



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ANDAMIOS TISULARES OBTENIDOS POR ELECTROHILADO A PARTIR DE UNA
MATRIZ DE POLI(ε-CAPROLACTONA) CON PARTÍCULAS DE BIOVIDRIO
SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅ SINTETIZADO POR EL MÉTODO SOLGEL”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA

PRESENTA

AURA ANGÉLICA ÁVILA ZAMORA



MÉXICO, D.F.

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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Méndez Stivalet José Manuel

VOCAL: Profesor: Chávez Martínez Margarita

SECRETARIO: Profesor: Rivera Torres Filiberto

1er. SUPLENTE: Profesor: Tavizon Alvarado Gustavo

2° SUPLENTE: Profesor: Carreto Cortes José Martín Enrique

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
EN MATERIALES, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

ASESOR DEL TEMA:

DR. FILIBERTO RIVERA TORRES

SUPERVISOR TÉCNICO:

DR. RICARDO VERA GRAZIANO

SUSTENTANTE (S):

AURA ANGÉLICA ÁVILA ZAMORA

AGRADECIMIENTOS

A la universidad Nacional Autónoma de México por la formación académica; al Instituto de Investigaciones en Materiales por permitirme realizar este trabajo en sus instalaciones.

Al Dr. Filiberto Rivera Torres (Facultad de Química) por los conocimientos proporcionados a lo largo de este trabajo así como su paciencia.

Al Dr. Ricardo Vera Graciano (Instituto de Investigaciones en Materiales) por el apoyo económico, las facilidades y por fungir como supervisor técnico para la realización de este trabajo.

Al Dr. Alfredo Maciel Cerda (Instituto de Investigaciones en Materiales) por el apoyo y conocimientos adquiridos así como sus valiosos comentarios.

Al Dr. Gustavo Tavizón Alvarado (Facultad de Química) por el apoyo con la mufla para la síntesis del biovidrio.

A la Dra. María Cristina Piña Barba (Instituto de Investigaciones en Materiales) por el apoyo con el equipo de molienda mecánica para reducir el tamaño de partícula del biovidrio.

A la Dra. Margarita Navarrete Montesinos (Instituto de Ingeniería) por el apoyo con el equipo de molienda ultrasónica para reducir el tamaño de partícula del biovidrio.

Al Q. Miguel Ángel Canseco (Instituto de Investigaciones en Materiales) por su apoyo con los análisis térmicos (calorimetría diferencial de barrido, análisis termomecánico y análisis termogravimétrico) y espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier.

A la Dra. Adriana Tejeda Cruz (Instituto de Investigaciones en Materiales) por auxiliarme con los análisis de difracción de rayos X.

Al Dr. Omar Novelo Peralta y Dr. Josué Romero Ibarra (Instituto de Investigaciones en Materiales) por asistirme en los análisis mediante microscopia electrónica de barrido.

Al Ing. Carlos Flores Morales (Instituto de Investigaciones en Materiales) por asistirme con el análisis de microscopia electrónica de transmisión.

A la Dra. Laura Vargas Ulloa (Posgrado de Odontología) por el análisis de inserción del material en un molar, y por sus valiosas aportaciones académicas a este trabajo.

A las Dras. Margarita Victoria García Garduño y Martha Patricia Oropeza Murillo por sus comentarios y valiosas aportaciones a este trabajo.

A los compañeros de grupo de investigación en Materiales: Josué Barrón por ayudarme con la técnica de electrohilado, Amnon Gabriel Ortoll Bloch por el apoyo a lo largo de todo el proyecto y por su amistad, Linda Martínez, Rodolfo Aragón por el apoyo con el análisis

de infrarrojo y la técnica de electrohilado, Pedro Salas, Ulises Espinoza, Maru, Daniela, Alida Ospina y Abel Cortes.

A mis compañeros del museo de las ciencia Universum por el apoyo brindado a lo largo de estos dos últimos años Stephanie Isabel Mendoza Niento, Edgar Arturo Díaz Hernández, María del Carmen Soto Luis, Eduardo Garrido Garrido, Mario Nájera y Gabriela Hernández.

A mis compañeros de la Facultad de Química Ana Cristina Heredia Roldan, Monserrat Talía Medina Sendejas, Denis Monrroy y Karen Robles, por su apoyo económico, académico y sobre todo por brindarme su valiosa amistad.

A Leopoldo López Rodríguez por el apoyo económico e incondicional que me brindo a lo largo de mi formación en la UNAM y que a su vez me permitió continuar con mis estudios de licenciatura.

A Angélica Baldomera Zamora Nava, Marco Antonio Ávila Jiménez, Victor Sinhue Ávila Zamora, Marcos Intixel Ávila Zamora, Guadalupe Jiménez Calyecac, Magda Judit Zamora Nava y Ana Marcelina Nava Rosas por el apoyo incondicional y económico; por hacerme valorar la familia y la vida.

Al programa de apoyo a la investigación e innovación tecnológica PAPIIT a través del proyecto IN-108913.

Al museo de ciencias Universum por permitirme estar de becaria a lo largo de un año 2013-2014 y por el apoyo económico brindado, así como a Juan Ramón Sánchez por darme la oportunidad de trabajar con él en la sala de Química.

A la beca de idiomas impartida por la DGOSE (UNAM) por el apoyo económico para el estudio del idioma inglés.

A la beca de Titulación SEP-CNBES por el apoyo económico para lograr imprimir este trabajo.

DEDICATORIA

Dedicado a las personas que día con día dan lo mejor de sí y que hacen la diferencia.

El hombre es la especie más insensata; venera a un dios invisible y masacra a una naturaleza visible sin saber que esta naturaleza que él masacra es éste dios invisible que él venera.
Huber Reeves.

El presidente de los Estados Unidos, *Franklin Pierce*, envía en 1854 una oferta al jefe *Seattle*, de la tribu *Suwamish*, para comprarle los territorios del noroeste de los Estados Unidos que hoy forman el Estado de Washington. A cambio, promete crear una “reservación” para el pueblo indígena. El jefe *Seattle* responde en 1855:

El Gran Jefe blanco de Washington ha ordenado hacernos saber que nos quiere comprar las tierras. El Gran Jefe Blanco nos ha enviado también palabras de amistad y de buena voluntad. Mucho apreciamos esta gentileza, porque sabemos que poca falta le hace nuestra amistad. Vamos a considerar su oferta pues sabemos que, de no hacerlo, el hombre blanco podrá venir con sus armas de fuego a tomar nuestras tierras. El Gran Jefe Blanco podrá confiar en la palabra del jefe Seattle con la misma certeza que espera el retorno de las estaciones. Como las estrellas inmutables son mis palabras.

¿Cómo se puede comprar o vender el cielo o el calor de la tierra? Si nadie puede poseer la frescura del viento ni el fulgor del agua ¿cómo es posible que usted se proponga comprarlos? Cada pedazo de esta tierra es sagrado para mi pueblo, cada rama brillante de un pino, cada puñado de arena de las playas, la penumbra de la densa selva, cada rayo de luz y el zumbir de los insectos son sagrados en la memoria y vida de mi pueblo.

Los muertos del hombre blanco olvidan su tierra de origen cuando van a caminar entre las estrellas. Nuestros muertos jamás se olvidan de esta bella tierra, pues ella es la madre del hombre. Somos parte de la tierra y ella es parte de nosotros; el ciervo, el caballo, el gran águila son nuestros hermanos.

Por esto cuando el Gran Jefe Blanco de Washington manda decir que desea comprar nuestra tierra, pide mucho de nosotros. Si les vendemos la tierra, ustedes deberán recordar que ella es sagrada, ustedes deberán recordar y enseñar a sus hijos que los ríos son nuestros hermanos, y los suyos también; por lo tanto ustedes deberán dar a los ríos la bondad que le dedicaran a cualquier hermano.

Sabemos que el hombre blanco no comprende nuestras costumbres. Para él una porción de tierra tiene el mismo significado que cualquier otra, pues es un forastero que llega en la noche y extrae de la tierra aquello que necesita. La tierra no es su hermana si no su enemiga, y cuando ya conquistó, prosigue su camino. Deja atrás las tumbas de sus antepasados y no se preocupa. Roba de la tierra aquello que sería de sus hijos y no le importa.

La sepultura de su padre y los derechos de sus hijos son olvidados. Trata a su madre, a la tierra, a su hermano y al cielo como cosas que puedan ser compradas, saqueadas,

vendidas como carneros o adornos coloridos. Su apetito devora la tierra, dejando atrás solamente un desierto.

Yo no entiendo; nuestras costumbres son diferentes de las suyas. Tal vez sea porque soy un salvaje y no comprendo. No hay un lugar quieto en las ciudades del hombre blanco ningún lugar donde se pueda oír el florecer de las hojas en la primavera o el batir de las alas de un insecto. Más tal vez sea porque soy un hombre salvaje y no comprendo. El ruido parece insultar los oídos.

¿Qué resta de la vida si un hombre no puede oír el llorar solitario de un ave o el croar nocturno de las ranas alrededor de un lago? Yo soy un hombre piel roja y no comprendo. El indio prefiere el suave murmullo del viento encrespando la superficie del lago, y el propio viento, limpio por una lluvia diurna o perfumado por los pinos.

El aire es de mucho valor para el piel roja, pues todas las cosas comparten el mismo aire, el animal, el árbol, el hombre, todos comparten el mismo soplo. Parece que el hombre blanco no siente el aire que respira. Como una persona agonizante, es insensible al mal olor. Pero si vendemos nuestra tierra al hombre blanco, él deberá recordar que el aire es valioso para nosotros, que el aire comparte su espíritu con la vida que mantiene.

El viento que le dio a nuestros abuelos su primer respiro, también respiro su último respiro. Si les vendemos nuestra tierra, ustedes deberán mantenerla intacta y sagrada como un lugar donde hasta el mismo hombre blanco pueda saborear el viento azucarado por las flores de los prados.

Por lo tanto, vamos a meditar sobre la oferta de comparar nuestra tierra. Si decidimos aceptar, impondré una condición: el hombre blanco deberá tratar a los animales de esta tierra como a sus hermanos.

Soy un hombre salvaje y no comprendo ninguna otra forma de actuar. Vi un millar de búfalos pudriéndose en la planicie, abandonados por el hombre blanco que los abatió desde un tren al pasar. Yo soy un hombre salvaje y no comprendo cómo es que el caballo humeante de hierro puede ser más importante que el búfalo, que nosotros sacrificamos solamente para sobrevivir.

¿Qué es el hombre sin los animales? Si todos los animales se fuesen, el hombre morirá de una gran soledad de espíritu, pues lo que ocurra con los animales en breve ocurrirá con los hombres. Hay una unión en todo.

Ustedes deberán enseñar a sus niños que el suelo bajo sus pies es la ceniza de sus abuelos. Para que respeten la tierra, digan a sus hijos que ella fue enriquecida con las vidas de nuestro pueblo. Enseñen a sus niños lo que enseñamos a los nuestros, que la tierra es nuestra madre. Todo lo que le ocurre a la tierra, le ocurrirá a los hijos de la tierra. Si los hombres escupen en el suelo, están escupiendo en sí mismos.

Estos es lo que sabemos: la tierra no pertenece al hombre; el hombre es el que pertenece a la tierra.

Lo que ocurra con la tierra recaerá sobre los hijos de la tierra. El hombre no tejió el tejido de la vida; él es simplemente uno de sus hilos. Todo lo que hiciera al tejido, lo hará así mismo.

Incluso el hombre blanco, cuyo Dios camina y habla como él, de amigo a amigo, no puede estar exento del destino común. Es posible de que seamos hermanos, a pesar de todo. Veremos. De una cosa estamos seguros que el hombre blanco llegará a descubrir algún día: nuestro Dios es el mismo Dios.

Ustedes podrán pensar que lo poseen, como desean poseer nuestra tierra; pero no es posible, Él es el Dios del hombre, y su compasión es igual para el hombre piel roja como para el hombre piel blanca.

La tierra es preciosa, y despreciarla es despreciar a su creador. Los blancos también pasaran; tal vez más rápido que las otras tribus. Contamine sus camas y una noche serán sofocados por sus propios desechos.

Cuando nos despojen de esa tierra, ustedes brillaran intensamente iluminados por la fuerza de Dios que los trajo a estas tierras y por alguna razón en especial les dio el dominio sobre la tierra y sobre el hombre de piel roja.

Este destino es un misterio para nosotros, pues no comprendemos el que los búfalos sean exterminados, los caballos bravíos sean todos domados, los rincones secretos del bosque denso sean impregnados del olor de muchos hombres y la visión de las montañas obstruida por los hilos del hablar.

¿Qué ha sucedido con el bosque espeso? Desapareció.

¿Qué ha sucedido con el águila? Desapareció.

La vida ha terminado. Ahora empieza la supervivencia.

Busca y encontraras; pide y se te dará; toca y se te abrirán las puertas.

La biblia, el nuevo testamento.

Los labios de la sabiduría permanecen cerrados excepto para el oído capaz de comprender.

Donde quiera que se hallen las huellas del Maestro, allí los oídos del que está pronto para recibir sus enseñanzas se abrirán de par en par.

Cuando el oído es capaz de escuchar, entonces vendrán los labios que habrán de llenarlos de sabiduría.

El kibalión.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIA	v
ÍNDICE	viii
Lista de figuras	xiii
Lista de tablas	xvii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	1
1.2. Justificación.....	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos particulares	3
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES TEÓRICOS	4
2.1. Concepto de biomateriales	4
2.2. Historia de los biomateriales: injertos del tejido óseo.....	4
2.3. Clasificación de los biomateriales.....	5
2.3.1. Polímeros	5
2.3.2. Cerámicos	5
2.3.3. Metales	5
2.3.4. Materiales compuestos	6
2.4. Biocerámicos y biovidrio	7
2.5. Propiedades fisicoquímicas de los biovidrios.....	8
2.6. Procesos de obtención de los biovidrios.....	8
2.6.1. Ventajas de la técnica solgel.....	8
2.6.2. Proceso a nivel estructural que se lleva a cabo durante la síntesis de los biovidrios por medio de la técnica solgel.....	9
2.7. Impacto del Mg en los biovidrios y en el cuerpo humano.....	13
2.8. Intercambio de iones en la superficie del biovidrio	16
2.9. Biopolímeros	16
2.10. Propiedades fisicoquímicas de los polímeros biodegradables	17
2.10.1. Peso molecular	17
2.10.2. Concepto de entrecruzamiento y ramificación.....	17
2.10.3. Biocompatibilidad.....	18

2.11. Policaprolactona PCL.....	18
2.12. Andamios Tisulares.....	19
2.12.1. Concepto de andamio tisular.....	19
2.13. Diferentes técnicas para la obtención de andamios.....	19
2.14. Andamios tisulares para la regeneración del tejido óseo.....	21
2.15. Técnica de electrohilado para la obtención de andamios tisulares.....	21
CAÍTULO 3: SECCIÓN EXPERIMENTAL Y CARACTERIZACIÓN	23
3.1. Materiales.....	23
3.1.1. Reactivos para la síntesis del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	23
3.1.2. Reactivos para los andamios.....	23
3.1.3. Disolventes para mediciones de ángulo de contacto.....	23
3.1.4. Disolventes para molienda ultrasónica.....	23
3.1.5. Disolventes empleados para determinar el grado de cristalinidad del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	24
3.2. Equipo empleado para la molienda del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	24
3.2.1. Molienda mecánica del biovidrio.....	24
3.2.2. Molienda ultrasónica del biovidrio.....	24
3.3. Equipo e instrumentos empleados para la caracterización del material.....	25
3.3.1. Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de Fourier (IRTF).....	25
3.3.2. Difracción de rayos X (DRX).....	26
3.3.3. Análisis térmicos.....	28
3.3.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB).....	28
3.3.3.2. Análisis termomecánico (ATM).....	29
3.3.3.3. Análisis termogravimétrico (TGA).....	30
3.3.4. Microscopía.....	31
3.3.4.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	31
3.3.4.1.1. Recubrimiento en Au para los andamios de poli(ϵ -caprolactona) con biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	32
3.3.4.2. Microscopía electrónica de transmisión (MET) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	33
3.3.5. Ángulo de contacto (en la superficie de los andamios de PCL).....	34
3.4. Procedimiento experimental.....	35

3.4.1. Síntesis de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ por el método solgel	35
3.4.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración en %mol del MgO	37
3.4.3. Reacciones	38
3.4.4. Molienda mecánica del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	39
3.4.5. Molienda ultrasónica del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	40
3.5. Procedimiento experimental para el análisis de superficie del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ con respecto a la dentina en un molar	41
3.5.1. Preparación de la pasta para obturación	41
3.5.2. Preparación del molar	41
3.5.3. Obturación del orificio en el molar	41
3.6. Caracterización del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	41
3.6.1. Determinación del método experimental para la obtención del biovidrio por el proceso de solgel	41
3.6.1.1. Análisis por difracción de rayos X (DRX)	41
3.6.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración %mol del MgO	42
3.6.2.1. Análisis de Infrarrojo por transformada de Fourier (IRTF) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.3. Estudios de propiedades térmicas del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.3.2. Análisis termomecánico (ATM) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.3.3. Análisis por termogravimetría (ATG) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	42
3.6.2.4. Análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica	42
3.6.2.5. Análisis por microscopio electrónico de transmisión (MET) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	43
3.6.2.6. Análisis de superficie del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ con respecto a la	

dentina en un molar por MEB	43
3.6.3. Obtención de las nanofibras de poli(ϵ -caprolactona).....	43
3.6.3.1. Disoluciones de poli(ϵ -caprolactona).....	43
3.5.3.2. Electrohilado de poli(ϵ -caprolactona)	43
3.6.3.3. Obtención de las nanofibras de poli(ϵ -caprolactona) con inserción de partículas de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	44
3.6.4. Mediciones de ángulo de contacto de los andamios de PCL	45
3.6.5. Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL- $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	46
3.6.4.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB)	46
3.6.4.2. Análisis de superficie por medio de ángulos de contacto	46
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
4.1. Síntesis y Caracterización del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	47
4.1.1. Determinación del procedimiento experimental para la obtención del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ muestras piloto	47
5.1.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) de las muestras piloto	49
4.1.3. Análisis de las muestras piloto por MEB del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica	55
4.1.3. Análisis de las muestras piloto por MEB del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica	59
4.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración %mol del MgO	62
4.2.1. Rendimiento del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	62
4.2.2. Molienda ultrasónica del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	63
4.2.3. Análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB) biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica	64
4.2.4. Resultados de la caracterización de diferentes muestras de $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ cuando se varía la concentración en % mol del MgO	66
4.2.4.1. Análisis de Infrarrojo por transformada de Fourier (IRTF) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	66
4.2.4.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	67
5.2.4.3. Estudios de propiedades térmicas del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$	73

4.2.4.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB) del biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅	73
4.2.4.3.2. Análisis termomecánico (ATM) del biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅ ...	75
4.2.4.3.3. Análisis por termogravimetría (ATG) del biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅	79
4.3. Análisis de superficie del biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅ con respecto a la dentina en un molar por MEB.....	80
4.4. Andamios de poli(ε-caprolactona) con biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅ obtenidos por la técnica de electrohilado	86
4.4.1. Análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB) del biovidrio en las fibras de poli(ε-caprolactona)	86
4.4.2. Análisis del diámetro de fibra en los andamios obtenidos por la técnica de electrohilado. Histogramas	89
4.4.3. Mediciones de ángulo de contacto	94
CAPITULO 5: CONCLUSIONES.....	98
CAÍTULO 6: RECOMENDACIONES	99
CAPITULO 7: BIBLIOGRAFÍA.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Hidrólisis del TEOS	9
Figura 2.2. Hidrólisis del TEP	10
Figura 2.3. Condensación	10
Figura 2.4. Formación del biovidrio	12
Figura 2.5. Formación de las partículas terciarias las que dan lugar a aglomerados (clusters).....	13
Figura 2.6. Descripción gráfica de proceso de intercambio de iones y la formación de la hidroxiapatita	16
Figura 2.7. Proceso de hilado por fundición	20
Figura 2.8. Proceso de hilado por disolución.....	21
Figura 2.9. Sistema de electrohilado y la fibra proveniente del jet bajo la influencia de un campo electrostático.....	22
Figura 2.10. Diagrama esquemático del electrihilado que muestra el jet.....	22
Figura 2.11. Diferentes tipos de colectores que permiten obtener diferentes morfologías de los andamios.....	22
Figura 3.1. Molino de bolas	24
Figura 3.2. Sonda de ultrasonido empleada para la molienda ultrasónica del biovidrio	25
Figura 3.3. Equipo de infrarrojo con transformada de Fourier	26
Figura 3.4. Planos en un cristal, difracción.....	27
Figura 3.5. Equipo de difracción de rayos X.....	28
Figura 3.6. Esquema de un sistema de calorimetría diferencial de barrido.....	29
Figura 3.7. Equipo CDB 2910 de TA Instruments.....	29
Figura 3.8. Analizador termomecánico TMA 2940 de TA Instruments.....	30
Figura 3.9. Analizador termogravimétrico de alta resolución TGA 2950 de TA Instruments.....	31
Figura 3.10. Microscopio electrónico de barrido	32
Figura 3.11. Equipo para el recubrimiento de materiales no conductores	33
Figura 3.12. Microscopio electrónico de transmisión	34
Figura 3.13. Diagramas de medición de ángulo de contacto	35
Figura 3.14. Tamices que se emplearon para poder clasificar el tamaño de partícula de acuerdo a su diámetro	40

Figura 3.15. Equipo de electrohilado	44
Figura 3.16. Goniómetro	45
Figura 4.1. Difractograma de la muestra piloto 23% mol MgO	50
Figura 4.2. Difractograma de la muestra piloto 13%mol MgO	51
Figura 4.3. Las tres estructuras cristalinas presentes en el biovidrio piloto 13% mol MgO.....	52
Figura 4.4. Difractograma de la muestra piloto 3% mol MgO	53
Figura 4.5. Difractograma de la estructura cristalina presente en el biovidrio piloto 3% mol MgO	54
Figura 4.6. Micrografías por MEB de la muestra 23%mol MgO antes de la molienda mecánica	56
Figura 4.7. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO antes de la molienda mecánica	56
Figura 4.8. Micrografías por MEB de la muestra 3% mol MgO antes de la molienda mecánica	57
Figura 4.9. Micrografía por MEB donde se muestra la estructura de un cristal.....	58
Figura 4.10. Micrografías por MEB de la muestra 23% mol MgO después de la molienda mecánica	58
Figura 4.11. Diagrama de la porosidad de los biovidrios	59
Figura 4.12. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 27.5 horas.....	60
Figura 4.13. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 96 horas	60
Figura 4.14. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 169.5 horas.....	61
Figura 4.15. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en DMEM a 25 horas.....	61
Figura 4.16. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en DMEM a 164.5 horas.....	62
Figura 4.17. Micrografías por MEB comparación de la molienda ultrasónica con la molienda mecánica.....	64
Figura 4.18. Micrografía por MEB de la muestra piloto 3% y 8% mol MgO antes y después de la molienda mecánica respectivamente	65

Figura 4.19. Espectro de infrarrojo de diferentes composiciones del biovidrio SiO ₂ -CaO-MgO-P ₂ O ₅ sintetizados por la técnica solgel	66
Figura 4.20. Difractograma de la muestra piloto 23% mol MgO es 100% amorfa.....	67
Figura 4.21. Difractogramas de las muestras 16%, 8% y 5% mol de MgO.....	68
Figura 4.22. Difractograma de la muestra 13% mol MgO.....	69
Figura 4.23. Las tres estructuras cristalinas presentes en el biovidrio 13% mol MgO.....	70
Figura 4.24. Difractograma de la muestra 3% mol MgO	71
Figura 4.25. Las dos estructuras cristalinas presentes en el biovidrio 3% mol MgO.....	72
Figura 4.26. Cristalinidad respecto al porcentaje en mol de MgO.....	73
Figura 4.27. Termograma por calorimetría diferencial de barrido	74
Figura 4.28. Reacciones de condensación de los grupos silanol	75
Figura 4.29. Termograma por ATM.....	75
Figura 4.30. T _g contra %mol MgO, comparación de los valores experimentales obtenidos y los calculados	78
Figura 4.31. Coeficiente de dilatación lineal contra %mol MgO, comparación de los valores experimentales obtenidos y los calculados.....	79
Figura 4.32. Análisis termogravimétrico	80
Figura 4.33. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO después de la molienda mecánica y antes de someter el material en un medio biológico.....	81
Figura 4.34. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO después de ser sometida en un medio biológico (molar)	82
Figura 4.35. Análisis del biovidrio por MEB y DRX.....	83
Figura 4.36. Segundo análisis del biovidrio por MEB y DRX	83
Figura 4.37. Análisis por MEB de la dentina del molar	84
Figura 4.38. Análisis elemental realizado en la fase continua del biovidrio	84
Figura 4.39. Análisis por DRX en la fase no continua del biovidrio.....	85
Figura 4.40. Micrografía del andamio poli(ε-caprolactona) con biovidrio 3% mol MgO ...	86
Figura 4.41. Histogramas de la muestra 16% mol MgO	90
Figura 4.42. Histogramas de la muestra 13% mol MgO	91
Figura 4.43. Histogramas de la muestra 8% mol MgO	92
Figura 4.44. Histogramas de la muestra 5% mol MgO	93
Figura 4.45. Histogramas de la muestra 3% mol MgO	94
Figura 4.46. Medición de ángulos de contacto	94

Figura 4.47. Micrografías por MEB de los andamios 16% mol MgO y 3% mol MgO
comparación 96

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Efecto de los iones en el metabolismo del hueso humano.....	16
Tabla 3.1. Composiciones en %mol de los tres biovidrios sintetizados como muestras piloto.....	36
Tabla 3.2. Composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ en % mol.....	38
Tabla 4.1. Resumen de condiciones de síntesis del biovidrio	48
Tabla 4.2. Fases cristalinas presentes en las muestras 13% mol MgO	53
Tabla 4.3. Fases cristalinas presentes en las muestras 3% mol MgO	55
Tabla 4.4. Composiciones de las cinco muestras de biovidrio más la muestra piloto 23% mol MgO	62
Tabla 4.5. Rendimiento de las cinco muestras de biovidrio más la muestra piloto 23% mol MgO.....	63
Tabla 4.7. Tamaño de partícula del biovidrio de las muestras finales	65
Tabla 4.8. Comparación de la T_g teórica con la T_g experimental.....	77
Tabla 4.9. Valores del coeficiente de dilatación lineal (α) en función de la composición del biovidrio	79
Tabla 4.10. Porcentaje de masa perdida en los biovidrios $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ después de análisis termogravimétrico	80
Tabla 4.11. Condiciones de los andamios obtenidos a distintas condiciones con y sin inserción de biovidrio por la técnica de electrohilado	88
Tabla 4.12. Ángulos de contacto obtenidos en cada muestra de electrohilado de los andamios	97

INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

La regeneración biológica se ha definido como la capacidad que poseen ciertos organismos vivos para restaurar un tejido perdido o lesionado. Los tejidos se están reparando continuamente al activar su propio mecanismo, pero esta autorreparación no siempre es suficiente principalmente cuando la zona afectada o dañada es grande, por lo cual para esto se requiere de un medio externo que pueda ayudar a dicha función.

El uso de injertos es muy común ahora en día para compensar el tejido perdido o dañado; un ejemplo son los sustitutos de piel, los cuales se emplean como injerto frecuentemente en quemaduras donde puede llegar haber una pérdida parcial o total de dicho tejido; otro ejemplo y no siendo la excepción es el empleo de tejido óseo como injerto, el uso más común como injerto es para la fusión espinal, donde se emplean dos o más vertebrae; otras aplicaciones es para los defectos segmentales en huesos largos, reconstrucción facial, aplicaciones dentales y para defectos que se producen al retirar un tumor.^[17]

En cuanto a los injertos empleados en el tejido óseo solo se usan dos, que es el autoinjerto y el aloinjerto. En el caso de los aloinjertos estos son donados por personas mayores y uno de los problemas que presentan estos injertos es que tienen bajas propiedades mecánicas; por lo cual la ingeniería de tejidos se ha enfocado en sintetizar materiales con mejores propiedades mecánicas.^[17]

Se han empleado muchos materiales como injertos uno de ellos es la hidroxiapatita sintética; la cual presenta un problema en cuanto a su degradación pues es muy lenta, también se han empleado derivados de la hidroxiapatita sintética como lo es hidroxiapatita con silicio que mejora la rapidez de degradación del material además de presentar buena bioactividad lo que ha hecho que se convierta en uno de los principales productos en el mercado como sustituto de injerto para las operaciones de fusión espinal. Una de las razones por las cuales mejora la degradación e incluso la bioactividad es debido a su estructura atómica la cual es más desordenada. Esto resulta en mayores defectos como en la frontera de grano lo cual permite una mayor rapidez de degradación.^[17]

El primer biovidrio sintetizado fue por Hench en los 70's, el cual posteriormente se denominó 45S5® con una composición $45\text{SiO}_2-24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5$ (% en peso); el biovidrio fue implantado por primera vez en una rata y se encontró que posterior a su implantación el enlace entre el hueso y el biovidrio era muy fuerte tanto que no era posible removerlo sin tener que romper el hueso; esto fue atribuido a la apatita hidroxycarbonatada, similar a la apatita biológica la cual se forma en la superficie

del material al entrar en contacto con el fluido corporal. Esto crea un enlace con el hueso mediante la interacción con las fibras de colágeno. Más tarde se encontró que la simulación de formación del hueso se da lejos de la interfaz del implante (osteoinducción) y que el silicio soluble así como el calcio causan una mayor regulación en los genes relacionados con la formación del hueso en osteoblastos humanos.^[17]

Un tejido de hueso poroso artificial debe contener poros interconectados en la red para que las células, sangre y vasos puedan penetrar dentro del material; el tamaño de esas interconexiones ha sido muy debatido, pero se ha aceptado ampliamente que el diámetro de las interconexiones debe ser $\leq 100\mu\text{m}$ para permitir la vascularización y el crecimiento interno del hueso. Los vasos deben crecer en el centro del injerto para que el hueso recién formado sobreviva, el problema es que se forma un círculo vicioso ya que, el nuevo hueso requiere sangre y vasos para sobrevivir, pero los vasos sanguíneos solamente crecerían dentro del injerto si el hueso contiene actividad de células metabólicas. Por lo cual la ingeniería de tejidos podría ayudar a superar este problema.^[17]

1.2. Justificación

Debido al impacto que a lo largo de estas últimas décadas la ingeniería de tejidos ha tenido en el sector salud; el enfoque se ha modificado a lo largo de los años; sabiendo que las principales soluciones a los problemas respecto a los tejidos en el caso de pérdidas; es en la actualidad quien ocupa un mayor mercado las prótesis; a pesar de ello se ha establecido un enfoque nuevo dirigido a la regeneración de los tejidos parcialmente perdidos; esto se debe a las ventajas que presentan los materiales que permiten esta regeneración y a las desventajas que se tienen con las prótesis.

En el caso del tejido óseo esta regeneración está dirigida a la pérdida parcial del tejido. Los materiales que presentar mayores perspectivas son los biovidrios; además de que se ha reportado en la literatura que los materiales compuestos (como el caso de los andamios tisulares PCL-cerámico)^[50] le proporciona al material mejores propiedades fisicoquímicas y de respuesta biológica lo que puede tener un mayor impacto en la regeneración del tejido.

Debido a lo anterior se escogió un sistema polímero-cerámico donde el polímero es la poli(ϵ -caprolactona) y el material cerámico un biovidrio cuaternario: $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$.

Se escogió como cuarto componente el MgO debido al impacto que tiene el Mg en las propiedades fisicoquímicas del biovidrio, entre ellas el incremento de su resistencia mecánica; además de que tiene influencia en el metabolismo biológico. Mientras que la poli(ϵ -caprolactona) presenta varias

características prometedoras como soporte (andamio) como lo son la liberación controlada de fármaco entre otros.^[35]

La técnica solgel para la síntesis del biovidrio a comparación de la técnica convencional por fundición ha proporcionado mayores ventajas como lo es una disminución en el tamaño de partícula obtenido; mientras que por la técnica convencional de fundición este tamaño es mayor, como consecuencia de ello los biovidrios sintetizados por solgel presentan una mayor área superficial (hasta dos órdenes de magnitud).^[8]

En base a lo anterior y debido a que el electrohilado ha demostrado ser una técnica adecuada para la fabricación de andamios tisulares; en este trabajo se fabricará andamios tisulares de poli(ϵ -caprolactona) $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ empleando la técnica de electrohilado y la síntesis del biovidrio por solgel, así como se realizará su respectiva caracterización del composito y de los materiales de forma individual que conforman este sistema: la matriz poli(ϵ -caprolactona) y la fase discontinua formada por partículas de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$. Además de observar el impacto del magnesio en las propiedades térmicas del biovidrio.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Obtener y caracterizar el biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ (variando la composición del MgO en %mol) mediante la técnica solgel y su posterior inserción en nanofibras de poli(ϵ -caprolactona) obtenidas mediante la técnica conocida como electrohilado; para así tener un composito con aplicación en la regeneración tisular ósea.

1.3.2. Objetivos particulares

- Definir el procedimiento experimental para la síntesis por el método solgel del sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$.
- Realizar la síntesis de cinco muestras de biovidrio variando la concentración en % mol del MgO.
- Reducción de micropartículas a nanopartículas.
- Caracterización de cada una de las muestras por IRTF, análisis térmicos, rayos X, microfotografía y comparación de superficies entre el biovidrio y la dentina de un molar.
- Obtención de nanofibras de PCL con biovidrio por el método de electrohilado.
- Caracterización por microfotografía de las nanofibras.

ANTECEDENTES TEORICOS

2.1. Concepto de Biomateriales

La Sociedad Europea de Biomateriales define un biomaterial como un material que se encuentra en contacto con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o sustituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo. Dentro de estos materiales se encuentran los cerámicos que son materiales inorgánicos en fases amorfas poli o monocristalinas.

2.2. Historia de los biomateriales: injertos para el sistema óseo

El uso de materiales para tratar, aumentar o sustituir un tejido no es reciente, ya que se tiene antecedentes de civilizaciones antiguas que usaban materiales para tratar diversos problemas. En cuanto al tejido óseo, se sabe que las cirugías para reparar deformidades o defectos en el cráneo se empleaban una gran variedad de materiales, lo que ahora se conoce como craneoplastia fue empleada por muchas civilizaciones antiguas y se tiene conocimiento a partir del 3000 a.C. especialmente el periodo inca en Perú. Hay una evidencia fuerte de que estas prácticas continuaron alrededor del mundo durante los siguientes centenarios, hasta que fue introducida la medicina moderna con Hipócrates; pero no fue hasta finales del siglo XVI cuando en 1565 la craneoplastia (empleando un plato de oro como material) fue descrita por italianos, el anatomista Fallopius y fisioterapeuta Petronius. El primer injerto óseo reconocido fue por Job Janszoon van Meekeren, el cual era un cirujano irlandés que reporto en una publicación póstuma en 1668 haber reparado un defecto de cráneo en un soldado ruso con una pieza de hueso proveniente de un cráneo de perro.

La forma segura (higiénica) de los materiales ya sea de origen humano o sintético para remplazar los segmentos de hueso no estuvo en práctica hasta los avances en la asepsia en las cirugías a finales del siglo XIX.

En 1920 Albee y Morrison describieron el uso del fosfato de calcio triple para promover el crecimiento interno del hueso; sus resultados indicaron que las fracturas del hueso son asociadas a un defecto del mismo. En el siglo XX los materiales poliméricos habían remplazado a los sustitutos metálicos de hueso; el polimetil metacrilato fue introducido en 1940 y es actualmente el material más comúnmente utilizado en los defectos del hueso craneal. En 1952 Ray y Ward evaluaron la efectividad de la hidroxiapatita sintética (HA) para la reconstrucción de defectos en los huesos largos en perros y gatos, ellos observaron que los injertos de la hidroxiapatita sintética podían fungir como hueso nuevo pero ellos concluyeron que la HA no era tan efectiva como el mismo hueso. Marshall Urist encontró a

principios de los 60's que la desmineralización de la matriz del hueso tuvo la capacidad de inducir la formación del hueso, esta propiedad fue nombrada posteriormente osteoinductividad.^[5]

Ya para los años 70's se tiene el primer biovidrio que posteriormente fue comercializado con el nombre de 45S5® sintetizado por Hench con una composición $45\text{SiO}_2-24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5$ (% en peso); el biovidrio fue implantado por primera vez en una rata y se encontró que posterior a su implantación el enlace entre el hueso y el biovidrio era muy fuerte tanto que no era posible removerlo sin tener que romper el hueso.^[17]

2.3. Clasificación de los biomateriales

2.3.1. Polímeros

Los polímeros son macromoléculas compuestas por la combinación de muchas unidades pequeñas (monómeros) que se repiten a lo largo de la molécula. En general las cadenas poliméricas se repiten cientos de veces. La mayoría de los polímeros son orgánicos ya que su base es el carbón, pero también hay polímeros inorgánicos como las siliconas que están constituidas por silicio y oxígeno. Para que un cerámico sea considerado como biomaterial debe ser biocompatible.

2.3.2. Cerámicos

Los cerámicos son materiales inorgánicos que pueden contener metales o no en su composición; los cuales suelen tener altas temperaturas de fusión así como una alta resistencia mecánica. Para que un cerámico sea considerado como biomaterial debe ser biocompatible.

2.3.3. Metales

Los metales se caracterizan por ser conductores de calor y electricidad, donde sus sales forman iones electropositivos en disolución. Para que los metales puedan ser útiles como biomateriales, estos deben tener ciertas características como ser biocompatibles y no tóxicos para el organismo así como uno de los factores más importantes que es la resistencia a la corrosión, debido a que la mayoría de ellos presenta una baja resistencia a la corrosión por lo cual son pocos los metales empleados como biomateriales.

Los materiales con más frecuencia empleados para los implantes son aleaciones a base de Fe, Co, Ti, y níquel-titanio. Con excepción de los metales nobles como el platino o el oro, los implantes metálicos con forma muy delgada se les coloca una película pasiva de óxido para reducir la corrosión.

Solo un número muy limitado de metales pueden ser implantados de forma segura por largos periodos de tiempo.^[5]

2.3.4. Materiales compuestos

También denominados compositos son aquellos materiales compuestos por dos o más fases, las cuales pueden ser de la misma naturaleza o bien de diferente naturaleza. En el caso de los biomateriales hay diversos tipos donde podemos encontrar polímero-polímero, cerámico-cerámico, polímero-cerámico etc.

Los polímeros más comúnmente usados para compositos es el poliácido láctico PLA y el poliácido glicólico PGA y sus copolímeros (PGLA); los cuales se han usado clínicamente durante muchos años principalmente como materiales de sutura degradables.

