



EL SABER DE MIS HIJOS
HARÁ MI GRANDEZA

UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE INGENIERÍA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA
Y METALURGIA

ESTUDIO POR MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE LAS DIFERENTES ETAPAS DE LA SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA, VÍA LA TÉCNICA SOL-GEL EN MEDIO ALCOHÓLICO Y ACUOSO

Tesis

Que para obtener el título de:

INGENIERO QUÍMICO

Presenta

Jhovana Pamela Franco Miller

Hermosillo, Sonora, México

Junio de 2011

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

UNIVERSIDAD DE SONORA

VOTOS APROBATORIOS

Hermosillo, Sonora, a 21 de Junio de 2011.

M.C. JESÚS LEONEL SERVÍN RODRÍGUEZ
Jefe del Departamento
Ingeniería Química y Metalurgia

Por medio de la presente, nos permitimos informarle que los miembros del Jurado designado para revisar la Tesis Profesional: "**Estudio por Microscopia Electrónica de las Diferentes Etapas de la Síntesis de Hidroxiapatita, vía la Técnica Sol-Gel en Medio Alcohólico y Acuoso**", presentada por:

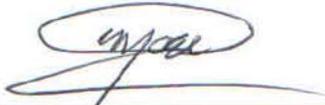
JEHOVANA PAMELA FRANCO MILLER

La han revisado y cada uno de los integrantes da su **VOTO APROBATORIO** ya que cumple con los requisitos parciales para la obtención del Título de:

Ingeniero Químico

30 / Junio / 2011

Fecha



DR. MARTÍN ANTONIO ENCINAS ROMERO

30 / Junio / 2011



DR. EDUARDO ANTONIO LARIOS RODRÍGUEZ

30 / Junio / 2011



M.C. ALEJANDRO VALENZUELA SOTO

30 / Junio / 2011



M.C. JESÚS HUMBERTO CORONADO LÓPEZ

Dedicada a mis abuelos:

Jorge Miller & Cristina de Miller
quienes con su amor y fe
convirtieron a aquella niña en una
gran mujer.

Por Siempre Ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

Por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida. Por los triunfos y los momentos difíciles que me han enseñado a valorarte cada día más.

A ti Madre.

Por haberme educado y soportar mis errores. Gracias a tus consejos, por el amor, confianza y paciencia que siempre me has brindado, por cultivar e inculcar ese sabio don de la responsabilidad.

¡Te amo mucho!

A mis Familiares.

En especial a mis abuelos, se que desde donde quiera que estén me mandan sus bendiciones, pues los sigo teniendo conmigo; en mi corazón y mente. A mi hermano y demás familiares por impulsarme a llegar hasta este momento, en particular a ti Vita por tu inmensa fe en mí, por tu cariño incondicional, pero sobre todo por esa infinita amistad que nos une.

A mis maestros.

Gracias por su tiempo, su apoyo, por la sabiduría que me transmitieron en el desarrollo de mi formación profesional, en especial a mi director de tesis el Dr. Martin Antonio Encinas Romero por su persistente guía y fe en mi trabajo y a mis sinodales por tomarse parte de su valioso tiempo en revisar este trabajo.

A mis amigos.

Les estoy muy agradecida por su cariño y apoyo, por todos esos momentos tan especiales de los cuales jamás me olvidare.

A la Universidad de Sonora y en especial al Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia por permitirme ser parte de ellos.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE TABLAS	x
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS	1
I.1. Justificación.....	1
I.2. Objetivo General.....	2
I.3. Objetivos Particulares.....	2
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
II.1. Biomateriales.....	3
II.1.1. Clasificación de los Biomateriales.....	3
II.2. Hidroxiapatita.....	7
II.3. Proceso Sol-Gel.....	9
II.3.1. Preparación del Sol.....	9
II.3.2. Gelificación.....	10
II.3.3. Envejecimiento.....	10
II.3.4. Secado y Tratamiento Térmico.....	10
II.4. Microscopia Electrónica.....	11
II.4.1. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	11
II.4.2. Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS	16
III.1. Materiales.....	16
III.2. Metodología.....	16
III.2.1. Procedimiento Para la Síntesis de la Hidroxiapatita.....	16
III.3. Técnicas de Análisis.....	21
III.3.1. Análisis Termogravimétrico-Análisis Térmico Diferencial (ATG-ATD).....	21
III.3.2. Difracción de Rayos-X (DRX).....	21

