



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERIA DE MATERIALES

SINTESIS DE NANOFIBRAS DE HIDROXIAPATITA MEDIANTE EL METODO DE MICROONDAS

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIA E INGENIERIA DE MATERIALES

PRESENTA:
JOSÉ SALOMÓN CERVANTES MEDINA

TUTOR PRINCIPAL:
DR. ERIC MAURICIO RIVERA MUÑOZ
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA, UNAM

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. LUIS MIGUEL APATIGA CASTRO
CENTRO DE FÍSICA APLICADA Y TECNOLOGÍA AVANZADA, UNAM
DR. RODRIGO RAFAEL VELAZQUEZ CASTILLO
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE QUERETARO

MÉXICO, D.F. JULIO DE 2015



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.

RESUMEN

El hueso es el tejido que caracteriza a los vertebrados, el cual sirve como soporte, protege partes y órganos delicados proporcionando así conexión entre músculos; está compuesto por una fase orgánica, la cual en su mayoría corresponde a colágeno, y una fase mineral, compuesta a su vez principalmente de cristales de hidroxiapatita (HAp).

Con el objetivo de contribuir con el desarrollo de una posible solución de este tipo de afecciones, mediante el desarrollo de investigaciones que aporten información sobre mejores materiales, que puedan promover una rápida sanación de las partes dañadas, se sintetizaron nanoestructuras de hidroxiapatita mediante el método de microondas, el cual es muy versátil y permite tener un control de la morfología del material sintetizado.

Las muestras obtenidas del material cerámico se caracterizaron mediante difracción de rayos-X (DRX), espectroscopia Infrarroja por transformada de fourier (FTIR), espectroscopia de fluorescencia de rayos – X (FRX), microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Los resultados obtenidos mediante DRX, FTIR y FRX confirman la obtención de HAp de una manera satisfactoria. Los resultados obtenidos mediante MEB muestran que se logró la obtención de las nanofibras de HAp en material sintetizado.

Se obtuvo un material cerámico nanoestructurado formado por fibras de hidroxiapatita, el cual puede funcionar como punto de partida para una posible aplicación biomédica en la fabricación de biocerámicas o de recubrimientos en metales.

Mediante la variación de la concentración de ácido glutámico y de las condiciones de reacción, fue posible obtener un control de la morfología de las nanoestructuras, obteniendo nanoplacas, nanocintas y nanofibras.

SUMMARY

The bone tissue is characterized vertebrates, which serves as support parts and protects delicate organs thereby providing connection between muscles; it consists of an organic phase, which mainly corresponds to collagen and a mineral phase consisting primarily turn of hydroxyapatite crystals (HAp).

With the aim of contributing to the development of a possible solution of this type of disease, by developing research to provide information on best materials, which can promote rapid healing of damaged parts, hydroxyapatite nanostructures were synthesized by the method microwave, which allow for better mechanical properties in the final material.

The samples obtained were characterized the ceramic diffraction (XRD) X-ray, infrared fourier transform spectroscopy (FTIR), ray fluorescence spectroscopy - X electron microscopy (XRF), scanning electron microscopy (SEM) and transmission (MET). The results obtained by XRD, FTIR and XRF confirmed HAp obtaining a satisfactory manner.

A nanostructured ceramic material, consisting of hydroxyapatite fibers, was obtained and which can function as a starting point for potential biomedical applications in the manufacture of bioceramics or metal coatings.

By varying the concentration of glutamic acid and the reaction conditions, it was possible to obtain a control of the morphology of nanostructures, obtaining nanoplates, nanoribbons and nanofibers.

Agradecimientos

El autor desea expresar su más sincero agradecimiento a su tutor el Dr. Eric Rivera Muñoz, por su dirección para llevar a cabo este proyecto, y a los miembros del comité tutor, el Dr. Rodrigo Velázquez Castillo y el Dr. Miguel Apátiga Castro, por su colaboración en la preparación de este manuscrito.

También agradezco al CFATA y al Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales por la oportunidad de realizar mis estudios de maestría, para llevar a cabo una superación tanto en mi vida personal como en mi vida intelectual.

Quiero agradecer al laboratorio de materiales la Universidad Autónoma de Querétaro, que me permitió la realización de parte del trabajo experimental de mi proyecto de maestría, el cual se presenta en esta tesis.

Agradezco todo el apoyo por parte del CENAM y al M. en C. José Luis Cabrera por permitirme realizar análisis de microscopía electrónica. Agradezco al Dr. Rodrigo Esparza por su apoyo en la realización de los análisis de HRTEM, así como a la M. en C.Q. Alicia del Real López, quien me brindó su ayuda tanto en pruebas de SEM como de EDS. A la Dra. Genoveva Hernández Padrón, por su ayuda en los análisis de FTIR.

Me permito agradecer al CONACYT por el apoyo económico brindado durante mis estudios de maestría.

Por último al proyecto DGAPA PAPIIT IN107311 y al Fondo de salud CONACyT-IMSS-ISSSTE-SSA 2013-01-201329, por el financiamiento para la realización del presente trabajo.

DEDICATORIAS

Un agradecimiento a mi madre Ma. Del Perpetuo Socorro Medina Ramírez y a mi padre Salomón Cervantes Rodríguez, por brindarme tanto su apoyo como cariño y motivación en cada uno de mis ciclos educativos, por creer en mi hoy y siempre a lo largo de mi vida; a mis hermanos Oscar Cervantes Medina y Abraham Cervantes Medina por ayudarme y apoyarme en los momentos poco placenteros, así como diferentes recuerdos que dejaron, dejan y dejarán marcada una vida llena de dicha, cariño y amor; a familiares y amigos sinceros que a lo largo de mis estudios estuvieron al pendiente de mi esfuerzo y dieron su apoyo, alegría y consejo en todo momento.

Por último, agradezco a Dios, por haberme brindado la oportunidad de salir adelante con su ayuda en cada situación difícil de mi vida, como los que transcurrieron en mis estudios de Maestría, ya que sin Él no hubiera concluido mis estudios, en los cuales amplio mi conocimiento y conocido a tantas nuevas buenas personas, sobre todo a los amigos que nunca me abandonaron en momentos de sufrimiento, demostrando así que siempre podré contar con ellos.

ÍNDICE

Introducción	1
I. Marco teórico	4
1.1 Biomateriales	4
1.1.1 Biomateriales cerámicos	7
1.2 Tejido Óseo	9
1.2.1 Composición del Tejido Óseo	10
1.3 Fase mineral	12
1.3.1 Fosfatos de Calcio	13
1.3.2 Hidroxiapatita	14
II- Antecedentes	20
III- Justificación	22
IV- Hipótesis	23
V- Objetivos	23
5.1 Objetivo general	23
5.2 Objetivos particulares	23
VI- Métodos y técnicas de caracterización	24
6.1 Síntesis	24
6.2 Técnicas de caracterización	27
6.2.1 Difracción de rayos-X (DRX)	27
6.2.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	30
6.2.3 Espectroscopia de Fluorescencia Atómica	32
6.2.4 Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)	34
6.2.5 Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)	38
VII- Resultados y discusiones	40
7.1 Resultados de Difracción de Rayos-X (DRX)	40
7.2 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	42
7.3 Espectroscopia de Fluorescencia Atómica	43
7.4 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	44
7.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)	53
VIII- Conclusiones	57
IX- Perspectivas futuras	58
X- Referencias	59

INTRODUCCIÓN

El empleo de materiales extraños al ser humano para ser utilizados como implantes dentro o fuera del organismo no es nuevo. A mediados del siglo XIX se intentaron reparaciones de diversas partes del cuerpo humano utilizando los materiales disponibles de acuerdo al avance tecnológico de la época; desafortunadamente, dichos materiales eran principalmente basados en cobre y bronce, mismos que sufrían una severa corrosión dentro del ambiente del organismo humano, provocando infecciones que ponían en riesgo la vida de los pacientes⁽¹⁾.

El tema de los biomateriales tiene un auge indiscutible. Más de cincuenta millones de personas en todo el mundo tienen implantado algún tipo de prótesis. Utilizar biomateriales para la reconstrucción de partes dañadas del cuerpo humano es una realidad y es también un hecho bien conocido en nuestra sociedad. Lo que hoy denominamos ciencia de los materiales es muy reciente, sin embargo su uso data de tiempos remotos, hace ya más de 2000 años de antigüedad donde se indica la intervención y sustitución de material óseo: romanos, chinos y aztecas empleaban el oro en cirugías dentales.

“Biomaterial” se ha definido de diversas formas; una de ellas lo considera como un material diseñado para actuar interfacialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo⁽²⁾.

Por otra parte, en la “European Society for Biomaterials Consensus Conference” se definió a un biomaterial como un material o sustancia, utilizado solo o en la fabricación de un dispositivo médico encaminado a interactuar con los tejidos humanos para monitorear funciones del cuerpo o para tratar condiciones patológicas del mismo⁽¹⁾.

Una conferencia de consenso sobre definiciones en el campo de biomateriales, celebrada en Chester (Reino Unido) en 1991, consensuó una definición de biomaterial más amplia y ajustada al mismo tiempo: “un material diseñado para actuar

interfacialmente con sistemas biológicos con el fin de evaluar, tratar, aumentar o reemplazar algún tejido, órgano o función del cuerpo”⁽³⁾.

En resumen, podemos considerar biomaterial a cualquier material que tiene una aplicación biomédica. El material podría tener un uso terapéutico; por ejemplo, en el tratamiento de una lesión o una enfermedad. O bien, podría servir para diagnóstico, como parte de un sistema para la identificar una enfermedad o para vigilar una cantidad, como el nivel de glucosa en la sangre.

Sea terapéutico o diagnóstico el uso, el biomaterial está en contacto con fluidos biológicos, y debe poseer propiedades que satisfagan las exigencias de esa aplicación. Las características más importantes que influyen en la decisión de escoger un biomaterial dado son la biocompatibilidad, requisitos físicos y requisitos químicos.

Un organismo sano cuyos órganos funcionan adecuadamente constituye el estado ideal del ser humano. Desdichadamente, el estado de buena salud puede alterarse por múltiples causas. Unas inherentes al propio organismo, como consecuencia de defectos congénitos y otras de origen muy diverso, como la avanzada edad, enfermedades, accidentes, etc., pero en definitiva provoca una alteración en el funcionamiento de los órganos que se manifiesta mediante una sintomatología bien definida clínicamente en la mayoría de los casos. Las alteraciones se tratan de corregir clínicamente mediante la administración de fármacos, quirúrgicamente mediante la extracción parcial o total de los órganos afectados, implantación de dispositivos y órganos artificiales, trasplantes de órganos o mediante la modificación y adaptación de hábitos y régimen de vida que permitan y ofrezcan al paciente una calidad de vida lo más aceptable posible.

Los compuestos que se denominan biomateriales pueden agruparse en dos grandes bloques según su procedencia: artificiales o biomédicos y naturales o biológicos. Dentro de los compuestos artificiales se encuentran los metales, los cerámicos, los polímeros y los composites, formados por más de un componente incorporado en una matriz metálica, cerámica u orgánica. En cuanto a los de origen

natural se incluyen proteínas, como colágeno o elastina, y polisacáridos como la quinina. En cuanto al grupo de los materiales cerámicos se incluyen normalmente el óxido de aluminio (Al_2O_3), óxido de circonio (ZrO_2), óxido de titanio (TiO_2), vidrios y vidrios cerámicos.

Estos biomateriales pueden ser bioinertes (como los antes mencionados) o bien bioactivos, en el sentido de que permiten una respuesta biológica específica en su interface, permitiendo la formación de enlaces entre el tejido y el propio material. Tal es el caso del fosfato de calcio denominado Hidroxiapatita (HAp), que, como se analizará más adelante, es el principal constituyente de la fase mineral que forma los huesos, y que es capaz de formar enlaces con el hueso vivo cuando se utiliza como biomaterial o como recubrimiento de prótesis metálicas. Este tipo de biomateriales se emplean en prótesis ortopédicas, implantes dentales, cirugía maxilofacial o como cementos óseos para relleno de huesos.

En el presente trabajo se presenta la síntesis de nanofibras de hidroxiapatita mediante el método de microondas, donde se analiza el efecto de los precursores, su concentración y las variables del proceso en la morfología de las nanoestructuras obtenidas. Asimismo, se realiza una caracterización físicoquímica y estructural, de las nanoestructuras obtenidas, mediante las técnicas de Difracción de rayos – X, Microscopía electrónica de barrido y de transmisión de alta resolución, Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier y Espectroscopía de fluorescencia atómica.

I- Marco Teórico

1.1 Biomateriales

Todas las definiciones de biomaterial incluyen la palabra “material”, lo cual indica una sustancia generalmente de consistencia sólida usada para confeccionar un objeto, el cual puede consistir de materiales vivos (injerto) o no vivos (implantes).

Los materiales vivos (injertos) y los materiales no vivos (implantes) cumplen la misma función en el cuerpo humano que conlleva a la finalidad de reconstruir, remplazar y/o restaurar partes de éste.

La diferencia entre los dos tipos de materiales es que los injertos están constituidos por células vivas transferidas de una zona donante a otra receptora (por lo regular de la misma especie) y los materiales no vivos están constituidos por materiales sintéticos o naturales con la intervención de la mano de obra humana ⁽¹⁾.

Como se mencionó anteriormente, las características más importantes que influyen en la decisión de escoger un biomaterial dado son biocompatibilidad, requisitos físicos y requisitos químicos.

Biocompatibilidad.- los sistemas vivos, sobre todo los animales, tienen un complejo sistema de protección contra la invasión de otros organismos. Nuestro cuerpo tiene una capacidad increíble para determinar si un objeto es material propio del cuerpo o si es ajeno. Algunos materiales son más biocompatibles; es decir se integran más fácilmente al cuerpo sin reacciones inflamatorias. Se dice que un material es “no biocompatible” si es tóxico y/o causa la muerte del tejido vecino.

Requisitos físicos.- por lo regular, un biomaterial debe cumplir con requisitos muy estrictos. Por ejemplo, una válvula artificial para el corazón debe abrirse y cerrarse entre 70 y 80 veces por minuto, día tras día, durante muchos años; si la válvula tiene una esperanza de vida de unos 20 años, esto implica unos 750 millones de ciclos de apertura y cierre.

Requisitos químicos.- los biomateriales deben ser de grado médico, es decir, deben contar con aprobación para usarse en una aplicación médica dada. Todos los ingredientes presentes en un biomaterial de grado médico deben ser inocuos durante toda la vida de la aplicación ⁽⁴⁾.

A grandes rasgos, los biomateriales se pueden clasificar según se muestra en la Tabla 1, haciendo una revisión general de sus ventajas, desventajas y aplicaciones.

Tabla 1. Clasificación de los biomateriales ⁽¹⁾

Material	Ventajas	Desventajas	Principales Aplicaciones
Polímeros Silastic, Teflón, Dacrón, Nylon, PMMA, Polietileno de alto peso molecular, Silicón, Poliéster, Polipropileno, Politetraflouroetileno	Fáciles de fabricar. Baja densidad.	Baja resistencia mecánica, Se degradan fácilmente.	Saturas, arterias, cementos, tendones artificiales, dientes, orejas y nariz, ligamentos, implantes mamarios, válvulas cardiacas, implantes testiculares, lentes intraoculares
Metales Aceros 316, 316L; Aleaciones de Ti, Aleaciones Cr-Co, Aleaciones Cr-Co-Mo Vitallium, Tantalio, Plata Cobalto F-75	Alta resistencia mecánica al desgaste y al impacto. Ductibilidad	Baja biocompatibilidad, corrosión en el ambiente fisiológico; propiedades mecánicas que difieren de las de los tejidos biológicos.	Grapas, placas y alambres, prótesis totales de articulación, implantes dentales, implantes de pene, mallas faciales reconstructivas, placas de cráneo.
Cerámicos Óxidos de aluminio, aluminatos de calcio, Óxidos de titanio, Fosfatos de calcio, Carbón, Bioglass.	Alta biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, alta resistencia a la compresión, inertes, bajas conductividades térmicas y eléctricas	Baja resistencia al impacto, falta de reproducibilidad de propiedades, dificultad de procesamiento y fabricación.	Partes dentales, recubrimientos, relleno de hueso, endoscopia, herramientas y equipo médico, implantes otológicos.
Compositos Metales con recubrimientos cerámicos, Materiales recubiertos con carbón.	Alta biocompatibilidad, resistencia a la corrosión, inertes.	Falta de consistencia y reproducibilidad en la fabricación.	Válvulas cardiacas, implante de rodilla, articulaciones artificiales, implante de cadera.
Materiales Naturales Colágeno, tejido humano preservado, ácido hialurónico, injertos.	Disponibilidad en el cuerpo humano, biocompatibilidad.	Posible rechazo del organismo huésped.	Reemplazo o aumento de tejidos suaves y duros, protectores para cornea, injertos vasculares, tendones y ligamentos, válvulas cardiacas, lubricantes oftalmológicos, reemplazo de líquido sinovial.

1.1.1 Biomateriales cerámicos

Los cerámicos son materiales no metálicos e inorgánicos con una estructura cristalina, obtenidos en general con aplicación de altas temperaturas y presiones ⁽⁵⁾. Como se menciona en la Tabla 1. Clasificación de los biomateriales ⁽¹⁾, los biomateriales cerámicos se emplean en relleno de huesos, partes dentales, así como en implantes de cadera, válvulas cardiacas, etc. Esto nos lleva a la clasificación que se muestra en la Tabla 2, de algunos biomateriales cerámicos que se han utilizado en aplicaciones médicas.

Tabla 2 ⁽⁵⁾ Clasificación de biomateriales cerámicos mas comunes.

Cerámicos	Formula Química	Comentario
Alúmina	Al_2O_3	Bioinertes
Zirconia	ZrO_2	
Carbón pirolítico	C	
Biovidrio	$Na_2OCaOP_2O_3-SiO$	Bioactivo
Hidroxiapatita (sinterizada a altas temperaturas)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	
Hidroxiapatita (sinterizada a bajas temperaturas)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	Biodegradable
Fosfato tricalcico	$Ca_3(PO_4)_2$	

La clasificación de los materiales cerámicos sintetizados se realiza conforme a la manera de interactuar de los materiales con el organismo humano en Bioinertes, Bioactivos y Biodegradables.

Bioinertes: se refieren a los materiales que conservan su estructura dentro el cuerpo después de la implantación y no producen ninguna reacción inmunológica hacia el huésped ⁽⁵⁾.

Bioactivos: Se refiere a la capacidad de los materiales de reaccionar con las células y de enlazar el colágeno. Los resultados obtenidos con las cerámicas biactivas en la experimentación animal son atractivos, pero hasta ahora no se han confirmado en humanos ⁽⁶⁾.