En el caso de los compositos polímero-cerámico, suelen emplearse polímeros biodegradables y algún tipo de cerámico como hidroxiapatita o biovidrio y su enfoque es hacia la regeneración del tejido óseo. Los compositos pueden resultar en una mejora de las propiedades mecánicas del material ya que al adicionar la fase inorgánica (cerámico) a la matriz orgánica (polímero), permite aumentar las propiedades mecánicas como rigidez o dureza del material en comparación cuando el polímero está como el único componente del material. Otro problema que enfrenta este tipo de materiales orgánicos es la degradación, pues cuando es demasiado rápida causa una pérdida rápida de las propiedades mecánicas, pero esto puede ser amortiguado a partir de la adición del componente inorgánico.

Uno de los problemas de los compositos convencionales es que la fase bioactiva se encuentra “encajonada” en el polímero, así cuando el material está en un medio biológico las células se encuentran solo con el polímero, el cual no es bioactivo, excepto cuando las partículas (bioactivas) sobresalen de la superficie del polímero. La precipitación de los fosfatos de calcio ocurre cuando estas partículas se exponen a la superficie (ya que necesitan estar en contacto con el fluido). Es difícil tener un control de cuantas partículas hay en el sistema y cuantas de ellas sobresalen del polímero.

Desde el punto de vista de la ciencia de los materiales, el hueso es un nanocomposito que consiste en fase orgánica: el colágeno y un componente inorgánico: que es la apatita hidroxycarbonatada. La estructura del colágeno es una triple hélice la cual contribuye a esa dureza característica del tejido óseo.

Los nanocompositos son materiales donde al menos una de las fases está a nanoescala (<100nm). La estrategia para producir nanocompositos es a partir de la síntesis de un biovidrio bioactivo o

nanopartículas cerámicas y la dispersión de las mismas en una matriz polimérica. Sin embargo, es difícil producir nanopartículas con un tamaño homogéneo y su dispersión homogénea en la matriz.

Los híbridos orgánicos-inorgánicos son un tipo especial de nanocompositos. Estos se clasifican en dos clases: clase I que contienen “enredos” moleculares donde las interacciones son a través de puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals; mientras que la clase II además de estas interacciones presenta enlaces covalentes.

2.4. Biocerámicos y biovidrio

Hay diversos biocerámicos entre estos podemos encontrar las hapatitas, los cementos y los biovidrios. Ciertas cerámicas bioactivas (como el biovidrio) se caracterizan por tener una superficie dinámica donde hay una disolución iónica en la superficie del material enlazada con la precipitación de capas de fosfato de calcio. ^[5]

El biovidrio es un material cerámico biocompatible ya que puede coexistir con los tejidos; a su vez es bioactivo debido a que no presenta respuesta inflamatoria “in vitro” ni “in vivo”. La forma en como este biovidrio tiene un impacto en la regeneración de tejido es mediante la formación de capas de hidroxiapatita en el tejido óseo; tras su implantación, simultáneamente al proceso de degradación del material, se produce la formación de este tejido óseo a partir de la formación de las capas de hidroxiapatita.

El biovidrio ha adquirido una gran importancia biológica ya que permite regenerar el tejido óseo. Esta regeneración es mediante el proceso conocido como osteogénesis, el cual es un proceso de mineralización de una matriz orgánica especializada sintetizada por los osteoblastos y posteriormente remodelada. Los biovidrios participan en la osteogénesis aposicional ya que estimulan la formación del tejido óseo solo en aquellos ambientes donde ha habido un hueso pre-existente.

La capacidad osteoconductiva es debida a las propiedades de superficie y a la activación de las células osteogénicas que dependen de la degradación hidrolítica que sufre el biovidrio al entrar en contacto con los fluidos corporales; donde hay un recambio iónico que se produce entre el material y el medio, provocando la precipitación de fosfatos cálcicos amorfos sobre una capa de silicio que se cristaliza por difusión, imitando el frente de calcificación fisiológico. De manera que los iones silicio presentes en la superficie supersaturada de iones calcio y fósforo actúan como núcleo de la cristalización de la apatita la cuál es cristalográficamente idéntica a la biológica. ^[1]

Los biovidrios cerámicos se basan en el sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, su bioactividad depende de la composición química, de la concentración de los iones y del tamaño y volumen de poro de las partículas. Para que el biovidrio presente una actividad biológica *In-vitro* en el tejido es necesario que se forme la capa de apatita, la cual es afectada por diferentes variables como: concentración, pH, la elección de los precursores, la composición de biovidrio y la textura (el tamaño de partícula).

2.5. Propiedades fisicoquímicas y estructurales de los biovidrios

Los componentes más comunes en los vidrios bioactivos son SiO_2 , CaO , Na_2O y P_2O_5 . Suelen ser materiales amorfos donde hay un orden a corto alcance, el SiO_2 en los vidrios bioactivos proporciona al material la estructura “red” y la estabilidad química. Mientras que los óxidos metálicos como CaO y Na_2O sirven como los modificadores de red, los cuales facilitan la solubilidad del material al entrar en contacto con el sistema biológico. Los vidrios bioactivos con mayor porcentaje de SiO_2 son químicamente más estables debido al predominio de los enlaces Si-O-Si pero a una menor concentración la estabilidad del material disminuye y la rapidez de reactividad incrementa.^[5]

2.6. Proceso de obtención de los biovidrios

Las técnicas más empleadas para la obtención de biovidrios son por el método de fundición directa y solgel. En el primer caso se parte de los óxidos correspondientes que conformaran la estructura amorfa del material como lo son el óxido de silicio, y los óxidos metálicos. Para la adición de los metales como lo son el calcio y sodio a la estructura del material se suele emplear el carbonato del metal como precursor del óxido correspondiente. Mientras que el pentóxido de fósforo puede ser adicionado como el óxido o bien a partir del fosfato de calcio. El biovidrio es llevado a fundición a una temperatura de 1350-1400°C en un crisol de Pt-Rh. Después de la homogenización el fundido es vertido en un molde y se le da un enfriamiento rápido.^[5]

En cuanto a la técnica solgel se suele emplear TEOS (tetraetilortosilicato) y TEP (trietilfosfato) como precursores del SiO_2 y P_2O_5 mientras que para los óxidos metálicos se emplean las sales de nitrato correspondientes. La reacción se lleva a cabo en presencia de un catalizador (ya sea un medio básico o ácido), posterior a la formación del solgel se le da un tratamiento térmico a la muestra, para finalmente obtener el biovidrio.

2.6.1. Ventajas de la técnica solgel

La síntesis de biovidrios por medio de la técnica de solgel permite tener una gran ventaja con respecto a la técnica convencional por fundición; ya que la técnica convencional requiere de altas temperaturas

mientras que con solgel se puede trabajar a temperatura ambiente, además de que permite tener un control con respecto al tamaño de partícula (el cual por el método convencional no siempre se obtiene). A menor tamaño de partícula se tiene grandes áreas superficiales (dos órdenes de magnitud en comparación con la técnica de fundición^[8]), que consecuentemente producen una mayor área de contacto (en éste caso entre el biovidrio y las células del tejido óseo).^[6] también se le atribuye a esta técnica una mayor pureza en la obtención de los productos y una alta porosidad de los mismos; algunos estudios realizados en modelos animales ilustran que los biovidrios obtenidos por la técnica solgel son más bioactivos y degradables que aquellos obtenidos por el método tradicional de fundición.^[30,33]

2.6.2. Proceso a nivel estructural que se lleva a cabo durante la síntesis de los biovidrios por medio de la técnica solgel

Es muy importante comprender lo que está ocurriendo durante el proceso de síntesis; ya que independientemente del orden de adición de los reactivos; la primera reacción que ocurre es la hidrólisis del componente orgánico que proporcionara la red inorgánica (en este caso el TEOS); es necesario considerar que para tener un buen rendimiento será condición que tanto la hidrólisis como la condensación sean altamente eficientes.

La reacción de hidrólisis en la síntesis del biovidrio se caracteriza por la generación del subproducto alcohol correspondiente (metanol CH₃CH₂OH). La molécula precursora TEOS se transforma en un ácido Silícico (ácido ortosilícico), como se muestra en la siguiente reacción:

Hidrólisis:

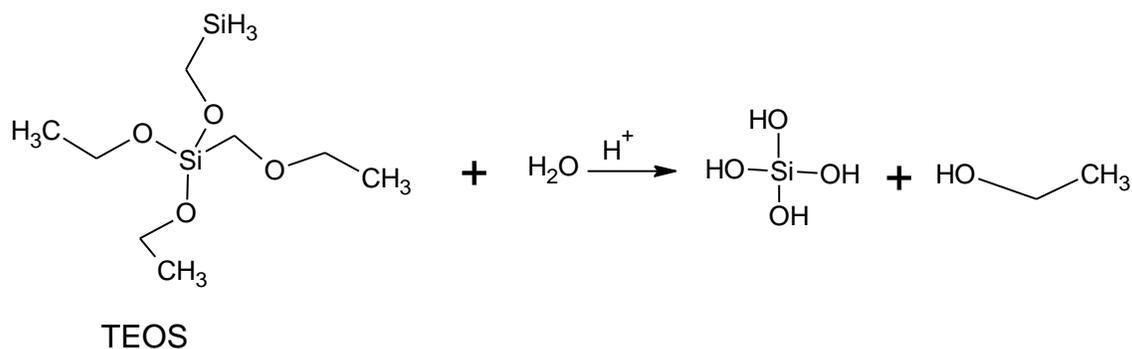


Fig. 2.1. Hidrólisis del TEOS.

Lo mismo sucede para el caso del trietilfosfato

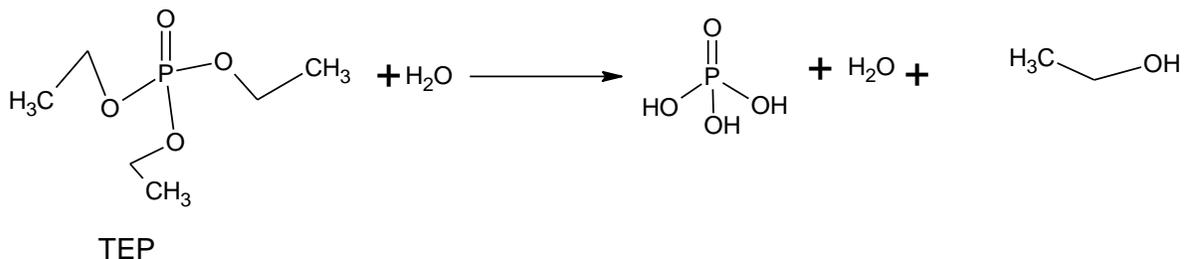


Fig. 2.2. Hidrólisis del TEP.

La reacción de policondensación es catalizada por los mismos catalizadores usados en la reacción de hidrólisis, pero su rapidez cambia con el pH de la solución, esta reacción continúa aún después de que se ha terminado la reacción de hidrólisis.

La forma y tamaño de las unidades estructurales es determinado por los valores relativos de la constante de rapidez para las reacciones de hidrólisis y condensación. Las hidrólisis rápidas y las condensaciones lentas favorecen la formación de los polímeros lineales, es decir, dan como resultados polímeros de cadena larga y voluminosa. Cuando se presenta el crecimiento de las partículas en la disolución y ocurre el fenómeno de la condensación se da lugar a la formación de macropartículas. De acuerdo a lo anterior la reacción de hidrólisis da lugar a la formación de cadenas del tipo $-(Si-O-Si-O)_n-$, cuando la cadenas incrementan su tamaño se incrementa debido a la conectividad de la misma con otras cadenas. Con el incremento de la conectividad se incrementa la viscosidad y con esto se obtiene la formación de un gel.^[39]

Condensación:

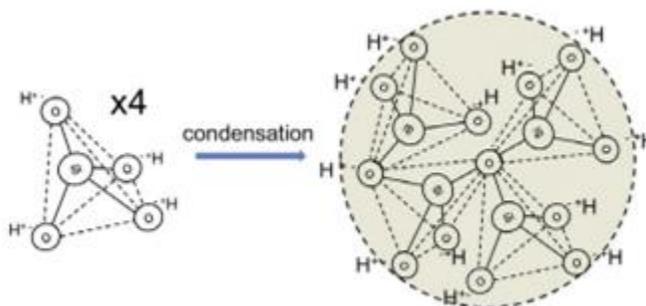


Fig. 2.3. Condensación. Crecimiento de cadena, a través de la unión de unidades estructurales monomericas hasta formar clusters (aglomerados).

Las reacciones anteriores se pueden comprender en términos de los productos generados tanto en la hidrólisis como en la condensación. La interpretación que a continuación se propone está basada en las estructuras espaciales generadas por el TEOS y el TEP después de la hidrólisis.

A través de la espectroscopia Raman y dispersión de luz a bajo ángulo, Orcel y colaboradores, han propuesto que las partículas sólidas están hechas de partículas primarias cercanas a 2nm de diámetro, que se van agregando unas con otras hasta formar partículas secundarias cercanas a los 6nm de diámetro (no hay informes sobre el tamaño de poro a estas dimensiones). La gelación ocurre cuando las partículas secundarias se agregan unas con otras para formar estructuras en 3D en la muestra. Recientemente la estructura de los biovidrios se ha investigado usando técnicas de rayos X. Newport y colaboradores, utilizaron técnicas de difracción de neutrones para caracterizar y proponer la forma en la que el calcio se introduce en la estructura del biovidrio como modificador de la red mediante el método solgel para su obtención.^[8]

Se han propuesto tres etapas en el proceso para la obtención de biovidrios con composición química $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$, y que son la de gelación, secado y estabilización.

Gelación: 24 horas después del mezclado del precursor TEOS, el agua y el catalizador HNO_3 ya se presentan nanoestructuras; donde, después de la hidrólisis y la parcial policondensación, el sol es una suspensión de partículas coloidales con un tamaño de partícula de aproximadamente 5nm. Las partículas coloidales resultan de las reacciones de condensación de las moléculas del precursor TEOS que se ha hidrolizado. En esta etapa se tienen la presencia de partículas secundarias, las cuales son cadenas ligadas denominadas clusters (aglomerados).

Después del secado: Las partículas secundarias cambia muy poco durante el gelado, envejecimiento y secado, ya que el gel seco antes de la estabilización consiste de nanopartículas de 5-8 nm, además hay un encogimiento del gel durante el secado de aproximadamente el 50 %. Este encogimiento del gel se debe a la reducción de los espacios intersticiales entre partículas secundarias y a que el líquido intersticial que se encuentra en estos espacios se evapora.

La reducción del espacio podría ser un resultado de la condensación capilar entre la estructura de partícula coloidal y la unión de partículas secundarias provocadas por la condensación de grupos -OH superficiales. San Lin y colaboradores^[8] compararon imágenes de TEM de un gel seco de sílice pura, que se compone de partículas más pequeñas que 1 nm, con el estudio que ellos realizaron, donde llegan a la conclusión de que el nitrato de calcio dentro de sol agranda las unidades estructurales del

gel secó y esto podría ser debido a la carga de los efectos de apantallamiento provocados por cationes de calcio que mejoran la condensación y agregación de partículas (ver fig. 2.4).

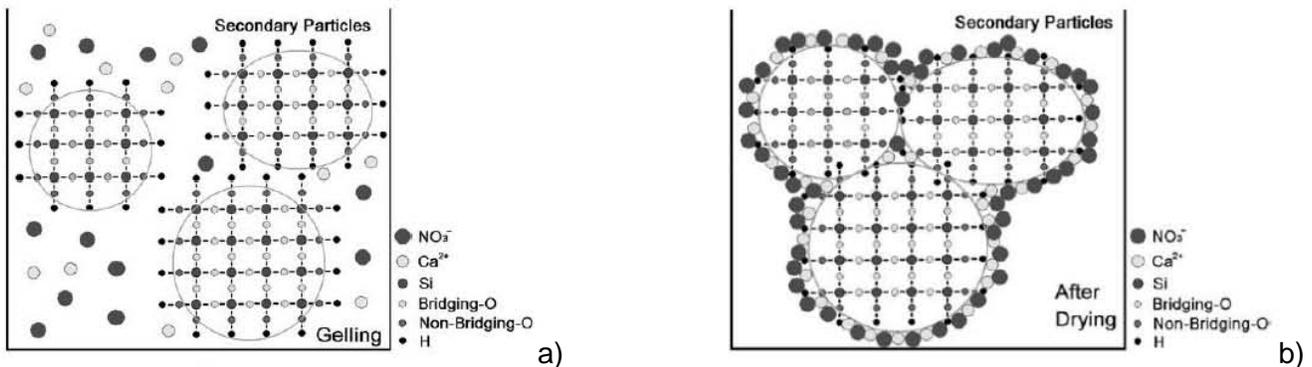


Fig. 2.4. Formación del biovidrio. a) Formación de partículas secundarias a partir de partículas primarias que se encuentran en la disolución. b) Encogimiento del gel posterior al secado.^[8]

Después de la estabilización: Los mismos autores muestran que después de la estabilización el sólido consiste en nanopartículas con diámetros de 10-30 nm y estos se denominan partículas terciarias. Las partículas terciarias se cree que se derivan de la fusión de partículas secundarias a través de flujo viscoso debido a las relativamente altas temperaturas por la aplicación de calor durante esta etapa. Este flujo viscoso podría ser impulsado por la condensación de grupos -OH en la superficie de las partículas secundarias. Las partículas terciarias son de forma irregular y tienen una distribución de tamaño. Los nanoporos del material se derivan desde el espacio intersticial entre las partículas terciarias ya que ninguna textura se muestra dentro de las partículas terciarias individuales. Debido al empaquetamiento aleatorio y la fusión entre las partículas terciarias, los nanoporos tienen formas totalmente irregulares y una distribución de tamaño amplio en comparación con las partículas en el gel seco.

Algunos autores suelen dar otro proceso más a los biovidrios después de las tres etapas mencionadas anteriormente, este proceso se le conoce como sinterizado.

Después del sinterizado: En el trabajo antes citado, los autores muestran nanotextura que tuvieron de una muestra de biovidrio después de 16 h de sinterización a $(775 \pm 2)^\circ \text{C}$. Ellos encontraron que las partículas terciarias se volvieron menos distinguibles y la superficie era más suave en comparación con las obtenidas después de la estabilización. La pérdida de la nanotextura indicó la existencia de un flujo viscoso local dentro de estos vidrios bioactivos.

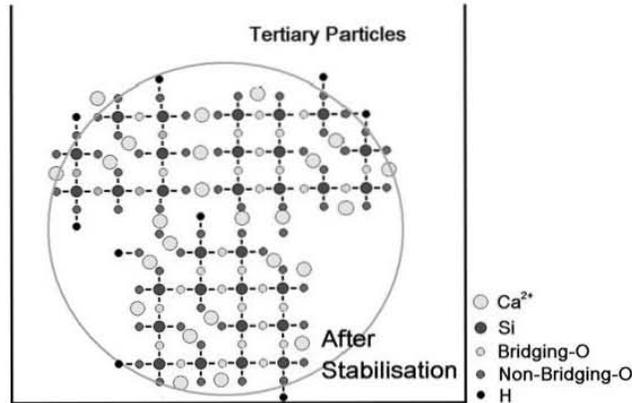


Fig. 2.5. Formación de las partículas terciarias las que dan lugar a aglomerados (clusters).^[8]

2.7. Impacto del Mg en los biovidrios y en el cuerpo humano

Diversos estudios realizados sobre el impacto del Mg en los biovidrios ^[30, 31, 34] han mostrado que la parcial sustitución del Mg por el Ca en la composición de los biovidrios SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅ influye en una disminución de la degradación del material y como consecuencia retrasa la formación de las capas de hidroxiapatita; por lo cual el Mg suele ser considerado como un inhibidor de la hidroxiapatita, pues la bioactividad del biovidrio está relacionada con la disolución del mismo.

La aparente inhibición que proporciona el Mg al biovidrio es atribuida a la intensidad de campo iónico I , la cual es mayor para Mg 4.73 \AA^{-2} que para el Ca 2.04 \AA^{-2} . Cuando los biovidrios activos son sumergidos en un fluido corporal simulado hay un rápido intercambio de iones entre Ca²⁺ y Mg²⁺ presentes en el biovidrio con H₃O⁺ presentes en la disolución. La alta energía de enlace entre Mg-O inhibe la liberación del Mg²⁺ desde la estructura del biovidrio, lo que genera que los biovidrios con Mg sean menos reactivos en disolución y la velocidad de intercambio debería de ser más baja. Por lo cual retrasa marcadamente la transformación de los fosfatos de calcio amorfos en la más estable fase que es la apatita.^[30]

La sustitución de CaO por MgO puede proporcionar mayor estabilidad y mejores propiedades mecánicas; así como la presencia del MgO puede inhibir la osteoporosis, la fragilidad de los huesos y mejorar la restauración del hueso. Además de que en el caso de la implantación del biovidrio con una composición SiO₂-MgO-CaO-P₂O₅, éste presenta propiedades inhibitorias para el crecimiento bacteriano en cepas como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa* ya que estos microorganismos pueden conducir a una peligrosa infección si hay contaminación en implantes o dispositivos pre y pos operación.^[32]

El Mg puede simular los efectos en la formación de un hueso nuevo ya que puede estar interactuando con células osteoblasticas las cuales son responsables de la adhesión y estabilidad celular ^[33], además es cercanamente asociado con la mineralización de la calcificación del tejido e indirectamente presenta una influencia mineral en el metabolismo; sin embargo, su rol no es claro y no ha sido totalmente comprendido. Se ha sugerido que el Mg directamente simula la proliferación de osteoblastos con un efecto comparable con la insulina (el conocido factor de crecimiento por los osteoblastos). También la falta del Mg afecta negativamente a todas las etapas del metabolismo esquelético, provocando el cese del crecimiento del hueso, disminución osteoblástica, actividades osteoclásticas y osteopenia. ^[6, 33]

Los biovidrios impurificados con Mg han estado mostrando una mejor expresión del colágeno I, los alcalino fosfatos y marcadores osteogénicos (la mayoría de estos estudios han indicado un incremento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos) también como una mejora en los alcalinofosfatos en células osteoblásticas humanas fetales y una mejora en la expresión en los marcadores osteogénicos en células derivadas de hueso humano. ^[33]

A continuación se muestra una tabla donde se presentan los efectos que tienen diversos iones en el metabolismo del hueso humano:

^[2]Tabla 2.1. Efecto de los iones en el metabolismo del hueso humano.

Ión o especie química	Respuesta biológica in vivo/ in vitro
Si	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Esencial para el metabolismo, formación y calcificación del tejido óseo ▪ El Silice soluble induce la precipitación de la hidroxiapatita ▪ Si(OH)₄ estimula la formación del colágeno y la diferenciación osteoblastica
Ca	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Favorece la proliferación, diferenciación osteoblastica y la mineralización de la matriz extracelular ▪ Activa los sensores receptores de Ca en los osteoblastos
P	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Simula la expresión de la proteína (MGP) en la matriz, la cual es la clave de regulación en el tejido óseo
Zn	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Muestra efectos anti-inflamatorios y estimula la formación del hueso in-vitro por la activación de síntesis de proteínas en los osteoblastos ▪ Incrementa la actividad de la ATPasa, regula la transcripción de los genes de diferenciación de los osteoblastos
Mg	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Simula la formación de nuevo hueso ▪ Incrementa la adhesión de células de hueso y la estabilidad
Sr	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Muestra efectos beneficiosos en las células de hueso y en la formación de hueso in-vitro ▪ Prometedor agente para el tratamiento de osteoporosis
Cu	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Promueve los efectos de la estimulación sinérgica en la angiogénesis cuando se asocia con el factor de crecimiento angiogénico FGF-2 ▪ Simula la proliferación de células endoteliales humanas ▪ Induce la diferenciación de células mesenquimales hacia el linaje osteogénico
B	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Simula la síntesis de RNA en fibroblastos ▪ Simula la formación del hueso

2.8. Intercambio de iones en la superficie del biovidrio

La capacidad del hueso de enlazarse con los biovidrios es atribuida a la formación de capas de hidroxiapatita en la superficie del biovidrio, estas capas interactúan con fibras de colágeno del hueso dañado para formar el hueso “nuevo”. La secuencia de eventos que conducen al enlace del biovidrio con el hueso involucra la adsorción de proteínas, la incorporación de las fibras de colágeno, la fijación de la células del hueso progenitor en la superficie del biovidrio después de la formación de la capa de hidroxiapatita carbonatada seguido de la diferenciación celular, la excreción de la matriz extracelular del hueso y su mineralización.^[33]

La formación de la aptita se da a través del intercambio de iones Mg^{2+} y Ca^{2+} presentes en el biovidrio con H_3O^+ que se encuentran en el medio biológico, donde los iones calcio se disuelven desde la superficie del biovidrio incrementando la actividad iónica mientras que la interrumpida red de silicio en la superficie forma un sedimento de sílice hidratada la cual provee sitios favorables para la nucleación de la apatita. El núcleo de la apatita crece “espontáneamente” consumiendo los iones calcio y fósforo desde los alrededores del fluido biológico.^[34] Cabe señalar que el detallado proceso de nucleación de la apatita aún se encuentra en debate.

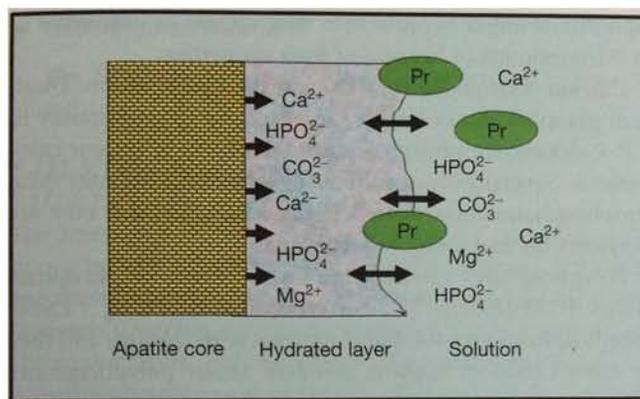


Fig. 2.6. Descripción gráfica de proceso de intercambio de iones y la formación de la hidroxiapatita. En esta figura se puede observar el intercambio de iones entre la disolución (fluido biológico) con el material, la capa de sílice hidratada en la superficie del biovidrio y el crecimiento de la apatita.

2.9. Biopolímeros

Los polímeros que se usan como biomateriales se dividen en dos grupos los que son no degradables y los degradables.

Los polímeros no degradables, son aquellos que no se degradan al estar en contacto con algún tejido y suelen usarse en aplicaciones como las bombas de sangre, en máquinas de corazón-pulmón,

injertos vasculares, en implantes ortopédicos y dentales, suturas, cementos óseos, así como en prótesis mamarias; entre estos se encuentran: polietileno, fluoropolímeros, polipropilenos, poliésteres, poliamidas (nylon), siloxanos (silicona) y poliéterétercetonas, los cuales son usados por su larga estabilidad estructural y su biocompatibilidad.^[5]

Mientras que los polímeros degradables como los poliácidos, la policaprolactona, poliglicolidos así como sus copolímeros; por el lado de los sintéticos; y los naturales como el colágeno, la gelatina, el quitosano y los alginatos se degradan básicamente en sus respectivos monómeros o oligómeros vía hidrólisis en un medio acuoso.^[16]

2.10. Propiedades fisicoquímicas de los polímeros biodegradables

2.10.1. Peso molecular

El peso molecular de los polímeros cambia y es específico ya que depende del número de repeticiones de las unidades en las cadenas y este número es llamado grado de polimerización. La mayoría de los monómeros están compuestos por C, N, O e H y en algunos casos contiene F, Cl y S.

El peso molecular es una propiedad que influye mucho en las propiedades de fuerza mecánica de los polímeros. Conforme el peso molecular se incrementa los polímeros presentan cambios físicos donde los más ligeros se encuentran en estado gaseoso, después le siguen los líquidos y a mayor peso se encuentran en estado sólido (algunos se les considera como sólidos duros por tener un alto peso molecular). También hay una tendencia que a un incremento del peso molecular incrementan otras propiedades como lo es el punto de fusión y el punto de reblandecimiento.^[5]

2.10.2. Concepto de entrecruzamiento y ramificación

Los polímeros ramificados son aquellos que presentan ramificaciones en su estructura, donde cadenas más cortas se unen químicamente a la cadena principal del polímero (no son lineales).

Los polímeros entrecruzados forman una red en tres dimensiones donde las cadenas se unen con otras cadenas vecinas de igual o diferente naturaleza; estas redes tridimensionales se logran cuando existen muchos puntos de unión por cadena primaria (cada molécula se une en dos o más puntos a otras moléculas), de modo que los polímeros entrecruzados que forma redes tridimensionales se consideran formados por una única molécula de tamaño infinito y por tal razón se dice que presentan un peso molecular infinito; la red de entrecruzamiento que los conforma es estable hasta cierta temperatura pero estos polímeros presentan las características de que no pueden fluir ni fundirse.^[28]

2.10.3. Biocompatibilidad

Los factores importantes que influyen en la degradación de los polímeros son el peso molecular, la polidispersibilidad, la cristalinidad y la morfología. Los poliésteres principalmente se someten a una degradación mayor; las matrices poliméricas se degradan todas sobre sus secciones de cruce y tienen una cinética de erosión no lineal usualmente caracterizada por una discontinuidad. La degradación de los polímeros semicristalinos se da en dos fases; la primer fase, la región amorfa es hidrolizada y después la región cristalina. Los polímeros se degradan por hidrólisis de los enlaces éster lo que resulta en una disminución molecular sin pérdida de peso. Por ejemplo: los factores que afectan la degradación poliláctida son la estructura configuracional, el peso molecular y la distribución, las condiciones de síntesis, el sitio de implantación y las condiciones de degradación.^[37]

2.11. Policaprolactona PCL

La poli(ϵ -caprolactona) es un poliéster lineal alifático semicristalino y es completamente degradable a través de actividad enzimática, es reconocido por ser un material no tóxico y un candidato prometedor para las aplicaciones de liberación controlada, especialmente para la liberación de fármacos a largo plazo (por más de un año). Dependiendo del peso molecular de la PCL puede ser un sólido ceroso (por debajo de varios cientos g/mol de peso molecular) o un polímero sólido (por arriba de 20000 g/mol). La PCL cerosa es usualmente usada como un aditivo o co-componente. La PCL con alto peso molecular posee altas propiedades mecánicas como un alto esfuerzo de tensión entre 12-30MPa y una extensión de ruptura de 400-900%.

La PCL puede ser hilada en fibras o en películas sopladas por debajo de los 200 °C sin una degradación térmica. Presenta un punto de fusión de 59 °C-64 °C y una temperatura de transición vítrea de \sim -60 °C, es soluble en hidrocarburos aromáticos y clorados como cloroformo, diclorometano, tetracloruro de carbono, benceno, tolueno, ciclohexano y 2-nitropropano; tiene una baja solubilidad en acetona, 2-butanona, etilacetato, N,N-dimetilformamida y acetonitrilo; es insoluble en hidrocarburos alifáticos, dietiléter, y alcoholes. La cristalinidad de la PCL disminuye con el incremento del peso molecular del polímero; un polímero con 5000 g/mol es 80% cristalino, mientras que un polímero con 60000 g/mol es 45% cristalino. Puede mezclarse con otros polímeros como policarbonatos, polietilóxidos para producir composites con diferentes propiedades. Es extensamente usada para empaques de comida y en la ingeniería tisular.

La PCL así como sus copolímeros se degradan tanto *in vitro* como *in vivo* por hidrólisis del volumen interno (conocido en inglés como “bulk”); la velocidad de degradación es afectada por el tamaño y la

forma de los dispositivos. La degradación se lleva a cabo en dos fases. En la primera etapa se da una ruptura por hidrólisis aleatoria de la cadena (en los enlaces éster alifáticos lábiles), lo que resulta en una reducción del peso molecular del polímero; en la segunda etapa los fragmentos de bajo peso molecular y las partículas pequeñas del polímero son llevadas lejos del sitio de implantación por la solubilidad en los fluidos biológicos o por fagocitosis lo cual resulta en una pérdida de peso. La completa degradación y eliminación de los homopolímeros de la PCL puede durar de dos a cuatro años. La rapidez de degradación significativamente se incrementa con la copolimerización.^[35, 36, 37]

2.12. Andamios Tisulares

2.12.1. Concepto de andamio tisular

Un andamio tisular es aquel material que sirve de soporte para la regeneración de los tejidos. Estos pueden ser de diversos materiales pero por lo regular se hacen a partir de compositos polímero-polímero o polímero-cerámico.

En el caso de los andamios polímero-cerámico para la regeneración del tejido óseo las características que debe presentar son que el polímero sea biodegradable y el cerámico sea bioactivo y ambos biocompatibles.

La degradación de las fibras también depende del tamaño de las mismas, a menor tamaño la degradación será mayor. Las nanofibras a comparación de otros materiales (poliméricos y de mayores dimensiones) tienen un alto poder de degradación debido a que presentan una mayor área superficial la cual al entrar en contacto con el agua permite un ataque rápido por difusión, donde en condiciones fisiológicas se rompen en trozos por hidrólisis y los productos de la degradación son eliminados del cuerpo a través de rutas metabólicas.^[16]

Las nanofibras suelen usarse como medios de soporte (andamios) junto con otros materiales como cerámicos u otros, los polímeros conforman la matriz del sistema y en conjunto estos materiales conforman lo que se conoce como compositos.

A estas nanofibras se les suele añadir grupos biofuncionalizados como factores de crecimiento con el fin de obtener una mejor respuesta biológica.

2.13. Diferentes técnicas para la obtención de andamios

Muchas de las fibras sintéticas empleadas en el área clínica se sintetizan a partir de dos técnicas que son por fusión e hilado en disolución.

Con la técnica de hilado por fundición la resina polimérica es calentada por sobre su punto de fundición donde se extruye a través de una hilera. El número de agujeros en la hilera define el número de filamentos en la fibra producida; así una hilera con un monofilamento contiene un agujero, mientras que 54 agujeros se requieren para producir 54 multifilamentos (en un hilo); los hilos multifilamentos son comúnmente usados en la construcción de injertos vasculares. Una vez que el hilo (mono o multifilamento) es extruido, éste se enfría antes de ser enrollado en carretes. El hilo puede estar fuertemente procesado para formar la configuración final (por ejemplo muchos de los hilos empleados en los injertos vasculares son texturizados para mejorar las características del producto final). Los resultados de una texturización imparten al hilo en el volumen interno (conocido en inglés como “bulk”) mejoras como en la flexibilidad y le confieren más poros para el crecimiento tisular. El hilado por fundición es comúnmente usado con polímeros termoestables ya que estos no son afectados por las elevadas temperaturas que necesita la técnica.

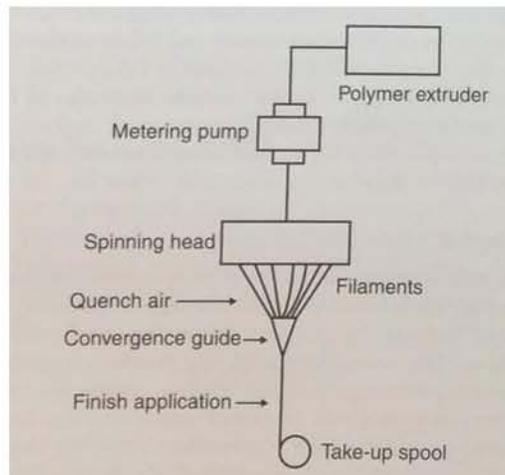


Fig. 2.7. Proceso de hilado por fundición.^[38]

En la técnica es común usar aire para enfriar y solidificar la prefibra antes de ser lubricada, torcida y enrollada.

Si el polímero presenta una degradación térmica a elevadas temperaturas y si es el caso que el polímero contiene fármacos, entonces se emplea la técnica de baja temperatura que es el hilado en disolución. En este proceso el polímero es disuelto en un disolvente y es hilado a través de una hilera en un baño que contiene un “no disolvente”. Como el polímero disuelto en el disolvente no es soluble en el baño éste precipita como un filamento sólido al pasar por el baño; posterior a ello es lavado para remover todos los disolventes y no disolventes para finalmente secarlo antes de ser enrollado.^[38]

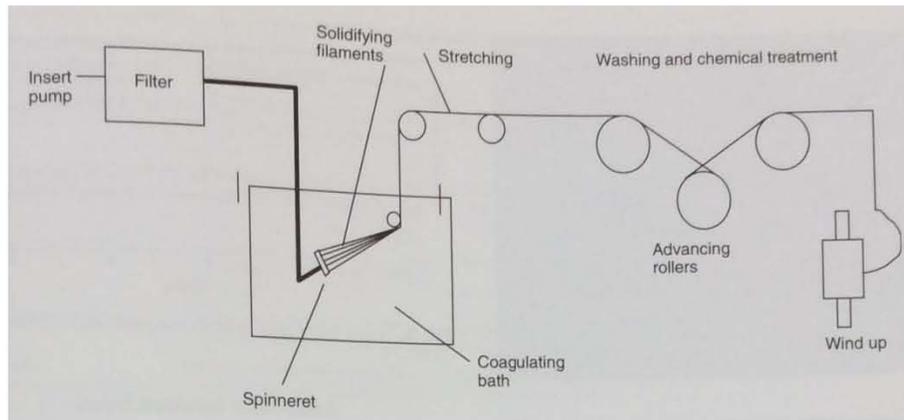


Fig. 2.8. Proceso de hilado por disolución.^[38]

2.14. Andamios tisulares para la regeneración del tejido óseo

2.15. Técnica de electrohilado para la obtención de andamios tisulares

El electrohilado consiste en un jet producido por un alto voltaje aplicado a una punta metálica (aguja) en la cual se encuentra la disolución del polímero a hilar, cuando la diferencia de potencial aplicado es alto (lo suficiente para vencer la tensión superficial del fluido) se produce el jet el cual se deposita en un colector metálico (conductor) éste se encuentra alejado de la punta metálica (aguja) de 10-30cm de distancia. En la punta de la aguja se origina un cono estacionario partiendo desde un menisco formado en la punta hasta la formación de una fibra, a este cono se le conoce con el nombre de cono de Taylor.