III.3.2. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR).....	21
III.3.4. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	22
III.3.5. Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).....	22
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
IV.1. Caracterización de la Hidroxiapatita Producida Utilizando Etanol o Agua como Medio Solvente.....	24
IV.1.1. Análisis Termogravimétrico-Análisis Térmico Diferencial (ATG-ATD).....	24
IV.1.2. Difracción de Rayos-X (DRX).....	26
IV.1.3. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR).....	30
IV.1.4. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).....	34
IV.1.5. Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).....	39
V. CONCLUSIONES.....	48
VI. RECOMENDACIONES.....	51
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Estructura de la hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	8
Figura 2. Las dos partes más importantes del MEB, la columna de electrones y la consola de control.....	13
Figura 3. Diagrama del moderno microscopio electrónico de transmisión con la mayoría de los componentes señalados [8].....	15
Figura 4. Proceso de agitación ultrasónica.....	17
Figura 5. Imagen del procedimiento de secado de del xerogel húmedo.....	18
Figura 6. Imagen del procedimiento de tratamiento térmico del xerogel seco.....	18
Figura 7. Proceso de lavado del producto para la obtención de hidroxiapatita.....	19
Figura 8. Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxiapatita por el método Sol-Gel.....	20
Figura 9. Microscopio electrónico de barrido (MEB).....	22
Figura 10. Microscopio electrónico de transmisión (MET).....	23
Figura 11. Curvas ATD-ATG para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en etanol, tratando térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$	25
Figura 12. Curvas ATD-ATG para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua, tratando térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de $10^\circ\text{C}/\text{min}$	26

Figura 13.	Patrones de DRX para el xerogel seco de acetato de calcio y trietil fosfato en etanol como medio solvente. (a) xerogel seco a 120°C, (b) xerogel seco tratado hasta 500°C, (c) xerogel seco tratado hasta 1000°C, (d) xerogel seco tratado térmicamente hasta 1000°C y tratado con HCl. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (▪) Acetato de calcio.....	29
Figura 14.	Patrones de DRX para el xerogel seco de acetato de calcio y trietil fosfato en agua como medio solvente. (a) xerogel seco a 120°C, (b) xerogel seco tratado hasta 500°C, (c) xerogel seco tratado hasta 1000°C, (d) xerogel seco tratado térmicamente hasta 1000°C y tratado con HCl. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (▪) Acetato de calcio.....	30
Figura 15.	Espectros FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol: (a) Secado a 120°C, (b) Tratado térmicamente hasta 460°C, (c) Tratado térmicamente hasta 1000°C, (d) Tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	32
Figura 16.	Espectros FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua: (a) Secado a 120°C, (b) Tratado térmicamente hasta 460°C, (c) Tratado térmicamente hasta 1000°C, (d) Tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	33
Figura 17.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C.....	34
Figura 18.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C.....	35

Figura 19.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C.....	36
Figura 20.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C.....	37
Figura 21.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	38
Figura 22.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	39
Figura 23.	Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C.....	40
Figura 24.	Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C.....	41
Figura 25.	Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C.....	42
Figura 26.	Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C.....	43

Figura 27.	Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	44
Figura 28.	Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	45
Figura 29.	Imagen de DEAS del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	46
Figura 30.	Imagen en DEAS del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.....	46

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla I. Propiedades mecánicas típicas de la hidroxiapatita.....	8

RESUMEN

La hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es un fosfato de calcio ampliamente utilizado en cirugía del tejido óseo, debido a la similitud de este compuesto, con el componente principal de la fase inorgánica de los tejidos duros del organismo y su naturaleza bioactiva, lo cual le permite una unión química directa con estos tejidos. Por tal razón, este material tiene gran aplicación en la sustitución y/o reparación de defectos óseos en cirugía dental y ortopédica. Debido a lo anterior, se han desarrollado un gran número de técnicas para la síntesis de hidroxiapatita, destacando el método Sol-Gel como una de las técnicas más económicas y eficientes. En este trabajo se sintetizó hidroxiapatita mediante la técnica sol-gel, utilizando acetato de calcio $\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$, y trietil fosfato $\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$, como agentes precursores de calcio y fósforo respectivamente, inmersos en agua o etanol como medio solvente. Las muestras fueron caracterizadas por análisis térmico diferencial (ATD), análisis termogravimétrico (ATG), difracción de rayos-X (DRX), espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR), dando un tratamiento especial a los análisis por microscopia electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET) para desarrollar el estudio de cada una de las etapas del procesamiento, destacando las diferencias referentes a la aparición de productos secundarios, morfología, estructura y cantidad de los productos obtenidos, en la síntesis de hidroxiapatita, utilizando un medio alcohólico o acuoso como solvente. A partir de éstos análisis se pudo reconocer, que las características morfológicas y cristalográficas de los materiales a través de las distintas etapas de procesamiento, utilizando etanol o agua como solventes, son prácticamente idénticas. El medio solvente utilizado únicamente afectó el tamaño de los cristales de hidroxiapatita, resultando en tamaños menores para el caso del medio acuoso. Sin embargo, el medio solvente utilizado influyó significativamente la cantidad del producto final obtenido, resultando en una mayor cantidad de hidroxiapatita en alcohol como medio solvente. Por lo anterior, se considera que el medio alcohólico es la condición más eficiente cuando se trata de obtener mayor cantidad de producto.

I. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.

I.1. Justificación.

La hidroxiapatita, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$, es un cerámico de fosfato de calcio de gran interés en aplicaciones biomédicas, debido a la semejanza entre este material y los tejidos duros del organismo (huesos y dientes). Por tal razón, se han desarrollado un gran número de técnicas para sintetizarla de una manera práctica y eficiente. Entre estos métodos de preparación destaca la técnica Sol-Gel debido a las ventajas que ésta presenta, entre ellas el uso de reactivos económicos y fáciles de adquirir, procedimientos con bajas temperaturas y relativa simplicidad en cada una de las etapas de síntesis. Sin embargo, el desarrollo de una misma ruta Sol-Gel, haciendo variaciones en el medio solvente, en ocasiones da lugar a diferentes características en los productos finales, tales como cambios en composición, aparición de subproductos así como también diferencias en las cantidades finales obtenidas. Tal es el caso de la ruta Sol-Gel, donde se utiliza acetato de calcio como precursor de iones calcio $(Ca(C_2H_3O_2)_2)$ y trietil fosfato $(PO(OC_2H_5)_3)$ como precursor de iones fosforo, donde se ha encontrado que al variar el medio solvente de alcohólico a acuoso, se encuentra una marcada diferencia en la cantidad final del producto lo que hace ineficiente hasta cierto punto esta técnica en medio acuoso. Por tal razón este trabajo de investigación pretende evaluar mediante las técnicas de microscopia electrónica de barrido (MEB) y de transmisión (MET), las diferentes etapas para analizar la evolución desde los geles secos (xerogeles) hasta la última etapa en la producción de hidroxiapatita, apoyándonos también con técnicas de análisis termogravimétrico (ATG-ATD), espectroscopia infrarroja de transformadas de Fourier (FT-IR), entre otras, con el fin de poder proponer, si es posible algunas variantes que hagan más rentable esta segunda opción de síntesis.

I.2. Objetivo General.

Estudiar los polvos de hidroxiapatita, producidos mediante una técnica Sol-Gel alternativa, utilizando reactivos económicos y accesibles, los cuales pueden tener usos potenciales como sustitutos en lesiones del tejido óseo.

I.3. Objetivos Particulares.

Para lograr tal objetivo se plantean los siguientes objetivos particulares:

- Estudio de las diferentes etapas de la síntesis de hidroxiapatita, mediante la técnica Sol-Gel utilizando medio solvente alcohólico y acuoso, mediante las técnicas de análisis térmico, difracción de rayos-X y espectroscopia infrarroja.
- Análisis de las diferentes etapas de síntesis de hidroxiapatita por microscopia electrónica de barrido (MEB).
- Análisis de las diferentes etapas de síntesis de la hidroxiapatita por microscopia electrónica de transmisión (MET).
- Destacar las diferencias más importantes en la utilización de estos dos medios solventes, para la síntesis de hidroxiapatita.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

II.1. Biomateriales.

Un biomaterial es una sustancia diseñada para ser implantada o incorporada dentro de un sistema vivo. Los biomateriales se implantan con el objeto de reemplazar y/o restaurar tejidos vivos y sus funciones, lo que implica que estén expuestos de modo temporal o permanente a fluidos corporales. Sin embargo, algunos biomateriales pueden estar localizados fuera del propio cuerpo, incluyéndose en esta categoría a la mayor parte de los materiales dentales.

Los biomateriales deben cumplir con las condiciones de partida de ser biocompatibles y asegurar una determinada vida media. Además, tienen que aportar las características específicas que requiera la aplicación a que vayan destinados.

En el caso del tejido óseo, para reemplazarlo y/o reestructurarlo se utilizan biomateriales como una opción para tratar, aumentar o sustituir tejido dañado.

II.1.1. Clasificación de los Biomateriales.

Los materiales sintéticos utilizados para implantación en el tejido óseo son cinco:

- Biomateriales biológicos.
- Biomateriales metálicos.
- Biomateriales poliméricos.
- Biomateriales cerámicos.
- Biomateriales compuestos o compósitos.

Biomateriales Biológicos.

Algunos científicos también consideran a los injertos biológicos como biomateriales. Los trasplantes biológicos se clasifican como autoinjertos, aloinjertos y xenoinjertos. Destacándose los 2 primeros como los principales.

