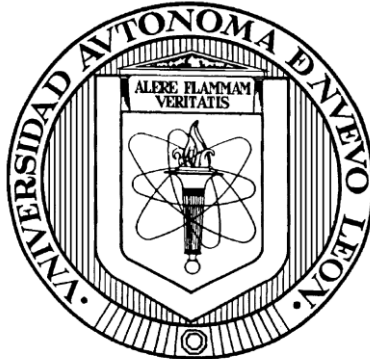


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO-MATEMÁTICAS



**MATERIALES COMPUESTOS DE CARBONATO DE BARIO E
HIDROXIAPATITA**

Por

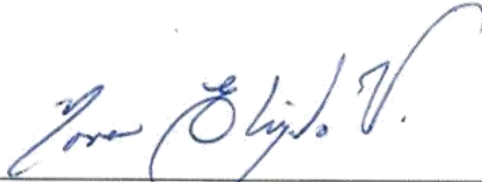
Lenin Ixta López

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
MAESTRÍA EN INGENIERÍA FÍSICA INDUSTRIAL**

Abril, 2021

**“MATERIALES COMPUESTOS DE CARBONATO
DE BARIO E HIDROXIAPATITA”**

Aprovación de Tesis:



**Dra. Nora Elizondo Villarreal
Presidenta**



**Dra. María Aracelia Alcorta García
Secretaria**



**Dr. Francisco Javier Vázquez Rodríguez
Vocal**

Monterrey, Nuevo León.

Abril del 2021

AGRADECIMIENTOS

El presente proyecto de maestría fue desarrollado en el Centro de Investigación de Ciencias Físico Matemáticas, de la Universidad Autónoma de Nuevo León, y es un placer dar gracias a toda la gente que estuvo involucrada en muchas y diferentes maneras.

Primero que nada, me gustaría agradecer a mi asesora de tesis, la Dra. Nora Elizondo Villarreal, quien me dio la gran oportunidad de estudiar este tema tan fascinante y me proporcionó el mejor apoyo científico. Estoy especialmente agradecido con ella y con mi compañera de laboratorio Luz Hypatia Verástegui Domínguez por su guía constructiva durante este tiempo, lo cual, combinado con su participación estimulante, me mantuvo siempre motivado.

Gracias especiales al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por brindarme el apoyo económico, y las herramientas necesarias para llevar a cabo mis estudios y el desarrollo del presente proyecto.

Finalmente, mi más grande agradecimiento a mis papás, Rosa Delia López López, Felipe Ixta Martínez, a mis hermanos, Mara Ixta López, Vladimir Ixta Luna y Luis Ixta Longoria, por su apoyo sin límites y totalmente incondicional, a mis amigas Sara Madely Saldívar González y Yessica Elizabeth Sánchez Lugo quienes nunca dejaron de creer en mí, y a mi esposa Margarita Aracely Méndez Hernández a quien no tengo palabras para expresar lo valioso que ha sido para mí el tiempo que me ha ofrecido, por escucharme de manera tan atenta y amorosamente, sin lo cual mi desarrollo profesional sería imposible.

TABLA DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN.....	6
1.1	SISTEMA ÓSEO: EL ESQUELETO HUMANO.....	6
1.2	ESTRUCTURA DEL HUESO.....	8
1.3	MATERIALES PARA INJERTOS ÓSEOS.....	12
1.3.1	<i>Materiales autólogos.</i>	12
1.3.2	<i>Materiales homólogos.</i>	13
1.3.3	<i>Materiales aloplásticos.</i>	14
2	HIDROXIAPATITA.....	15
2.1	METAS Y PROPÓSITOS DE LA TESIS.....	15
2.2	JUSTIFICACIÓN DE LA HIDROXIAPATITA COMO MATERIAL DE ESTUDIO.....	18
2.3	SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA.....	20
2.3.1	<i>Método hidrotermal.</i>	20
2.4	SECCIÓN EXPERIMENTAL.....	21
2.4.1	<i>Por medio del método hidrotermal</i>	21
2.5	RESULTADOS Y CONCLUSIONES.....	23
2.6	MARCO TEÓRICO.....	25
2.6.1	<i>Biomíneralización.</i>	25
2.6.2	<i>Mineralización del carbonato de bario.</i>	27
2.6.3	<i>Vista clásica de la cristalización.</i>	29
2.6.4	<i>Nucleación.</i>	31
2.6.5	<i>Crecimiento de Cristales</i>	33
2.7	BIOMORFOS DE CARBONATO-SILICIO.....	39
2.7.1	<i>Microestructura y composición.</i>	41
2.7.2	<i>Mecanismos de formación</i>	44
2.7.2.1	Etapa 1: Derivación fractal.....	44
2.7.2.2	Etapa 2: Coprecipitación químicamente acoplada.....	46
2.7.3	<i>Descripción del fenómeno del desarrollo morfológico</i>	49
3	SECCIÓN EXPERIMENTAL PARA LA FORMACIÓN DE BIOMORFOS.....	52
3.1	MÉTODO DE PREPARACIÓN.....	52
3.2	MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN.....	53
3.2.1	<i>Microscopía Electrónica de Barrido</i>	53
3.2.2	<i>Microscopía Electrónica de Transmisión</i>	54
3.2.3	<i>Medición del pH</i>	54
3.3	RESULTADOS.....	55
3.3.1	<i>Análisis morfológico</i>	55
4	COMPUESTO BIOMORFO-HAP.....	59
4.1	RESUMEN.....	59
4.2	QUÍMICA COMBINATORIA.....	60
5	SÍNTESIS DEL COMPUESTO.....	62
5.1	PREPARACIÓN DEL COMPUESTO.....	62
5.2	RESULTADOS.....	63
5.2.1	<i>Análisis morfológico y elemental.</i>	63
6	CONCLUSIONES.....	64
7	BIBLIOGRAFÍA.....	67

Tabla de Figuras

FIGURA 1.1 - EL ESQUELETO HUMANO	6
FIGURA 1.2: JERARQUÍA EN LA ESTRUCTURA DEL HUESO POR WAGNER Y WEINER	9
FIGURA 2.1: DIBUJO A MANO DE HARTING	16
FIGURA 2.2: SEM DE UNA HOJA DE COCCOLITA (COCOESFERA)	16
FIGURA 2.3: ARREGLO ATÓMICO EN LA CELDA UNITARIA HEXAGONAL DE LA HIDROXIAPATITA	18
FIGURA 2.4: DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	23
FIGURA 2.5: MORFOLOGÍA DEL POLVO DE HIDROXIAPATITA.....	24
FIGURA 3.1: MORFOLOGÍA INORGÁNICA VS ORGÁNICA.....	25
FIGURA 3.2: DISTRIBUCIÓN DE LAS ESPECIES DE CARBONATO CON RELACIÓN AL PH.....	28
FIGURA 3.3: UN CONCEPTO DEL PROCESO DE CRISTALIZACIÓN REDIBUJADA DE NIELSEN	30
FIGURA 3.4 ENERGÍA LIBRE DE NUCLEACIÓN COMO FUNCIÓN DEL TAMAÑO DEL NÚCLEO.....	32
FIGURA 3.5: ESTRUCTURAS DE INTERFACE Y TRES TIPOS DE MECANISMOS DE CRECIMIENTOS	33
FIGURA 3.6 ESTRUCTURAS DE INTERFACE Y TRES TIPOS DE MECANISMOS DE CRECIMIENTOS	34
FIGURA 3.7 LOS RESULTADOS OBTENIDOS POR JACKSON Y TEMKIN	35
FIGURA 3.8 REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA CRISTALIZACIÓN CLÁSICA Y LA NO CLÁSICA.....	37
FIGURA 3.9 (A-C) IMÁGENES SEM DE FIBRAS DE CARBONATO DE BARIO.....	38
FIGURA 3.10 COMPARACIÓN DE UN FÓSIL PRECAMBRICANO Y UN BIOMORFO	40
FIGURA 3.11 MICROGRAFÍA DE POLARIZACIÓN ÓPTICA DE CARBONATO DE BARIO, PRECIPITADAS	41
FIGURA 3.12 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO Y MICROSCOPIA DE FUERZA ATÓMICA DE LA MICROESTRUCTURA DE LOS BIOMORFOS	41
FIGURA 3.13 MICROGRAFÍA TEM, ALINEAMIENTO PARALELO DE NANOCRISTALES	43
FIGURA 3.14 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO DE BIOMORFOS DE SILICIO	43
FIGURA 3.15 MICROGRAFÍAS ÓPTICA Y MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO CRISTALES DE CARBONATO DE BARIO	44
FIGURA 3.16 SEPARACIÓN FRACTAL CONTINUA EN PRESENCIA DE IMPUREZAS DE SILICIO	45
FIGURA 3.17 ARQUITECTURAS DE FLUOROPATITAS	46
FIGURA 3.18 PROPUESTA DEL MODELO DE FONACIÓN JOSEF EIBLMEIE ET. AL	48
FIGURA 3.19 COMPORTAMIENTO DE CRECIMIENTO MACROSCÓPICO DE UN BIOMORFO	50
FIGURA 3.20 MORFOGÉNESIS DE UNA HÉLICE	51
FIGURA 4.1 ARQUITECTURAS FRACTAL TEMPRANAS DE LOS BIOMORFOS	56
FIGURA 4.2 ESTRUCTURAS ESPERADAS,HOJAS EXTENDIDAS, GUSANO, HELICOIDES Y COLIFLORES	57
FIGURA 4.3 ESCALA A 100 μ M DE LOS AGREGADOS OBTENIDOS.	57
FIGURA 4.4 AGREGADOS QUE SE OBSERVAN NORMALMENTE BAJO CONDICIONES ESTÁNDAR	58
FIGURA 5.1 A DIFERENCIA DE LA SÍNTESIS TRADICIONAL	60
FIGURA 5.2 SÍNTESIS DE MEZCLAS Y SÍNTESIS REALIZADA EN PARALELO	61
FIGURA 6.1 PANORÁMICA DEL COMPUESTO OBTENIDO	63
FIGURA 6.2 ACERCAMIENTO A LAS ESTRUCTURAS EN FORMA DE CAPULLO	64
FIGURA 6.3 FORMACIÓN DE UN CRISTAL CON CURVAS SUAVES.....	64
FIGURA 6.4 SECCIÓN UTILIZADA PARA EL ANÁLISIS ELEMENTAL	65
FIGURA 6.5 MUESTRA UTILIZADA PARA ANÁLISIS ELEMENTAL	65
FIGURA 6.6 ANÁLISIS ELEMENTAL DE LA FIGURA 6.4 ESPECTRO 10	66
FIGURA 6.7 ANÁLISIS ELEMENTAL DE LA FIGURA 6.5 ESPECTRO 9	66
FIGURA 6.8 ANÁLISIS ELEMENTAL DE LA FIGURA 6.4 ESPECTRO 12	67

1 Introducción.

1.1 Sistema óseo: el esqueleto humano.

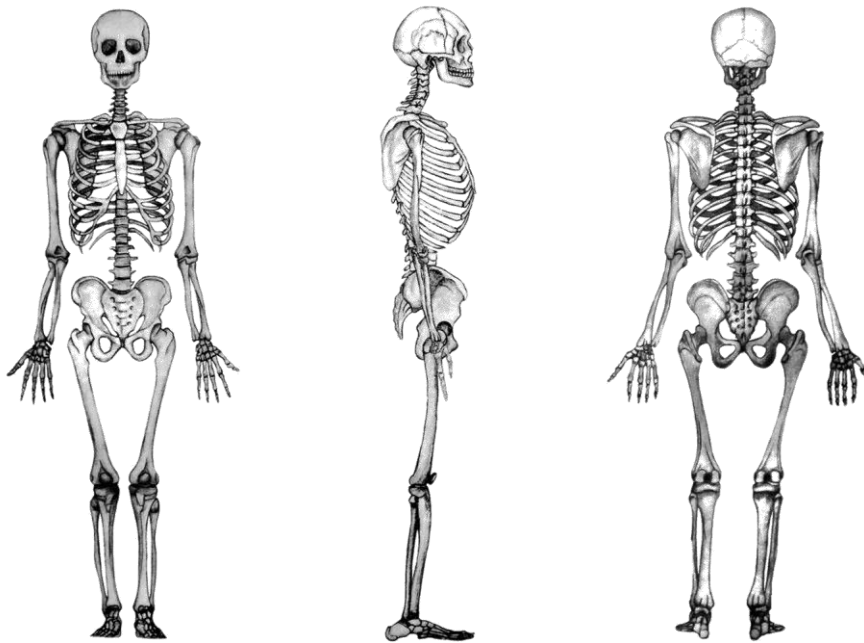


Figura 1.1 - El esqueleto humano¹.

El esqueleto humano está conformado de 206 huesos que se agrupan en el esqueleto axial, que está formado por 80 huesos de la cabeza, cuello y tronco, y el esqueleto apendicular formado por 126 huesos de las extremidades, la cintura escapular y la pelviana.

El esqueleto es una estructura dinámica y cumple con diversas funciones, tales como:

- **Sostén:** los huesos son el soporte de los tejidos blandos, y el punto de apoyo de la mayoría de los músculos esqueléticos.
- **Protección:** los huesos protegen a los órganos internos, por ejemplo, el cráneo protege al encéfalo, la caja torácica, al corazón y los pulmones.
- **Homeostasis de minerales:** el tejido óseo almacena calcio y fósforo para dar resistencia a los huesos, y libera estos minerales a la sangre para

mantener en equilibrio su concentración.

- **Producción de células sanguíneas:** en la médula ósea se produce la hematopoyesis para producir glóbulos rojos, blancos y plaquetas¹.

En resumen, el sistema óseo es la razón por la cual nos es posible caminar y realizar la mayoría de nuestras tareas día a día. Es importante señalar que, durante la infancia y la adolescencia, el cuerpo genera tejido óseo más rápido de lo que lo elimina. Después de los 20 años de edad, el sistema óseo puede perder huesos más rápido de lo que los produce. Por lo cual se pueden presentar una gran cantidad de problemas en los huesos, tales como, la baja densidad ósea y la osteoporosis lo que contribuye a la debilitación de los huesos y el aumento de las probabilidades de fracturas, la osteogénesis imperfecta (que hace que los huesos sean frágiles y quebradizos), la enfermedad de Paget en el hueso que los debilita, así como también se puede desarrollar cáncer e infecciones².

Siendo tan numerosos los problemas que se pueden presentar en los huesos, y ya que el tener un sistema óseo débil disminuye considerablemente la calidad de vida, se han dedicado una gran cantidad de recursos en diversas áreas de la investigación médica a encontrar solución a las distintas anomalías que se presentan en los huesos. Aunque aún son muchos los problemas que no son entendidos, otros tantos se han ido tratando por medio de injertos de hueso. Lo interesante y la mayor problemática de este tratamiento, es que para poder crear un buen injerto es necesario conocer la estructura del hueso y el cómo reacciona el cuerpo humano a diferentes materiales.

1.2 Estructura del hueso.

El término “**hueso**” se refiere a una familia de materiales, cada uno con un diseño estructural un poco diferente, pero todos están contruidos con un bloque básico formado de una fibra mineralizada: el colágeno³.

El hueso es el mayor tejido mineralizado del cuerpo humano. Siendo el 60 - 70 % de su peso fosfato de calcio, entre 20 - 30 % de su peso una matriz orgánica y un 10 % agua⁴. El hueso es un nanocompuesto con propiedades mecánicas únicas, las cuales están determinadas por su composición química y la organización de su estructura. En su artículo Weiner y Wagner³ hablan detalladamente de la estructura jerárquica, la cual dividen en siete niveles diferentes.

En grandes rasgos Weiner y Wagner nos dicen que; el primer nivel es el de los componentes mayores; las fibras de colágeno mineralizadas como el segundo nivel; el arreglo de estas fibras es el tercero; en el cuarto se tiene patrones de estos arreglos; las osteonas en el quinto; el hueso esponjoso y compacto como el sexto; y el último nivel, lo conforma el hueso completo (Figura 1.2). De esta estructura la matriz orgánica está formada por más del 90% de fibrillas de colágeno-I organizadas en láminas.

El resto de los componentes orgánicos son principalmente glucoproteínas como la osteonectina, proteínas ricas en ácido g-carboxiglutámico como la osteocalcina, y proteoglicanos de condroitín y queratán-sulfato (moléculas ricas en grupos ácidos con gran tendencia a asociarse entre sí, capaces de unirse al calcio, y desempeñar un papel importante en el proceso de mineralización de la matriz ósea)⁵.

El hueso tiene además sales minerales inorgánicas depositadas en el osteoide, que le dan al tejido su rigidez y dureza. Las más abundantes de estas sales son el fosfato de calcio amorfo y cristales de hidróxidos de calcio y fosfato, llamadas hidroxiapatita (HAp)⁶.

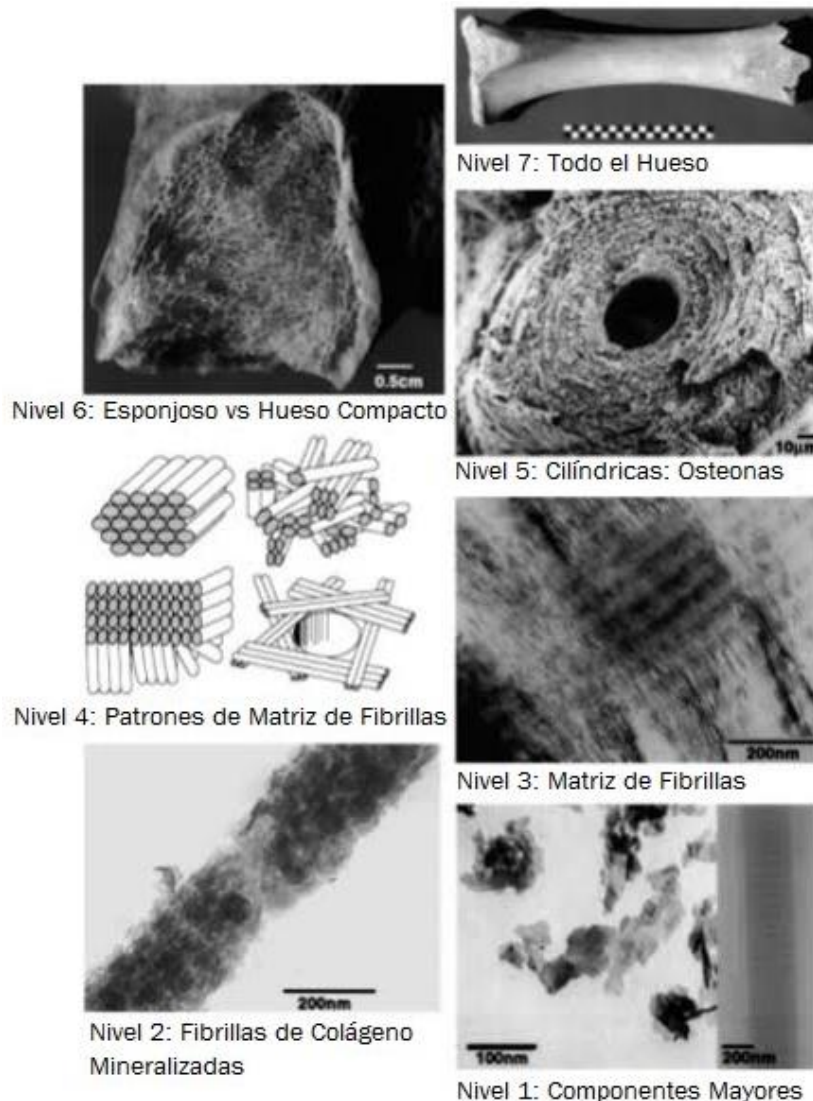


Figura 1.2: Jerarquía en la estructura del Hueso por Wagner y Weiner. Nivel 1: Cristales aislados del hueso humano (lado izquierdo) y parte de una fibra de colágeno desmineralizado de un tendón de pavo observado en hielo con TEM (lado derecho). Nivel 2: Micrografía de TEM de una fibra de colágeno mineralizado de un tendón de pavo. Nivel 3: Micrografía TEM de una sección delgada de un tendón mineralizado de pavo. Nivel 4: Cuatro patrones de arreglos fibrilares encontrados en la familia de materiales del hueso. Nivel 5: Micrografía SEM de osteonas del hueso humano. Nivel 6: Micrografía de luz de una sección fracturada a través de un fémur humano fosilizado (cerca de 5500 años). Nivel 7: Un hueso bobino entero (escala 10cm) ⁴.

La hidroxiapatita en los tejidos mineralizados es de gran importancia, ya que se ha demostrado⁶ que es un material biocompatible, con diferentes aplicaciones biomédicas, por ejemplo, en odontología, en cirugía maxilofacial, y en ortopedia. La hidroxiapatita se considera como el cristal principal de los huesos y dientes, ya que ésta les confiere de su dureza característica, y acompañada del colágeno, los huesos adquieren cierta elasticidad.

La hidroxiapatita ha sido ampliamente utilizada para injertos de hueso para tratar diferentes tipos de problemas en las personas. Como es el caso

de estudios conducidos por Rudolph Geesing et al.⁷, donde se demuestra que un compuesto de titanio recubierto con HAp para un reemplazo total de cadera llega a tener muy buenos resultados.

En capítulos siguientes se estudiará más a fondo la hidroxiapatita, ya que, para los injertos de hueso se deben considerar diferentes tipos; hueso autólogo; hueso homólogo; hueso heterólogo; así como materiales de relleno como cerámicas y resinas.

Actualmente el “patrón oro” es el injerto de hueso de la persona. A este tipo de injerto se le denomina hueso autólogo. Los injertos óseos de individuos de la misma especie se denominan huesos homólogos, e injertos de otra especie como huesos heterólogos. Todos estos materiales presentan sus ventajas y desventajas⁸. Cada material tiene además diferentes propiedades, tales como:

- **Osteogénesis:** la cual permite la síntesis de hueso nuevo a partir de células derivadas del injerto o del huésped.
- **Osteoinducción:** proceso por el que las células madre mesenquimatosas son conectadas en las zonas receptoras y a sus alrededores para formar condroblastos y osteoblastos.
- **Osteoconducción:** proceso en el que se forma un crecimiento tridimensional de capilares, tejido perivascular y células madre mesenquimatosas, desde la zona receptora del huésped hacia el injerto. Este andamiaje permite la formación de hueso nuevo mediante un patrón previsible, determinado por la biología del injerto y el entorno mecánico de la interfaz huésped-injerto.

De manera ideal un injerto óseo debe tener estas tres propiedades, además de ser biocompatible y proporcionar estabilidad biomecánica. En el cuadro 1.1 podemos ver algunas de las ventajas y desventajas que tiene estos diferentes materiales dentro del área médica.

Ahora que ya conocemos los diferentes tipos de materiales utilizados y algunas de sus propiedades para el desarrollo de estos materiales, también se debe de conocer el ambiente en el cual serán colocados, ya que dependiendo del sitio de colocación y el tipo de injerto utilizado, la recepción varía en tiempo, esta generalmente se divide en tres fases: La *fase temprana* que dura de una a tres semanas, la *fase intermedia* de 4 a 5 semanas y la *fase tardía* que dura de 6 a 10 semanas⁹.

Cada una corresponde a un desarrollo diferente en el mecanismo tan complejo que es el de sustituir un hueso. Para aclarar un poco, pero sin adentrarnos mucho en el tema, ya que se sale del propósito de esta tesis, en la fase temprana se produce la osificación membranosa, en la fase intermedia se incorpora y remodela el injerto y, en la fase tardía es donde se forma la mayor cantidad de médula ósea (Ver Cuadro 1.1).