Biodegradable: se refiere a materiales que se degradan dentro del cuerpo mientras estos son reemplazados por la regeneración natural del tejido; los productos químicos de los materiales degradados son absorbidos y desechados del cuerpo mediante un proceso metabólico ⁽⁵⁾.

Aún con las consideraciones anteriores, se deben de tener en cuenta las propiedades mecánicas de los cerámicos para poder llevar a cabo un uso correcto del material, evitando así las fallas dentro del organismo. En la Tabla 3 ^(1,7) se muestran algunos de los materiales cerámicos más importantes, así como el tejido óseo natural, con sus respectivas propiedades mecánicas.

Tabla 3 ^(1,7) Propiedades mecánicas de los biomateriales cerámicos más comunes.

	Modulo de Young (GPa)	Resistencia a la compresión (MPa)	Resistencia a la tensión (MPa)	Resistencia a la Flexión (MPa)
Alúmina	380-400	4000-5000	350	400-560
Zirconia	150-190	1750	-----	150-700
Carbón pirolítico	17-28	900	200	340-520
Hidroxiapatita	7-13	350-450	38-48	100-120
Fosfato tricalcico	40-117	120	-----	-----
Hueso esponjoso	50-100 Mpa	5.62±2.37	-----	-----
Hueso cortical	17-20	171.67±17.53	-----	-----

Las propiedades mecánicas de compresión con las que cuenta la hidroxiapatita son muy pobres en comparación a otros tipos de biomateriales utilizados en la actualidad (alúmina y zirconia), debido a esto, los investigadores se han visto en la necesidad de tener que implementar nuevas técnicas de formación de ésta para poder mejorar sus propiedades mecánicas.

En algunos casos se realizan recubrimientos de piezas metálicas con hidroxiapatita para poder obtener un material compuesto, el cual nos permitirá aumentar las propiedades mecánicas del biomaterial.

1.2 Tejido Óseo

El tejido óseo es una forma especializada de tejido conjuntivo, el cual está compuesto por células y matriz extracelular. La característica que distingue al tejido óseo de los otros tejidos conjuntivos es la mineralización de su matriz, la cual produce un tejido muy duro capaz de proveer sostén y protección ⁽⁸⁾. Dicho material es el tejido especializado que caracteriza a los animales vertebrados. El tejido óseo está compuesto por una fase mineral que ocupa un 69% de su peso total, un 9% de agua y un 22% de una matriz orgánica; dicha matriz orgánica se compone básicamente de colágeno (90-96 %) (Figura 1).

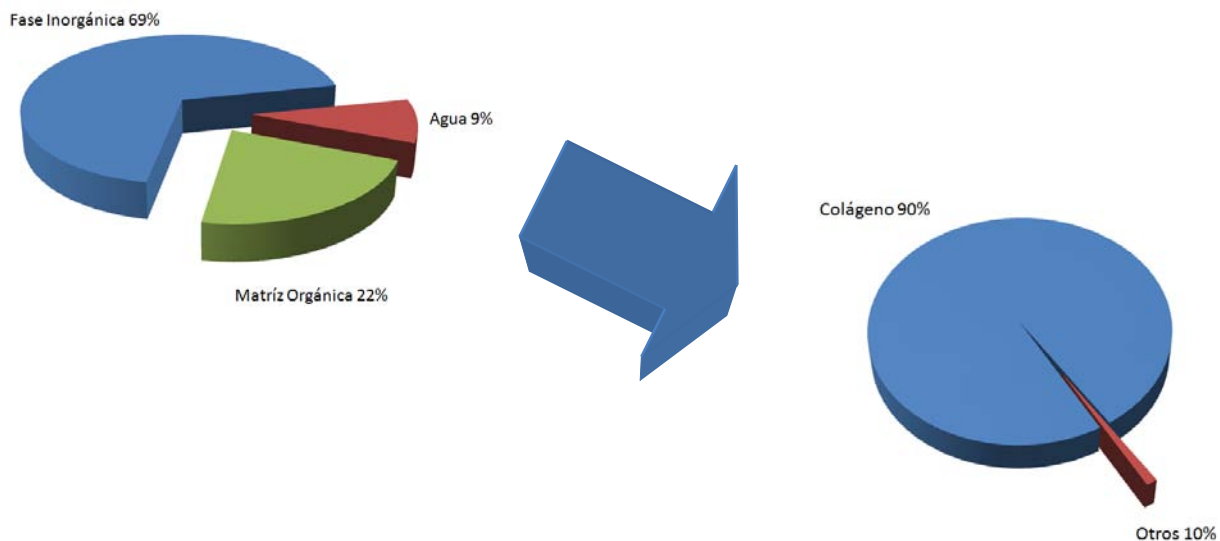


Figura 1. Diagrama de distribución de los constituyentes del tejido óseo.

El tejido óseo se clasifica a su vez en compacto (denso) y esponjoso (trabeculado). Al llevar a cabo el análisis de la superficie de corte de un hueso se pueden identificar las 2 estructuras del tejido óseo.

Una capa densa y compacta forma la superficie ósea externa (tejido óseo compacto) mientras que una malla de aspecto esponjoso compuesta por trabéculas (delgadas espículas de tejido óseo anastomosadas) forma la parte interna del hueso (tejido óseo

esponjoso). Los espacios que hay en la malla están comunicados y, en los seres vivos, contienen la medula y vasos sanguíneos ⁽⁸⁾.

1.2.1 Composición del Tejido Óseo

La composición del tejido óseo se puede resumir en la tabla 4 que se muestra a continuación:

Tabla 4 ⁽¹⁾ Composición del tejido óseo.

Componente	% en peso	% en volumen
Mineral Hidroxiapatita carbonatada, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_6\text{OH}$ (~80%) Carbonatos de calcio (~15%) Otras sales minerales (~5%)	70 M	45
Orgánico Colágena tipo I (~90%) Glicoproteínas Fosfoproteínas Proteoglicanos Osteonectina Proteína Gla ósea (osteocalcina) Proteína Gla de la matriz (con ácido γ -carboxiglutámico) Osteopontina Proteína morfogenética ósea	20 M	33
Agua	10	22

M= Componente mayoritario

Desde un punto de vista más completo, el hueso puede ser considerado con un ensamble de distintos niveles, en los cuales se consideran siete unidades estructurales jerárquicas desde la macro, micro y nanoescala para cumplir con numerosas funciones (Figura 2). Además, todos estos niveles de huesos permanentemente interactúan con células y macromoléculas biológicas.

En el nivel nanoestructural, cristales tipo placa diminuta de apatita biológica en hueso están presentes dentro de espacios discretos y forman diminutas fibras de colágeno que crecen con una orientación cristalina específica a lo largo de los ejes c de la estructura, los cuales son aproximadamente paralelos a los ejes largos de las diminutas fibras de colágeno.

Las dimensiones de cristales de apatita biológicas reportadas en la literatura varían debido a los diferentes métodos de tratamiento y a las técnicas analíticas; estas dimensiones están generalmente alrededor de niveles nanométricos con valores en los intervalos de 30-50 nm (longitud), 15-30 nm (ancho) y 2-10 nm (espesor) ⁽⁹⁾.

En la Figura 2 se muestra, a manera de ejemplo, la presencia de los distintos niveles de organización estructural del tejido óseo de un vertebrado: Nivel 1: Diminutas fibras de colágeno con una estructura de triple hélice. Nivel 2: Diminutas fibras de colágeno. Nivel 3: El arreglo de las diminutas fibras de colágeno mineralizadas con una periodicidad del estriado cruzado de aproximadamente 60-70 nm. Nivel 4: Dos patrones de arreglo de diminutas fibras organizadas como las encontradas en el hueso del esqueleto del pez cebra. Nivel 5: La estructura laminar en una vértebra. Nivel 6: Una vértebra. Nivel 7: Hueso del esqueleto.

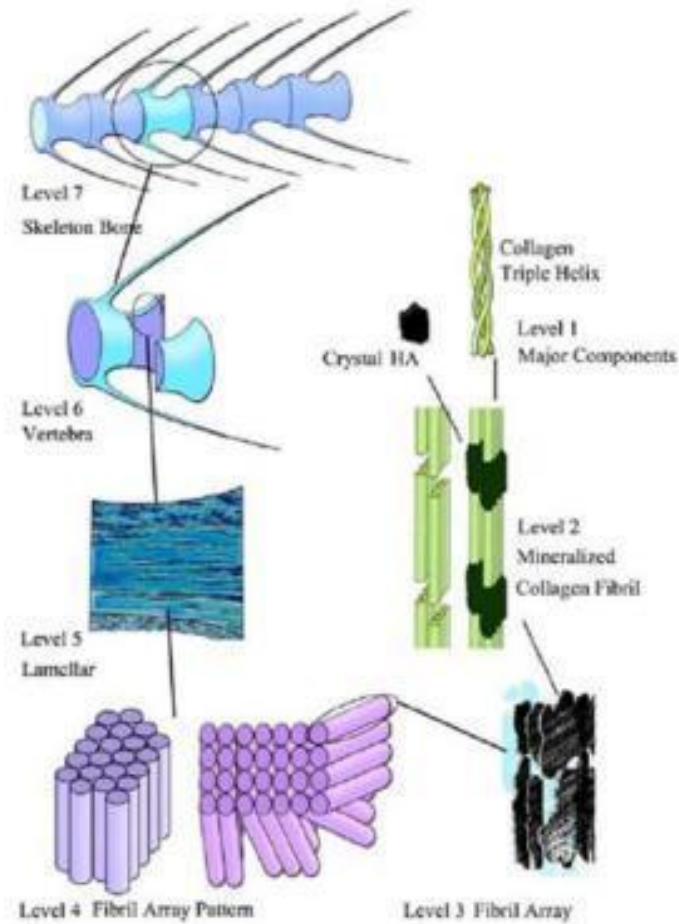


Figura 2. Ejemplificación de los siete niveles jerárquicos de organización en el esqueleto de un vertebrado.

1.3 Fase mineral

La fase mineral está compuesta principalmente de cristales microscópicos de fosfatos de calcio, dentro de los cuales la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ó ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$) es la más importante. Otras fases minerales presentes en el hueso son el fosfato dicálcico ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), el fosfato de calcio dibásico (DCP, CaHPO_4), el fosfato tricálcico (TCP; $\text{Ca}_3(\text{PO})_2$) y algunas fases amorfas de calcio. Existen además otros iones como el citrato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{4-}$), el carbonato (CO_3^{2-}), el fluoruro (F^-) y también iones hidroxilo (OH^-), los cuales pueden dar lugar a pequeñas diferencias microestructurales en el tejido óseo.

En la siguiente tabla se muestra una comparación en la composición de hidroxiapatita biológica y sintética.

Tabla 5 ⁽¹⁾ Comparación de la composición de HAp biológica y sintética.

Elemento (% en peso)	Hueso	Hidroxiapatita sintética
Calcio	35.5	39.0
Fosforo	17.1	18.5
Dióxido de carbono	4.4	-
Magnesio	0.9	-
Sodio	1.1	-
Potasio	0.1	-
Cloro	0.1	-
Flúor	0.02	-
Azufre	0.6	-
Silicio	0.04	-
Relación atómica Ca/P	1.71	1.667
Índice de Cristalinidad	33-37	80-100

1.3.1 Fosfatos de Calcio

Como se ha visto anteriormente, el tejido óseo (huesos y dientes) está compuesto por una fase orgánica y una fase inorgánica, a su vez esta última compuesta de fosfatos de calcio casi en su totalidad.

Por otra parte, los investigadores consideran que son precisamente las sales de fosfato de calcio las que tienen una gran influencia en la regeneración del tejido óseo ya que, tanto las propiedades físicas, químicas y estructurales de dichos materiales cerámicos son muy semejantes a las de los huesos.

El comportamiento in vivo de los implantes de fosfato de calcio depende de varios factores, entre los cuales los más importantes son la relación atómica Ca/P, la estructura cristalina y la porosidad; aunque el ambiente fisiológico puede tener también una influencia decisiva en la respuesta biológica. Las únicas fases de fosfatos de calcio que

son estables a la temperatura y pH del cuerpo humano son la hidroxiapatita (HAp) y el fosfato de calcio dibásico (DCP).

1.3.2 Hidroxiapatita

La variabilidad en composición química (diferentes fosfatos de calcio), la cristalinidad (entre menor cristalización mayor solubilidad y por tanto su reabsorción es más factible), el tamaño y morfología (cristales nanométricos presentan una alta reactividad y frecuentemente interactúan con los tejidos a su alrededor de forma distinta a la de los cristales micrométricos) afectan la solubilidad y reactividad de la HAp⁽¹⁰⁾.

La HAp se puede usar como remplazo de partes pequeñas de hueso, como relleno de cavidades en odontología, como recubrimiento de superficies de metales para implantes, como refuerzo en materiales compuestos y como dosificador de medicamentos, entre otros⁽⁷⁾.

A continuación se hará una descripción de la estructura tipo apatita y posteriormente se examinará con detalle. A fin de distinguir los diferentes componentes estructurales en la hidroxiapatita $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, es conveniente reescribir su fórmula química como: $\text{Ca}(1)_2\text{Ca}(2)_3(\text{PO}_3)_4\text{OH}$. Donde se ha usado la notación Ca(1) y Ca(2) para indicar átomos de calcio tipo 1 y tipo 2, respectivamente. Esta división del calcio en dos tipos se debe a que se encuentran rodeados por un número distinto de oxígenos en la estructura de la apatita (Figura 3).

El fosfato por su parte, está rodeado de 4 oxígenos (lo que le otorga su número de coordinación) y forma un tetraedro que es representativo del grupo fosfato PO_4^{-3} (Figura 4 a)). Por último, el grupo OH^{-1} tiene una densidad de carga con simetría casi esférica (Figura 4 b)).

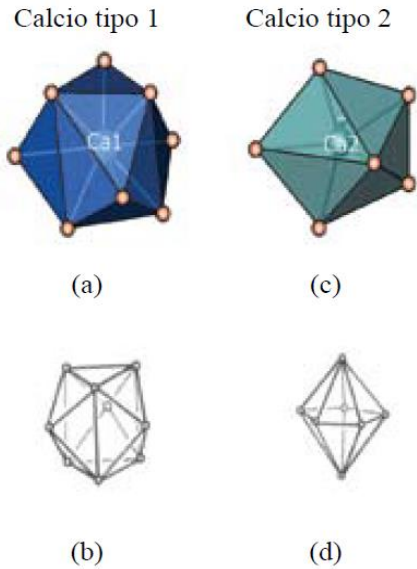


Figura 3.
Átomos de calcio tipo 1 (a y b)
y tipo 2 (c y d).

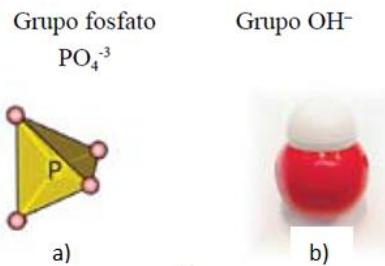


Figura 4.
a) Grupo fosfato, b) grupo OH^{-1}

Como se muestra en las Figuras 3 a) y 3 b), cada átomo de calcio tipo 1 se encuentra rodeado de 9 átomos de oxígeno, cuya figura geométrica es la distorsión de un prisma triangular tripuntado. En las figuras 3 c) y 3 d), el átomo de calcio tipo 2 está rodeado de 7 aniones representando distorsiones de una bipirámide pentagonal ideal. El calcio 1 tiene un número de coordinación de 9 y el calcio 2 de 7.

La estructura cristalina de la hidroxiapatita se obtiene ensamblando todas las “piezas” de la estructura (Figura 3 y Figura 4), es decir, los prismas trigonales tripuntados de Ca(1), las pirámides pentagonales de Ca(2), los tetraedros de los grupos fosfato y los grupos OH^{-1} .

Los grupos OH^{-1} se disponen en una columna, orientados desordenadamente hacia arriba o hacia abajo a lo largo del eje de un cilindro (Figura 5a)). Sobre la superficie del cilindro de esa misma figura, se tiene un arreglo hexagonal de átomos de oxígeno. Los átomos de calcio tipo 2 están ubicados un poco desplazados del centro de cada hexágono (Figura 5a)).

Los grupos OH^{-1} (desordenados en su orientación con el hidrógeno hacia arriba o hacia abajo) están sobre el eje del cilindro y los $\text{Ca}(2)$ (esferas blancas) están un poco desplazados del centro de cada hexágono. Por otro lado, las bipirámides pentagonales con el vértice de una pirámide se encuentran sobre el eje del cilindro (el oxígeno de un grupo OH^{-1}). Cuatro de los siete aniones de la pirámide pentagonal forman parte de la malla hexagonal de oxígenos. Los tetraedros de los grupos PO_4^{-3} con dos de sus oxígenos forman parte de la malla hexagonal y los otros dos proyectados hacia afuera del cuerpo del cilindro.

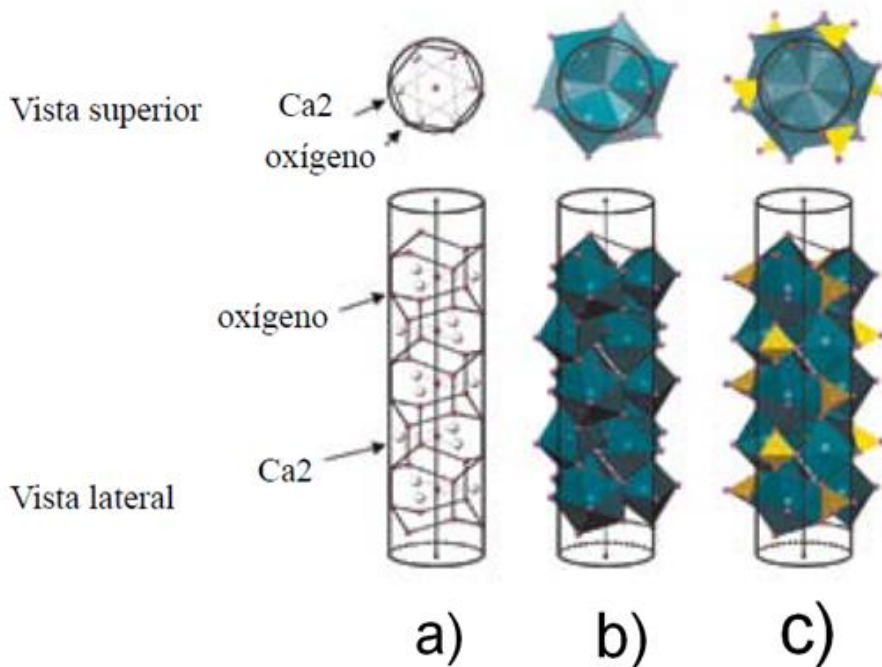


Figura 5. (a) Malla hexagonal sobre una superficie cilíndrica (b) Bipirámides pentagonales con el vértice de una pirámide sobre el eje del cilindro (c) Tetraedros de grupos PO_4^{-3} .