Los autoinjertos son aquellos implantes que provienen del cuerpo del mismo paciente. Los aloinjertos son materiales biológicos provenientes de otros individuos de la misma especie. Además, existen injertos producidos de células huésped considerados como tejidos orgánicos artificiales, los cuales son producidos en biorreactores especializados. Los xenoinjertos son los implantes provenientes de especies biológicas diferentes al huésped de estudio.

Biomateriales Metálicos.

Los biomateriales metálicos se han utilizado especialmente para implantes sometidos a esfuerzos mecánicos, como prótesis para rodilla y cadera, cables, clavos, tornillos y placas para fijación de fracturas.

Generalmente no se utilizan metales puros, sino aleaciones que frecuentemente proveen al material de mejores propiedades, como resistencia mecánica y a la corrosión. Estas dos propiedades limitan la utilización de una gran parte de metales para sustitutos óseos [1].

Biomateriales Poliméricos.

Los poliméricos son ampliamente utilizados en medicina debido a las enormes posibilidades que presentan, tanto en variedad de compuestos como en las distintas maneras en que pueden ser fabricados.

Pueden ser tanto naturales como sintéticos y se pueden encontrar formulaciones bioestables, es decir, con carácter permanente; o biodegradables, con carácter temporal. Los primeros son particularmente útiles para sustituir parcial o totalmente tejidos u órganos lesionados o destruidos, y los materiales poliméricos biodegradables poseen una funcionalidad adecuada durante un tiempo limitado, el tiempo necesario mientras el problema subsista.

Entre estos materiales, tienen particular importancia los cementos óseos acrílicos, que han encontrado importantes campos de aplicación, especialmente en traumatología [2-3].

Biomateriales Cerámicos.

Los cerámicos son aquellos materiales que incluyen a las composiciones inorgánicas y no metálicas. Los materiales cerámicos que son biocompatibles se denominan biocerámicos.

Cabe mencionar, que los biocerámicos podrían ser los biomateriales ideales, ya que poseen una buena biocompatibilidad y oseointegración, además, son los materiales más parecidos al componente mineral del hueso.

A diferencia de los metálicos, estos no sufren los efectos de la corrosión, y aunque algunos pueden llegar a degradarse, los productos de tal degradación pueden ser reabsorbidos por las células sin causar mayores problemas al huésped.

Los biocerámicos pueden dividirse dependiendo del tipo de reacción con el huésped en bioinertes, bioactivos y biodegradables.

Los bioinertes son aquellos que no tienen ninguna reacción con el sistema del huésped, por lo que deben tener una influencia casi nula sobre los tejidos vivos que los rodean. Normalmente son utilizados para recubrir superficies o

reemplazar partes desgastadas que son sometidas a altos esfuerzos. Estos materiales tienen la cualidad de no reaccionar con el huésped, aunque su adherencia se debe principalmente a la porosidad que tiene el material, ya que son producidos por medio de la adición de una segunda fase que se descompone antes de la densificación de la pieza, dejando poros. Entre los más utilizados se encuentra la alúmina (Al_2O_3), el óxido de titanio (TiO_2), y los óxidos de silicio, (SiO_2) y de zirconio (ZrO_2).

Los materiales cerámicos bioactivos son aquellos que poseen la capacidad de desarrollar una fuerte unión con el tejido óseo, ya que reaccionan de alguna manera con el sistema. Su reacción está dada por la formación de capas de apatitas o proteínas en su superficie que facilita la unión con el huésped; esta propiedad también está dada por la porosidad del material. El ejemplo más común en el caso de algunas cerámicas que llegan a formar uniones con los huesos como la hidroxiapatita, vidrios bioactivos o biovidrios (Bioglass $\text{Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$) y vitrocerámicos [4].

Los estudios in vitro e in vivo han puesto de manifiesto, que el material bioactivo forma una capa de hidroxiapatita carbonatada (CHA) en su superficie, al entrar en contacto con suero fisiológico artificial, saliva humana parótida o al ser implantado, uniéndose directamente a través de dicha capa al tejido óseo.

Los biodegradables o biorreabsorbibles son aquellos que reaccionan tanto biológica como químicamente, son materiales que además de bioactivos son reabsorbibles, lo cual les permite la posibilidad de permanecer el tiempo suficiente en el organismo, interactuando con el sistema biológico, mientras el defecto se corrige. Estos materiales al ser degradados por el sistema, sus residuos funcionan como material de reconstrucción celular, es decir, que estos materiales funcionan como soporte mecánico y de andamiaje, los cuales después de un periodo de tiempo variable se desintegran dejando atrás un sistema biológico regenerado. El ejemplo más usual son las prótesis óseas de β -Tricalcio fosfatos (β -TCP), que al

desintegrarse, los osteoclastos utilizan los residuos degradados para reemplazar la anterior prótesis con masa ósea natural.