Cuadro 1.1: Ventajas y desventajas de los diferentes materiales usados para injertos de huesos.		
Materiales	Ventajas	Desventajas
Material Autólogo	Económico. No antigénico. No transmite enfermedades. Osteoinducción.	Limitada disponibilidad. Morbilidad áreas donadoras. No se puede almacenar.
Material Homólogo	Gran disponibilidad. Almacenable. Osteoinducción leve. Osteoconductor.	Puede transmitir enfermedades. Proceso de elaboración costoso Posee poder antigénico.
Material Heterólogo	Elaboración industrial. Osteoconductor por excelencia. Nula reacción inflamatoria.	Posible transición del virus Epstein-Bar. Proceso de elaboración costos. No posee osteoinducción.
Material Alopástico	No transmite enfermedades. Osteoconducción. Disponibilidad ilimitada. Fácil manejo. Alto nivel de calidad. Almacenamiento sencillo.	No posee osteoinducción. Posible reacción de cuerpo extraño. Costo elevado.

1.3 Materiales para injertos óseos.

1.3.1 Materiales autólogos.

Ya se habló de los diferentes tipos de materiales que se pueden utilizar para los injertos de hueso, en esta sección se hablará de los materiales autólogos también llamados como materiales de autoinjerto óseo. Para realizar un trasplante de hueso este es tomado de una zona anatómica a otra en la misma persona. Como ejemplo, tomaremos una reconstrucción nasal, en la cual el tejido autólogo es la *norma de oro*. Su biocompatibilidad no se ha podido superar por ser de la misma persona así que por lo mismo tiene menor riesgo de infección y exposición.

El material autólogo utilizado para reconstrucción nasal incluye cartílago, hueso y tejido blanco. Para este tipo de procedimientos el cartílago se obtiene comúnmente del septum nasal, concha auricular y costilla. La desventaja de este material es la morbilidad del sitio donador, con tiempo quirúrgico adicional y mayores riesgos¹⁰. Además de que su disponibilidad es limitada, ya que si se quisiera preparar injertos grandes con este tipo de material lesionaría en gran medida al paciente.

Debido a este problema surgió la necesidad de desarrollar nuevos métodos, como por ejemplo el realizado por Noriyuki Yamamoto¹¹, en el que sugiere recolectar tejido óseo por aspiración y cultivarlo en un medio con 10 % de suero autólogo y 10 % de suero fetal bovino. Este trabajo según reporta le resultó satisfactorio para los 10 de los 10 pacientes que estudió, creciendo positivamente el material necesario para una reconstrucción mayor sin necesidad de usar la cantidad que con anterioridad provocaba estragos considerables en los pacientes.

Aun así, lo ideal para un implante sería que fuera; biológicamente inerte; similar al tejido en su textura y consistencia; de fácil implantación; modelado a la forma deseada; poseyera mínima morbilidad; no tóxico; mínimamente visible después de su colocación; y económico. Lo cual, hasta la fecha no ha podido ser desarrollado. Y aunque el método propuesto por Yamamoto

utiliza una menor cantidad de tejido óseo, sigue teniendo efectos secundarios sobre la zona extraída, esto continúa impulsando la búsqueda de alternativas.

1.3.2 Materiales homólogos.

En México se cuenta desde septiembre de 2000 con el Banco de Huesos y Tejidos del Servicio de Traumatología y Ortopedia del Hospital Universitario "Dr. José Eleuterio Gonzales", de la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), el cual ha proporcionado ya más de 4,200 tejidos, y que han sido utilizados en más de 2000 procedimientos quirúrgicos. De los cuales el 67% han sido realizados por cirujanos ortopedistas, utilizando mayormente el hueso¹².

La necesidad de contar con este banco de huesos surgió debido al incremento en la demanda de este material donante y a los problemas asociados a los materiales autólogos, tales como la morbilidad en el sitio operado del paciente, así como por la necesidad de una suficiente cantidad de material para cubrir múltiples defectos.

Actualmente existen tres tipos de huesos homólogos utilizados clínicamente: el hueso homólogo mineralizado, el alógeno seco, el congelado y el desmineralizado (descalcificado). Entre ellos el usado rutinariamente es el mineralizado, y tanto el hueso ilíaco esponjoso congelado y la médula son usados esporádicamente ¹³.

Los materiales homólogos tienen la ventaja de que su procedimiento de implantación es menos traumático, requiere de menor tiempo quirúrgico, además de que tiene una recuperación funcional y laboral más rápida. Las desventajas de este tipo de materiales es que tienen mucho mayor costo, y debido a que vienen de otras personas, estos tienen la posibilidad de transmisión de enfermedades, la incorporación es más lenta, además de la irradiación que disminuye la resistencia de los injertos ¹⁴.

1.3.3 Materiales aloplásticos.

Los materiales aloplásticos son polímeros sintéticos biocompatibles desarrollados para ser utilizados en cirugía. Por mencionar un ejemplo, en los últimos años se ha introducido su uso en las rinoplastias, pero este tipo de materiales han sido utilizados en procedimientos quirúrgicos desde 1930¹⁵.

Los materiales aloplásticos tienen la ventaja de acortar los tiempos de reconstrucción, su disponibilidad es casi ilimitada y con sus propiedades pueden ser específicamente diseñados. Dentro de sus desventajas se encuentran el riesgo de incompatibilidad, incluso años después de la cirugía, riesgo de infección, migración y la posibilidad de cambios en sus propiedades físicas luego de su colocación. Entre los materiales aloplásticos más utilizados están el silicón y las cerámicas¹⁶.

Uno de los implantes nasales más comúnmente usados en los últimos 40 años, ha sido el silicón. El silicón está compuesto por subunidades repetidas de dimetilsiloxano, puede producirse en forma sólida o líquida, y se ha utilizado para aumento del dorso nasal, punta nasal, etc. Sus propiedades no porosas reducen la probabilidad de infección bacteriana dentro del implante, pero evitan la estabilización del implante por falta de crecimiento de tejido circundante en su interior.

Para que se permita la vascularización y provea un área de adherencia a las células osteogénicas, los materiales osteoconductivos deben tener porosidades, con tamaño del poro óptimo entre 100 y 500 μm ^{8 y 10}. Esta es una de las razones principales por las que el silicón no es el óptimo, y en conjunto con las anteriores desventajas es que se busca utilizar otros tipos de materiales como los compuestos de fosfato y calcio, entre ellos uno de los fundamentales para la realización de esta tesis: la hidroxiapatita.

2 Hidroxiapatita.

2.1 Metas y propósitos de la tesis.

En el capítulo anterior se dio a conocer la estructura del hueso, los diferentes niveles de jerarquía que existen en su formación y los diferentes materiales que lo forman, entre ellos: el colágeno, el calcio, agua y otros más. Debido a la gran demanda y a la escasez que existe de recursos, es necesario buscar diferentes maneras de obtener compuestos que se asemejen lo más posible al hueso. Por lo que uno de los propósitos de esta tesis es el de proponer un material para su posible uso en prótesis, e incluso en estructuras más fuertes.

La manera en que la naturaleza crea las partes duras en los seres vivos ha sido un tema fascinante por mucho tiempo. Uno de los aspectos más interesantes, es que estas formas tan complejas, y tan duras de los seres vivos están formadas por superficies senoidales, las cuales no nos permiten reconocer a primera vista la geometría dictada, y tan característica, de la fase cristalográfica de los minerales. En los cristales abióticos clásicos su forma cristalina final se define por el arreglo de sus átomos en su estructura.

Los primeros trabajos a finales del siglo 19 por Pieter Harting fueron dedicados a conocer la manera en que la naturaleza crea estas formas tan increíbles. No tardaron mucho en darse cuenta de que la formación de estas estructuras funcionales tan complejas está íntimamente relacionada con las interacciones de la materia orgánica con la inorgánica. Sus hallazgos fueron basados en la precipitación de las llamadas “calcosferitas”, las cuales semejan a ciertos biominerales y se logran combinando sales inorgánicas con material biológico ¹⁷ (Figura 2.1).

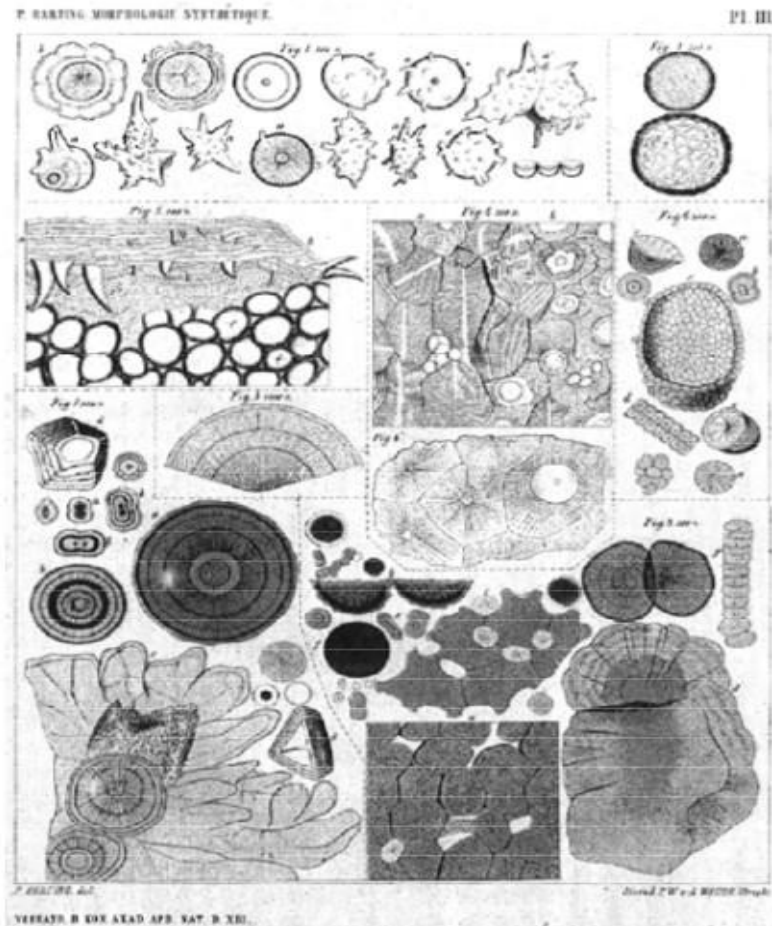


Figura 2.1: Dibujo a mano de Harting demostrando la compleja morfología y microestructura de materiales biológicos inorgánicos (P.Q. Harting. *J. Microsc. Sci*, 12:118–122, 1872.).

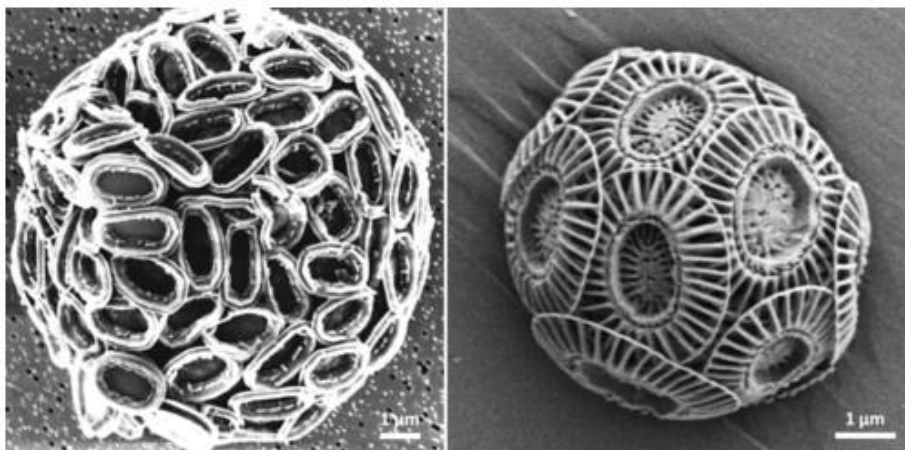


Figura 2.2: SEM de una hoja de coccolita (cocoefera) la cual envuelve cada célula de *Pleurochrysis carterae* (izquierda) y *Emiliana huxleyi* (derecha) (P.Q. Harting. *J. Microsc. Sci*, 12:118–122, 1872.)¹⁷.

Con esas bases, se realizaron numerosas investigaciones para develar los principios del diseño de ciertos tipos de biominerales (figura 2.2) y, a su vez, esclarecer los detalles del mecanismo de formación de tan elaborados

compuestos orgánicos-inorgánicos¹⁷.

Los biominerales están en todas partes, si miramos a nuestro alrededor, podemos vernos rodeados de ellos en una infinidad de formas. Ya sea como corales, colinas de hormigas, en las cuevas, las conchas de los moluscos, rocas hasta incluso en los dientes y huesos. Con tan basta cantidad de formas, tan interesante tema no podía pasar desapercibido en el mundo científico, tan es así que, durante los últimos años, este tipo de bioestructuras ha motivado la investigación y el desarrollo de estos materiales. Por ejemplo, una de las aplicaciones más importantes que ha surgido del estudio de la biomineralización está en el tratamiento de patologías médicas o heridas en tejidos calcificados.

Hasta ahora, la mayoría de las propiedades superficiales de los implantes tienen un papel fundamental en el arreglo del tejido óseo, afectando así la duración de su funcionamiento¹⁹. Sin embargo, los implantes de material artificial colocados en defectos óseos son normalmente encapsulados por un tejido fibroso, aislando al hueso que los rodea, comprometiendo de esa manera su uso en la reparación del hueso. Esta tendencia ha ido superándose con el uso o el recubrimiento del implante de cerámicas bioactivas, las cuales se integran espontáneamente con el hueso *invitro*²⁰.

Las propiedades de este tipo de materiales cerámicos son bien conocidos, entre estos materiales se encuentran: la hidroxiapatita (HAp), algunos fosfatos de calcio y varios tipos de vidrios bioactivos. Cuando alguno de estos materiales cerámicos es colocado en tejido óseo, estos promueven la formación de hueso, y adherencia al mismo a diferentes tiempos. Por ejemplo, tomemos a la hidroxiapatita estequiométrica cuya fórmula química está dada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, y la cual se encuentra dentro de los fosfatos de calcio más estables²¹ al presentar similitud fisicoquímica y mecánica con el tejido óseo.

La HAp se comporta como una estructura osteoconductiva que permite ser invadida por tejido conectivo proveniente del hueso circundante para

posteriormente osificarse²², es por ello que, a pesar de que hay una lista con una gran cantidad de materiales utilizados para reemplazar, sustituir o restaurar el tejido óseo dañado, es la hidroxiapatita quien ha venido tomándose como primera opción en el desarrollo de estos materiales. Para su elaboración existen diferentes métodos, de los cuales fueron utilizados algunos para el desarrollo de esta tesis, y que se explicarán a detalle en los siguientes apartados.

2.2 Justificación de la Hidroxiapatita como material de estudio.

La hidroxiapatita (HAp) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados, pero también se puede encontrar en la dentina y el esmalte dental. Este fosfato de calcio, presenta características de biocompatibilidad, de no toxicidad, estabilidad química, osteoconducción y bioactividad²³; estas propiedades hacen que sea un material muy práctico y por lo tanto muy utilizado en la medicina. En la naturaleza las apatitas se pueden encontrar formando parte de las rocas sedimentarias y metamórficas. Y en los huesos se encuentra siempre acompañada de estructuras orgánicas como el colágeno. Otras apatitas de importancia biológica son la fluapatita y la cloroapatita²⁴.

El estudio de la HAp se ha realizado desde hace mucho tiempo, Aaron y Posner (1958) propusieron su estructura cristalina a partir del análisis de un monocristal. Este fosfato cristaliza en el sistema hexagonal, grupo de simetría P63/m, con valores de red $a=b=6, 88$ ángstroms (Figura 2.3).

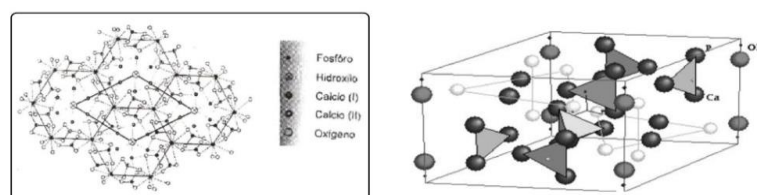


Figura 2.3: Arreglo atómico en la celda unitaria hexagonal de la hidroxiapatita, mostrando las posiciones atómicas del Ca, P, O e H dentro de la celda unitaria ^{23, 24}.

Como se observa en la figura, los principales componentes químicos de la hidroxiapatita son el calcio y el fosfato. Sin embargo, la HAp natural contiene porcentajes pequeños de sodio, cloro, carbonatos y magnesio, los cuales juegan un papel importante en la función de remodelación del hueso. Las hidroxiapatitas sintéticas se obtienen a partir de fosfatos dicálcicos y tricálcicos a través de un proceso de síntesis relativamente simple, tal como se verá en futuras secciones. Estas presentan una baja resistencia mecánica, y se disuelven fácilmente, lo cual no es deseable al utilizarse como biomaterial de sustitución ósea^{22, 25 y 26}.

La resistencia mecánica de la HAp depende del tamaño de grano, su distribución, la porosidad y de otros defectos microestructurales, por lo que la HAp ha sido sintetizada por diferentes métodos, entre los que se encuentran: el de precipitación²⁷, el proceso sol-gel²⁸, el de combustión, hidrotérmico²⁹, síntesis con pirosol³⁰, etc. Se ha intentado por todos estos métodos con la finalidad de reproducir mejor las características del hueso, ya que actualmente uno de los principales enfoques de la ingeniería de tejidos, es la regeneración ósea, para lo cual es necesario considerar la producción de materiales biocompatibles.

En esta tesis se desarrollan cerámicas porosas con un rango de tamaño de poro de 20 μ m a 50 μ m y de 100 μ m a 350 μ m, que son los tamaños necesarios para cumplir con las funciones involucradas con la osteointegración. Los poros de 20 μ m a 50 μ m de diámetro pueden favorecer la función de intercambio de líquido fisiológico mientras que los poros de 100 μ m a 350 μ m de diámetro dan mejor lugar a la colonización celular y la vascularización llevando a una penetración ósea en estructuras cerámicas³¹.

2.3 Síntesis de hidroxiapatita.

Cómo se habló con anterioridad, para obtener los mejores resultados se tiene que estudiar la hidroxiapatita no con solo un método de síntesis, sino con diferentes. Es por eso que los apartados de este capítulo se dedicarán exclusivamente a dos métodos, que son los utilizados en esta tesis.

La obtención de hidroxiapatita sintética implica la reacción de materiales que aporten los iones de calcio y fósforo. Como fuentes de calcio se han empleado: $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, CaCl_2 , CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Ca_2HPO_4 , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y como fuentes de fósforo, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , P_2O_5 entre otros.

2.3.1 Método hidrotermal.

El método hidrotermal incluye varias técnicas para cristalizar sustancias de soluciones acuosas a altas presiones y temperaturas. Este método puede ser definido como un método de síntesis de un cristal simple que depende de la solubilidad del material en agua caliente y bajo presión alta. Para el crecimiento del cristal se utiliza una cabina de presión de acero "autoclave", en la cual suministraremos un precursor junto con agua. De esta manera el gradiente de temperatura se mantiene entre los extremos opuestos de la autoclave. En el extremo más caliente el soluto precursor se disuelve, mientras en el lado menos caliente es depositado en una semilla cristal, obteniendo así el cristal deseado³².

En particular, el método hidrotermal tiene muchas ventajas importantes sobre los otros métodos de síntesis en ingeniería de polvos cerámicos, debido al efecto del fluido hidrotermal en materiales sólidos³³.

2.4 Sección Experimental.

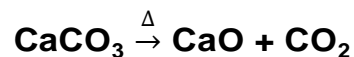
2.4.1 Por medio del método hidrotermal

En este método de síntesis se siguió la propuesta realizada por Elizondo-Villarreal, et al.³³, donde se utiliza cascarón de huevo como fuente de CaCO₃. El cual tiene bastante relevancia, ya que en el mismo artículo se menciona que tan solo en México, se tiran cerca de 480,000 toneladas de cascarón de huevo al año. Y, aunque es usado en pequeñas proporciones como fertilizante, la mayoría son desechados.

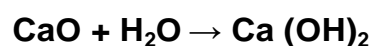
i) Preparación del cascarón de huevo.

Con el fin de limpiar lo mejor posible el cascarón de huevo obtenido de huevo de gallina de granja, este se sumergió en agua destilada por un período de una semana. Después el cascarón fue filtrado y limpiado nuevamente con agua destilada. El cascarón fue secado a 90°C y llevado a molienda en un molino de alta eficiencia. El tamaño esperado debe de ser aproximadamente de 53µm a 75µm para sus diversas aplicaciones.

El polvo obtenido se pasó a un horno para tratamiento térmico, el cual consistió en la calcinación llevándolo a una temperatura de 700°C durante cinco horas, asegurando de esta manera la eliminación de compuestos orgánicos. Una vez alcanzada la temperatura de 700°C, el calcio reaccionó liberando dióxido de carbono y dando como producto final el óxido de calcio deseado, lo cual viene dado por la siguiente reacción:

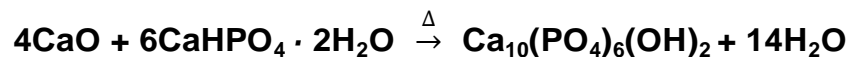


En este proceso se generó una variación debido a que al ser el óxido de calcio un componente muy higroscópico y, al no poder tener control sobre la humedad del ambiente, se presentó una hidratación, dando como resultado hidróxido de calcio (Ca(OH)₂).



ii) Preparación de la Hidroxiapatita

Para la síntesis de hidroxiapatita se combinó fosfato de calcio di básico ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) comercial con el $\text{Ca}(\text{OH})_2$ obtenido del cascarón de huevo. Sin embargo, cabe señalar que para varios procesos de síntesis de hidroxiapatita es importante establecer una relación donde se elija la concentración de los reactivos iniciales, de tal forma que la relación **Ca/P** sea igual a 1.67, que en nuestro caso es el valor óptimo para asegurar la estabilidad en los diferentes procesos. La reacción fue hecha en un parr de alta presión en donde se adicionó ácido acético (vinagre blanco comercial) hasta llevar la solución a un $\text{pH} = 5$. Una vez obtenido el pH deseado, se llevó la autoclave al horno y se calentó a 170°C durante cuarenta y ocho horas. El polvo resultante fue lavado con agua destilada, para después ser filtrado y secado a 150°C por dos horas. Finalmente, para deshidratarlo, se llevó al horno eléctrico a una temperatura de 500°C por el mismo tiempo de dos horas. La reacción de este proceso está dada por:



2.5 Resultados y Conclusiones

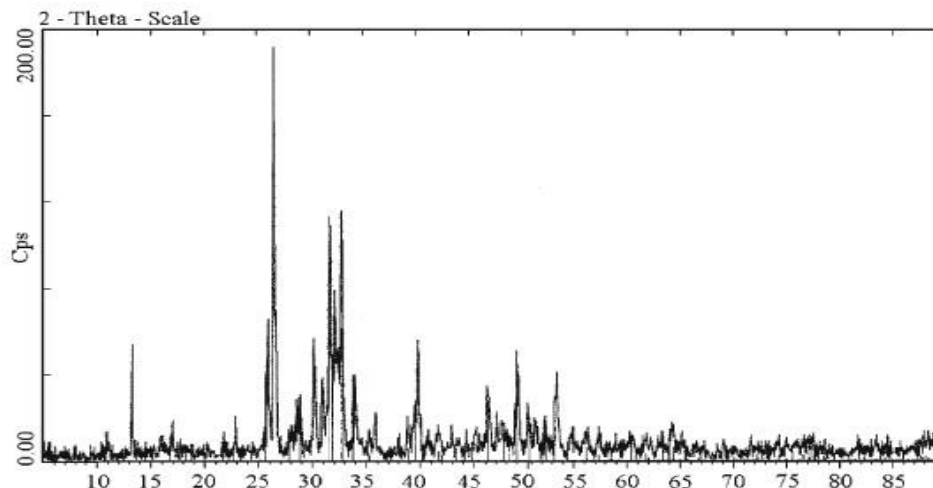


Figura 2.4: Difracción de Rayos X después de la reacción a partir de cascarón de huevo y fosfato de calcio dibásico comercial.