Con esta descripción es posible imaginar los grupos OH^{-1} con una cierta posibilidad de moverse a lo largo del eje del cilindro. La carga -1 del grupo OH debe viajar entonces bajo las fuerzas de interacción de cargas negativas -2 (los oxígenos de la malla hexagonal) y cargas positivas $+2$ (de los calcio tipo 2) un poco desplazados del centro de cada hexágono en la malla (Figura 5a).

Como se verá más adelante, las propiedades de conductividad iónica de la apatita tendrán que ver con el movimiento de los grupos OH^{-1} u otros iones que los puedan sustituir en sus sitios.

Los 7 aniones más cercanos al calcio tipo 2 que forman la bipirámide pentagonal son: el oxígeno del grupo OH^{-1} que se encuentra en el eje del cilindro, cuatro oxígenos que forman parte de la malla hexagonal y otros dos más que se encuentran fuera del cuerpo del cilindro (Figura 5b). Los tetraedros PO_4^{-3} se colocan de tal manera que cada uno de ellos une dos bipirámides pentagonales de $\text{Ca}(2)$ compartiendo una arista con una y un vértice con la otra (Figura 5c y 6).

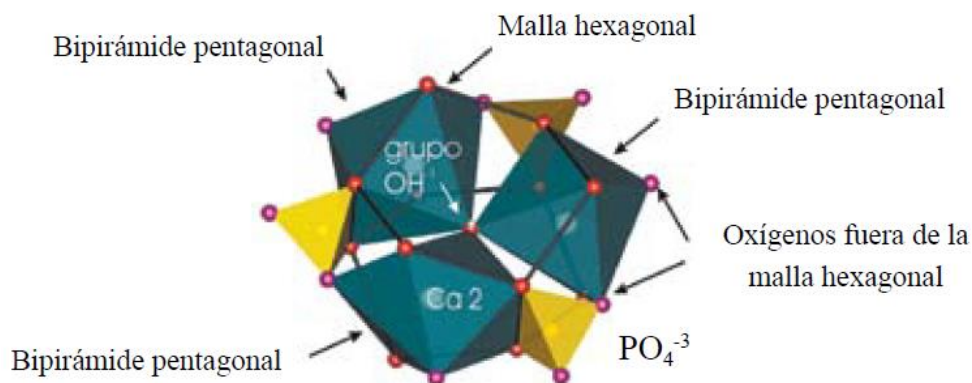


Figura 6. Tetraedros PO_4^{-3} compartiendo sucesivamente aristas y vértices con bipirámides pentagonales de calcio tipo 2.

Los calcio tipo 1, como se mencionó anteriormente, forman prismas triangulares triapuntados (Figura 5a). Estos prismas se ubican en la estructura de la hidroxiapatita de manera que se apilan uno sobre otro compartiendo las caras que son las tapas del prisma triangular. En la Figura 7 se muestra este apilamiento. Los tetraedros de los grupos

fosfato están dispuestos de tal manera que una de las aristas forman parte del borde de una cara que comparten dos prismas trigonales triapuntados apilados uno con el otro; mientras que otra arista se encarga de unir las dos “puntas” de esos mismos dos prismas. Todas las “puntas” de los prismas trigonales son oxígenos que forman a su vez una malla hexagonal cilíndrica como la representada en la figura 5a.

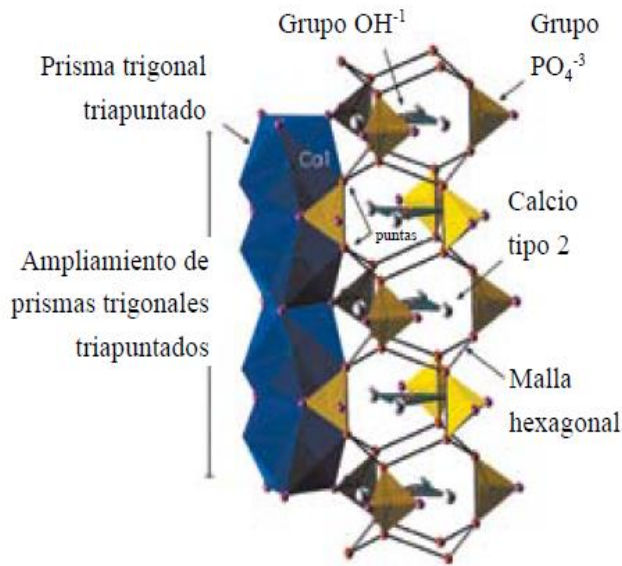


Figura 7. Apilamiento de prismas trigonales triapuntados que corresponden a calcio tipo 1.

En la Figura 8 se puede apreciar el arreglo en conjunto de toda la estructura y simetría hexagonal⁽¹⁾. El apilamiento de los prismas trigonales triapuntados correspondientes a calcio 1 de la figura 7 se muestra con la dirección de apilamiento perpendicular al plano de la figura. A la derecha se muestra la celda unidad del arreglo hexagonal de la estructura.

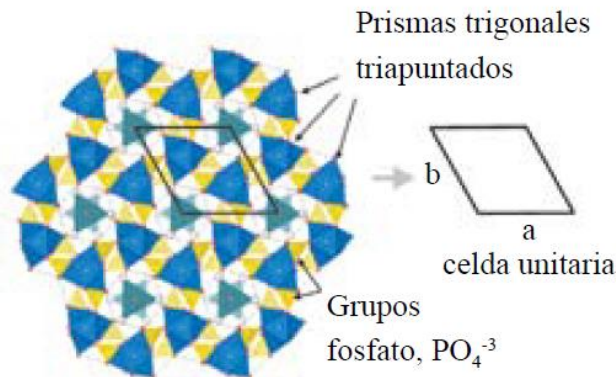


Figura 8. El apilamiento de los prismas trigonales triapuntados

Existen varios métodos para llevar a cabo la síntesis de la hidroxiapatita, los más utilizados se resumen a continuación:

Tabla 6 ⁽¹⁾ Principales métodos de síntesis de HAp.

Técnica	Materiales Iniciales	Condiciones de Síntesis	Observaciones
Síntesis en estado sólido a altas temperaturas	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CaCO}_3$ $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{CaCO}_3$	900-1300°C, usualmente con flujo de vapor de agua.	Ca/P=1.67, gran tamaño de grano, formas irregulares e inhomogéneos.
Síntesis en fase acuosa	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + (\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ $\text{Ca}(\text{OH})_2 + \text{H}_3\text{PO}_4$	T de reacción= 100°C pH=7-12	Ca/P<1.67 cristales irregulares pequeños con baja cristalinidad.
Métodos hidrotérmicos	HAp preparada por vía húmeda, otros fosfatos de calcio, etc.	100-200°C, 1-2MPa 300-600°C, 1-2Kbar	Ca/P= 1.67 cristales de diferentes tamaños, homogéneos.
Crecimiento a partir de sales fundidas	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ y CaF_2 , o CaCl_2	1650°C	Cristales grandes, deformaciones durante el crecimiento.
Crecimiento en geles	$\text{Gel} + \text{Ca}^{2+} + \text{PO}_4^{3-}$	pH= 7-10 T= 40, 60°C	Se obtiene Hap, OCP, monetita y brushita.

II- ANTECEDENTES

La hidroxiapatita (HAp) cerámica pertenece a una clase de materiales a base de fosfato de calcio, los cuales han sido utilizados ampliamente como sustituto de hueso. Recientemente la HAp ha sido usada para una gran variedad de aplicaciones médicas, esto es debido a la similitud química entre ésta y el hueso mineralizado del tejido de los vertebrados⁽¹¹⁾. La HAp sintética presenta una fuerte afinidad para albergar los tejidos duros como lo es el hueso; en consecuencia, la formación del enlace químico con el tejidos del huésped presenta grandes ventajas en aplicaciones clínicas y que otros sustitutos óseos no tienen, como los aloinjertos o implantes metálicos.⁽¹²⁻¹⁶⁾

En las últimas décadas se han publicado numerosos reportes de trabajos en los cuales se han obtenido grandes desarrollos en la elaboración de materiales cerámicos a partir de materias primas comerciales ⁽¹²⁻²⁰⁾ y manteniendo en algunos casos el tamaño de grano deseado. ⁽¹⁷⁻²⁰⁾

Uno de los procesos utiliza el potencial y la temperatura para la obtención de granos con nanoestructuras en materiales cerámicos. El proceso utiliza microondas con determinado potencial para elevar la temperatura del equipo y poder tener suficiente energía para llevar a cabo la síntesis de diferentes materiales.⁽¹⁷⁻²¹⁾ Dicho proceso ha sido estudiado previamente por el grupo de investigación dentro del cual se desarrolló el presente trabajo.^(17,26)

Los iones de Calcio (Ca), Fosfato (PO_4) e Hidróxido (OH), se combinan en una solución, la cual dará lugar a la hidroxiapatita después de un determinado tratamiento ⁽¹²⁻¹⁷⁾. La solución se coloca en tubos de teflón los cuales nos permiten alcanzar la temperatura deseada, la cual va de 160°C a 165°C, así como resistir la presión generada en su interior durante un tiempo de no menos de 12 hr para llevar a cabo de manera satisfactoria la síntesis de la hidroxiapatita. Un agente importante en la combinación de

las soluciones es el ácido glutámico, el cual nos permite poder controlar el crecimiento de los cristales, así como su orientación en el sistema cristalino. ⁽¹⁷⁾

Mediante la realización de este proceso se ha verificado que se obtienen tiempos de síntesis más cortos y temperaturas más bajas ⁽¹⁷⁾, además de diferentes tipos de nanoestructuras cristalinas. ⁽¹⁷⁻²¹⁾ Dichas nanoestructuras nos permiten una mejor adherencia hacia el hueso debido al tamaño de partícula que se obtiene, ya que es muy parecido al del hueso. ⁽²¹⁾

Se ha publicado que mediante este proceso las nanoestructuras de hidroxiapatita obtenidas presentan crecimiento de granos más rápido, partículas más pequeñas y partículas estrechas con una distribución de nucleación homogénea más rápida, dicho proceso recibe el nombre de síntesis por microondas. ⁽²¹⁾

Gracias al desarrollo de una gran cantidad de trabajos realizados sobre la formación de la hidroxiapatita, la mayoría de los investigadores en la actualidad trabajan en la obtención de materiales compuestos de dicho componente para permitir mejorar las pobres propiedades mecánicas de la HAp. ⁽²²⁻²⁵⁾

III- JUSTIFICACIÓN

La salud será permanentemente una de las principales necesidades que el ser humano debe cubrir para vivir bien y sin padecimientos. El potencial para permitir grandes avances en la medicina debido a su semejanza con las propiedades de los huesos y su aceptación del cuerpo humano, hacen de la HA el principal material para la sustitución de huesos dañados. Con el paso de los años el cuerpo tiende a perder fuerza y rigidez en los huesos dando como resultado fracturas; como resultado del presente trabajo se pretende contribuir en la obtención de materiales más fuertes y baratos con los cuales se puedan tratar los huesos dañados.

Además, es importante desarrollar y mejorar métodos de síntesis de estos compuestos para obtener morfologías controladas y adecuadas para las funciones que desempeñarán en el futuro. Es decir, que desde el punto de vista de la Ciencia e Ingeniería de Materiales seamos capaces de aplicar el conocimiento adquirido hasta la fecha para proponer soluciones a problemas importantes para la sociedad, como lo es en este caso, en la obtención de un material con gran potencial de ser usado en la fabricación de biomateriales.

IV- HIPÓTESIS

Revisiones bibliográficas e investigaciones previas relacionadas con hidroxiapatita obtenida mediante diferentes métodos hacen suponer que, mediante la técnica de microondas, con la variación de los parámetros de reacción y de la concentración de ácido glutámico, es posible controlar la morfología de la hidroxiapatita, lo cual permitirá modificar y mejorar las propiedades de las nanoestructuras generadas.

V- OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Obtener nanofibras de hidroxiapatita (HAp) mediante el método de microondas y determinar el efecto de los parámetros de crecimiento (concentración de ácido glutámico y niveles de agitación) en la morfología de las nanoestructuras obtenidas.

5.2 Objetivos particulares:

- Sintetizar HAp a partir de soluciones de nitrato de calcio, fosfato de potasio monobásico, hidróxido de potasio y ácido glutámico mediante el método de microondas.
- Establecer los parámetros de síntesis que permitan la obtención de nanoestructuras de HAp, así como el control de su morfología.
- Obtener nanofibras de HAp y caracterizarlas mediante las técnicas de difracción de rayos – X, espectroscopía infrarroja, microscopía electrónica de barrido y transmisión de alta resolución y espectroscopía de fluorescencia atómica.

VI- MÉTODOS Y TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

En la actualidad, hay una gran cantidad de métodos para sintetizar hidroxiapatita (HAp). En algunos de ellos, los precursores son mezclados en solución y la reacción química tiene lugar a temperatura ambiente durante varios días o meses⁽¹¹⁾. La síntesis de materiales a través de métodos hidrotermales asistidos por microondas ofrece la ventaja de proporcionar un calentamiento homogéneo en todo el volumen⁽²⁶⁾. En los últimos años, el uso de un horno de microondas ha sido utilizado como una fuente de calor para reducir los tiempos de reacción⁽¹¹⁾. En estos días el uso de la síntesis de cerámicos mediante el método de microondas es comúnmente usada⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

6.1 Síntesis

La metodología utilizada en la síntesis hidrotermal asistida por microondas consiste en la formación de la hidroxiapatita (HAp) partiendo de disoluciones acuosas a una temperatura entre 160 y 165°C, esto es debido a que los vasos de teflón utilizados en dicho experimento contienen limitaciones a temperaturas elevadas. Para llevar a cabo una reacción sin necesidad de la evaporación del solvente, el sellado correcto de los tubos es muy importante, ya que ello permite alcanzar presiones elevadas y, a su vez, controladas. La síntesis de hidroxiapatita se realizó en un horno de microondas Synthos 3000 de Anton Paar, con vasos de teflón presurizados (Fig. 9). Al llevar a cabo la reacción de síntesis mediante este método nos permite tener un mejor control y seguridad durante su preparación. Esto es debido a que el horno de microondas cuenta con un sensor de presión y temperatura, los cuales nos permiten tener varios niveles de seguridad en nuestro equipo. Para mantener protegido el sensor de temperatura después de unir el tubo, se le da un giro de 45° poniendo así el sensor fuera de peligro, en caso de un gran incremento en la presión del tubo.

Los precursores utilizados fueron: nitrato de calcio $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ (Sigma ultrac4955); fosfato de potasio monobásico $[\text{KH}_2\text{PO}_4]$ (Electron Microscopy Sciences20250); hidróxido de potasio $[\text{KOH}]$ (Sigma Aldrich 221473) y ácido glutámico $[\text{C}_5\text{H}_9\text{NO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}]$ (Sigma G1126).



Figura 9. Equipo de microondas utilizado en la síntesis de HAp

Con los materiales de partida se han usado determinadas cantidades de los reactivos químicos, todo esto de acuerdo al modelo de reacción indicado en la Tabla 7:

Tabla 7. Cantidades y condiciones de reacción.

Mezcla de Reacción	C_G (g)*	C_{Ca} (g)*	C_p (g)*	C_{OH} (g)*	Volumen Final (ml)	Temperatura (°C)	Agitación (Niveles)
1	0.0	1.144	0.972	0.736	400	160-165	1
2	2.0012	1.144	0.972	0.736	400	160-165	1
3	2.178	1.144	0.972	0.736	400	160-165	1
4	4.0	1.144	0.972	0.736	400	160-165	1
5	4.0	1.144	0.972	0.736	400	160-165	2
6	4.0	1.144	0.972	0.736	400	160-165	3
7	4.0	1.144	0.972	0.736	400	160-165	0

* C_G , C_{Ca} , C_p , C_{OH} representan las cantidades de ácido glutámico, nitrato de calcio, fosfato de potasio monobásico e hidróxido de potasio, respectivamente.

-Reacción #1 (sin ácido glutámico): se realizó la preparación de 2 soluciones. En la primera solución se disolvió el nitrato de calcio en 200 ml de agua desionizada, durante 15 min, con agitación vigorosa. La segunda reacción se preparó mediante la disolución de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de potasio en 200 ml de agua desionizada, durante 15 min con agitación moderada. Al término del tiempo señalado, las disoluciones se mezclaron y se dejaron 10 min más en agitación. Dicha solución se colocó en 8 vasos de teflón para uso exclusivo en el sistema de calentamiento por microondas, añadiendo 50 ml en cada vaso. Estos se cerraron y fueron introducidos inmediatamente en el horno de microondas por un tiempo de 90 min (de los cuales los 10 primeros minutos corresponden a la rampa de nuestro proceso, los siguientes 45 min corresponden al tiempo en que se mantuvo la solución a temperatura constante y los últimos 35 min corresponden al enfriamiento del equipo). La muestra recolectada se filtra con papel filtro en un embudo buchner, el cual está colocado sobre un matraz kitasato (esto se realizó por gravedad). La recolección de la HAp se realizó en el papel filtro.

-Reacciones #2 - #7: al igual que en la #1 se prepararon 2 soluciones. Primero, se preparó una disolución/suspensión de nitrato de calcio y ácido glutámico (dependiendo de la cantidad de ácido glutámico determinada en cada reacción de la tabla 7) en 200 ml de agua desionizada, calentada a aproximadamente 60 °C y bajo una agitación vigorosa durante un tiempo de 2 horas. La segunda reacción se preparó mediante la disolución de fosfato de potasio monobásico e hidróxido de potasio en 200 ml de agua desionizada, durante 15 min, con agitación moderada. Al término del tiempo señalado para las disoluciones, se mezclaron y se dejó 10 min más en agitación. Dicha solución se colocó en los vasos de teflón para el calentamiento por microondas y se repitió el procedimiento descrito para la reacción #1.

6.2 Técnicas de Caracterización

6.2.1 Difracción de rayos-X (DRX) ⁽²⁷⁾

Mediante la técnica de difracción de rayos-X es posible analizar la estructura cristalina de los materiales, es decir, el acomodo que existe en los átomos para dar lugar a las diferentes estructuras cristalinas. En nuestro experimento se llevó a cabo el análisis mediante polvos finos para la obtención de nuestro difractograma. La realización de esta técnica se basa en hacer incidir un haz de rayos-X sobre la muestra y, mediante un detector, se estudia como dicho haz se dispersa debido al acomodo cristalino de los átomos en dicha muestra. Cuando el haz de rayos-X incide sobre la muestra, los electrones comienzan a oscilar; es decir, continuamente se aceleran y desaceleran durante su movimiento y emiten una onda electromagnética.