Este fenómeno ocurre porque una pequeña fracción del líquido adquiere propiedades conductoras (al aplicar el voltaje a la aguja metálica), la forma del fluido comienza a cambiar debido al incremento de carga en la superficie, entonces cuando la intensidad del campo eléctrico aumenta y la fuerza de la gota excede la fuerza de tensión superficial el cono comienza a formarse, el jet del líquido producido es el comienzo del proceso de electrohilado. La modificación en los diferentes montajes (como la forma de inyección, el colector o la atmosfera) puede producir diferentes tipos de fibras, donde se puede tener una distribución homogénea de las fibras (orientación) o bien tener un mejor control del tamaño de poro.^[16]

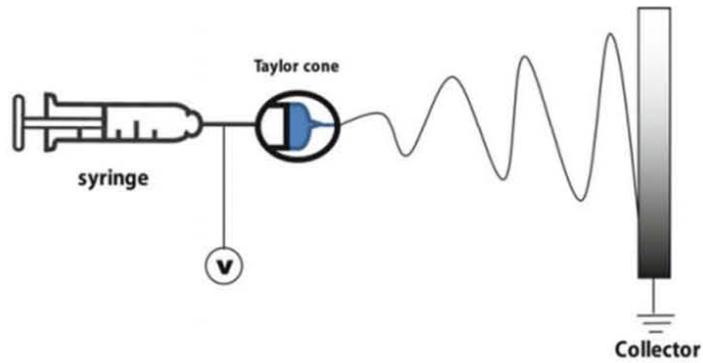


Fig.2.9. Sistema de electrohilado y la fibra proveniente del jet bajo la influencia de un campo electrostático.

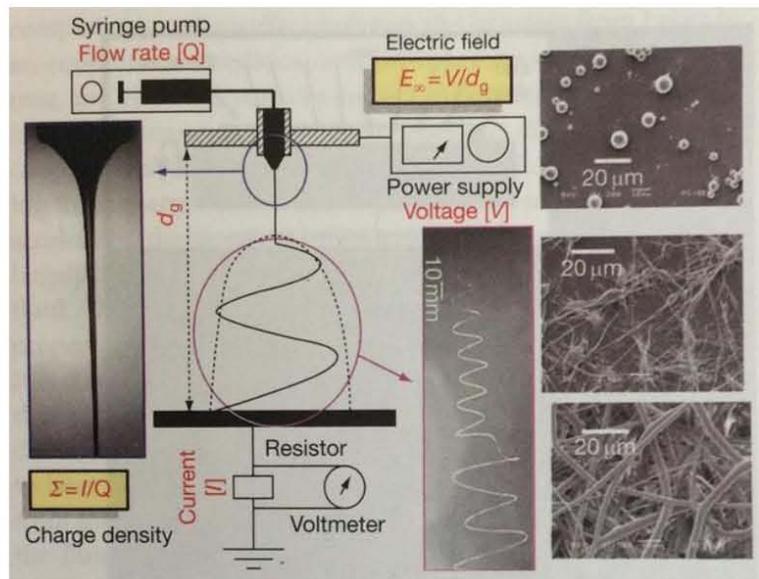


Fig.2.10. Diagrama esquemático del electrohilado que muestra el jet.^[5] La inestabilidad del jet (en el centro), y la morfología de las fibras que se pueden tener a partir de esta técnica (a la derecha). La fotografía a la izquierda muestra la sección del jet estable con el menisco cónico (el cono de Taylor).



Fig.2.11. Diferentes tipos de colectores que permiten obtener diferentes morfologías de los andamios.

SECCIÓN EXPERIMENTAL Y CARACTERIZACIÓN

3.1. Materiales

3.1.1. Reactivos para la síntesis del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Para la síntesis del biovidrio se utilizaron los siguientes reactivos, todos con excepción del ácido nítrico fueron adquiridos a Sigma Aldrich (el HNO_3 fue adquirido a Merck). Tetraetilortosilicato TEOS cuyo peso molecular es de 208.33 g/mol, con una densidad de 0.933 g/mol y una pureza mayor o igual que 99 %V/V; trietilfosfato TEP cuyo peso molecular es de 208.33 g/mol, con una densidad de 0.933 g/mL y una pureza mayor o igual que 99.8 %V/V; $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ cuyo peso molecular es de 236.15 g/mol, y una pureza mayor o igual que 99 %m/m; $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ cuyo peso molecular es de 256.41 g/mol, pureza mayor o igual que 99 %m/m; HNO_3 cuyo peso molecular es de 63.01 g/mol, con una densidad de 0.933 g/mL y pureza mayor o igual que 65 %V/V.

3.1.2. Reactivos para los andamios

Para la preparación de los andamios tanto los disolventes empleados como el polímero se adquirieron de Sigma Aldrich; el polímero usado fue poli(ϵ -caprolactona) PCL con un peso molecular de 70000-90000 g/mol. Como disolvente se usó diclorometano DCM con un peso molecular de 84.93 g/mol y una pureza mayor o igual que 99.8 %V/V; también se usó como disolvente N,N-dimetilformamida DMF con un peso molecular de 73.09 g/mol, con densidad de 0.944 g/mL y una pureza mayor o igual que 99.8 %V/V. Y biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$.

3.1.3. Disolventes para mediciones de ángulo de contacto

El disolvente que se utilizó como líquido de prueba fue Agua desionizada aun cuando el contenido de sales es mínimo presentó una resistividad = $18\text{M}\Omega\text{cm}^{-1}$, cabe mencionar que a mayor concentración de sales mayor resistividad (entendiendo como resistividad a la resistencia eléctrica que presenta una solución al paso de carga eléctrica).

3.1.4. Disolventes para molienda ultrasónica

Como disolvente N,N-dimetilformamida DMF con un peso molecular de 73.09 g/mol, con densidad de 0.944 g/mL y una pureza mayor o igual que 99.8 %V/V (punto de ebullición de 153°C).

3.1.5. Disolventes empleados para determinar el grado de cristalinidad del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Se emplearon como disolventes agua desionizada presentando una resistividad = $18\text{M}\Omega\text{cm}^{-1}$ y DMEM (de las siglas en inglés: Dulbecco's Modified Eagles's Medium; medio de Eagles modificado por Dulbecco) el cual contiene aminoácidos y vitaminas, así como la adición de antibióticos y la implementación de vitaminas.

3.2. Equipo empleado para la molienda del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

3.2.1. Molienda mecánica del biovidrio

Se empleó un molino de bolas Retsch PM100 (sistema planetario), con un contenedor de hierro inoxidable en la parte exterior y en la interior de Agatha. Usando balines de ~ 2 mm de diámetro para la molienda. El molino cuenta con un sistema digital de cambios en el tiempo de molienda así como las revoluciones por minuto (rpm).

Se utilizaron tamices de diferentes tamaños para la separación del biovidrio: de 0.25 mm, 0.14 mm, 0.02 mm y otro de un tamaño de malla (ver fig. 3.14) intermedio entre estos dos.



(a)



b)

Fig. 3.1. Molino de bolas. a) Molino de bolas, empleado para la molienda mecánica del biovidrio.^[13] b) Contenedor del molino.

3.2.2. Molienda ultrasónica del biovidrio

Se utilizó un procesador de ultrasonido con sonda Sonics Vibra Cell 505, para evitar incrementos bruscos de temperatura, se empleó un baño de agua con hielo como sistema de refrigeración. El molino ultrasónico cuenta con un sistema digital que permite cambios en amplitud, frecuencia (kHz) y periodos de tiempo.

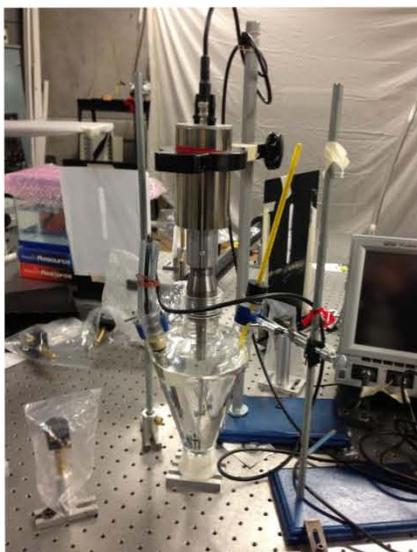


Fig. 3.2. Sonda de ultrasonido empleada para la molienda ultrasónica del biovidrio.^[13]

3.3. Equipo e Instrumentos empleados para la caracterización del material

3.3.1. Espectroscopia de Infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia de infrarrojo se emplea para identificar los grupos funcionales de los compuestos (contribuye a la determinación estructural del mismo). Esta espectroscopia se basa en la zona de infrarrojo del espectro electromagnético; la cual se divide en infrarrojo lejano ($\sim 10\text{-}400\text{ cm}^{-1}$), medio ($\sim 400\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$) que es el más frecuentemente usado para estudiar la vibraciones fundamentales y el cercano ($\sim 4000\text{-}14000\text{ cm}^{-1}$).

La espectroscopia de infrarrojo se fundamenta en que las moléculas absorben radiación infrarroja, la radiación infrarroja induce excitaciones vibracionales entre los átomos enlazados covalentemente.^[18] Para que una molécula se “activa” en el IR su momento dipolar debe ser diferente de cero ($\mu \neq 0$).

Cuando se irradia una molécula con radiación electromagnética, la energía se absorbe si la frecuencia de radiación coincide con la frecuencia de la vibración. El resultado de esta energía es una amplitud incrementada por la vibración. Dado que cada frecuencia absorbida por una molécula corresponde a un movimiento molecular específico (ya que la cantidad de energía que contiene una molécula no es variable en forma continua, si no cuantizada, es decir, una molécula presenta vibraciones de enlace a frecuencias específicas que corresponden a niveles de energía específicos), al interpretar estos movimientos en un espectro de IR, se puede determinar qué tipos de enlaces (grupos funcionales) están presentes en la molécula.^[19]

Las muestras de los biovidrios se colocaron directamente en el portamuestras al ejercer presión con la punta sobre la muestra se forma una pastilla. Se empleó el espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700. Los espectros se obtuvieron en el intervalo de número de onda de 4000-400 cm⁻¹.



Fig. 3.3. Equipo de infrarrojo con transformada de Fourier. Espectrómetro Thermo Scientific Nicolet 6700.^[13]

3.3.2. Difracción de rayos-X (DRX)

Los rayos X son producidos cuando se hace incidir electrones de alta energía sobre un blanco. Un electrón de alta energía puede producir la salida de un electrón de las capas más internas (cercano al núcleo) de un átomo, la vacante así producida se rellena por el salto de otro electrón de una capa superior (más externa al núcleo) con mayor energía, esa diferencia de energía entre niveles se transforma en radiación X con una longitud de onda determinada.^[20]

Los rayos X dirigidos hacia un cristal interactúan con los electrones de los átomos en los planos de los cristales los cuales son “reflejados”. El principio de la difracción de los rayos X, es que los rayos X al interactuar con los electrones, éstos son dispersados en varias direcciones por las nubes electrónicas (fig. 3.4).

La difracción ocurre cuando la longitud de onda de la radiación es comparable con los espacios característicos dentro del objeto que causa la difracción; debido a que los rayos X tienen una longitud de onda del mismo orden de magnitud que el espaciamiento atómico del material (~ 1Å).^[20] Sin embargo, sólo son difractados aquellos rayos X que golpean ciertos planos cristalográficos en ángulos específicos, es decir, los rayos X sólo son difractados cuando las condiciones satisfacen la ley de Bragg:

$$\text{sen } \theta = \frac{\lambda}{2d_{hkl}} \dots \dots \dots (3.1)$$

Donde el ángulo θ es la mitad del ángulo entre el haz difractado y la dirección original del haz, λ es la longitud de onda de los rayos X y d_{hkl} es la distancia interplanar entre los planos.

Cuando el material a analizar se prepara en forma de polvo fino, siempre habrá algunas partículas cuyos planos (hkl) queden orientados en el ángulo θ adecuado para satisfacer la ley de Bragg, con lo que se producirá un haz difractado a un ángulo de 2θ en relación con el haz incidente. Los rayos X difractados contienen información sobre la posición y el tipo de átomos que se encuentran en la muestra. Al conocer la longitud de onda de los rayos X, se pueden determinar los espaciamentos interplanares y, finalmente, la identidad de los planos que generan dicha difracción. [13]

La técnica se emplea para determinar el arreglo de los átomos en los compuestos sólidos y para medir las longitudes y los ángulos de enlace.

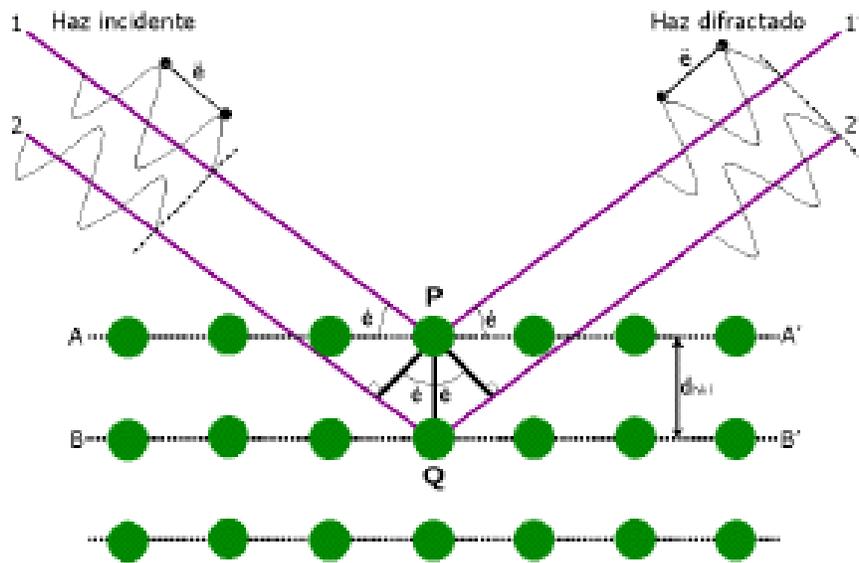


Fig. 3.4. Planos en un cristal, difracción.

Para el análisis, se utilizó un difractómetro de rayos X de polvos Siemens D500 con lámpara de Cu, línea $k_{\alpha 1}$ y longitud de onda de 0.15406 nm. Las muestras no requirieron ningún tratamiento previo.



a)



b)

Fig. 3.5. Equipo de difracción de rayos X. a) Difractómetro Siemens D500.^[13] b) El interior del equipo de DRX.^[13]

3.3.3. Análisis térmicos

3.3.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB)

Esta técnica mide las diferencias en la cantidad de calor aportado a una muestra y una sustancia de referencia en función de la temperatura de la muestra estando las dos sometidas a un programa de temperatura controlado; es decir, es un método calorimétrico en el que se miden diferencias de energía.^[22]

El método consiste en proporcionar un flujo de calor, a velocidad constante a la muestra y al material de referencia (de composición conocida, que se sabe que no sufre cambios en el intervalo de temperatura en el que se va hacer el análisis). La transición de calor ha de ser “instantánea” por lo cual se trabaja con masas pequeñas. Las muestras se colocan en crisoles que pueden ser cerrados herméticamente, lo que impide que se produzcan cambios de humedad. Lo que se registra es la diferencia en el de flujo de calor que hay que suministrar a la muestra y a la referencia para mantener la misma temperatura de ambas. Cuando ocurre una transición térmica, es decir, un cambio físico o químico que produce una liberación o absorción de calor, se adiciona energía térmica, ya sea a la muestra o al material de referencia, con la finalidad de mantener a ambos a la misma temperatura. Esta técnica se utiliza para detectar cambios endotérmicos o exotérmicos que ocurren durante el análisis.^{[23], [13]}

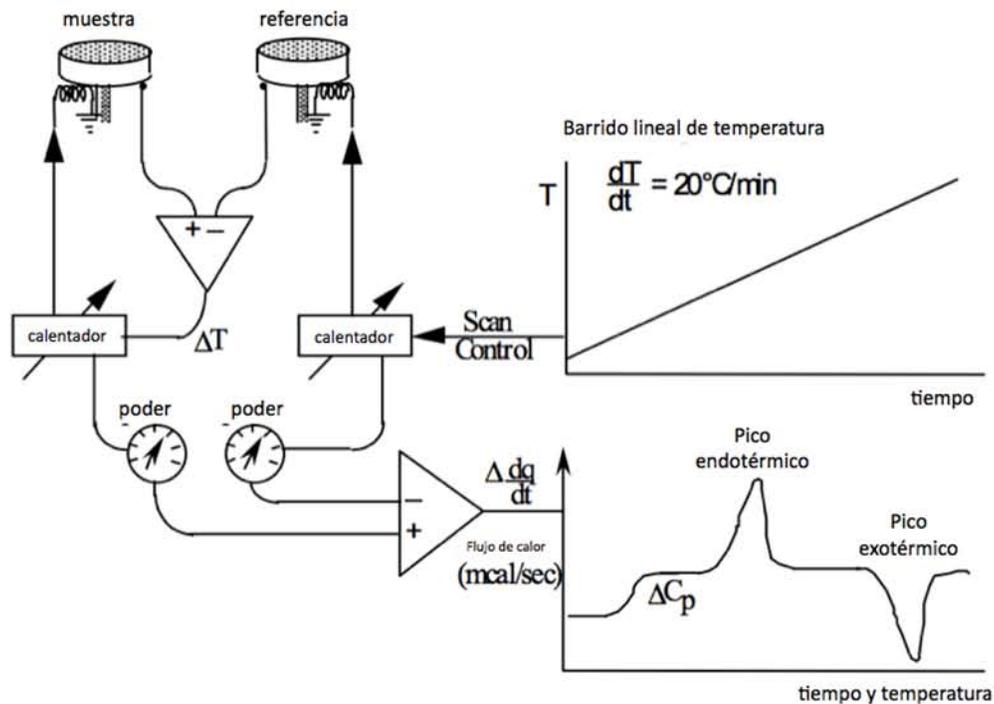


Fig. 3.6. Esquema de un sistema de calorimetría diferencial de barrido. Los triángulos son amplificadores que determinan la diferencia entre las dos señales de entrada. El poder del calentador de la muestra es ajustado para que la muestra y la referencia se mantengan a la misma temperatura durante el barrido.^[13]

Las mediciones se obtuvieron mediante un equipo de DSC modulado TA Instruments DSC 2910. Las muestras se calentaron con una rapidez de calentamiento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$. Las muestras se corrieron desde temperatura ambiente ($\sim 25^\circ\text{C}$) hasta los 500°C .



Fig. 3.7. Equipo CDB 2910 de TA Instruments.^[13]

3.3.3.2. Análisis termomecánico (ATM)

El análisis termomecánico proporciona mediciones de penetración, dilatación, contracción y alargamiento de los materiales como una función de la temperatura, bajo una fuerza mecánica definida (durante el calentamiento de la muestra se aplica una fuerza constante). Generalmente el

ATM se utiliza para caracterizar la expansión lineal, temperatura de transición vítrea (T_g) y los puntos de reblandecimiento de materiales. ^[13]

La técnica se utilizó para determinar el coeficiente de dilatación lineal (α) del biovidrio. La curva termomecánica se obtuvo a través de un analizador termomecánico TA Instruments TMA 2940. Las muestras se calentaron con una rapidez de calentamiento de 10 °C/min. Las muestras se corrieron desde temperatura ambiente (~25°C) hasta los 700°C.



Fig. 3.8. Analizador termomecánico TMA 2940 de TA Instruments. ^[13]

3.3.3.3. Análisis termogravimétrico (TGA)

La termogravimetría es una técnica en la que se determina la pérdida o ganancia de masa de una muestra en función de la temperatura; hay tres tipos de análisis, isotérmico, cuasi isotérmico y dinámico; en este último la muestra se calienta en una atmósfera controlada con una rampa de temperatura previamente fijada.

A partir de ésta técnica se obtiene un termograma (curva termogravimétrica o curva de descomposición térmica de masa), donde se representa la variación de la masa (generalmente en porcentaje de pérdida) en función de la temperatura o el tiempo. La variación de la masa en función de la temperatura suministra información sobre la estabilidad térmica y composición de la misma, la estabilidad térmica y composición de intermedios que pueden formarse durante el análisis y de la composición de residuo que queda al final del mismo. ^[22]

La técnica se empleó para estudiar la estabilidad térmica del biovidrio, así como la presencia de contaminantes y de agua en la superficie y en los poros. La curva termogravimétrica se obtuvo mediante un analizador termogravimétrico de alta resolución TA Instruments TGA 2950. Las muestras

se calentaron con una rapidez de calentamiento de 10 °C/min. Las muestras se corrieron desde temperatura ambiente (~25°C) hasta los 700°C.



Fig. 3.9. Analizador termogravimétrico de alta resolución TGA 2950 de TA Instruments.^[13]

3.3.4. Microscopia

3.3.4.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

El microscopio de barrido es similar al de transmisión en que ambos emplean un haz de electrones para iluminar las muestras (ver sección 3.3.4.2.), es decir, que ciertas características como la fuente de electrones, las lentes condensadoras y el sistema de vacío son similares en ambos instrumentos. Sin embargo la forma en que las imágenes son producidas y aumentadas son totalmente diferentes. Mientras que el MET proporciona información acerca de la estructura interna de las muestras, el MEB se utiliza para estudiar la superficie de las muestras.

En el MEB el haz de electrones pasa a través de las lentes condensadoras y de objetivo, y es barrido a lo largo de la muestra por las bobinas de barrido, mientras que un detector cuenta el número de electrones secundarios de baja energía emitidos por cada punto de la superficie (ya que los electrones no atraviesan la muestra, sino que son absorbidos por la superficie de la misma, lo que produce una emisión secundaria de electrones, los cuales son capturados por un sistema integrador y transductor de imagen). Al mismo tiempo se utiliza el foco de un tubo de rayos catódicos para proporcionar contraste a la imagen. Tanto el haz de electrones que proviene del detector como el foco son barridos dando lugar a la imagen amplificada (en este microscopio no existen lentes proyectoras).^{[24], [13]}

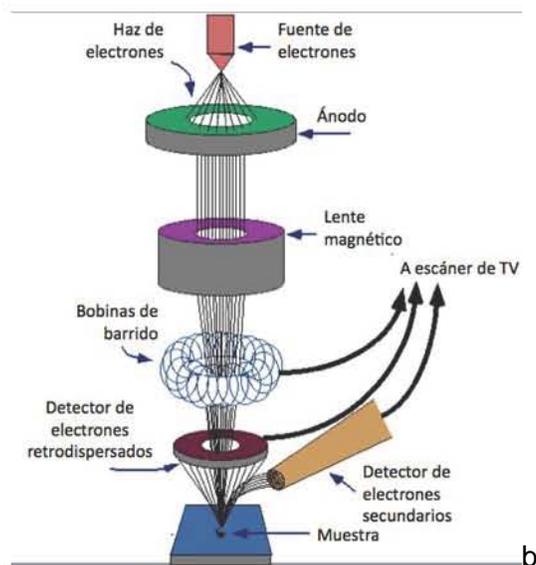
La diferencia de potencial de aceleración de un MEB se encuentra entre 2kV y 40kV y su resolución 50 a 20Å. Para el análisis a las muestras que son poco conductoras se les debe aplicar una delgada

capa de un material conductor, un metal, (en este caso suele emplearse Au como material conductor).^[24]

La técnica se empleó para estudiar la morfología y el diámetro de las partículas del biovidrio, así como los andamios. Las muestras en el caso del biovidrio no requirieron preparación previa, mientras que en los andamios si (ver sección 3.3.4.1.1). Las imágenes se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo térmico de alta resolución JEOL JSM-7600F. Para las mediciones del diámetro de partícula y de las fibras se empleó el programa ImageJ.



a)



b)

Fig. 3.10. Microscopio electrónico de barrido. a) Microscopio JEOL JSM-7600F.^[13] b) Diagrama de los componentes de un sistema de MEB, donde se observa el paso del haz de electrones.^[13]

3.3.4.1.1. Recubrimiento en Au para los andamios de Poli(ϵ -caprolactona) con biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Las técnicas de recubrimiento a bajo vacío se caracterizan porque los átomos son desprendidos a alta velocidad de un cátodo por el impacto de iones de un gas (que suele ser Ar; en este caso aire atmosférico). Los átomos de metal al moverse en el espacio de la campana ocupado por apreciables cantidades de gas chocan numerosas veces con los átomos del gas antes de llegar a la muestra situada sobre el ánodo. El instrumento está formado por un pequeño recipiente cuya cara circunferencial es de vidrio y que es evacuado por una bomba de alto vacío; unido a la base de la cámara se encuentra el cátodo (alrededor de éste hay un imán) formado por una hoja del material con el cual se desea recubrir: oro, aleación oro-paladio, plata, platino, níquel, cromo etc.

La fuente de poder suministra la diferencia de potencial entre el cátodo y el ánodo, con la bomba se evacua la cámara, finalmente se aplica el alto voltaje al cátodo lo que produce electrones libres que en su recorrido espiral a lo largo de las líneas de campo magnético ionizan átomos del gas, desprendiendo nuevos electrones libres en un efecto de cascada. Los iones positivos del gas son atraídos por el cátodo sobre el que se encuentra el blanco de oro. Al chocar sobre él desprenden átomos del mismo, que a velocidad van chocando con los átomos del gas hasta chocar con la muestra (en diferentes ángulos) donde se depositan formando al comienzo pequeños cúmulos y finalmente una capa delgada continua.^[25]

Esta técnica se utilizó para el análisis mediante MEB con el cual se estudió la morfología y el diámetro de las fibras de los andamios con biovidrio. Las muestras fueron previamente recubiertas en oro, para hacerlas eléctricamente conductoras. El recubrimiento se realizó al vacío en un aparato de dispersión (sputtering) de iones JEOL JFC-1100 (ver Fig. 3.11), con una corriente 30 mA y durante 3 minutos. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo térmico de alta resolución JEOL JSM-7600F.

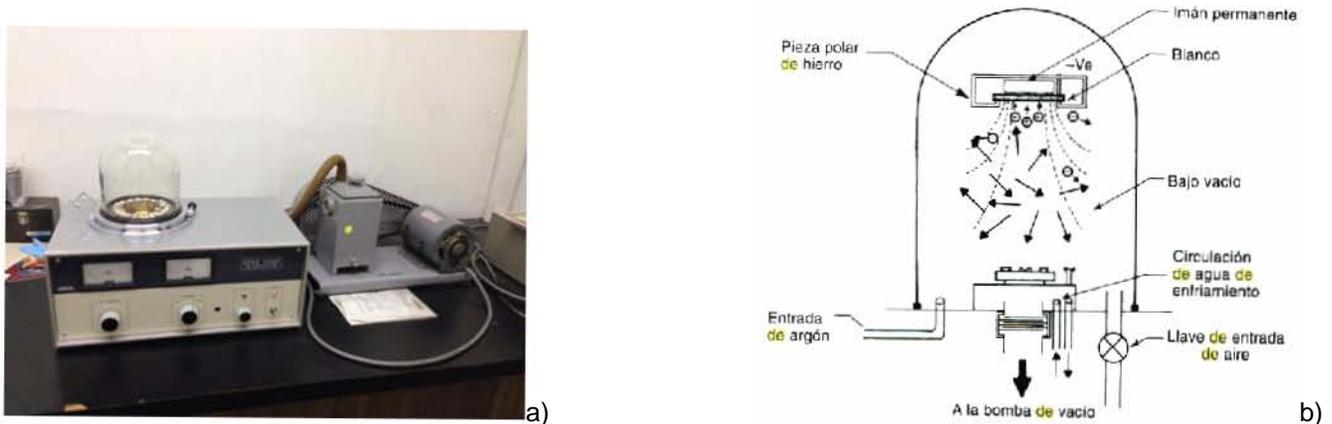


Fig. 3.11. Equipo para el recubrimiento de materiales no conductores. a) Aparato JEOL JFC-1100 para sputtering de iones.^[13] b) Diagrama donde se muestran los componentes del instrumento de recubrimiento, donde se observa los átomos desprendidos por el impacto de iones del gas.^[25]

3.3.4.2. Microscopía electrónica de transmisión (MET) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

La técnica de microscopía electrónica de transmisión es usada para tener imágenes con características microestructurales, donde es posible determinar diferencias entre diferentes regiones cristalinas y entre un material amorfo de uno cristalino en escalas muy pequeñas (~1-10nm). Se basa en el principio de que los electrones se comportan como ondas, por lo cual el equipo utiliza un haz de electrones acelerados originados a partir de la emisión termoiónica de un filamento caliente; estos

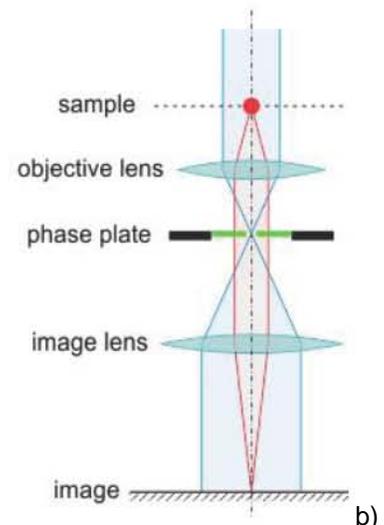
son acelerados mediante una diferencia de potencial; generando un haz de electrones de energía controlada (y por tanto de longitud de onda conocida), el cual irradia una muestra delgada por un de sus caras, dándonos una imagen formada por los electrones que emergen por la cara contraria; (el haz es focalizado mediante lentes condensadoras y posterior al pasar por la muestra los electrones son recolectados y focalizados por una lente objetivo), la imagen obtenida a partir de una amplificación es proyectada dentro de una pantalla fluorescente o en película fotográfica.^{[24], [21], [13], [25]}

MET trabaja alrededor de los 100000 eV lo cual permite una longitud de onda de 0.004nm, (el tamaño pequeño de longitud de onda implica una resolución alta y simultáneamente una imagen de la microestructura en pequeña escala).^[21]

La técnica se utilizó para determinar el grado de cristalinidad del biovidrio 55SiO₂-16CaO-23MgO-6P₂O₅ después de haberlo sumergido durante (27.5, 96 y 169.5) horas en agua desionizada y (25 y 164.5) horas en DMEM. Las imágenes se obtuvieron con un microscopio JEOL JEM-1200EX.



a)



b)

Fig. 3.12. Microscopio electrónico de transmisión. a) Microscopio JEOL JEM-1200 EX.^[13] b) Diagrama que muestra el sistema óptico para observar y amplificar la imagen en un microscopio de MET.

3.3.5. Ángulo de contacto (en la superficie de los andamios de PCL)

El ángulo de contacto permite conocer la superficie de un material ya que es un parámetro que refleja el grado de humectación entre un líquido y una superficie sólida en el punto de contacto. Por convención cuando la humectación es completa el ángulo de contacto es cero.^[27] El ángulo de contacto θ viene determinado por la interacción (atracción o repulsión) entre las fuerzas moleculares líquido-líquido y líquido-sólido el cual dependerá del sólido y del líquido que se trate.^[26] El ángulo de contacto se define como el ángulo entre la tangente a la superficie de la gota y la tangente a la

superficie de la intersección vapor-líquido-sólido. Un ángulo de contacto grande (mayor a 90°) indica que la superficie es hidrofóbica y tiene una baja energía superficial, mientras que un ángulo de contacto pequeño (menor de 90°) indica que la superficie es hidrofílica y tiene una alta energía superficial.^[13]

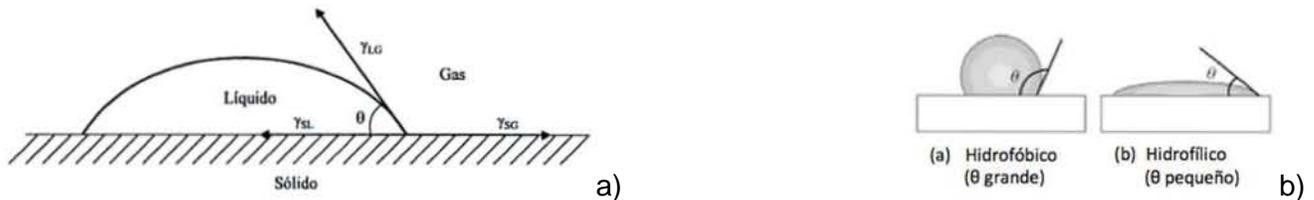


Fig. 3.13. Diagramas de medición de ángulo de contacto. a) Definición de ángulo de contacto.^[13] b) Ángulos de contacto grandes y pequeños.^[13]

El instrumento cuenta con un goniómetro, una cámara de aluminio con ventanas de cuarzo en la cual se coloca la muestra, la cámara se encuentra situada sobre un riel óptico, que a su vez está acoplado a una cámara; el goniómetro tiene acoplada una fuente de luz de alta intensidad. El instrumento cuenta una jeringa con la cual se coloca la cantidad de líquido sobre la muestra pudiendo así controlar el volumen (generalmente μL) del líquido colocado en el punto de contacto (ver fig. 3.16).

Las mediciones del ángulo de contacto se obtuvieron con goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc. acoplado a una fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc. Dichas mediciones se realizaron con la finalidad de estudiar el comportamiento de la superficie de los andamios con y sin la inserción de las partículas de biovidrio.

3.4. Procedimiento experimental

3.4.1. Síntesis de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ por el método solgel

Inicialmente con base a la información encontrada en la literatura [6, 7 y 42], no se tenía un procedimiento definido a seguir para la obtención del biovidrio cuya composición diera lugar al biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$. El propósito de esta primera etapa era establecer dicho procedimiento y en base a los resultados se preparó una segunda etapa en la cual se buscaba obtener 5 muestras de biovidrio con diferentes concentraciones en %mol de MgO.

Para alcanzar los objetivos de la primera etapa se diseñaron tres procedimientos diferentes; los cuales difieren en el orden de adición de los reactivos y el tiempo de reposo por cada adición.

Tabla 3.1. Composiciones en %mol de los tres biovidrios sintetizados como muestras piloto.

Muestra	Composición
1	55SiO ₂ -26CaO-13MgO-6P ₂ O ₅
2	55SiO ₂ -16CaO-23MgO-6P ₂ O ₅
3	55SiO ₂ -36CaO-3MgO-6P ₂ O ₅

Muestra 1 (13% mol MgO)

En un vaso de precipitado se agregó inicialmente las sales de Ca(NO₃)₂·4H₂O y Mg(NO₃)₂·6H₂O, enseguida se adicionó el tetraetilortosilicato (TEOS), después el trietilfosfato (TEP), la cantidad requerida de H₂O, y finalmente se adicionó el HNO₃ concentrado 65% v/v, la mezcla se llevó a agitación magnética durante 3-4 min, pasado éste tiempo, la reacción se tornó amarillenta donde se desprendieron gases de color café-amarillento atribuidos a emisiones de dióxido de nitrógeno.



La reacción fue violenta, pues se generaron proyecciones del biovidrio (debido a una adición rápida de ácido nítrico y a una sobre-concentración del mismo, ya que al formarse el gel la agitación magnética ya no funcionó, pues el mismo gel no permitía la agitación de la barra magnética).

El xerogel formado se dejó reposar dos días en la campana; se llevó a 80 °C en un horno de secado Riossa de (41x35x30) cm modelo H41 serie 010910 durante aprox. 3 días; 2 días se secó a 164 °C y finalmente se llevó a un tratamiento térmico en una mufla Barnstead Thermolyne 47900 a 700 °C durante tres días en el cual el polvo blanco obtenido del secado se colocó en un crisol de cerámica. Una vez enfriada la muestra se guardó en un vial de vidrio para evitar la humedad.

Muestra 2 (23% mol MgO)

En este procedimiento a diferencia del anterior en un vaso de polipropileno las sales de Ca y Mg se disolvieron en la cantidad de agua necesaria, la disolución se llevó en agitación magnética, a esta disolución se le adiciono el TEOS posteriormente el TEP y finalmente se adiciono el HNO₃ concentrado 65% v/v (dos mL por minuto); después de 5 min de agitación la reacción comenzó a proyectarse de forma violenta, liberando gases de color café-amarillento (NO₂).

Terminadas las emisiones de NO_2 el producto (xerogel) formado se dejó reposar dos días en el vaso de polipropileno; se llevó a $74\text{ }^\circ\text{C}$ en un horno de secado Riossa de (41x35x30) cm modelo H41 serie 010910 durante aprox. 3 días; 2 días se secó a $143\text{ }^\circ\text{C}$ y finalmente se llevó a un tratamiento térmico en una mufla Barnstead Thermolyne 47900 a $700\text{ }^\circ\text{C}$ durante tres días en el cual el polvo blanco obtenido del secado se colocó en un crisol de cerámica. Una vez enfriada la muestra se guardó en un vial de vidrio para evitar la humedad.

Muestra 3 (3% mol MgO)

En esta muestra a diferencia de las anteriores se redujo el tiempo y la adición del HNO_3 ; donde en un vaso de polipropileno, al TEOS se le agregó el HNO_3 concentrado 65% v/v (un mL por minuto) de forma lenta y en agitación en seguida se adiciono el TEP esperando 15 min para la adición de la disolución de las sales de Ca y Mg (la cuales previamente se disolvieron en la cantidad de agua requerida). La reacción se mantuvo en agitación manual durante el procedimiento. Una vez que se dejó en reposo el solgel pasada 1 h la reacción se proyectó de forma violenta.

El solgel formado se dejó reposar en el vaso de polipropileno siete días; se llevó a $77\text{ }^\circ\text{C}$ durante aprox. 3 días; 2 días se secó a $160\text{ }^\circ\text{C}$ en un horno de secado Riossa de (41x35x30) cm modelo H41 serie 010910 y finalmente se llevó a un tratamiento térmico en una mufla Barnstead Thermolyne 47900 a $700\text{ }^\circ\text{C}$ durante tres días en el cual el polvo blanco obtenido del secado se colocó en un crisol de cerámica. Una vez enfriada la muestra se guardó en un vial de vidrio para evitar la humedad.

3.4.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración en %mol del MgO

Posterior a sintetizar las muestras piloto, con base a los resultados obtenidos por el análisis de difracción de rayos-X se definió el procedimiento experimental por el cual se obtendrían las demás muestras de biovidrio.

En los resultados de difracción de rayos X se obtuvo la única muestra de biovidrio 100% amorfa. Por lo cual se concluyó que fue el mejor procedimiento experimental el cual fue, el llevado a cabo con la muestra 2 (23% mol MgO).

La síntesis de las cinco muestras se realizó con el procedimiento de la muestra 2 (23 % mol MgO; donde solo se dejó un mayor tiempo de reposo de cinco días para las cinco muestras). Considerando que se deseaba obtener 5 g de producto (biovidrio), se realizó la síntesis donde se mantuvo constante la concentración de SiO_2 y P_2O_5 variando la composición en % mol de CaO y MgO. Como

se muestra en la tabla 3.2 se trabajó con cinco muestras con diferente relación CaO y MgO (se incluye en la tabla la muestra piloto 23% mol MgO).

Tabla 3.2. Composiciones del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅ en % mol.

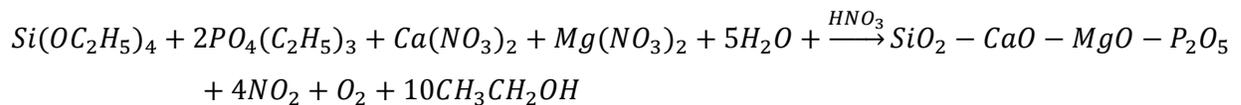
SiO ₂ %mol	CaO %mol	MgO %mol	P ₂ O ₅ %mol
55	16	23	6
55	21	16	6
55	26	13	6
55	31	8	6
55	34	5	6
55	36	3	6

Tabla 3.2. Se eligieron tres composiciones diferentes como muestras piloto inicialmente para definir el procedimiento por el cual se realizaría la síntesis de las cinco muestras finales a sintetizar.