Mediante el método hidrotérmal se pudo obtener con éxito hidroxiapatita a partir de cascarón de huevo, resultado además como fue descrito por Elizondo-Villareal et al³³, un método económico, relativamente sencillo y rápido.

Como uno de los objetivos de la tesis es proponer un material que sea adecuado en aplicaciones médicas, es importante que el producto obtenido sea HAp y CaHPO_4 , con una morfología de agujas para la HAp.

Las características fisicoquímicas de la HAp obtenidas, como se demuestra en las figuras 2.4 y 2.5 (esta obtenida en microscopio electrónico de barrido), hacen que sea candidata para utilizarse en aplicaciones médicas. Tal es el caso, que este tipo de HAp ha sido utilizada en prótesis dentales²⁴, cumpliendo así con uno de los requisitos para trabajos futuros a partir de la presente tesis.

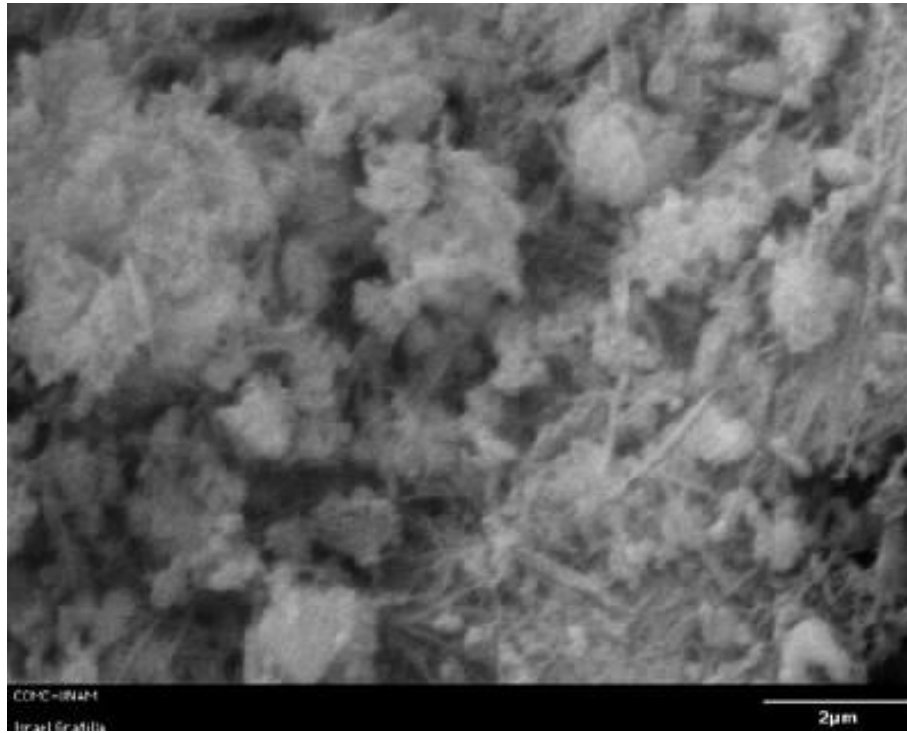


Figura 2.5: Morfología del polvo de hidroxiapatita, resultado de la reacción hidrotérmica en las condiciones descritas.

Biomorfos

2.6 Marco teórico.

2.6.1 Biomineralización.

Tradicionalmente, la morfología de los minerales podía ser dividida respecto a su origen, en aquellos producidos por organismos vivos (biominerales), y por aquellos creados en ambientes totalmente inorgánicos y sin vida (figura 3.1). Estos últimos por lo general presentan estructuras cristalinas clásicas, por lo que sus caras suelen ser regulares y seguir ciertas restricciones simétricas. En contraste, los biominerales exhiben una arquitectura más elaborada que suele estar fuera de las restricciones cristalográficas, por lo que muy difícilmente se puede observar el orden atómico de su fase cristalográfica.



Figura 2.6: Morfología Inorgánica vs *Orgánica*. Izquierda: Megacristales encontrados en las cuevas de la mina de Naica en Chihuahua México, en las cuales se observan caras prismáticas bien definidas³⁴. Derecha: Fotografías de la mitad de una concha de un cefalópodo (arriba) y un coral cerebro (abajo). Se pueden observar fácilmente las curvas suaves y la falta de cualquier tipo de simetría cristalográfica.

Los biominerales son ejemplo de la increíble habilidad de la naturaleza para poder producir compuestos biorgánicos-inorgánicos a varias escalas de longitud; i.e., desde la escala nanométrica a la macroscópica. Estos biominerales exhiben diferentes formas geométricas que pueden ser clasificadas tanto como policristalinas amorfas o como estructuras de un

cristal simple. Estos materiales tan asombrosos tienen múltiples funciones en la naturaleza; por ejemplo, muchos seres vivos (humanos, aves, así como corales y moluscos) incorporan minerales a su estructura corporal como soporte, protección o procesos celulares.

Por esta razón biólogos, químicos, físicos, e ingenieros forman grupos de investigación con el mismo objetivo: el de sintetizar materiales idénticos a aquellos que la naturaleza produce. Creando de esta manera una nueva área de investigación científica llamada *biomimética*. El término se deriva de “*bios*”, que significa vida, y “*mimesis*”, que significa imitar. Por lo que esta nueva área representa el estudio y la mímica de los métodos de la naturaleza, sus diseños y sus procesos.

La biomineralización es un proceso por el cual los organismos vivos forman estructuras inorgánicas³⁵. Biológicamente, se conocen dos maneras distintas de generar biominerales; La *mineralización biológicamente inducida* y la *mineralización biológicamente controlada*³⁶. La diferencia se encuentra en que mineralización biológicamente inducida, es el organismo quien modifica su entorno local creando condiciones favorables para una precipitación química. Por lo que este proceso es incontrolable e irreproducible.

De los ejemplos mejor conocidos de este tipo de mineralización inducida se encuentran la mineralización patológica, como las piedras biliares, y la deposición de minerales por bacteria³⁷. En contraste, la *mineralización biológicamente controlada* es un proceso altamente regulado³⁶, el cual ocurre en dos sitios biológicos, y envuelve dos pasos; el primero es la absorción selectiva de elementos del ambiente; y el segundo es la incorporación a biominerales bajo control biológico y químico.

El mediador clave en este proceso es un marco macromolecular insoluble preformado presente en el ambiente, y llamado matriz orgánica^{36, 38}. La matriz subdivide los espacios mineralizados, juega un importante papel en el control del crecimiento del cristal en la formación de las partes duras, ya

que ofrece el soporte estructural y la fuerza mecánica al organismo. La matriz orgánica que se encuentra en los huesos, conchas y plantas es el colágeno, el quitosán y la celulosa respectivamente^{38, 39, 40}. Encontrar la manera de imitar y entender ambos procesos de mineralización es importante para campos como la paleontología, la química marina, la física, medicina, etc.

2.6.2 Mineralización del carbonato de bario.

Ion bario, Ba²⁺

El bario “**Ba**” es un miembro del grupo II de los elementos en la tabla periódica, junto con el berilio “Be”, magnesio “Mg”, calcio “Ca” y estroncio “Sr”, los cuales todos son metales altamente electro-positivos. Tiene número atómico de 56, y una masa atómica de 137. Su estado de oxidación 2⁺, y es químicamente similar a los elementos alcalinos térreos más pesados Ca y Sr.

Los minerales más comunes de bario son la barita BaSO₄ y la witherita (o carbonato de bario, BaCO₃)⁴¹, ambos insolubles en agua. El nombre de bario se origina del griego βαρυς (barys) que “significa pesado”⁴². El bario se identificó como nuevo elemento en 1774, pero no fue reducido a metal hasta 1808, y no fue hasta que las técnicas de separación electrolítica estuvieron disponibles⁴³.

El bario tiene siete diferentes isótopos naturales; ¹³⁰Ba, ¹³²Ba, ¹³⁴Ba al ¹³⁸Ba, de los cuales el ¹³⁸Ba es el más abundante con un 71.7 % de la masa total⁴¹, el gran rango de usos del bario es gracias a la química de este elemento (como la estructura molecular, la geometría irregular, su estado de valencia, la fuerza de enlace, su potencial de ionización y los parámetros cinéticos en las reacciones biológicas). Sus propiedades químicas son similares a las del calcio y el estroncio, ya que se ha visto que estos son capaces de sustituir los requerimientos de los iones de Ba²⁺ por ejemplo en la regularización de la actividad de las enzimas^{44, 45}.

Ion Carbonato, CO_3^{2-}

El ion carbonato es un anión poliatómico que está formado por un átomo de carbono central, rodeado de tres átomos de oxígeno idénticos en un arreglo triangular plano, con ángulo de enlace O-C-O de 120° . Se obtiene al disolver dióxido de carbono en agua. De acuerdo a la Ley de Henry, el dióxido de carbono $\text{CO}_{2(g)}$ se disuelve en agua y reacciona con ella formando ácido carbónico, H_2CO_3 . El ácido carbónico es un intermediario inestable de la reacción, aislado por primera vez por Loerting et. al^{46, 47}.

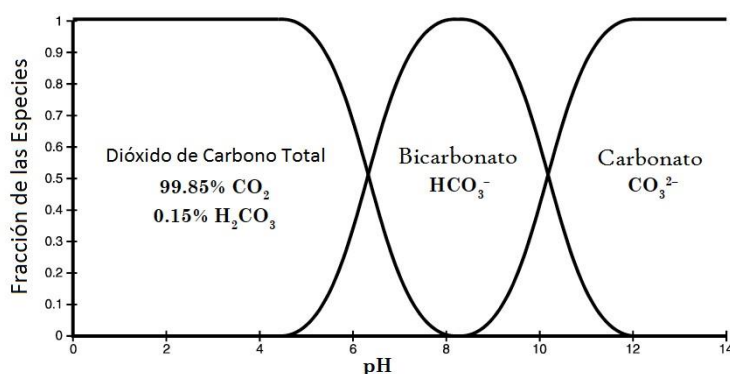
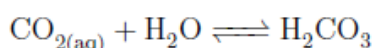
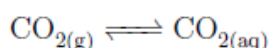
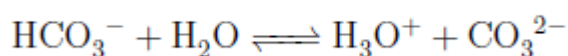
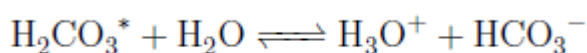


Figura 2.7: Distribución de las especies de carbonato con relación al pH de la solución. H_2CO_3 , representa la suma del CO_2 y H_2CO_3 disueltos, y predominan en un rango de pH bajo. H_2CO_3^- es la especie más abundante en los valores intermedios de pH; $\text{H}_2\text{CO}_3^{2-}$ domina en los valores altos de pH. (Gráfica tomada de la referencia 48).

Solo cierta cantidad del CO_2 existe como H_2CO_3 .



En soluciones líquidas, el ácido carbónico está en equilibrio con dióxido de carbono hidratado, H_2CO_3 (convencionalmente, ambos son tratados juntos como si fueran una sustancia), y disociados en dos pasos⁴⁸:



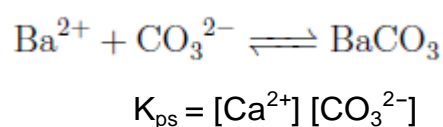
Las concentraciones relativas del H_2CO_3^* y las formas desprotonadas,

HCO₃⁻ (bicarbonato) y CO₃²⁻ (carbonato), dependen del pH como se muestra en la figura 3.2.

2.6.3 Vista clásica de la cristalización.

El crecimiento de los cristales es un proceso de difusión e integración, modificado por el efecto de la superficie sólida en la cual ocurre. Las moléculas/iones del soluto llegan a fases de crecimiento de un cristal por difusión a través de una fase líquida, y en la superficie, deben de organizarse en una red espacial a través de una capa absorbida. Aunque, ni la etapa de difusión, ni la etapa interfacial se producirán a menos que la solución esté supersaturada⁴⁹.

Las sales de carbonato de bario se forman cuando los iones positivos del calcio se juntan con los átomos de oxígeno negativamente cargados de los iones del carbonato. El comienzo de los cristales de BaCO₃ en la solución es determinado por un factor crítico llamado producto de solubilidad K_{ps} el cual indica el nivel de supersaturación de una solución. Cuando el producto de solubilidad es menor al producto de actividad K_{pa} de una solución entonces la precipitación ocurre hasta que K_{ps} = K_{pa}.



La figura 3.3 muestra esquemáticamente el mecanismo propuesto por Nielsen⁵⁰.

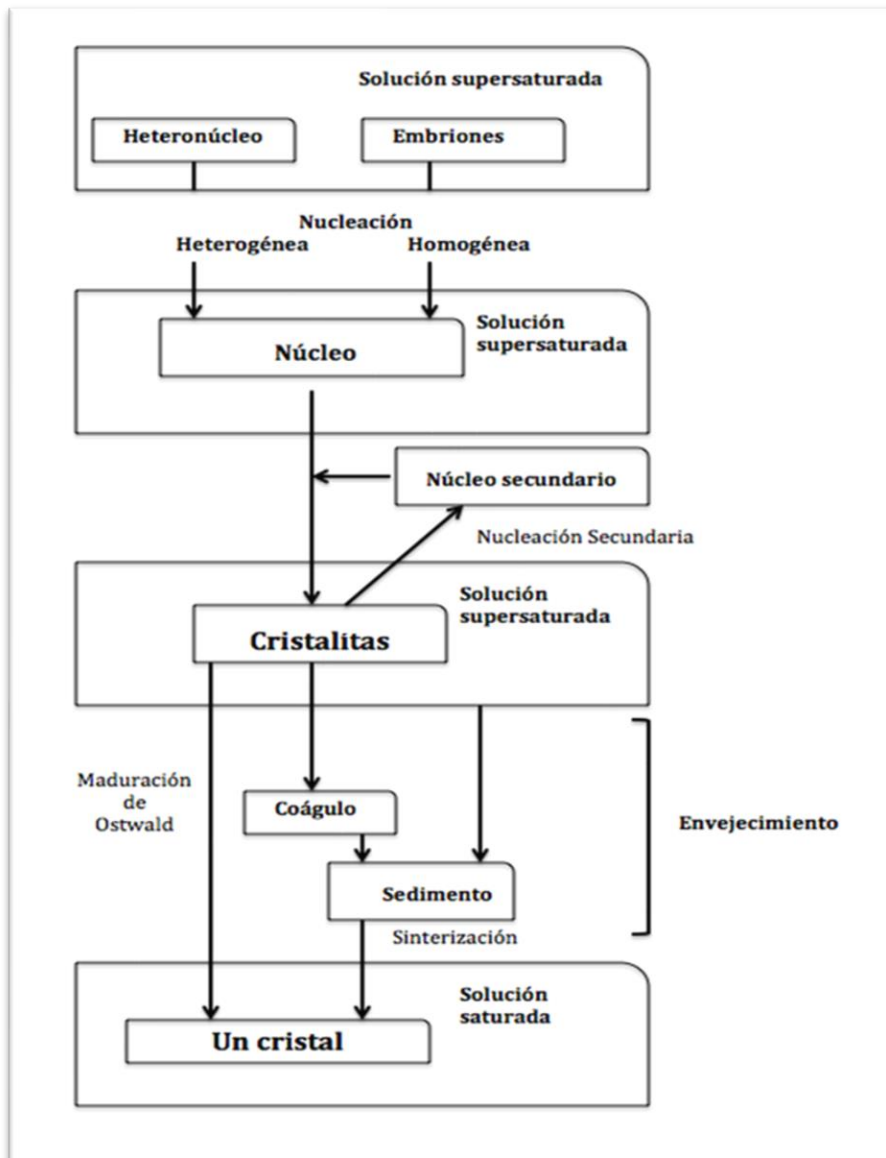


Figura 2.8: Un concepto del proceso de cristalización redibujada de Nielsen⁵⁰.

En la figura podemos observar que el crecimiento de los cristales desde la solución involucra dos procesos mayores:

- I. La transportación de masa desde la solución a la superficie del cristal por difusión, convección o la combinación de ambos mecanismos.
- II. La incorporación del material a la red cristalina a través de la integración superficial, también conocida como proceso de reacción superficial.

En otras palabras, este proceso se divide en la formación del núcleo (nucleación) y el crecimiento cristalino. De igual manera, la incorporación del material a la red cristalina puede ser subdividido en tres diferentes etapas⁵⁰:

- I. Absorción de la unidad del cristal primeramente en la superficie cristalina.
- II. Liberación de su capa de solvatación, después del cual la unidad de crecimiento se difunde en la capa de absorción hasta que se incorpora a la red o deja la capa de absorción y regresa a la solución.
- III. Si la unidad de crecimiento llega a un punto en el cual puede ser construida en la red, pierde su capa de solvatación restante antes de la incorporación final de la red.

2.6.4 Nucleación.

Existen dos tipos de nucleación: la *nucleación homogénea* y la *nucleación heterogénea*. La primera ocurre espontáneamente y aleatoriamente en soluciones supersaturadas libres de objetos externos. El núcleo se forma a través de asociaciones de solutos. En cambio, la nucleación heterogénea involucra la formación del núcleo absorbiendo a los solutos en la superficie de las partículas del sólido heterogéneo (impurezas) presente en la solución. Las cuales pueden actuar como molde para la cristalización⁵¹.

Cuando un núcleo se forma, se crea una superficie que separa dos volúmenes, llamados el cúmulo y la solución. La energía libre de formación de un cúmulo ΔG_N , es la suma entre la superficie interfacial ΔG_I , y las energías de empaquetamiento ΔG_B ⁵¹. Asumiendo que el cúmulo tiene forma esférica, ΔG_B tiene valor negativo y es proporcional al cubo del radio del cúmulo donde ΔG_I tiene valor positivo y es directamente proporcional a r^2 , esto se puede expresar de la siguiente manera:

$$\Delta G_N = \Delta G_B + \Delta G_I = -\frac{4\pi r^3}{3V} \Delta G_V + 4\pi r^2 \sigma$$

Donde ΔG_V representa la energía libre por mol asociado con el cambio de fase sólido-líquido, V el volumen molar y σ la energía interfacial libre por unidad de área superficial.

Como se puede observar en la figura 3.4, la curva ΔG_N muestra un máximo que corresponde al tamaño crítico del cúmulo, r^* . Este es el tamaño mínimo que debe ser formado por los átomos antes de que la partícula sólida sea estable y comience a crecer. La energía requerida para la formación de un radio crítico $r^* = \frac{2\sigma V}{\Delta G_V}$, es llamada, energía de activación para nucleación homogénea, y es dada por:

$$\Delta G_V^* = \frac{16\pi\sigma^3 V^2}{3(kT \ln S_R)^2}$$

La energía de activación depende de la energía interfacial del núcleo crítico y el nivel de supersaturación (S_R). Así, cuando el cúmulo llega a cierto tamaño crítico, el término del volumen se incrementa, y la energía libre decrece^{51, 54, 55}.

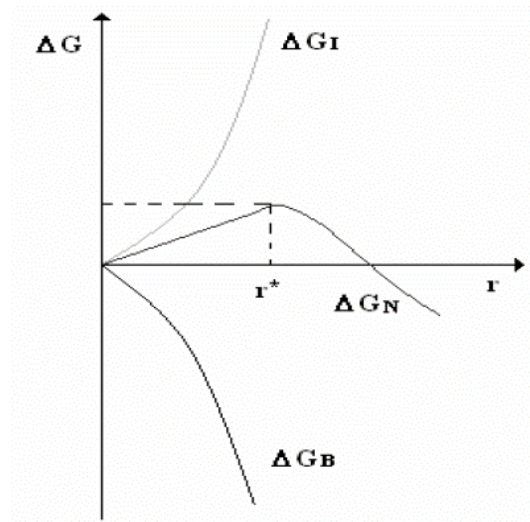


Figura 2.9 Energía libre de nucleación como función del tamaño del núcleo ⁵¹.

2.6.5 Crecimiento de Cristales

Como se vio en el apartado anterior, el crecimiento del cristal es un proceso de difusión e integración que solo pueden ocurrir cuando la solución está supersaturada. Pero cuando los niveles de supersaturación llegan al equilibrio es cuando el crecimiento del núcleo cristalino sucede.

La razón de crecimiento general⁵⁴, está dada por:

$$R=A(S_A)^x$$

Donde la A es la razón constante y S_A es la diferencia de potencial químico entre la fase sólida y la líquida. El crecimiento espiral y el crecimiento en capas por nucleación en dos dimensiones, son un mecanismo de crecimiento del cristal.

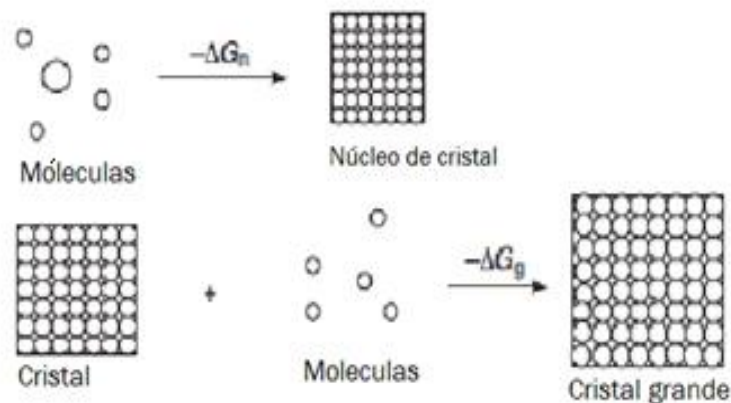


Figura 2.10: Estructuras de interface y tres tipos de mecanismos de crecimientos. R, razón de crecimiento; $\Delta\mu/kT$ Diferencia de potencial químico entre la fase sólida y líquida; A, B, constantes⁵⁴.

Este crecimiento se espera que suceda en superficies suaves, por lo que los términos “plano completo”, “plano singular”, e “interface suave” han sido utilizados para denotar esta interfaz.

En contraste con la interfaz suave, una interfaz que consiste únicamente en pliegues es llamada “interfaz áspera⁵⁶”. En donde partículas cristalizantes que llegan a esas interfaces ásperas pueden inmediatamente encontrar sitios para incorporarse en el cristal.

El mecanismo de crecimiento de tal interface es de tipo adhesiva y la interfaz avanza homogéneamente, no en dos dimensiones (Figura 3.6).

$$R = A (\Delta\mu/kT) \quad R = A \exp(-B/\Delta\mu/kT) \quad R = A (\Delta\mu/kT)^2$$

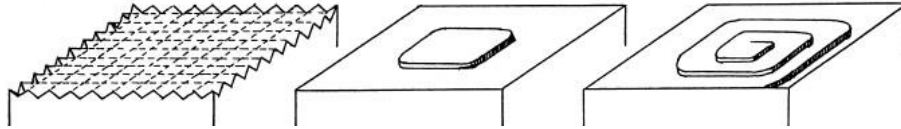


Figura 2.11 Estructuras de interface y tres tipos de mecanismos de crecimientos. R, razón de crecimiento; $\Delta\mu/kT$ es la diferencia de potencial químico entre la fase sólida y líquida; A y B constantes⁵⁴.

Dependiendo del tipo de interfaz, existen tres mecanismos de crecimiento; de tipo adhesivo, de crecimiento del núcleo en dos dimensiones y de mecanismos con crecimiento espiral. Cabe señalar que la relación entre la razón de crecimiento y el potencial químico son diferentes como se ilustra en la figura 3.6. De esta manera, se puede entender que la estructura de la interfaz sólida/líquida, suave o áspera, es de vital importancia en el estudio de los mecanismos de crecimiento y la formación de cristales.