En un sistema donde la longitud onda y la frecuencia al ser dispersadas no cambian, corresponde a un fenómeno de dispersión elástica y cuando los haces dispersados interfieren entre sí, ocurre el fenómeno de difracción (Figura 10).

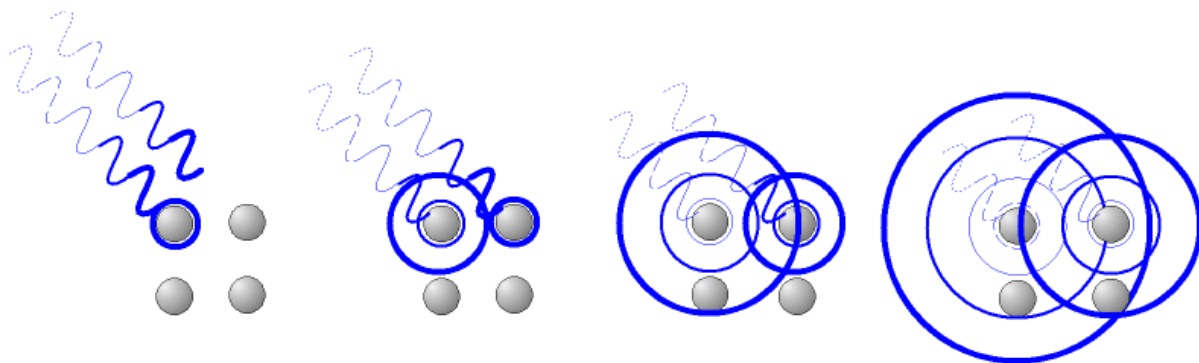


Figura 10. Ondas de rayos-X dispersadas de una manera ordenada

Este fenómeno de difracción permite que algunos frentes de onda interfieran de una manera constructiva, a esto se le conoce como la ley de Bragg (Figura 11), la cual se expresa mediante la siguiente ecuación:

$$n\lambda=2d\text{sen}\theta$$

Donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de los rayos-X, d es la distancia entre los planos de la red cristalina y θ es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión.

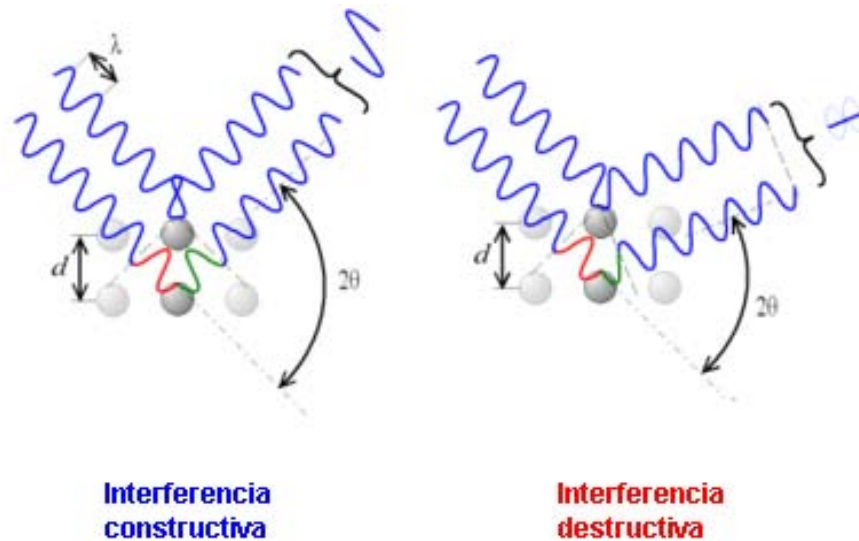


Figura 11 Esquema de la ley de Bragg

Para ubicar los puntos del espacio donde se cumple la ley de Bragg, se hace girar el plano de la muestra así como el detector, de tal manera que recorran un ángulo θ y 2θ , respectivamente (Figura 12).

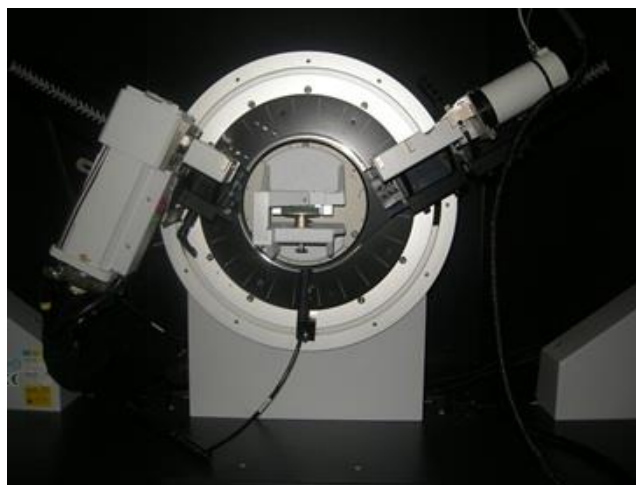


Figura 12. Difractómetro de polvos

El gráfico que contiene todas las reflexiones mencionadas es llamado difractograma, el cual es característico de cada estructura cristalina en particular.

a) Preparación de la muestra para técnica de polvos

1.- Se muele perfectamente la muestra con un mortero de ágata hasta tener un tamaño de partícula homogéneo (Figura 13)

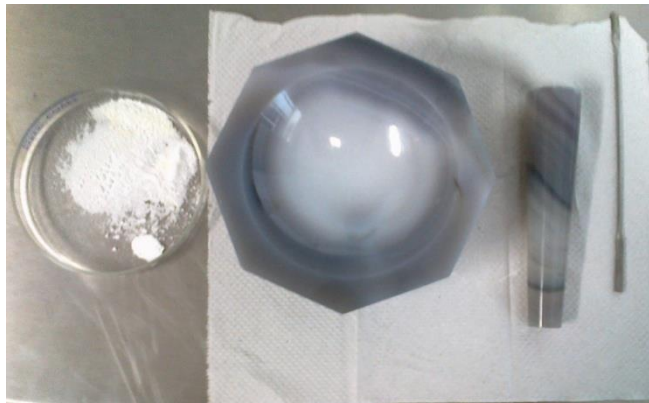


Figura 13. Pulverización de la muestra en un mortero de ágata.

2.- Cuando se tiene la muestra perfectamente molida, se coloca en un porta muestras, como se indica en la Figura 14.

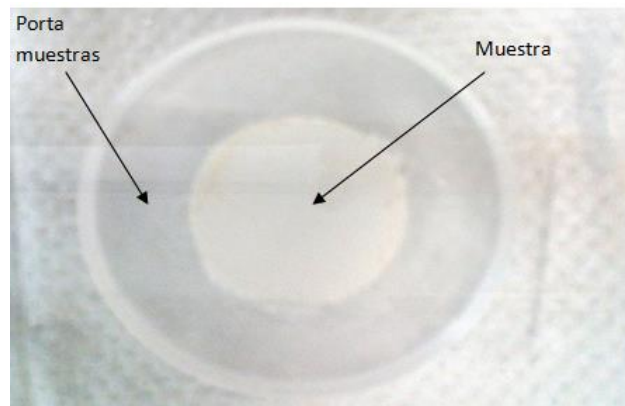


Figura 14. Colocación del polvo en un porta muestras de vidrio.

3.- Se coloca el porta muestras en el difractómetro (Figura 15) y se realiza el análisis mediante la técnica antes mencionada.

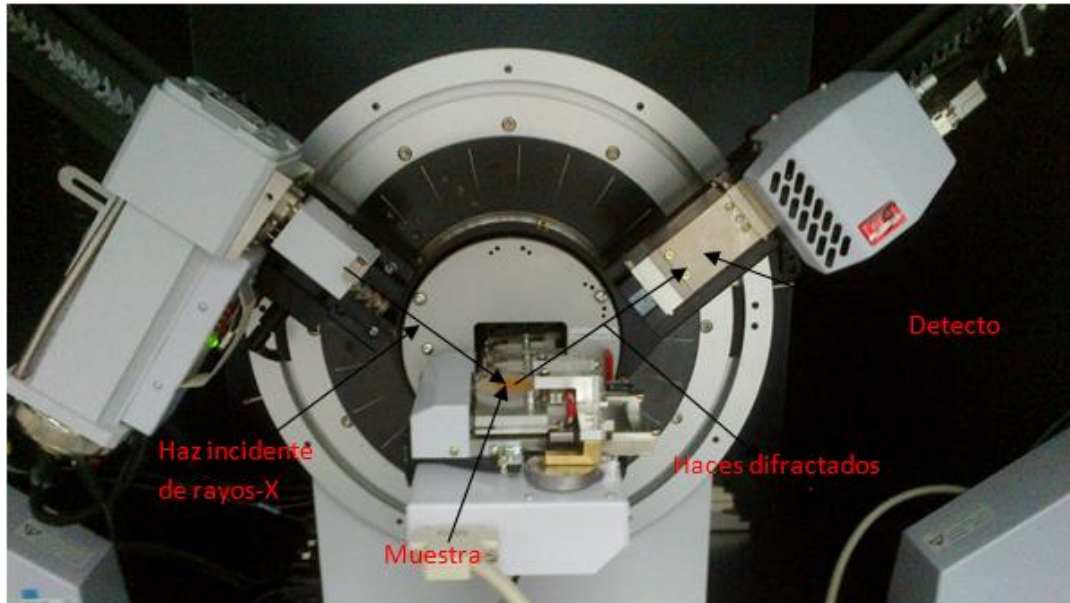


Figura 15. Muestra siendo analizada en un difractómetro de rayos – X.

6.2.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de fourier (FTIR) ^(28; 29)

La espectroscopia infrarroja (IR) se utiliza para analizar las características vibracionales de las moléculas y cristales. Experimentalmente consiste en la interacción de una fuente infrarroja a través de un microscopio (longitud de onda que va de 4000 a 400 cm^{-1}). Cuando la energía de radiación infrarroja coincide con la de los modos normales de vibración molecular de la muestra, éstas absorben energía y la usan para aumentar su frecuencia de vibración, la cual es detectada por el sensor.

La Figura 16 muestra algunos ejemplos de las diferentes formas vibracionales de una molécula, dependiendo del tipo de enlace y de la frecuencia de radiación.

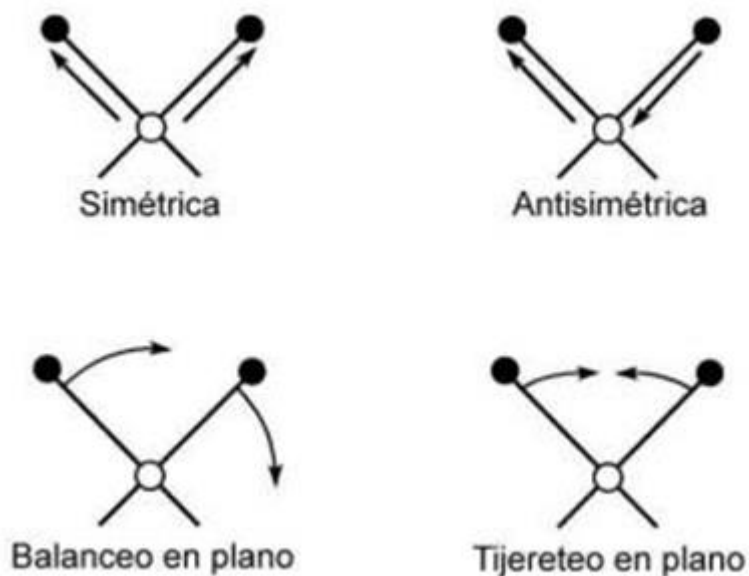


Figura 16. Tipos de vibraciones en los enlaces moleculares

Cabe destacar que para cada molécula en particular, la frecuencia de los modos vibracionales es única y característica de cada enlace. Por ejemplo, la molécula de dióxido de carbono (CO_2) puede presentar cuatro tipos de vibración, tal como se muestra en la Figura 17.

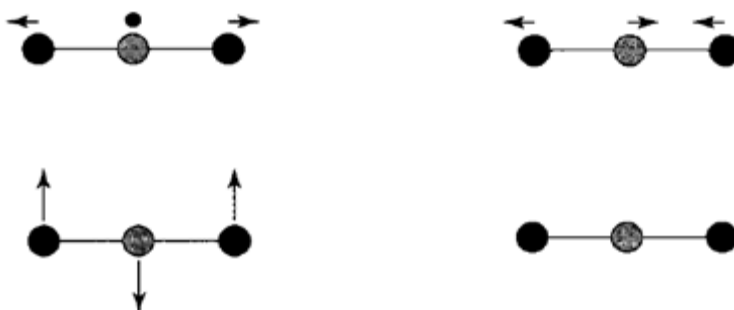


Figura 17. Tipos de vibraciones que presenta la molécula de dióxido de carbono.

Los cambios en transmitancia se miden con el detector; entonces, se obtiene una gráfica de transmitancia vs número de onda, la cual se le conoce como “espectro”.

Una de las cualidades que presenta el espectro es la intensidad, la cual está relacionada directamente con la concentración (a mayor concentración mayor intensidad del pico).

La amplitud de los picos, lo cual nos determina las interacciones químicas de la molécula o grupo funcional que se encuentra vibrando, nos proporcionan información sobre éstas. Por ejemplo, cuando se tienen varias interacciones el pico resultante será amplio. En cambio cuando tenemos pocas interacciones el pico resultante será agudo.

a) Preparación de la muestra

- 1.- Se muele perfectamente la muestra y el KBr por separado
- 2.- Cuando se tiene la muestra perfectamente molida se mezclan en una proporción de 1:4 (muestra y KBr), todo esto se realiza a una temperatura ambiente.
- 3.- Se coloca en una pastilladora, la cual posteriormente se coloca en una prensa. Al término de este proceso obtendremos una pastilla de KBr con HAp.
- 4.- La pastilla se coloca en un porta-muestras en el espectrómetro de radiación infra roja y se analiza la muestra.

6.2.3 Espectroscopia de fluorescencia atómica ^(28; 30)

Los trabajos realizados han demostrado que la técnica de fluorescencia es adecuada y útil para la determinación cuantitativa de un número razonablemente amplio de elementos. Sin embargo, no ha tenido hasta la fecha una gran aplicación debido a la gran eficacia de los métodos de emisión atómica y, en especial, de absorción atómica.

Los espectros de fluorescencia se obtienen con la disposición instrumental general mostrada en la Figura 18, en la cual el haz de luz incidente es monocromático. En el esquema se observa que la luz incidente llega a la muestra después de pasar a través

de un primer monocromador; esta absorbe la luz y a continuación la remite en todas las direcciones y a mayores longitudes de onda.

La luminiscencia que sale de la muestra se mide bajo un ángulo que no está en línea con el eje que conecta la fuente con ésta. Usualmente se emplea un ángulo de 90° , aunque no es necesario.

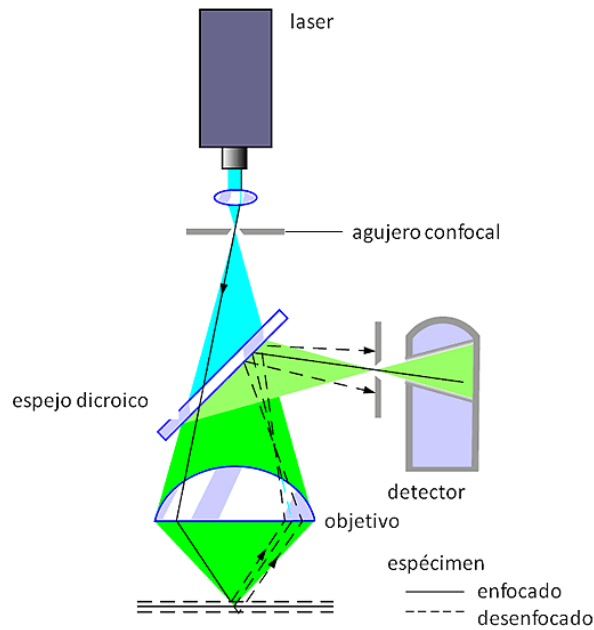


Figura 18. Esquema general de la técnica de espectroscopia de fluorescencia atómica.

Si la luminiscencia es proporcional al contenido de analito, se puede utilizar para cuantificarlo.

a) Preparación de la muestra

- 1.- Se coloca en un porta objetos y se le coloca un cubre objetos encima.
- 2.- Se utiliza una solución búfer para neutralizar el pH.
- 3.- Se coloca un fluorocromo con una micropipeta.
- 4.- Se analiza en el microscopio.

6.2.4 Microscopio electrónico de barrido (MEB) ^(30; 31)

El microscopio electrónico de barrido (MEB), o mejor conocido como SEM (Scanning Electron Microscopy) es un instrumento muy importante en la investigación de materiales. El MEB es aquel que utiliza un haz de electrones en lugar de luz para formar una imagen. La técnica consiste en producir un delgado haz de electrones acelerados (2-10 nm de diámetro), los cuales escanean una región de la muestra.

El principio de funcionamiento de un MEB se puede describir de un modo sencillo: un haz de electrones procedente de un filamento es acelerado y focalizado mediante una serie de lentes electromagnéticas hacia una muestra (Figura 19). Debido a la interacción que sufren estos electrones con el espécimen, se generan una serie de señales que convenientemente recogidas y amplificadas permiten obtener información de el material desde el punto de vista morfológico.

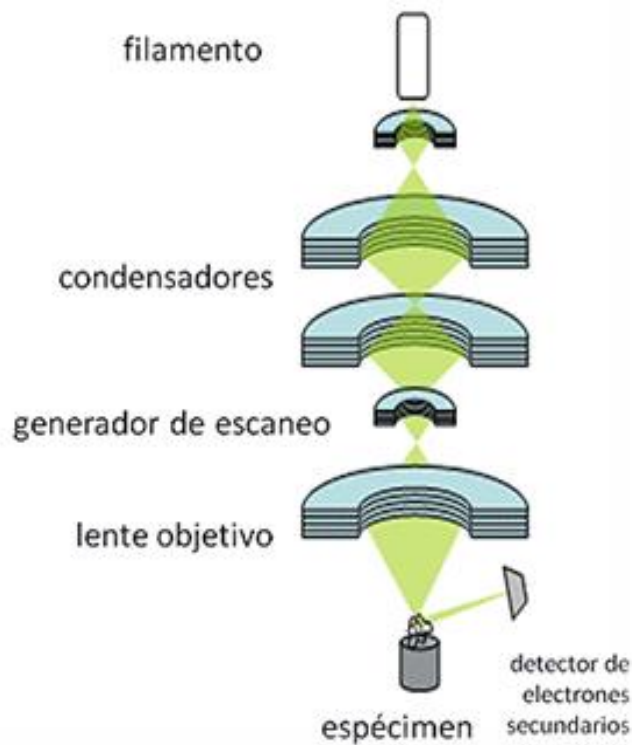


Figura 19. Esquema del Funcionamiento Interno del MEB

La interacción de los electrones incidentes con la muestra produce una serie de radiaciones secundarias (Figura 20): electrones secundarios, electrones retro dispersados, electrones transmitidos, radiación X. El utilizar una u otra radiación secundaria nos permite obtener distinta información de la muestra.