Biomateriales Compuestos o Compósitos.

Los materiales compuestos o compósitos, son una combinación de dos o más materiales que se diferencian en función, forma o composición a escala macroscópica. Las fases mantienen sus identidades, es decir, no se disuelven o se mezclan completamente. Tanto los biomateriales cerámicos como los poliméricos pueden combinarse para constituir materiales compuestos optimizados, los que permiten la obtención de implantes que reúnen las mejores características biológicas y mecánicas de los materiales originales, para su empleo como sustitutos óseos más eficientes [1].

II.2. Hidroxiapatita.

La hidroxiapatita sintética ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), es un fosfato de calcio con la composición química más parecida al componente mineral de los huesos, presenta buenas propiedades como biomaterial, destacándose la biocompatibilidad con los tejidos vivos. Es el principal componente inorgánico del hueso de los vertebrados; también la encontramos en la dentina y el esmalte dental [5]. Este fosfato de calcio presenta características de biocompatibilidad, no toxicidad, bioactividad, estabilidad química, osteoconducción y unión directa al hueso; tales propiedades hacen a este material muy práctico para usos médicos.

La hidroxiapatita se puede utilizar como reemplazo de partes pequeñas de hueso, relleno de cavidades en odontología y recubrimiento de superficies de metales para implantes, entre otras aplicaciones.

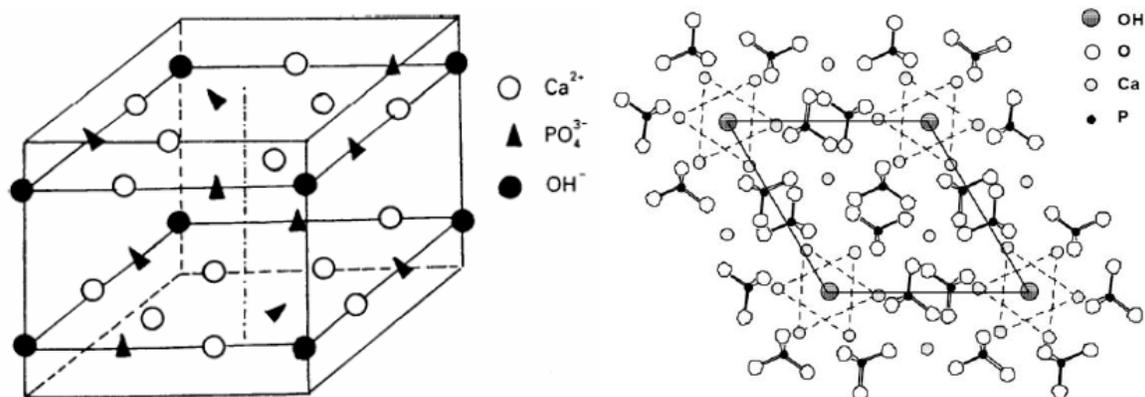


Figura 1. Estructura de la hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

Por tal razón, se han desarrollado un gran número de investigaciones para producir hidroxiapatita sintética, ya sea por precipitación acuosa, síntesis hidrotérmica, procesado en sólido, hidrólisis y sol-gel entre otras. Los procedimientos o condiciones bajo las cuales se sintetiza pueden influir en sus características físicas y químicas [6]. Por lo anterior, sus propiedades pueden variar ampliamente, los rangos promedios se observan en la Tabla I. Estos datos son importantes, ya que al compararlos con las propiedades mecánicas de la mayoría de las prótesis metálicas o poliméricas, estas pueden ajustarse a condiciones más similares a las del tejido óseo.

Tabla I. Propiedades mecánicas típicas de la hidroxiapatita.

Propiedad	Característica
Densidad Teórica	3.156 g/mL
Dureza	5 mohs
Esfuerzo de Tensión	40-100 MPa
Esfuerzo de Flexión	20-80 MPa
Esfuerzo de Compresión	100-900 MPa
Fractura	Aprox. $1 \text{ MPa m}^{0.5}$
Modulo de Young	70-120 GPa

La aplicación clínica de este material está muy limitada por su baja resistencia mecánica, por lo que se ha investigado la producción de compósitos de hidroxiapatita y con otros materiales metálicos con potenciales aplicaciones en el campo de los biomateriales [7].

II.3. Proceso Sol-Gel.

La técnica Sol-Gel es una herramienta experimental utilizada para el desarrollo de nuevos materiales con aplicaciones tecnológicas importantes. Este procedimiento químico consiste en transformar una solución que contiene un ion metálico en una gelatina o un precipitado, mediante reacciones químicas en condiciones sencillas de presión y temperatura ambiente. Este proceso se puede dividir en cuatro grandes etapas fundamentales: preparación del sol, gelificación, envejecimiento, y por último, secado y tratamiento térmico.