Tres acercamientos teóricos a este problema y que son considerados como contribuciones importantes son; la clasificación extensa de materiales hecha por K.A. Jackson usando un factor- α ⁵⁷, el modelo múltiple por D. E. Temkin⁵⁸, y la generalización del factor- α por P. Bennema y G. H. Gilmer⁵⁹. En la Figura 3.7(a) y (b) se ilustran los resultados obtenidos por Jackson y Temkin. Como se muestra en la Figura 3.7(a), los materiales con $\alpha < 2$ tienden a valores de energía mínimos con una ocupación de 0.5, mientras que aquellos con $\alpha > 2$ tienden a una energía mínima en ocupaciones 0 y 1. De estas la primera corresponde a una interface áspera, y la última a una interface suave $\alpha = \varepsilon L/kT_M$, donde L denota el calor latente, k la constante de Boltzmann y T_M la temperatura de equilibrio, con ε siendo el factor de orientación.

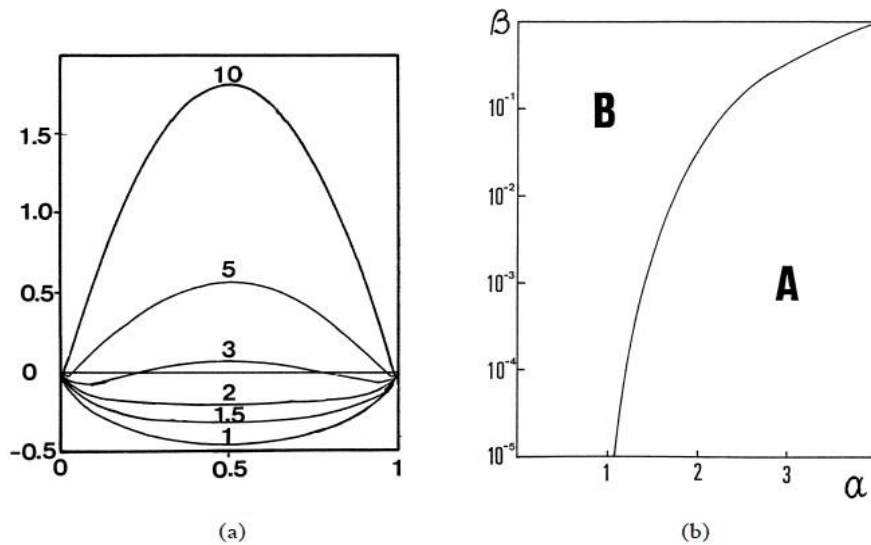


Figura 2.12 Los resultados obtenidos por Jackson⁵⁷ (a) y Temkin⁵⁸ (b). En (a) el eje vertical representa la energía libre de cambio, el eje horizontal los sitios ocupados. En (b), la región A corresponde al área donde se espera un interfaz suave, y B donde se espera un área rugosa. El eje vertical representa la fuerza impulsora β y el eje horizontal a α .

Los metales usualmente tienen valores de $\alpha < 2$, los semiconductores $3 > \alpha > 2$, y los minerales de silicio o los polímeros cristalinos con estructuras complicadas valores de $\alpha > 3$. La clasificación de Jackson es útil para la calificación de materiales en dos grupos que energéticamente se espera que tengan interfaces suaves o rugosas, pero solo puede ser utilizada como criterio en el crecimiento de cristales en solución o en fase gaseosa y, en el crecimiento cristalino que ocurre por debajo de T_M . Bennema y Gilmer⁵⁷ generalizaron la expresión del factor α , tomando a consideración las interacciones de energía del soluto-solvente, así como las temperaturas de crecimiento en lugar de la temperatura de equilibrio, para que el concepto de factor- α pudiera ser aplicado a sistemas reales de crecimiento.

El factor- α generalizado es expresado de la siguiente manera:

$$\alpha = \varepsilon \frac{\{\varphi_{sf} - \frac{1}{2}(\varphi_{ss} + \varphi_{ff})\}}{kT_G}$$

En donde φ_{ss} , φ_{sf} , φ_{ff} son denotados como interacciones de energías sólido-sólido, sólido-fluido, fluido-fluido respectivamente, y T_G , como la temperatura de crecimiento.

Como se puede observar en la figura 3.7 (b), los resultados de Temkin muestran que la interfaz áspera no es controlada solamente por el factor α , sino también por β , el cual corresponde a la fuerza impulsora. Se ha observado que la interfaz suave (región A) se transforma en la región áspera (región B) al incrementarse β . Este tipo de transiciones se han demostrado en simulaciones por computadora, y se han verificado experimentalmente para el crecimiento cristalino en solución^{49,59,60}.

En resumen, en el modelo clásico de cristalización, el crecimiento ocurre vía unión de iones y por respuesta de la celda unitaria, lo que lleva a formar cristales con geometría definida de contornos suaves o ásperos y ángulos definidos. Esta explicación simple de la formación de cristales puede ser válida para minerales geológicos. Sin embargo, las teorías clásicas no pueden explicar la presencia de las formas típicas senoidales en los biomateriales (que también pueden estar formados por un solo cristal). En este caso, la mineralización puede ocurrir a lo largo de caminos llamados “Cristalización no clásica”, los cuales comienzan con nanopartículas preformadas como bloques de construcción para la arquitectura final^{61,62}.

La figura 3.8 (camino b y c) da una visión esquemática del proceso involucrado. En la ausencia de aditivos (camino b), los bloques de construcción de nanocristales pueden unirse para formar un solo cristal iso-orientado⁵⁸. A este fenómeno se le conoce como “*acoplamiento orientado*”.

Alternativamente, cuando se encuentran presentes especies aditivas adecuadas, estas pueden cubrir la superficie de las unidades primarias de construcción (mostrando tanto naturaleza cristalina como amorfa). De esta manera, la fusión de cristales sencillos (como se describe en los caminos (a) y (b) de la figura 3.8) es prevenida, mientras los polímeros absorbidos dictan el modo de interacción entre las unidades individuales nanométricas.

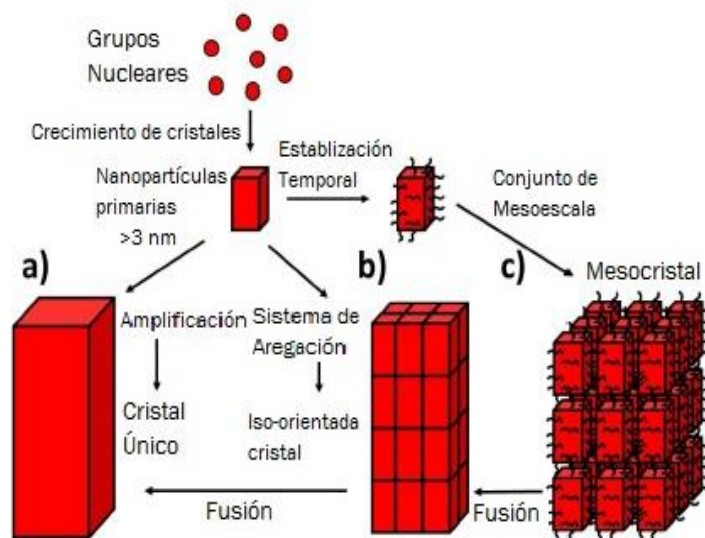


Figura 2.13 Representación esquemática de la cristalización clásica (a) y la no clásica (b). El camino (c) sobresalta la estabilización de las nanopartículas primarias con aditivos tipo polímeros o surfactantes los cuales finalmente se adhieren al mesocristal, vía autoensamblaje con nanounidades individuales⁶⁰.

Las nanopartículas estabilizadas, subsecuentemente son capaces de autoensamblarse en los llamados “*mesocristales*”, lo cual es una abreviación para “*cristales con estructura mesoscópica*” (camino (c)). Similarmente, las partículas híbridas aditivas cubiertas pueden agregarse de una manera donde estén perfectamente alineadas en forma cristalográfica común, dándoles de esta manera propiedades de cristales “ordinarios” en términos de dispersión de rayos X, esto, sin importar el hecho de que consistan de múltiples unidades individuales (camino b).

Parece lógico que tales rutas de cristalización aditiva permitan nuevas estrategias de síntesis para los pseudocristales simples con tal notable morfología y propiedades únicas. Sin embargo, el arreglo mesoescalar de precursores previamente estables, puede producir también superestructuras policristalinas que dependen de varios parámetros, como lo son las interacciones específicas entre las capas absorbidas, o el fenómeno de reacomodo durante la agregación en presencia de cadenas espaciales⁵⁹.

Una situación interesante surge cuando la autosegregación de las partículas es provocada por aditivos poliméricos que selectivamente absorben en diferentes fases de partículas anisotrópicas (cristalinas). Este

mecanismo está bastante bien explicado en la Figura 3.9, en donde la cristalización del BaCO_3 ocurre en presencia de bloques poliméricos estéricamente demandantes ⁶⁰.

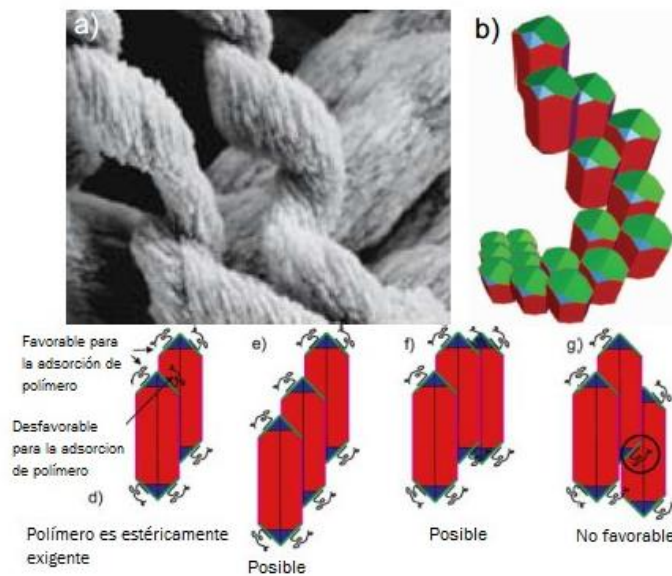


Figura 2.14 (a-c) Imágenes SEM de fibras de BaCO_3 en hélice formadas en soluciones que contienen bloques copoliméricos fosfóricos. (d-g) Mecanismo explicando el arreglo en hélice. Adsorción selectiva en el polímero en los planos (1 1 0) y un impedimento estérico (d) favorece a la agregación de partículas de manera escalonada una sobre otra, arreglos (g), energéticamente menos favorables. Mas crecimiento de las partículas individuales ocurre vía unión epitaxial en las caras laterales descubiertas (020) y (011). Esto lleva a una situación en donde las unidades de construcción diferencian entre los sitios favorables y desfavorables. (b) Eventualmente esto induce a que el agregado vaya tomando su forma de hélice, llevando tanto a las superestructuras derechas como izquierdas ⁵⁹.

La producción de las superestructuras en forma de hélice (Figura 3.9(a)) se da en este caso, debido a la adsorción selectiva en las caras (1 1 0) de la witherita, lo cual lleva estrictamente el crecimiento a lo largo de esta dirección, y al mismo tiempo a la estabilización de la cara involucrada (Figura 3.9 (c)). Esto causa un arreglo escalonado en los cristales del carbonato y permite que los bloques siguientes de construcción discriminen entre las caras laterales durante la agregación, produciendo finalmente dichas estructuras⁵⁹.

2.7 Biomorfos de Carbonato-Silicio.

La composición química inorgánica de los biominerales está dominada por carbonatos de calcio, fosfatos de calcio y sílice. De éstos, el carbonato de calcio es el biomineral más común, este se encuentra en sistemas biológicos y en una gran variedad de formas.

Se ha observado que la mineralización de carbonatos alcalinos térreos en medios ricos en silicio y pH alto, da como resultado una morfología cristalina fascinante, que se asemeja en gran medida a la morfología producida con la biomineralización⁶⁶.

En el capítulo anterior, pudimos ver que la ciencia de materiales biomiméticos nos sugiere fuertemente la presencia de (macro)moléculas y/o supermoléculas orgánicas para la síntesis de estructuras policristalinas de carbonatos. En contraste, se ha observado que incluso aditivos simples inorgánicos como lo son iones catiónicos de Mg^{2+} o Sr^{2+} influyen en la selección polimórfica durante la cristalización de $CaCO_3$ ^{63,64,65}. Sin embargo, formas complejas, como las creadas en presencia de aditivos orgánicos, estaban ausentes. Esto resultó completamente diferente cuando se utilizó silicio como aditivo inorgánico.

El silicio por sí mismo es un material abundante, en la naturaleza existe como un mineral sólido o como su forma disuelta. Y aunque los primeros registros de las formas inorgánicas en ambientes de carbonatos-silicio similares a las orgánicas datan de trabajos de Herrera en 1912⁶⁶. Los biomorfos de silicio, en el sentido estricto, fueron descubiertos por García Ruiz et al. A principios de los 80's.

Juan Manuel García Ruiz observó durante su tesis doctoral a finales de 1970 estructuras cristalinas formadas a partir de carbonatos-alcalinos térreos, cuando el crecimiento se realizaba en geles de sílice con un pH inicial alto (Figura 3.10)^{67,68,69}.

Para poder expresar la semejanza morfológica a ciertos materiales

orgánicos, estos agregados se han llamado “biomórfos de carbonato/silicio”. Los primeros descubrimientos, como suele suceder, fueron inesperados, ya que estos estaban formados con curvas muy diferentes a cualquier simetría cristalográfica conocida, lo cual era adjudicado exclusivamente a la naturaleza.

Sin embargo, como fue demostrado en estudios posteriores basarse solamente en la morfología, puede llevar a malinterpretaciones cuando se discute la biogénesis en general, i.e., el origen biológico de microfósiles precámbricos (Figura 3.10)^{70,71,72}.

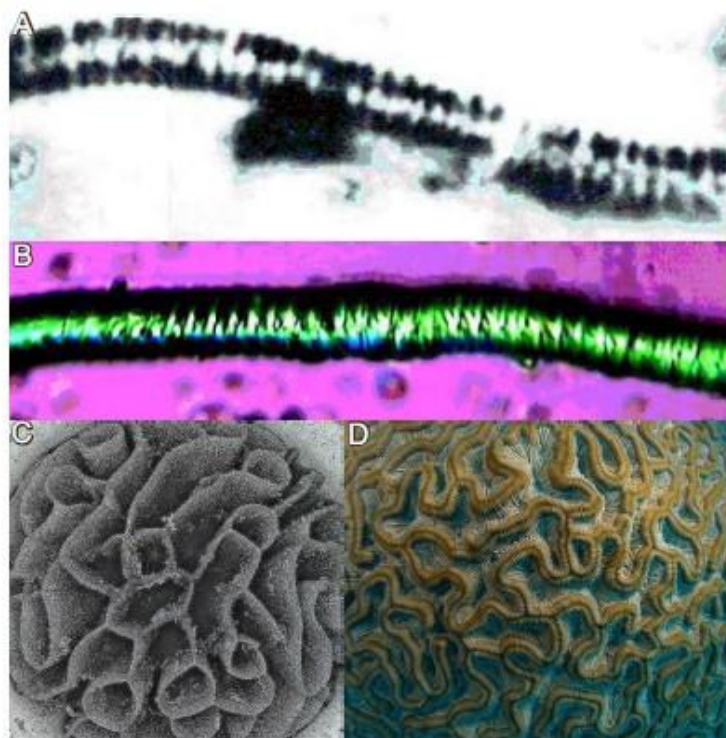


Figura 2.15 Comparación de un fósil precámbrico (A) y un biomorfo con forma de gusano (B). Un biomorfo de silicio (C) con su contraparte viva (D). Imagen tomada de James J. De Yoreo and Peter G. Vekilov. Principles of crystal nucleation and growth. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54:57–94,2003.

La morfología teórica de los cristales clásicos está bien definida dentro de la teoría del crecimiento cristalino (Ver sección 3.1.3), donde el desarrollo de varias fases cristalinas se debe a las energías superficiales cristalinas relativas a escala atómica, de esta manera, la simetría en general esta impuesta por el empaquetamiento en esta escala⁷³

En contraste, a pesar de innumerables estudios a lo largo de los años para entender el cómo la naturaleza es capaz de crear formas precisas, lisas, diferenciables, hechas de minerales policristalinos (conchas, dientes, huesos, etc.), aún tenemos un limitado entendimiento de los mecanismos de la formación de tan fascinantes estructuras.

2.7.1 Microestructura y composición.

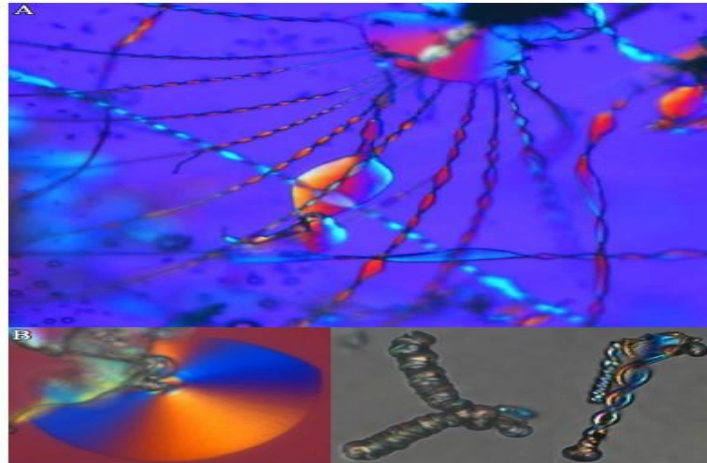


Figura 2.16 Micrografía de polarización óptica de arquitecturas complejas de BaCO_3 , precipitadas en matrices con sílice a pH elevado⁶⁸.

Una inspección más cercana a los detalles estructurales de los biomorfos revela núcleos policristalinos texturizados, compuestos de miles de nanocristales (Figura 3.12) con un tamaño típico de longitud de 200 - 400nm y aproximadamente 50 nm de ancho^{75,76,77}.

Las unidades individuales con forma de barras consisten en cristales de BaCO_3 (witherita) pseudo-hexagonales. En este caso la formación de columnas hexagonales es un fenómeno común en los carbonatos de tipo aragonita, y se debe al intercambio cíclico de los planos $(1\ 1\ 0)$ ⁷⁸.

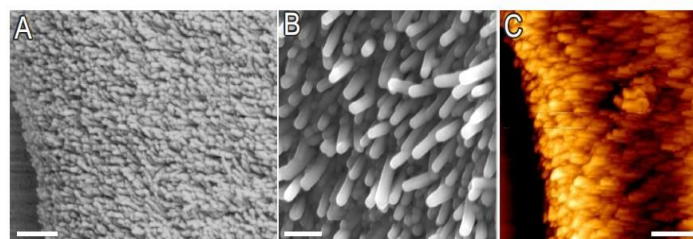


Figura 2.17 Acercamientos (A-B) FESEM y (C) AFM de la microestructura de los biomorfos, donde se pueden ver los miles de barras nanoescalares de BaCO_3 ⁶⁸.

En estudios realizados sobre el arreglo de las unidades de construcción dentro de los agregados, se muestra que estos no son ordenados aleatoriamente, sino que siguen un orden distintivo de largo alcance en lo mesoescalar^{67 a 69}. Debido a que las cristalitas individuales se encuentran alineadas paralelamente respecto al eje de longitud de los bastones (el cual es su eje cristalográfico-c, Figura 3.13A).

Estas tendencias pueden ser analizadas en imágenes por microscopía óptica polarizada de las estructuras en forma de hoja plana (Figura 3.13B). Las texturas de colores (en las micrografías ópticas) indican la orientación hacia el exterior de las nanocristalitas, empezando desde un centro común en la hoja. La orientación interna de las subunidades dentro del objeto puede ser analizado a más detalle con técnicas cuantitativas de birrefringencia⁷⁹.

Pero en la escala mesoscópica, las unidades de construcción individuales exhiben un pequeño desalineamiento una a otra, el cual queda aproximadamente constante en todo el agregado, de manera que las nanounidades cristalinas describen un campo con vectores variando constantemente (Figura 3.13C).

En este caso, la variación de la orientación del campo de los granos puede ser visualizada perfectamente como índices de diferentes colores (Figura 3.13 D-E). Consecuentemente, la orientación de las subunidades (marcadas con flechas rojas) puede ser cualificada de acuerdo con la rueda de color (La rueda en la Figura 3.13 D-E).

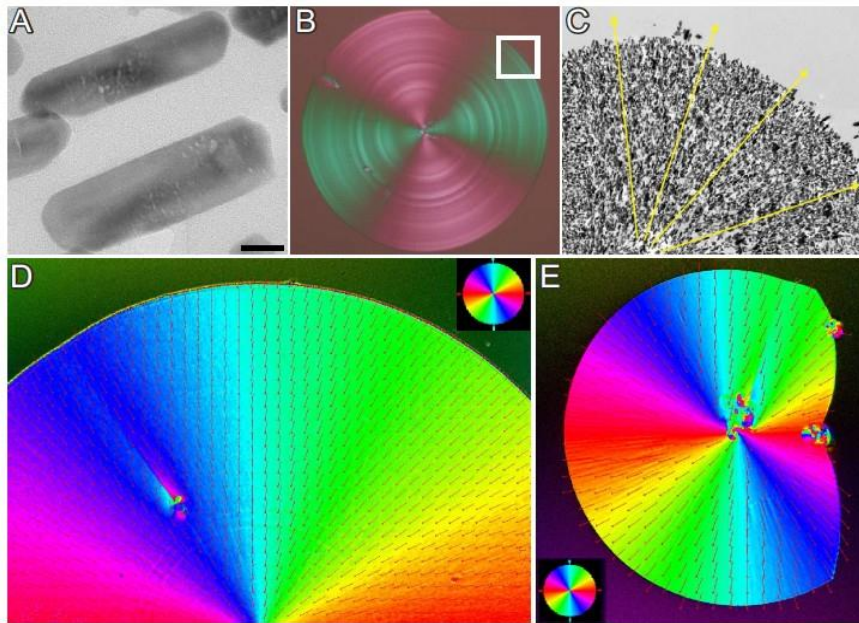


Figura 2.18 (A) Micrografía TEM, visualizando el alineamiento paralelo de nanocristales individuales (adaptado de [68], la escala es de 30nm). (C) imagen TEM de biomorfos con morfología de hoja plana. Las flechas indican la orientación preferida de las cristalitas⁶⁸. (D-E) Birrefringencia óptica cuantitativa de las hojas. La diferencia en el color de la imagen significa diferentes orientaciones de las subunidades marcadas con flechas rojas.

Además del ordenamiento de nanopartículas, los biomorfos de sílice son también compuestos duales, ya que están compuestos de carbonato y sílice amorfo coprecipitado ^{70, 72, 76, 77, 79}. En la mayoría de los casos, la parte entera del carbonato de las estructuras maduras está envuelta por una capa continua de esferas aglomeradas de sílice coloidal, las cuales, se pueden ver en las imágenes de agregados fracturados (Figura 3.14).

