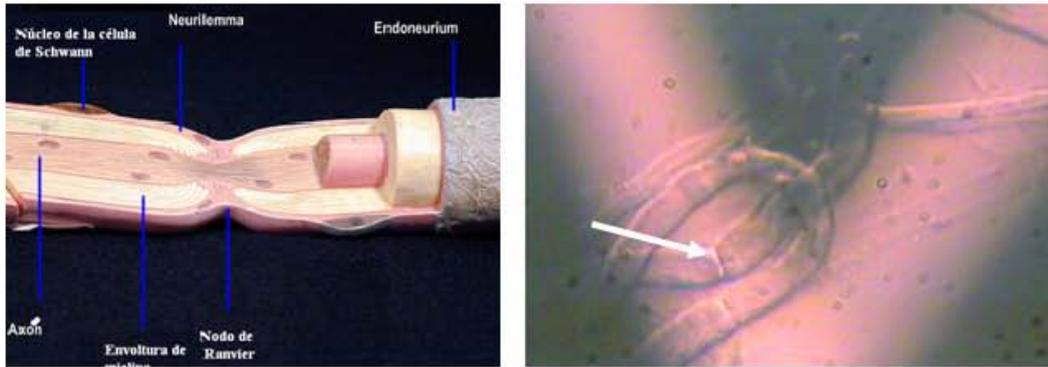


Figura 21. Esquema de axón mielinizado. En esta imagen se muestra la región del nodo de Ranvier.

Estas células también poseen una gran complejidad estructural por los dominios moleculares y también por las bandas que poseen estas células (Fig. 22). Estas bandas son vistas en axones periféricos y del sistema nervioso central (Figura 22). Se cree que están compuestas por una molécula llamada caveolina-1.

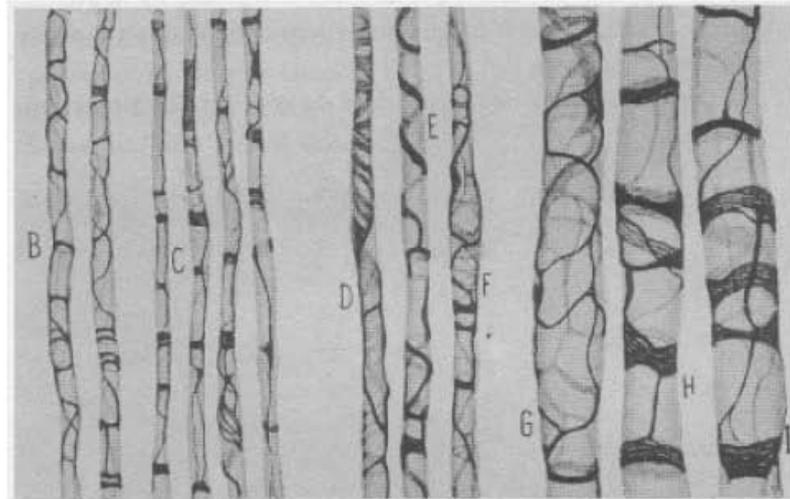


Figura 22. Imagen de axones del sistema nervioso central con dominios en las membranas de la mielina (De: Del Río Hortega, P 1992).

OBJETIVOS

Proponer un modelo para explicar la relación entre la estructura y las propiedades de materiales de origen biológico con estructuras cristalinas y amorfas. En este trabajo fueron empleados huesos de mamífero, cascarón de huevo de avestruz *Strutio camelus*, exoesqueleto de camarón *Penaeus aztecus* y diatomeas *Nabacula pelliculosa*.

Proponer un modelo para explicar la interacción híbrida (orgánico-inorgánico) haciendo énfasis en los sitios de unión entre el biopolímero y la fase cristalina.

Identificar en las membranas de las células de Schwann dominios de propiedades mecánicas.

2. Materiales y Método

2.1. Difracción de rayos X (DRX) para polvos

Para la DRX las muestras fueron pulverizadas en un mortero de ágata y puestas en un postmuestras de vidrio. Los cascarones de huevo de avestruz fueron tratados como muestras con simetría plana, para determinar si los cristales están orientados preferencialmente y en qué plano lo estarían.

Se empleó un difractómetro Siemens D5000, radiación $\text{CuK}\alpha$ (35 kV, 25 mA), goniómetro vertical fijo, monocromador de grafito y contador por centelleo fueron usados. Los datos se colectaron usando un tamaño de paso de 0.5° sobre un rango de 10° - 70° , para 2θ . Para los patrones de DRX en los que se aplicó el método de refinamiento de Rietveld el tamaño de paso fue 0.02° , 10s contando cada paso (modo de paso/barrido). Esta técnica fue usada para estudiar muestras de cascarón de huevo de avestruz en su interior y exterior, bajo tratamientos térmicos, así como la membrana orgánica del cascarón. Exoesqueletos mineralizados de camarón mexicano fueron analizados también.

El método Rietveld implementado para el programa FULLPROF fue usado (R.A. Young (Ed.) 1993) para refinar las estructuras cristalinas (Rodríguez-Carvajal, J. 1981). Una función pseudo-Voigt modificada por Thompson, Cox and Hastings (Thompson, P 1987) fue elegida para generar los picos de difracción. Los siguientes 19 parámetros independientes fueron refinados con el grupo espacial $R-3c$ (No. 167): punto cero, factor de escala, tres coeficientes del polinomio para el fondo, tamaño de la celda unidad, ancho a la mitad del pico, pseudo-Voigt y parámetros de asimetría para la forma del pico, la posición, factores térmicos de isotropía, para las capas internas, y dos parámetros de orientación preferencial de acuerdo con la función usada en los refinamientos Rietveld, para la capa externa, donde sigma es el ángulo entre el vector de orientación preferencial [001] y la dirección normal a los planos de difracción (figura 23 en técnicas usadas).

2.2. Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

Para esta técnica se usó un microscopio electrónico de transmisión TEM 100CX JEOL. Las piezas fueron cortadas con una hoja de diamante para hasta tener un grosor de 250 a 500 μm . Posteriormente fueron pulidas con papel de carburo de silicio, Núm. 1000 y agua, hasta obtener un grosor de aproximadamente 100 μm hasta que un pequeño hoyo se formó cercano al centro. Entonces la muestra fue suficientemente delgada para observación mediante MET. Después las muestras fueron cubiertas con una capa de carbón de ≈ 20 nm para disminuir el daño y evitar que se carguen eléctricamente debido al bombardeo electrónico.

2.3. Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)

Las muestras se fijaron en el portamuestras mediante una cinta de carbón sin ningún tratamiento adicional. Un microscopio LVSEM JSM-5900LV fue usado. El microscopio trabajó a un vacío de 1-250 Pa (0.01-2.5 Torr) y un voltaje de aceleración de 5-20 kV. Con este instrumento se hizo paralelamente análisis químico mediante espectroscopía de energía dispersiva (EED) con una resolución de 61 eV.

2.4. Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Exoesqueleto de Camarón. Se ocupó un microscopio JEOL Scanning Probe Microscope (JSPM-4210). Las muestras fueron lavadas con agua destilada y puestas directamente para su observación. El modo de contacto fue usado para obtener las imágenes.

Axones mielinizados. Las fibras fueron estudiadas en solución fisiológica de PBS con microscopio de fuerza atómica "3D-MFP" (Atomic Force Microscope, Asylum Research, Santa Barbara, CA) acoplado a un microscopio óptico. Puntas triangulares (forma de V), 115 μm de longitud y 17 μm de ancho (NanoProbes, Digital Instruments, Santa Barbara, CA) fueron usadas. La constante de resorte fue 0.072 N/m. Se realizaron mapas fuerza de 64x64 pixeles y 32x32 pixeles. Se usaron neuronas silvestres y mutadas P22

2.5. Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)

Calorimetría de barrido diferencial (CBD o en ingl. DSC) fue llevada a cabo en un Thermal analysis System 9900, Du Pont 910 (módulo para CBD). El rango de calentamiento fue constante (10 $^{\circ}\text{C}$ / min) en atmósfera de aire. Las muestras de nuestros materiales siempre pesaron entre 1.0 y 2.0 miligramos.

2.6. Espectroscopía Infrarroja (FT—IR)

Las muestras fueron molidas y mezcladas con polvo de KBr (relación 100:1) y comprimidas en pastillas. Se usó un espectrómetro Nicolet 680 FT—IR.

2.7. Modelos Físicoquímicos con Hyperchem (MF)

Hueso: Modelo Molecular. Fragmentos de superficies de hidroxiapatita fueron construidos mediante **ATOMS Version 6.0** (de Shape Software) para Windows extendiendo y editando la celda unidad. Los fragmentos resultantes representan los planos (100) y (001) y tienen aproximadamente un tamaño de 38x32 y 32x27 \AA . Para el modelado usamos los modelos de un plano (100) y dos (001) del lado en que son ricos en fosfato y calcio respectivamente. Se usó la mecánica molecular MM+ incluida en el paquete HyperChem Version 5.1 package (de HyperCube Inc., Canada). Como modelo de colágena se usó un nanopéptido Gly-L-Pro-L-Hyp-Gly-L-Pro-L-Hyp-Gly-L-Pro-L-Hyp con terminaciones en forma de zwitterion y con estructura α -helicoidal. Se seleccionó el modelo de cristal y se importó a la ventana de HyperChem. Los modelos de cristales fueron congelados y la geometría de la parte peptídica optimizada. Se usó el algoritmo de gradiente conjugado Polak-Ribiere y un gradiente de mínimos cuadrados de 0.01 kcal \AA^{-1} mol $^{-1}$. Para encontrar posibles conformaciones de mínima energía se probaron distintas orientaciones de las moléculas sobre los planos cristalinos así como dinámica molecular para relajar las estructuras ya optimizadas (tamaño de paso, 0.001 ps; tiempo 1.5 ps; temperatura de la simulación, 300° K).

Exoesqueleto de Camarón: Modelo Molecular. Fragmentos de superficies de calcita (100), (001) y (104) (Trigonal, space group $R\bar{3}c$, No. 167) fueron construidos mediante **ATOMS Version 6.0** (de Shape Software) para Windows extendiendo y editando la celda unidad. Estos planos fueron puestos a interactuar con tres unidades triméricas de α -quitina (Ortorómbica, GE P2 $_1$ 2 $_1$ 2 $_1$). Las moléculas orgánicas fueron puestas a interactuar en distintas conformaciones con respecto a los planos. Para los planos (104) dos configuraciones; paralela y perpendicular, fueron usadas. En éstas, las moléculas orgánicas fueron puestas con sus ejes longitudinales paralelos o perpendiculares a la dirección (010) de la calcita. Los modelos de cristales fueron congelados y la geometría de la parte orgánica optimizada. Se usó el algoritmo de gradiente conjugado Polak-Ribiere y un gradiente de mínimos cuadrados de 0.005 kcal \AA^{-1} mol $^{-1}$ y dinámica

molecular para relajar las estructuras ya optimizadas (tamaño de paso, 0.001 ps y una temperatura de la simulación, 300° K).