II.3.1. Preparación del Sol.

Un sol es una suspensión coloidal de partículas sólidas en un líquido, existen dos vías básicas para obtener los soles: los sistemas acuosos y los sistemas orgánicos. En los sistemas acuosos se utilizan como precursores óxidos, hidróxidos y sales tanto orgánicas como inorgánicas, estos compuestos se dispersan o se disuelven en agua. Los sistemas orgánicos se obtienen a partir de compuestos metal-orgánicos (principalmente alcóxidos) disueltos en un solvente orgánico, que generalmente es un alcohol. Durante esta etapa se desarrollan reacciones de “hidrólisis” de los alcóxidos metálicos con el agua, formándose hidróxidos metálicos. Asimismo, los hidróxidos metálicos se combinan para producir óxidos metálicos, liberando además una molécula de agua o de alcohol, razón por la cual, esta segunda reacción recibe el nombre de “condensación”.

II.3.2. Gelificación.

Una vez realizadas las reacciones de hidrólisis y condensación del proceso anterior, prosigue la formación de agregados, los cuales se enlazan hasta formar un único agregado gigante denominado gel. En el momento de formación del gel hay muchos agregados en el sol, que se unen entre sí para formar una red sólida, lo cual le da la elasticidad al gel, mientras ocurre un cambio abrupto de la viscosidad.

II.3.3. Envejecimiento.

Luego de la gelificación el sistema continúa reaccionando, dando lugar a reacciones de “polimerización”, donde aumenta la densidad y la resistencia mecánica del sólido. Ocurren también otras reacciones como sinéresis, maduración y cambios de fase.

II.3.4. Secado y Tratamiento Térmico.

La fase líquida constituye la mayor parte del volumen del gel húmedo. El secado de esta fase líquida ocurre mediante “evaporación”, la cual causa una contracción acompañada de endurecimiento del gel, estos geles secos también reciben el nombre de “xerogeles”.

Durante el tratamiento térmico ocurren una serie de cambios físicos y químicos en los materiales, los cuales pueden llevar a la transformación de fases existentes y la aparición de nuevos compuestos. Estos cambios pueden ser analizados mediante técnicas como el análisis termogravimétrico y dilatometría entre otras [8-11].

II.4. Microscopia Electrónica.

La potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. El microscopio electrónico utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz, pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. La longitud de onda más corta de la luz visible es de alrededor de 4000 \AA (1 \AA es 0.0000000001 m). La longitud de onda de los electrones que se utilizan en los microscopios electrónicos es de alrededor de 0.05 \AA .

Todos los microscopios electrónicos cuentan con varios elementos básicos. Disponen de un cañón de electrones, que emite los electrones que chocan contra el espécimen, creando una imagen aumentada. Se utilizan lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones, ya que las lentes convencionales utilizadas en los microscopios ópticos no funcionan con los electrones. El sistema de vacío es una parte relevante del microscopio electrónico. Los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, de forma que tiene que hacerse un vacío casi total en el interior de un microscopio de estas características. Por último, todos los microscopios electrónicos cuentan con un sistema que registra o muestra la imagen que producen los electrones [12].

Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos el microscopio electrónico de barrido (*MEB*) y el microscopio electrónico de transmisión (*MET*).

II.4.1. Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

El microscopio electrónico de barrido (MEB) permite la observación y caracterización heterogénea de materiales orgánicos e inorgánicos en una escala de nanómetros (nm) a micrómetros (μm) [13].

El microscopio electrónico de barrido es, en esencia, un aparato diseñado para que un fino haz de electrones haga una exploración (barrido) sistemática de la

muestra en observación, produciéndose así electrones secundarios que una vez recogidos por un detector son empleados como una señal a partir de la cual se obtiene en la pantalla de un tubo de rayos catódicos, una imagen “tridimensional” aumentada de la superficie de la muestra. La imagen “tridimensional” es en realidad una pseudovisión ya que la imagen que obtenemos en la pantalla es bidimensional [14].

Los dos componentes principales de un MEB son la columna de electrones y la consola de control (Figura 2). La columna de electrones consiste en un cañón de electrones y dos o más lentes electromagnéticas, que influyen en las trayectorias de los electrones, además cuenta con bombas de vacío que producen un vacío de aproximadamente 10^{-4} Pa (aproximadamente 10^{-6} torr, o aproximadamente mil millonésimas partes de una presión atmosférica). La consola de control se compone de un tubo de rayos catódicos (TRC), pantalla de visualización, botones y un teclado de computadora con el cual se controlan los parámetros de operación [13].