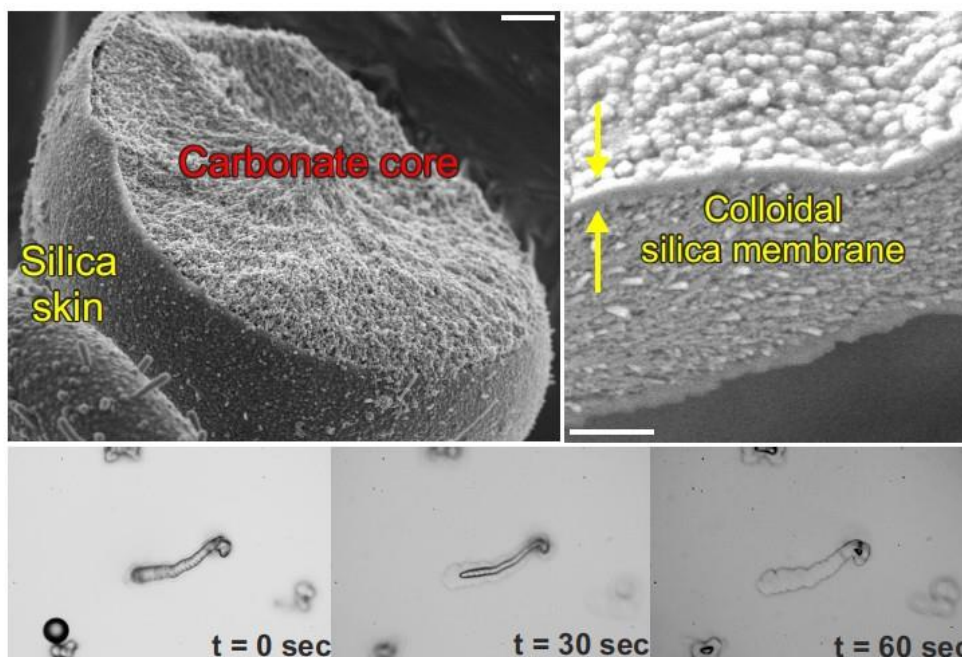


Figura 2.19 Arriba: imágenes FESEM de biomorfos de silicio revelando un compuesto con carácter dual, la parte externa de sílice cubriendo la textura del carbonato. Las escalas son de 2 μm (izquierda) y 500 μm (derecha). Abajo: Secuencia de microscopías ópticas mostrando una disolución gradual de una fase interna de carbonato con estructuras semejantes a gusano, diluidas en ácido. Tal tratamiento

lleva a membranas vacías de sílice con la morfología de gusano original. (Imágenes tomadas de [72]).

La presencia de capas externas de sílice puede ser confirmada por espectroscopia de rayos X (EDX), o por la inmersión de los agregados en ácido, llevando a la disolución selectiva del núcleo de carbonato (Figura 3.14). Las partes restantes de silicio siguen teniendo la morfología original. Similarmente, la parte de silicio del biomorfo puede ser selectivamente removida diluyéndola en NaOH, dejando así la estructura del carbonato intacta^{71,72}.

Más adelante se descubrió, además, que el carácter dual de los biomorfos no está restringido solamente a la escala macroscópica. Sino que también las varillas de carbonato podían ser rodeadas por capas de silicio, estabilizándolas para no romperse⁷⁵. Esto sugiere un mutuo crecimiento interno de sus componentes sobre múltiples escalas de longitud, como se observa en muchos biominerales, los cuales tienen aún mayor parecido a agregados tan únicos de la mineralización biológica.

2.7.2 Mecanismos de formación

Sobre los estudios concernientes a detalles estructurales y de composición, recientes investigaciones se enfocaron en escenarios morfogenéticos de nivel nano y micro, especialmente, en el origen físico de formación de estas estructuras.

2.7.2.1 Etapa 1: Derivación fractal

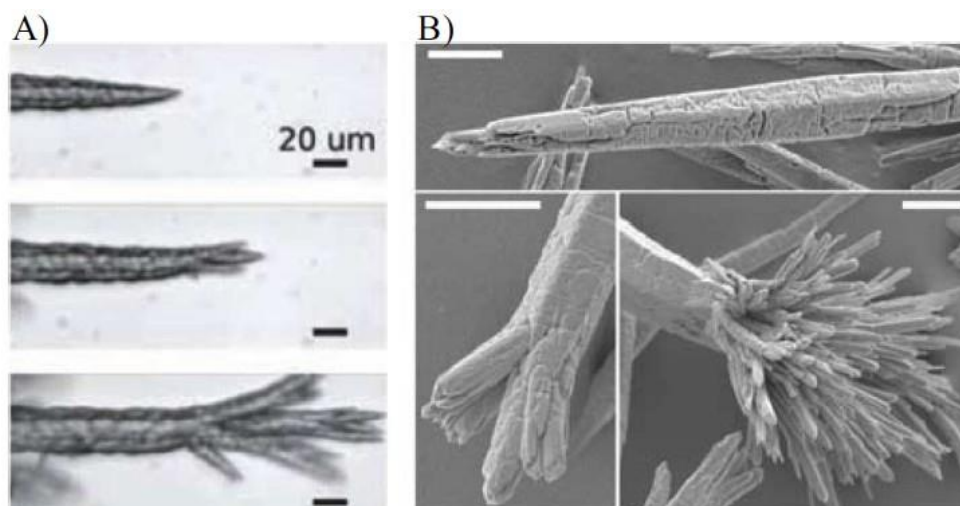


Figura 2.20 Micrografías (A) óptica⁷⁵ y (B) FESEM⁶⁷ mostrando cristales de carbonato de bario nucleados que empiezan a separarse en las puntas debido a la influencia del silicio.

En general, la morfogénesis puede ser subdividida en dos tipos de crecimiento fundamentales, los cuales ocurren sucesivamente y dependiendo del cambio temporal de las condiciones en el sistema. El origen de cada estructura individual presentada en la Figura 3.15 depende de la nucleación y el crecimiento de los microcristales elongados de BaCO_3 , esto sucede tan pronto como el volumen del conjunto se vuelve supersaturado, i.e., cuando el CO_2 forma parte de la solución del sistema.

Un mayor crecimiento de los núcleos de los cristales simples lleva a separaciones autosimilares en las puntas de los cristales en forma de varas⁸⁰. Estas varas son causadas por la influencia de las especies de sílice parcialmente condensadas, y que actúan como impurezas poliméricas no absorbibles, las cuales son llevadas al frente de crecimiento, induciendo de esta manera la formación de “islas” bidimensionales miso-orientadas⁸¹ (con respecto a la red cristalina).

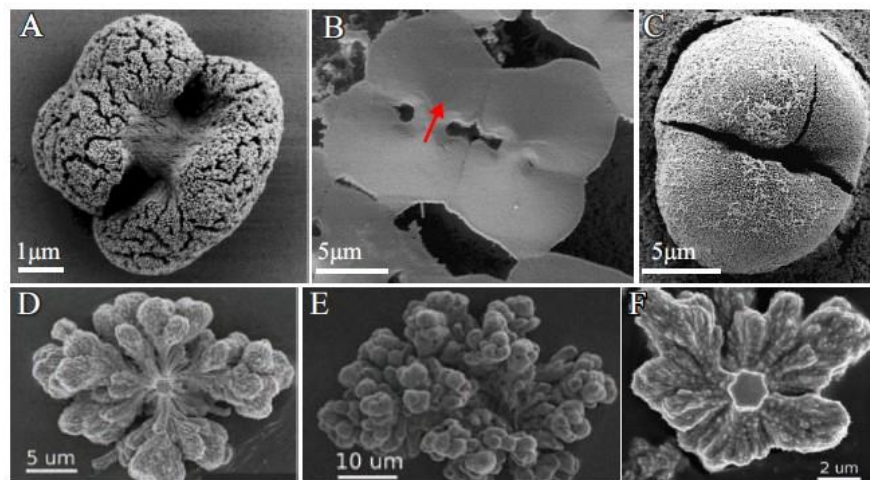


Figura 2.21 Separación fractal continua en presencia de impurezas de silicio. Inicialmente los cristales de witherita con forma de varas se desarrollan sucesivamente en agregados con forma de pesas (A-B), formando esferolíticas cerradas (C) o incluso arquitecturas en forma de coliflor (D-F) [82].

Tal mecanismo de crecimiento conlleva a que las primeras proyecciones que emanen de ángulos no cristalográficos, de manera que las partículas con forma de pesas, evolucionen mediante una bifurcación continua, a estructuras esferolíticas cerradas o de arquitecturas espaciales con forma de coliflor (Figura 3.16 E-F), esto depende de la intensidad de la separación fractal⁸².

Un crecimiento similar también ha sido bien documentado para cristales de fluorapatita, precipitados en gel (Figura 3.17)^{82, 83, 84}. Aquí los cristales pasan por la misma transformación de vara-a-pesas-a-esfera, debido a la separación sucesiva de la semilla cristalina.

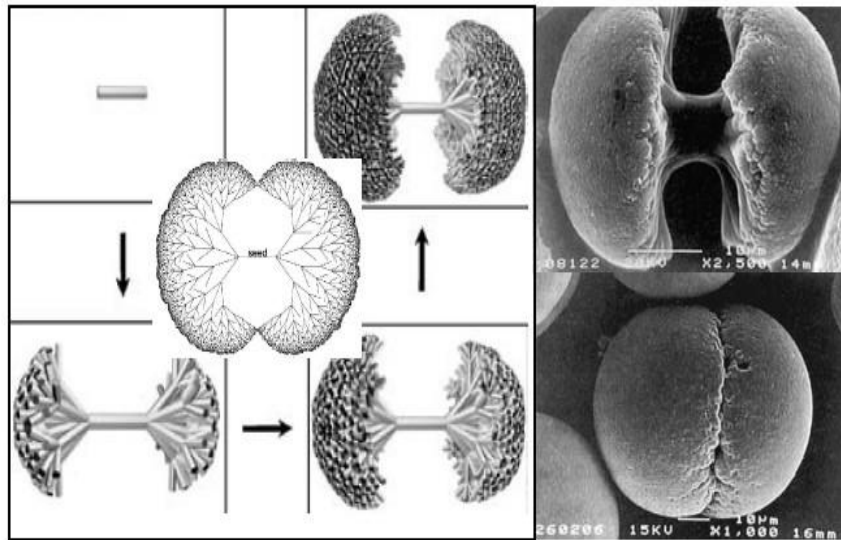


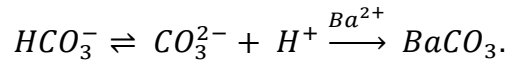
Figura 2.22 Arquitecturas de fluorapatitas, crecidas en una matriz en gel [62].

2.7.2.2 Etapa 2: Coprecipitación químicamente acoplada

La primera etapa de la morfogénesis presentada anteriormente, ocurre básicamente dentro de las primeras 4 horas una vez iniciada la reacción. Después de este periodo el aditivo de sílice a bloqueado todos los sitios activos para el acoplamiento de las unidades del carbonato en el agregado, previniendo de esta manera un mayor desarrollo de la estructura fractal.

Esto causa niveles de supersaturación altos en las especies de carbonato a un nivel local, y como consecuencia, se genera la nucleación de miles de nanocristales en una manera tridimensional a través de toda la superficie de la esfera. La razón para la estabilización espontánea y de la continua producción de las nanocristalitas se encuentra principalmente en la tendencia de solubilidad inversa del carbonato y de la sílice respecto al pH ya que el silicio es soluble en pH alto y el carbonato a bajo pH^{82,85}.

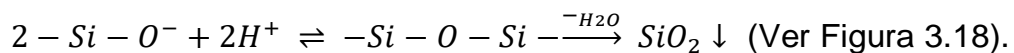
En ciertas condiciones alcalinas (pH en 9 y 10) donde típicamente ocurre el crecimiento, existen iones de carbonato y bicarbonato en equilibrio, de ahí que la nucleación de $BaCO_3$ presente una fuerte influencia en el equilibrio, toda vez que los iones de CO_3^{2-} son continuamente tomados de acuerdo a:



Consecuentemente iones de HCO_3^- en la vecindad cercana se disocian y liberan un protón para poder balancear el estado corto de desequilibrio local.

Sin embargo, esto provoca un gradiente local de pH alrededor de las partículas nucleadas, (Figura 3.18A, el área sombreada de verde) lo cual tiene influencia drástica en la solubilidad de las especies de sílice cercanas a las nanopartículas de carbonato recién nucleadas. Como resultado, el silicio se polimeriza localmente alrededor de la superficie de los cristales en desarrollo, formando así capas que los cubren y previniendo que las partículas crezcan más allá de la escala nanométrica.

La precipitación dirigida del SiO_2 en la vecindad de las unidades del carbonato se logra, en principio, por la protonación de los grupos silanol-ácidos (causados por los protones previamente disociados), los cuales están sujetos a reacciones de condensación, incluyendo a la polimerización del sílice de acuerdo a la siguiente secuencia:



Contrariamente, estas reacciones incrementarán el pH local otra vez, cambiando nuevamente el equilibrio carbonato/bicarbonato a fracciones mayores de CO_3^{2-} . Esto eleva también la supersaturación en la vecindad cercana de las nanopartículas de carbonato/silicato recién generadas, coaccionando así, un nuevo evento de nucleación del carbonato de bario (Figura 3.18A).

De esta manera se genera un proceso repetitivo catalítico donde los componentes involucrados se mineralizan alternadamente, llevando a la producción continua de unidades de construcción uniformes, las cuales se acomodan espontáneamente por un proceso aún desconocido, para elaborar estructuras con superficies con forma senoidal. Este mecanismo está resumido en la Figura 3.18B (Adaptado de [85]).

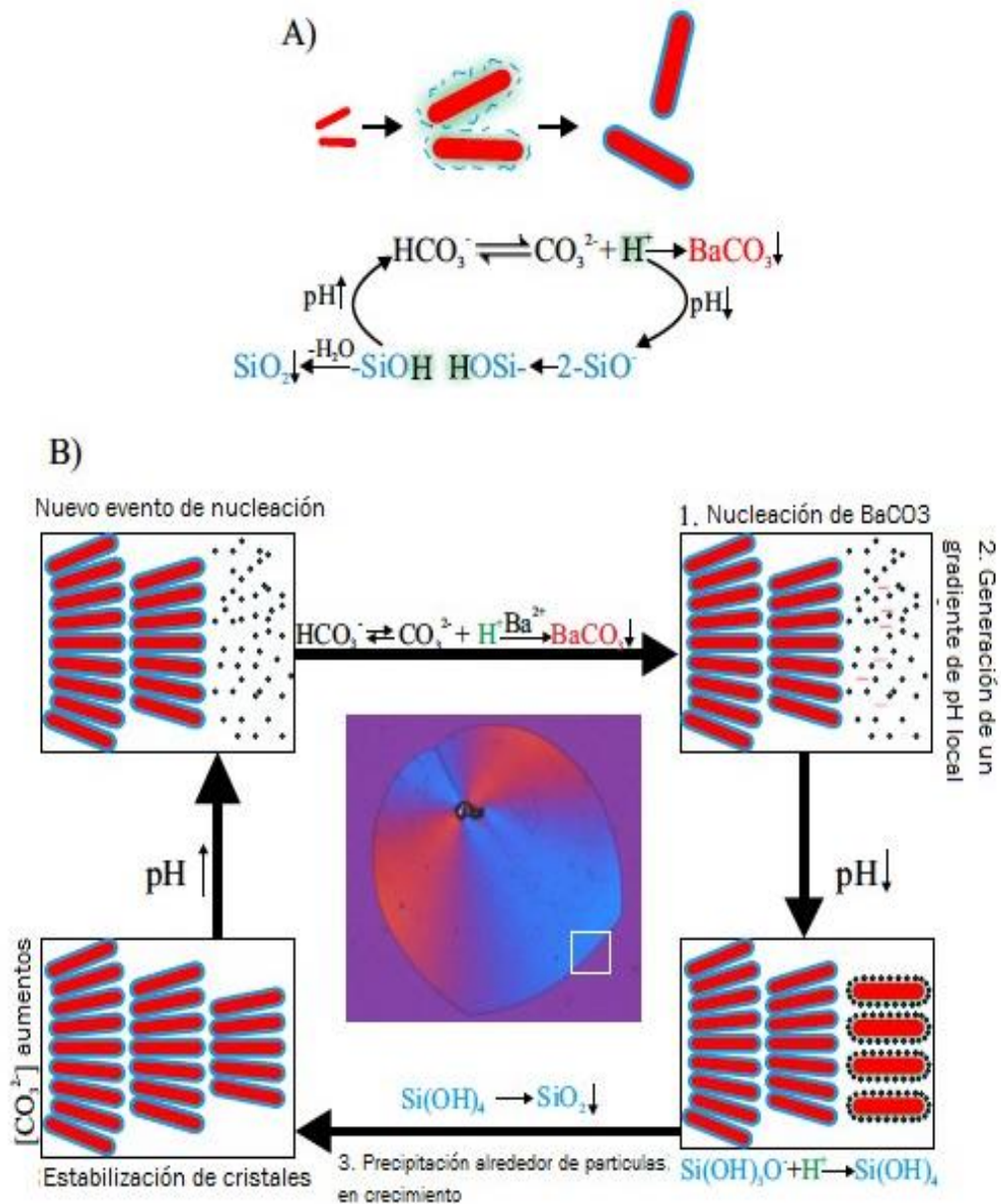


Figura 2.23 Propuesta del modelo de formación de la producción continua de nanocristales por Josef Eiblmeie et al. [85] y basada en la precipitación químicamente acoplada del carbonato y del silicato. (A) Durante el crecimiento de los cristales de carbonato de bario (rojo) el pH decrece localmente, relativo a como los iones de bicarbonato se disocian (el gradiente está subrayado de verde). Esto en cambio activa la polimerización del silicio, el cual incrementará el pH local en el frente de crecimiento, elevando la supersaturación del BaCO_3 en la vecindad cercana, y crea subsecuentemente un nuevo evento de nucleación de carbonato. (B) En su totalidad, se

genera un proceso repetitivo en el cual los componentes involucrados se precipitan alternativamente. De esta manera, las unidades de construcción de los biomorfos de sílice son producidos continuamente[38].

2.7.3 Descripción del fenómeno del desarrollo morfológico

Mientras que la producción continua de las unidades de construcción nanoescalares es explicada por mecanismos de coprecipitación químicamente acoplada, la morfogénesis de las estructuras características a niveles macroscópicos depende de factores aún más delicados, como fue propuesto por García Ruiz et al⁸¹.

Virtualmente todas las estructuras complejas observadas en los biomorfos de sílice, inician de unidades globulares creadas durante la primera etapa de la morfogénesis, vía de la derivación continua de las semillas parentales cristalinas. En la segunda etapa, segmentos quasi-2D laminares con simetría casi radial compuestos de miles de nanocristalitas de carbonato, empiezan a surgir de las unidades globulares (Figura 3.19A). Investigaciones recientes con microscopía de video revelan que las velocidades de crecimiento radial (V_{ρ} ver Figura 3.19C) son iguales en todas direcciones (típicamente algunas micras por minuto), razón por cual los agregados en crecimiento adoptan formas de disco (Figura 3.13)^{66,67,76,81}. Interesantemente, la parte principal de las hojas mientras van evolucionando desarrollan márgenes enrollados, ya sea apuntando hacia abajo o hacia arriba en posiciones arbitrarias en el borde (Figura 3.19B).

Por lo tanto, estos eventos singulares de rizado introducen la curvatura al sistema y sirven como puntos de inicio para la morfogénesis de formas altamente retorcidas⁷⁷. Se propuso que tales rizos se propagan a lo largo del perímetro de la morfología tipo hoja de manera que asemeja una ola como en las que se practica el "surf" (Figura 3.19C)^{74,77}. En este punto, el crecimiento se detiene a lo largo del camino radial, y un nuevo frente de crecimiento es generado, el cual se propaga ortogonalmente a la dirección circular previa. Como en el caso del frente de crecimiento radial, la velocidad de propagación tangencial (V_{ϕ_1} y V_{ϕ_2} , ver figura 3.19C) es aproximadamente constante. No obstante, se encontró que los valores de V_{ϕ_1} y V_{ϕ_2} son ligeramente más grandes que V_{ρ} ^{76,82}.

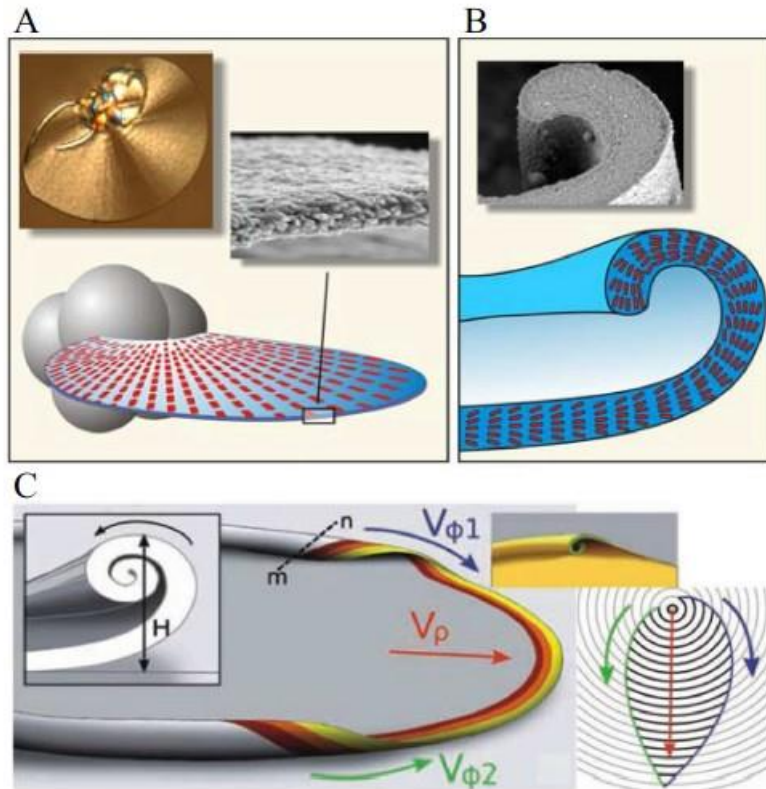


Figura 2.24 Comportamiento de crecimiento macroscópico de un biomorfo de sílice. (A) Después de la formación de esferulitas cerradas (indicadas como glóbulos grises), segmentos delgados, parecidos a hojas empiezan a generarse, las cuales están compuestas por miríadas de nano varas generadas por precipitación químicamente acoplada. (B) Este proceso continúa en crecimiento laminar continuo hasta que la curvatura es inducida, conforme la hoja empieza a enrollarse en un punto alrededor de su perímetro. (C) Después de la formación de los márgenes enrollados, el crecimiento en dirección radial, V_{ρ} se detiene, y los rizos se propagan tangencialmente a lo largo del borde de la hoja con velocidades de crecimiento $V_{\phi 1}$ y $V_{\phi 2}$, usualmente formando estructuras en forma de cardiode. La altura relativa H y la lateralidad relativa de dos rizos distintos determinan la ocurrencia de más morfologías retorcidas como helicoides o gusanos⁷⁴.

Por lo tanto, la forma circular inicial se distorsiona y forma uno o más cúspides en posiciones donde dos segmentos rizados llegan de diferentes direcciones. Sin embargo, este camino morfogenético no está limitado al crecimiento de objetos tipo hoja. La cuestión de si el agregado final adoptará una forma retorcida, como las manifestadas en estructuras con forma de hélice o tipo gusano, está fuertemente relacionada a las velocidades relativas en el crecimiento radial y acimutal, y en la lateralidad y altura de los segmentos rizados, como es descrito a detalle por García Ruiz et al⁸¹.

Un escenario, que describe de manera ejemplar la formación de una hélice está presentado en la Figura 3.20. Esta secuencia muestra un caso, en donde dos segmentos rizados con igual direccionalidad (uno doblado

hacia abajo y el otro hacia arriba) y altura se acercan a una cúspide de lados opuestos del segmento de la hoja. Cuando los dos rizos chocan, se juntan y se entrelazan unos a otros (Figura 3.20 (B)). Conforme crece en la dirección radial, el doblez inducido se mantiene, y debido al continuo entrelazado (dictado por los bordes rizados) se forma un helicoide casi perfecto. En contraste, cuando la diferencia en la altura entre dos rizos es drásticamente pronunciada y en uno de ellos crece más rápido, la situación llega a que el segmento más rizado prefiere enrollarse en sí mismo, resultando en la morfología de tipo de gusano⁸¹.