Las señales más importantes son producidas por electrones secundarios con energías de salida probables entre 2-5 eV y electrones retro dispersados con energías cercanas a 50 eV.

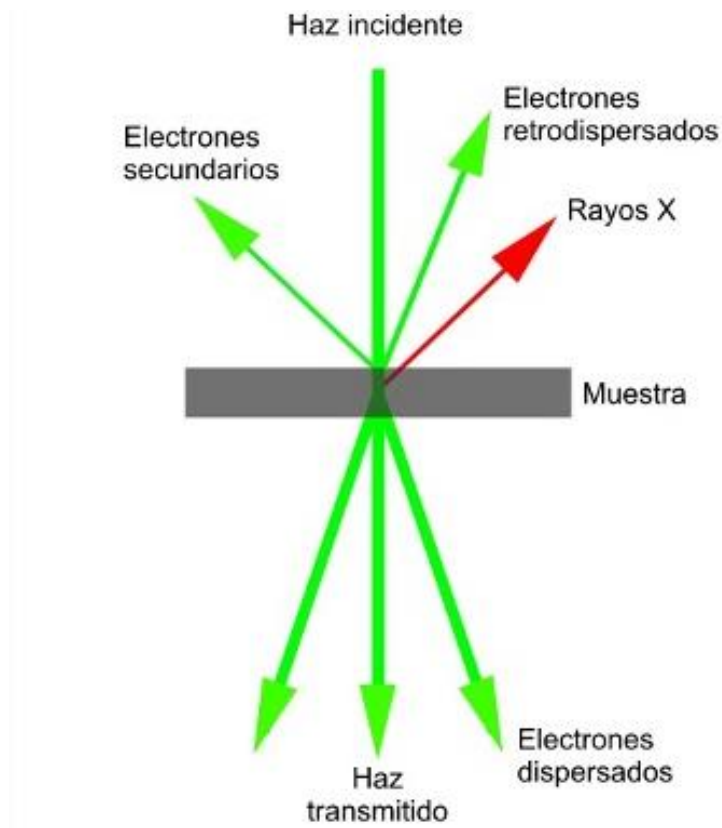


Figura 20. Esquema de la información que se puede obtener según la radiación que emite la muestra en el MEB.

En la técnica de MEB, (como se ilustra en la Figura 20), el detector del equipo recoge los electrones secundarios que fueron expulsados del átomo en cualquier dirección. Los electrones secundarios emitidos por el objeto no nos proporcionan información de la cantidad que llega a la muestra y tampoco de la composición de esta, depende únicamente de la morfología de la superficie del objeto y del ángulo entre esta superficie.

a) Preparación de la muestra

- 1.- Se pule de una manera perfecta el porta-muestra con una pasta especial para remover toda la suciedad que contenía antes.
- 2.- El porta-muestras se coloca en un vaso de precipitado con acetona, para limpiarlo.

3.- Se coloca cinta de carbón de doble cara (debe ser conductora) en el porta-muestra para poder adherir el espécimen de HAp.

4.- Debido a que la muestra no es conductora, se recubre con una película de oro en un equipo de pulverización catódica (sputtering) (Figura 21).



Figura 21. Equipo de pulverización catódica para recubrimientos de oro.

5.- Se coloca el porta-muestras que contiene la muestra en la platina del equipo y se coloca dentro del microscopio electrónico de barrido (Figura 22).



Figura 22. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

6.2.5 Microscopia electrónica de transmisión (MET) ^(31; 32)

El haz de electrones atraviesa una muestra de espesor reducido. Las imágenes obtenidas proporcionan información sobre la estructura interna de los sólidos y permiten el acceso a detalles microestructurales no perceptibles al ojo humano.

Esta técnica es única, debido a la capacidad que tiene de conjugar la obtención de imágenes (espacio real), diagramas de difracción (espacio recíproco) y dar información acerca de la composición real de cada material en un amplio rango de números atómicos.

La imagen formada en un microscopio electrónico de transmisión (MET), también conocido como TEM debido a sus siglas en inglés, (transmission electron microscope) está formada por un haz de electrones que atraviesa una probeta.

Se observan detalles de la microestructura interna: los contrastes de la imagen se consiguen por diferencias del haz difractado o disperso por varios elementos de la microestructura o defecto. Teniendo en cuenta que los materiales sólidos absorben los haces de electrones, la probeta se debe preparar de forma muy delgada para asegurar, así, la transmisión del haz incidente a través de ella. El haz transmitido se proyecta en una pantalla fluorescente, película fotográfica o pantalla LCD a fin de conseguir la imagen. Con el microscopio de transmisión, frecuentemente utilizado para el estudio de microestructuras, se logran aproximadamente a 1'000,000 de aumentos.

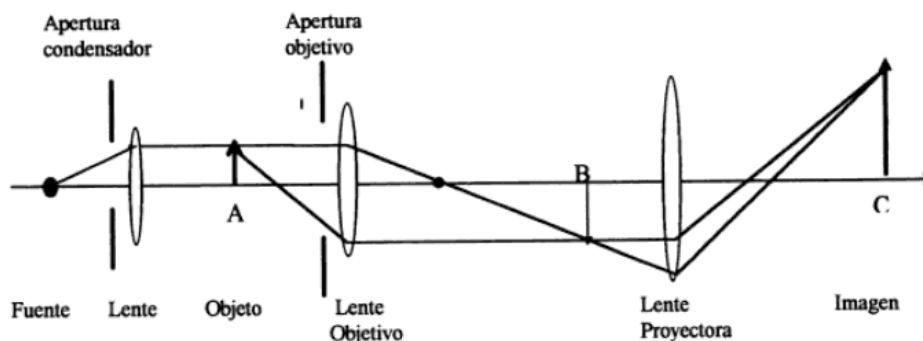


Figura 23. Esquema del Funcionamiento Interno del MET

a) Preparación de la muestra

- 1.- Se extrae un porta muestras de nuestro contenedor.
- 2.-En este se coloca una pequeña gota de muestra diluida en agua desionizada.
- 3.- La muestra se coloca en el equipo de MET y se analiza

VII- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 Difracción de rayos-X (DRX)

En las figuras 24 y 25 se observan los patrones de difracción de las muestras sintetizadas sin ácido glutámico y con la adición de ácido glutámico, respectivamente. En éstos se aprecian las reflexiones de Bragg características de la estructura cristalina de la hidroxiapatita. La identificación se realizó comparando los difractogramas con los archivos de difracción de polvos (ICDD-PDF), los cuales corresponden a las diferentes fases de la hidroxiapatita. Las fases identificadas en los difractogramas corresponden a los archivo PDF# 86-1199 y 86-1203.

En el difractograma que se muestra en la figura 24 se observan las reflexiones de Bragg de los planos cristalinos característicos de la hidroxiapatita hexagonal. Se aprecia un ensanchamiento en dichas reflexiones, lo cual se atribuye al tamaño nanométrico y desordenado de las estructuras obtenidas, como se discutirá más adelante. En cambio, en el difractograma que se muestra en la figura 25 se observan las reflexiones de Bragg características de la HAp hexagonal, pero con una intensidad mayor en algunas de éstas. Las reflexiones correspondientes a los planos (211) y (300) tienen una intensidad mayor a las reportadas en los archivos PDF ya antes mencionados; esto es debido al acomodo de los cristales en el material obtenido. Lo anterior indica que el material sintetizado presenta un crecimiento preferencial en las direcciones correspondientes a dichos planos. Otro de los aspectos que se pueden observar en las señales es que los cristales del material son más homogéneos pero de un mayor tamaño que en el caso del difractograma de la figura 24.

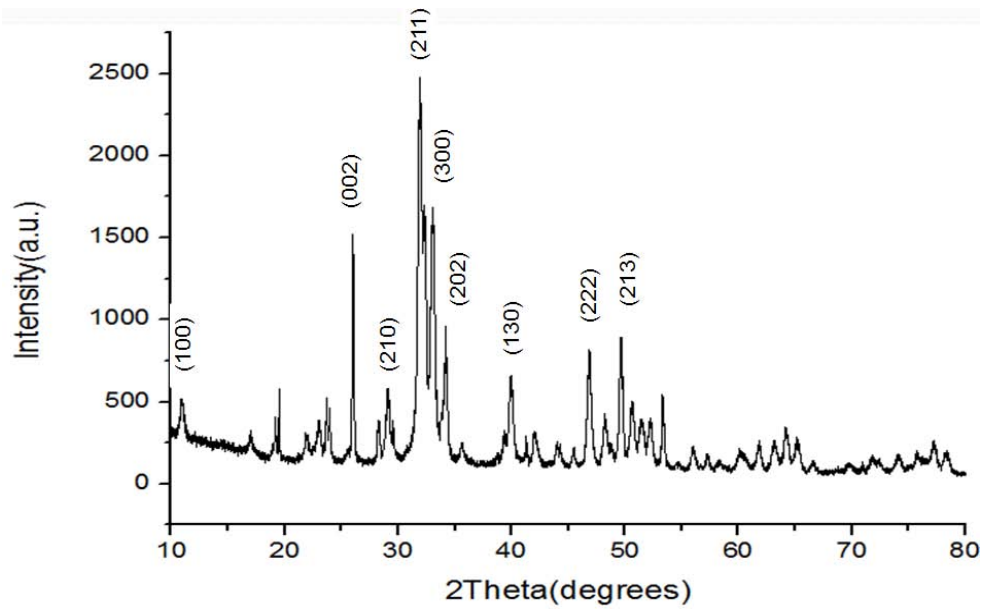


Figura 24. Difractograma de la muestra obtenida sin ácido glutámico, mostrando las reflexiones de Bragg características de la estructura de HAp hexagonal.

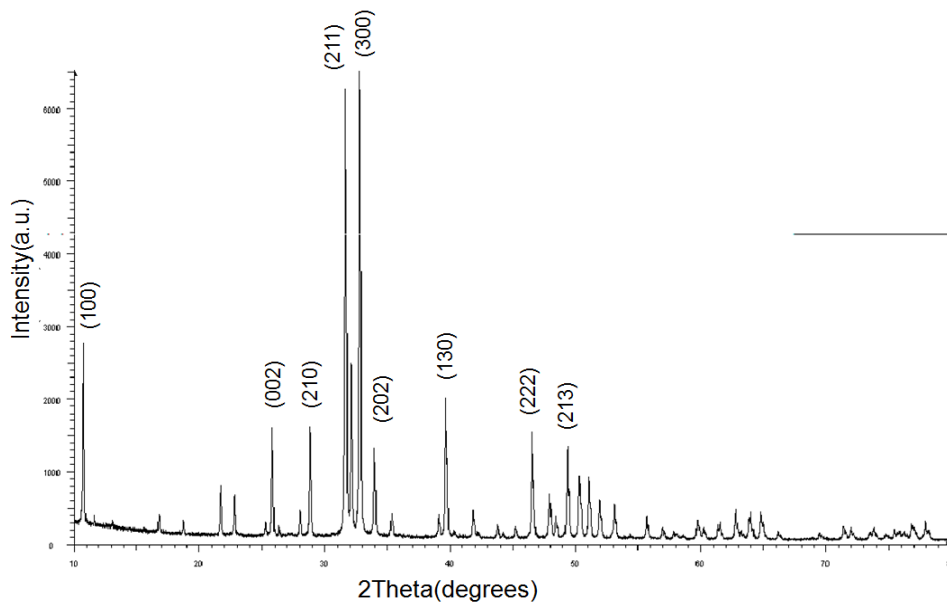


Figura 25. Difractograma de una muestra que contiene ácido glutámico. Se indican las reflexiones de Bragg correspondientes a HAp hexagonal.

7.2 Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

Las figuras 26 y 27 muestran los espectros de las muestras sintetizadas sin ácido glutámico y con la adición de ácido glutámico, respectivamente.

En dichos espectros se muestran las bandas características de la HAp correspondientes a los grupos OH^- y PO_4^{3-} . También se aprecia la señal típica correspondiente al H_2O .

La primera banda (3560 cm^{-1}) corresponde a una vibración característica para el grupo OH^- estructural, aquí se da una vibración tipo estiramiento, la otra banda de OH^- (1635 cm^{-1}) corresponde a una vibración de doblamiento. Las bandas atribuidas al grupo fosfato PO_4^{3-} (en 1080 y 1025 cm^{-1}) corresponden a vibraciones de tipo estiramiento, siendo las señales más amplias en el espectro; las otras bandas de PO_4^{3-} (en 595 y 540 cm^{-1}) son de vibraciones de tipo doblamiento.

Si bien los espectros mostrados en las figuras 26 y 27 son muy similares, la diferencia entre ambos es el ancho de las bandas y el tamaño de éstas. Como se puede observar en el espectro de la figura 27, las vibraciones del grupo fosfato (PO_4^{3-}) son más intensas y menos anchas que en la figura 26 del espectro de la muestra que no contiene ácido glutámico, lo cual indica que con la adición de dicho compuesto se obtiene un material más ordenado, lo concuerda con los resultados de DRX.

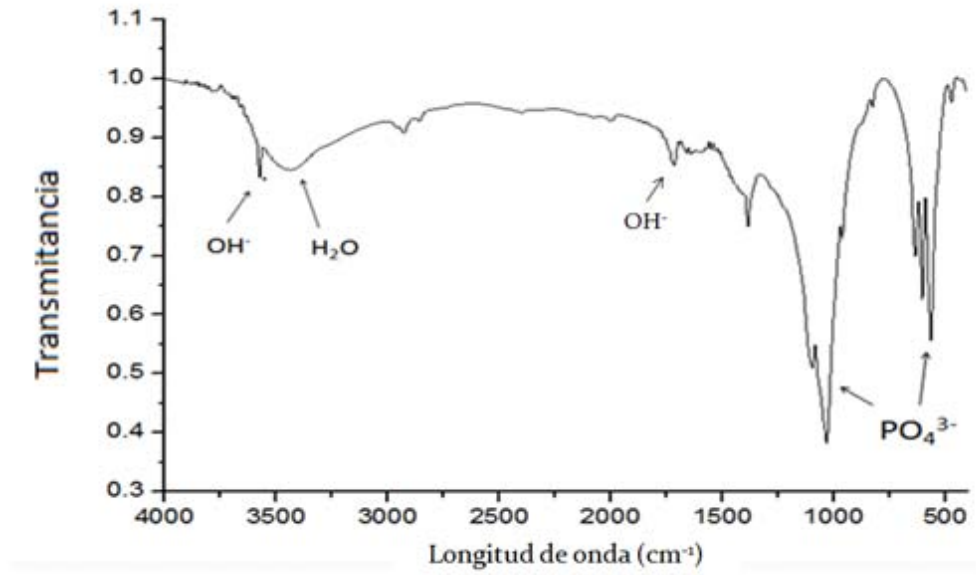


Figura 26. Espectro de FTIR de la muestra sintetizada sin la adición de ácido glutámico.

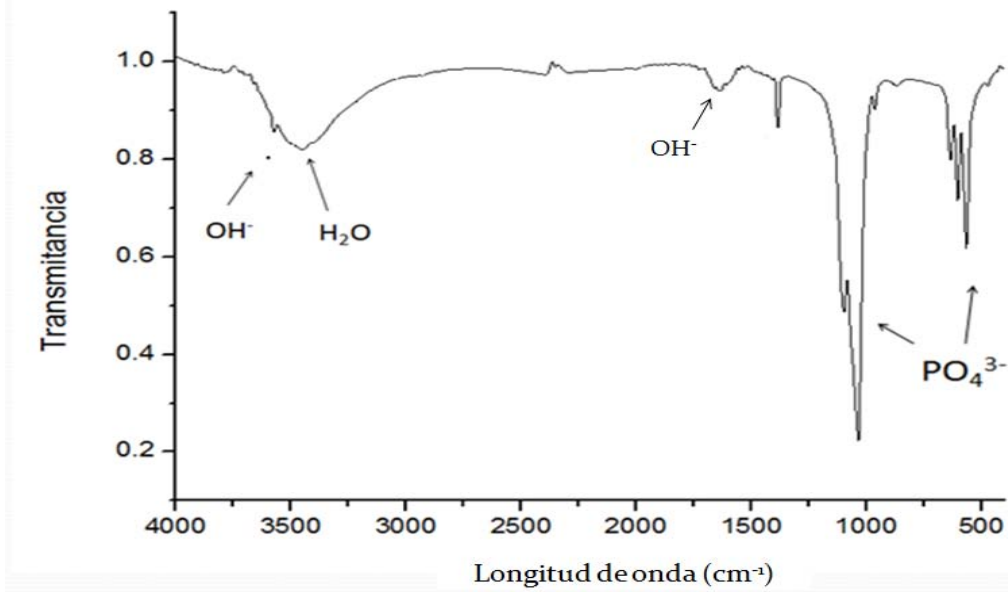


Figura 27. Espectro FTIR de una muestra sintetizada con la adición de ácido glutámico.