Biosilicificación

Experimental. Cultivos axénicos de *Navicula salinarum* en distintos momentos de desarrollo fueron proporcionados muy amablemente por el Prof. Engel G. Vrieling y Han Van deer Strate (Marine Biology, U. Groningen, Holanda). Los experimentos de FTIR fueron hechos en el Depto. De Química Universidad de Aveiro, en Portugal por la Profra. Ivonne Delgadillo. Se usó un espectrómetro Bruker IFS-55)

Simulación. Fragmentos de ópalo y ácido silícico construidos mediante **HyperChem 5.1.** con un tamaño aproximado de $8 \times 8 \times 2 \text{ \AA}$ se usaron para hacerlos interactuar con las moléculas. Se usó la mecánica molecular MM+ incluida en el paquete HyperChem Version 5.1 package (de HyperCube Inc., Canada). Los modelos de estructuras de SiO_2 , Si_2N_4 y $\text{Si}(\text{OH})_4$ fueron optimizados y puestos a interactuar con los distintos biopolímeros. Se usó el algoritmo de gradiente conjugado Polak-Ribiere y un gradiente de mínimos cuadrados de $0.01 \text{ kcal } \text{ \AA}^{-1} \text{ mol}^{-1}$. Se usó una dinámica molecular para relajar las estructuras ya optimizadas (tamaño de paso, 0.001 ps; tiempo 1.5 ps; temperatura de la simulación, 300° K). El análisis se desarrolló con varios modelos de biopolímeros (ver tabla 4).

Tabla 4. Esquema del proceso de simulación de tres tipos de moléculas reportadas como biosilificantes. En cada caso se hace una evaluación de las posibles conformaciones secundarias (paso 1) de las moléculas. Esta es dependiente de su naturaleza química, por ejemplo, si una es de carácter aminoacídico, se prueban conformaciones alfa y beta.

Characteristics	Silicatein (aminoácidos), Silafin y LongChain Polymaines
1. MM+ Molécula sola	Encontrar en la molécula:
2. MM+ Molécula con 5 $\text{Si}(\text{OH})_4$	1. una configuración de mínima energía.
3. MM+ Molécula con 5 $\text{Si}(\text{OH})_4$ y Agua	2. una configuración de mínima energía y simular los sitios de interacción del $(\text{SiOH})_4$.
4 y 5. PM3	3. Simular un medio hipotónico de $(\text{SiOH})_4$
Fragmento de molécula más cercano a $\text{Si}(\text{OH})_4$	4. Extraer de las simulaciones las porciones interactuantes con el $(\text{SiOH})_4$.
	5. Simular los espectros FTIR de la interacción molécula- $(\text{SiOH})_4$

3. Resultados

Hueso y diente

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

El tejido con apatita se distingue por tener una baja cantidad de material amorfo y de forma general está asociado a fibras de colágena. En nuestros estudios con microscopía de fuerza atómica de tejido dental, se pudo observar la fase de fibras (tal vez correspondiente a colágena tipo I) y la fase mineral (Figura 23).

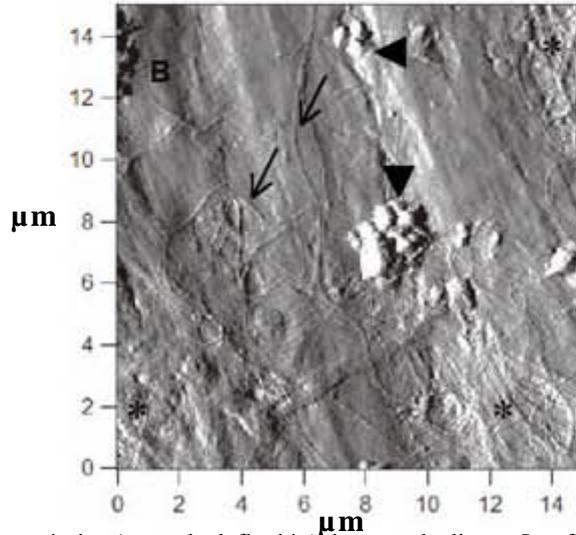


Figura 23. Micrografía de fuerza atómica (trazo de deflexión) de corte de diente. Las flechas señalan posibles fibras de colágena y los triángulos probables sitios de nucleación de la fase apatítica.

El análisis de la microestructura de este tejido no se hace aquí pues es una de las estructuras más estudiadas debido a su importancia médica. Con esto se quiere decir que las descripciones de la microestructura pueden encontrarse fácilmente en revistas especializadas en línea.

Otro de los aspectos importantes de estos tejidos (de Apatita-colágena tipo I), y que son discutidos en este trabajo son las interacciones entre ambas fases.

Calorimetría de Barrido Diferencial (CBD)

Uno de los resultados más importantes de este trabajo se obtuvo mediante la CBD (o DSC). Las muestras estudiadas son huesos y distintos extractos de colágena tipo I (ver Figura 24). Los picos exotérmicos se consideran aquí como debilitamiento de enlaces entre las fases (cristalina y amorfa). En hueso (Figura 22A) son los picos exotérmicos a $\approx 345^{\circ}\text{C}$ y el hombro a $\approx 445^{\circ}\text{C}$.

Para la colágena tipo I de hueso y la comercial (Figura 22B y C) respectivamente las exotermas características están a aprox. 180°C (para C), 210°C (para B), 300°C (C), 350°C (para B), 500°C (para C) y 550°C (para B) (obsérvese que normalmente la colágena Sigma reacciona a 50°C menos que la extraída del hueso).

No se pone el termograma de la apatita por que sus transiciones térmicas son a más de 1000°C ($\approx 1300^{\circ}\text{C}$).

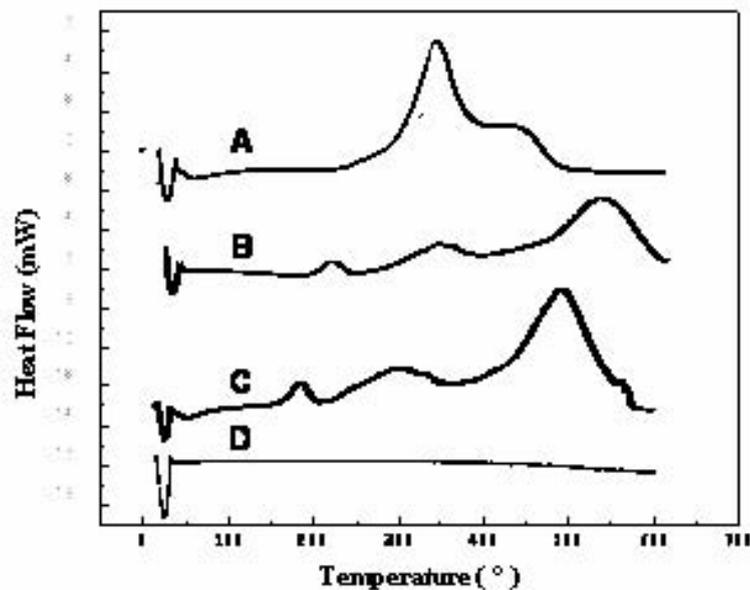


Figura 24. DSC de hueso y distintos extractos de colágena de este. A) Hueso sin tratamiento, B) Colágena extraída por calentamiento C) Colágena tipo uno comercial (Sigma-Aldrich C-9879) y D) Línea base.

Este resultado puede deberse a la interacción de la parte amorfa con la cristalina. Esta observación se basa en el hecho de que la temperatura de reacción máxima de la colágena es cercana a los 500°C y al estar asociada a la fase mineral esta disminuye hasta $\approx 340^\circ\text{C}$ manteniendo el valor de ΔH casi constante, que en este caso es de $\approx -8.0\text{ kJ/g}$. Esto quiere decir que la colágena tipo I que se quema en el hueso, reacciona antes que la misma molécula sin estar asociada a la fase mineral.

Espectroscopía Infrarroja

Mediante esta técnica se identificaron las bandas relacionadas a la parte protéica y la parte mineralizada en el tejido óseo (Fig 25 hueso) y en el extracto orgánico (Fig 25 colágena extraída de hueso). Con este análisis puede verse un aumento de la banda de la amida III ($\approx 1200\text{ cm}^{-1}$) y un aumento en la Amida II ($\approx 1550\text{ cm}^{-1}$) en relación a la amida I ($\approx 1680\text{ cm}^{-1}$), es decir, en el extracto orgánico la amida I y II son muy semejantes, mientras que en el tejido óseo la amida I es claramente mayor a la amida II. Esto sugiere una interacción entre los planos cristalinos de la apatita con porciones de la proteína quizás relacionados, a su vez, al enlace peptídico (ver también el apéndice de FT-IR para biopolímeros aminados).

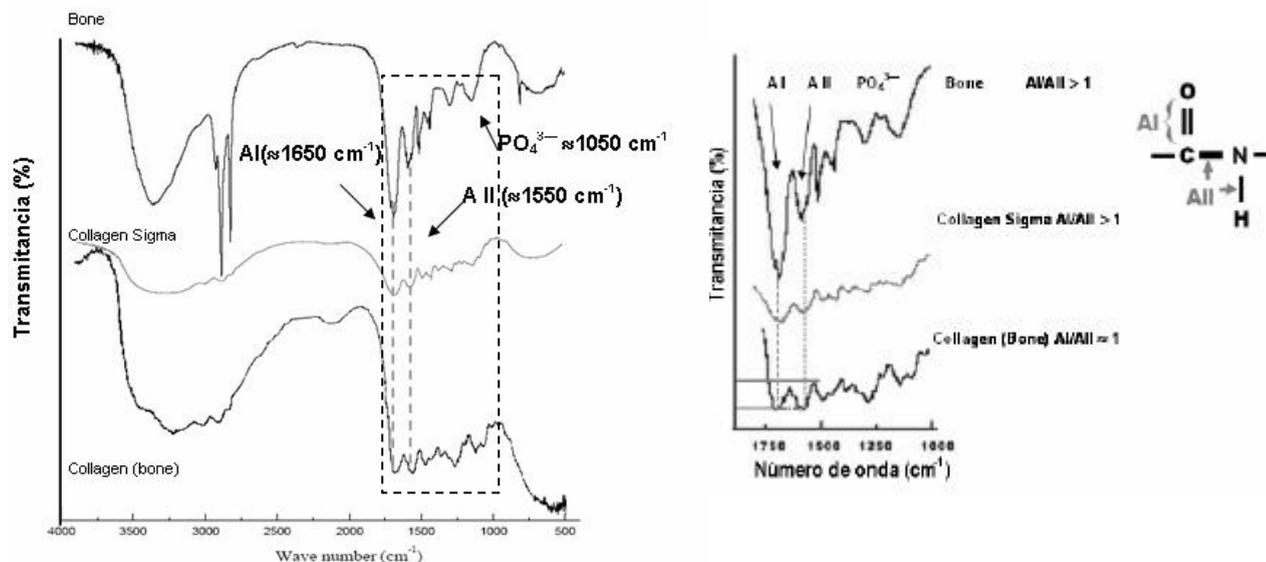


Figura 25. FT-IR de hueso, de colágena comercial y colágena extraída de hueso. A la izquierda puede verse el FTIR de la colágena extraída con la aparición de la banda de la amida III ($\approx 1200 \text{ cm}^{-1}$) y un aumento en la Amida II ($\approx 1550 \text{ cm}^{-1}$) en relación a la amida I ($\approx 1680 \text{ cm}^{-1}$). Esto puede dar indicios de la interacción HAp? Colágena tipo I. A la derecha una ampliación del cuadro discontinuo con una representación del enlace peptídico y las señales amida.