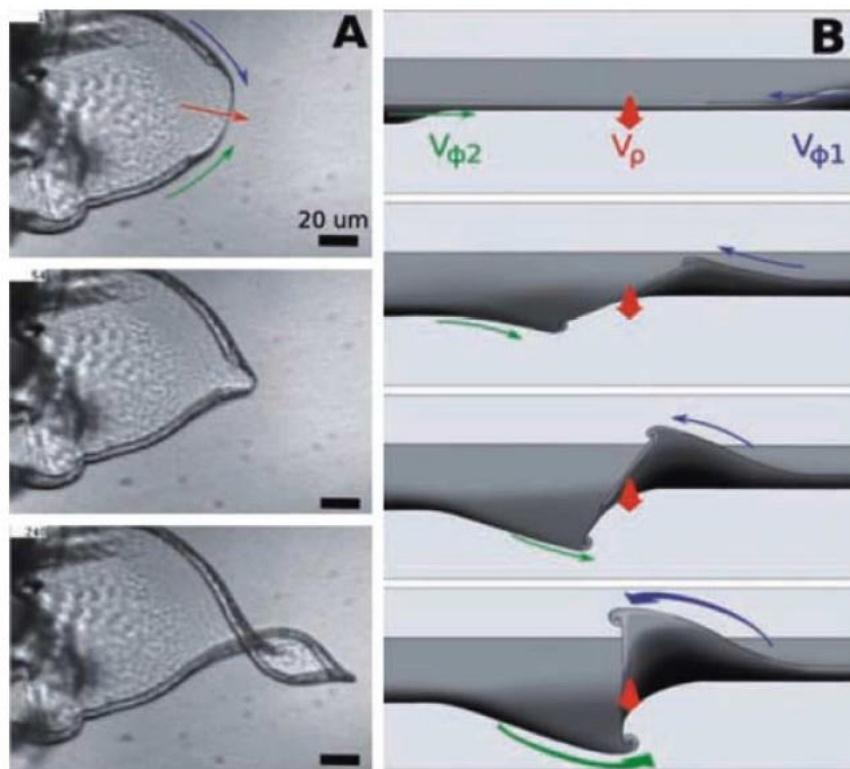


Figura 2.25 Morfogénesis de una hélice. (A) Secuencia de micrografía óptica en la cual segmentos rizados con igual lateralidad gradualmente se acercan de diferentes direcciones (el rizo superior se dobla hacia la cámara, el inferior se dobla hacia abajo) y se juntan en una cúspide. Ambos segmentos se entrelazan y producen una hélice regular después de mayor crecimiento a lo largo de la dirección radial (indicada por la flecha roja). (B) Esquema que muestra la vista frontal del mismo escenario donde dos rizos semejantes con la misma altura y velocidades acimutales de crecimiento se encadenan para producir un helicoide⁸¹

A pesar de que se conocen todos estos mecanismos de formación, queda abierta la pregunta del porqué del origen de la curvatura. Queda claro que aún falta mayor investigación para por fin entender el porqué de que se empiecen a formar rizos en cierto punto del borde.

3 Sección Experimental para la formación de Biomorfos.

3.1 Método de preparación.

El crecimiento de los biomorfos de Silicio-Witherita fue realizado en soluciones estáticas utilizando como fuente de silicio "water glass" comercial (Sigma-Aldrich, silicato de sodio al 27% SiO_2).

El water glass primeramente fue diluido con agua destilada a razón de 1:350(v/v). Posteriormente, con la finalidad de obtener distintos niveles iniciales de pH, se utilizaron soluciones de hidróxido de sodio (NaOH) y ácido clorhídrico (HCL) variando las concentraciones; de **0.05 M a 0.3 M para NaOH**; y de **0 M a 0.1 M para el HCl**.

Eventualmente, la cristalización del carbonato de bario se inició combinando 5mL de la solución de silicio con el pH modificado, con el mismo volumen de 0.01M de $BaCl_2$ (preparado con $BaCl_2 \cdot 2H_2O$). De esta manera, las concentraciones finales en la mezcla resultaron de 5 mM Ba^{2+} y 8.4 mM SiO_2 , con valores de pH inicial dentro del rango de 9.90 y 11.90 (medidos con pH-metro digital).

Los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente de $20 \pm 1^\circ C$ (temperatura fija en el termostato del laboratorio) en microplacas de 6 pozos (Marca Nunclon de poliestireno, volumen total 10 mL, área del fondo de 9.6 cm^2 y 1.7 cm de profundidad), en las que se colocaron cubreobjetos de vidrio de 22 x 22 mm como sustratos de crecimiento para después ser llenados con la solución.

Se expusieron las muestras a la atmósfera por un tiempo predeterminado de crecimiento de 10 h, tras las cuales, se removieron los sustratos con un par de pinzas (previamente lavadas con agua destilada y etanol). Subsecuentemente los sustratos fueron lavados con agua y etanol, y se dejaron secar en aire.

Una vez secadas las muestras fueron guardadas en botes de plástico muy bien sellados, esto, para prevenir que obtuvieran mayor CO₂ de la atmósfera y evitar una posible contaminación de silicio en caso de que las paredes del vaso fueran vidrio.

3.2 Métodos de caracterización.

3.2.1 Microscopia Electrónica de Barrido

El microscopio electrónico de barrido o SEM (Scanning Electron Microscope), inventado en 1937 por Manfred von Ardenne, es aquel que utiliza un haz de electrones en lugar de un haz de luz para formar una imagen. Tiene una gran profundidad de campo, la cual permite que se enfoque a la vez una gran parte de la muestra. También produce imágenes de alta resolución, de forma que las características más ínfimas de la muestra pueden ser examinadas con gran amplificación.

Se eligió este como uno de los métodos de caracterización, debido a que la preparación de las muestras es relativamente sencilla ya que la mayoría de los SEM requieren únicamente que estas sean conductoras. De esta manera, la muestra generalmente es recubierta con una capa de carbono o una capa delgada de algún metal, como el oro, para conferirle carácter conductor. Posteriormente, se barre la superficie con electrones acelerados que viajan a través del cañón. Un detector formado por lentes basadas en electroimanes, mide la cantidad e intensidad de electrones que devuelve la muestra, siendo capaz de mostrar figuras en tres dimensiones mediante imagen digital.

Para el microscopio electrónico de barrido (SEM), los biomorfos fueron sacados del bote de plástico y fueron recubiertos con oro. Los especímenes fueron estudiados con un rango de voltaje de 10 a 15 kV, modelo SEI, y WD de 30mm.

3.2.2 Microscopía Electrónica de Transmisión

En el microscopio electrónico de transmisión se irradia una muestra delgada con un haz de electrones de 200 keV. Parte de esos electrones son transmitidos, otra parte son dispersados y otra parte da lugar a interacciones que producen distintos fenómenos como emisión de luz, electrones secundarios y Auger, rayos X, etc. El microscopio electrónico de transmisión emplea la transmisión/dispersión de los electrones para formar imágenes, la difracción de los electrones para obtener información acerca de la estructura cristalina y la emisión de rayos X característicos para conocer la composición elemental de la muestra.

3.2.3 Medición del pH

La evolución temporal del pH en diferentes muestras fue monitoreada sumergiendo el electrodo en la solución madre adquiriendo los datos continuamente durante un periodo de crecimiento de diez horas. Después de cada medición de larga duración, el electrodo fue calibrado usando una solución reguladora de pH's "buffers" de pH 4 y 7.

3.3 Resultados.

3.3.1 Análisis morfológico

Cuando la cristalización se realizó en condiciones típicas (i.e., a 5mM Ba, 5-10mM SiO_2 , y pH de aproximadamente 11), se obtuvieron biomorfos con morfologías, texturas y tamaños similares a los anteriormente reportados (Figura 4.1)⁸⁶.

Las Figuras 4.2 y 4.3 dan un panorama de las estructuras formadas con nuestra metodología. Los precipitados aislados después de 2 a 3 horas exhiben formas acampanadas o de esferulitas. Estas formas son el resultado de la contaminación inducida de silicio de un microcristal de carbonato en crecimiento, causando que los primeros cristales alargados se separen en ambos extremos⁶⁸. En la fase que sigue, la ramificación de los ángulos no cristalográficos se continua de acuerdo al diseño similar⁸¹, tal que el cristal sigue una evolución morfológica de bastón a campana y a esfera.

Estas estructuras fractales pueden convertirse eventualmente a formas de coliflor (Figura 4.3), dependiendo del grado particular de enramamiento y tiempo de crecimiento activo. Ocasionalmente, uniones policristalinas compuestas de nano varas uniformes (Figura 4.4) crecen de tales precursores fractales. Esta transición llamada fibrilación, es acompañada por la nucleación 3D de numerosas nanopartículas a lo largo de la superficie de la arquitectura del fractal⁶⁷. En concordancia con lo normalmente visto en geles⁵¹, la extrusión de agregados nanocristalinos en solución precede en un principio en la forma de segmentos laminares cuasibidimensionales, los cuales pueden crecer de manera plana para lograr hojas extendidas con dimensiones hasta ciertos cientos de micrómetros como las que se observan en las Figuras 4.2 y 4.3.

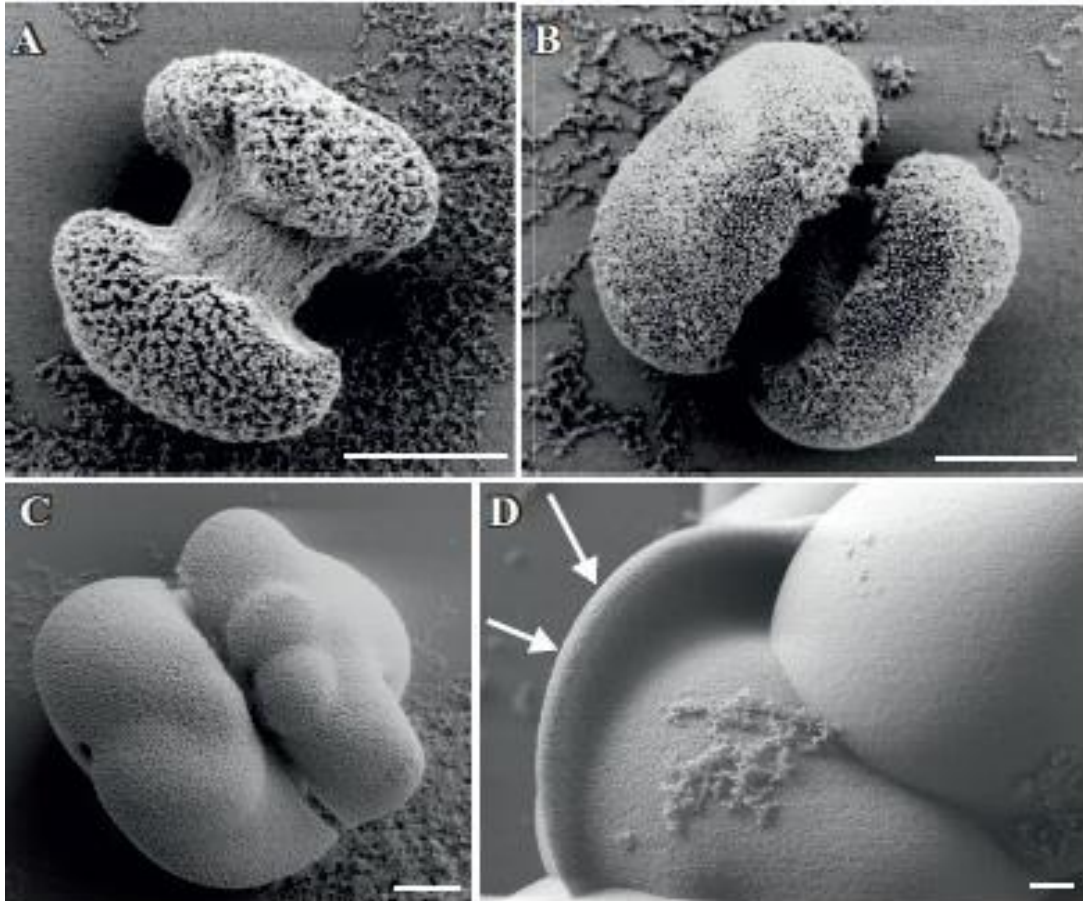


Figura 3.1 (A-C): Arquitecturas fractal tempranas de los biomorfos, obtenidas después de dos horas de mezclados los reactivos. (D) una lámina (indicada por flechas) surge después de 4 horas, escala $2\mu\text{m}^{86}$.

Sin embargo, las hojas en crecimiento también tienen cierta tendencia a enrollarse en algún punto a lo largo de su filo y doblarse nuevamente para crear márgenes enrollados. Este evento singular, el cual ocurre frecuentemente en soluciones, inicia un mecanismo morfogenético que está gobernado por velocidades de crecimiento radiales y tangenciales, así como también la altura y la dirección de las curvas individuales ^{69, 81}, resultando en estructuras filamentadas delicadas que pueden ser clasificadas en helicoides regulares (Figuras 3.24B) y, formas de tipo gusano más gruesas y más fuertemente envueltas (Figuras 3.24A) cuando la cristalización se realiza con la variación de las concentraciones.

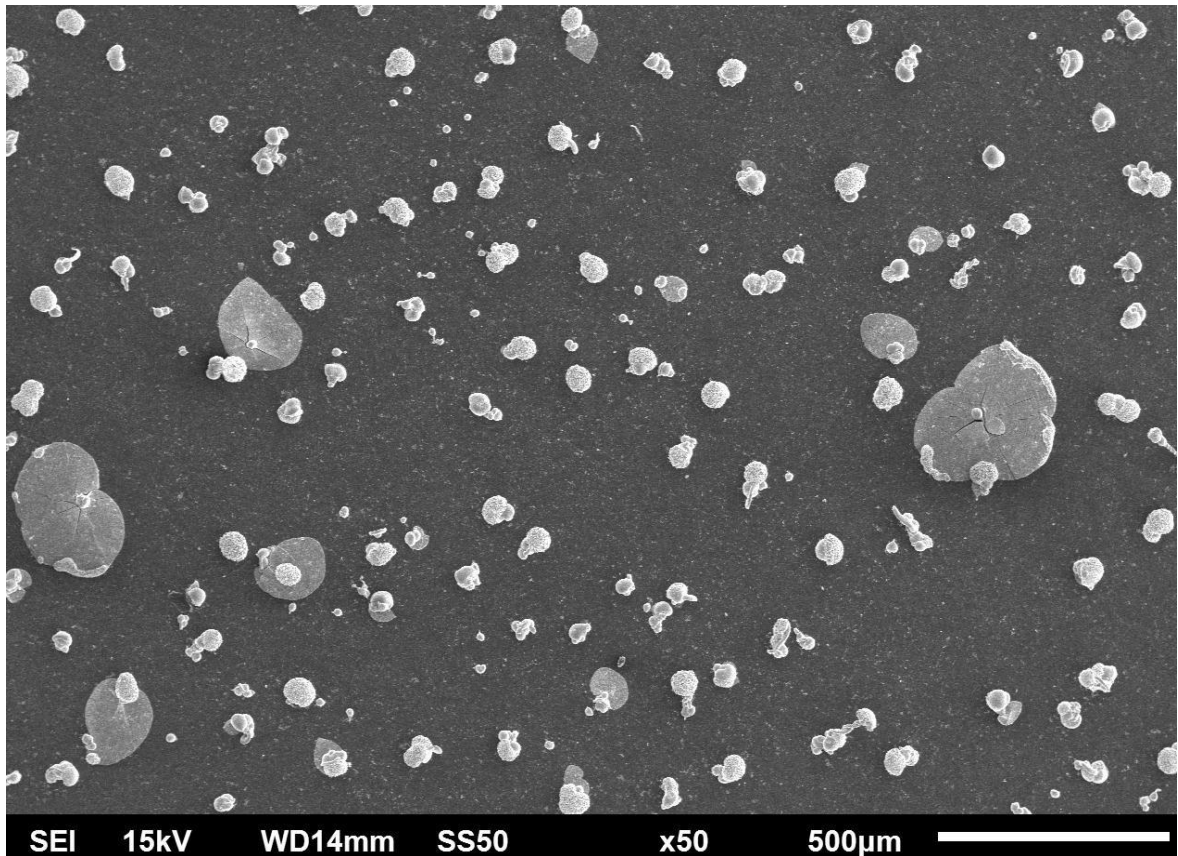


Figura 3.2 En esta imagen podemos observar la formación de las estructuras esperadas, que van desde hojas extendidas, de “gusano”, helicoides y “coliflores”.

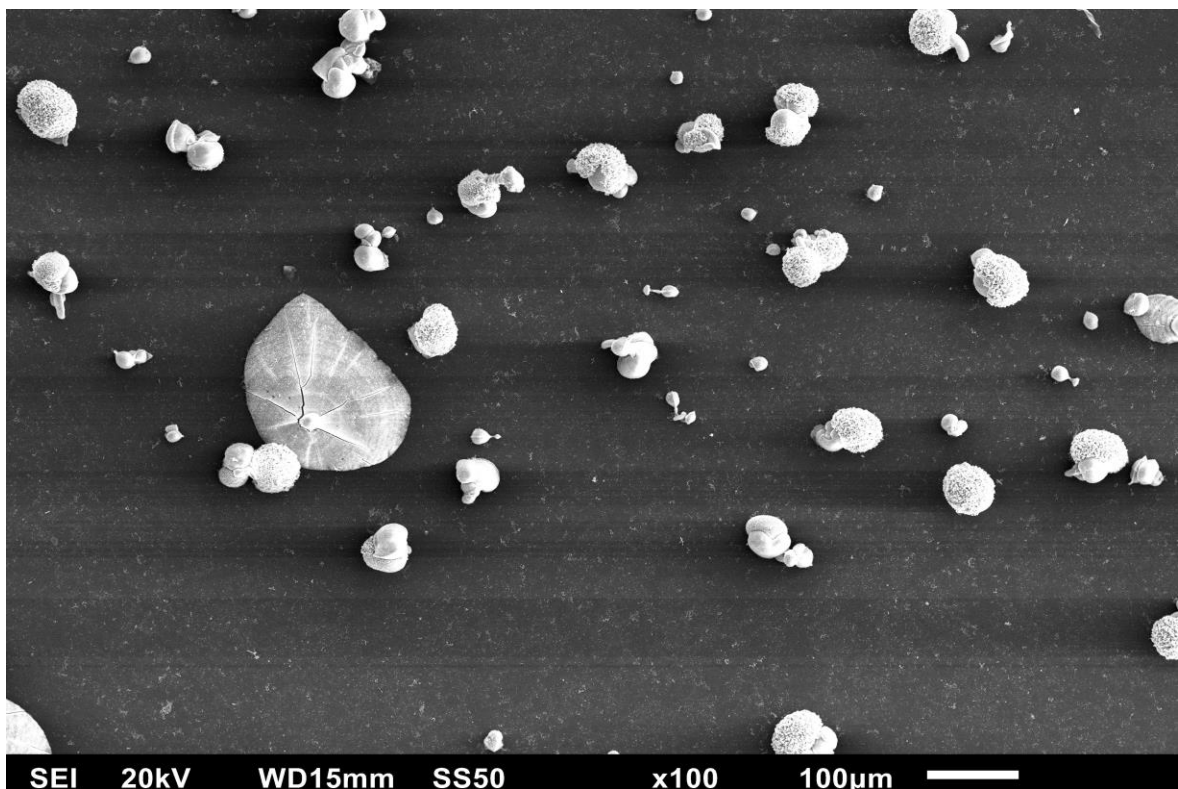


Figura 3.3 Escala a 100 µm de los agregados obtenidos.

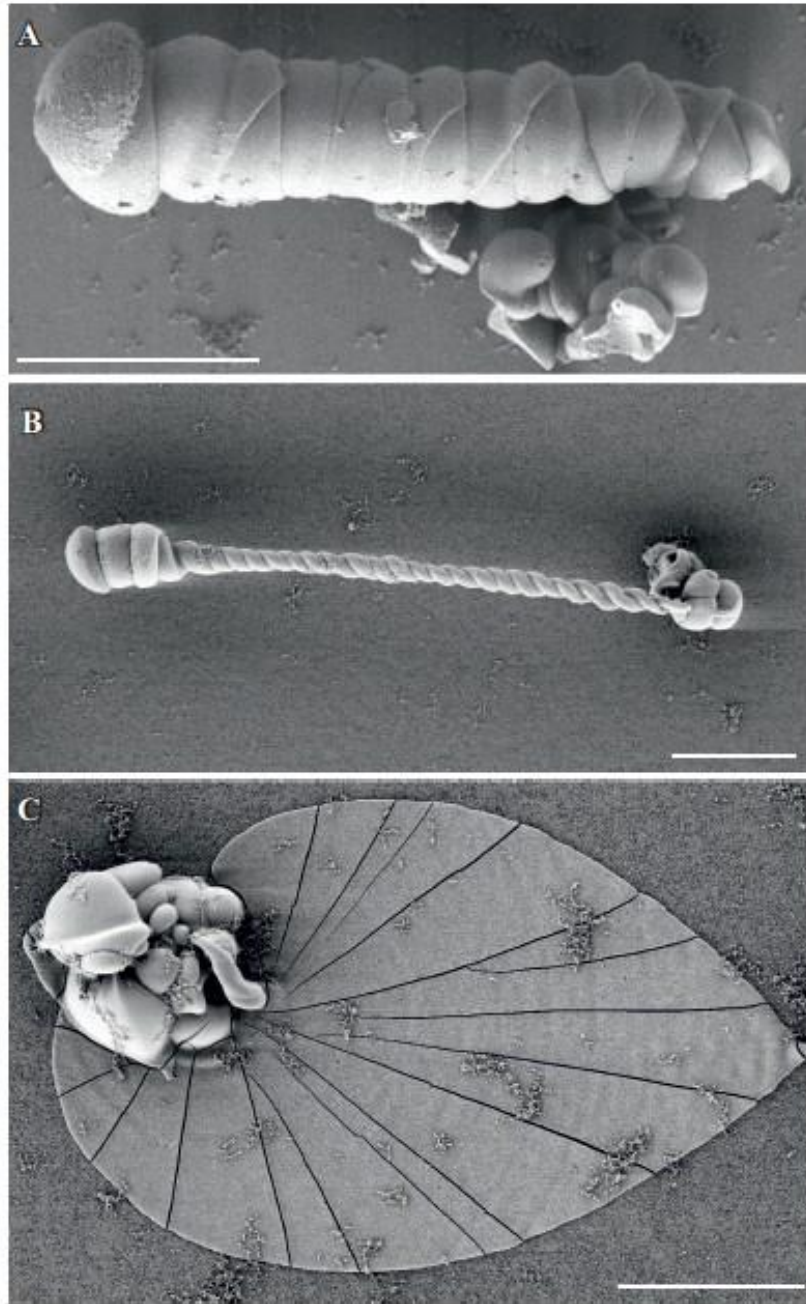


Figura 3.4 Agregados que se observan normalmente bajo condiciones estándar, después de 10 horas. (A) Tipo gusano, (B) filamentos helicoidales (C) tipo hoja. Escala 50 μm ⁸⁶.

4 Compuesto Biomorfo-HAp.

4.1 Resumen

El objetivo principal de la tesis como ya se habló anteriormente, es el de proponer un material que pueda ser utilizado en el área médica, primordialmente, que cumpla con la biocompatibilidad, el cual pueda minimizar efectos secundarios, sea barato y fácil de fabricar. Por ello es que se plantea la síntesis de un compuesto el cual tenga las características biocompatibles de la hidroxiapatita, y la resistencia de los biomorfos.

Se eligieron a los biomorfos debido a que estos pueden ser obtenidos de cristales de BaCO_3 , así como de CaCO_3 , este último, fue lo que impulsó esta tesis al poder tener compatibilidad con la HAp con los cristales de CaCO_3 .

Con la HAp pudimos obtener un polvo con las características utilizadas comúnmente en el campo de la odontología³². Una vez realizada esta parte se procedió a obtener el biomorfo con la técnica descrita por García Ruíz et al.^{67,69} con la cual pudimos obtener cristales de BaCO_3 con morfología que van desde gusanos hasta coliflores, consistentes con los trabajos de García Ruíz.

Quedando así la tarea de combinar ambos materiales. Para ello se tomó como guía a la química combinatoria.