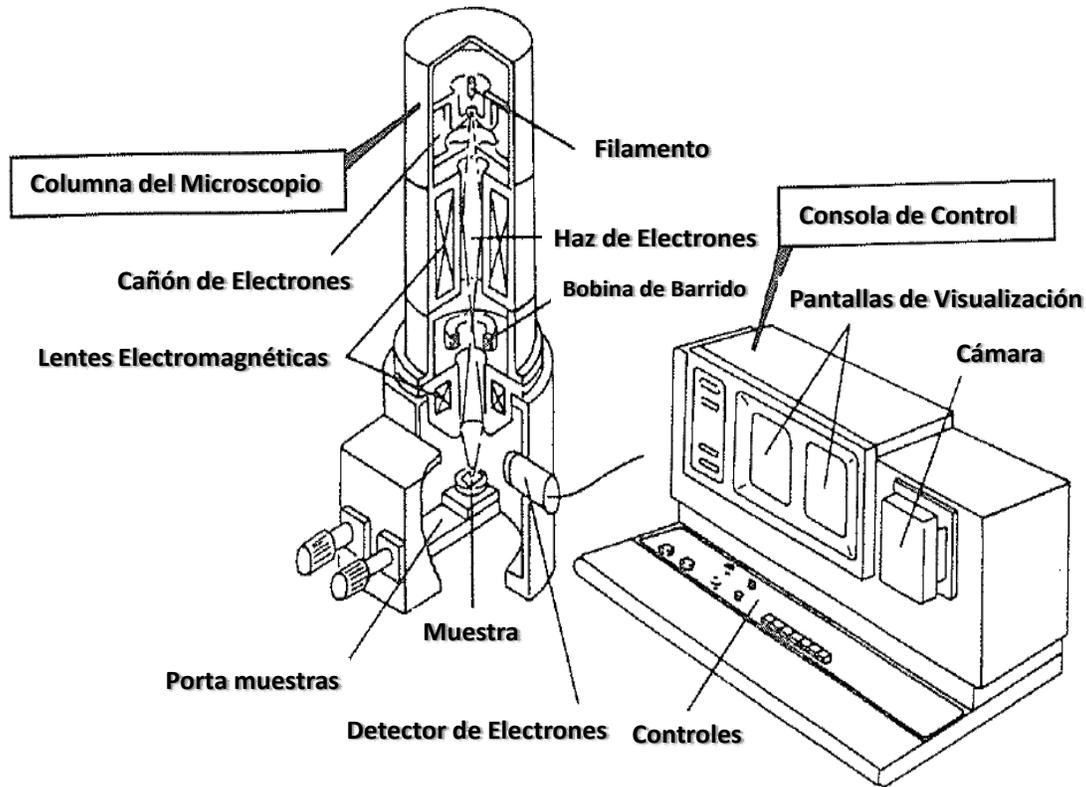


Figura 2. Las dos partes más importantes del MEB, la columna de electrones y la consola de control.

Aplicaciones.

El microscopio electrónico de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos, lo cual es de suma importancia para una caracterización morfológica externa de los materiales [15].

Las aplicaciones del microscopio electrónico de barrido son muy variadas, y van desde diversas industrias como la petroquímica o la metalúrgica, hasta la medicina forense. Sus análisis proporcionan datos relacionados con la textura, tamaño y forma de la muestra.

Entre las áreas de aplicación de esta técnica, se pueden mencionar:

- Estudio de materiales.
- Metalurgia y geología.
- Botánica, biomedicina y medicina.
- Paleontología y arqueología.
- Control de calidad.
- Medicina forense y peritajes.

II.4.2. Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).

El microscopio electrónico de transmisión (MET), tiene capacidades de ampliación y de resolución de más de mil veces, más allá que la ofrecida por el microscopio de luz. Se trata de un instrumento que se utiliza para revelar la ultra estructura de los materiales. El MET es un sistema de visión complejo, equipado con un conjunto de lentes electromagnéticos, utilizados para controlar las imágenes de los electrones, con el fin de generar detalles estructurales extremadamente finos que suelen registrarse en una película fotográfica. Dado que los electrones iluminados pasan a través de las muestras, se dice que la información es una imagen transmitida. El moderno MET puede lograr aumentos de un millón de veces con resoluciones de 0.1 nm [16].

Elementos esenciales.