7.3 Espectroscopia de Fluorescencia Atómica

La hidroxiapatita presente en el tejido óseo natural presenta una relación atómica de Ca/P=1.71, mientras que en la HAp estequiométrica dicha relación es de 1.67. La espectroscopia de fuerza atómica nos permite conocer la relación de calcio (Ca) y

fosforo (P) en el material obtenido. Con este método se obtuvo una relación $\text{Ca/P} = 1.6637$ (Fig. 28), lo cual nos indica que estamos obteniendo una relación Ca/P cercana al caso estequiométrico. Esto es importante debido a que este material tendrá mayores posibilidades de ser utilizado como un sustituto de tejido óseo y para las aplicaciones biomédicas correspondientes, pues, como se menciona en el capítulo de introducción y en la tabla 5, la relación de Ca/P debe ser cercana a 1.7. ⁽²⁾

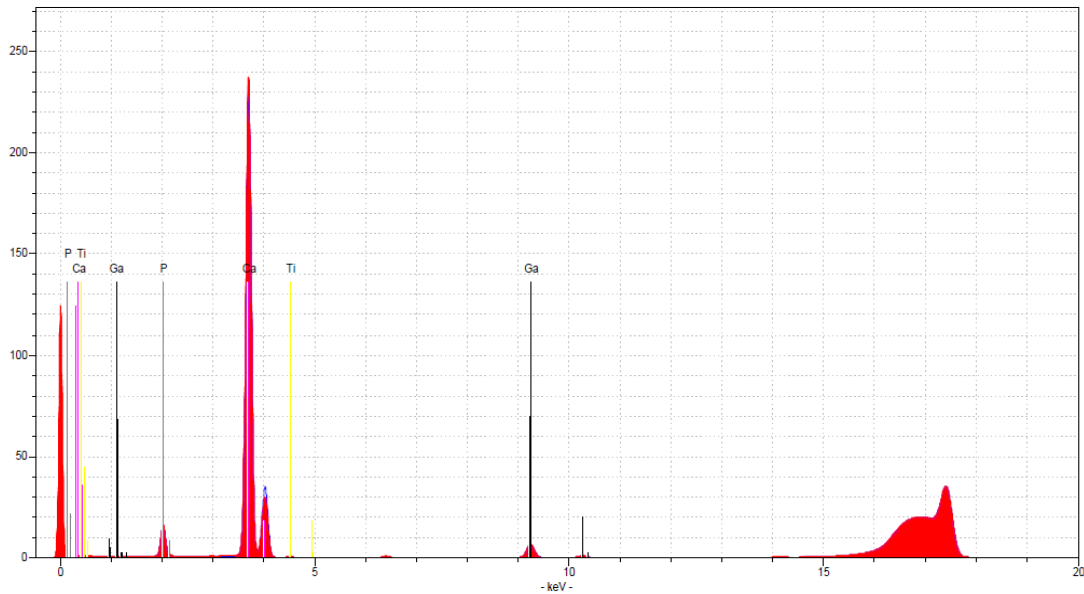


Figura 28. Espectro de fluorescencia atómica típico de las muestras obtenidas. La relación atómica Ca/P es de 1.6637.

7.4 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Las micrografías de microscopía electrónica de barrido (MEB) (ó SEM, por sus siglas en inglés) de diferentes nanopartículas obtenidas en la síntesis de HAp, a diferentes concentraciones de ácido glutámico, se muestran a continuación, las cuales se observaron en un microscopio electrónico de barrido convencional con filamento de tungsteno, recubiertas (metalizadas) a través de una deposición fina de película de oro, con el objetivo de que las nanopartículas de HAp no se “carguen” y distorsione la imagen.

En figura 29 se observan micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #1 (sin ácido glutámico y con nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones. Se aprecia la presencia de nanopartículas con morfología cuasi esférica, las cuales se asocian a una posible deformación debida a la agitación ocurrida en el interior del horno de microondas durante el proceso de síntesis. Los tamaños promedio de las nanopartículas van desde 100 hasta 160 nm lo cual se determino de forma estadística. Se observa también que éstas se encuentran aglomeradas formando cúmulos.

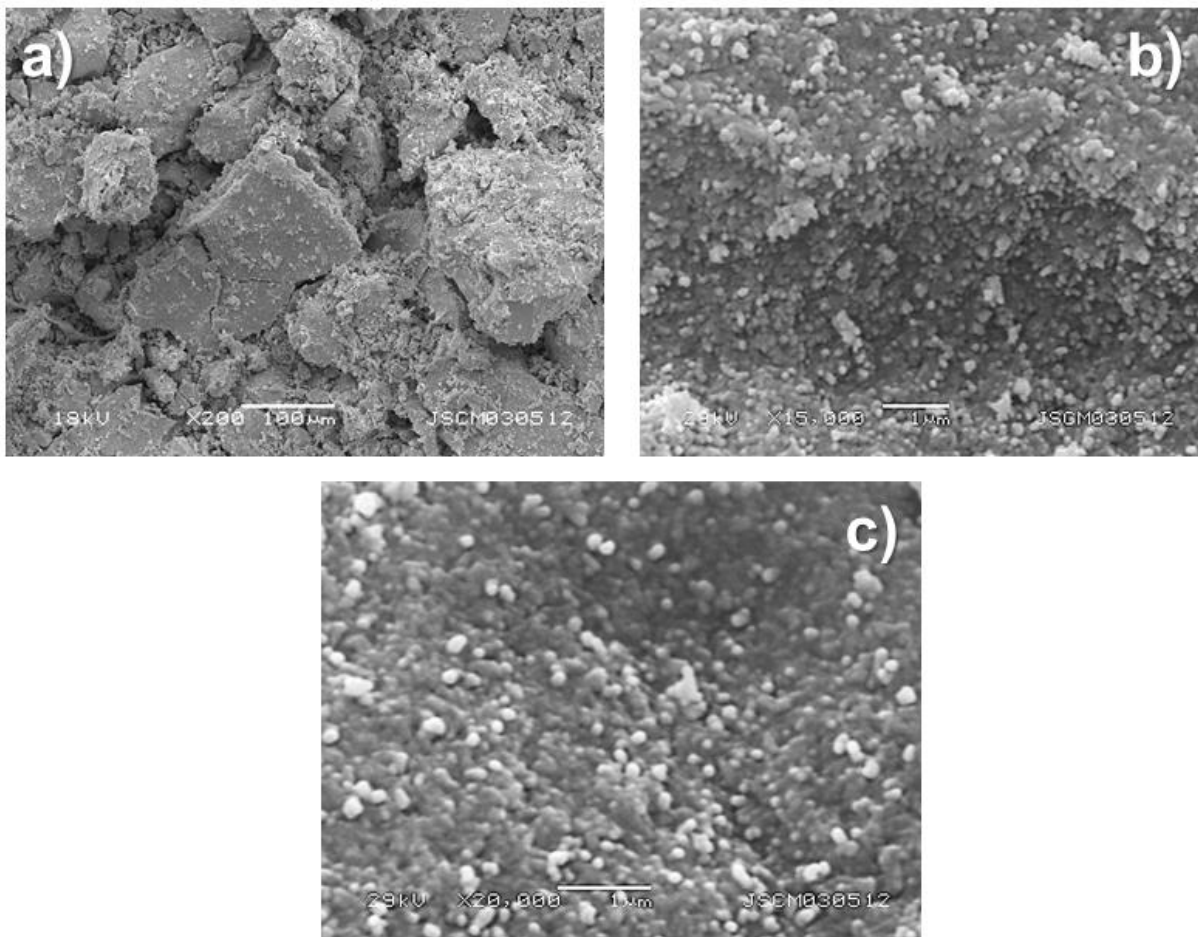


Figura 29 Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #1 (sin ácido glutámico y con nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones: X200 (a), X15000 (b) y X20000 (c).

Las micrografías SEM de la muestra obtenida mediante la reacción #2 (Concentración de 2.0012g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1), tomadas a diferentes ampliaciones, se muestran en la figura 30. Las imágenes muestran estructuras en forma de placas, lo cual indica que la cantidad de ácido glutámico aún no es suficiente para poder obtener la morfología de fibras de HAp buscada. Sin embargo, se aprecia que las placas presentan cierto tipo de exfoliación que, como se discutirá más adelante, lleva a la formación de fibras policristalinas. Los espesores medidos en estas placas son menores a 100 nm. Es claro que la presencia de ácido glutámico modifica la estructura del material obtenido.

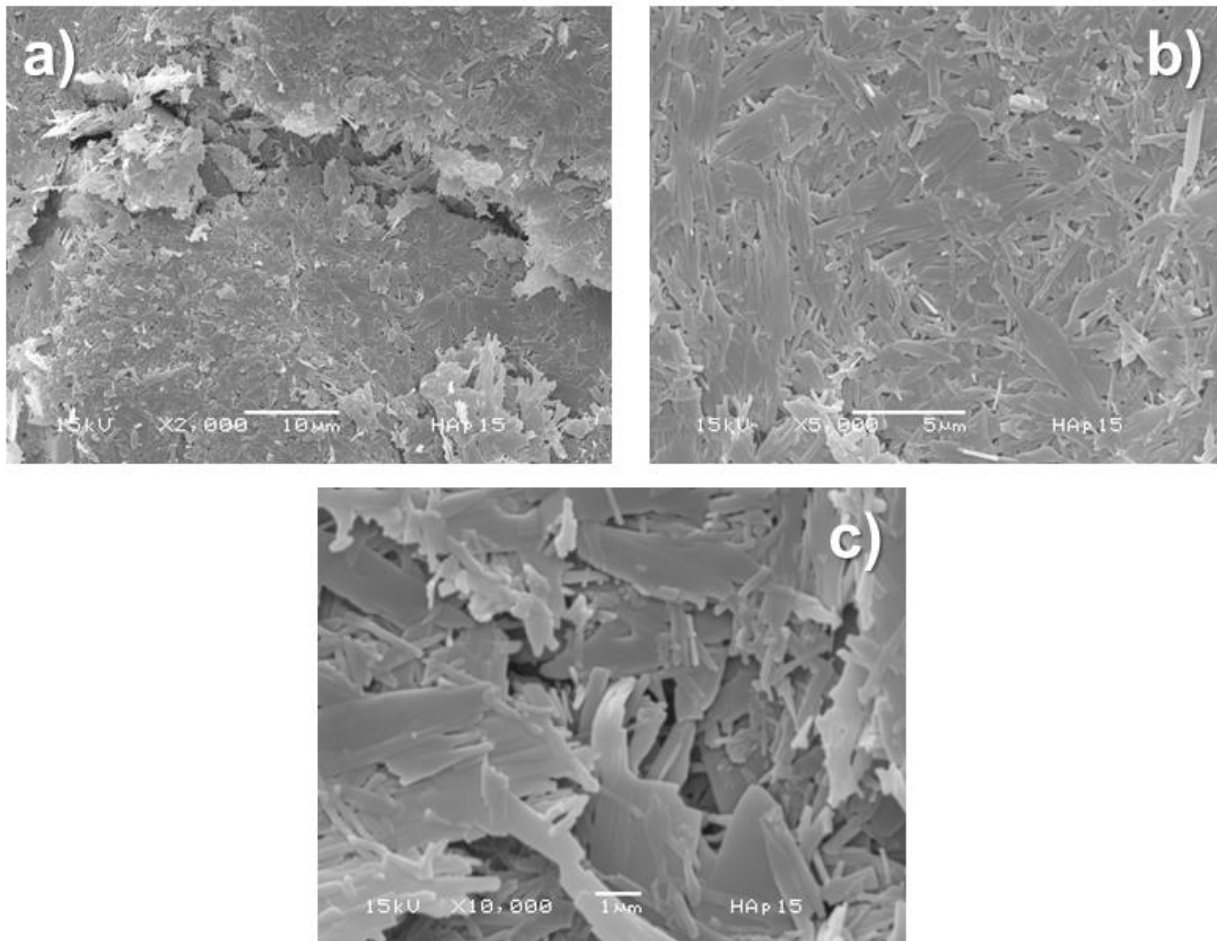


Figura 30. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #2 (Concentración de 2.0012g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones: X2000 (a), X5000 (b) y X10000 (c).

La figura 31 muestra micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #3 (Concentración de 2.178g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones. Las imágenes muestran nanopartículas en forma de placas y fibras lo cual indica nuevamente que la cantidad de ácido glutámico aún no es suficiente para poder obtener las fibras de HAp homogéneas, sin embargo, ya se está obteniendo una buena cantidad de nanofibras. Las nanofibras obtenidas aún no son ideales debido a que su formación no está tan definida como esperaríamos, aparte de que aún se siguen obteniendo nanoplacas. Nuevamente, espesores medidos en las placas son menores a 100 nm, pero en las fibras de hidroxiapatita tienen un tamaño entre 100 y 200 nm de diámetro en promedio.

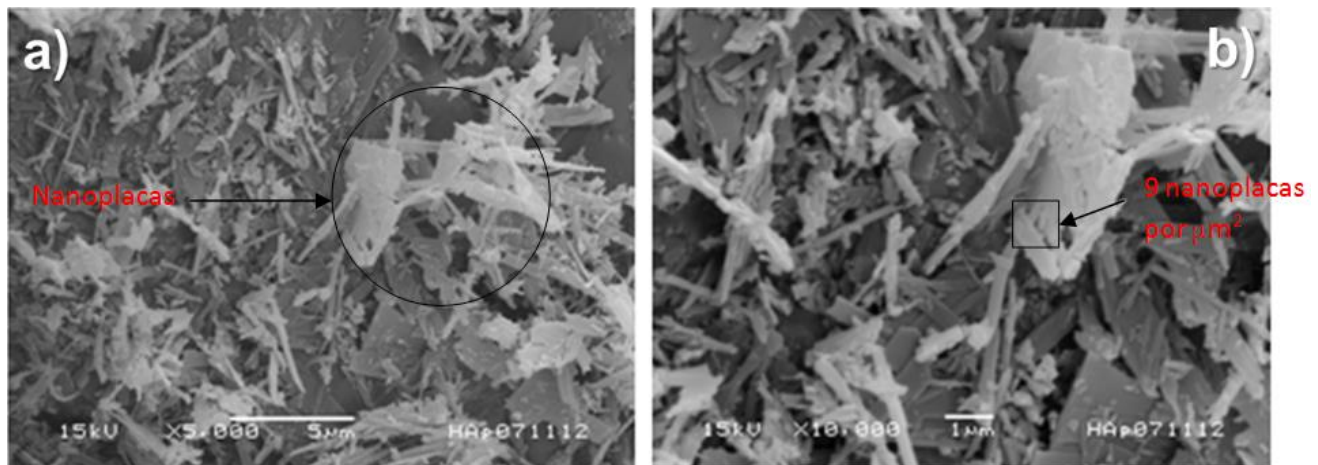


Figura 31. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #3 (Concentración de 2.178g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones: X5000 (a) y X10000 (b).

Las micrografías SEM, correspondientes a la muestra obtenida mediante la reacción #4 (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1), tomadas a diferentes ampliaciones, se muestran en la figura 32. Las imágenes muestran estructuras en forma de fibras de diferentes tamaños, las cuales nos permiten establecer que se están comenzando a obtener nanofibras de HAp. Si bien se observan en diferentes tamaños, las nanofibras obtenidas presentan espesores menores a 100 nm de ancho en determinados casos.

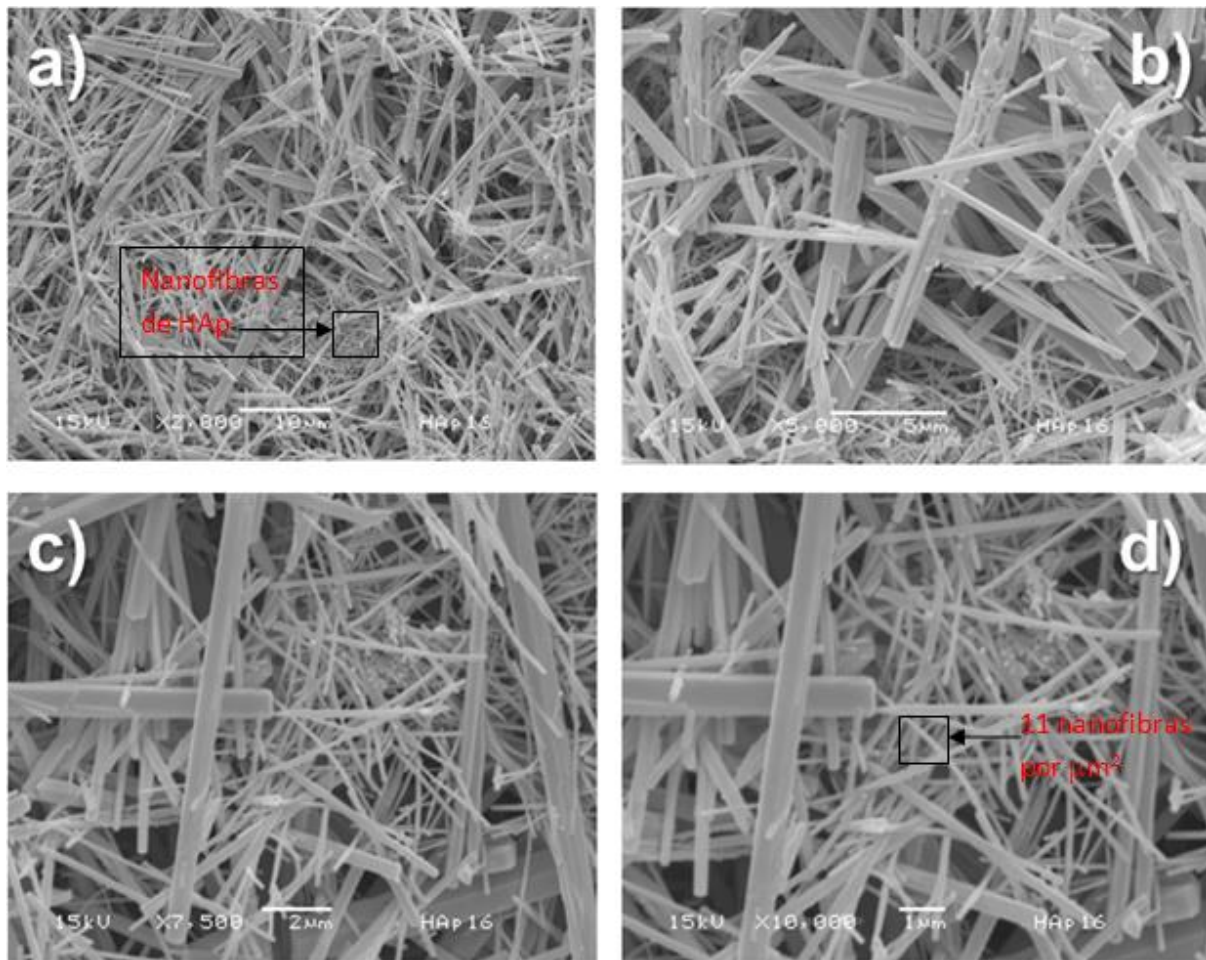


Figura 32. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #4 (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1) a diferentes ampliaciones: X2000 (a), X5000 (b), X7500 (c) y X10000 (d).

La figura 33 muestra micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #5 (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 2) a diferentes ampliaciones. Las imágenes muestran la presencia de nanoestructuras menos definidas que en el caso anterior, observándose que se han formado nanoplacas de diferentes tamaños de espesor y menos estructuras en forma de fibras, por lo que la formulación utilizada no es la adecuada todavía. De cualquier forma, Las nanoestructuras obtenidas presentan tamaños menores a 100 nm en determinados casos.