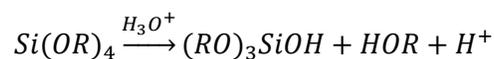
3.4.3. Reacciones

A continuación se muestran las reacciones que se llevan a cabo a lo largo del procedimiento experimental; primeramente la reacción general donde se parte de los reactivos las sales de calcio y magnesio, el TEOS y el TEP para llegar al producto deseado, el biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅; así como las reacciones del proceso en pasos que son la hidrólisis de TEOS en medio ácido (proporcionado por el HNO₃); la condensación del mismo, donde se tiene como subproducto la formación de agua; la formación de la red de SiO₂ que es lo que le confiere la estabilidad al material y el tratamiento térmico donde se introducen los modificadores de la red, en este caso los iones Ca y Mg.

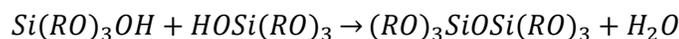
Reacción general



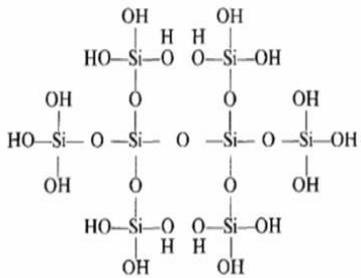
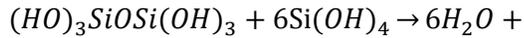
Hidrólisis



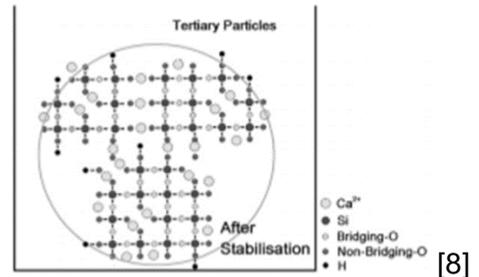
Condensación



Formación de la red SiO₂



700°C



[8]

3.4.4. Molienda mecánica del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅

Con la finalidad de reducir el tamaño de partícula se realizó la molienda de la muestra piloto 23% mol MgO en un molino de bolas Retsch PM100, durante 40 min a 150 rpm, donde se emplearon balines de ~ 2 mm de diámetro, el contenedor y los balines del molino fueron previamente lavados con agua destilada y secados con acetona o etanol. Posterior a la molienda se tamizó la muestra con un tamiz de 0.25 mm de malla, las partículas de biovidrio obtenidas fueron posteriormente analizadas por microscopía electrónica de barrido (MEB) para determinar su diámetro promedio.

A partir de los resultados obtenidos con la molienda de la muestra piloto (los cuales no fueron satisfactorios debido a que no se redujo significativamente el tamaño de partícula del biovidrio, solo un 33% y la reducción no fue muy homogénea) se decidió aumentar las revoluciones y el tiempo de molienda con las demás muestras, donde la muestra con 8% mol MgO se molió durante 40 min. a 300 rpm pasándola por tres tamices de 0.14 mm, 0.02 mm y otro de un tamaño de malla (ver fig. 3.14) intermedio entre estos dos. Las demás muestras se molieron durante 60 min a 300 rpm las cuales se tamizaron con los tamices de 0.14 mm y el de un tamaño de malla intermedio (el cual es menor al de 0.14 mm).



a)



b)

Fig. 3.14. Tamices que se emplearon para clasificar el tamaño de partícula de acuerdo a su diámetro. a) Tamices empleados de izquierda a derecha 0.25 mm, 0.14 mm y tamaño de malla intermedio entre 0.14 mm y 0.02 mm. b) Tamiz de tamaño de malla intermedio entre 0.14 mm y 0.02 mm.

3.4.5. Molienda ultrasónica del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Se realizó una molienda ultrasónica debido a que en el primer experimento realizado con la molienda mecánica la reducción del tamaño de partícula fue mínimo y muy poco homogéneo, por lo cual se buscó por otra técnica para reducir aún más el tamaño de partícula, para esto se empleó el biovidrio 13% mol de MgO.

Se utilizó un procesador de ultrasonido con sonda Sonics Vibra Cell 505 (fig. 3.2). Se dispersó el biovidrio en 250 mL de N,N-dimetilformamida, se colocó la sonda del procesador dentro de la suspensión y se tapó el recipiente. Inicialmente se había propuesto un disolvente no polar para evitar que el biovidrio adsorbiera humedad o bien reaccionara químicamente con el medio dispersante: el disolvente, (pudiendo incluso inducir la formación de capas de hidroxiapatita en la superficie del material), pero se decidió utilizar el mismo disolvente que se usó para disolver la poli(ϵ -caprolactona) por lo cual se empleó N,N-dimetilformamida como disolvente, de esta forma las partículas de biovidrio no tendrían adsorbidos solventes ajenos a los que se habrían de utilizar en la elaboración de los andamios de poli(ϵ -caprolactona) con la inserción de partículas de biovidrio. Para evitar incrementos bruscos de temperatura, se empleó un baño de agua con hielo como sistema de refrigeración. La molienda se llevó a cabo considerando un 70% de amplitud de la máxima frecuencia (20 kHz) y por dos periodos de 30min, con un reposo de 10 min entre los periodos. Posteriormente, se dejó sedimentar el biovidrio y se decantó la N,N-dimetilformamida. Finalmente, se secó el biovidrio en un horno de secado Riossa (41x35x30) cm, modelo H41, número de serie 010910, a 170 °C durante 3 días, para eliminar N,N-dimetilformamida residual.

3.5. Procedimiento experimental para el análisis de superficie del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ con respecto a la dentina en un molar

3.5.1. Preparación de la pasta para obturación

La muestra de biovidrio 13% mol MgO se mezcló con agua desionizada hasta lograr una pasta homogénea.

3.5.2. Preparación del molar

Se extrajo el tercer molar de una mujer de 30 años, molar que había sido extraído cinco horas antes del experimento.

Una vez extraído el molar este se mantuvo en agua desionizada a temperatura ambiente. Justo antes de colocar la pasta de biovidrio al molar se le realizó una perforación cilíndrica por la parte superior hasta llegar a la dentina; una vez retirados los restos de la perforación el molar se lavó con agua desionizada.

3.5.3. Obturación del orificio en el molar

En condiciones de asepsia tanto del molar como del instrumental, se llevó a cabo la obturación del molar, para lo cual se colocó en su interior la pasta de biovidrio. Dicha pasta fue compactada con una espátula de acero inoxidable, posteriormente se colocó una pasta de óxido de zinc mezclado con eugenol; una vez que solidificó dicha pasta, el molar se llevó a una estufa a 37 °C durante 14 días. Posterior a ello el molar fue cortado con un ultramicrotómo dejando las fases dentina biovidrio expuestas para su análisis por MEB.

3.6. Caracterización del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

3.6.1. Determinación del método experimental para la obtención del biovidrio por el proceso de solgel

3.6.1.1. Análisis por difracción de rayos X (DRX)

El análisis se llevó a cabo para determinar la estructura del biovidrio ya sea cristalina o amorfa de las muestras piloto.

3.6.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración %mol del MgO

3.6.2.1. Análisis de Infrarrojo por transformada de Fourier (IRTF) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

El análisis se llevó acabo para identificar los grupos funcionales P-O y Si-O correspondientes a la red de SiO_2 presentes en el biovidrio.

3.6.2.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

El análisis se llevó acabo para identificar los grupos funcionales P-O y Si-O correspondientes a la red de SiO_2 presentes en el biovidrio.

3.6.2.3. Estudios de propiedades térmicas del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

3.6.2.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

La técnica se empleó para determinar las temperaturas a las cuales se dan las transiciones significativas del biovidrio debido a cambios a nivel microscópico, como la temperatura de transición vítrea (T_g).

3.6.2.3.2. Análisis termomecánico (ATM) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

La técnica se utilizó para determinar el coeficiente de dilatación lineal (α) del biovidrio, y así saber cómo influenciaba el porcentaje de MgO en las propiedades mecánicas del material.

3.6.2.3.3. Análisis por termogravimetría (ATG) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

La técnica se empleó para estudiar la estabilidad térmica del biovidrio, así como la presencia de contaminantes y de agua en la superficie y en los poros.

3.6.2.4. Análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica

La técnica se utilizó para determinar el diámetro de partícula del biovidrio antes y después de la molienda. Para las mediciones del diámetro de partícula se empleó el programa ImageJ.

3.6.2.5. Análisis por microscopio electrónico de transmisión (MET) del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅

Esta técnica se empleó para determinar el grado de cristalinidad del material después de haber sido sumergido durante (27.5, 96 y 169.5) horas en agua desionizada y (25 y 164.5) horas en DMEM; se empleó campo claro y campo oscuro para la obtención de las imágenes.

3.6.2.6. Análisis de superficie del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅ con respecto a la dentina en un molar por MEB

La técnica se utilizó para observar si el material había presentado cambios fisicoquímicos, es decir, si habría formación de la capa de hidroxiapatita.

3.6.3. Obtención de las nanofibras de poli(ε-caprolactona)

3.6.3.1. Disoluciones de poli(ε-caprolactona)

Se realizó el electrohilado de cinco andamios de poli(ε-caprolactona) PCL; donde se prepararon disoluciones al 12 %m/v de PCL respecto a una relación de disolventes (N,N-dimetilformamida/diclorometano): DMF/DCM 1:4. Se disolvió 1.2 g de PCL en la mezcla de disolventes para tener una disolución final de 10 mL, para ello se dejó aproximadamente 24 h en agitación magnética a temperatura ambiente.

3.6.3.2. Electrohilado de poli(ε-caprolactona)

Se colocaron 2 mL de disolución de PCL en una jeringa de 5 mL de capacidad, la jeringa tiene una aguja de punta roma calibre 21G (0.8 mm), una vez colocada la disolución se eliminan las burbujas de aire. Posteriormente, se fija la jeringa en el inyector de la bomba marca New Era Pump Systems Inc. NE-1600 y se fija también a la cámara del sistema de electrohilado, enseguida se programa la rapidez de flujo a emplear y el volumen deseado de disolución. Se coloca el colector, el cual es un soporte cuya superficie es perpendicular a la dirección de la jeringa, en la superficie del soporte se fija una placa (lámina) metálica (en este caso de aluminio); donde el colector se encuentra a X cm de la punta de la aguja de la jeringa. Una vez fijo este sistema con un cable banana-banana y un caimán se conecta el polo positivo de la fuente de fuerza electromotriz (fem) a la aguja del sistema y el polo negativo se conecta a la placa de Al. Hecha la conexión se procede aplicar la diferencia de potencial (ΔV) deseado desde la fem cuando esta trabaja en una corriente directa o continua; la fem utilizada es de marca Glassman High Voltage Inc. Serie EH. Aplicada la diferencia de potencial se inicia la inyección de la disolución; después de cierto tiempo cuando la placa de Al se haya recubierto con el

andamio polimérico, se detiene la inyección de la disolución y se apaga la fuente de diferencia de potencial. Finalmente se retira la placa del soporte y se almacena en una bolsa de polietileno para su posterior caracterización.



Fig.3.15. Equipo de electrohilado. ^[13]

3.6.3.3. Obtención de las nanofibras de poli(ϵ -caprolactona) con inserción de partículas de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$.

Se realizó el electrohilado de diecisiete andamios con PCL insertando el biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$. La preparación de estas disoluciones se diferencia de las anteriores solo en la inclusión de un porcentaje en masa de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ (ver tabla 4.11).

Se prepararon 10 ml de estas disoluciones considerando un 12 %m/v de PCL con respecto a una mezcla compuesta por DMF/DCM con una relación 1:4 y una concentración de 4%-6% m/m respecto a la PCL de biovidrio, donde los solutos son la PCL y el biovidrio (ver tabla 4.11).

Para disolver el polímero en la mezcla de disolventes se dejó aproximadamente 24 hrs en agitación magnética. Posterior a ello se agregó la cantidad necesaria de biovidrio; la disolución se llevó durante 30min en un baño ultrasónico 5 min en agitación y 5 min de reposo para lograr la mayor dispersión posible del biovidrio en la disolución. Se colocaron aproximadamente 2 mL de la disolución en la jeringa y se procedió a hilar en las condiciones mencionadas en la tabla 4.11 y en la sección 4.4.1 para cada andamio.

3.6.4. Mediciones de ángulo de contacto de los andamios de PCL

Para cada medición, se cortó un cuadrado de la muestra de 1 cm x 1 cm del andamio sobre aluminio, la muestra se fijó sobre un cubre objetos. Se vertió una pequeña cantidad de agua en un vial limpio, el cual se colocó dentro de una cámara de aluminio con ventanas de cuarzo (con el fin de tener las condiciones de presión de vapor en el equilibrio). La cámara está sobre un riel óptico en el goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc. Posteriormente se colocó la muestra dentro de la cámara de medición. Se tomó una pequeña cantidad del agua desionizada con la jeringa del goniómetro y ésta se colocó dentro del soporte correspondiente. Se encendió la fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc., la cual estaba acoplada al goniómetro. Una vez realizados estos ajustes, se procedió a grabar la imagen mediante el programa computacional Pinnacle Studio. Con la microjeringa, se colocó un volumen de gota de 8 μL sobre el andamio soportado dentro de la cámara del goniómetro. Se dejó correr la grabación hasta que se observó que la gota se ha extendido hasta llegar al ángulo de contacto en el equilibrio para el líquido en cuestión. Una vez terminada la grabación, se retiró la muestra. Las mediciones fueron tomadas en un rango de temperatura de 22 °C-24 °C.



Fig.3.16. Goniómetro. Goniómetro modelo 100-07-00 de Ramé-Hart, Inc. acoplado a una fuente de luz de alta intensidad Fiber-Lite A3200 de Dolan-Jenner Industries, Inc.^[13]

3.6.5. Caracterización de las nanofibras de PCL y de las nanofibras compuestas de PCL-SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅

3.6.4.1. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La técnica se utilizó para determinar el diámetro de las fibras. Para las mediciones del diámetro se empleó el programa ImageJ.

3.6.4.2. Análisis de superficie por medio de ángulos de contacto

La técnica se empleó para determinar la superficie de los andamios con y sin la inserción de las partículas de biovidrio; para determinar el grado de humectación entre un líquido (en este caso agua) con la superficie del andamio en el punto de contacto.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Síntesis y Caracterización del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

4.1.1. Determinación del procedimiento experimental para la obtención del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ muestras piloto

El biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ se obtuvo en dos etapas, la primera corresponde a una etapa en la que se buscó el procedimiento experimental que más se ajustara a la obtención de nanopartículas del biovidrio y que a su vez presentara una de las características principales que es la amorficidad. Se consultaron tres fuentes de información^[6, 7, 42] donde cada una de ellas definió un procedimiento experimental (dichos procedimientos se ajustaron lo más cercano posible a lo citado en las referencias).

Cabe destacar que durante los experimentos para la obtención de cada muestra, se presentaron proyecciones en la reacción emitiendo gas de NO_2 , esto se atribuye a que la reacción de hidrólisis es exotérmica y al empleo de HNO_3 concentrado (65% v/v) el cual hacía que la hidrólisis fuera muy rápida y como consecuencia de ello la gelación del material también era demasiado rápida, esta gelación rápida obstruía el movimiento de la barra magnética durante la agitación y por ende al adicionar el ácido se concentraba solamente en una parte (la distribución del ácido no era muy homogénea) favoreciendo a que se dieran las proyecciones.

A continuación se muestra la tabla 4.1 en donde se cita en orden descendiente la adición de los reactivos; así como los diferentes tratamientos térmicos a los que se sometieron cada una de las muestras.

Tal y como se observa en la tabla 4.1 no hay diferencias significativas en cuanto a las temperaturas que se emplearon para los procesos de envejecimiento $\sim 60^\circ\text{C}$, secado $\sim 150^\circ\text{C}$ y estabilización 700°C ; solo hay diferencia en el tiempo de reposo el cual es más largo para la muestra con un 13% mol de MgO que es de 7 días (las otras dos muestras son de 3 días) y en el orden de adición de los reactivos.

Tabla 4.1. Resumen de condiciones de síntesis del Biovidrio.

%Mol de MgO	Orden en que se agregan los reactivos	Observaciones durante la reacción	1° Tratamiento térmico (°C/Tiempo)	2° Tratamiento térmico (°C/Tiempo)	3° Tratamiento térmico (°C/Tiempo)
23 %	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	Mezcla en reposo por 3 días	74 °C/ 3 días (sólido amarillento)	143 °C/ 2 días	700 °C/ 3 días
	Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	Proyecciones violentas			
	H ₂ O	Emisiones de NO ₂			
	TEOS				
	TEP				
HNO ₃ Conc.					
13 %	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	Mezcla en reposo por 7 días	80 °C/ 3 días (sólido amarillento)	164 °C/ 2 días	700 °C/ 3 días
	Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O	Proyecciones violentas			
	TEOS	Emisiones de NO ₂			
	TEP				
	H ₂ O				
HNO ₃ Conc.					
3 %	TEOS	Mezcla en reposo por 3 días	77 °C/ 3 días (sólido amarillento)	160°C/ 2 días	700 °C/ 3 días
	HNO ₃ Conc.	Proyecciones			
	Agitación	Emisiones de NO ₂			
	TEP agregado lento (15 min)				
	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O				
Mg(NO ₃) ₂ ·6H ₂ O					

La información de la literatura consultada no permite saber si el tiempo de reposo de la mezcla sea una variable que determine que el producto final sea un materia amorfo o semicristalino; a pesar de ello dados los resultados obtenidos por DRX para las muestras piloto y las cinco muestras finales, se observa que dicho tiempo de reposo aparentemente no presenta una influencia en la formación de la cristalinidad en las muestras, ya que, en la síntesis de las cinco muestras finales el tiempo de reposo fue constante para esas cinco muestras (cinco días de reposo) donde solo tres de esas muestras (16, 8 y 5% mol MgO) fueron 100% amorfas. También se observó que el orden de adición de los reactivos no influía en la síntesis de los biovidrios, pues en todos los casos se obtuvo el producto deseado.

Es necesario aclarar que la ruta que involucra la formación de especies cristalinas o amorfas a partir de las especies condensadas desde la solución acuosa de las sales inorgánicas está influenciada por

el pH de la mezcla, el incremento de la temperatura o cambio en los estados de oxidación de los elementos participantes.^[53]

La determinación del procedimiento experimental para la obtención del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ se hizo a partir de los resultados obtenidos por DRX, en los cuales solo se observó una muestra con un 100% de amorficidad (23% mol de MgO), por tal razón se eligió este procedimiento para sintetizar las cinco muestras finales, las cuales se mencionaran más adelante; a este método se le denominó método normalizado.

4.1.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) de las muestras piloto

De las muestras preparadas durante la fase de “pruebas piloto” solamente dos de las muestras presentaron cristalinidad, las que contienen un 3 % y 13% mol MgO y que pueden observarse en las figuras 4.2 y 4.4 respectivamente. Cabe recordar que el objetivo de esta primera fase experimental fue determinar el procedimiento experimental a través del cual se obtuvo un biovidrio amorfo, por lo que la muestra que contiene un 23 % mol de MgO, es la que nos permitió definir el procedimiento experimental con el cuál se obtuvieron el resto de las composiciones ya que esta muestra presentó un 100% de amorficidad fig. 4.1.

Inicialmente se atribuía que esta diferencia entre la cristalinidad de las muestras 3% y 13% mol MgO respecto al 100% de amorficidad de la muestra 23% mol MgO era debido al tiempo de reposo de las muestras ya que algunos autores^[53] atribuyen la formación de zonas cristalinas al tiempo de reposo; pero los resultados obtenidos con las cinco muestras finales por el método “normalizado” demostraron que en este caso no fue así ya que se presentaron zonas cristalinas en dos de las muestras finales 3% y 13% mol MgO, donde el tiempo de reposo fue constante para las cinco muestras finales (cinco días); estos resultados se comentan más adelante con detalle sección 4.2.4.2.

Una vez definido el procedimiento experimental se obtuvieron por segunda vez biovidrios que contienen 3 y 13 % mol de MgO, pero con el método con el cual se obtuvo una masa amorfa. Los resultados se analizaron por DRX (sección 4.2.4.2).

En el caso de la muestra al 23% mol MgO, presento que el 100% de la muestra es amorfa.

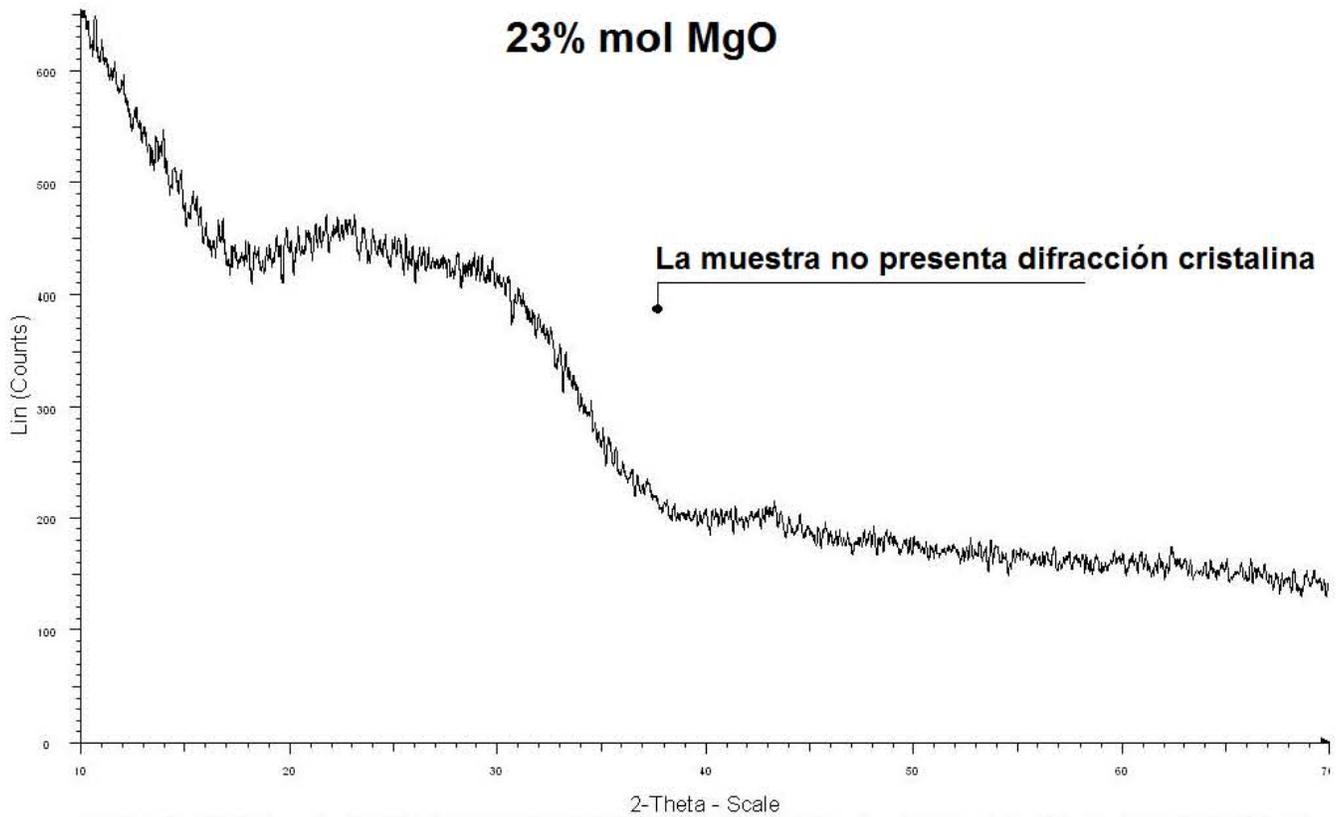


Fig. 4.1. Difractograma de la muestra piloto 23% mol MgO. La estructura es completamente amorfa.

La muestra con un 13% mol MgO presento un 81% de biovidrio amorfo, mientras que el 19% restante corresponde a un material cristalino. Este material cristalino es silicato de calcio magnesio $\text{Ca}_5\text{MgSi}_3\text{O}_{12}$, enstatita MgSiO_3 y óxido de silicio SiO_2 .

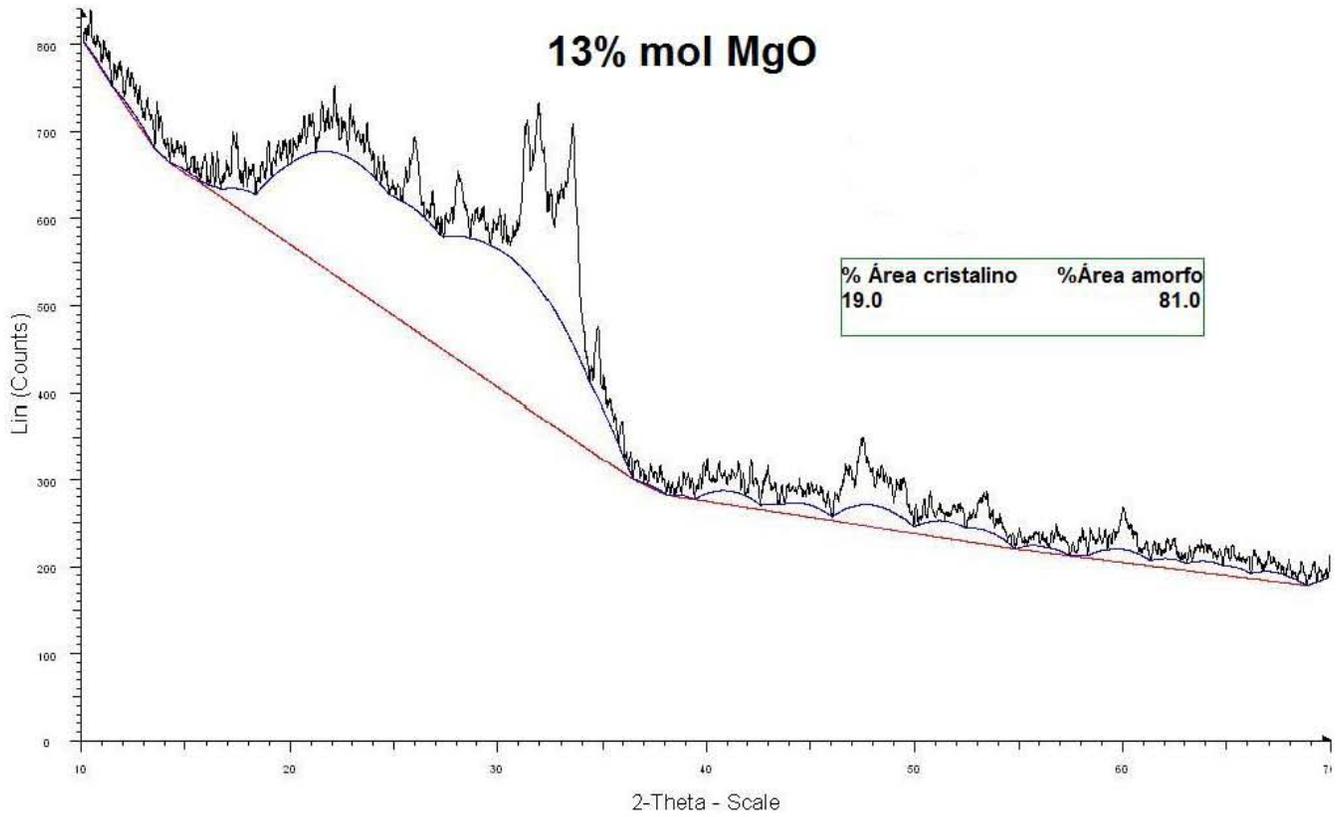


Fig. 4.2. Difractograma de la muestra piloto 13%mol MgO. Un 81% amorfo y 19% material cristalino.

Cuando se analiza la composición de la zona cristalina de esta segunda muestra se obtiene el difractograma mostrado en la figura 4.3.

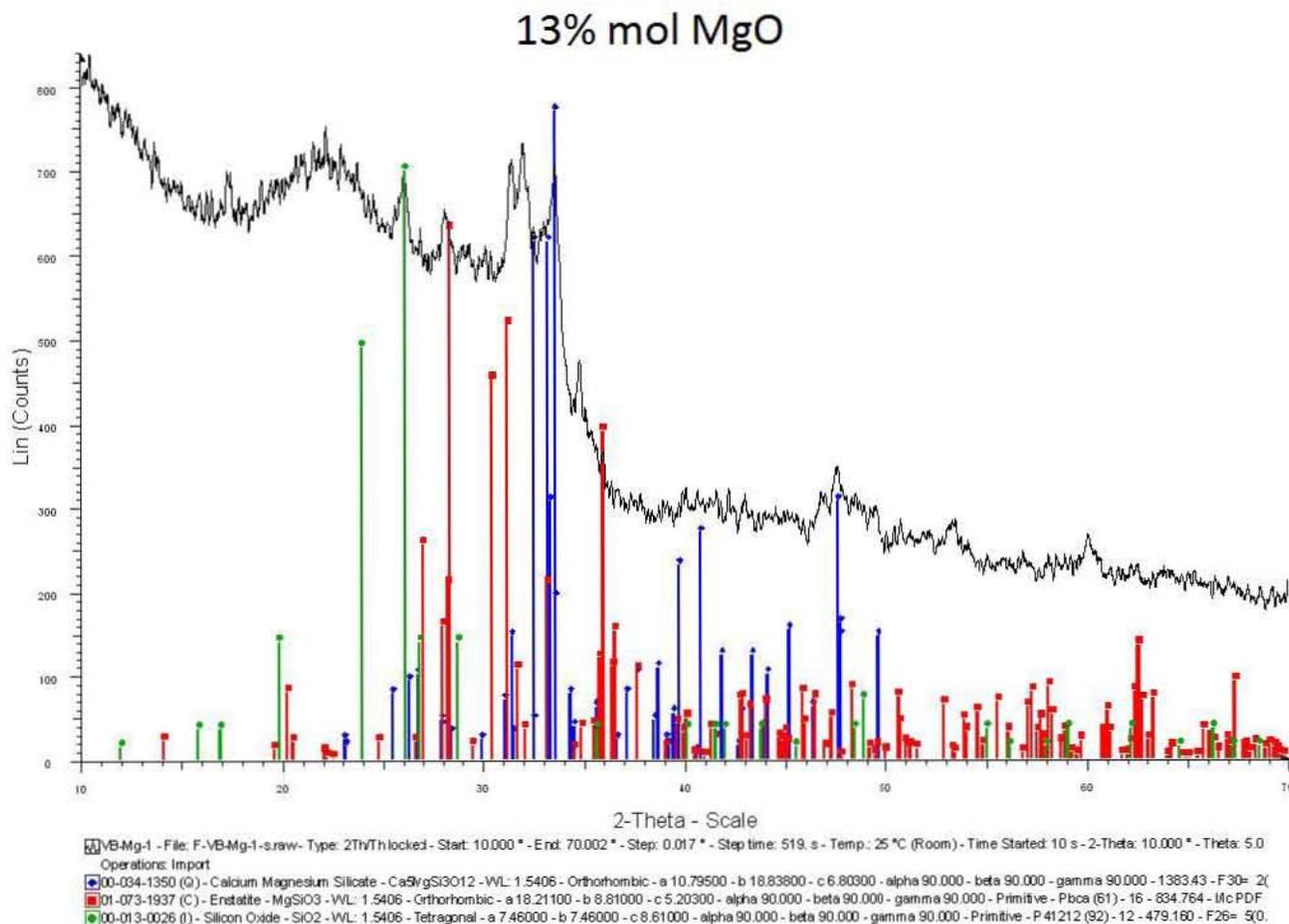


Fig. 4.3. Las tres estructuras cristalinas presentes en el biovidrio piloto 13% mol MgO. **Azul:** silicato de calcio magnesio Ca₅MgSi₃O₁₂, **rojo:** enstatita MgSiO₃ y **verde:** óxido de silicio SiO₂.

La presencia de sodio dentro de la composición del biovidrio se atribuye a una contaminación del material ya que este elemento no fue incluido en la síntesis de biovidrio pero que está presente en la fase cristalina. Esta contaminación posiblemente se dio en la síntesis del biovidrio ya que en todos los casos las cinco muestras finas obtenidas por el método “normalizado” se empleó un vaso de vidrio, donde el Na puede provenir de este medio. A pesar de ello el Na no es considerado un elemento nocivo para medios biológicos. La siguiente tabla muestra la diferencia estructural y composicional del biovidrio que contiene un 13 % mol de MgO, cuando se utilizan dos métodos diferentes para su síntesis.

Tabla 4.2. Fases cristalinas presentes en las muestras 13% mol MgO. Se muestran el porcentaje de cristalinidad y amorficidad de las muestras con un 13 % mol de MgO piloto y cuando es obtenida por el método normalizado (resultados obtenidos por el método normalizado sección 4.2.4.2 fig.4.23).

Método	% de zonas amorfas	% de cristalinidad	Cristales presentes	Formula condensada
Piloto	81	19	Silicatos de Calcio y Magnesio	$Ca_5MgSi_3O_{12}$
			Enstatita O Eritrita	$MgSiO_3$
			Óxido de silicio	SiO_2
Normalizado	71	29	Rankinita	$Ca_3Si_2O_7$
			Afwillita	$Ca_3(SiO_3OH)_2 \cdot 2H_2O$
			Grumantita	$NaSi_2O_4(OH) \cdot H_2O$

La muestra con un 3%mol MgO presento una amorficidad del 61.5% y el restante 38.5% corresponde a un material cristalino. Solo presento una fase cristalina la cual es Iarnita Ca_2SiO_4 .

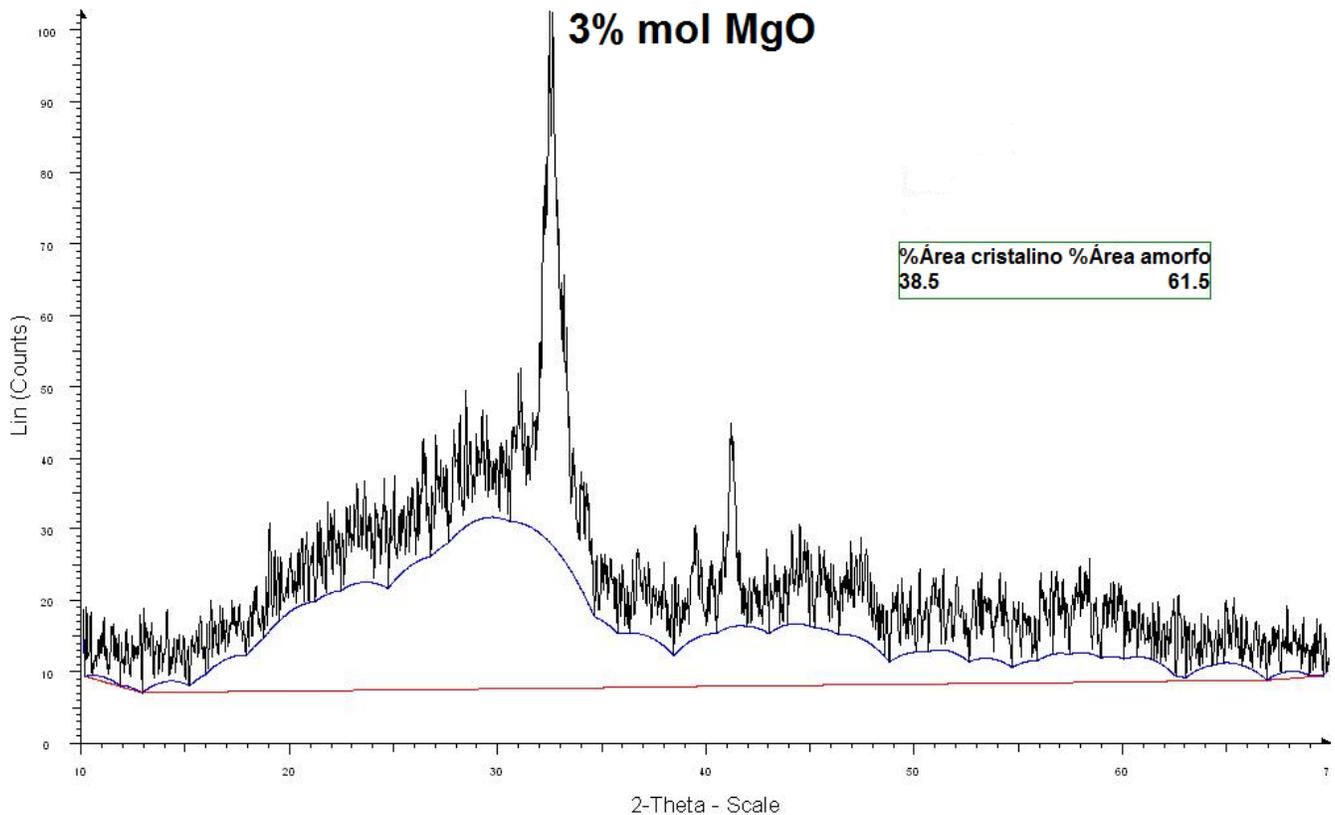


Fig. 4.4. Diffractograma de la muestra piloto 3% mol MgO. Con 61.5% de biovidrio amorfo y 38.5% material cristalino.

A continuación se muestra el difractograma para la muestra 3% mol MgO de la larnita.