En el estudio del tejido óseo mediante FT-IR se observan cambios en las amidas II y III (Fig 25). Son dos bandas (ver Apéndice 2) que están relacionadas a los estiramientos fuera del plano para N-H, y estiramientos de N-C del enlace peptídico (esquema del enlace peptídico a la derecha). Esto querría decir tal vez que la interacción híbrida que da lugar a la unión apatita-colágena modifica alguno de estos enlaces. La reducción de la banda amida II (Figura 25 derecha) en hueso identificaría como probable sitio de interacción a la región del enlace peptídico.

Modelos Fisicoquímicos con Hyperchem

En los modelos de HyperChem para determinar las posibles interacciones del nanocrystal de Apatita con la fase colagénica se pudo observar que la energía de interacción favorece al plano (001) rico en calcio. Esto implica que en este modelo la fase polimérica debería tener cargas negativas, aunque fueran parciales. En este sentido, el modelo colagenoide ofrece los $\text{C}=\text{O}$ del enlace peptídico para acercarse a los Ca tipo 2 del plano de la apatita.

Las probabilidades de interacción entre los modelos de colágena y apatita tuvieron el siguiente orden:

$$(100) < (001)\text{PO}_4^{3-} < (001)\text{Ca}^{2+} \text{ (ver Figura 26a-c)}$$

Estos resultados son consistentes con la modificación de la banda relacionada a la amida II (Fig 26). Lo que podría indicar que esta interacción Ca^{2+} y parte del enlace peptídico se da en el tejido óseo.

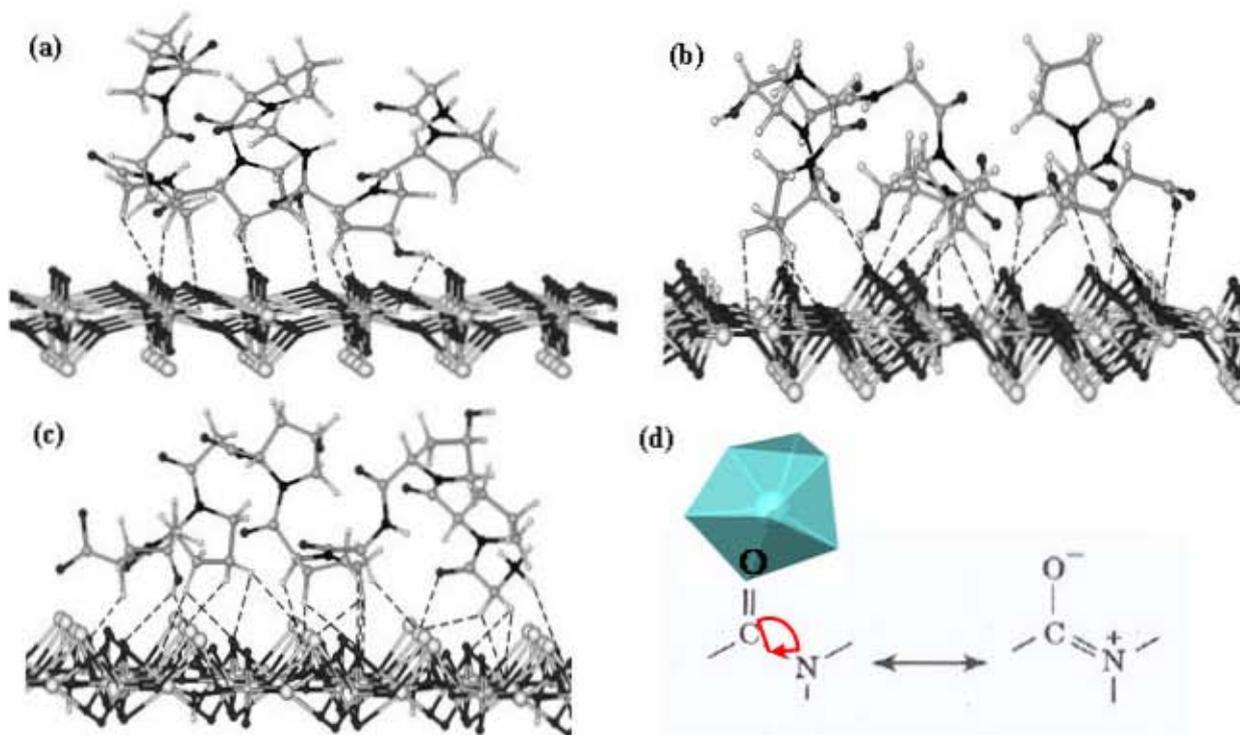


Figura 26. Fragmentos del modelo de interacción Apatita-colágena para MM+(a-c) y modificación del enlace peptídico (d). (a) Modelo del plano (100), (b,c) modelos de los planos (001), con fosfatos (b) y lados ricos en calcio (c). La figura (d) es un modelo de lo que ocurre con los electrones del enlace peptídico al interactuar con la fase cristalina, especialmente con los planos ricos en calcio; lo que es consistente con el estudio calorimétrico y de infrarrojo.

Cascarón de huevo de avestruz

Diffracción de rayos X (DRX)

En el cascarón de huevo de avestruz se observan dos distintos difractogramas que corresponden a la parte externa o cristalina y a la interna de conos y palos (Figura 25 izq. y der. respectivamente). Es posible observar que la disposición de cristales en la parte externa sea muy distinta a la parte interna. En el exterior, el eje *c* de los cristales es perpendicular a la superficie del cascarón.

En el interior, este eje es paralelo a la superficie. Posterior al calentamiento de la muestra hasta 550 °C el arreglo de los cristales cambia. Los cristales del interior se ordenan de igual forma que los cristales del exterior (Fig 27 y 28).

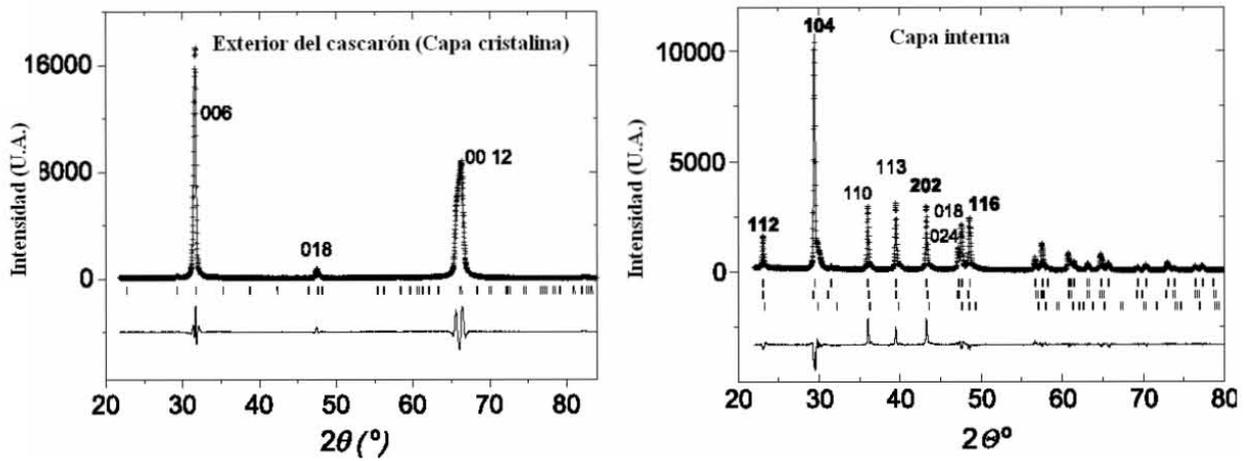


Figura 27. DRX de polvos en cascarón de huevo de avestruz. En ambas gráficas la línea sólida corresponde al resultado del refinamiento Rietveld y las cruces superpuestas a este, el resultado experimental. Del lado izquierdo, la capa externa o cristalina del cascarón de huevo y a la derecha la capa interna o capa en palizada y de conos. En la parte inferior la diferencia entre el refinamiento y lo experimental y las líneas verticales corresponden a las reflexiones de Bragg.



Figura 28. Esquema de las distintas capas del cascarón de huevo de avestruz antes y después del tratamiento térmico. La foto a la derecha de MEBBV.

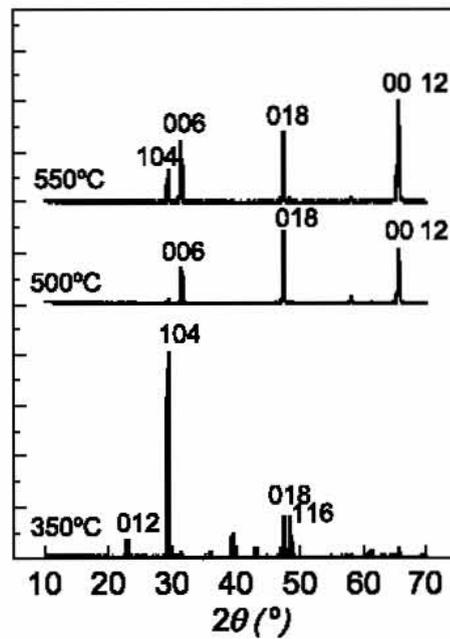


Figura 29. DRX de polvos en cascarón de huevo de avestruz bajo tratamientos a distintas temperaturas. Se observa un ordenamiento de los cristales al aumentar la temperatura.

Microscopía Electrónica de Transmisión

En MET, se observan cristales rodeados de un polímero (figura 30 A y B) que le confiere estabilidad al cristal cuando interactúa con el haz electrónico.