4.2 Química combinatoria

La química combinatoria se desarrolló a finales del siglo XX y comienzos del Siglo XXI. Su descubrimiento arraigó fuertemente en el ambiente científico, y se extendió a diversos ámbitos de la química. Se originó debido a las crecientes necesidades en el desarrollo de nuevos fármacos, cuyo principio es, obtener una molécula orgánica de alguna (entre muchas) maneras y someterla a un largo procedimiento de selección y ensayos biológicos. El tiempo promedio para completar el proceso de crear un medicamento apto para uso humano es de alrededor de doce años, con un costo medio de unos 500 millones de dólares. Se estima que para cada nuevo fármaco efectivamente comercializado se evalúan unos cien mil compuestos⁸⁸.

Durante la década de 1990 se diseñaron métodos innovadores para acelerar ese largo camino. Mientras la química tradicional llega a un compuesto único bien caracterizado, la combinatoria produce de manera deliberada y simultánea una gran cantidad de ellos (figura 5.1).

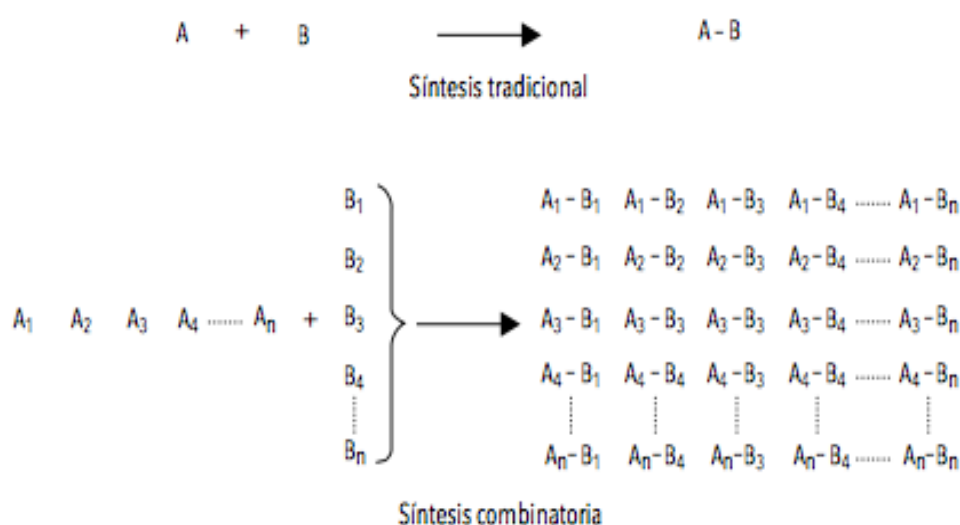


Figura 4.1 A diferencia de la síntesis tradicional, que une dos compuestos de partida (A y B) para formar un producto (A-B), la química combinatoria toma un grupo de compuestos diferentes pero relacionados (A₁-A_n) y los hace reaccionar con otro grupo de compuestos también relacionados entre sí (B₁-B_n) para generar los productos que resultan de todas las combinaciones posibles⁸⁸.

De esta manera, la química combinatoria permite obtener una gran cantidad de sustancias diferentes (llamadas colectivamente bibliotecas) en forma rápida, simultánea y eficiente. La simultaneidad puede lograrse de dos maneras: mediante síntesis de mezclas o síntesis en paralelo (Figura 5.2). La química combinatoria se hizo notar cuando se obtuvieron las primeras bibliotecas, formadas por mezclas de miles o cientos de miles de componentes en cada recipiente de reacción. El potencial del método produjo una transformación conceptual de la disciplina química, que trascendió sin demoras el campo de los medicamentos y se extendió a otras áreas, como la ciencia de materiales.

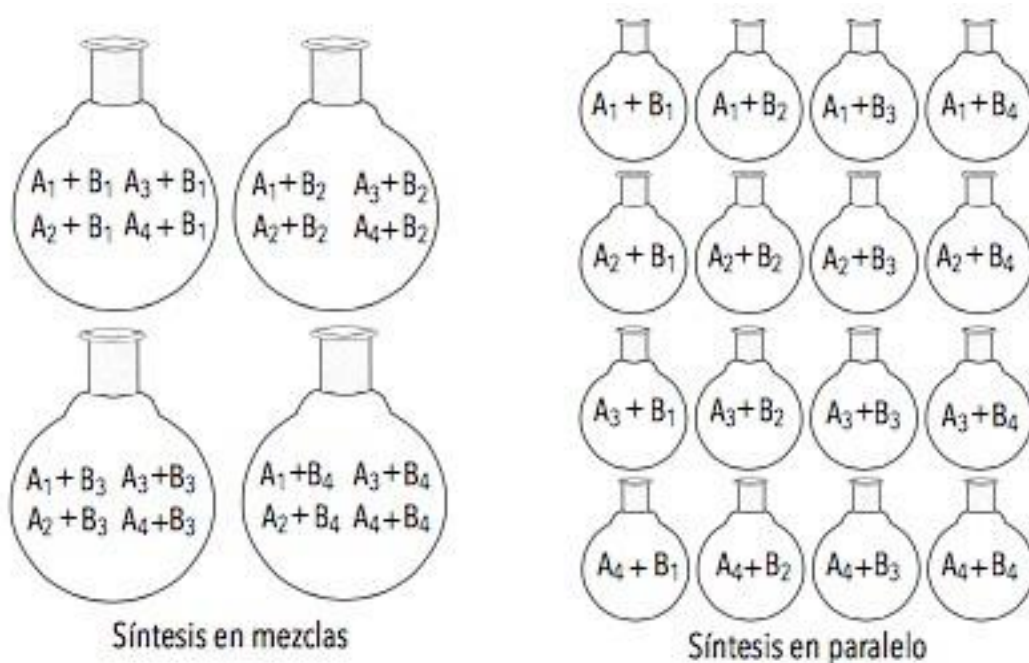


Figura 4.2 En la síntesis de mezclas, los productos se obtienen en conjunto, y se produce más de una reacción por recipiente. En la síntesis realizada en paralelo, los productos se obtienen simultáneamente, con solo una reacción por recipiente [88].

5 Síntesis del Compuesto.

5.1 Preparación del Compuesto.

Para la síntesis del compuesto se hace uso de la química combinatoria tomando en cuenta que este tipo de proceso puede lograr facilitar tiempos y costos de los procesos.

El proceso para el crecimiento del compuesto fue realizado en solución con temperatura y presión controladas. Como sustrato de crecimiento se colocó un porta objetos en el fondo de una autoclave y se combinaron 1g. De CaHPO_4 con 3g de CaO . Posteriormente se mezcló el contenido con 5ml de silicato de sodio con pH modificado (el utilizado en la sección 4) y 5ml de BaCl_2 . El valor de pH inicial de la mezcla resultó de 11.6.

El experimento se llevó a cabo dentro de un horno a 170°C . Después de la exposición de la muestra al dióxido de carbono durante un periodo de 48 hrs, se removi6 el sustrato con un par de pinzas para ser lavado con agua destilada y etanol.

Una vez transcurridas las 48 horas, se procedió a limpiar el sustrato con agua destilada y acetona, e igualmente que, con los biomorfos, estos fueron guardados en viales de plástico para evitar sobre exposición de dióxido de carbono y cualquier otra impureza que pudiera traer un envase de vidrio.

5.2 Resultados

5.2.1 Análisis morfológico y elemental.

Una vez más, se hizo uso de la caracterización por SEM y por TEM. A nuestro material compuesto se le realizó también un análisis elemental. Tras las 48 horas y después de limpiar el sustrato con agua destilada y acetona, podemos observar en la Figura 6.1 que las formas de biominerales se mantienen.

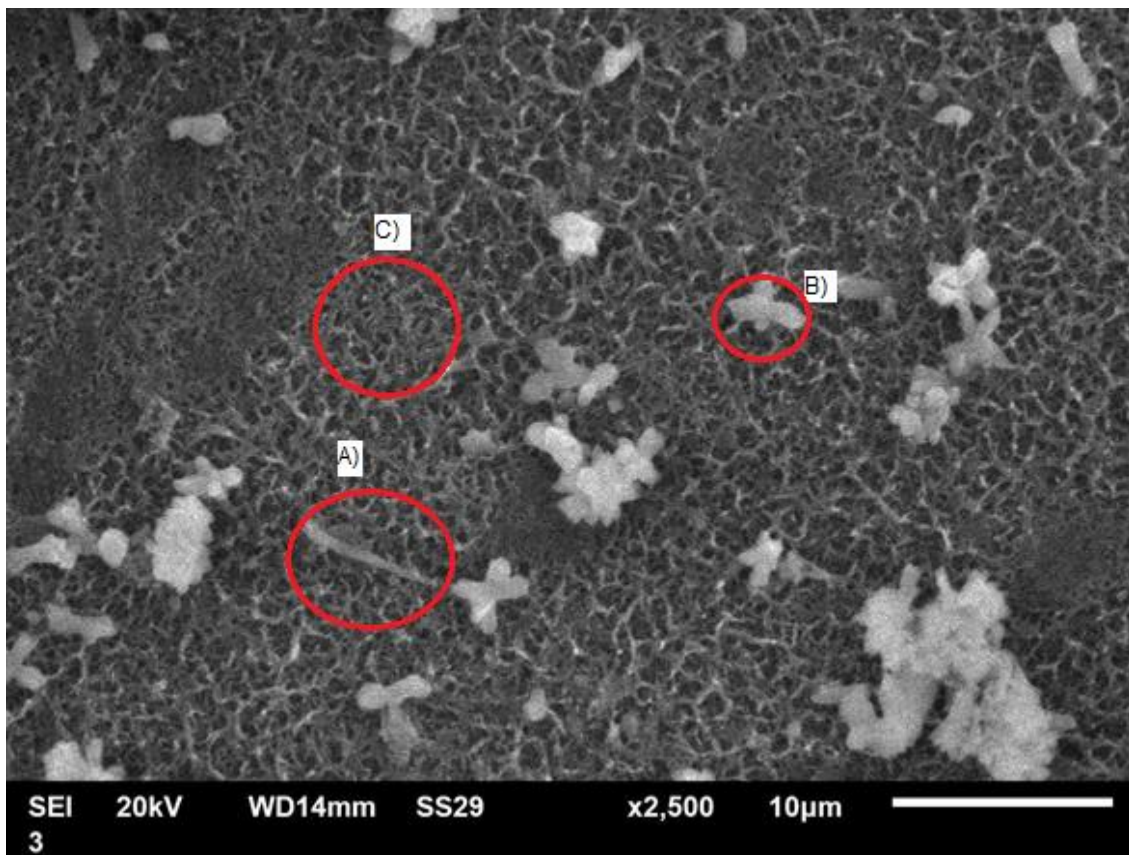


Figura 5.1 Panorámica del material compuesto obtenido. En esta imagen se puede apreciar la formación de estructuras en forma de varas A). En B) se observan la aglomeración de cristales en forma de larva, lo que pudo haber ocurrido debido a la interrupción del proceso para formar estructuras de tipo helicoidal. En C) se puede ver la formación de agujas.

Al momento de caracterizar por SEM se pueden observar cristales con bordes tanto afilados como con curvas suaves. En la Figura 6.3 podemos ver claramente la formación del cristal deseado, i.e., un biomorfo (debido a las estructuras con bordes suaves que se alcanzan a notar) combinado con agujas de hidroxiapatita.

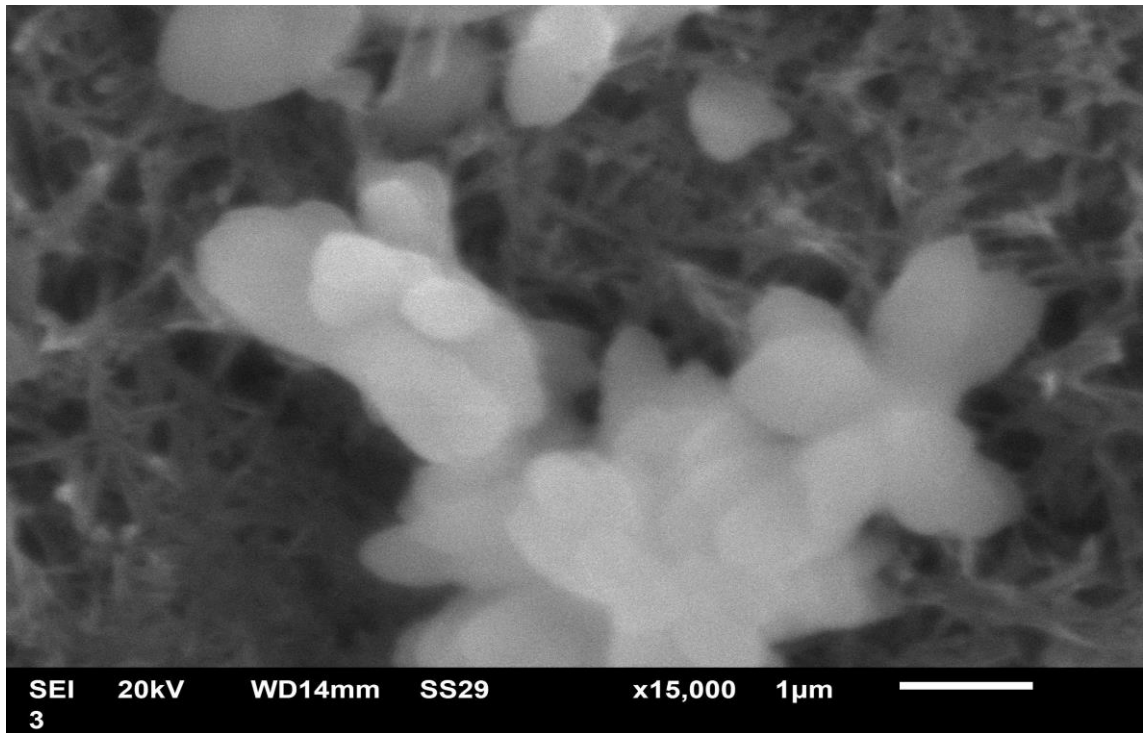


Figura 5.2.- Acercamiento a las estructuras en forma de capullo.

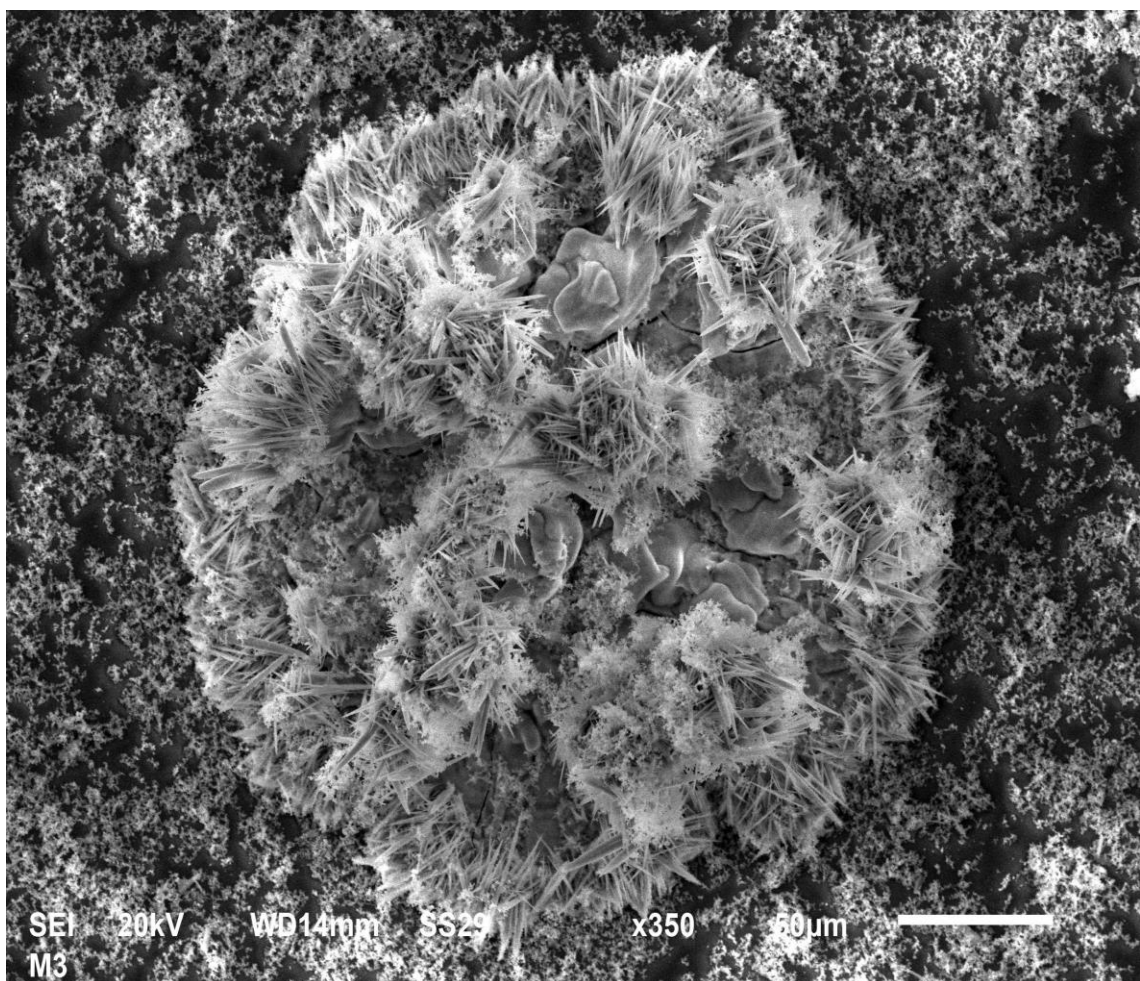


Figura 5.3 Se puede observar la formación de un cristal con la parte interior con estructuras con curvas suaves, la cual está rodeada por agujas.

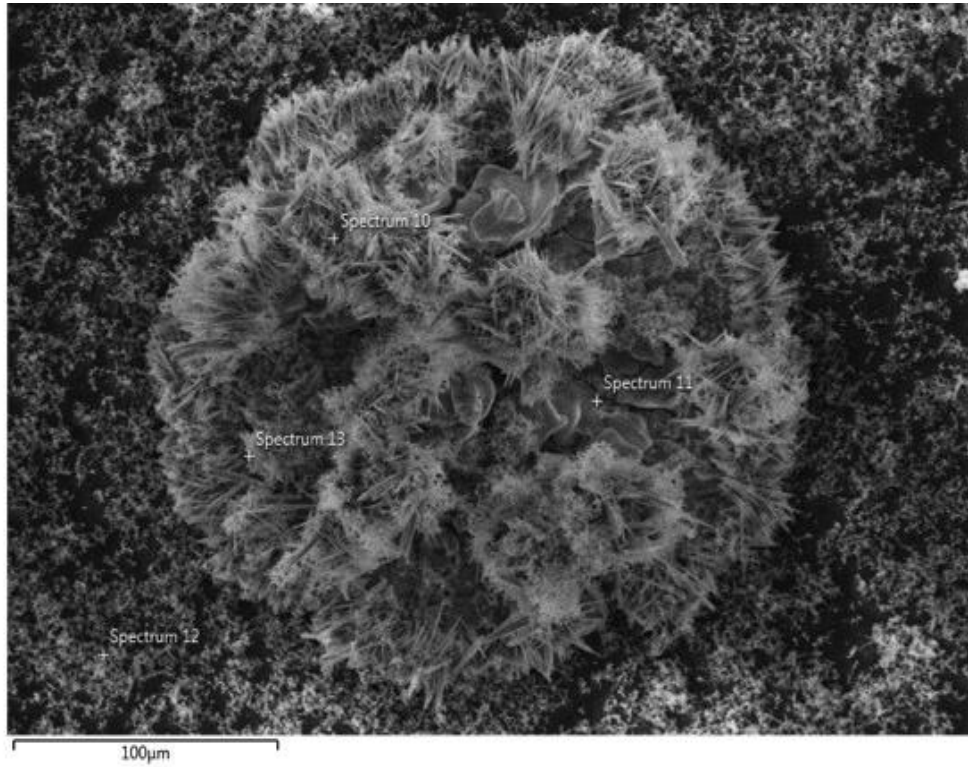


Figura 5.4 Sección utilizada para el análisis elemental

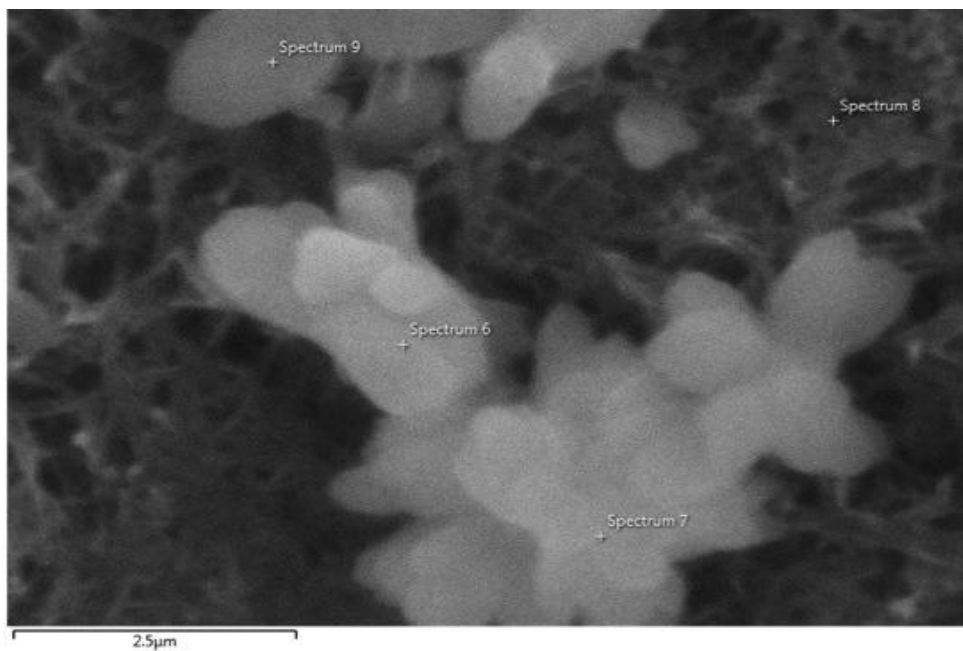


Figura 5.5 Muestra utilizada para análisis elemental.

En el análisis elemental (6.6 a 6.8) se logró obtener la composición de los materiales compuestos de las Figuras 6.4 y 6.5. En las gráficas obtenidas se observan que los cristales están formados por calcio, bario y oxígeno, que es lo que se esperaba. El silicio presente en grandes cantidades se debe al sustrato en el que se creció la muestra.

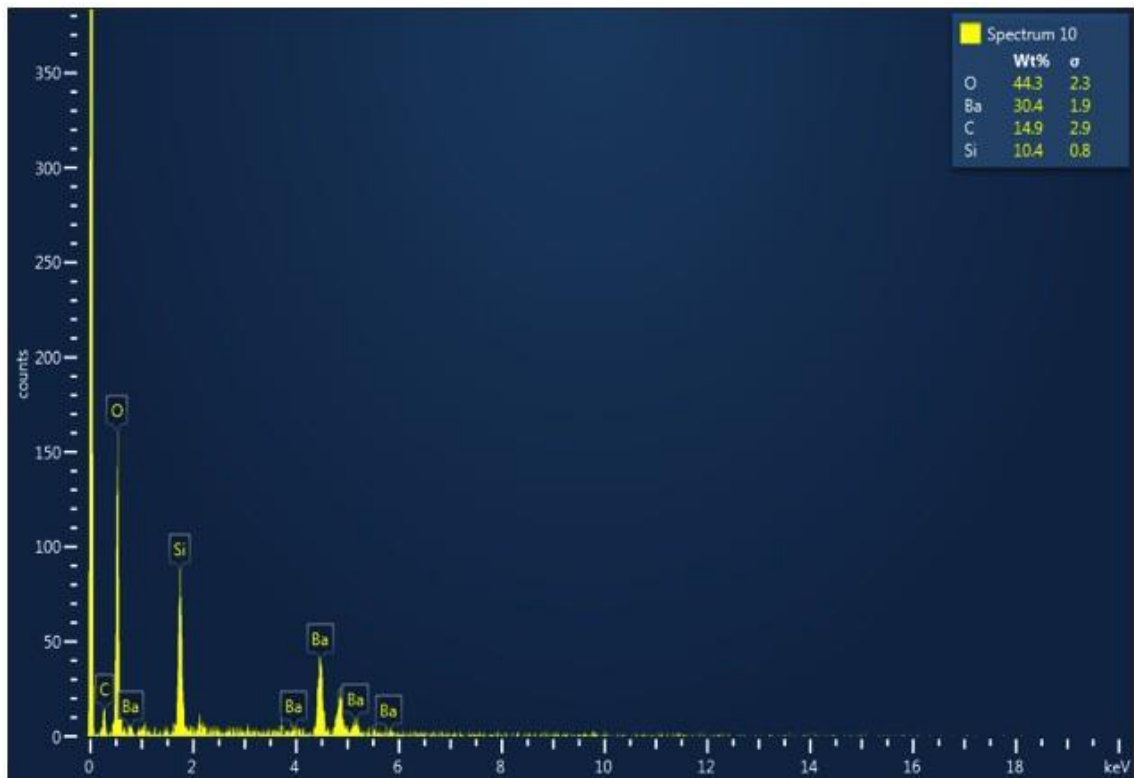


Figura 5.6 Análisis elemental de la Figura 6.4 espectro 10.