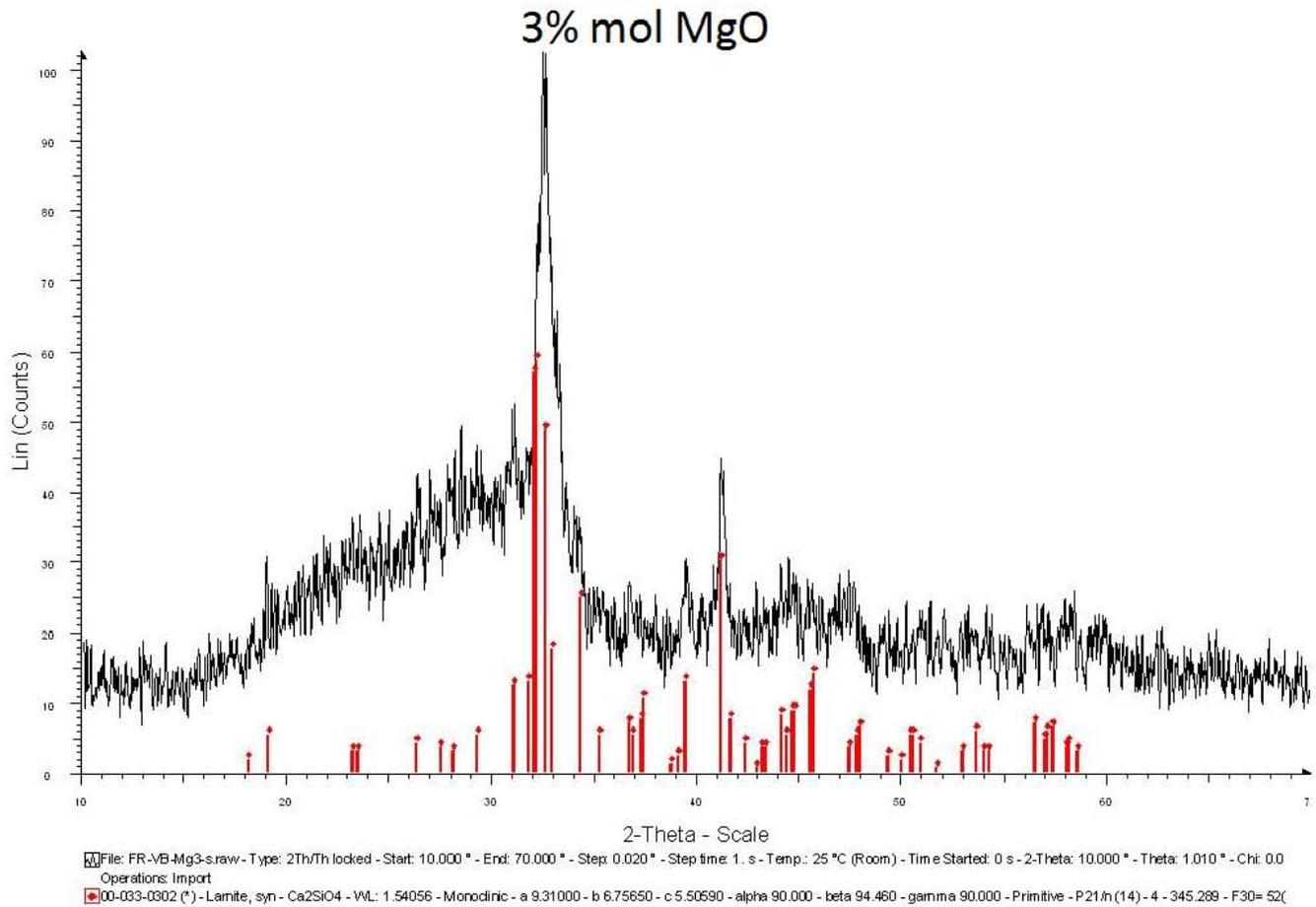


Fig. 4.5. Difractograma de la estructura cristalina presente en el biovidrio piloto 3% mol MgO. **Rojo:** larnita Ca_2SiO_4 .

En la tabla 4.3, se muestra el porcentaje de cristalinidad y amorficidad que presentan las muestras de biovidrio obtenidas muestra piloto y por el método normalizado con un 3 % mol de MgO, así mismo, se muestra el tipo de zonas cristalinas presentes de cada muestra.

Tabla 4.3. Fases cristalinas presentes en las muestras 3% mol MgO. Se muestran el porcentaje de cristalinidad y amorficidad de las muestras con un 3 % mol de MgO piloto y cuando es obtenida por el método normalizado (resultados obtenidos por el método normalizado sección 4.2.4.2 fig.4.25).

Método	% de zona amorfa	% de cristalinidad	Cristales presentes	Formula condensada
Piloto	61	38.5	Larnita	$\text{Ca}_2(\text{SiO}_4)$
Normalizado	51.1	48.9	Wollastonita	CaSiO_3
			Silicato de Sodio Magnesio	$\text{Na}_2\text{MgSiO}_4$

4.1.3. Análisis de las muestras piloto por MEB del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica

Para determinar el tamaño de partícula de los biovidrios se realizó un análisis por MEB; esta determinación se llevó a cabo posterior a la estabilización a 700 °C de cada una de las muestras, se observa más adelante, que el diámetro de partícula oscila entre los 476 nm y los 539 nm; estos diámetros de partícula resultan desproporcionados respecto al diámetro de la fibra que se propuso obtener, en donde el diámetro debe variar aproximadamente de 100 nm a 400 nm, razón por lo cual se realizó una molienda mecánica con un molino de bolas para reducir el tamaño de partícula.

A continuación se presentan las microfotografías de las muestras sintetizadas a través de diferentes métodos, tal y como se ha referido anteriormente (antes de la molienda). Estas muestras, a las que hemos denominado muestras piloto contienen 23%, 13% y 3 % en mol de MgO en el biovidrio.

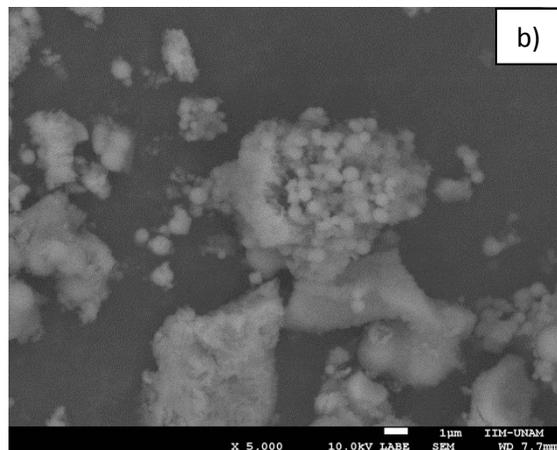
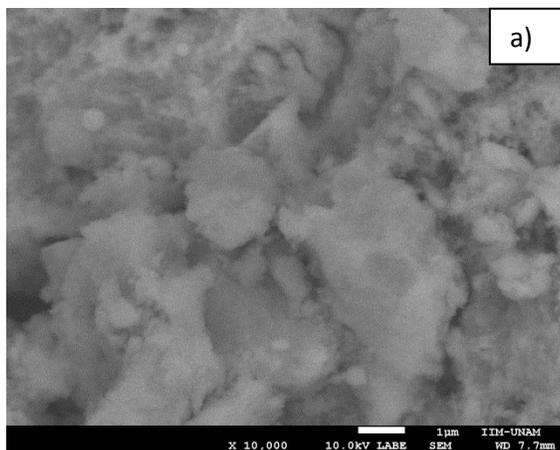


Fig. 4.6. Micrografías por MEB de la muestra 23%mol MgO antes de la molienda mecánica. En esta muestra se obtuvo el menor valor de desviación estándar 112 nm a comparación de las otras dos, lo que implica que el tamaño de partícula es más uniforme que las otras muestras. Se observan demasiados aglomerados de partículas de diámetros pequeños (en comparación con la muestra 13% mol MgO). El promedio de tamaño de partícula es de 539 nm.

En la microfotografía de la muestra 13% mol MgO fig. 4.7 (a), se observa que se han obtenido partículas con una gran variedad de diámetros, que pueden ir desde los 100 nm hasta aglomerados de 1 µm. Esta situación se confirma en la figura 4.7 (b), en la misma imagen puede observarse que hay un proceso en desarrollo el cual consiste en la formación de aglomerados tendenciales a formar esferas dando sólidos extremadamente porosos.

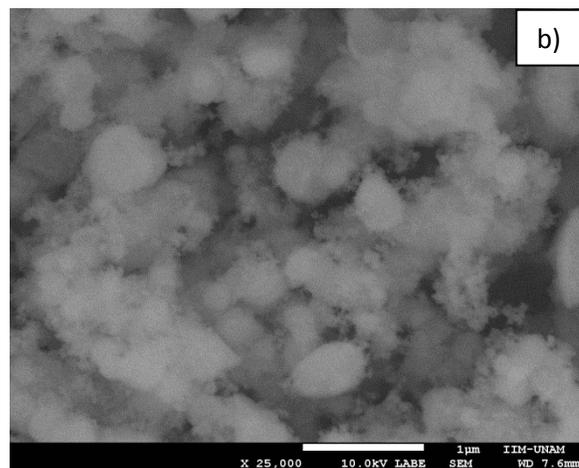
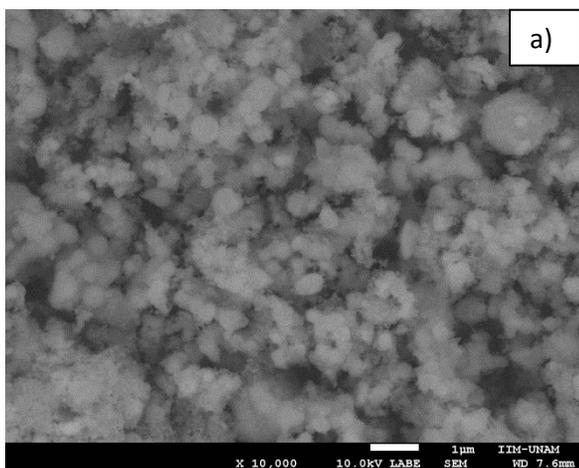


Fig. 4.7. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO antes de la molienda mecánica. En esta muestra se obtuvo el menor tamaño de partícula con un promedio de 476 nm, a pesar de ello el valor de la desviación estándar es algo grande 207 nm. Se observa el curso de la formación de aglomerados de partículas de diámetros pequeños (posiblemente menores a 100 nm).

Para el caso de la muestra que contienen 3 % mol de MgO, en la fig. 4.8 (a) se observan aglomerados mayores a 3 μm , sin embargo, es visible que estas macropartículas están formadas por una gran cantidad de partículas cuyo diámetro es mucho menor. La figura 4.8 (b) muestra una ampliación de una de las macropartículas, es posible observar que en realidad se trata de un aglomerado de varias partículas cuyo diámetro no sobrepasa los 100 nm. En la fig. 4.8 (c) se pueden observar diversas partículas de un tamaño variado, sin embargo, predominan partículas alrededor de los 500 nm, la presencia de las zonas cristalinas no se observaron en ninguna muestra, pero se obtuvo una imagen de un cristal en una de las muestras finales 8% mol MgO fig. 4.9.

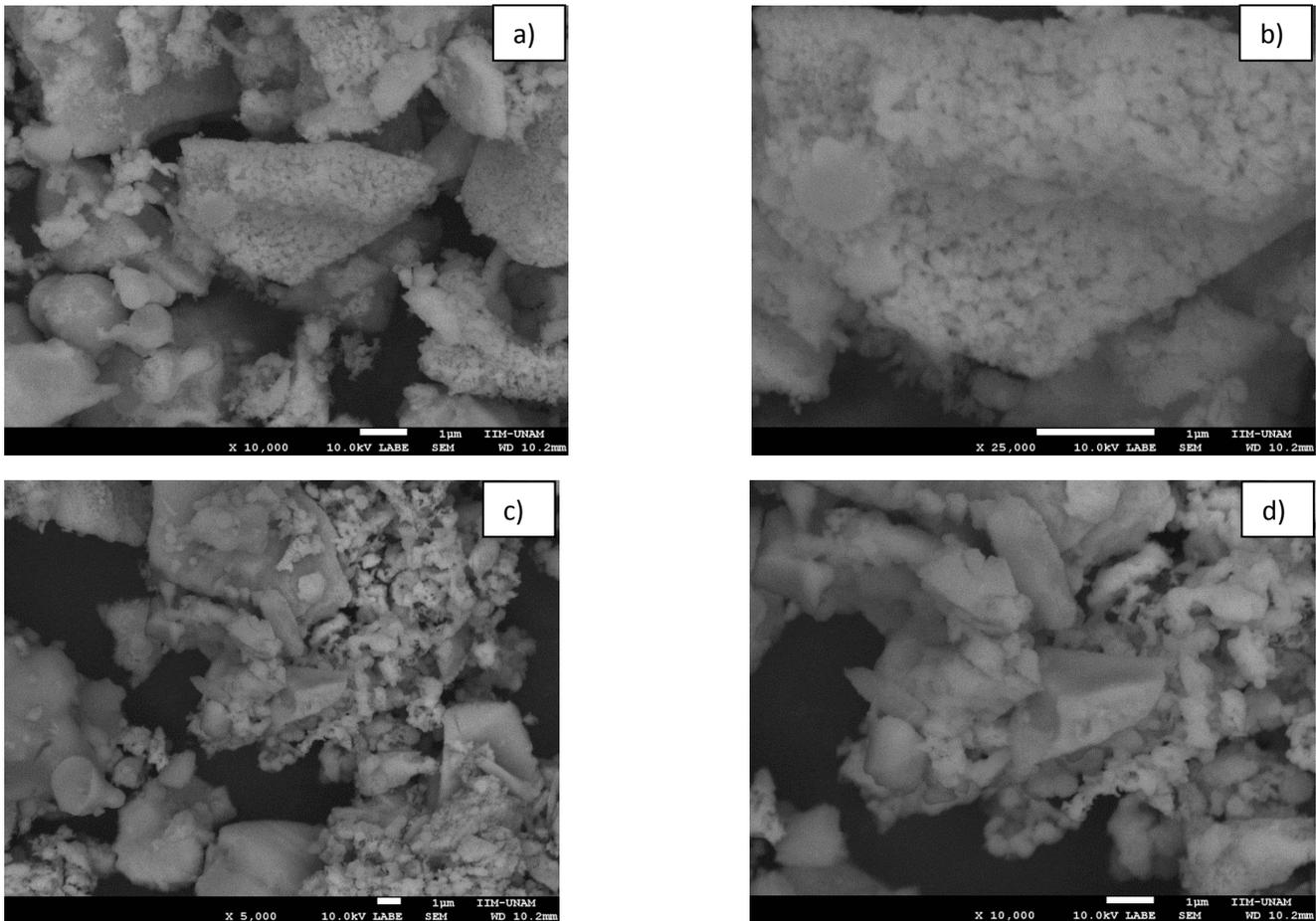


Fig. 4.8. Micrografías por MEB de la muestra 3% mol MgO antes de la molienda mecánica. Las partículas obtenidas tiene un diámetro de 502 nm la desviación estándar es mayor 213 nm en comparación a la muestra 23% mol MgO. También se observa aglomerados de partículas de diámetros pequeños hasta 100 nm a y b. Las imágenes de (c) y (d) muestran partículas con cortes más geométricos.

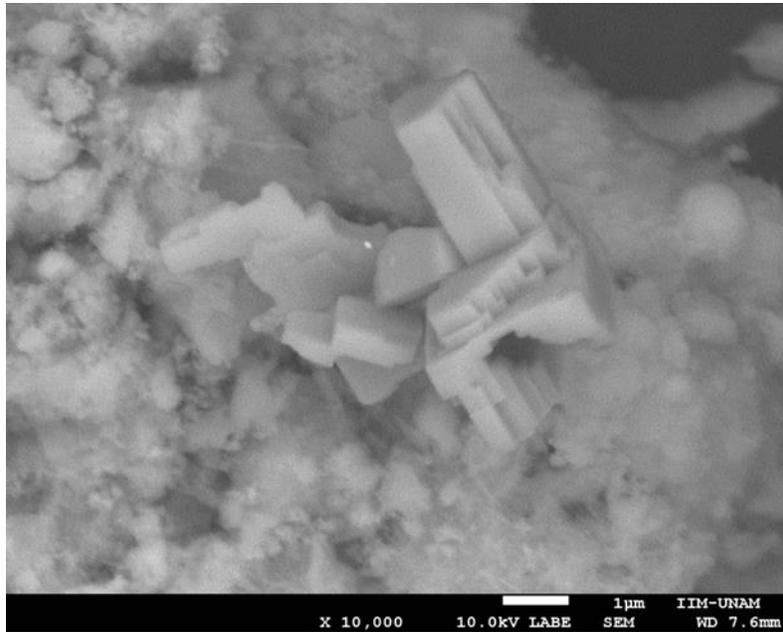


Fig.4.9. Micrografía por MEB donde se muestra la estructura de un cristal. Muestra 8% mol MgO donde se aprecia un cristal presente en la muestra, se observa como una masa continua (sin poros) y geométrica.

Debido a que no se tenía el tamaño deseado de las partículas para su inserción en las fibras de PCL se procedió hacer una prueba en el molino de bolas con las muestra 23% mol MgO con la finalidad de reducir el diámetro promedio de los aglomerados, las condiciones de la molienda fueron 40 min a 150 rpm empleando balines de óxido de zirconio de ~2 mm de diámetro; se logró reducir el tamaño de partícula de 539 nm a 360 nm a estas condiciones.

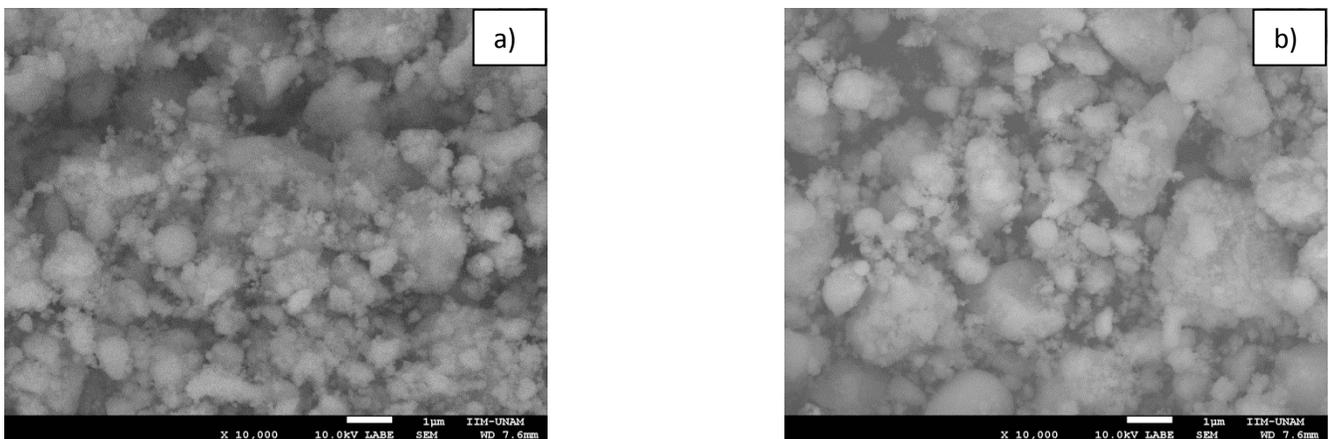


Fig. 4.10. Micrografías por MEB de la muestra 23% mol MgO después de la molienda mecánica. Se observó que después de moler la muestra en un molino de bolas se logró reducir el tamaño de partícula donde inicialmente se tenía un promedio de 539nm hasta llegar a los 360nm y con una desviación estándar de 168nm.

Las partículas de biovidrio son altamente porosas. La geometría de los poros puede ser variada como lo muestra la fig. 4.11. En ella es posible observar que los poros pueden ser abiertos o cerrados, poros penetrantes o no penetrantes según sea si pasan de lado a lado la partícula, incluso se pueden encontrar poro en “forma de botella”.

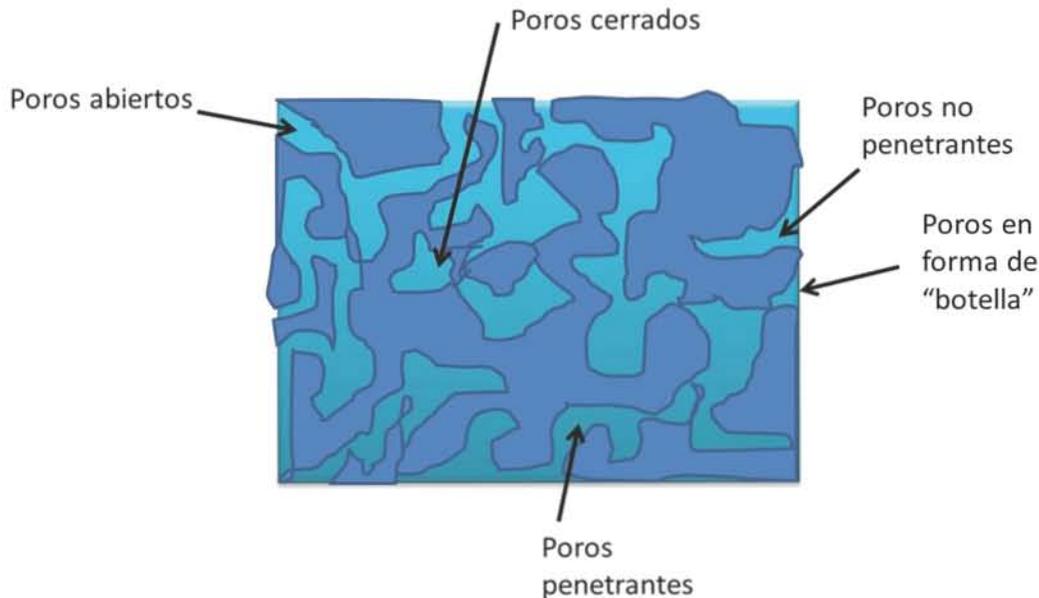


Fig. 4.11. Diagrama de la porosidad de los biovidrios. El diagrama muestra los diferentes tipos de poros que se pueden encontrar en una partícula de biovidrio.

El tamaño de poro está definido por la etapa en la cual se encuentra el proceso solgel sea formación del gel, secado, estabilización y sinterización; en este caso los biovidrios obtenidos pueden presentar un amplio intervalo en el tamaño de poro, tamaño que va desde el tamaño atómico hasta el milimétrico, el tamaño de poro obtenido implican diámetros que van hasta los 2 nm que dan lugar a los microporos, poros con diámetros que van de los 2 a los 50 nm conforman los mesoporos y los macroporos se pueden considerar si su diámetro es mayor a los 50 y hasta 1000 nm.^[40] Por tal razón, al final de la estabilización nos encontramos con una serie de aglomerados cuya porosidad se puede suponer hasta los mesoporos de acuerdo a las imágenes obtenidas por SEM, fig.4.8 a y b.

4.1.4. Análisis de la muestra piloto 55SiO₂-16CaO-23MgO-6P₂O₅ por MET después de haberse sumergido en agua y DMEM

Las imágenes se tomaron en campo claro y campo oscuro después de haber sumergido la muestra 23% mol MgO; se escogió esta muestra porque presento un 100% de amorficidad en comparación con las otras dos muestras piloto, y dado que se quería analizar la formación de la hidroxiapatita en

función del tiempo, esta muestra era la adecuada para el análisis. Dicha muestra se sumergió en agua desionizada durante (27.5, 96 y 169.5) horas y (25 y 164.5) horas en DMEM (de las siglas en inglés: Dulbecco's Modified Eagles's Medium; medio de Eagles modificado por Dulbecco; el cual contiene aminoácidos y vitaminas, así como la adición de antibióticos). A continuación se presentan los resultados:

En la muestra a 27.5 horas en agua desionizada se encontró más fácilmente partículas cristalinas presentes en la muestra a comparación de las otras dos muestras que fueron sumergidas en agua desionizada; la parte cristalina corresponde en campo claro fig. 4.12 b al área más brillante, esta zona cristalina posiblemente sea hidroxiapatita; mientras que el área más borrosa corresponde a la zona amorfa del material; en el caso de campo oscuro no se distingue bien ambas zonas fig. 4.12 a.

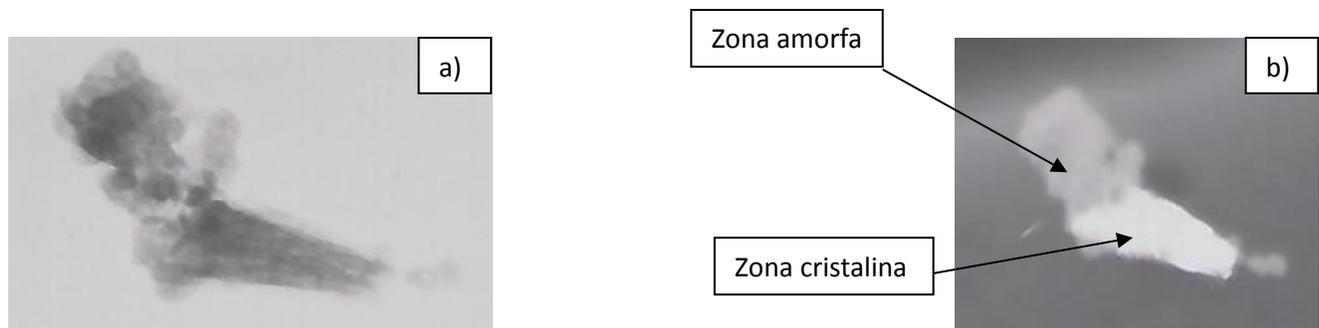


Fig. 4.12. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 27.5 horas. a) Campo oscuro. b) Campo claro.

A pesar de que la muestra de 96 horas estuvo más tiempo sumergida en agua desionizada fue más difícil encontrar partículas con cristalinidad; estas partículas casi no presentan cristalinidad como se puede observar en las siguientes imágenes fig. 4.13 a y b, pues no hay una zona muy brillante que lo indique.



Fig. 4.13. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 96 horas. a) Campo oscuro. b) Campo claro.

La muestra con 169.5 horas se observó presencia de cristalinidad alrededor de las partículas de biovidro fig. 4.14 b, se encontraron mayor cantidad de partículas con cristalinidad que en las otras dos muestras.

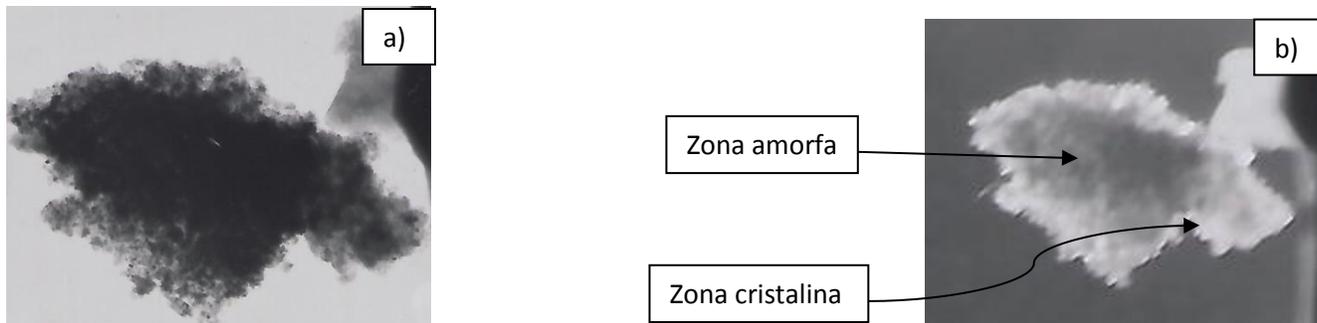


Fig. 4.14. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en agua desionizada a 169.5 horas. a) Campo oscuro. b) Campo claro.

En cuanto a las muestras sumergidas en DMEM se observó que a 25 horas prácticamente había muy poco porcentaje de zona cristalina en las muestras fig. 4.15 b.

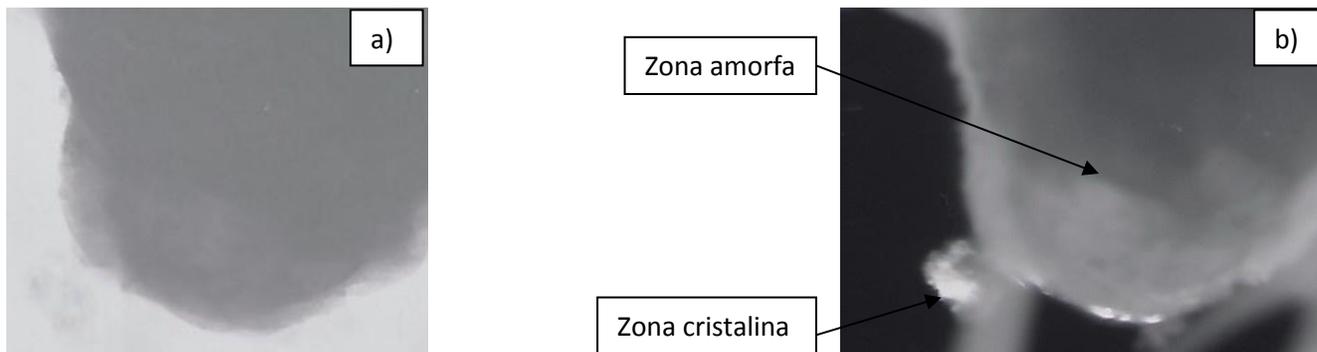


Fig. 4.15. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en DMEM a 25 horas. a) Campo oscuro. b) Campo claro.

La muestra a 164.5 horas en DMEM presento una menor cantidad de zona cristalina que la muestra anterior, donde prácticamente toda la zona es amorfa; por lo cual se concluye que se requiere de un mayor tiempo de contacto entre el material y el DMEM pues prácticamente no hay un gran diferencia respecto a la otra muestra como se esperaba; los resultados se muestran a continuación donde apenas se puede observar algunos puntos brillantes (zona cristalina) en la muestra.

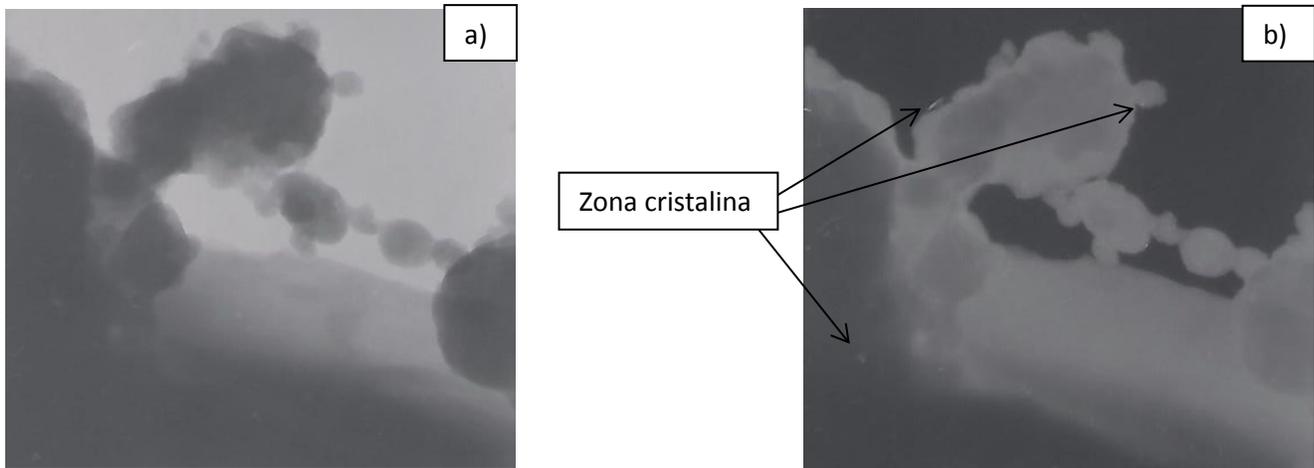


Fig. 4.16. Imágenes por MET de la muestra 23% mol MgO, sumergidas en DMEM a 164.5 horas. a) Campo oscuro. b) Campo claro.

4.2. Obtención de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ variando la concentración %mol del MgO

4.2.1. Rendimiento del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Se realizó la síntesis de cinco muestras de biovidrio donde se varió la composición en %mol de MgO.

Tabla 4.4. Composiciones de las cinco muestras de biovidrio más la muestra piloto 23% mol MgO.

SiO_2 %mol	CaO %mol	MgO %mol	P_2O_5 %mol
55	16	23	6
55	21	16	6
55	26	13	6
55	31	8	6
55	34	5	6
55	36	3	6

El rendimiento obtenido fue alto para la mayoría de las muestras, en un intervalo de 77%-94%.

Tabla 4.5. Rendimiento de las cinco muestras de biovidrio más la muestra piloto 23% mol MgO.

Rendimiento	
23% mol MgO	77.9%
16% mol MgO	93.9%
13% mol MgO	94.1%
8% mol MgO	78.9%
5% mol MgO	91.4%
3% mol MgO	84.8%

4.2.2. Molienda ultrasónica del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅

Una vez que se obtuvieron y estabilizaron los biovidrios se procedió a la reducción del tamaño de partícula. Para ello se dispuso de una molienda mecánica, los resultados obtenidos muestran que el tamaño de partícula no es el deseado 360 nm ya que este diámetro resulto grande para los objetivos de esta tesis en relación al diámetro de las fibras que se deseaba obtener de PCL, razón por la cual se probó la molienda ultrasónica cuyos resultados se comentan a continuación.

La molienda ultrasónica se realizó con un medio dispersante en donde el líquido de dispersión fue N,N-dimetilformamida DMF. Tal y como se mencionó en la parte experimental, al final de la molienda se evaporó la DMF quedando unas partículas sólidas con una apariencia física: como si las mismas hubieran adsorbido humedad y de color grisáceo. El motivo por la cual se utilizó DMF es porque la PCL es parcialmente soluble en este disolvente y dado que al inyectar al sistema de electrohilado PCL-DMF-DCM-Biovidrio se trataba del mismo disolvente por lo cual se consideró que no habría problemas. Sin embargo, las partículas de biovidrio adquirieron un tono gris durante la molienda ultrasónica e incluso este tono no desapareció después de realizar la evaporación del medio dispersante a 170 °C (por arriba del punto de ebullición del DMF el cual es de 153°C).

A continuación se muestran los análisis realizados por microscopia electrónico de barrido (MEB) se observó que el disolvente quedo atrapado entre los poros del material (ya sea una unión física o bien mediante interacciones de fuerzas electrostáticas entre el material y el biovidrio) ya que el material no se observa como un sólido en forma de partículas si no una fase continua del material (ver Fig. 4.17 a y b) y a su vez porosa.

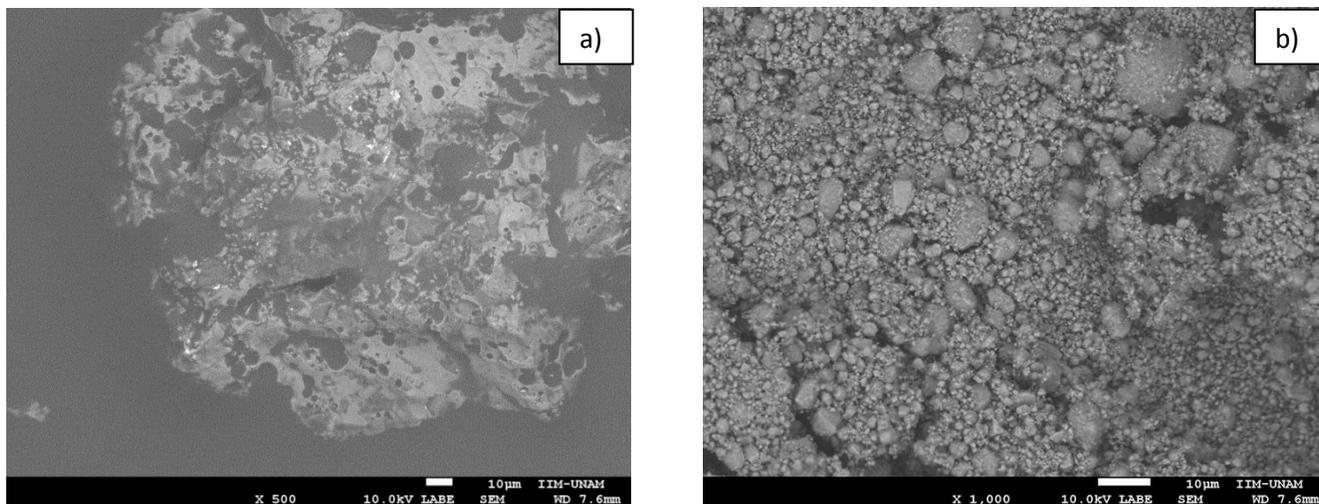


Fig. 4.17. Micrografías por MEB comparación de la molienda ultrasónica con la molienda mecánica. a) Micrografía de la muestra 13% mol MgO (muestra final) posterior a la molienda ultrasónica; se observa que el material no es un sólido en forma de partículas si no presenta una fase continua. b) Micrografía de la misma muestra posterior a la molienda mecánica.

En la micrografía anterior se aprecia que el material es altamente poroso e incluso se observan poros de alrededor de 10 μm , esto posiblemente se deba a que el biovidrio al ser sometido al haz incidente de la técnica MEB para su análisis, este haz al presentar una alta energía evapora el disolvente que se encontraba adsorbido y absorbido en el material dejando así esta porosidad.

Este resultado no es favorable para obtener tamaños de partículas menores a 400 nm; por lo cual fue necesario volver a emplear la técnica de molienda mecánica.

4.2.3. Análisis por Microscopio electrónico de barrido (MEB) biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ antes y después de la molienda mecánica

Se realizó el análisis por MEB para determinar el tamaño de partícula; el tamaño de partícula varía en cada muestra pero se observa que el intervalo es de 1000nm a 400nm; por lo cual se hizo una molienda mecánica con un molino de bolas para determinar si el tamaño se reducía.

Para determinar el diámetro de partícula se realizó el cálculo de las partículas más esféricamente homogéneas y de aquellas que no se observaban como aglomerados, ya que estos son los que presentan un mayor diámetro debido a que son justamente aglomerados de partículas más pequeñas.

La tabla 4.7 muestra los valores del diámetro de partícula obtenidos los cuales son un promedio. Las condiciones de la molienda fueron en la muestra 8% y 23% a 150 rpm durante 40 min y las muestras restantes a 300 rpm durante 60 min. A las muestras con excepción de la de 23% se les realizó un

tamizado pasando por dos tamices diferentes con diámetros de 0.14 mm y uno de diámetro de malla intermedio a 0.14 mm y 0.02 nm.

Tabla 4.7. Tamaño de partícula del biovidrio de las muestras finales.

Muestra	Diámetro de partícula antes de la molienda (nm)	Desviación estándar (nm)	Diámetro de partícula después de la molienda (nm)	Desviación estándar (nm)
23% mol MgO	539	112	360	168
16% mol MgO	971	362	174	39
13% mol MgO	426	182	281	86
8% mol MgO	381	132	49	19
5% mol MgO	1081	378	160	41
3% mol MgO	666	307	357	102

A continuación se presentan unas micrografías de la muestra 8% mol MgO antes y después de haber realizado la molienda mecánica donde podemos observar la máxima reducción del diámetro de partícula que se obtuvo de las muestras de los biovidrios, pasando de un promedio de 381 nm (antes de la molienda) a 49 nm (después de la molienda).

Aun se puede apreciar los aglomerados los cuales se han reducido de tener aglomerados con más de 3µm de diámetro (es el caso de la muestra piloto 3% mol MgO fig. 4.18 a antes de la molienda mecánica) a tener aglomerados que oscilan en su mayoría en 1µm (fig. 4.18 b).