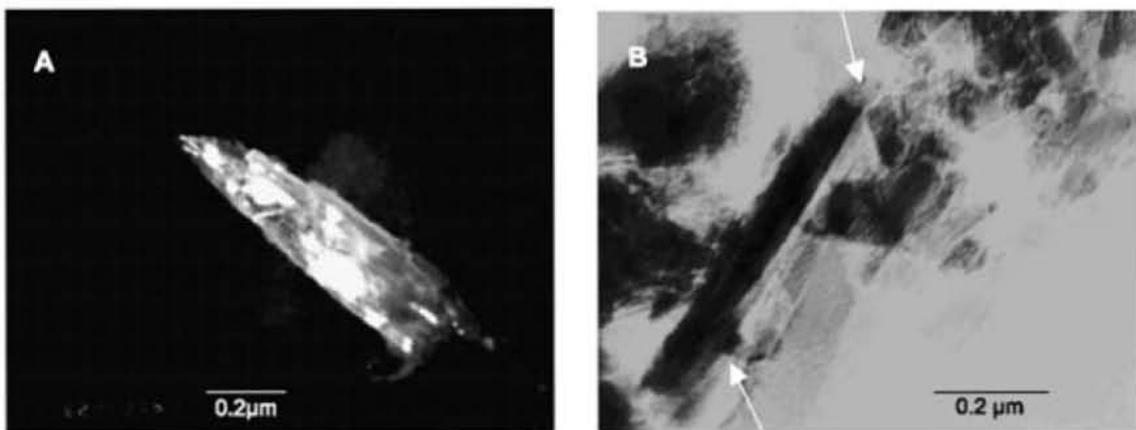


Figura 30. Micrografías de MET de muestras de cascarón de huevo de avestruz sin tratamiento. Los cristales de calcita corresponden a las regiones de cono y en palizada. A) Esta imagen de campo oscuro muestra cristales en una envoltura polimérica. B) En esta imagen de campo claro se muestra un cristal asociado a un biopolímero (flechas blancas). En este caso, el polímero le confiere estabilidad al cristal de calcita ante el haz de electrones.

Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)

En estas imágenes de MEBBV se puede observar, en las capas de conos y de palizada, cierta homogeneidad que posiblemente es dada por el biopolímero. Esto es posiblemente un indicador de que la mineralización es mediada por esta macromolécula aún no descrita. Sorprendentemente al ser tratada térmicamente hay un arreglo de la estructura (Fig 31). Este arreglo es coordinado quizás por el biopolímero en combustión.

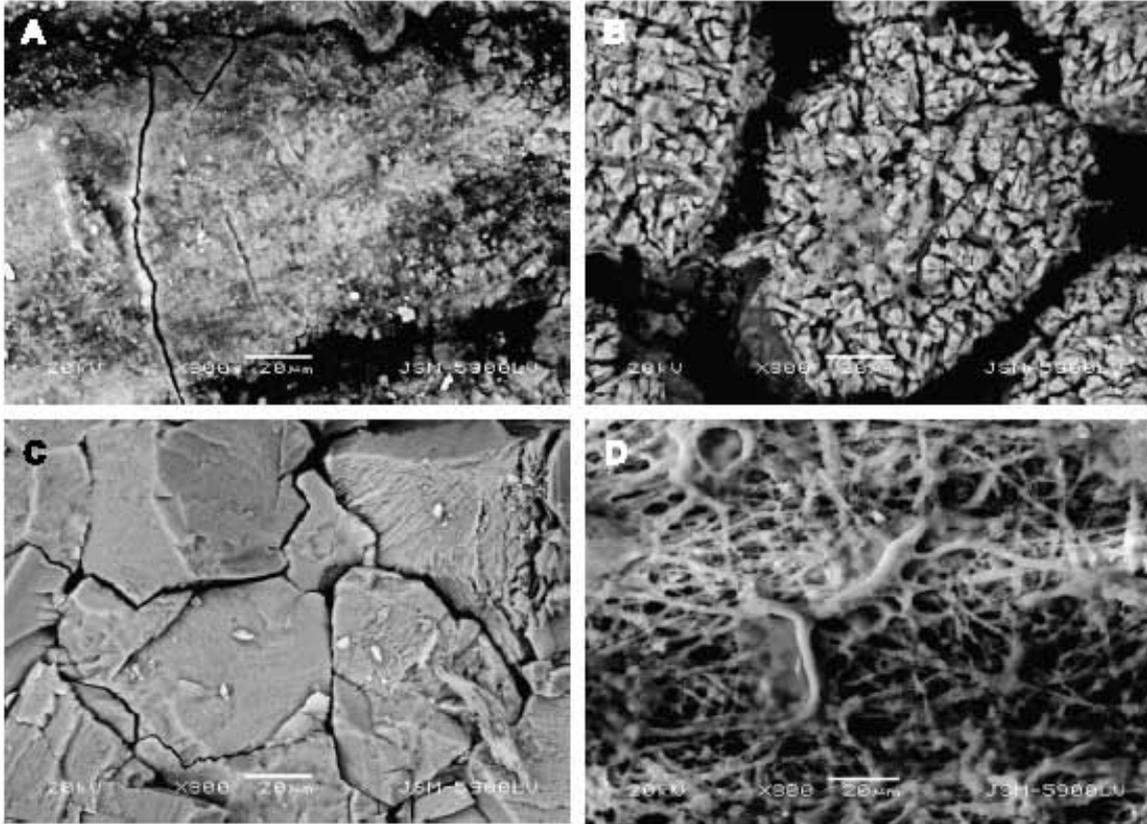


Figura 31. Micrografías de MEBBV de cascarón de huevo de avestruz sin y con tratamiento. A) Sin tratamiento, B) Calentada a 550° C por 30 min. C) Capa en palizada desprendida durante el calentamiento del cascarón completo y D) Polímero fibroso de la membrana orgánica. Para todos los casos la barra de escala = 20µm

En la figura 31 B se observa la estructura del cascarón de huevo una vez tratada a 550° C lo que quiere decir que la parte mineral que se observa son la caras *ab* de los cristales de calcita. En el análisis elemental se observa distinto contenido de C y N a distintas profundidades del cascarón, lo que indica tal vez que la cantidad de biopolímero varía dependiendo de la región (ver en Artículos publicados en revistas y extensos Heredia, *et al.* 2005 Mat Sci and Eng C).

Espectroscopía Infrarroja

El estudio por FT-IR muestra las típicas bandas para la calcita (CaCO_3) están marcadas en la Figura 32 como 2-5, 7 y 8, para C-H como 1 y para los fosfatos como 6 (Fig 32). Es notorio que la banda observada a 1655 cm^{-1} (amida II) esté asociada a las amidas de polisacáridos y proteínas.

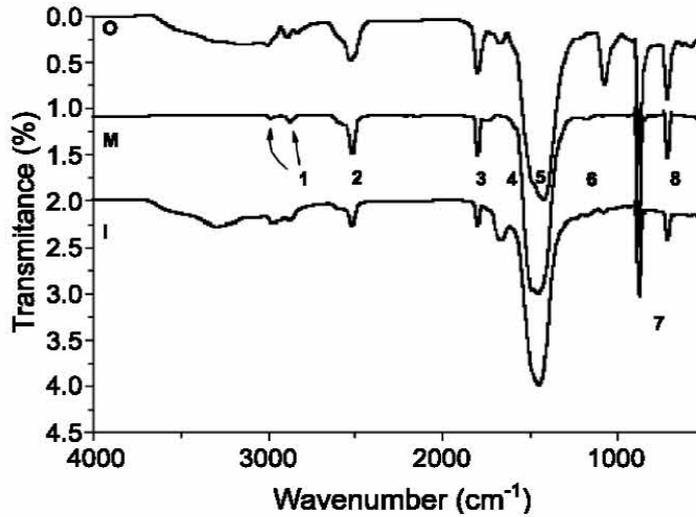


Figura 32. FT-IR de cascarón de huevo de avestruz a distintas profundidades. O) Capa externa, I) Capa interna y M) la separada durante el calentamiento. Bandas para la calcita, CaCO_3 son 2-5, 7 y 8 y para C-H la 1 y para los fosfatos la 6.

Exoesqueleto de Camarón

Difracción de rayos X (DRX)

En el exoesqueleto de camarón *Peneaus aztecus* sólo se encontró quitina- α y calcita, aunque no se desecha la posibilidad de que el difractograma (Fig. 33) de la quitina se sobreponga a minerales amorfos relacionados al calcio.

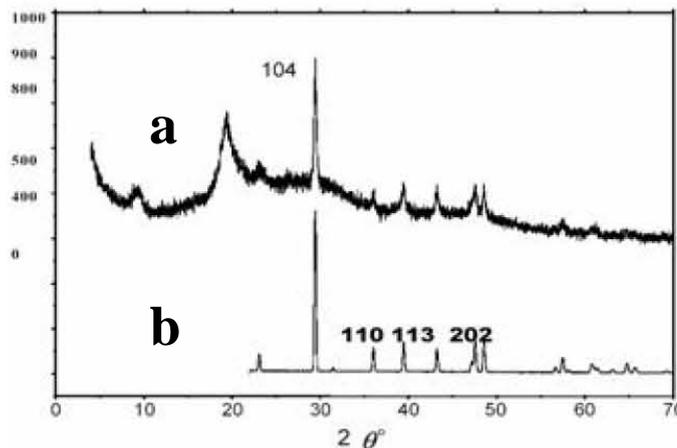


Figura 33. Difractograma de rayos X de: a) Polvo de las manchas blancas del exoesqueleto de camarón *P. aztecus* y b) Difractograma de la calcita. La contribución del amorfo se debe a la quitina- α . La mayor reflexión de la calcita corresponde al plano (104) aunque los cristales tengan forma esférica.

En este caso es importante recalcar que la estructura mineral de la calcita no es esférica, salvo algunas raras excepciones, lo que indica que el biopolímero (quitina- α) podría controlar el crecimiento de la estructura mineral

Microscopía Electrónica de Barrido de Bajo Vacío (MEBBV)

Esta técnica muestra que la fase mineral (calcita) está en forma de esférulas muy geométricas de tamaños entre 0.1 y 0.5 μm (Fig 34).