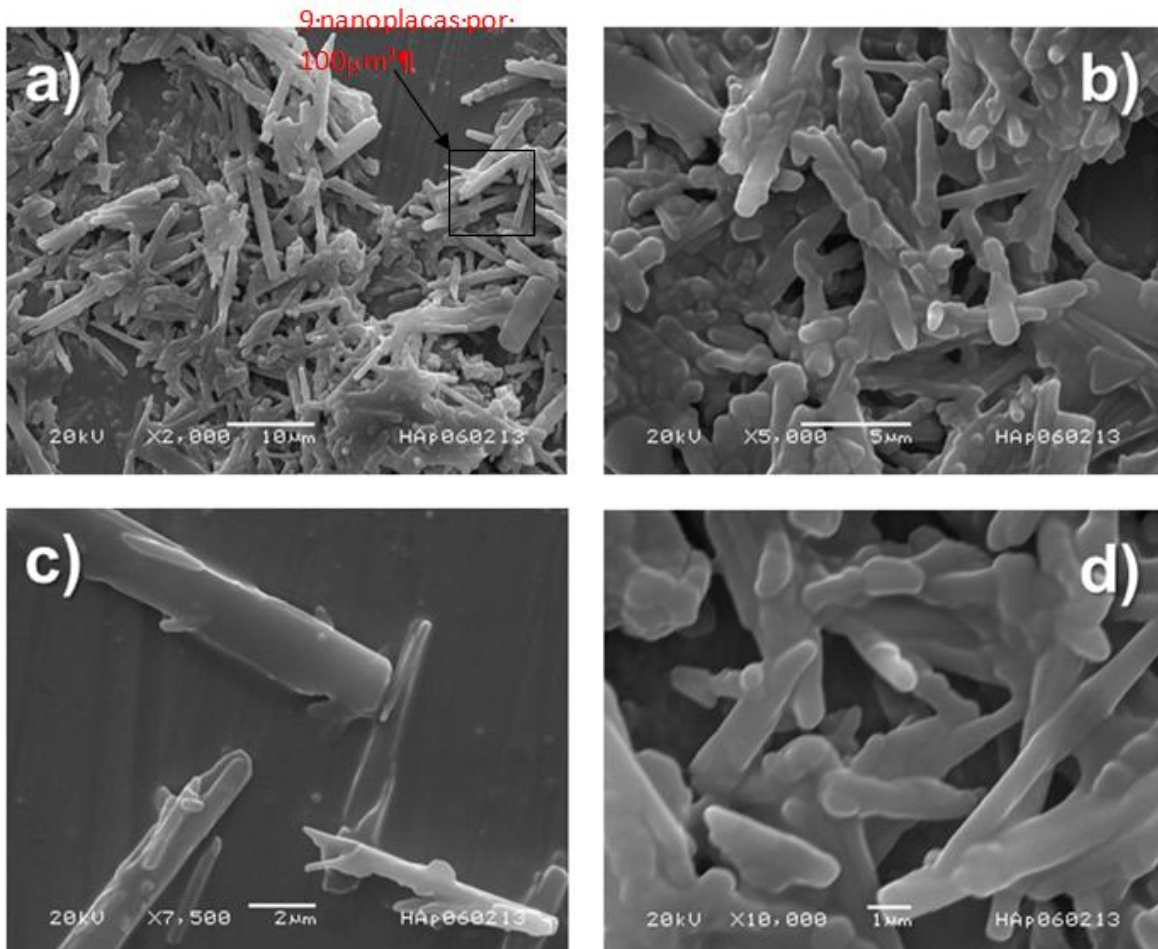


Figura 33. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #5 (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 2) a diferentes ampliaciones: X2000 (a), X5000 (b), X7500 (c) y X10000 (d).

Las micrografías SEM, correspondientes a la muestra obtenida mediante la reacción #6, (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 3) tomadas a diferentes ampliaciones, se observan en la figura 34. En estas imágenes podemos ver nanoestructuras mas alargadas que comienzan a formar fibras, pero éstas se encuentran aglomeradas, de tal forma que, aunque ya se comienza a controlar la morfología y el tamaño, aún no es la formulación adecuada.

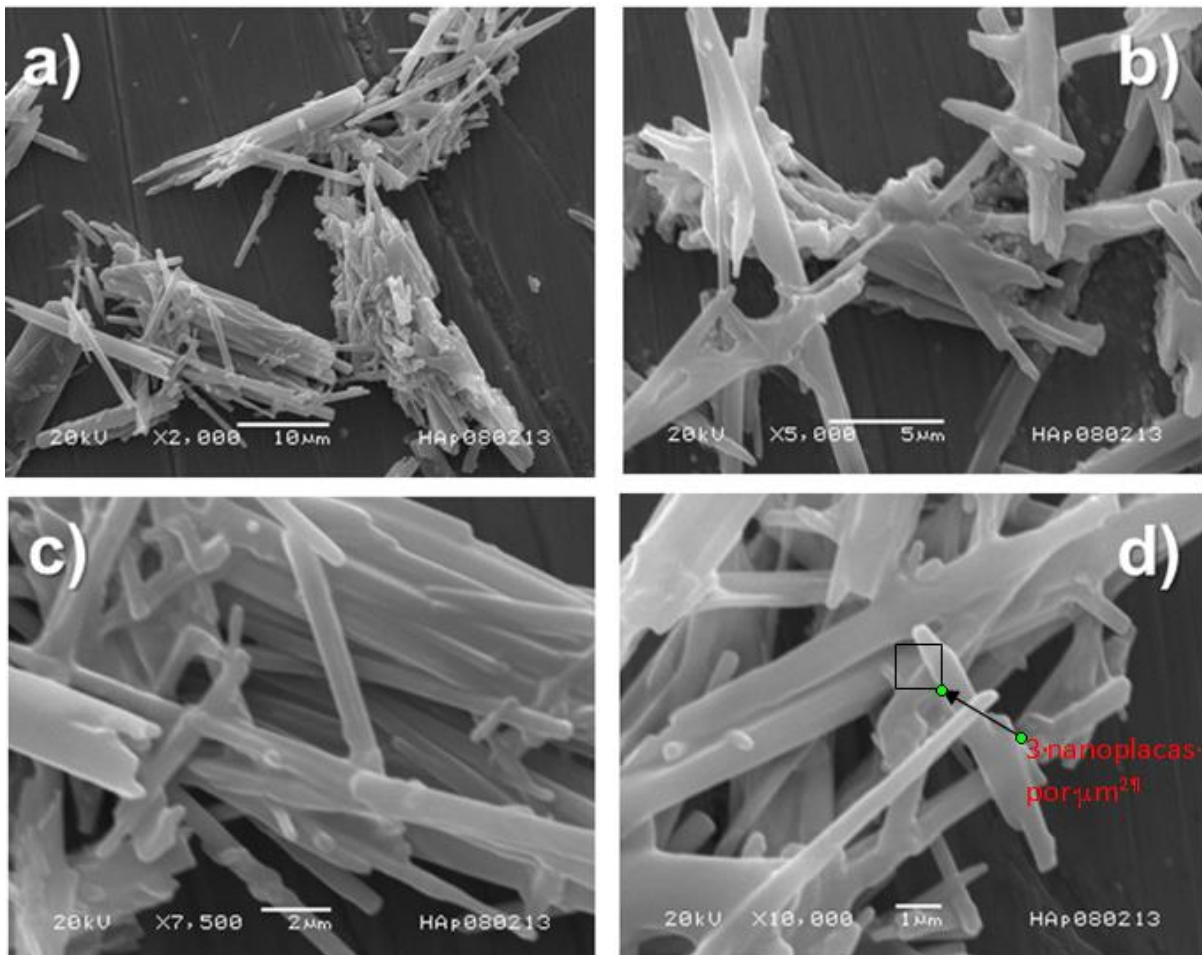


Figura 34. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #6 (Concentración de 4g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 3) a diferentes ampliaciones: X2000 (a), X5000 (b), X7500 (c) y X10000 (d).

La figura 35 podemos ver micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación) a diferentes ampliaciones. En las imágenes se observa la formación de nanofibras de HAp con un tamaño y morfología más homogéneos. Claramente se observa que mediante esta reacción se logró controlar adecuadamente el tamaño y la forma de las nanoestructuras de HAp; existe menor dispersión del diámetro de las fibras y la gran mayoría de éstas tiene dimensiones nanométricas, siendo el diámetro promedio de alrededor de 350 nm.

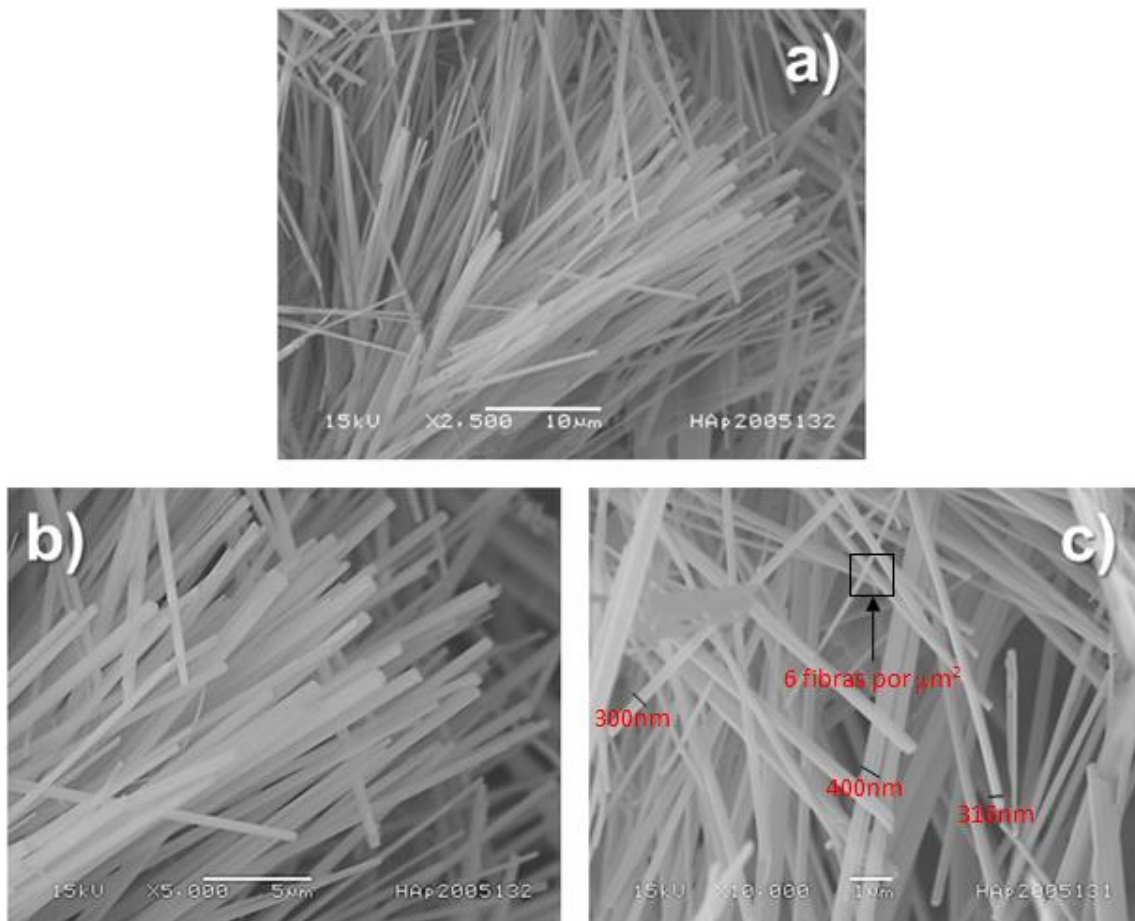


Figura 35. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación) a diferentes ampliaciones: X2500 (a), X5000 (b) y X10000 (c).

La figura 36 muestra micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación) a diferentes ampliificaciones; en ellas se muestran detalles sobre la forma en que crecen las fibras de hidroxiapatita. En la figura 36 a) se aprecia que, una vez que se desprende o se rompe una cáscara (asociado a la velocidad de enfriamiento) que cubre a las fibras se extienden de forma radial, parecido al efecto de soltar un paquete de palillos en una superficie. En la figura 36 b) se observa que las nanofibras crecen dentro de una estructura tubular hexagonal que forma una especie de cáscara, también de HAp, atribuida a la simetría de la red de la estructura cristalina de la HAp, misma que es precisamente hexagonal. La velocidad de enfriamiento influye debido a que a temperatura ambiente el choque térmico que se produce rompe la cascara mientras que al dejarla enfriar dentro del microondas nos permite ver la formación de las fibras de HAp figura 36b.

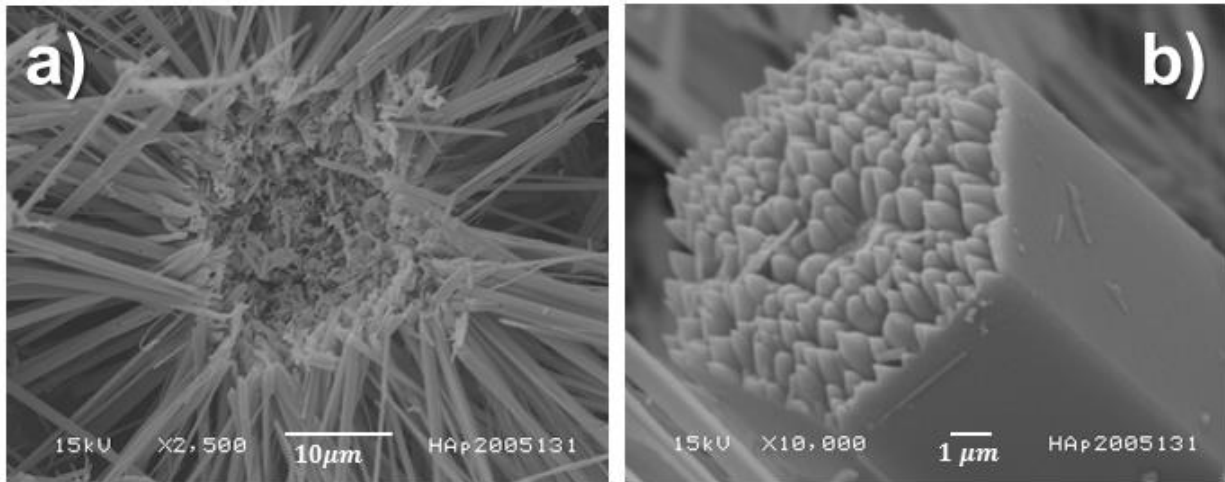


Figura 36. Micrografías SEM de una muestra obtenida con la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación) a diferentes ampliificaciones: X2500 (a) y X10000 (b), mostrando la forma como crecen las nanofibras de HAp.

7.5 Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

A continuación se presentan los resultados obtenidos mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HRTEM, por sus siglas en inglés), correspondientes a ejemplos significativos de las muestras obtenidas mediante diferentes reacciones.

La figura 37 corresponde a dos micrografías HRTEM de la muestra obtenida mediante la reacción #2 (Concentración de 2.0012g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1). En ellas se observa que las fibras obtenidas mediante esta reacción están formadas por pequeños cristalitas de hidroxiapatita, es decir, son fibras policristalinas. Lo anterior conduce a que durante el crecimiento de estas estructuras no se tenga tanto control de la morfología, lo cual concuerda con lo mostrado en la figura 30.

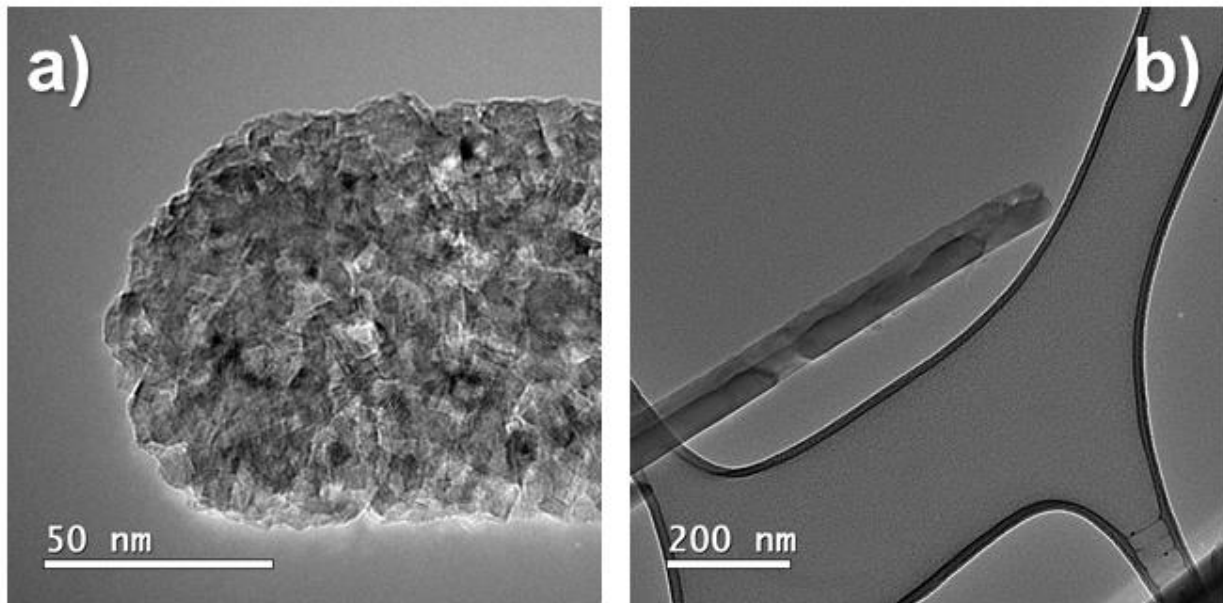


Figura 37. Micrografías HRTEM de la muestra corresponde a la reacción #2 (Concentración de 2.0012g de ácido glutámico y con un nivel de agitación 1).

Micrografías de HRTEM, correspondientes a la muestra obtenida mediante la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación), se muestran en la figura 38. Se aprecia claramente que las fibras de HAp obtenidas mediante esta reacción son más homogéneas, tanto en tamaño como en morfología. Incluso (en la fig. 38 a)) se observa que estas nanofibras tienden a ser monocristalinas, por lo que con estas condiciones es posible controlar tanto su morfología externa, como su cristalinidad.