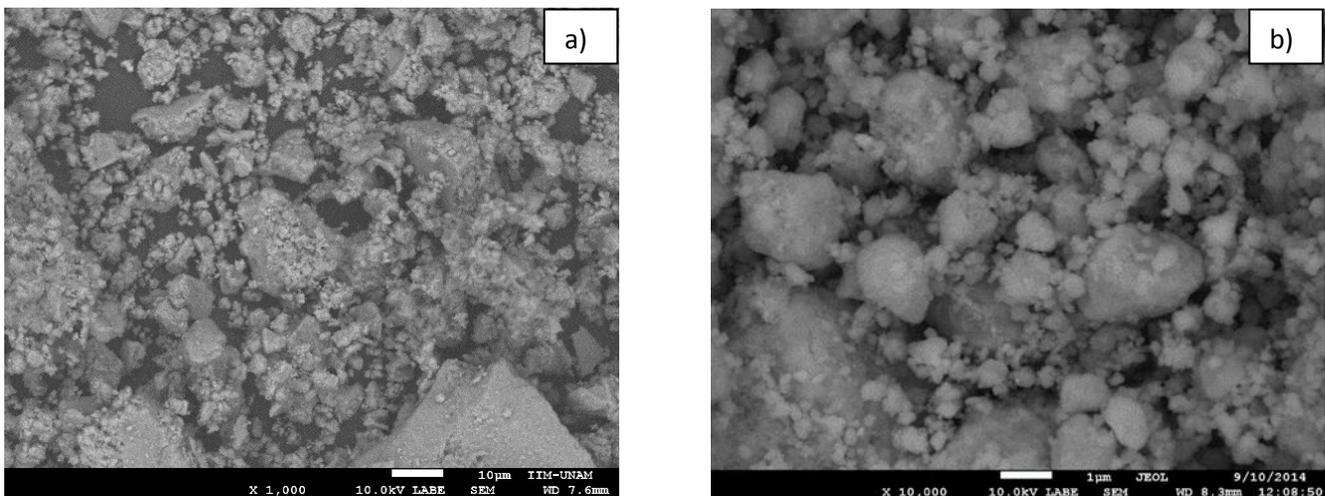


Fig. 4.18. Micrografía por MEB de la muestra piloto 3% y 8% mol MgO antes y después de la molienda mecánica respectivamente. a) Micrografía de la muestra piloto 3% mol MgO antes de la molienda mecánica

con un promedio de partícula de 381 nm y una desviación estándar de 132 nm. b) Micrografía de la muestra 8% mol MgO después de la molienda mecánica; con un promedio de partícula de 49 nm y una desviación estándar de 19 nm. A comparación con las demás muestras, ésta muestra presenta el menor valor de desviación estándar. Se observaban aglomerados de partículas de diámetros pequeños.

4.2.4. Resultados de la caracterización de diferentes muestras de $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ cuando se varía la concentración en % mol del MgO

4.2.4.1. Análisis de Infrarrojo por transformada de Fourier (IRTF) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Se observaron las bandas de las interacciones Si-O-Si correspondientes a la red de SiO_2 , las cuales se traslapan con las bandas de las tensiones asimétricas de las interacciones P-O debido a que estas se presentan prácticamente en el mismo intervalo de longitud de onda ($1000\text{cm}^{-1}\text{-}800\text{cm}^{-1}$).^[46] Las tensiones asimétricas para Si-O-Si se encuentran alrededor de 1025 cm^{-1} , mientras que los hombros presentes en la zona del 920 cm^{-1} son atribuidos a los enlaces Si-O no enlazantes, es decir, a las interacciones Si-O-Ca o Si-O-Mg.^[29] La tensión simétrica para el enlace Si-O-Si se asocia a la banda en 894 cm^{-1} y las vibraciones de flexión del enlace Si-O-Si se encuentran alrededor de 450 cm^{-1} ; mientras que los picos alrededor de 550 y 600 cm^{-1} corresponden a la tensión del enlace P-O.

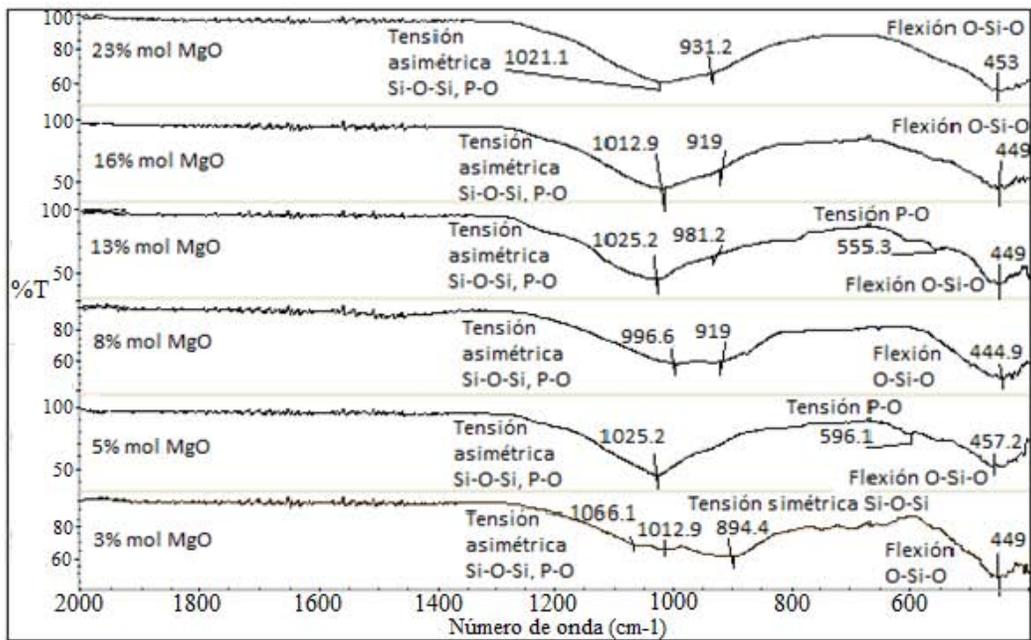


Fig. 4.19. Espectro de infrarrojo de diferentes composiciones del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ sintetizados por la técnica solgel. Donde se observan las tensiones asimétricas de los enlaces P-O y Si-O-Si entre 1000 cm^{-1} -

800 cm^{-1} , alrededor de 920 cm^{-1} Si-O no enlazantes, tensión simétrica Si-O-Si en 894 cm^{-1} , flexión del enlace Si-O-Si alrededor de 450 cm^{-1} y entre 550 cm^{-1} -600 cm^{-1} la tensión del enlace P-O.

4.2.4.2. Análisis por difracción de rayos X (DRX) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Las muestras con un 16%, 8% y 5% mol MgO fueron 100% amorfas fig. 4.21; esto posiblemente se deba a la rapidez con la que fueron sustraídas del tratamiento térmico, ya que un enfriamiento lento de las muestras puede favorecer la formación de estructuras cristalinas.

La muestra con un 13 % presento un 29% de cristalinidad y el correspondiente 71% es masa amorfa tal y como se puede observar en la figura 4.22 mientras que la muestra 3% mol MgO fig 4.24 presentó un 48.9% de cristalinidad y un 51.1% de zona amorfa.

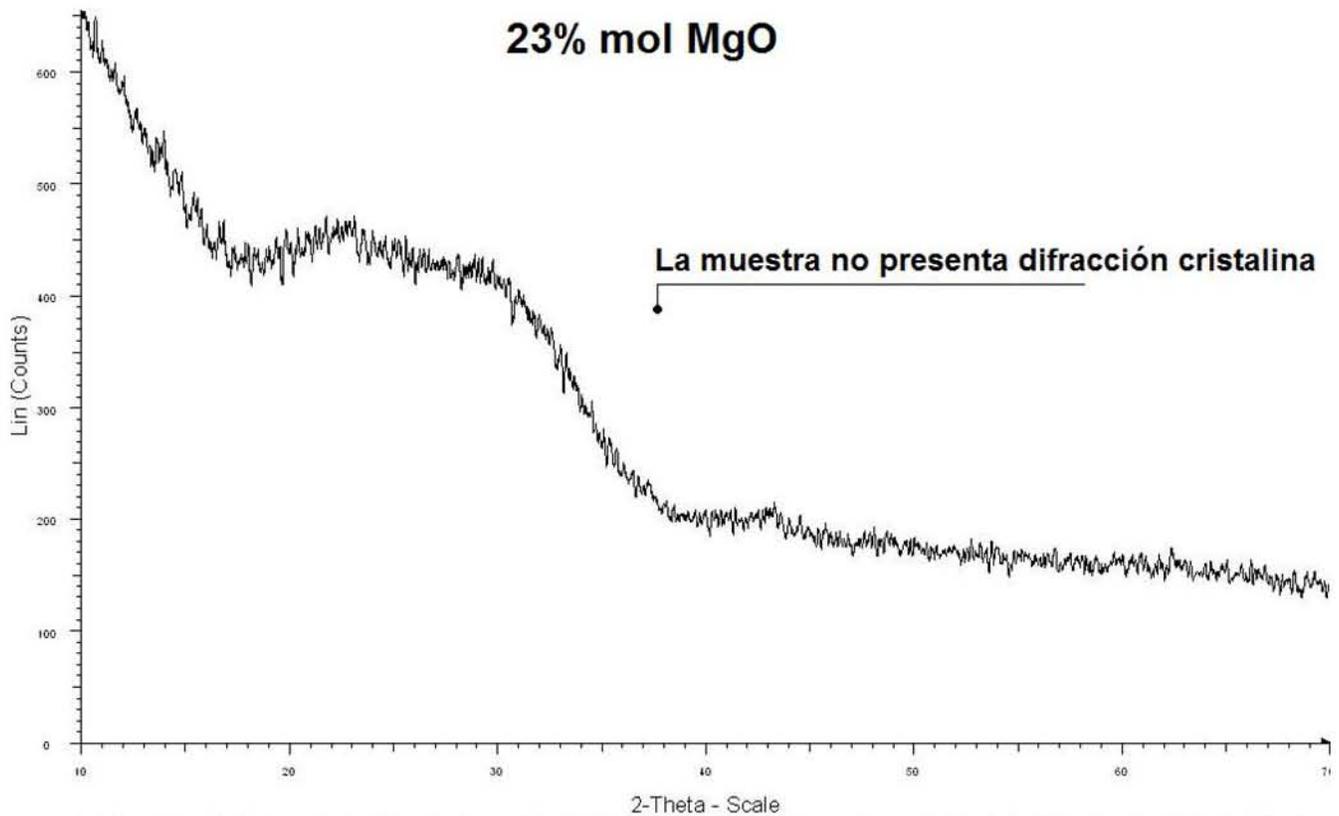


Fig. 4.20. Difractograma de la muestra piloto 23% mol MgO es 100% amorfa.

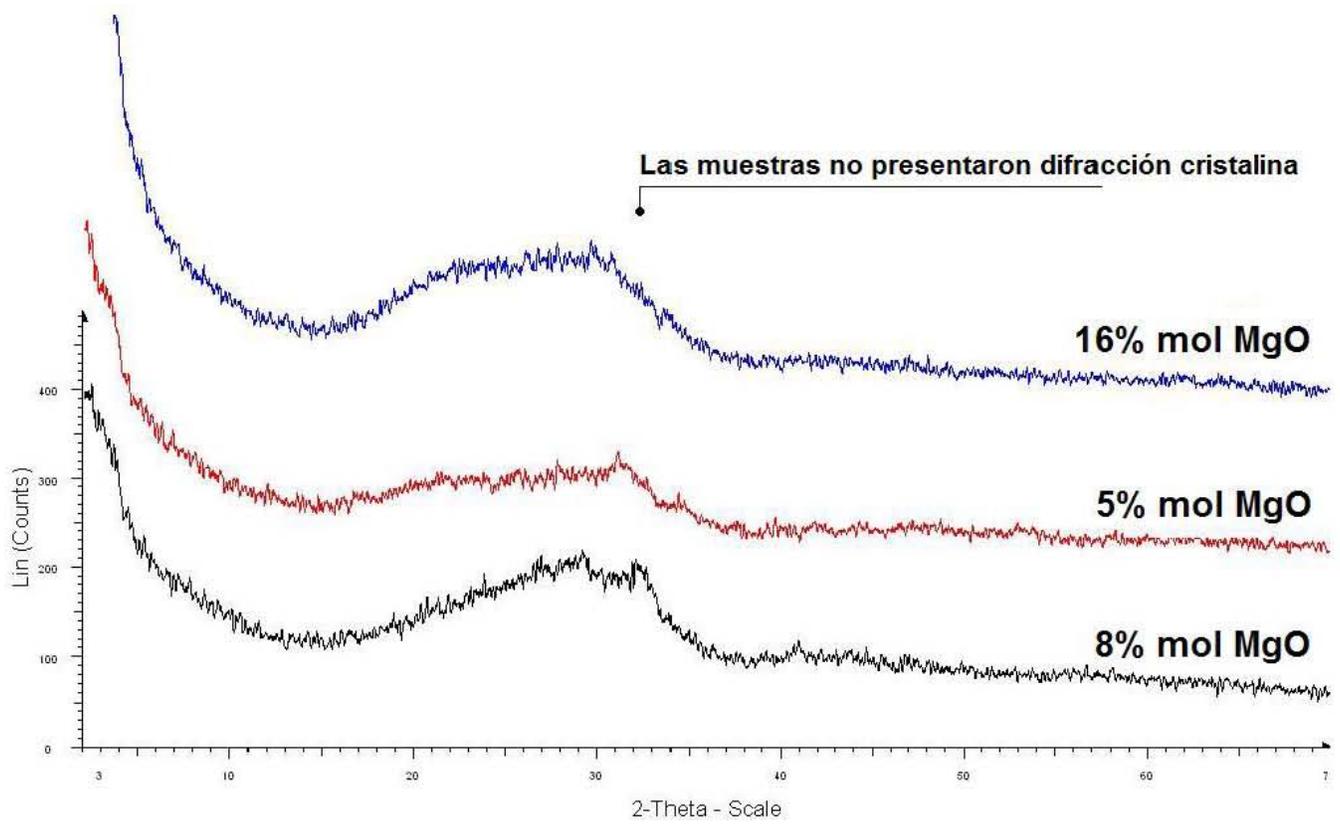


Fig. 4.21. Difractogramas de las muestras 16%, 8% y 5% mol de MgO. Las muestras con la composición 16%, 8% y 5% mol de MgO presentaron un 100% de amorficidad.

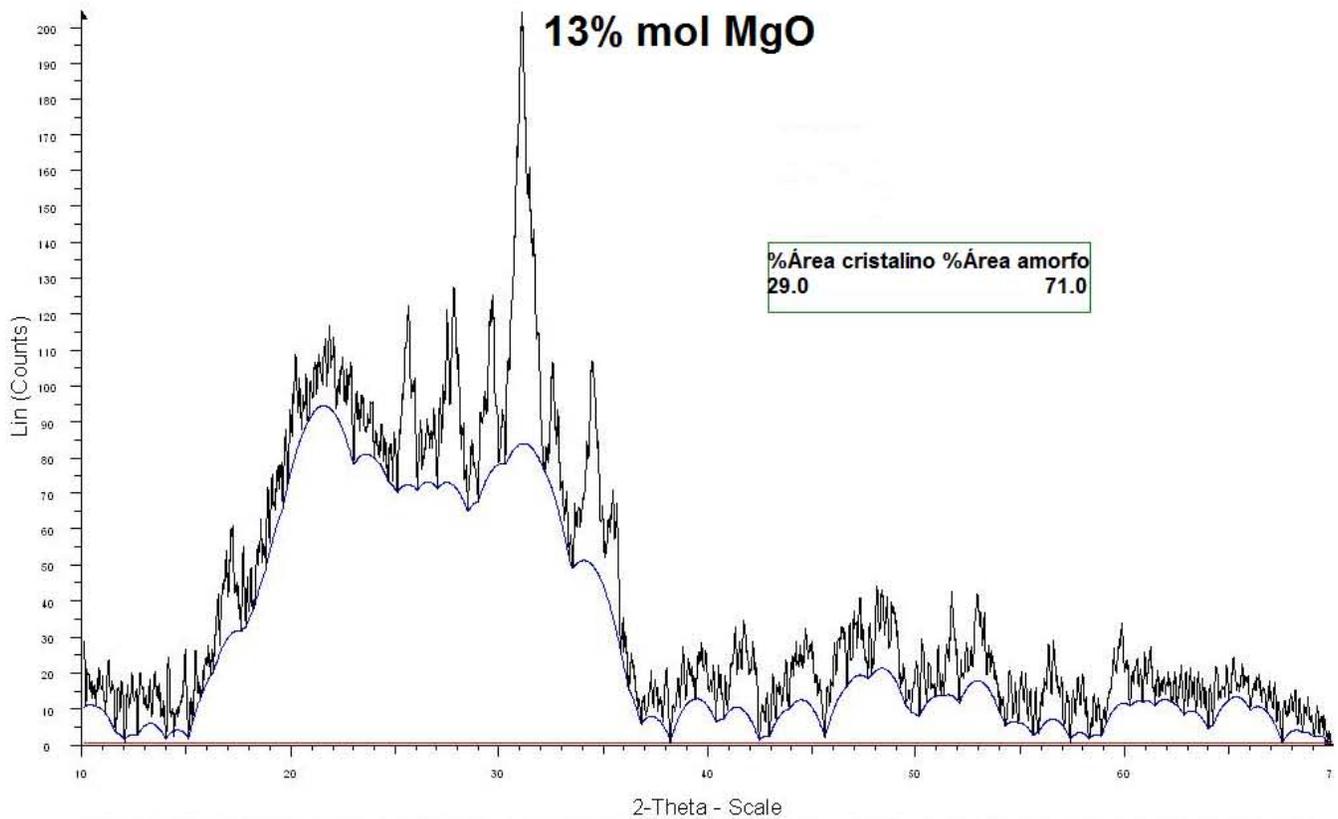


Fig. 4.22. Difractograma de la muestra 13% mol MgO.

Algunos autores han atribuido la formación de zonas cristalinas al tiempo de reposo de la muestra^[53]; pero en nuestro caso parece contradictorio ya que a pesar de que el tiempo de reposo se varió durante la búsqueda del mejor procedimiento experimental para la obtención de las cinco muestras finales de biovidrio (procedimientos realizados en las muestras piloto, ver sección 4.1.1 y tabla 4.1) en estas cinco muestras finales se mantuvo constante ese tiempo de reposo, el cual fue de cinco días. Por lo cual se concluye que la presencia de zonas cristalinas debe estar ligada a alguna variable que impacta el proceso y que no es precisamente el tiempo de reposo que se da a la muestra. Dado que las zonas cristalinas están ligadas fuertemente a los cambios de temperatura y rapidez de calentamiento y enfriamiento es necesario que en estudios posteriores se revise la rapidez de enfriamiento de la muestra después de haber logrado la estabilización a 700 °C; así como análisis de difracción de rayos X en experimentos donde se realice la variación del tiempo de reposo (considerando un secado posterior al material) para descartar o bien confirmar la presencia de zonas cristalinas (o formación de zonas cristalinas) atribuidas al tiempo largo de reposo.

Posteriormente se analiza la zona cristalina de ésta muestra a través del difractograma mostrado en la fig. 4.23.

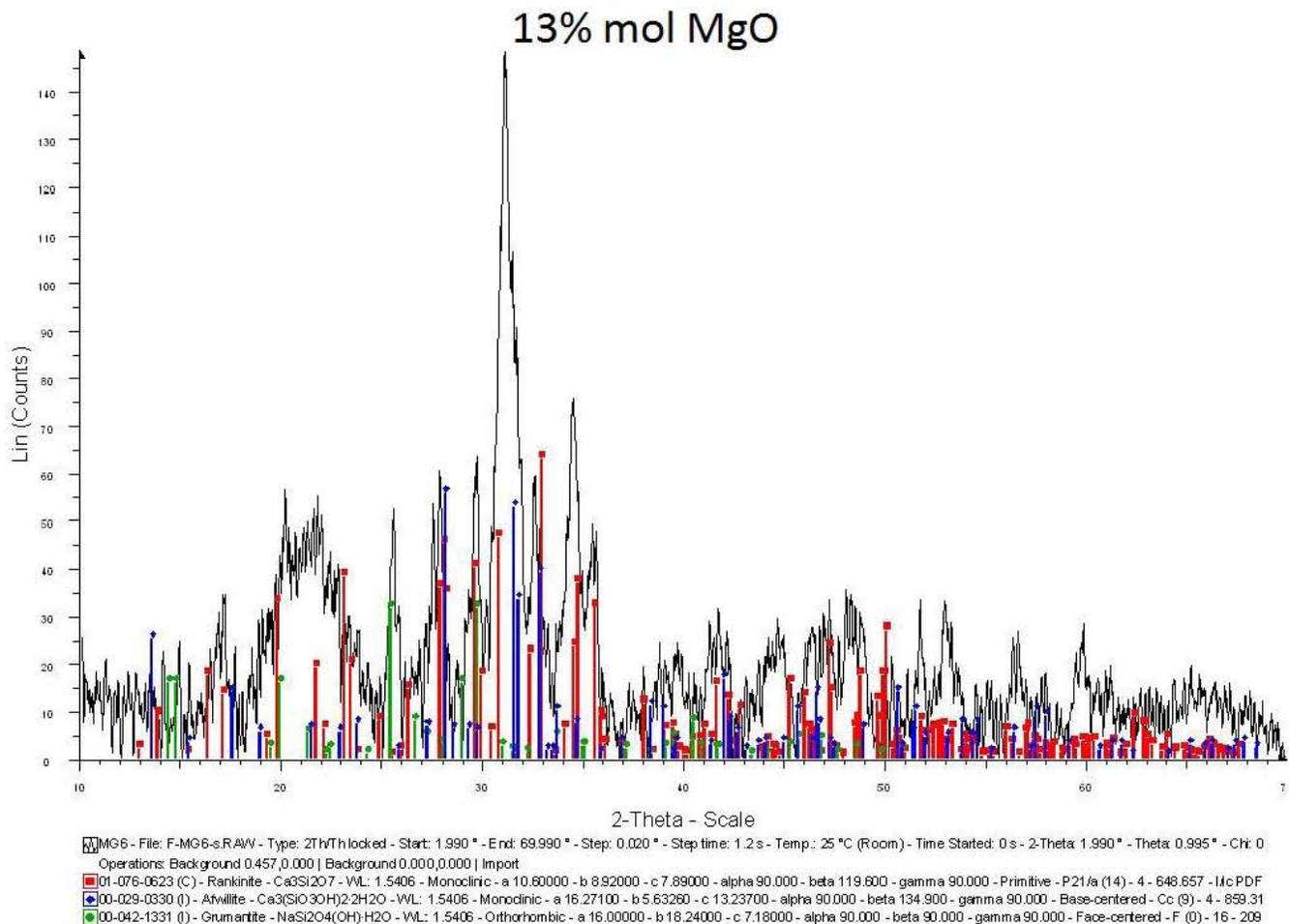


Fig. 4.23. Las tres estructuras cristalinas presentes en el biovidrio 13% mol MgO. **Rojo:** rankinita Ca₃Si₂O₇ **azul:** afwillita Ca₃(SiO₃OH)₂·2H₂O, y **verde:** grumantita NaSi₂O₄(OH)·H₂O.

Los resultados mostraron la presencia de diversas fases cristalinas. La rankinita es un dímero de silicatos de calcio cuya fórmula condensada es Ca₃Si₂O₇, cuyo peso molecular es de 288.40 g/mol formado a partir de 41.3 % mol de SiO₂ y 58.4 % mol de CaO, contiene grupos sorosilicatos Si₂O₇, y generalmente no adiciona aniones. También se encuentran cristales de afwillita que es un silicato hidroxilado e hidratado de calcio. La estructura molecular corresponde a un neosilicato con tetraedros aislados de sílice y cationes en coordinación seis o mayor. Suele tener entre sus impurezas al magnesio, su fórmula química corresponde a Ca₃(SiO₃OH)₂·2H₂O. Este mineral puede generar tres enlaces puentes de hidrógeno con el agua.^[47,48]

También se encuentra la grumantita cuya fórmula condensada corresponde a $\text{NaSi}_2\text{O}_4(\text{OH})\cdot\text{H}_2\text{O}$. Es un mineral que está compuesto por un 67.44 % mol de SiO_2 , un 17.39 % mol de Na_2O y un 15.17 % mol de H_2O . Es un silicato capaz de formar enlaces puentes de hidrógeno en el interior de su estructura.

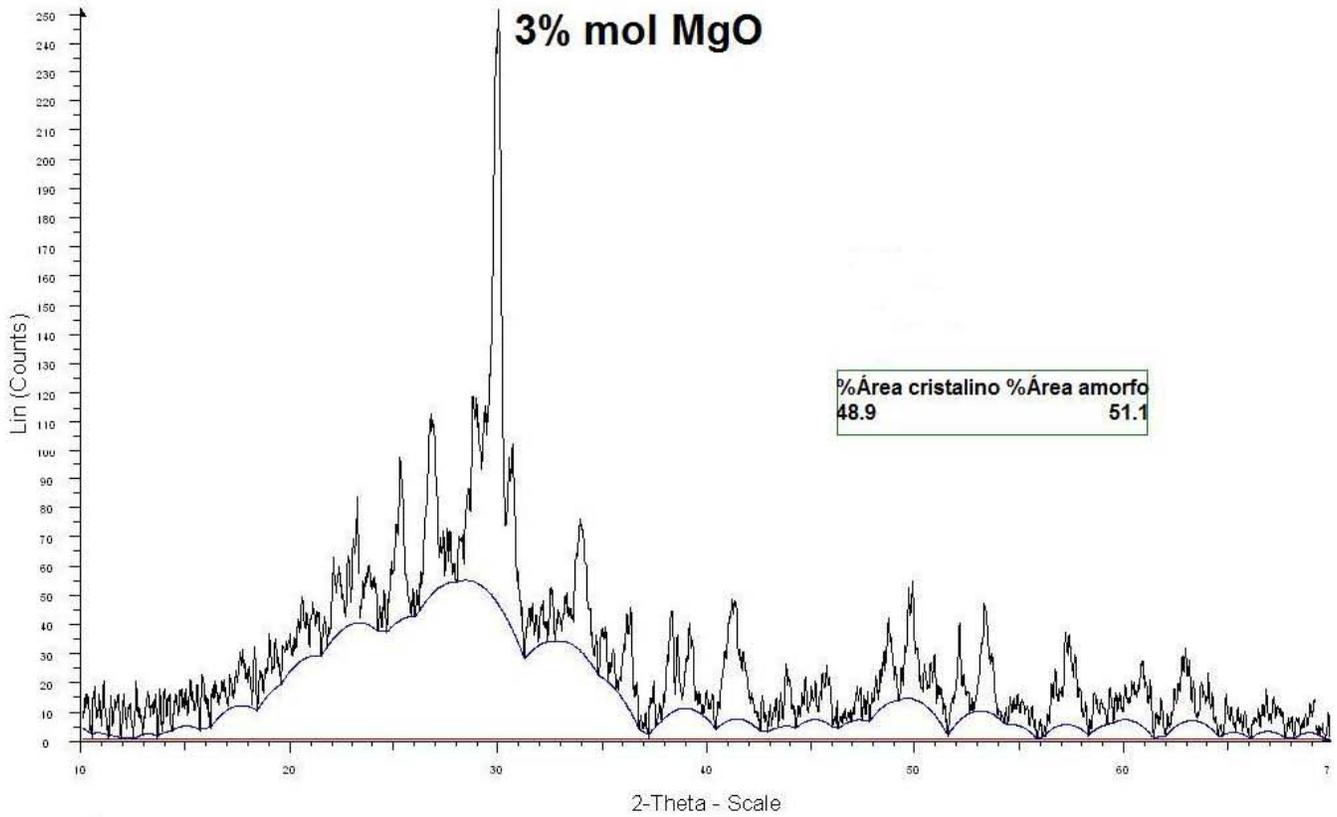


Fig 4.24. Difractograma de la muestra 3% mol MgO.

El difractograma correspondiente a la fig. 4.25 se comparó en la sección 4.1.2 tabla 4.3.

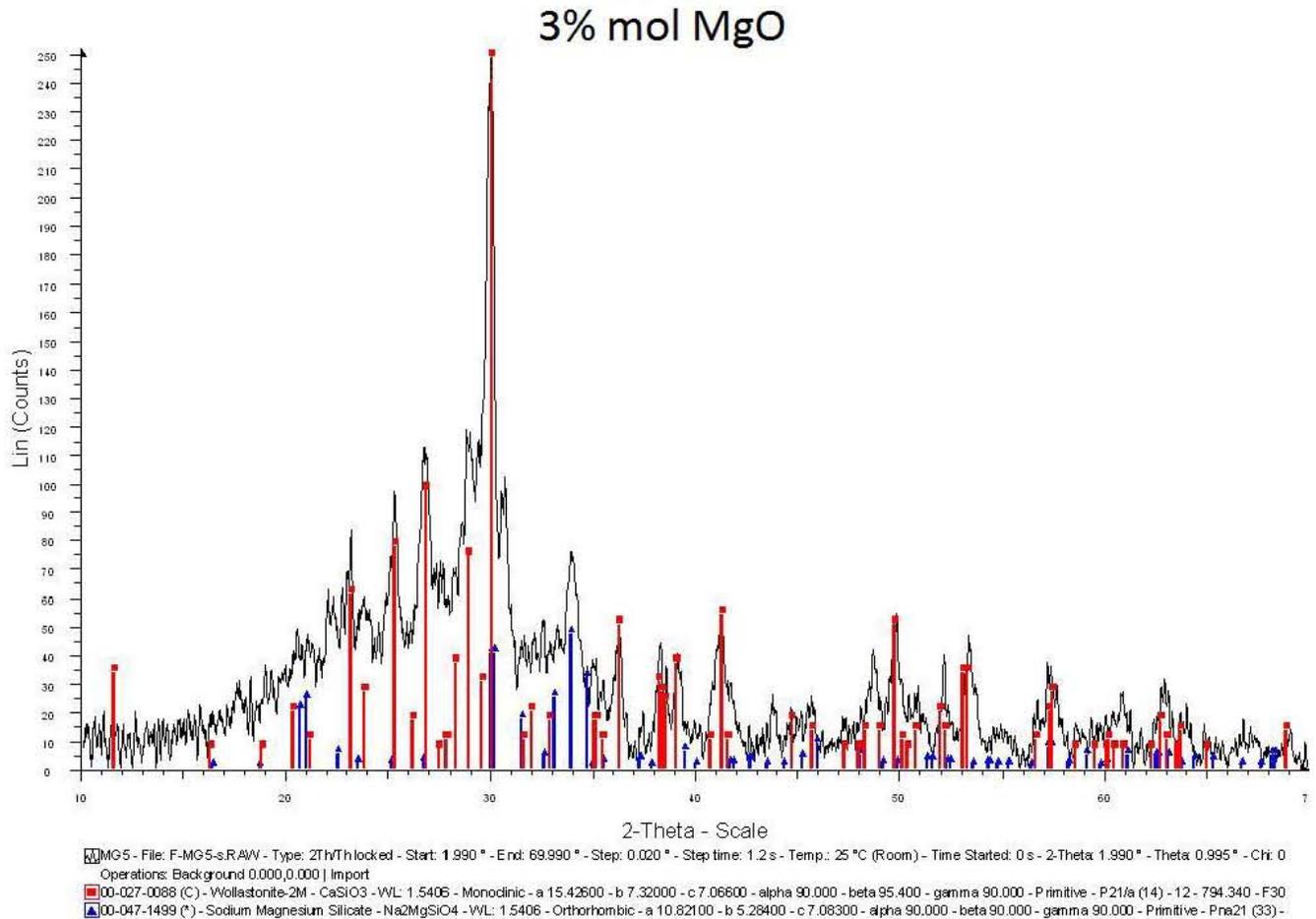


Fig. 4.25. Las dos estructuras cristalinas presentes en el biovidrio 3% mol MgO. **Rojo:** wallastonita CaSiO₃ y **azul:** silicato de sodio magnesio Na₂MgSiO₄.

Por otra parte en la fig. 4.26 muestra el porcentaje de cristalinidad en las muestras que contienen una concentración de % mol de MgO de 3 y 13 respectivamente. Tal cómo puede observarse, ambas muestras se han obtenido con el método normalizado, sin embargo la muestra con un 3% mol de MgO presenta una cristalinidad del 48.9 %, mientras que la muestra que contiene un 13 % mol de MgO presenta un 29 % de cristalinidad, hay una diferencia de aproximadamente 20 %. Es probable que esta diferencia pueda deberse a la presencia de MgO ya que es un compuesto que actúa como modificador de red y si aumenta su concentración la cristalinidad de algunas fases disminuye.

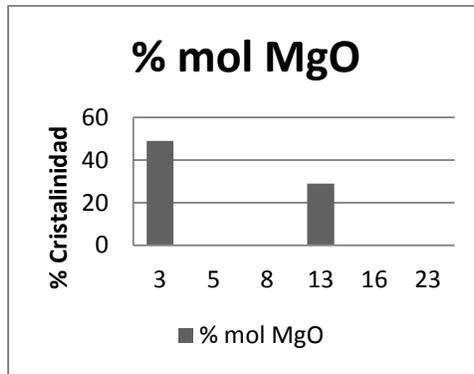


Fig. 4.26. Cristalinidad respecto al porcentaje en mol de MgO. Donde se tiene que las únicas muestras que presentaron cristalinidad son 3% mol MgO con un 48.9% y 13% mol MgO con un 29%.

4.2.4.3. Estudios de propiedades térmicas del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

4.2.4.3.1. Calorimetría diferencial de barrido (CDB) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

Las líneas que se observan en el termograma de CDB, fig. 4.27, corresponden a las diferentes composiciones del biovidrio indicadas en la tabla 4.4, se ha seccionado la figura con diversas columnas para facilitar su interpretación indicando las diferentes etapas por las que pasó cada uno de los biovidrios que incluyen desde el mezclado de los reactivos hasta el inicio de la etapa de estabilización de dichos biovidrios; es necesario notar que los termogramas obtenidos por CDB fig.4.27 se realizaron posteriores a la etapa de estabilización (700 ° C durante tres días).

Si consideramos que en las etapas A y B que es a temperatura ambiente a la cual se llevó a cabo la reacción y posterior reposo después de terminada la misma, desde el punto de vista de la variación de la temperatura puede decirse que no hay cambios, sin embargo en la etapa C (que es cuando el solgel se lleva a ~70 °C por tres días) las muestras presentan una absorción de energía, la cual es atribuida al desprendimiento de moléculas de agua adsorbidas en los aglomerados.

Durante la etapa D (etapa de secado del material, la cual es ~150 °C durante dos días) es una etapa en la que aún podemos tener desprendimiento de agua, la cual proviene de los poros del material, agua intersticial.

En el intervalo que corresponde 160 °C-210 °C aparecen las primeras señales endotérmicas más significativas, las cuales son atribuidas a reacciones de condensación de los grupos silanol (-Si-OH) superficiales de las partículas fig. 4. 28 a, donde el producto de la reacción es agua; esto se confirma con la forma en que se presentan los picos ya que se observan las señales con más de 10 °C de ancho en vez de picos agudos y bien definidos. En un segundo intervalo de temperatura 370 °C-410

°C se observan las segundas señales endotérmicas significativas las cuales son atribuidas a reacciones de condensación de los grupos silanol fig. 4.28 b, la diferencia entre las primeras y segundas señales depende de la estructura de los enlaces siloxano en el material fig. 4.28. Algunos autores^[8,41] asocian estas señales a desprendimientos de $(NO_3)^-$, ya que estos se descomponen alrededor de 350 °C-400 °C, pero debido a que en el espectro de infrarrojo no se observan las señales correspondientes al grupo nitro (en 1400 cm^{-1}), se considera que los residuos de nitrato se descompusieron en su totalidad durante el proceso de estabilización del material.

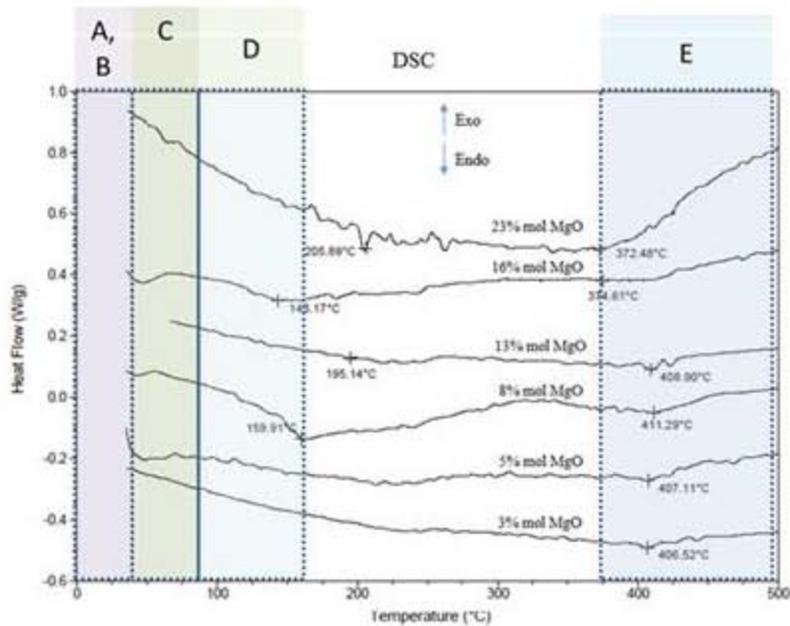


Fig. 4.27. Termograma por calorimetría diferencial de barrido. Los picos corresponden a reacciones de condensación de los grupos silanol superficiales de las partículas, donde se observan básicamente en dos intervalos de temperatura uno entre 160 °C-210 °C y el otro en 370 °C-410 °C, esto se debe a un diferentes arreglos de enlaces siloxano en el biovidrio.

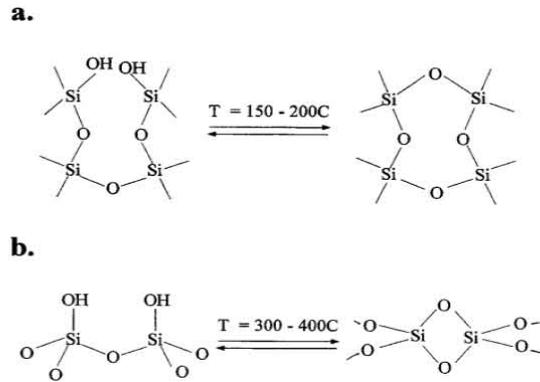


Fig. 4.28. Reacciones de condensación de los grupos silanol. a) y b) reacciones de condensación de los grupos silanol presentes en la estructura del biovidrio de los diferentes arreglos de los enlaces siloxano. ^[12]

4.2.4.3.2. Análisis termomecánico (ATM) del biovidrio SiO₂-CaO-MgO-P₂O₅

A través de esta técnica es posible determinar algunas propiedades de interés para los biovidrios aquí estudiados, tales propiedades son temperaturas de cambios de fase, anisotropía, propiedades elásticas de las muestras, resultados de los ensayos de compresión-dilatación, coeficientes de expansión térmica y determinación de temperaturas de transición vítrea (T_g). En la siguiente figura se muestra el termograma correspondiente a cada una de las muestras estudiadas en este trabajo (ATM).