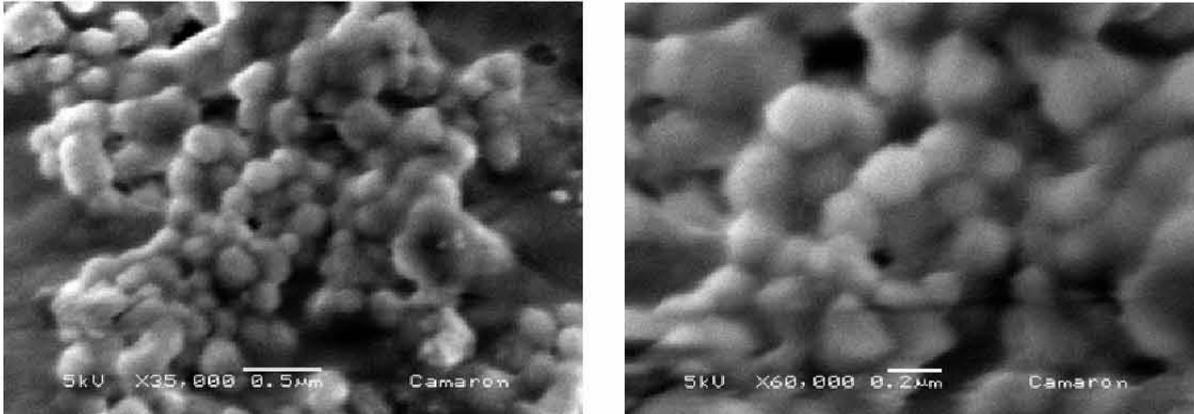


Figura 34. MEBBV de las esférulas de calcita del exoesqueleto del camarón *P. aztecus*. A la izquierda, el material cristalino sobre la fase amorfa de α -quitina; a la derecha, ampliación de la imagen. El tamaño de estas estructuras es generalmente entre 100-200 nm.

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Mediante AFM, se encontraron algunas diferencias en la topografía de las muestras dependiendo de la presencia o ausencia de manchas blancas. Las muestras con manchas blancas (fig 35) posee una topografía muy irregular con surcos distinguibles.

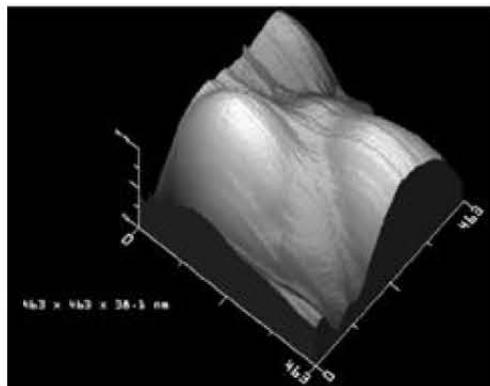


Figure 35. Imágenes de AFM de la topografía del exoesqueleto del camarón en una esférula de calcita. Distintas topografías y rasgos geométricos pueden ser encontrados dependiendo de la presencia o ausencia de cristales de calcita.

Las bandas paralelas en la imagen de MFA se deben a un efecto en el barrido. Esto se determina por que son completamente paralelas.

Espectroscopía Infrarroja

El espectro de FT-IR muestra toda la serie de bandas relacionadas a la calcita 2523, 1800, 1451, 880 y 719 cm^{-1} y a la α -quitina 3267, 2962 y 2891 cm^{-1} (Fig.36).

Bandas intensas son encontradas cerca de 1655 y 1555 cm^{-1} . Ambas son típicas de las amidas y son los estiramientos de los grupos carbonilos, por ejemplo los de la quitina ($\text{C}=\text{O}$, usualmente llamados ‘amida I’), y a dNH (‘amida II’), respectivamente. Comparando con el espectro de la muestra sin minerales (recuadro de la figura 36), se observa que los picos de las amidas y el estiramiento de los C-H en la muestra con minerales son menos pronunciados. Estas diferencias pueden ser debidas a la interacción del polímero con el cristal (3267 cm^{-1}).

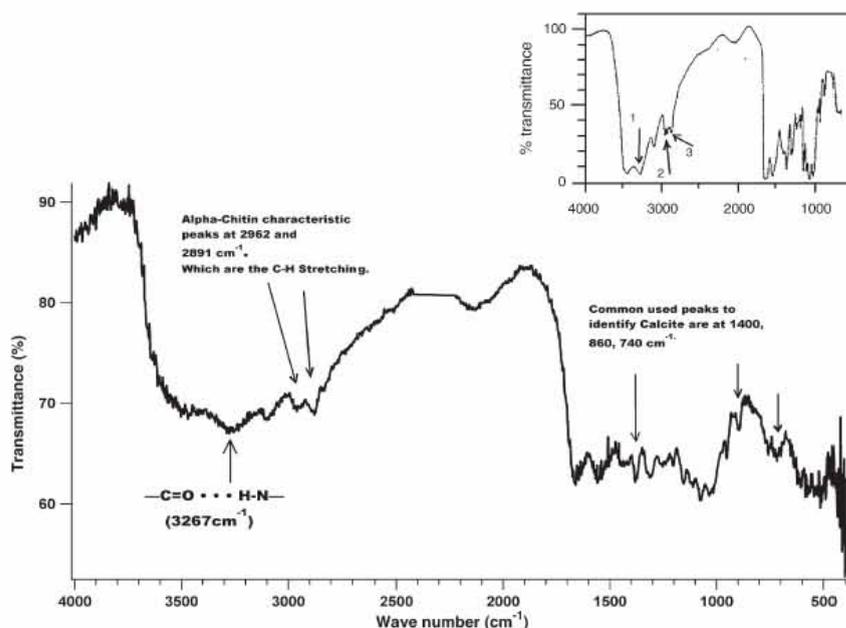


Figura 36. Espectro de FT-IR de exoesqueleto de camarón con minerales y (en el recuadro) sin minerales. Se muestra toda la serie de bandas relacionadas a la calcita 2523, 1800, 1451, 880 y 719 cm^{-1} y a la α -quitina 3267, 2962 y 2891 cm^{-1} .

Modelos Físicoquímicos con Hyperchem

La mínima energía para los distintos planos de la calcita se presentan en la tabla 5. La mayor estabilidad se encontró en el plano (104), lo que coincide con lo observado por otros autores. El siguiente plano con mayor energía de interacción a la macromolécula fue el (104) pero con otra orientación en la macromolécula.

Tabla 5. Energías de interacción entre distintas configuraciones macromoleculares y distintos planos cristalinos. El primer átomo de la lista representa una orientación de la macromolécula en que este átomo predomina, lo mismo para el caso de los planos cristalinos.

Crystal face	First element from the α -chitin and the second element from the crystal plane (in kcal mol ⁻¹)			
	O—Ca	H—Ca	H—CO ₂	O—CO ₂
100			16.96	2.15
001	-8.558	30.303	17.285	20.162
104 (Parallel)			2.05	-22.456
104 (Perpendicular)			17. 10.38	-19.09

En el modelo molecular con el mínimo de energía (-22.45 kcal/mol) hay dos tipos de interacciones de los recuadros A) La de los radicales —C=O con Ca^{2+} y B) —NH and CO_3^{2-} de la Figura 37.

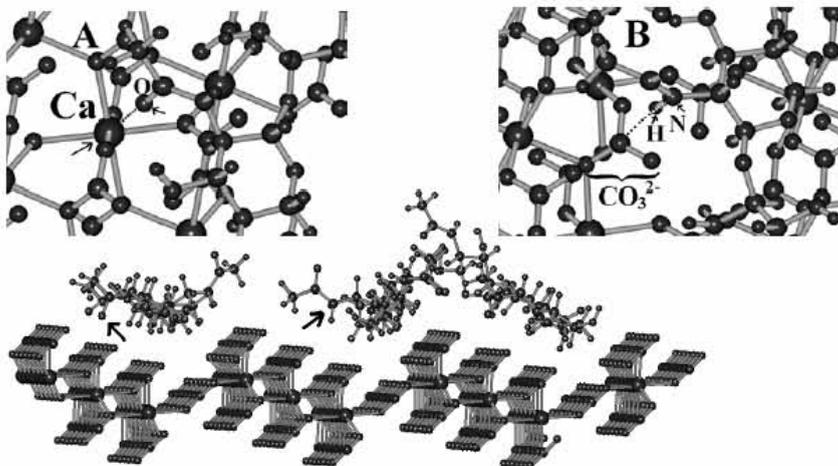


Figura 37. Interacciones cristal-amorfo de la configuración de mínima energía. A) La de los radicales —C=O con Ca^{2+} y B) —NH and CO_3^{2-}

Biosilificación (Diatomeas)

Espectroscopía Infrarroja

Los espectros infrarrojos del alga obtenidos experimentalmente (Fig 38, 39) muestran claramente las bandas (o picos) características de la amida I (esta corresponde casi exclusivamente a los estiramientos de los grupos C=O y su frecuencia se encuentra en el rango entre 1600 y 1700 cm^{-1}). La posición de esta banda está influenciada por la conformación del esqueleto covalente y el patrón de los enlaces hidrógeno), del enlace siloxano orgánico, silicato o tal vez Si—O—Si ($\approx 1100 \text{ cm}^{-1}$) y del silanol (Si—OH) que se localiza cerca de 990 cm^{-1} .

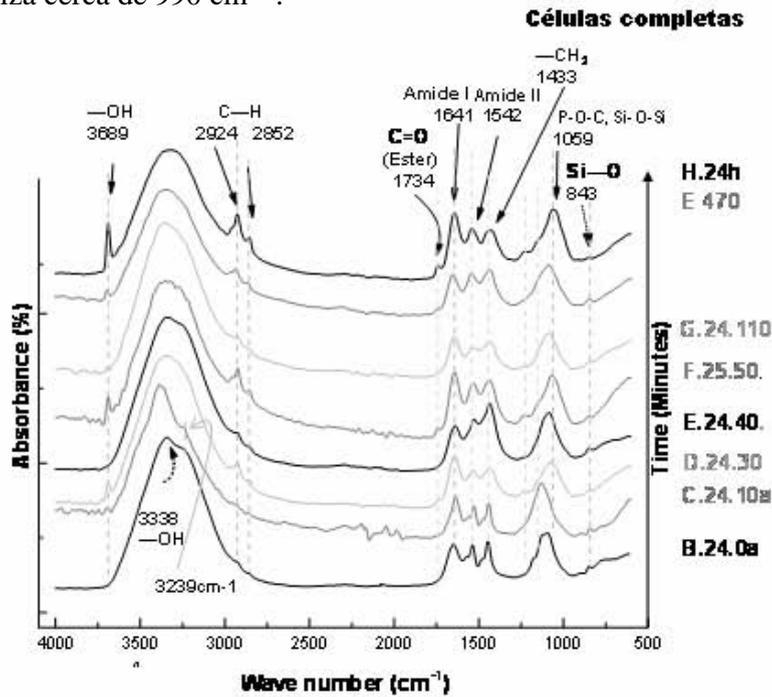


Figura 38. Espectro de FT-IR de células completas de la diatomeas *Navicula pelliculosa*. Se muestra la serie de bandas relacionadas al O-Si-O a 1106 y 840 cm^{-1} . La serie de bandas incluidas en la banda entre 3600 y 3000 cm^{-1} pueden estar relacionadas con los —OH del agua y del silanol aunque de algunos polisacáridos también. La banda marcada como 3689 indica que en esta muestra hay —OH sin puentes de hidrógeno. La banda más ancha, entre 3600 y 3000 cm^{-1} puede relacionarse a polisacáridos y —OH del agua y del silanol.