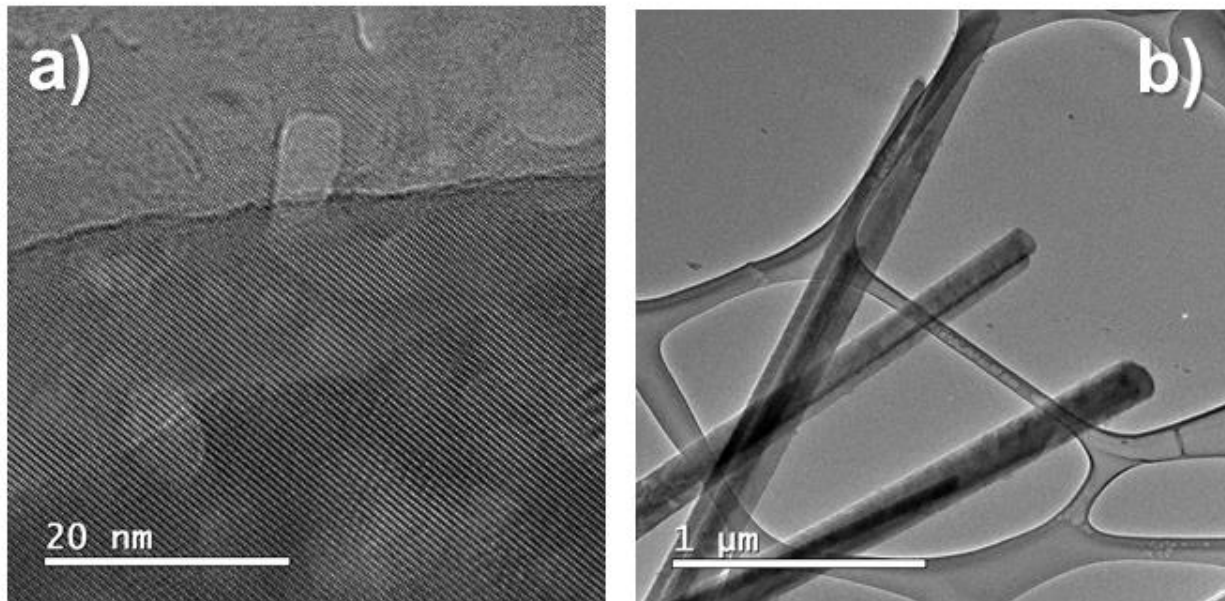


Figura 38. Micrografías HRTEM de la muestra corresponde a la reacción #7 (Concentración de 4g de ácido glutámico y sin agitación).

La figura 39 corresponde a un detalle de la micrografía HRTEM de la muestra obtenida mediante la reacción #7, mostrada en la figura 38. En ella se observa claramente un gran ordenamiento atómico dentro de la fibra. Aunado a lo anterior, en el recuadro marcado con el inciso (b), se muestra la transformada rápida de Fourier (FFT) realizada sobre la zona marcada en la imagen (a) y realizada con el programa “*Digital Micrograph®*” de Gatan®. Dicha FFT se asocia al patrón de difracción de electrones, de tal forma que fue posible indexar las reflexiones de Bragg mostradas en (b). Los planos cristalinos que contribuyen a formar la FFT fueron los (300), (101), (112), (202) y (221).

La intensidad observada dentro de los puntos relacionados con los planos (101) es más alta que la asociada con los otros cuatro planos. Lo último es evidencia de que los planos (300) son de los más abundantes en la estructura cristalina.

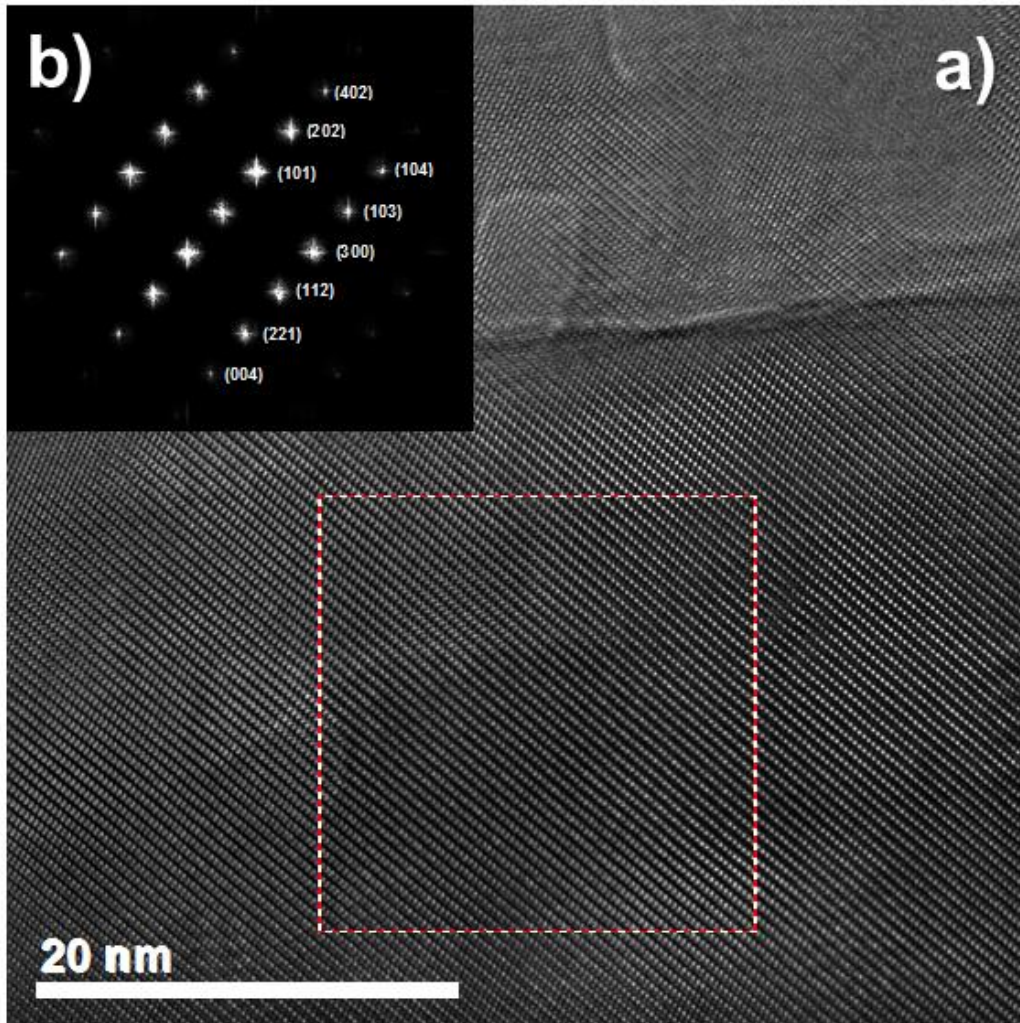


Figura 39. Micrografía HRTEM de la muestra corresponde a la reacción #7 que corresponde a un detalle de la imagen mostrada en la figura 38.

Más aún, mediante dicho programa se realizaron mediciones precisas dentro de la zona marcada en la figura 39 (a), de tal forma que, como se muestra en la figura 40, se logró comprobar que la estructura cristalina obtenida corresponde a hidroxiapatita.

Lo anterior dado que las distancias interplanares medidas, 2.8 y 5.26 Å, corresponden a aquellas de los planos (121) y (101), respectivamente. Además, con esa información es posible determinar la forma y dirección de crecimiento de las nanofibras de HAp obtenidas.

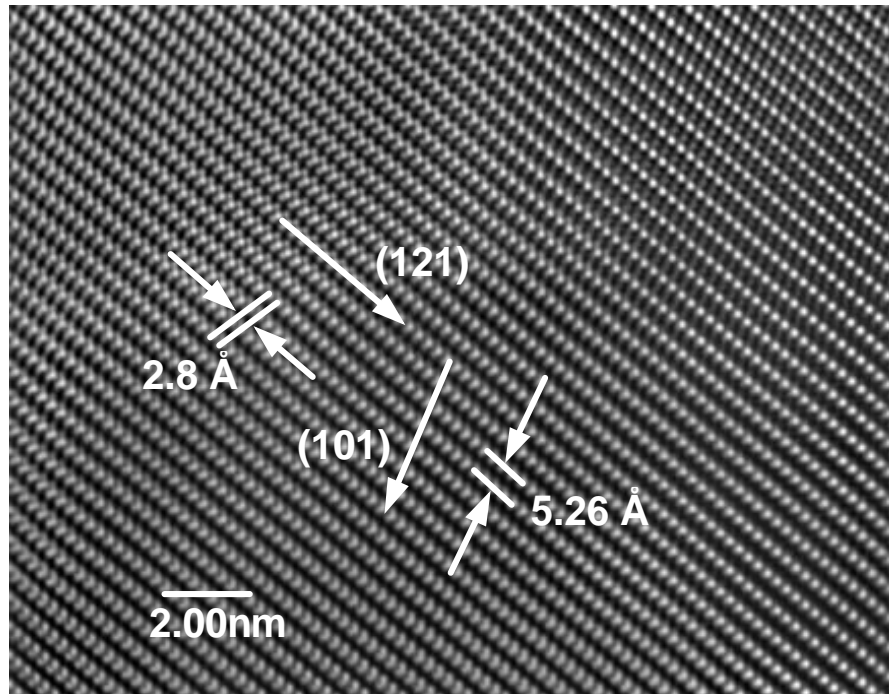


Figura 40. En esta imagen se muestran las distancias interplanares que corresponden a los planos cristalinos (121) y (101) de la estructura de hidroxiapatita.

Estos resultados son muy importantes, ya que comprueban que el método de síntesis ha sido exitoso en la obtención de nanofibras de HAp; que se ha establecido la metodología para controlar la morfología y el tamaño de dichas fibras; que se tiene conocimiento sobre cómo crecen esas estructuras y cómo están conformadas desde el punto de vista de la microestructura.

VIII. CONCLUSIONES

Fue posible obtener hidroxiapatita de manera exitosa mediante el método de microondas y la adición de ácido glutámico en la solución inicial.

En comparación con otros métodos de síntesis, el método asistido por microondas es muy simple de utilizar, es confiable y se tiene una gran eficiencia en la obtención de este tipo de compuestos.

La morfología de las nanoestructuras de hidroxiapatita puede ser modificada y controlada a través de la variación de la concentración de ácido glutámico en la solución. A bajas concentraciones de ácido glutámico se obtienen nanoplacas preferentemente; al aumentar la concentración de este ácido comienza a obtenerse una mezcla de placas y fibras y a concentraciones mayores se obtienen preferentemente nanofibras. Modificando las condiciones de agitación para la concentración de 4 gr de ácido glutámico fue posible obtener únicamente nanofibras.

Por otro lado, a bajas concentraciones de ácido glutámico, las estructuras obtenidas son policristalinas, mientras que a mayores concentraciones, las nanofibras de hidroxiapatita tienden a ser monocristalinas con orientación preferencial y con un alto grado de cristalinidad.

Las condiciones empleadas en el presente trabajo pueden ser de gran utilidad para llevar a cabo la síntesis de nanofibras de HAp con una orientación preferencial, lo cual puede tener efectos muy positivos en sus propiedades mecánicas y mismo que, a su vez, puede ser de gran utilidad para aplicaciones biomédicas.

Finalmente, la obtención de estas nanoestructuras con morfología controlada es un claro ejemplo de la aplicación de la Ciencia e Ingeniería de Materiales para proponer soluciones a problemas importantes para la sociedad, como lo es en este caso, la obtención de un material con gran potencial de ser usado en la fabricación de biomateriales.

IX. PERSPECTIVAS FUTURAS

Realizando un resumen a cerca de las perspectivas futuras de esta área podemos mencionar algunas a continuación:

- Teniendo en consideración los resultados obtenidos en el presente trabajo, se lograron obtener diferentes morfologías de HAp, pero estas aún no son del todo homogéneas, por lo que se podrían proponer algunos ajustes en las condiciones de reacción o en el proceso de calentamiento o enfriamiento.
- Se podrían llevar a cabo estudios sobre las propiedades mecánicas en el material obtenido en el presente trabajo. Lo anterior debido a que en bibliografías consultadas se habla de que el crecimiento preferencial de la HAp mejora dichas propiedades.
- Otro de los pasos que se pueden llevar a cabo es la evaluación del material obtenido para su potencial uso en seres vivos, es decir, realizar pruebas *in vitro* y posteriormente *in vivo* para conocer el grado de biocompatibilidad.

X- REFERENCIAS

1. **Jorge Campa Molina, Guadalupe Sandra Ulloa Godinez, Lauro Bucio Galindo, Irma A. Belio, Rodrigo Velazquez, Eric M. Rivera Muñoz.** Biomateriales, fundamentos, técnicas y aplicaciones. Primera edición s.l. : Universidad de Guadalajara, 2007.
2. **Jesus, Pino Miguez.** Estudio nanometrico de biocompatibilidad y adhesividad celular de biomateria utilizados en cirugía ortopedica. Tesis Doctoral. s.l. : Universidad de Santiago de Compostela, 8 de mayo del 2008.
3. **colaboradores, A. Viladot Voegeli y.** Lecciones básicas de biomecánica del aparato locomotor. s.l. : Editorial Springer.
4. **Theodore L. Brown, H. Eugene LeMay Jr., Bruce E. Busten and Julia R. Burdge.** Química, La ciencia central. s.l. : Editorial Pearson, 2004.
5. **Kay C. Dee, David A. Puleo, Rena Bizios.** An Introduction to Tissue-Biomaterial Intereactions. s.l. : Editorial Wiley-Liss, 2002.
6. **Carlos Navarro Vila.** Cirugía Oral. Ediciones Aran, Primera Edición. Madrid, España 2008.
7. **Cristina, Muñoz Alvares Pilar.** Tesis de maestria: Síntesis y caracterización de un material compuesto a base de hidroxiapatita con propiedades similares a las del tejido óseo natural. Universidad Nacional Autónoma de México : s.n., 2009.

8. **Ross, Michael H.** *Histología*. Washington. : Editorial médica panamericana, mayo del 2007.
9. **Dorozhkin, Sergey V.** *Calcium Orthophosphates, Applications in Nature, Biology and Medicine*. Pan Stanford Publishing, Moscow 2012.
10. **Marcelo, Martins Seckler.** *Técnica de Obtención de hidroxiapatita y otros fosfatos de calcio*. Sao Paulo, Brasil : s.n.
11. **Mualla Oner, Ozlem Dogan.** *Nanoparticle hydroxyapatite crystallization control by using polyelectrolytes*. Davutpasa, Istanbul, Turkey : s.n.
12. **Peipei Wang, Caihong Li, Haiyan Gong, Xuerong Jiang, Hongqiang Wang, Kaixing Li.** *Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical proces*. 2010.
13. **G.K. Lim, J. Wang, S.C. Ng, C.H. Chew, L.M. Ganl.** *Processing of hydroxyapatite via microemulsion and emulsion routes*. s.l. : ELSEVIER, 1997.
14. **P. Luo, T.G. Nieh.** *Synthesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method*. Livermore, CA, USA : ELSEVIER, 1995.
15. **Dean-Mo Liu, T. Troczynski, Wenjea J. Tseng.** *Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development*. Vancouver, BC, Canada : ELSEVIER, 2001.

16. **NING Zhanglei, CHANG Zhidong, LI Wenjun, SUN Changyan, ZHANG Jinghua, LIU Yang.** *Solvothermal Synthesis and Optical Performance of One-dimensional Strontium Hydroxyapatite Nanorod.* Beijing, China : Chinese Journal of Chemical Engineering, 2012.
17. **Cabrera J. L., Velázquez-Castillo R., Rivera-Muñoz E. M.** *Synthesis of Hydroxyapatite Nanostructures Using Microwave Heating.* Queretaro, México : American Scientific Publishers, 2011.
18. **A. Farzadi, M. Solati-Hashjin, F. Bakhshi, A. Aminian.** *Synthesis and characterization of hydroxyapatite/b-tricalcium phosphate nanocomposites using microwave irradiation.* Tekran, Iran : ELSEVIER, 2011.
19. **Susmita Bose, Sudip Dasgupta, Solaiman Tarafder, Amit Bandyopadhyay.** *Microwave-processed nanocrystalline hydroxyapatite: Simultaneous enhancement of mechanical and biological properties.* Washington, USA : ELSEVIER, 2010.
20. **H. Arami, M. Mohajerani, M. Mazloumia, R. Khalifehzadeh, A. Laka, S.K. Sadrnezhad.** *Rapid formation of hydroxyapatite nanostrips via microwave irradiation.* Tehran, Iran : ELSEVIER, 2009.
21. **A. Siddharthan, S.K. Seshadri, T.S. Sampath Kumar.** *Influence of microwave power on nanosized hydroxyapatite particles.* Chennai, India : ELSEVIER, 2006.
22. **Wei Wang, Soichiro Itoh, Yumi Tanaka, Akiko Nagai, Kimihiro Yamashita.** *Comparison of enhancement of bone ingrowth into hydroxyapatite ceramics with highly and poorly interconnected pores by electrical polarization.* Tokyo, Japan : ELSEVIER, 2009.

23. **A. Zamiri, S. De.** *Mechanical properties of hydroxyapatite single crystals from nanoindentation data.* NY, USA : Journal of the mechanical behavior of biomedical materials, 2011.
24. **B.W. Shrews, R. Huiskes, P. Buma, T. J. J.H. Slooff.** *Biomechanical and histological evaluation of a hydroxyapatite-coated titanium femoral stem fixed with an intramedullary morsellized bonegrafting technique: an animal experiment on goats.* s.l. : Biomaterials 17, 1996.
25. **Ting Li, Yu-Qi Feng.** *Biomimetic fabrication of hydroxyapatite-coated zirconia-magnesia composite and its application in the separation of proteins.* s.l. : Talanta 80, 2009.
26. **Eric, Rivera-Muñoz.** *Morphological Analysis de Hydroxyapatite Particles Obtained By Different Methods.* s.l. : Materials Science, 2010, Vols. Vols. 638-642.
27. **Cullity, B. D.** *Elements of X-Ray Diffraction.* s.l. : Addison-Wesley Publishing Company, 1978.
28. **Kenneth A. Rubinson, Judith F. Rubinson.** *Análisis Instrumental.* Madrid : Pearson Educación, 2001.
29. **Stuart, Barbara H.** *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications.* Chichester, England : Editorial Wiley, 2004.
30. **Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman.** *Principios de Análisis Instrumental.* EE.UU. : McGraw-Hill, 2001.

31. **Alfonso J. Vázquez Vaamonde, Juan J. de Damborenea González.** *Ciencia e Ingeniería de la Superficie de los Materiales Metálicos.* Madrid, España : CSIC, 2001.

32. **Jr., William D. Callister.** *Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales.* New York, U.S.A. : REVERTE, 1995.