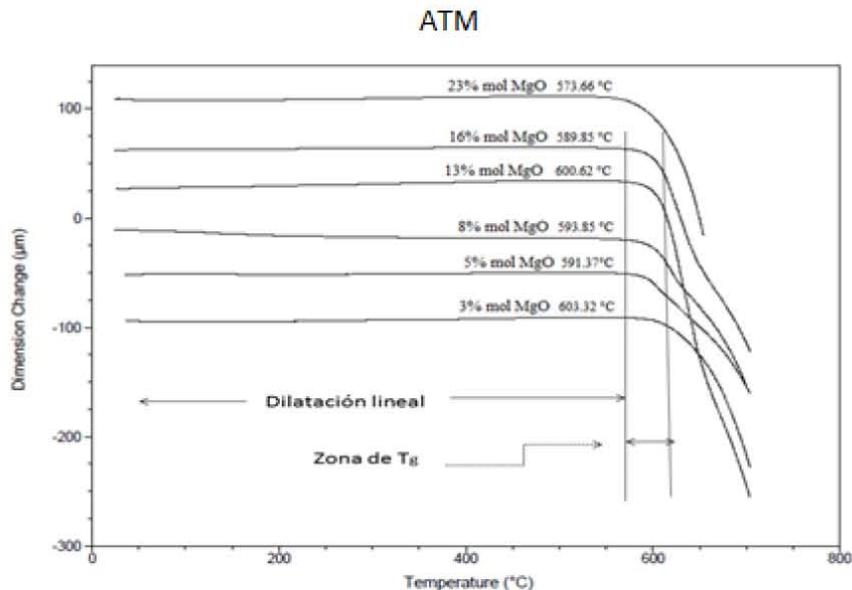


Fig. 4.29. Termograma por ATM. A partir del análisis del ATM se determinó la T_g (temperatura de transición vítrea).

O'Donnell y colaboradores han propuesto que es posible correlacionar la temperatura de transición vítrea (T_g) de los vidrios bioactivos con su composición molecular, basado en un método iterativo del Método de los Cuadrados Mínimos (MCM). G. Hill y D. Brauer muestran que la T_g es un parámetro importante que está en función de la separación de fases, los efectos estructurales locales y la concentración de los diferentes componentes (óxidos intermedios), los cuales pueden cambiar la estructura en la red molecular del biovidrio y que probablemente este impactando el valor de la T_g del biovidrio. En este caso el CaO y el MgO como modificadores de red van a modificar la estructura creada por el SiO₂ y P₂O₅ tal y cómo se ha explicado anteriormente.

La T_g es un parámetro muy importante característico de los biovidrios que se puede medir directamente, en este caso por ATM, y a través de su valor se evalúa en forma indirecta la conectividad de red en cada una de las composiciones de los biovidrios aquí estudiados. La conectividad de red está relacionada directamente con la capacidad que muestran los biovidrios para disolverse.

A partir de la ecuación que propone O'Donnell para biovidrios con diferentes óxidos como parte de su composición se determinó teóricamente la T_g de los biovidrios que aquí se trabajan.

$$T_g(^{\circ}C) = A + B[SiO_2] + C[Na_2O] + D[CaO] + [SrO] + G[MgO] + H[K_2O] + I[B_2O_3] + J[CaF_2]^{[3]} \dots\dots\dots(4.1)$$

Es necesario aclarar que los sumandos F[SrO], G[Na₂O], H[K₂O], I[B₂O₃] y J[CaF₂] valen cero por no encontrarse en la muestra. Por lo tanto, la expresión aquí usada es la siguiente:

$$T_g(^{\circ}C) = A + B[SiO_2] + C[CaO] + E[P_2O_5] + F[MgO] \dots\dots\dots (4.2)$$

La tabla 4.8 muestra los valores de la T_g calculada con la expresión 4.2 a la que se le ha denominado T_g teórica y se compara con la T_g experimental, valor obtenido por ATM.

Es probable que en cada una de las concentraciones exista una separación de fases en función de su composición química, y dado que la concentración de P₂O₅ es menor a la de SiO₂, ambos considerados como formadores de red aunque las fases formadas por ortofosfatos de calcio se encuentre como fases de menor cantidad dispersa en la fase formada por el SiO₂. La separación de fases tiene gran importancia cuando se emplea la ecuación propuesta por O'Donnell para hacer una predicción teórica del valor que va a tener la T_g en cada composición química del biovidrio ya que este modelo no aplica para dos valores separados de T_g . Hay estudios que muestran que cuando ocurre lo anteriormente dicho^[3], el biovidrio presenta dos valores de T_g , sobre todo en vidrios que

tienen una gran separación entre la T_g y la temperatura de cristalización (T_c). Por lo tanto, se puede considerar que los biovidrios en realidad son materiales compuestos de dos fases, fase fosfato y fase silicato y que la T_g corresponde a la T_g de una de las fases donde posiblemente el otro valor de T_g se traslape con el valor de la temperatura de cristalización T_c . Sin embargo, en el presente trabajo solo se observa un valor de la T_g , que bien podría corresponder a la fase silicato, más que a al material total (las dos fases fosfato y silicato ya que la fase fosfato se encuentra en menor proporción).

Tabla 4.8. Comparación de la T_g teórica con la T_g experimental.

Muestra	T_g Teórica (°C)	T_g Experimental (°C)	Diferencia (°C)
23% mol MgO	690.28	573.66	116.62
16% mol MgO	711.35	589.85	121.5
13% mol MgO	720.38	600.62	119.76
8% mol MgO	735.43	593.85	141.58
5% mol MgO	744.46	-	-
3% mol MgO	750.48	603.32	147.16

Se observa que el valor experimental difiere mucho del valor teórico en aproximadamente 130 °C; sin embargo, presenta una tendencia donde a mayor contenido de MgO la T_g disminuye, estos resultados coinciden con los encontrados por otros autores^[43, 44], este hecho es también evidente cuando se observan los resultados propuestos por el modelo de O'Donnell, tabla 4.8; esto debido a que la adición de Mg al material genera un debilitamiento de la estructura, pues es un modificador de la red, por lo cual tiene un impacto significativo en las fuerzas de enlace de la red Si-O-Si generando como resultado nuevos enlaces Si-O-Mg dentro de la estructura, los cuales son más débiles, por lo tanto la T_g disminuye^[15, 42, 43] aunque otros autores^[44] atribuyen esta disminución de la T_g a la disminución inducida de la viscosidad por el MgO.

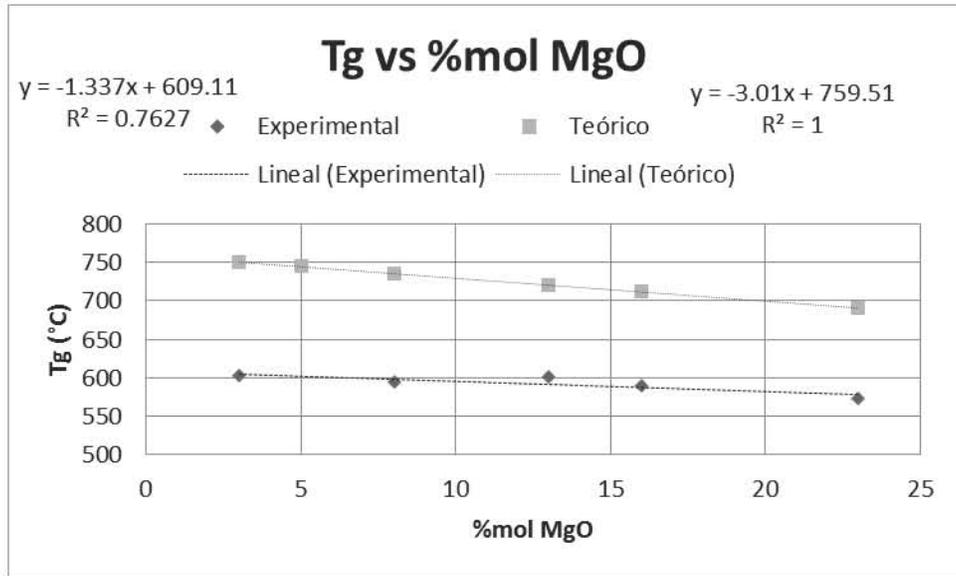


Fig. 4.30. T_g contra %mol MgO, comparación de los valores experimentales obtenidos y los calculados.

A continuación se comenta el coeficiente de dilatación lineal (α) de los biovidrios. Cabe destacar que el α no solamente depende de la naturaleza de los óxidos que conforman a cada uno de los biovidrios, también depende del porcentaje de cristalinidad que tiene cada una de las muestras, del tipo de cristales contenidos en las muestras, y desde luego del porcentaje de material amorfo y de su respectiva porosidad. Los resultados que a continuación se muestran contienen todos los factores aquí mencionados. M. Magallanes-Perdomo y colaboradores^[15] al analizar las propiedades térmicas de biovidrios que contienen cierta concentración de MgO y obtenidos por el método de fundición emplearon una fórmula lineal para calcular los valores teóricos presentando una ecuación en función de la concentración molar del MgO presente en las muestras. La ecuación propone resultados aceptables para intervalos de temperatura entre 50 °C y 600 °C. En nuestro caso, al aplicar esta ecuación se advierte que los biovidrios se sometieron a calentamientos por arriba de los 600 °C donde α se presenta por debajo de esta temperatura.

$$\alpha_{50-600^{\circ}\text{C}}(^{\circ}\text{C}^{-1}) = 13.31(\pm 0.2) - 0.12(\pm 0.2)X \dots \dots \dots (4.3)$$

Los resultados se muestran en la tabla 4.9, tal y como puede observarse, el comportamiento teórico es diferente al experimental. Para el caso teórico hay un ligero incremento de α al disminuir la concentración de MgO; mientras que el comportamiento experimental pareciera tener una tendencia contraria donde a mayor concentración de MgO mayor valor del coeficiente.

Tabla 4.9. Valores del coeficiente de dilatación lineal (α) en función de la composición del biovidrio.

Muestra	Coefficiente de dilatación α ($\mu\text{m}/\text{m}^\circ\text{C}$) experimental	Coefficiente de dilatación α ($\mu\text{m}/\text{m}^\circ\text{C}$) teórico
23% mol MgO	14.7	10.55×10^{-6}
16% mol MgO	6.7	11.39×10^{-6}
13% mol MgO	12.3	11.75×10^{-6}
8% mol MgO	-	12.35×10^{-6}
5% mol MgO	2.9	12.71×10^{-6}
3% mol MgO	6.1	12.95×10^{-6}

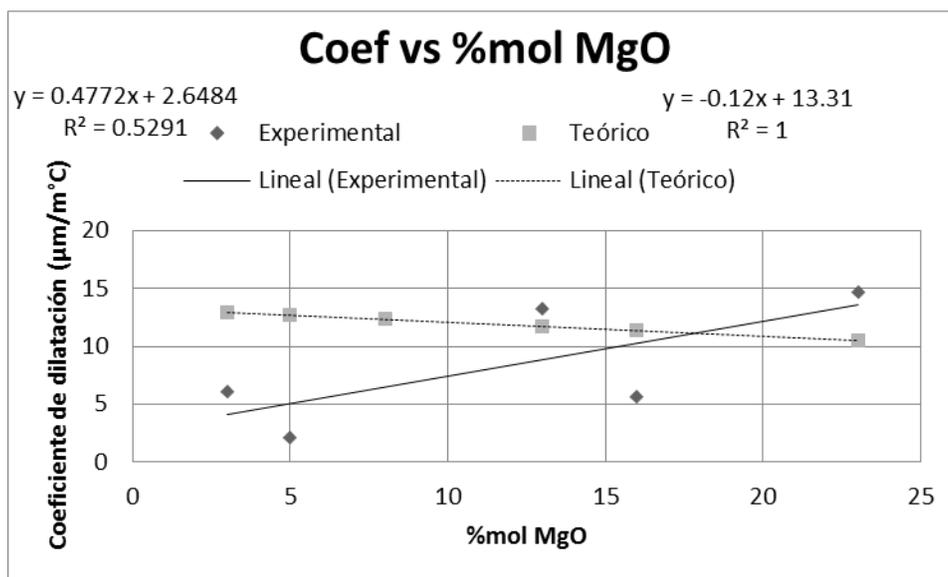


Fig. 4.31. Coeficiente de dilatación lineal contra %mol MgO, comparación de los valores experimentales obtenidos y los calculados.

A partir del análisis ATM se obtuvo los valores de coeficiente de dilatación lineal (tabla 4.9 y fig. 4.31), donde se observa que este valor incrementa a mayor concentración %mol de MgO; a mayor valor del coeficiente, el material presenta una mayor dilatación; por lo cual un aumento de la concentración del MgO modifica las propiedades mecánicas del material, haciendo que incremente la dilatación del mismo.

4.2.4.3.3. Análisis por termogravimetría (ATG) del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$

En termograma (Fig. 4.32) indica que desde el inicio en la mayoría de las muestras hay pérdida de humedad, donde ninguna tuvo pérdidas importantes más allá de los 200 °C; por debajo de los 100 °C se tiene pérdida de agua adsorbida (en la superficie del material), entre 150 °C-200 °C corresponde al agua absorbida (en los poros del material), así como la eliminación de agua por reacciones de

condensación de los grupos silanol superficiales (Fig. 4.28 a) y en 400 °C hay pérdida de agua por reacciones de condensación (Fig. 4. 28 b).

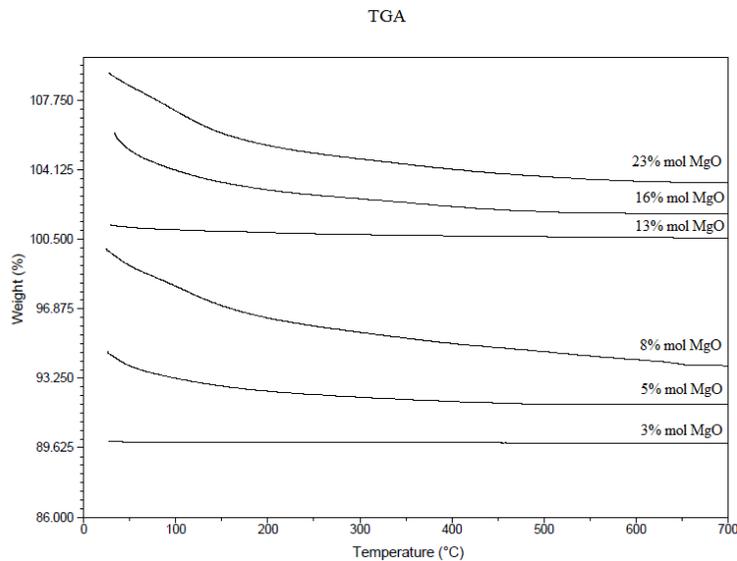


Fig. 4.32. Análisis termogavimétrico.

A continuación se muestra el porcentaje de masa perdida por cada muestra de biovidrio.

Tabla 4.10. Porcentaje de masa perdida en los biovidrios $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ después de análisis termogavimétrico.

Biovidrio	Porcentaje en masa perdido
23% mol MgO	5.4%
16% mol MgO	4.27%
13% mol MgO	0.67%
8% mol MgO	6.11%
5% mol MgO	2.87%
3% mol MgO	0%

4.3. Análisis de superficie del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ con respecto a la dentina en un molar por MEB

A continuación se muestran imágenes en microfotografía de las muestras con un 13 % mol de MgO antes de ser colocadas en forma de pasta para la obturación del tercer molar. Como puede observarse, hay presencia de nanopartículas de biovidrio, las cuales ya fueron analizadas anteriormente fig. 4.33 (ver sección 4.2.3).

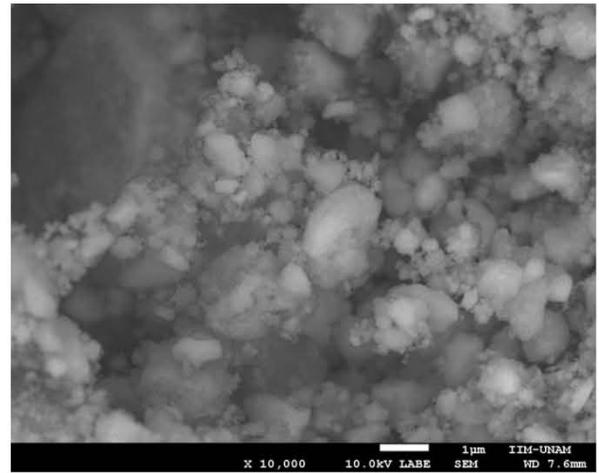
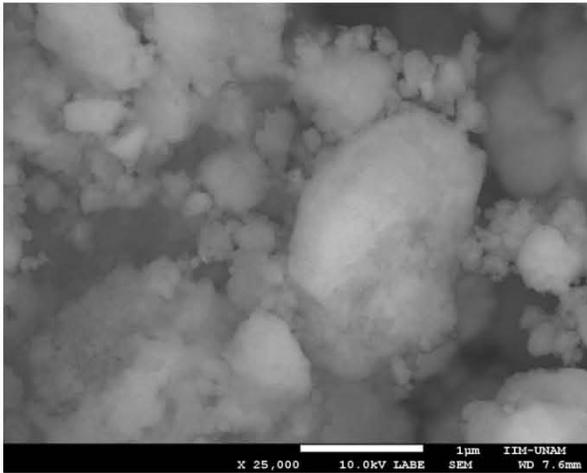


Fig. 4.33. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO después de la molienda mecánica y antes de someter el material en un medio biológico. a) Muestra una serie de aglomerados con diámetros de hasta 1 μm , b) una ampliación de la misma.

Por otro lado, la fig. 4.34, muestra la mezcla compacta de biovidrio y agua una vez que fue colocada en la cavidad dental y después de 14 días en presencia de agua en contacto con la dentina y posiblemente algunos componentes biológicos propios de la estructura molar como lo es el colágeno.

En la fig. 4.34 a se observa en que el biovidrio compacto dentro de la cavidad dental después de 14 días muestra una fisura en la dentina de la estructura dental y no en la interfase dentina biovidrio, lo que es evidencia de que en la mezcla de biovidrio hay una fuerte presencia de enlaces químicos entre las partículas, tal que, no hay falla mecánica por esfuerzos cortantes en la masa del biovidrio (durante la toma de muestra para su análisis), ni siquiera en la interfase con la dentina, esta última afirmación confirma la presencia de enlaces químicos entre los componentes del biovidrio y la dentina. La fig. 4.34 b muestra un acercamiento del biovidrio en la frontera con el esmalte, tal como puede observarse, hay una serie de círculos negros en los aglomerados del biovidrio; estos círculos negros posiblemente sean poros en el material (los más oscuros y con cierta profundidad), mientras que en la fig. 4.34 c se observan estos mismos círculos negros y con profundidad pero también otros "orificios" parecieran formar parte de otra fase, tal como se confirma en la fig. 4.34 d; esta fase se formó durante el tiempo en que la mezcla de biovidrio permaneció en el interior de la cavidad dental en presencia de fluidos acuosos.

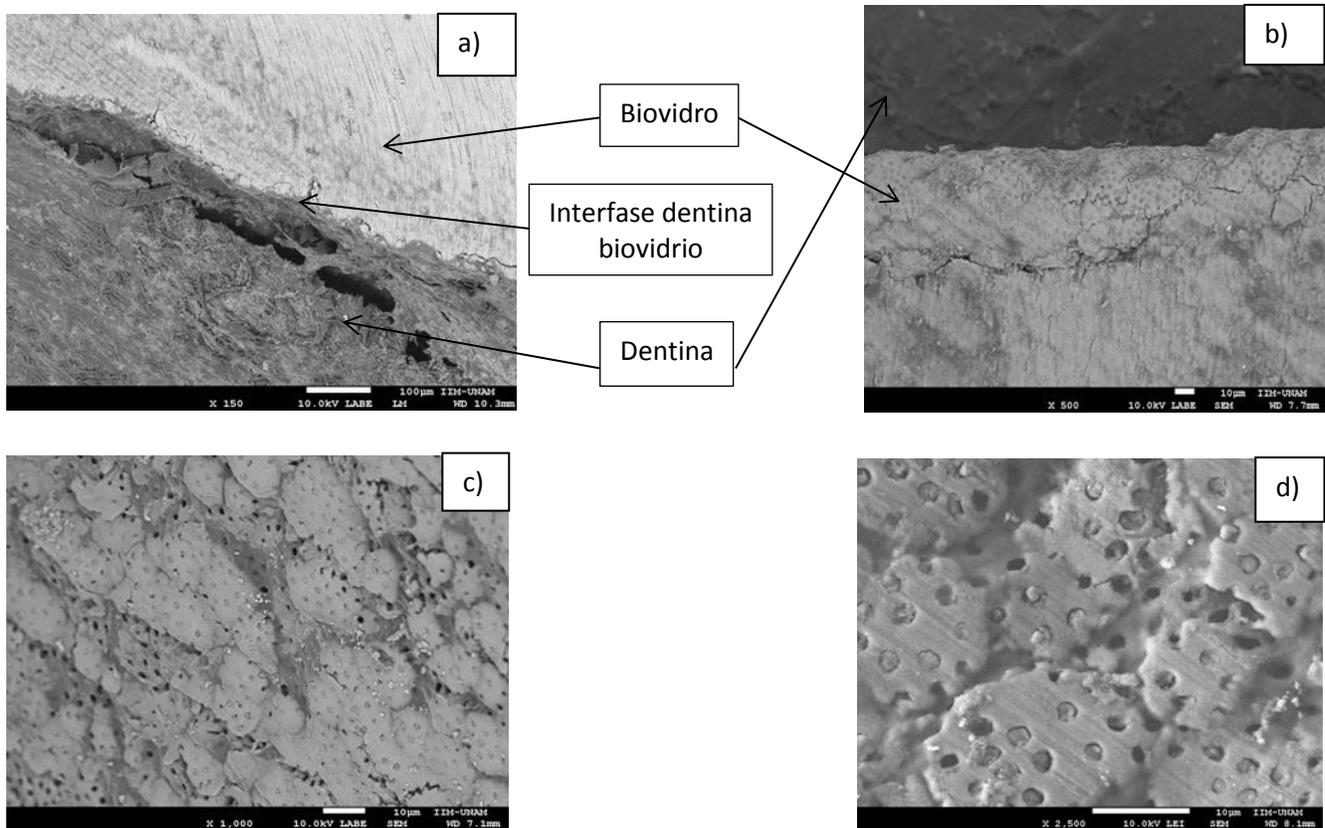


Fig. 4.34. Micrografías por MEB de la muestra 13% mol MgO después de ser sometida en un medio biológico (molar). a) Muestra el rompimiento de la dentina ante un esfuerzo cortante. b) La generación de poros en la frontera con la dentina dichos poros están presentes en cada aglomerado del biovidrio c y d) la mayoría de ellos forman parte de una fase diferente formada durante la permanencia del biovidrio en el interior de la cavidad dental.

Con la finalidad de confirmar lo anterior a continuación se muestra un análisis elemental por DRX asociado al MEB para ello en la fig. 4.35 se muestra el resultado del análisis en una zona en donde hay solamente biovidrio. Como puede observarse en la fig. 4.35 b hay presencia de Ca y P asociada a la hidroxiapatita formada en la superficie de las partículas de biovidrio.

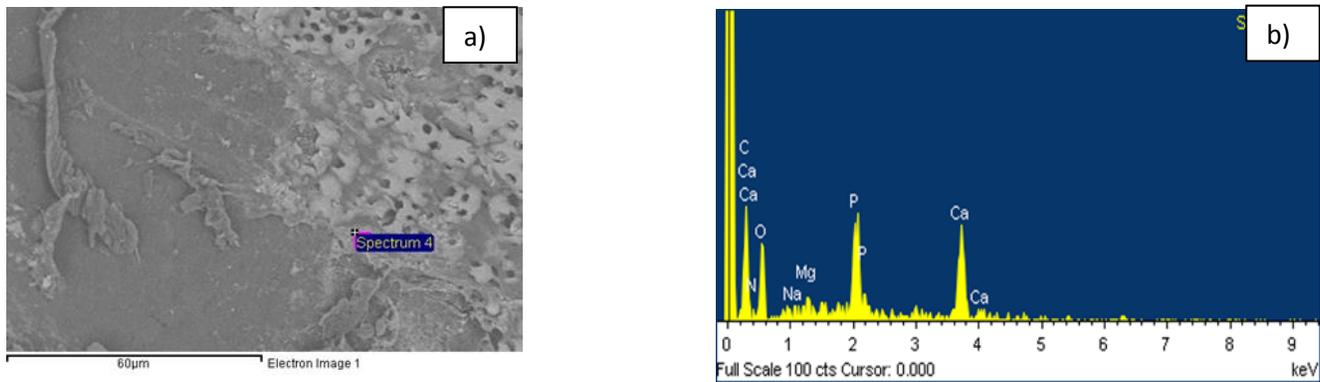


Fig. 4.35. Análisis del biovidrio por MEB y DRX. a) Biovidrio en la cavidad dental. b) Su composición elemental.

Para confirmar lo anterior se repitió el análisis en otra región del biovidrio colocado en la cavidad dental y el resultado de su análisis elemental. De nuevo se confirma la presencia de Ca y P, pero además se destaca la presencia de Mg y O y en menor cantidad la de Na. Respecto a la presencia de Na es necesario recordar que el biovidrio fue colocado en un sistema biológico el cuál suele estar presente.

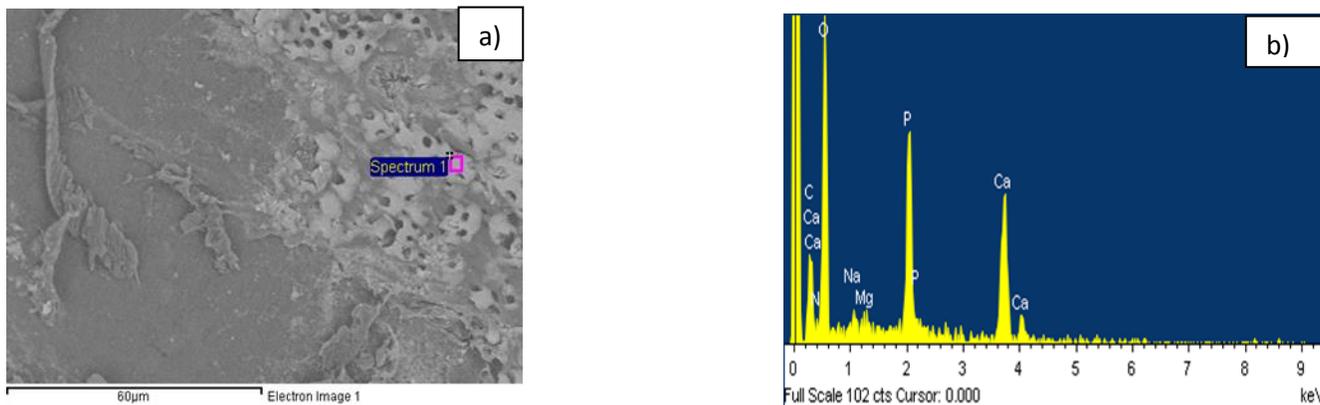


Fig. 4.36. Segundo análisis del biovidrio por MEB y DRX. Se repite el análisis elemental por DRX en el biovidrio colocado en la cavidad dental. a) Imagen por MEB del biovidrio dentro de la cavidad dental b) Análisis por DRX de la muestra donde se observa la presencia de Ca, P, Mg, Na y O.

Se analizó por DRX la dentina del molar. Como puede observarse en la fig. 4.37, el resultado no muestra la presencia de grandes cantidades de P, Mg, Na pero sí grandes cantidades de Ca y O, componentes fuertemente ligados con la HA de la dentina altamente hidratada.

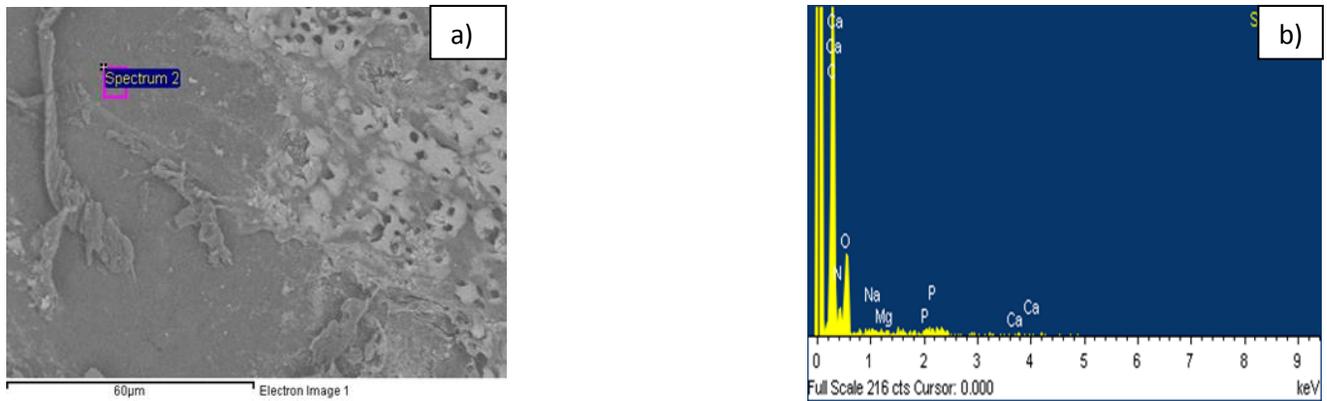


Fig. 4.37. Análisis por MEB de la dentina del molar. a) Fotografía por MEB de la dentina. b) El resultado por DRX muestra la presencia de Ca y O ligados con la hidroxiapatita hidratada de la dentina.

Posteriormente se decidió analizar las dos fases identificadas en el biovidrio, el resultado del análisis de la fase continua muestra gran cantidad de Ca y poca cantidad de P, Mg, Na, O en la superficie de la muestra, lo que habla de la existencia de un biovidrio que no se ha disuelto, es decir, que el intercambio de iones no se ha dado de forma completa y a su vez genere una nueva fase en la superficie del biovidrio (hidroxiapatita u otra fase cristalina que genere la formación de la misma).

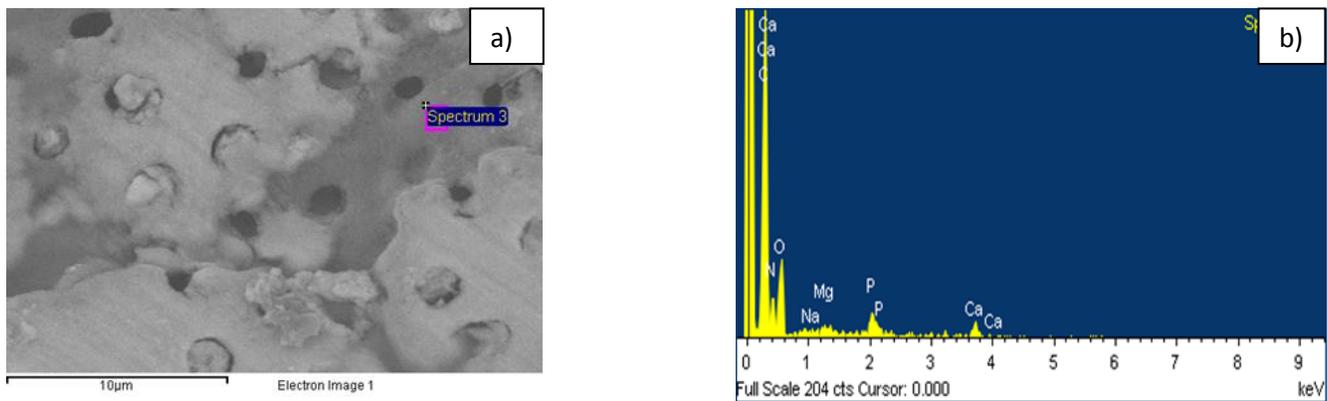


Fig. 4.38. Análisis elemental realizado en la fase continua del biovidrio. a) Fotografía obtenida por MEB de la fase continua del biovidrio en el molar. b) El análisis por DRX muestra la presencia de P, Mg, Na en la superficie en poca cantidad y grandes cantidades de Ca.

Ahora se procede a analizar la fase dispersa, es decir la parte de materia formada en el interior de los poros, cabe señalar que dicha fase en algunos poros se desprendió, o bien se disolvió en el medio. Los resultados del análisis por DRX muestra una gran cantidad de P, Ca y O lo que habla de un gran intercambio iónico entre el material y el medio.

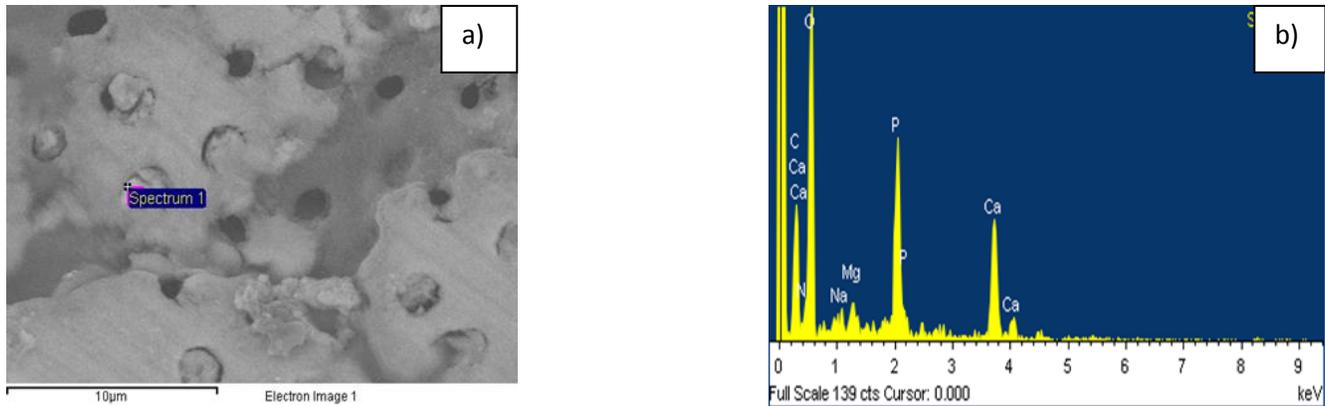


Fig. 4.39. Análisis por DRX en la fase no continúa del biovidrio. a) Fotografía de biovidrio por MEB b) Análisis elemental por DRX muestra que la masa formada en el interior de algunos poros hay gran liberación de iones.

Una de las propiedades de la bioactividad de los vidrios es su habilidad para reaccionar químicamente con fluidos como el agua o un fluido corporal. L. Hench propuso un proceso para explicar la bioactividad que se puede resumir en los siguientes puntos.^[49]

- i. Rápido intercambio de los iones álcalis con H_3O^+ de la solución en este caso el agua.
- ii. Disolución de la red molecular de los vidrios y formación de grupos silanol.
- iii. Condensación y repolimerización de la capa rica en SiO_2 que se encuentra en la superficie.
- iv. Migración de los grupos Ca^{2+} y PO_4^{3-} a la superficie a través de una capa rica en SiO_2 dando lugar a la formación de una capa rica en $CaO-P_2O_5$ en la superficie de la muestra.
- v. Cristalización de la película amorfa de $CaO-P_2O_5$.

Otro aspecto a resaltar es que la formación de mesoporos es atribuida a una distribución al azar de modificadores de red (CaO y MgO) con respecto a los formadores de red (SiO_2 y P_2O_5). La presencia de cationes (Ca^{2+} y Mg^{2+}) en el vidrio causa una discontinuidad de la red en el vidrio a través del rompimiento de los enlaces $Si-O-Si$. Como consecuencia, los oxígenos no enlazados son liberados. La textura de la superficie está determinada por la cantidad de componentes en el vidrio.^[30]

Cabe mencionar que este comportamiento se ha presentado cuando las partículas de biovidrio se han dispersado con agua e introducido en una cavidad dental, dando como resultado la formación de una capa de hidroxiapatita (o un precursor de ella) en la superficie e incluso formando poros. Bajo esta consideración se puede pensar que tratándose de partículas con diámetros menores a 500 nm el comportamiento es el mismo. Por lo que si partículas con diámetros menores a 100 nm se introducen

en nanofibras PCL estas tendrán el mismo comportamiento siempre y cuando estén en contacto ya sea con agua o con fluidos corporales.

4.4. Andamios de poli(ϵ -caprolactona) con biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ obtenidos por la técnica de electrohilado

4.4.1. Análisis por microscopio electrónico de barrido (MEB) del biovidrio en las fibras de poli(ϵ -caprolactona)

Se obtuvieron andamios por electrohilado considerando una concentración de 4%-6% m/m del biovidrio respecto a la masa de la poli(ϵ -caprolactona). Cabe mencionar que en dichos andamios de PCL-biovidrio, ha variado la composición química del biovidrio en función de la concentración de MgO presente en la composición ya que los andamios se realizaron con las diferentes muestras de biovidrio.

Se obtuvieron los mejores resultados a las condiciones de 13 KV, 39% humedad, temperatura de 28.5 °C, 25 cm de distancia del colector a la aguja, 5% m/m de biovidrio respecto a la masa de PCL y con una rapidez de flujo de 0.5 mL/h; donde se observó una mayor cantidad de partículas de biovidrio en las fibras (Fig. 4.40).

Éste andamio muestra una gran cantidad de partículas que quedan fuera de las nanofibras, el diámetro es muy variado. El resto de los andamios presentan características parecidas cuando la PCL es cargada con biovidrio cuya composición se diferencia por que la concentración de MgO varía en un 3,5,8,13 y 16 % mol de MgO.

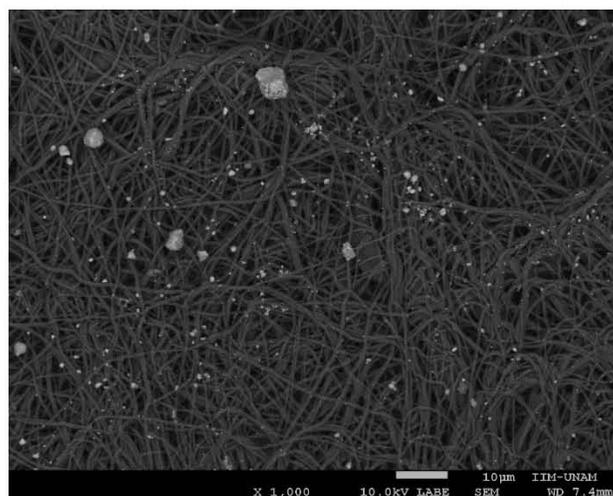


Fig. 4.40. Micrografía del andamio poli(ϵ -caprolactona) con biovidrio 3% mol MgO. Con un diámetro promedio de fibra de 543 nm y una desviación estándar de 112 nm.