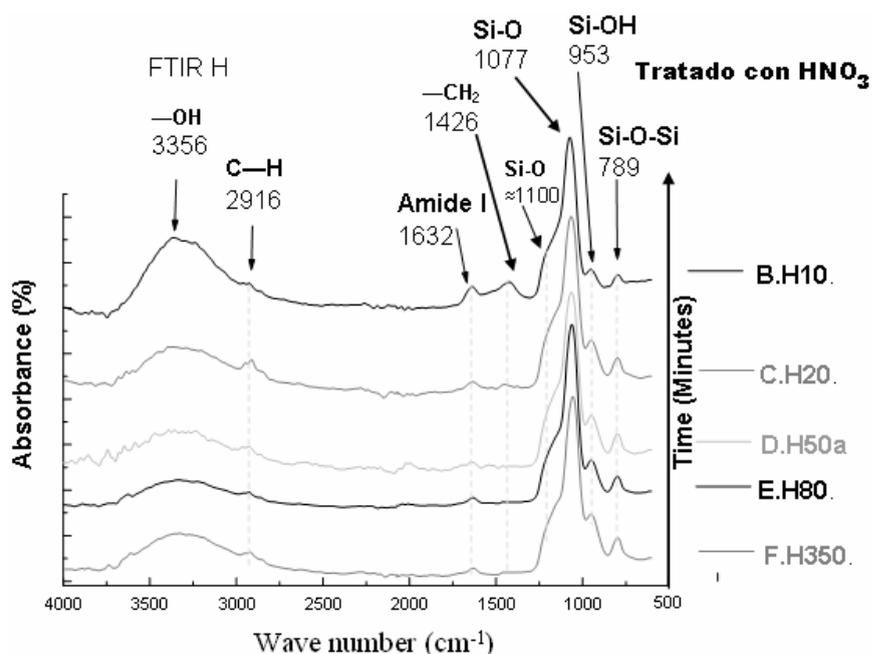


Figura 39. Espectro de FT-IR de las frústulas de *Navicula pelliculosa*. Se muestra la serie de bandas relacionadas al Si-O-Si a 1100, 1077 y 789 cm^{-1} . La serie de bandas incluidas en la banda entre 3600 y 3000 cm^{-1} están relacionadas con los —OH del agua y del silanol. Sorprendentemente la banda amida I sigue estando en el estudio; su origen debe ser discutido detenidamente pues tal vez esté relacionado a la micro- y nanoestructura de la frustula donde quedarían atrapados fragmentos del biopolímero.

Modelos Físicoquímicos con Hyperchem (MF)

La serie de números de onda de las bandas obtenidas mediante la simulación se muestran en la tabla 4. Estas bandas fueron simuladas poniendo en el método PM3 los grupos químicos mostrados. Esto podría tener errores de interpretación por dos motivos: El primero es que aunque el método PM3 es el que más se ajusta a los valores obtenidos experimentalmente (manual HyperChem), estos valores no son iguales y, por otro lado, los FT-IR de grupos funcionales no tienen influencia de otros grupos químicos que en la naturaleza modifican la posición de los picos en el espectro (Fig 41).

Tabla 6. Frecuencias (en cm^{-1}) obtenidas mediante simulaciones a partir de HyperChem 7.1. En estas frecuencias simuladas puede obtenerse información relacionada a la interacción $\text{SiO}_2/\text{Si(OH)}_4$ con la fase molecular (entre paréntesis los experimentales).

Grupo	Frecuencia (en cm^{-1})
Si—O—C	1627.5, 841.7, 579
Si—O	1030
C—O	2299
C—Si	1095
Si—N	1035
O—Si—O	1122
Si—O—Si	976, 866 (1080)

Tabla 7. Energías obtenidas de los modelos de interacción de distintas macromoléculas y los grupos SiO₂/Si(OH)₄.

Characteristics	Silicatein		Aminoácidos		Silafina		LongChain Polymaines			
	alternados- α	Polares- α	alternados β	Polares- β	α -helix	β -sheet	Heterogeneous	n=7	Homogeneous	n=7
MM+ Molécula sola	-43.3	-70.72 nc	10.85	-7.15 _{nc}	-287.68	-365.86	n=5 Heterogeneous us 104.2 _{nc}	122.4 nc	n=5 115.76 _c	(1.5ps) 86.4
MM+ Molécula con 5 Si(OH) ₄	-1768.45	-130.823	-3154.29	(7SiO ₃) -86.35 _{nc}	19171	229.18	62.89	24.42	115.76 n=5 homogéneo 5(Si(OH) ₄)C onvirgió 74.14 KCal/mol	43.02
MM+ Molécula con 5 Si(OH) ₄ y Agua	-1815.15 _{nc}	-1974.0 _{nc}	-2196.27 _{nc}	(0.3psec) -4585.84	-3713.18 nc	-3065.67 nc	-755.9 1.5pseg	-1896.82	-831.0.33 1.5pseg	-12155
PM3 Fragmento de molécula más cercano a Si(OH) ₄	IR				IR (no es una buena estructura)	IR	IR	IR	IR	IR

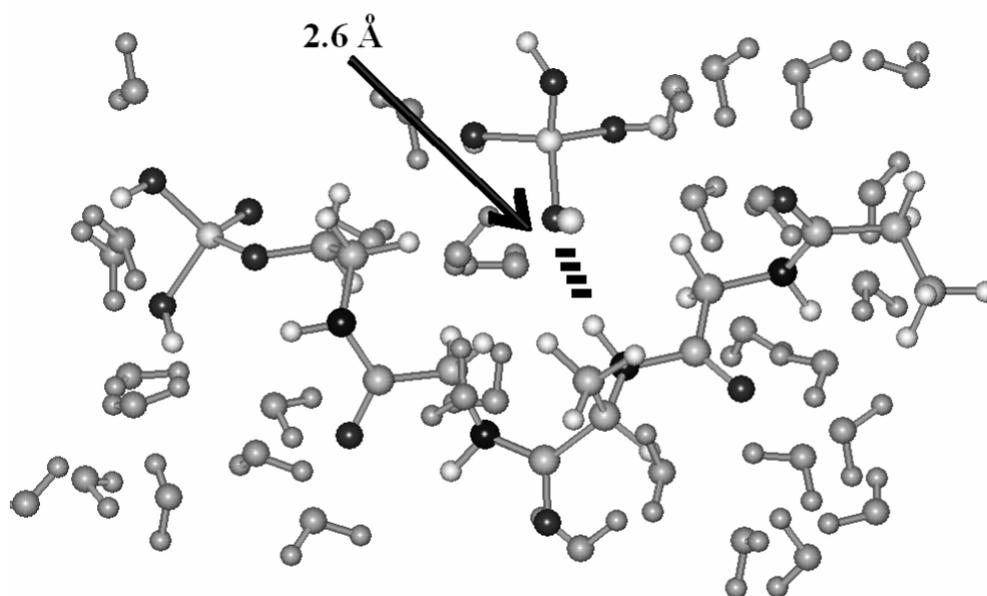


Figura 40. Simulación de la interacción de la silafina (Silaffin α -helix, los átomos negros centrales corresponden a carbonos de esta molécula) con una molécula de silanol (Si(OH)₄) en solución. La distancia entre ambas moléculas se señala con una flecha y las moléculas de agua se representan en color verde (la energía de interacción es ca. -3739.6 kcal/mol). En esta simulación la importancia de los grupos amino tienen gran afinidad a los grupos silanol.

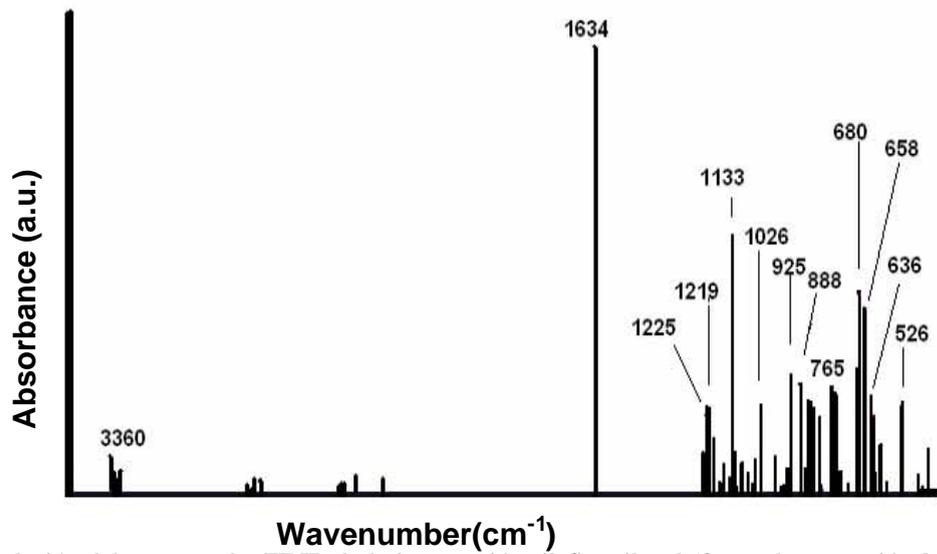


Figura 41. Simulación del espectro de FT-IR de la interacción silafina-silanol (factor de corrección 0.80). La serie de bandas relacionadas al SiO₂ se localizan entre los 1000 y 700 cm⁻¹. La serie de bandas cercanas a 3360 cm⁻¹ (muy pequeñas) pueden estar relacionadas con los —OH del agua y del silanol aunque de algunos CH también. La banda a 1634 corresponde a la amida I (1634 cm⁻¹). Esta simulación semeja a los resultados en el FTIR de las frústulas (fig 50) donde de la fase biopolimérica sobresale la amida I y un corrimiento en las bandas de los orgánicos.

Cristales Líquidos en la membrana de axones mielinizados

Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Los axones mielinizados y desmielinizados observados mediante AFM muestran diferencias en su topografía y estructura. Las diferencias más notables entre la topografía de los axones w (silvestre) y t (tembloroso) son las depresiones de los nodos de Ranvier en los w y la falta de estos en los t (ver Figura 42 a-d).

Las diferencias en rugosidad entre ambos tipos celulares pueden relacionarse también a las estructuras internas como puede ocurrir en otras células y especialmente en neuronas (Parpura V *et al.*, 1993, Radmacher M 2002, Melling, M. *et al.*, 2003, McNally, H A and Borgens R B 2004, Melling, M., *et al.*, 2001, Henderson E, *et al.*, 1992).

En los mapas de fuerza los axones w tienen un cambio de MY en el nodo de Ranvier y en los t no se puede apreciar regionalización de estas propiedades.