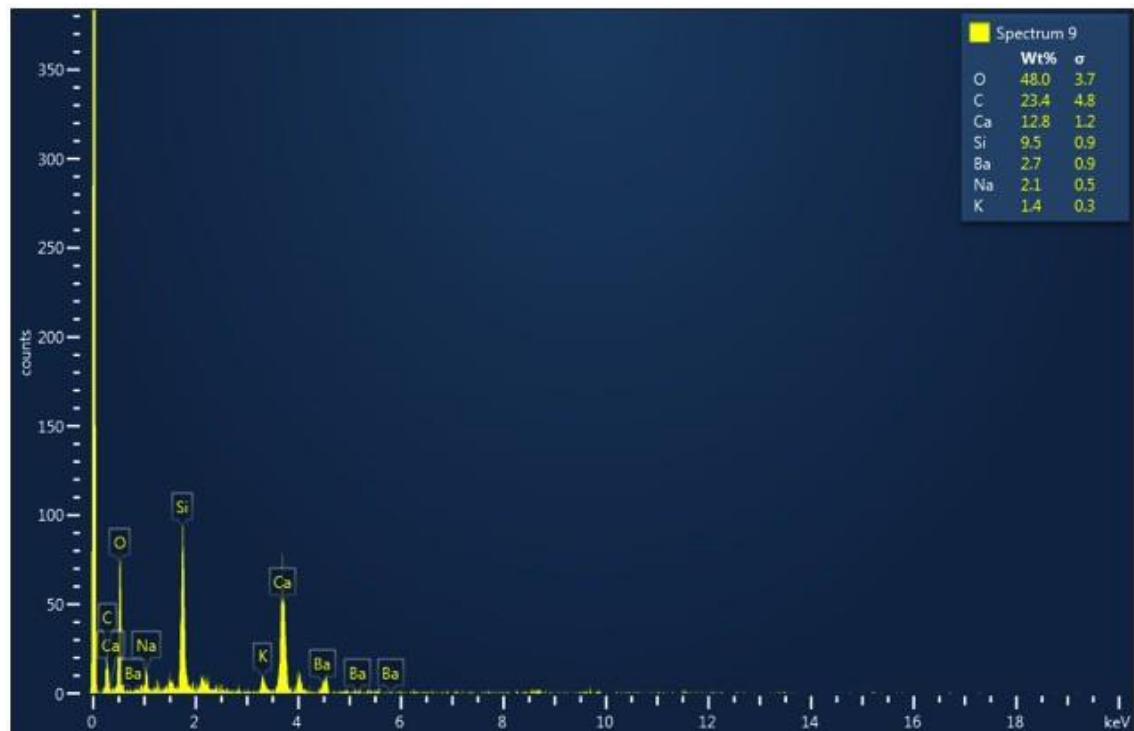


Figura 5.7 Análisis elemental de la Figura 6.5 espectro 9, en el que se observa un material compuesto que mantiene forma de biomorfo.

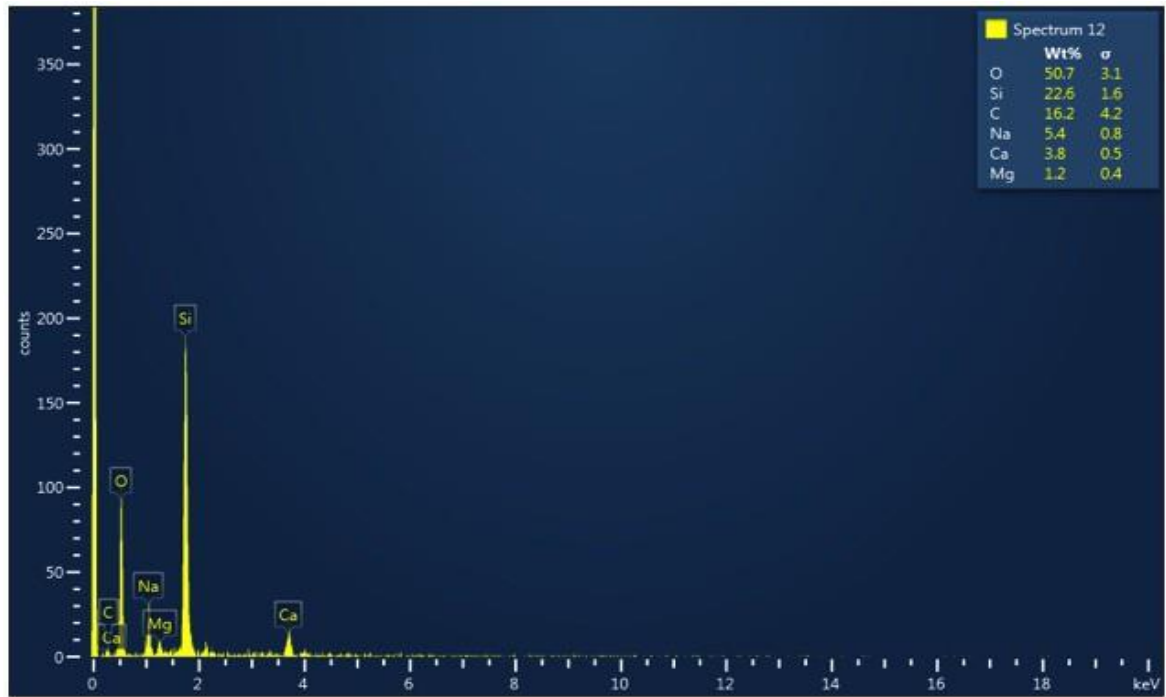


Figura 5.8 Análisis elemental de la Figura 6.4 espectro 12.

6 Conclusiones.

Esta tesis tiene como objetivo proponer la síntesis de un material que pudiera llegar a ser utilizado en el área médica como sustituto o apoyo a injertos óseos. Para ello se tomaron como base; la hidroxiapatita, que a la fecha es uno de los minerales más utilizados en medicina para las prótesis dentales. Y, la mineralización de carbonatos alcalinos térreos (carbonato de bario) de disoluciones de silicio con pH alto, de donde se conoce desde hace tiempo que la interacción entre componentes puramente inorgánicos lleva a arquitecturas impresionantes con formas curvas y helicoidales, las cuales han sido denominadas como biomorfos de carbonato-silicio.

Para la síntesis de una HAp que tuviera propiedades para ser utilizada en aplicaciones médicas, se siguió el trabajo de Elizondo Villarreal y su equipo³³. En este trabajo se pudo obtener HAp con tamaño de cristal y morfología de aguja, los cuales son características de la hidroxiapatita utilizada comúnmente en el área médica (Ver Sección 2).

Recientemente fue propuesto un concepto general por García-Ruiz y sus colaboradores⁶⁷ que explica la formación espontánea de estos agregados biomiméticos en base a interacciones mediadas por el pH del silicio y el carbonato en condiciones alcalinas. De esta manera, estos biomorfos son continuamente producidos via coprecipitación acoplada de componentes, esto es, la cristalización del carbonato provoca la precipitación del silicato y viceversa. Por lo que los estudios realizados en el marco de este trabajo fueron por una parte para reforzar y avanzar el estatus ya existente del mecanismo de formación de dichos biomorfos, y además tratar de formar un material compuesto acoplado en un mineral.

Uno de los principales retos durante esta tesis, fue el de no existir estudios anteriores para la formación de un compuesto entre el carbonato de bario y la hidroxiapatita. Después de abordar diferentes métodos, fue la de la síntesis en paralelo con la cual obtuvimos mejores resultados.

Del compuesto obtenido por medio de la síntesis en paralelo, se pueden observar cristales con diversas estructuras, las cuales siguen conservando bordes suaves, así como las agujas típicas de la HAp, y debido a las caracterizaciones realizadas, nos hace sugerir que se pudo cumplir con el objetivo de esta tesis; lograr la síntesis de un material compuesto viable entre los biomorfos y la hidroxiapatita.

Sin embargo, debido a las limitaciones de tiempo, bibliografía y la falta de una caracterización más detallada, aún quedan abiertas muchas áreas de oportunidad, entre ellas la posibilidad de realizar pruebas de biocompatibilidad.

A futuro se puede seguir el trabajo aquí realizado para poder realizar el compuesto a partir de cristales de carbonato de calcio, en lugar de carbonato de bario, esto con la finalidad de lograr un material biocompatible.

7 Bibliografía.

- [1] E. Alicia Amate and Armando J. Vazquez. *Discapacidad: lo que todos debemos saber*. OPS,2006
- [2] Mónica Maribel Albán Soria, *Patologías de la cavidad oral y su manejo odontológico en niños con capacidades especiales*, Universidad de Chimbarco, Junio, 2014
- [3] S. Weiner and H.D. Wagner. The material bone: Structure-mechanical function relations. *Annual Reviews*, 322(28),1998.
- [4] Elia Beniash. Biominerals-hierarchical nanocomposites: the example of bone. *Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol.*, 3(1),2001.
- [5] Andrés Castell. Página web interactiva de biología celular y tisular.
- [6] Juan Vélez, Natalia Cardona, Juliana Gómez, and Esperanza López. Síntesis de hidroxiapatita por combustión a partir del carbonato de calcio obtenido de cáscaras de huevo de gallina. *Revista Colombiana de Materiales*, 5:97–102, 2013.
- [7] Rudolph Geesink, Klaas de Groot: *The Bone & Joint Journal* 70(1):17-22, DOI: 10.1302/0301-620X.70B1.2828374
- [8] Barón Zárate-Kalfá pulos and Alejandro Reyes-Sánchez. Injertos óseos en cirugía ortopédica. *Medigraphic Artemisa*, 74:217–222,2006.
- [9] Anibal Pagliai Girolamo. Aumento óseo de la cresta alveolar. *Sociedad Europea de odontología multidisciplinaria*, 2003.
- [10] Paul Jay Olsoff, Jose Ramon Ochoa, and Maria del Pilar Cedillo et al. Reconstrucción nasal con materiales autólogos y aloplásticos. *Medigraphic Artemisa*, 5:109–118,2009.
- [11] Noriyuki Yamamoto, Masatsugu Isobe, and Akihide Negishi et. al. Effects of autologous serum on osteoblastic differentiation in human bone marrow cells. *J Med Dent Sci*, 50:63–69,2003.
- [12] Garza CP, Mendoza OF, Galván RM, and Álvarez EL. Banco de hueso y tejidos: alta tecnología disponible para los ortopedistas mexicanos. *Acta Ortoped Mex*, 18:261–265,2004.
- [13] James T. Melloning. Autogenous and allogenic bone grafts in periodontal therapy. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 3:333–352, 1992.
- [14] Roberto D. Yáñez, Diego Ocaranza, and Rodrigo L. Díaz. Elección del injerto en cirugía de reconstrucción de ligamento cruzado anterior. *Artroscopia*, 17:199– 204, 2010.

- [15] Alfredo Abarca A, Alfredo Naser G., and Javiera Pardo J. Applications of aloplastic materials in rhinoplasty. *Revista de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello*, 70:259–264,2010.
- [16] E.Bittarello, F.R. Massaro, and D. Aquilano. The epitaxial role of silica groups in promoting the formation of silica/carbonate biomorphs: a first hypothesis. *J. Crys.Growth*, 312: 402–412, 2012.
- [17] P.Q. Harting. *J. Microsc. Sci*, 12:118–122, 1872.
- [18] Shapes: Nature's patterns: a tapestry in three parts, Phillip Ball, OUP Oxford, 2009.
- [19] Gisela M. Luz and Joao F. Mano. Mineralized structures in nature: examples and inspirations for the design of new composite materials and biomaterials. *Composites Science and Technology*, pages 1777–1788, 2010.
- [20] P. Ducheyne. Bioactive ceramics. *Bone Joint Surg [Br]*, 76:861, 1994.
- [21] G. Daculsi, RZ LeGeros, and C. Deudon. Scanning and transmission electron microscopy and electron probe analysis of the interface between implants and host bone: osseocoalescence versus osseo-integration. *ScanningMicrosc*, 4:309– 14,1990.
- [22] Ramon Gonzales Santos. Hidroxiapatita porosa coralina HAp-200. 15 años de aplicaciones científicas. *CENIC. Ciencias Biològicas*, 36, 2005.
- [23] Marta Elena Londao, Alejandro Echevarría, and Francenith De La Calle. Características cristal químicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. *Revista EIA*, 54:32–39,2006.
- [24] Margarita Victoria García and José Reyes-Gasca. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Tip Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 9:90–95, 2006.
- [25] DA Wahl and JT Czernuszka. Collagen-hydroxyapatite composites for hard tissue repair. *European Cells and Materials*, 11:43–56, 2006.
- [26] Joo L. Ong and Daniel C.N. Chan. Hydroxyapatite and their use as coatings in dental implants: A review. *Critical Reviews in Biomedical Engineering*, 28:1–41, 1999.
- [27] Luis Gonzalo Sequeda, Jose Milciades Dias, Sandra Janeth Perdomo, and Olga Lucia Gomez. Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas Farmacológicas*, 41:50–66, 2012.
- [28] A. Bigi, E. Boanini, and K. Rubini. Hydroxyapatite gels and nanocrystals prepared through a sol-gel process. *Journal of Solid State Chemistry*, 1 77:

3092–3098, 2004.

[29] Jael-Kil Han. Synthesis of high purity nano-sized hydroxyapatite powder by microwave-hydrothermal method. *Materials Chemistry and Physics*, 99:235– 239, 2006.

[30] Maria Vallet. Tesis: "nanoapatitas": imitando a la naturaleza. *Departamento de Química Inorgánica y Bioinorgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.*

[31] I. Sopyan, M. Mel, S. Ramesh, and K.A. Khalid. Porous hydroxyapatite for artificial bone applications. *ScienceDirect*, 8:116–123, 2007.

[32] K. Byrappa and Masahiro Yoshimura. Handbook of hydrothermal technology. *Medigraphic Artemisa*, 2, 2001.

[33] N. Elizondo-Villareal, A. Martínez de-la Cruz, and V. M. Castaño. et. al. Bio-materials from agricultural waste eggshell-based hydroxyapatite. *Water Air and Soil Pollution*, 223(7):3643–3646,2012.

[34] Proyecto naica - www.naica.com.mx/imagenes/fondo.jpg, 2014.

[35] Lowenstam H. A. *Science*, 211:1126,1981.

[36] Mann S. Biomineralization: Principles and concepts in bioinorganic materials chemistry. *Oxford Univ. Press*,2001.

[37] Richard B. Frankel and Dennis A. Bazylinski. Biologically induced mineralization by bacteria. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54:95–114.

[38]Wilbur K.M. *American Zoologist*, 24:839, 1984.

[39] Mann S., Webb J., and Williams R. J. P. Biomineralization: Chemical and biochemical perspectives. *VCH: New York*, 1989.

[40] Stephen Weiner. Organization of organic matrix components in mineralized tissues. *American Zoologist*, 24:945–951, 1984.

[41] D. N. Sunderman and C. W. Townley. The radiochemistry of barium, calcium and strontium. *National Academy of Science*, 1960.

[42] Kresse, Robert, and Baudis et. al. Barium and barium compounds. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chermistry*,2007.

[43] Krebs and Robert E. The history and use of our earth's chemical elements: a refence guide. *Greenwood Publishing Group*, page 80, 2006.

[44] A. L. Swain and Amma E. L. *Inorg. chim. acta*. 163:5, 1989.

[45] Price P. A. *J. Biol. chem.* 250:1981, 1975.

[46] Thomas Loerting, Jurgen Bernard, and Roland G. Huber et. al. Matrix isolation studies of carbonic acid. *J. Am. Chem. Soc*, 47A:255–262, 1991.

- [47] Loerting T. and Moore M. et. al. Spectrochim. acta. part a. *J. Am. Chem. Soc.*, 135:7732–7737,2013.
- [48] John A. Wojtowicz. The carbonate system in swimming pool water. *Journal of the Swimming Pool and Spa Industry*, 4:1-9, 2001.
- [49] A.G. Jones. Crystallization process systems. *Butterworth Heinmann*, pages 138–180,2002.
- [50] A. E. Nielsen. Kinetics of precipitation. *Pergamon, Oxford*, 1964.
- [51] Ulrike Lohmann. Homogeneous and heterogeneous nucleation. *IACETH*, pages 1–31,2003.
- [52] Radhika Barua. Kinetics of phase transformation nucleation and growth. *Department of Chemical Engineering Boston, MA*, 2008.
- [53] De Yoreo Janes J and Peter G. Vekilov. Principles of crystal nucleation and growth. *U.S. Department of Energy by the University of California*. Pages 57- 93, 2003.
- [54] Hsien-Hsin Tung and Edward L. Paul et al. Crystallization of organic compounds: An industrial perspective. *WILEY*, 2009.
- [55] John Wiley and Sons. Handbook of polymer crystallization. *WILEY*, 2013.
- [56] Ichiro Sunagawa. Growth and morphology of crystals. *Forma*, 14:147 – 166, 1999.
- [57] Jackson K.A. Interface Kinetics, ingrowth and perfection of crystals. ed. by R.H. Doremus, B. W. Roberts and V. Turnbull, pages 319 – 324, 1958.
- [58] Temkin O.E. Phenomenological kinetics of the motion of a phase boundary. *Soviet Phys. Cryst.*, 15:767 – 772, 1971.
- [59] Bennema P. and Gilmer G. H. Kinetics of crystal growth. *Crystal Growth, An Introduction*, 14:147 – 166, 1973.
- [60] Rios Paulo Rangel, Siciliano Jr Fulvio, Hugo Ricardo Zschommler Sandim, Plaut Ronald Lesley, and Padilla Angelo Fernando. Nucleation and growth during recrystallization. *Materials Research*, 8:225 – 238, 2005.
- [61] Niederberger Markus and Helmut Colfen. Oriented attachment and mesocrystals: Non-classical crystallization mechanisms based on nanoparticle assembly. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 8:3271–3287,2006.
- [62] Wang Tongxin, Cölfen Helmut, and Antonietti Markus. Nonclassical crystallization: mesocrystals and morphology change of CaCO₃ crystals in the presence of a polyelectrolyte additive. *Journal of the American Chemical Society*, 127(10):3246–3247, 2005.

- [63] Victoria H. Boyd. The effect of calcium and magnesium on carbonate mineral precipitation during reactive transport in a model subsurface pore structure. *University of Illinois Thesis*, 2012.
- [64] Yasutaka Terakado, Yuko Ofuka, and Nozomi Tada. Rare earth elements, Sr, Ba, Fe, and major cation concentrations in some living foraminiferal tests collected from iriomote island, japan: An exploration for trace element behavior during biogenic calcium carbonate formation. *Geochemical Journal*, 44:315–322, 2010.
- [65] Dongni Ren and Qingling Feng. Effects of additives and templates on calcium carbonate mineralization in vitro. *ScienceDirect*, 42:228–245, 2011.
- [66] A.L.Herrera. *Memoires Society Scientifique Antonio Alzate*, 32: 345–369, 1912.
- [67] J.M. García-Ruiz. Teoría del crecimiento de cristales en geles. precipitación polimórfica y agregados cristalinos de morfología inducida. *PhD Thesis, Universidad Complutense, Madrid.*, 1980.
- [68] J.M. Garcia-Ruiz. *Cryst. Growth*, 73:251, 1985.
- [69] J.M. Garcia-Ruiz and J.L. Amoros. *Cryst. Growth*, 55:379, 1981.
- [70] J. M. Garcia-Ruiz. Tesis para ph.d. *Universidad Complutense, Madrid*, 1980.
- [71] M. Kellermeier, H. Colfen, and J.M. Garcia-Ruiz. *Inorg. Chem.*, 32:5123, 2012.
- [72] Juan Manuel Garcia Ruiz. Inorganic self-organisation in Precambrian charts. *Origins of life and evolution of biosphere*, 24:451–467, 1994.
- [73] J. M. Garcia-Ruiz. *Origins Life Evol. Biosphere*, 24:451, 1994.
- [74] James J. De Yoreo and Peter G. Vekilov. Principles of crystal nucleation and growth. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 54:57–94, 2003.
- [75] J. M. Garcia-Ruiz, S. T. Hyde, A. M. Carnerup, A. G. Christy, M. J. Van Kranendonk, and N. J. Welham. *Science*, 302:1194, 2003.
- [76] Bitarello Erica and Aquilano Dino. Self-assembled nanocrystals of barium carbonate in biomineral-like structures. *Eur J Mineral*, 19:345–351, 2007.
- [77] Kellermeier Matthias, Melero-García Emilio, Glaab Fabian, Eiblmeier Josef, Kienle Lorenz, Rachel Reinhard, Kunz Werner, and García-Ruiz Juan Manuel. Growth behavior and kinetics of self-assembled silica-carbonate biomorphs. *Chemistry A European Journal*, 18(8):2272–2282, 2012.
- [78] E. Melero-Garcia, R. Santisteban-Bailon, and J.M. Garcia-Ruiz. *Cryst. Growth Des.*, 9, 2009.
- [79] J. A. Speer. *Rev. Minera*, 11, 1983.
- [80] Oldenbourg R. and Ruiz T. Analysis of edge birefringence. *Biophysical*

Journal, 60:629–641,1991.

[81]J. M. Garcia-Ruiz. *Geology*, 26:843,1998.

[82]Keith H.D. and F.J. Padden. A phenomenological theory of spherulitic crystallization. *J. Appl. Phys*, 34:2409-2421, 1963

[83]J.M. García-Ruiz, E. Melero-García, and S. T. Hyde. Morphogenesis of self- assembled nano crystalline materials of barium carbonate and silica. *Science*, 323:362, 2009.

[84]Elena Rosseeva, Paul Simon, and Rudiger Kniep. Crystal branching and spherulite formation: Similar shapes, different mechanisms. *Research reports*.

[85] Busch S., Schwarz U., and Kniep R. Chemical and structural investigations of biomimetically grown fluorapatite gelatin composite aggregates. *Advanced Functional Materials*,13(3):189–198,2003.

[86] Eiblmeier Josef, Schurmann Ulrich, Kienle Lorenz, Gebauer Denis, Kunz Werner, and Kellermeier Matthias. New insights into the early stages of silica-controlled barium carbonate crystallisation. *Nanoscale*, 6:14939–14949, 2014.

[87] Kunz Werner and Kellermeier Matthias. Beyond biomineralization. *Science*, 323(5912):344–345,2009.

[88] F. J. Gonzales. Caracterización de materiales y defectos-técnicas de separación cromatográfica.

[89]Cesar Barbero, Ricardo Furlon y Ernesto Mata. Química Combinatoria: *Ciencia hoy en línea*, 21:124-2011