En la tabla 4.11 Se muestran las condiciones en las que se han obtenido los andamios con biovidrio a través de la técnica de electrohilado. Donde se mantuvo constante la concentración de la poli(ϵ -caprolactona) al 12% m/v respecto a los disolventes presentes en la mezcla. La relación de disolventes utilizados fue DCM/DMF 4:1. La distancia del colector a la aguja fue de 25 cm y la rapidez de flujo empleado fue 0.5 mL/h. durante la obtención de los andamios se ha registrado la temperatura de trabajo en °C, la humedad relativa (%Hr), así como la diferencia de potencial.

Tabla 4.11. Condiciones de los andamios obtenidos a distintas condiciones con y sin inserción de biovidrio por la técnica de electrohilado. Los valores presentados como \pm en el diámetro de fibra no es un valor de incertidumbre, si no la desviación estándar.

Condiciones	Electrohilado con biovidrio 16%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 13%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 8%mol de MgO		Electrohilado con biovidrio 5%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 3%mol de MgO		Electrohilado de solo PCL				
%m/m de biovidrio	5				6				4		4				5		0				
Temperatura (°C)	24	27.2	23	23	28	30	31	31	27	30	29	27	26	27	28.5	29	18	19	20	18	19
Humedad %	31	42	31	31	40	40	40	40	43	42	42	43	42	42	39	38	45	46	46	59	61
Voltaje (KV)	13	14	15	16	13	14	15	16	13	14	13	14	15	16	13	14	13	14	15	16	17
Promedio del diámetro de fibra/ desviación estándar (nm)	509 \pm 384	558 \pm 118	569 \pm 294	606 \pm 302	1129 \pm 270	1104 \pm 316	781 \pm 368	787 \pm 257	687 \pm 153	615 \pm 298	494 \pm 131	514 \pm 106	611 \pm 272	532 \pm 126	543 \pm 112	510 \pm 129	-	-	-	-	-

4.4.2. Análisis del diámetro de fibra en los andamios obtenidos por la técnica de electrohilado.

Histogramas

16% mol MgO

Se observa que a mayor voltaje hay una tendencia a presentar diámetros de fibra menores, aunque en la muestra hilada a 16 KV presenta un predominio a valores entre los 500 nm-600 nm en comparación con las otras muestras que andan en un rango de 150 nm-500 nm, podemos atribuir que la muestra al momento de hilarse presentó un incremento en la humedad del 42% y temperatura (27 °C) mientras que las otras se hilaron al 31% (y 23 °C-24 °C).

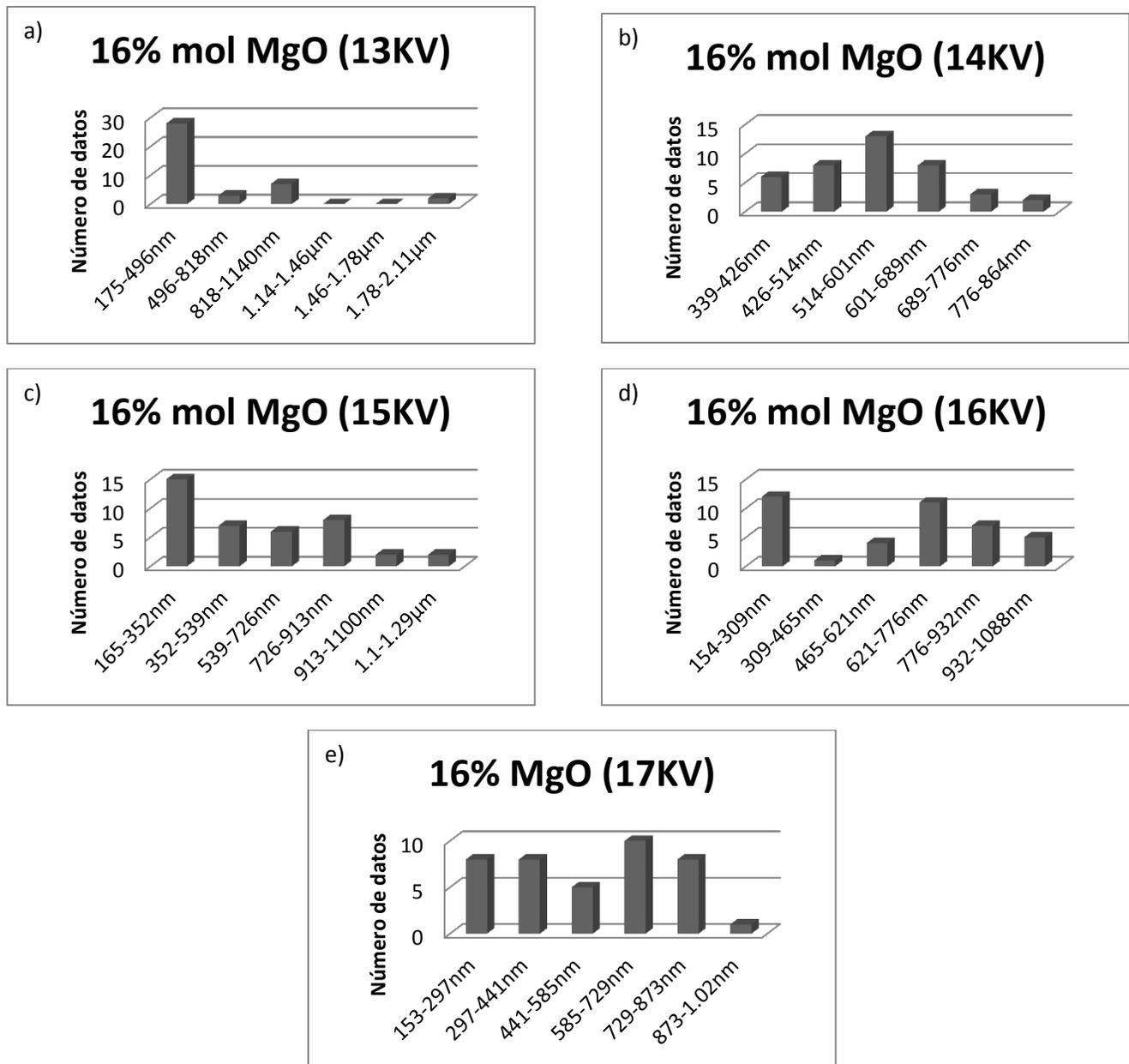


Fig. 4.41. Histogramas de la muestra 16% mol MgO. a) 13 KV, 24 °C y 31% de humedad. b) 14 KV, 27.2 °C y 42% humedad. C) 15 KV, 23 °C y 31% humedad. d) 16 KV, 23 °C y 31% humedad. e) 17 KV, 23.5 °C y 31% humedad.

13% mol MgO

Podemos observar que a mayor voltaje hay una disminución en la obtención de fibras con mayores diámetros, pues se llega a reducir de 1.9 μm hasta 1.1 μm . A pesar de ello hay un predominio en rango de 650 nm-1.1 μm del diámetro de fibra en las cuatro muestras. El incremento en el voltaje hasta 15 KV en el andamio aparecen fibras con diámetros uniformemente distribuidos; a su vez esta

muestra junto con la de 16 KV se observa que comienzan aparecer fibras con menores diámetros en una cantidad más considerable que las otras dos muestras (13 KV y 14 KV).

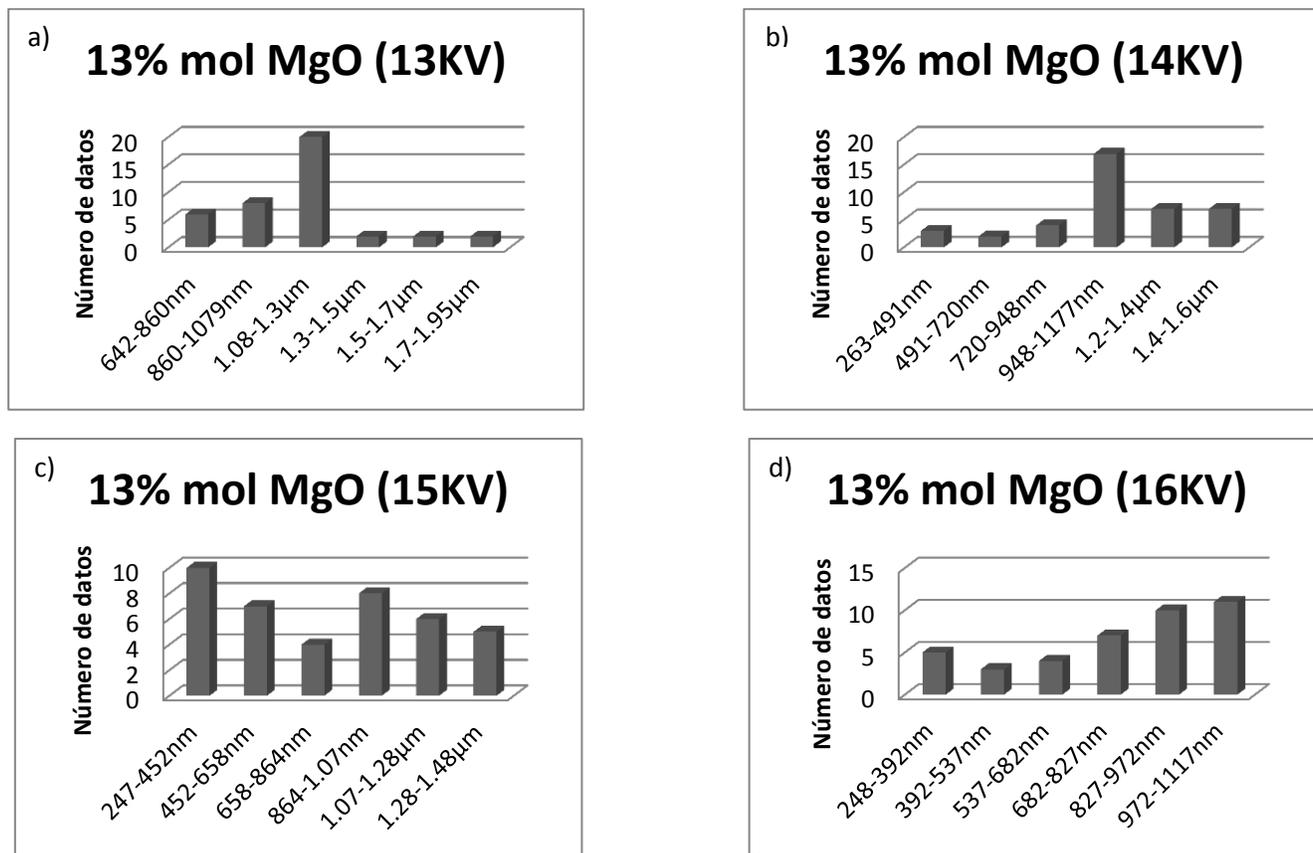


Fig. 4.42. Histogramas de la muestra 13% mol MgO. a) 13 KV y 28°C. b) 14 KV y 30 °C. c) 15 KV y 31 °C. b) 16 KV y 31 °C. Todas se hilaron a un 40% de humedad.

8% mol MgO

En esta muestra observamos que el incremento de voltaje favorece a que tengamos una mayor cantidad de fibras con diámetros menores ya que a 13 KV el valor menor oscila entre los 400 nm, pero al incrementarlo a 14 KV comenzamos a tener fibras con diámetros entre los 200 nm.

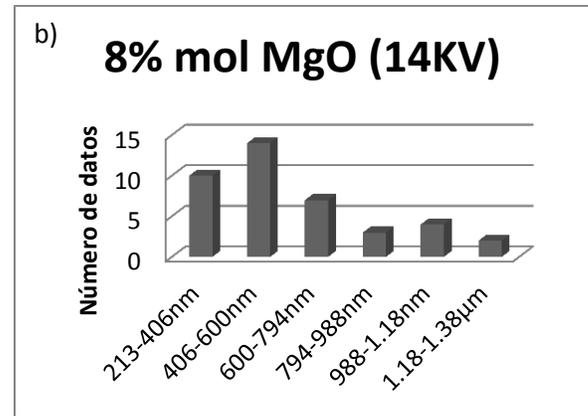
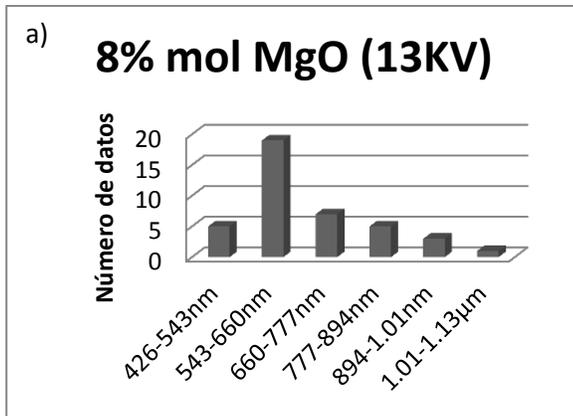


Fig. 4.43. Histogramas de la muestra 8% mol MgO. a) 13 KV, 27 °C y 43% de humedad. b) 14 KV, 30 °C y 42% humedad.

5% mol MgO

Se observa, como en el caso anterior, que al aumentar el voltaje se tiene un mayor porcentaje de fibras con diámetros menores, a pesar de ello el promedio se mantiene en un rango de 320 nm- 680 nm, en el caso de la muestra hilada a 16 KV se logró reducir el rango de 350 nm-630nm; una disminución en la temperatura y humedad favoreció ésta tendencia ya que para la muestra a 13 KV a 20 °C y 42% de humedad se tiene un rango de 400 nm-680 nm.

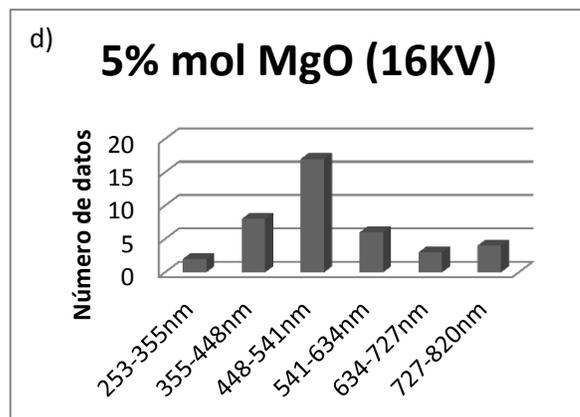
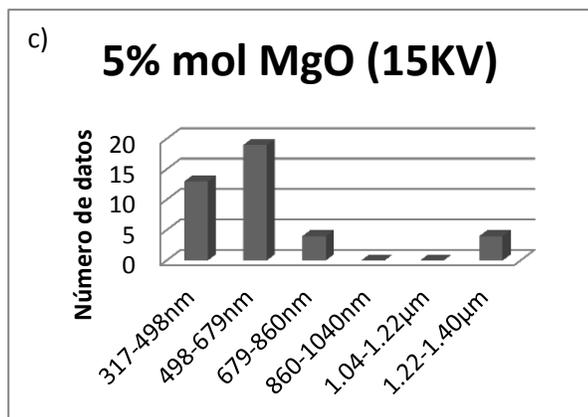
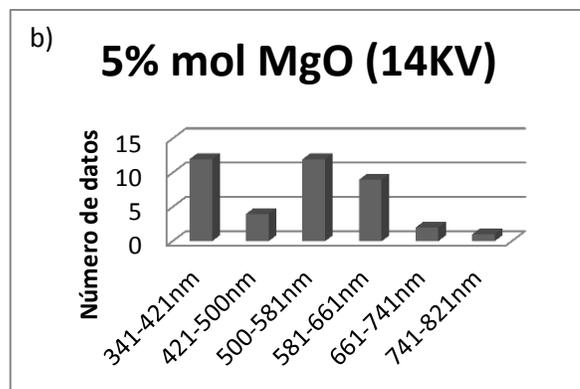
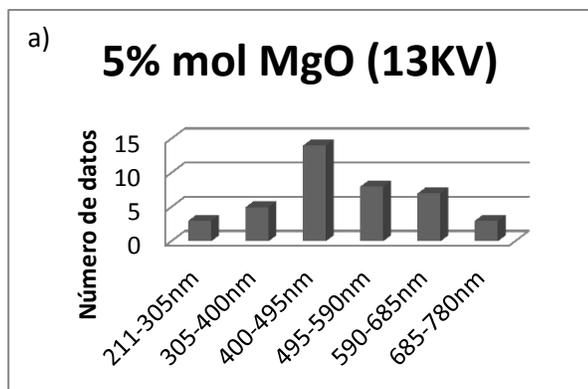


Fig. 4.44. Histogramas de la muestra 5% mol MgO. a) 13 KV, 29 °C y 42% de humedad. b) 14 KV, 27 °C y 43% humedad. c) 15 KV, 26 °C y 42% humedad. d) 16 KV, 27 °C y 42% humedad.

3% mol MgO

Se observa que a 13 KV predominan las fibras con diámetros entre los 300 nm-700 nm, pero si se incrementa el voltaje (14 KV) se tiene el mismo intervalo pero con un porcentaje mayor de fibras en ese rango (300 nm-700 nm).

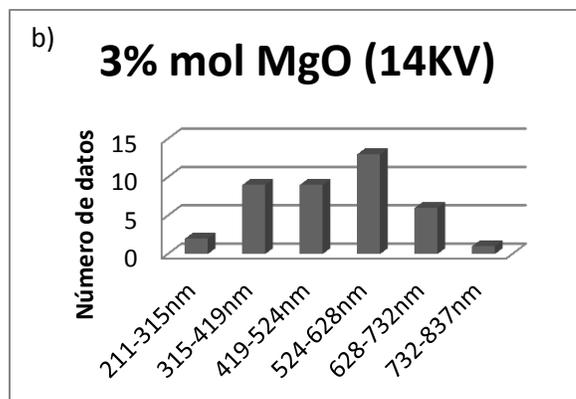
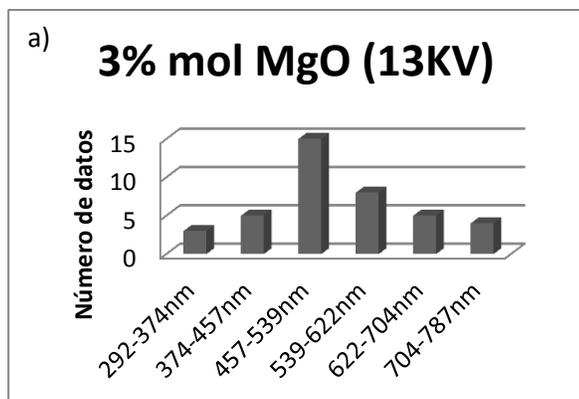


Fig. 4.45. Histogramas de la muestra 3% mol MgO. a) 13 KV, 28.5 °C y 39% de humedad. b) 14 KV, 29 °C y 38% humedad.

4.4.3. Mediciones de ángulo de contacto

La energía de superficie de un sólido se puede determinar a través de la medición de los ángulos de contacto. En este caso, se midió el ángulo de contacto utilizando agua deionizada como líquido de prueba, tal y como puede observarse en la figura, el ángulo de contacto resulta ser de 121° a temperatura ambiente. Lo cual refleja el carácter hidrofóbico de la PCL.



Fig. 4.46. Medición de ángulos de contacto. Se muestra una gota de 8 μ L de agua deionizada sobre la superficie de un andamio de PCL-biovidrio. Las imágenes son representativas de todos los casos aquí estudiados.

Generalmente, se ha considerado que el ángulo de contacto en avance (Θ_A) refleja mejor las propiedades de superficie estudiadas que el ángulo de contacto en retroceso (Θ_R) cuando se trata de superficies hidrofóbicas. El ángulo de contacto en avance (Θ_A), se ha medido sobre una superficie altamente porosa, sin embargo, el líquido aparentemente se comporta como si la superficie de PCL fuera homogénea desde el punto de vista de la rugosidad o porosidad existente, cuando en realidad

la existencia de poros tiene cierta influencia sobre el ángulo de contacto. En este caso, se puede considerar que la porosidad del andamio es más pequeño de lo esperado, ya que no fue un factor que determinara el valor del ángulo de contacto.

Por otro lado, el ángulo de contacto es altamente dependiente de la temperatura. En este caso los resultados muestran valores del ángulo de contacto obtenidos entre 22 °C y 24 °C tal como se muestra en la tabla 4.12, los resultados del ángulo de contacto son mayores a 123°, por lo que las superficies se mantienen con un carácter de hidrófobo. Los parámetros que involucran la adhesión celular son la rugosidad superficial, el efecto del campo eléctrico, la composición química y la hidrofobicidad e hidrofiliidad de la superficie; a pesar de ello estas propiedades van a depender del tipo de células con las que se trabaje ya que teniendo la misma superficie en el biomaterial hay una diferente respuesta celular; esta respuesta han sido observada por dos tipos de células; ciertos materiales parecieran ser biocompatibles con un tipo de célula pero el otro tipo no los tolera^[51]; en este caso, los resultados muestran una superficie altamente hidrofóbica por lo que no se descarta una respuesta favorable en pruebas *in vitro*. A pesar de ello los fibroblastos (células más abundantes en la pulpa dentaria; las cuales producen las fibras de la colágena de la pulpa, degradan el colágeno por lo cual son responsables del recambio del colágeno y son particularmente abundantes en la zona rica en células; además de que están involucradas en los procesos de reparación o de naturaleza inflamatoria del tejido conectivo) han mostrado una mejor respuesta a la adherencia y proliferación en los materiales con una moderada hidrofiliidad.^[51]

Los biovidrios, se caracterizan por tener superficies hidrofílicas, por lo que cuando se cargan las nanofibras con partículas del biovidrio, nos encontramos con que si la concentración de biovidrio se incrementa, entonces la energía de superficie del material obtenido va a disminuir, es decir, tendríamos un valor de ángulo de contacto menor que cuando solo se tienen las nanofibras con PCL. Sin embargo, aquí no es el caso, ya que la cantidad de biovidrio que se carga a las fibras de PCL a pesar de ser constante y considerando que lo que cambia es la concentración de MgO en la masa del biovidrio es muy difícil tener un control de cuantas partículas están dentro y fuera de las fibras del polímero^[17] ver fig. 4.47 a y b.

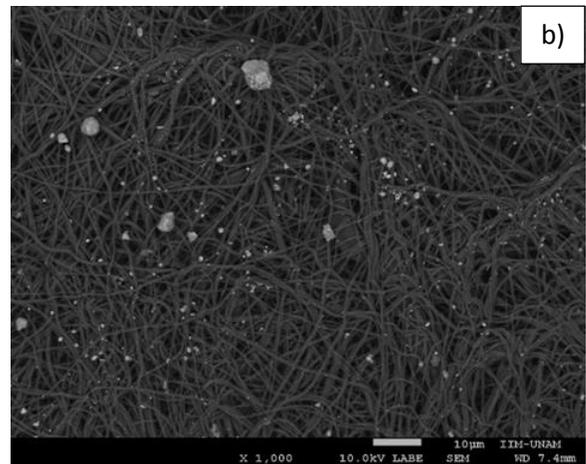
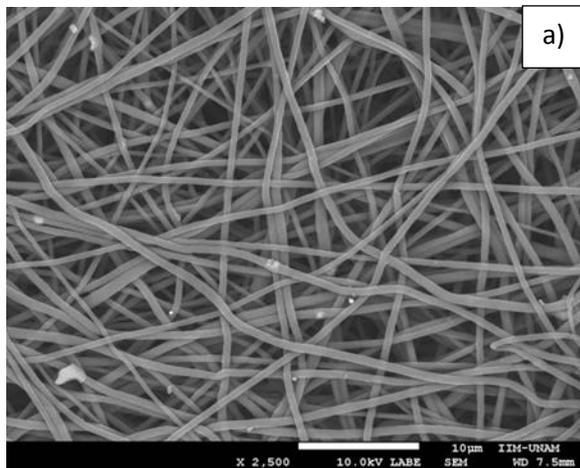


Fig. 4.47. Micrografías por MEB de los andamios 16% mol MgO y 3% mol MgO comparación. a) Micrografía del andamio poli(ε-caprolactona) con biovidrio 16% mol MgO hilado a 14 kV, en esta muestra se obtuvieron la menor cantidad de partículas de biovidrio insertado en las fibras de PCL. b) Micrografía del andamio poli(ε-caprolactona) con biovidrio 3% mol MgO hilado a 13 kV, en esta muestra se obtuvieron los mejores resultados con la mayor cantidad de partículas insertadas.

Suponiendo que la concentración de MgO presentara una modificación de las propiedades superficiales de las fibras, se puede observar que esto no ocurre así. Aun cuando se está cambiando la concentración de MgO en el biovidrio que es cargado en las fibras de PCL, el ángulo de contacto no presenta grandes variaciones.

De lo anterior se puede deducir que la energía de superficie del andamio compuesto por PCL-biovidrio no presenta variaciones debido a que la concentración de partículas de biovidrio es de poco impacto. La composición misma del biovidrio tampoco tiene implicación alguna en el valor del ángulo de contacto. Se puede decir, también que la porosidad del andamio no impacta el resultado. Estos resultados coinciden con los obtenidos por A. K. Bassi y colaboradores^[45].

Tabla 4.12. Ángulos de contacto obtenidos en cada muestra de electrohilado de los andamios.

Condiciones	Electrohilado con biovidrio 16%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 13%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 8%mol de MgO		Electrohilado con biovidrio 5%mol de MgO				Electrohilado con biovidrio 3%mol de MgO		Electrohilado de solo PCL				
	13	14	15	16	13	14	15	16	13	14	13	14	15	16	13	14	13	14	15	16	17
Voltaje (KV)																					
Temperatura (°C)	22	22	22	23	24	24	24	24	24	22	23	22	22	22	23	23	22	22	22	22	22
Ángulo de contacto	122° ±4.3	129° ±4.1	124° ±2.3	125° ±2.4	140° ±7.5	126° ±5.2	123° ±4.2	125° ±4.1	119° ±6.5	114° ±4.1	127° ±3.3	122° ±5.7	121° ±2.5	121° ±4.6	122° ±2.5	123° ±3.9	110° ±9.3	117° ±3.6	120° ±2.5	124° ±1.6	117° ±2.5

CONCLUSIONES

- Se definió el método más adecuado para la síntesis de las cinco muestras de biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ mediante la técnica solgel
- Se logró reducir el tamaño de partícula del biovidrio $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$ hasta un mínimo de $49\text{nm} \pm 19\text{nm}$ (desviación estándar) mediante la molienda mecánica.
- Los resultados de los análisis de calorimetría diferencial de barrido indican que el MgO tiene un impacto en las propiedades térmicas del material donde a mayor concentración de éste óxido mayor valor en el coeficiente de dilatación.
- Los resultados por termogravimetría indican que no hay pérdidas importantes de masa en el material, ya que este porcentaje es mínimo en la mayoría de los casos; lo cual habla de una gran resistencia química del material con respecto al aumento de la temperatura.
- La formación mayoritaria de una estructura cristalina (hidroxiapatita o un precursor) debe ser mayor a los 7 días donde el material fue sumergido en DMEM.
- Se observó la formación de una estructura cristalina (hidroxiapatita o un precursor) después de estar en contacto con un medio biológico (el molar) donde se aprecia una gran actividad de intercambio de iones. Las pruebas realizadas al colocarse el biovidrio en la cavidad molar mostró que este puede adherirse eficientemente a la estructura dental gracias a la formación de la hidroxiapatita (o su precursor).
- Se logró insertar partículas de biovidrio en la matriz de fibras poliméricas de poli(ϵ -caprolactona) teniendo el mejor resultado a las condiciones de electrohilado 13 KV 28.5 °C, 39 Hr y 5% m/m de biovidrio.

RECOMENDACIONES

- Diseñar una metodología para la reducción de aglomerados en la síntesis de biovidrio por solgel; ya que mediante ésta técnica si se obtiene partículas de tamaño nanométrico pero con una gran cantidad de aglomerados que suelen tener un diámetro en el rango de las micras.
- Explorar la molienda ultrasónica con un “disolvente” (medio dispersante) menos polar capaz de disolver el polímero; para así posteriormente emplearse para una disolución del polímero-biovidrio para la síntesis de los andamios mediante el electrohilado; se sugiere hacer pruebas con ciclohexano o benceno como “disolvente” en el caso de la PCL.
- Hacer las pruebas biológicas correspondientes con los andamios de PCL-biovidrio y comparar los resultados obtenidos con el biovidrio insertado en un molar.
- A pesar de que se obtuvieron buenos resultados con la inserción de partículas de biovidrio, se deben realizar más pruebas con el electrohilado; ya que es difícil tener un control de la cantidad de partículas que quedan insertadas en las fibras de los andamios.
- Realizar pruebas de biocompatibilidad y crecimiento celular tanto con los biovidrios como con los compositos (andamios).

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. Antonio Murcia Mazón, José Paz Jiménez (1997). *Artroplastias no cementadas de cadera*. Universidad de Oviedo servicios de publicaciones, 167. 1997.
- [2]. Alexander Hoppe, Nusret S. Güldal (2011). *A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics*. *Biomaterials*, (32), 2757-2774.
- [3]. Robert G. Hill, Delia S. Brauer (2012). *Predicting the glass transition temperature of bioactive glasses from their molecular chemical composition*. *Lecture Notes in Computer Science*, (7147), 3601-3605.
- [4]. Balaji Sitharaman (2011). *Nanobiomaterials Handbook*. Taylor and Francis group, Capítulo 3.
- [5]. Paul Ducheyne (2011). *Comprehensive Biomaterials*. Metallic, Ceramic and Polymeric Biomaterials: Elsevier, (1), 157-357.
- [6]. A. Saboori, M. Rabiee (2009). *Synthesis, characterization and in vitro bioactivity of sol-gel-derived SiO₂-CaO-P₂O₅-MgO bioglass*. *Material Science and Engineering*, (29) 335-340.
- [7]. A. Balamurugan, G. Balossier (2007). *Sol Gel Derived SiO₂-CaO -MgO-P₂O₅ Bioglass System-Preparation and In Vitro Characterization*. *InterScience*, 546-552.
- [8]. S. Lin, C. Ionescu (2009). *Nanostructure evolution and calcium distribution in sol-gel derived bioactive glass*. *Journal of Materials Chemistry*, (19), 1276-1282.
- [9]. J R Jones, S Lin (2012). *Bioactive glass scaffolds for bone regeneration and their hierarchical characterization*. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H- Journal of Engineering in Medicine*. 1373-1385.
- [10]. Mariana T. Souza, Murilo C. Crovace (2013). *Effect of magnesium ion incorporation on the thermal stability, dissolution behavior and bioactivity in Bioglass-derived glasses*. *Journal of Non- Crystalline Solids*, (382), 57-65.
- [11]. Andrew S. D Souza, Carlo G. Pantano (1999). *Mechanisms for Silanol Formation on Amorphous Silica Fracture Surfaces*. *Journal of American Ceramic Society*, (82), 1289-1293.
- [12]. Andrew S. D'Souza, Carlo G. Pantano (2002). *Hydroxylation and Dehydroxylation Behavior of Silica Glass Fracture Surfaces*. *Journal of American Ceramic Society*, (85)(6), 1499-1504.

- [13]. Ortoll Bloch Amnon Gabriel (2014). *Elaboración de Andamios Tisulares Obtenidos por Electrohilado a Base de ϵ -Caprolactona y Biovidrio Tipo Bioglass 45S5*. México: UNAM, Facultad de Química. Tesis de licenciatura en Biomateriales.
- [14]. Cheryl L. Casper, Jean S. Stephens (2004). *Controlling Surface Morphology of Electrospun Polystyrene Fibers: Effect of Humidity and Molecular Weight in the Electrospinning Process*. *Macromolecules*, (37), 573-578.
- [15] M. Magallanes-Perdomo, A. H. De Aza (2012). *Structure and properties of bioactive eutectic glasses base on the $Ca_3(PO_4)_2$ - $CaSiO_3$ - $CaMg(SiO_3)_2$ system*. *Acta Biomaterialia*, (8), 820-829.
- [16] Navarro Melba, Planell Josep A. *Nanotechnology in Regenerative Medicine Methods and Protocols*. UK: Humana Press. UK. 324.
- [17] Esther M. Valliant, Julian R. Jones (2011). *Softening bioactive glass for bone regeneration: sol-gel hybrid materials*. *Soft Matter*, (7) 5083-5095.
- [18] Wade, L. J. Jr. (2014). *Química Orgánica*. Pearson Educación, (5ª ed). Madrid: España. 492-499.
- [19] John McMurry (2008). *Química Orgánica*. Cengage Learning, (7ª ed). 422-423.
- [20] Peater Atkins W. (2006). *Principios de química: los cambios del descubrimiento*. Editorial médica panamericana, (3ª ed). Madrid: España. 196-197.
- [21] Askeland, D. R. (1998). *Ciencia e Ingeniería de los Materiales*. International Thomson Editores (3º ed). México: DF. 110-116.
- [22] Isabel Sierra A, Damian Pérez Q. (2010). *Análisis instrumental*. Netbiblo, (1). España. 207-212.
- [23] Nuria Martínez N., Ana M. Andrés G. *Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno*. Universidad politécnica de Valencia, 229.
- [24] Albella J. M. (1993). *Introducción a la ciencia de los materiales: Técnicas de preparación y caracterización*. Madrid: Consejo superior de investigaciones científicas. 568-582.
- [25] Gerardo Vázquez N., Olga Echeverría (2000). *Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas*. Fondo de cultura económica: UNAM. México: Ciudad Universitaria. 15-117.
- [26] J. W. Kane, M. M. Sternheim (2007). *Física*. Reverté. (2ª ed). España: Barcelona. 334.

- [27] Remington (2003). *Farmacía*. Editorial Médica Panamericana (20^a ed). Buenos Aires: Argentina. (1), 321.
- [28] Maribel Beltrán R., Antonio Marcilla G. (2012). *Tecnología de polímeros: procesado y propiedades*. Universidad de Alicante, 27.
- [29] J. Ma, C. Z. Chen (2010). *Influence of the sintering temperature on the structural feature and bioactivity of sol-gel derived SiO₂-CaO-P₂O₅ bioglass*. *Ceramics International*, (36), 1911-1916.
- [30] J. Ma, C. Z. Chen (2010). *In vitro degradability and bioactivity of mesoporous CaO-MgO-SiO₂-P₂O₅ glasses synthesized by sol-gel method*. *Journal Sol-Gel Science Technology*, (54), 69-76.
- [31] J. Pérez-Pariente, F. Balas (2000). *Surface and Chemical Study of SiO₂-P₂O₅-CaO-MgO Bioactive Glasses*. *Chemical Materials*, (12), 750-755.
- [32] Imani Fooladi Abbas Ali, Mahmoodzadeh Hosseini Hamideh (2013). *Sol-gel derived bioactive glass containing SiO₂-MgO-CaO-P₂O₅ as an antibacterial scaffold*. *Journal of Biomedical Materials Research*, (101 A), Issue 6, 1582-1587.
- [33] Rezaei Yashar, Moztarzadeh Fathollah (2014). *Synthesis, characterization, and In Vitro bioactivity of sol-gel derived SiO₂-CaO-P₂O₅-MgO-SrO bioactive glass*. *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, (44). 692-701.
- [34] Saravanapavan Priya, R. Jones Julian (2003). *Bioactivity of gel-glass powders in the CaO-SiO₂ system: a comparison with (CaO-P₂O₅-SiO₂) and quaternary glasses (SiO₂-CaO-P₂O₅-Na₂O)*. *Journal Biomedical Materials Research*, (66A), 110-119.
- [35] William Andrew (2013). *Handbook of biopolymers and biodegradable plastics: Properties, processing and applications*. Elsevier: Londres, 120, 205, 206.
- [36] Severian Dumitriu (2002). *Polymeric Biomaterials*. (2^o ed). Nueva York. 96-97.
- [37] Severian Dumitriu, Valentin Popa (2013). *Polymeric biomaterials: Structure and function*. Boca raton: CRC press, Taylor and Francis group, (1), 140.
- [38] Buddy D. Ratner, Allan S. Hoffman (2013). *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. Elsevier: Amsterdam. 87-89.
- [39] Hench, Julian R. Jones (2013). *Review of bioactive glass*. *Acta Biomaterialia*, (9), 4457-4486.
- [40] K. Ishizaki, S. Komarneni (1998). *Porous Materials process technology and applications*. Luwer Academic Publishers, 3-11.

- [41] Priya Saravanapavan, Lerry L. Hench (2003). *Mesoporus calcium silicate glasses I. Synthesis. Journal of Non-crystalline solids*, (318), 1-13.
- [42] El-Gohary, Khairy M. Tohamy (2013). *Influence of composition on the in-vitro bioactivity of bioglass prepared by a quick alkali-mediated sol-gel method*. Nature and Science, (11)(3), 26-33.
- [43] Ahmed Al- Noaman, Simon C.F. Rawlinson (2012). *The role of MgO on termal properties, structure and bioactivity glass coating for dental implants*. Journal of Non-Crystalline Solids, (358), 3019-3027.
- [44] J. Massera, L. Hupa (2012). *Influence of the partial substitution of CaO with MgO on the termal properties and in vitro reactivity of the bioactive glass S53P4*. Journal of Non-Crystalline Solids, (358), 2701-2707.
- [45] A. K. Bassi, J. E. Gough (2011). *The Chemical and Physical Properties of Poly(ϵ -caprolactone) Scaffolds Functionalised with Poly(vinyl phosphonic acid-co-acrylic acid)*. Journal of Tissue Engineering.
- [46] Kazuo Nakamoto (1986). *Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds*. John Wiley & Sons (4° ed). Nueva York. 474.
- [47] Wolfcanc Kronert, Michael Siecert (1974). *Estudios espectroscópicos de silicatos: Contribución a la determinación espectroscópica de aniones silicatos en silicatos de calcio hidratados*. Toníndustrie Zeitung, 98.
- [48] J.F. Martínez; F. Ruiz (2002). *Mapeo estructural de la silica xerogel utilizando espectroscopía infrarroja*. Revista Mexicana de Física, (48)(2), 142-149.
- [49] H. Aguilar, E. L. Solla (2008). *Raman and MNR study of Na₂O-MgO-CaO-P₂O₅-SiO₂ glasses*. Journal of Non-Crystalline Solids, (354), 5004-5008.
- [50] Lee, H-H, Yu H-S. (2008). *Bioactivity improvement of poly(ϵ -caprolactone) membrane with the addition of nanofibrous bioactive glass*. Acta Biomaterialia, (4), 622-629.
- [51] Rosario Pignatello (2013). *Advances in biomaterials science and biomedical applications*. Intech, 218-226.
- [52]<http://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas6Histologia/comcelfibroblastos.html>
- [53] Marcus Niederberger, Nicola Pinna (2009). *Metal oxide nanoparticles in organic solvents. Synthesis, formation assembly and applications*. Springer. Londres Capítulo 2.