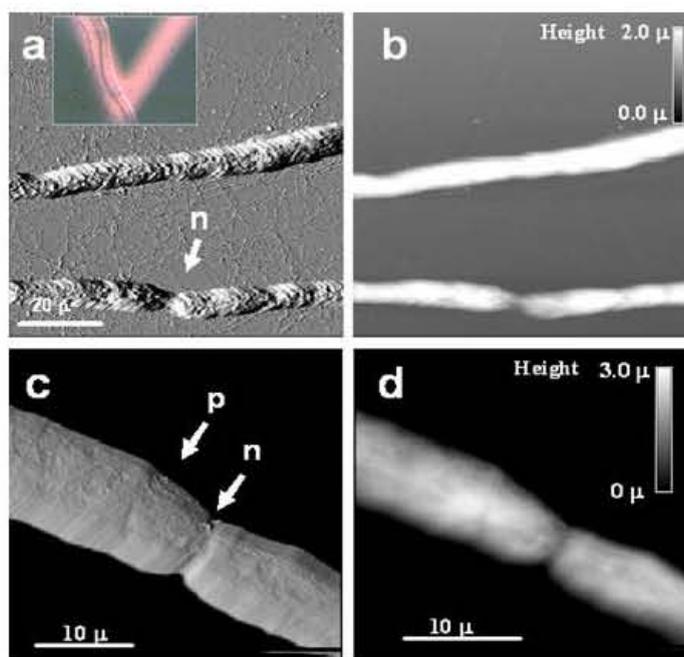


Figure 42. Imágenes de AFM (modo de contacto) de un axón mielinizado. La n indica nodo de Ranvier y p región perinodal. a) es la imagen de deflexión y en el recuadro una imagen de microscopía óptica b) Es la imagen de las alturas, las regiones más claras son las más altas. c y d son la imagen de deflexión y alturas, para la región nodal, respectivamente.

También se observan regiones con módulos de elasticidad de 22 KPa, lo que indicaría que el contenido molecular de estas estructuras podría estar relacionado a procesos altamente dinámicos (Fig 42, 43 y 44). A estas estructuras se les llama dominios axonales o bandas de Cajal, aunque no hay realmente un acuerdo en su nombre.

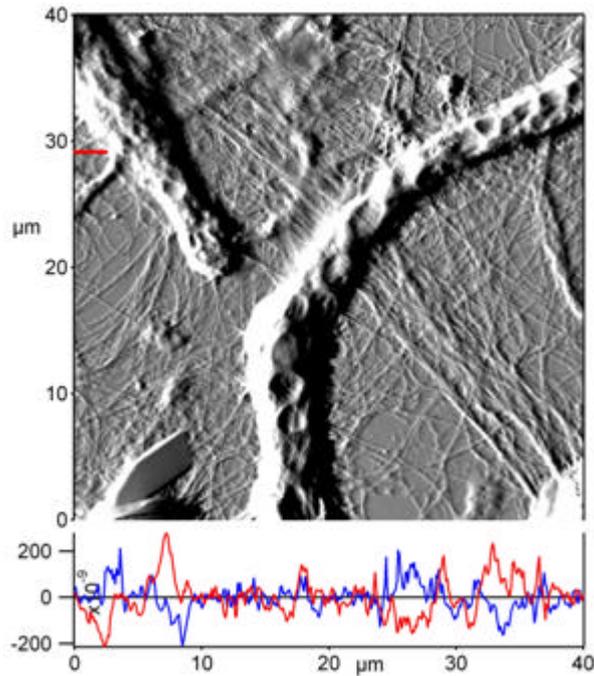


Figura 43. Dominios estructurales de la membrana de células de Schwann. Estos dominios estructurales refuerzan la tesis de que estas estructuras son cristales líquidos. Estas estructuras son denominadas bandas de Cajal

Mapas de Fuerza

En los mapas de fuerza de dos axones, uno w y otro t se aprecia que hay diferencias en la elasticidad en distintas regiones. El axón es más elástico en las regiones del nodo de Ranvier y también sobre las bandas de Cajal.

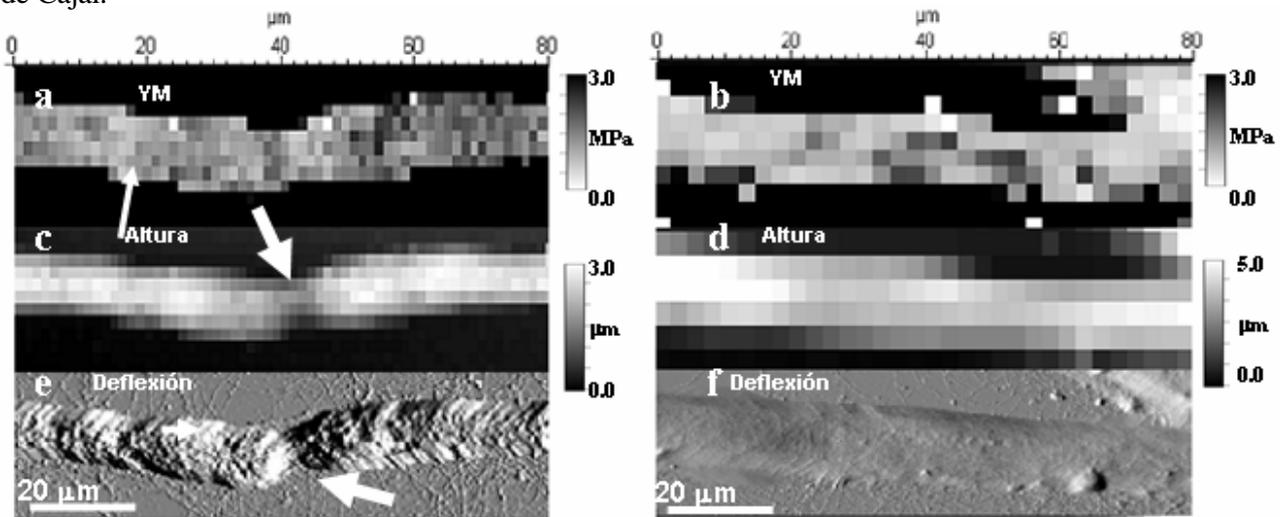


Figura 44. Imágenes de AFM y mapas de fuerza. A la izquierda el axón w y a la derecha el t. (a, b) mapas de fuerza (elasticidad, lo más oscuro es lo más duro y lo más suave, lo más claro) (c, d) en el modo también de mapas de fuerza (este caso la altura, lo más claro es lo más alto y lo más bajo es lo más oscuro) y (e, f) la imagen del trazo de la deflexión.

DISCUSIÓN

Hueso y Diente

El hecho de que se discuta la forma de los cristales de apatita en el tejido óseo y la dirección de su crecimiento o el papel que juegan los distintos iones en su morfología sólo nos dice que es poco conocido el por qué del origen de la morfología de los cristallitos de apatita.

El caso de la interacción del cristal de apatita con la parte biopolimérica no es menos compleja. Basados en los resultados que dicen que los cristales de apatita crecen en dirección del eje c y los espectros infrarrojo de cada una de las fases en el tejido óseo, podemos intuir que el calcio de la fase mineral y las regiones aminadas de la fase biopolimérica son de gran importancia en la interacción híbrida. Los resultados de los estudios calorimétricos refuerzan esta hipótesis al tener una disminución en la entalpía de combustión de la fase de colágena. Al existir este cambio en la entalpía de combustión de la fase de colágena se llega a otra hipótesis de más relevancia: la fase cristalina modifica la estructura electrónica de la fase de colágena en alguna región de electrones resonantes. Para este caso, el único candidato resulta ser el enlace peptídico. El modelaje molecular MM+ fortalece esta propuesta en dos sentidos. Uno de ellos es el crecimiento y orientación de los cristales de apatita que es el de mínima energía y es la relación del plano c con la molécula y por otra parte el acercamiento del Ca^{2+} a la región del enlace peptídico, que podría modificar la estructura electrónica de este.

Cascarón de huevo de avestruz

La compleja estratigrafía del cascarón de huevo de avestruz y su contenido orgánico no hacen posible alguna interpretación rápida de esta estructura. La porción orgánica puede corresponder a un polisacárido semejante a la quitina y esto se deduce de la banda relacionada a las aminas. En caso de ser una proteína el espectro de FTIR presentaría otras bandas características de los péptidos. Es importante recalcar que la presencia de esta molécula modifica la estabilidad térmica de los cristallitos de calcita al hacer experimentos de MET. En este caso se observan cristales de calcita bien definidos que normalmente están asociados a una capa orgánica. En estos experimentos se observó que estos cristallitos son más estables al haz de electrones, lo que podría indicar una interacción química entre la porción orgánica y la inorgánica. Por otro lado, el calentamiento hasta 550°C separa claramente al cascarón en dos capas, lo que nos hace creer que el biopolímero está relacionado a la interacción de ambas capas.

Exoesqueleto de camarón

Los FTIR de esta estructura muestran las bandas relacionadas a la calcita así como a la α -quitina. Al comparar el espectro de la muestra de quitina asociada a la calcita y la que no lo está apreciamos diferencias en la intensidad del pico correspondiente al estiramiento C-H, que en la muestra con manchas de mineral es menos pronunciada y se presta a una amplia discusión. Esto puede ser el resultado de la interacción orgánica—inorgánica (híbrida), en la que el ambiente orgánico está menos ordenado con respecto a la quitina sin minerales, orientándose algunos átomos hacia la superficie del cristal (por ejemplo la banda a 3267 cm^{-1}). Esta suposición se refuerza mediante el modelado molecular pues se encuentra que la interacción de menor energía (o de mayor estabilidad) es justamente la que reproduce esta interacción. Esta interacción de mínima energía resulta del plano (104) con la fase biopolimérica en los grupos O del biopolímero con el CO_3 del cristal. Esto se refuerza con los datos experimentales en los que el primer plano cristalino inhibido por la interacción con macromoléculas es justamente el (104). De los experimentos de AFM se infiere que la estructura cristalina puede estar bajo el control de la macromolecular mediante la interacción de estos ciertos grupos funcionales a los iones.

Biosilificación

Los espectros infrarrojos del alga obtenidos experimentalmente (Fig 38 y 39) muestran claramente las bandas (o picos) características de la amida I y II (estiramientos de los grupos C=O, entre 1600 y 1700 cm^{-1}). La posición de esta banda está influenciada por la conformación del esqueleto covalente y el patrón de los enlaces de hidrógeno, del enlace siloxano orgánico, silicato o tal vez Si—O—Si ($\approx 1100 \text{ cm}^{-1}$) y del silanol (Si—OH) que se localiza cerca de 953 cm^{-1} . Sorprendentemente se produce una molécula a ciertos tiempos que interactúa con la biosilica y esto se ve por las bandas a 3680 cm^{-1} . Las energías de interacción de algunos grupos se presentan en la Tabla 8. En el modelado se observa un acercamiento de $\text{Si}(\text{OH})_4$ a una región rica en >NH, lo que es otro indicio de que este tipo de enlace se puede dar. Una evidencia de que este enlace puede estar presente, es la banda de estiramiento cercana a 879 cm^{-1} .

Membranas de Axones mielinizados de ratón

La neurona mielinizada es más elástica en las regiones de Ranvier que en el resto de la estructura, lo que se podría deber a un tipo específico de macromoléculas en estas regiones (*e.g.* canales iónicos). Esta observación indica que la membrana de la célula de Schwann sí presenta dominios en donde es más elástico, por lo que sí presenta un comportamiento de cristal líquido.

CONCLUSIÓN

Las estructuras estudiadas aquí son altamente jerárquicas y fueron formadas mediante la acción de uno o varios biopolímeros bien estructurados. Estos biopolímeros posiblemente sirvan de templetas para iones inorgánicos, y en las estructuras híbridas, las regiones ligadas a aminos. Es de gran importancia, según nuestros modelos, la distribución geométrica de grupos “captadores” de iones inorgánicos, pues es de esta forma que se obtiene una determinada fase mineral. En caso de que sea una fase mineral no cristalina (ópalo), los poliedros de coordinación que poseen una distribución determinada a mayor escala es lo que establecerá la formación del biomineral, esto al inicio de la formación del biomineral. En relación a su mantenimiento, podemos decir que también hay moléculas que permanecen interactuando con el mineral biológico para impedir su degradación ambiental o fisiológica. Saber si una molécula que se encuentra interactuando con un biomineral está relacionada a su mineralización o a su mantenimiento es un gran problema, pues hacer estudios dependientes del tiempo implica saber en qué momento una molécula es mineralizada y si esta molécula permanece en el mineral *a posteriori*. Un ejemplo de este tipo de estudios y que, como se explica en el texto, es bastante novedoso es el caso de las diatomeas. En el caso de estas algas el estudio ofreció resultados sorprendentes debido a que es un sistema de menor complejidad estructural. En este sistema (lo que en un futuro puede tener implicaciones en otros biominerales) presumiblemente hay distintos tipos de enlaces híbridos.

Referencias

- Addadi L, Weiner S (1985) Interactions between acidic proteins and crystals: stereochemical requirements in biomineralization *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **82**:4110-4
- Alonso, J.L. & Goldmann, W.H. (2003) Feeling the forces: atomic force microscopy in cell biology. *Life Sci.* **72**, 2553–2560
- Arroyo E.J. and Scherer S.S. (2000) On the molecular architecture of myelinated fibers *Histochem Cell Biol* **113**:1–18
- Bai J, Zeng X. C., Tanaka H and Zeng J. Y. (2004) Metallic single-walled silicon nanotubes *PNAS* **101**: 2664-2668pp
- Bell, M. S. Horz F. and Zolensky M. E (2002) Deformation Effects in Experimentally Shocked Iceland Spar. *Lunar and Planetary Science XXXIII*.
- Bergenton PR (1998) The Physical Basis of Biochemistry. The Foundations of Molecular Biophysics. Springer. USA
- Cha J. N., G. D. Stucky, D. E. Morse and T. J. Deming,(2000) Biomimetic synthesis of ordered structures mediated by bbck copolypeptides, *Nature*, (403) 289
- Checa AG and Rodríguez-Navarro, AB (2005) Self-organisation of nacre in the shells of Pterioidea (Bivalvia: Mollusca) *Biomaterials* **26** 1071–1079.
- Degens, ET, (1989) Perspectives on Biogeochemistry. Springer, Berlin.
- Darci M.S. Esquivel, Eliane Wajnberg, Geraldo R. Cernicchiaro, Daniel Acosta-Avalos, and B.E. Garcia (2002) Magnetic Material Arrangement in *Apis mellifera* Abdomens. *MRS Proceedings* **724** N7.2
- Estroff LA and Hamilton AD, (2001) At the Interface of Organic and Inorganic Chemistry: Bioinspired Synthesis of Composite Materials *Chem. Mater.*, **13** (10), 3227 -3235Pp
- Feng Q. L., Zhu, X., Li H. D. and Kim T. N. (2001) Crystal orientation regulation in ostrich eggshells *Journal of Crystal Growth* **233** (3) 548-554 pp
- Foresman JB and Frisch (1998) AE Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods 2a Ed.
- García-Ruiz, J. M, Rodriguez Navarro A. and Kälin O. (1995) Textural analysis of eggshells *Materials Science and Engineering: C*, **3** (2) Pp 95-100
- Heredia, A, Rodríguez-Hernández, A.G, Lozano, L.F, Peña-Rico, M.A, Velázquez, R., Basiuk, V.A and Bucio, L. 2004 Microstructure and thermal change of texture of calcite crystals in ostrich eggshell *Struthio camelus*. *Materials Science and Engineering C* **25** (1) 1-91 Pp

Jimenez-Lopez, C, Rodriguez-Navarro, A., Dominguez-Vera, JM. and Garcia-Ruiz, JM (2003) Influence of lysozyme on the precipitation of calcium carbonate: a kinetic and morphologic study *Geochimica et Cosmochimica Acta*, **67**, (9) 1667-1676 Pp

Kovac N, Faganeli , J, Bajt ,O, Sket ,B, Orel ,B, Penna, N (2004) Chemical composition of macroaggregates in the northern Adriatic sea. *Organic Geochemistry* **35** 1095–1104 pp

Kröger, N., Deutzmann R and Sumper M (2001) Silica-precipitating Peptides from Diatoms. *The Journal of Biological Chemistry*. **276**, (28) pp. 26066–26070.

LeGeros, Z. Racquel, Trautz, R. O., LeGeros, J. P. Klein, E. & Shirra, W.P. 1967. Apatite Crystallites: Effects of Carbonate on Morfology. *Nature*, **155**, marzo 17

H. A. Lowenstam. (1981) Minerals formed by organisms *Science* **211** 1126.

Mann, S. (2001) Biomineralization. Oxford.

Mann K y Siedler F, 2004, Ostrich (*Struthio camelus*) eggshell matrix contains two different C-type lectin-like proteins. Isolation, amino acid sequence, and posttranslational modifications. *Biochimica et Biophysica Acta* (BBA) - Proteins & Proteomics **1696** (1) 41-50 Pp

Manoli F., Kanakis J., Malkaj P., Dalas E. (2002) The effect of aminoacids on the crystal growth of calcium carbonate. *Journal of Crystal Growth* **236** 363–370.

Marin F and Luquet G (2005) Molluscan biomineralization: The proteinaceous shell constituents of *Pinna nobilis* L. *Materials Science and Engineering: C* **25** (2) 105-111 pp

Merry, J.C., Gibson, I.R., Best, S.M. & Bonfield, W. 1998. Synthesis and characterization of carbonate hydroxyapatite. *Journ. Of Mat. Sci.: Materials in Med.* **9**, 779-783Pp

Nys Y., Gautron J., Garcia-Ruiz, J.M. and Hincke M.T. (2004) Avian eggshell mineralization: biochemical and functional characterization of matrix proteins *Comptes Rendus Palevol*, **3**, 549-562 Pp

Ozin, G.A., Varaksa, N., Coombs,N., Davies, J.E., Perovic, D.D. & Ziliox,M. 1997. Bone mimetics: a composite of hydroxyapatite and calcium dodecylphosphate lamellar phase. *J. Mater. Chem.* **7** (8), 1601-1607Pp

Perry CC and Keeling-Tucker T (2000) Biosilicification:the role of the organic matrix in structure control. *J. Biol. Inorg. Chem.* **5**: 537-550 Pp

Reyes e Hinojosa, 2000 La estructura de sólidos amorfos. *Ingenierías* **3** (9)

Rodríguez-Carvajal, J (1981) FULLPROF program for Rietveld refinement and pattern matching analysis (unpublished). The program is a strongly modified version of that described by Wiles, D. B. and Young, R. A. *J. Appl. Cryst.* **14** 149-151.

Scherer, 1997 Molecular Genetics Minireview of Demyelination: New Wrinkles on an Old Membrane. *Neuron*, **18**, 13–16pp

Scherer, S.S. (2000) Schwann Cells. In: *Nature Encyclopedia of Life Sciences*. London: Nature Publishing Group.

T.E. Schäffer, C. Ionescu-Zanetti, R. Proksch, M. Fritz, D.A. Walters, N. Almqvist, C.M. Zaremba, A.M. Belcher, B.L. Smith, G.D. Stucky, D.E. Morse and P.K. Hansma, 1997 Does Abalone Nacre Form by Heteroepitaxial Nucleation or by Growth through Mineral Bridges? *Chem. Mater.*, **9** 1731-1740pp

Sherwood, D. 1976 *Crystals, X-rays and Proteins*. London: Longman.

Simpson, T. L. & Volcani, B. E. 1981. Silicon and Siliceous Structures in Biological Systems. Springer-Verlag, New York, 587 pp.

Sposito, G, Skipper, NT, Sutton R, Park S, Soper AK, and Greathouse JA (1999) Surface geochemistry of the clay minerals *PNAS* **96** (7) 3358-3364Pp

Stollberg, R. and Fitch, F. 1975. Física. Fundamentos y fronteras” México. Publicaciones Cultural

Sunkara MK, Sharma S, Chandrasekaran, H, Talbott, M., Krogman K and Bhimarasetti G (2004) Bulk synthesis of a-SixNyH and a-SixOy straight and coiled nanowires *J. Mater. Chem.*, **1** (4) 590–594pp

Trapp, B.D. Kidd, G.J., Hauer, P. Mulrenin, E., Haney, C. A. and Andrews C A. (1995) Polarization of Myelinating Schwann Cell Surface Membranes: Role of Microtubules and the Trans-Golgi Network. *The Journal of Neuroscience*, March **15**(3): 1797-1807Pp

Viani, M.B., T.E. Schäffer, A. Chand, M. Rief, H.E. Gaub and P.K. Hansma (1999) Small cantilevers for force spectroscopy of single molecules. *J. Appl. Phys.* **86**, 2258-2262pp

Weiner, S. & Traub, W. (1986) Organization of Hydroxyapatite crystals within collagen fibrils. *FEBS Letters*. **206** (2)

Weiner, S., Traub, W. & Wagner, H.D. (1999) Lamellar Bone: Structure-Function Relations. *Journal Of structural Biology* **126**, 241-255Pp

Yang L., Zhang X., Liao Z., Guo Y., Hu Z and Cao Y. 2003. Interfacial molecular recognition between polysaccharides and calcium carbonate during crystallization. *Journal of Inorganic Biochemistry*, **97** (4) 377-383Pp

Zallen, R. 1983 *The Physics of Amorphous* Wiley Interscience. London

Zapanta-LeGeros, R. (1965) Effect of Carbonate on the Lattice Parameters of Apatite. *Nature*. (4982) April 24.

Zapanta-LeGeros, R. (1991) *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Ed Karger, Basel