El microscopio electrónico de transmisión tiene los siguientes elementos esenciales [17]:

- Sistema de vacío
- Cañón de electrones
- Sistema de lentes
- Sistema de detección
- Dispositivos de registro

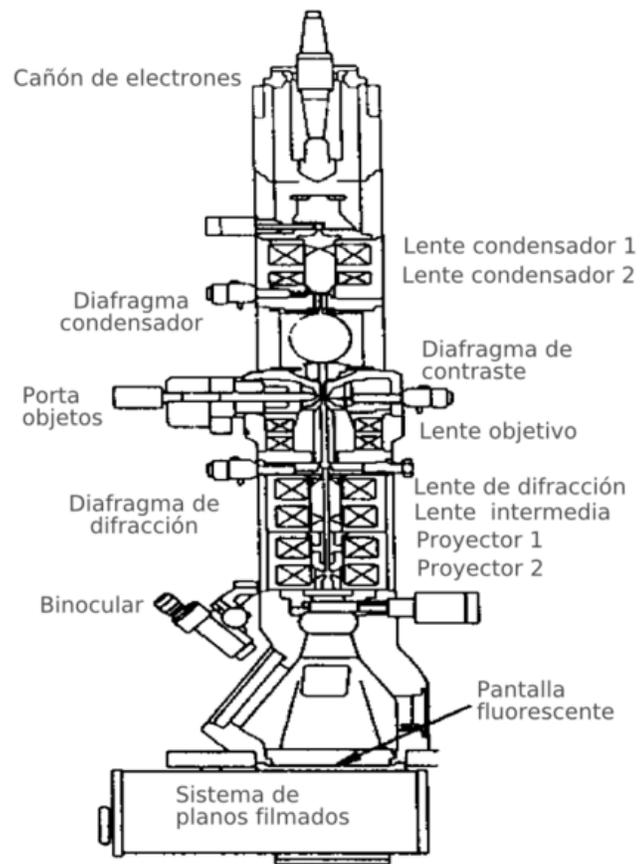


Figura 3. Diagrama del moderno microscopio electrónico de transmisión con la mayoría de los componentes señalados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

III.1. Materiales.

Para la síntesis del hidroxiapatita se utilizaron los siguientes reactivos.

1. Acetato de Calcio [$\text{Ca}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2$] 99% pureza, marca Sigma-Aldrich, Japón.
2. Trietil Fosfato [$\text{PO}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$] 99.8% pureza, marca Sigma-Aldrich, E.U.A.
3. Alcohol Etilico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$).
4. Acido Clorhídrico (HCl) 36.9% pureza, Marca Fermont Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V., México.
5. Agua desionizada.

III.2. Metodología.

III.2.1. Procedimiento para la Síntesis de la Hidroxiapatita.

Para la producción de hidroxiapatita se desarrollaron las etapas siguientes:

- i) En un vaso de precipitado de 100 mL (Pyrex), se agregaron 5 mL de alcohol o agua desionizada.
- ii) Se añadieron gota a gota 0.12 moles (2.0462 mL) de trietil fosfato al 99.8%, agitándose durante 15 min en un baño ultrasónico marca Branson modelo 2510, como se observa en la Figura 4.



Figura 4. Proceso de agitación ultrasónica.

- iii. La solución se sometió a una serie de calentamientos sucesivos en un horno marca Felisa modelo FE-292D mostrado en la Figura 5, inicialmente a una temperatura de 35°C durante 12 h, para después aumentar la temperatura hasta 45°C durante las 12 h siguientes.
- iv. A temperatura ambiente, se pesaron 0.02 moles (3.1634 g) de acetato de calcio al 99% en una báscula digital marca Sartorius modelo BP150, y fue agregado poco a poco en la solución mientras se agitaba en el baño ultrasónico; se continuo agitando por 10 min hasta lograr una completa homogenización.
- v. Esta mezcla de precursores disueltos en la base alcohol o agua se somete a un calentamiento más por 12 h a 75°C, etapa durante la cual se observó la gelificación.
- vi. Finalmente el xerogel húmedo obtenido se seca a una temperatura de 120°C durante 10 h.



Figura 5. Imagen del procedimiento de secado del xerogel húmedo.

- iii. Una vez obtenido el xerogel seco, la mezcla se somete a un tratamiento térmico hasta 1000°C con una rampa de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, en un horno marca Thermolyne modelo 48000 mostrado en la Figura 6, manteniéndose a esta temperatura por 5 h con el fin de hacer reaccionar todos los componentes de la muestra. Terminado esta etapa se dejó enfriar dentro del horno apagado por un periodo de 12 h.



Figura 6. Imagen del procedimiento de tratamiento térmico del xerogel seco.

- iv. El último paso es lavar el producto obtenido del tratamiento térmico con 50 mL de solución de HCl 0.01 M agitándose por 2 h. Para remover el exceso de ácido y de sales solubles, se filtra la solución anterior en papel filtro Walkman #42, y se lava el producto repetidas veces con 1 L de agua desionizada (Figura 7). Se deja secar el producto en condiciones ambientales por 24 h y se pesa.



Figura 7. Proceso de lavado del producto para la obtención de hidroxiapatita.

El desarrollo sistemático de todas estas etapas aparece detallado en la Figura 8.

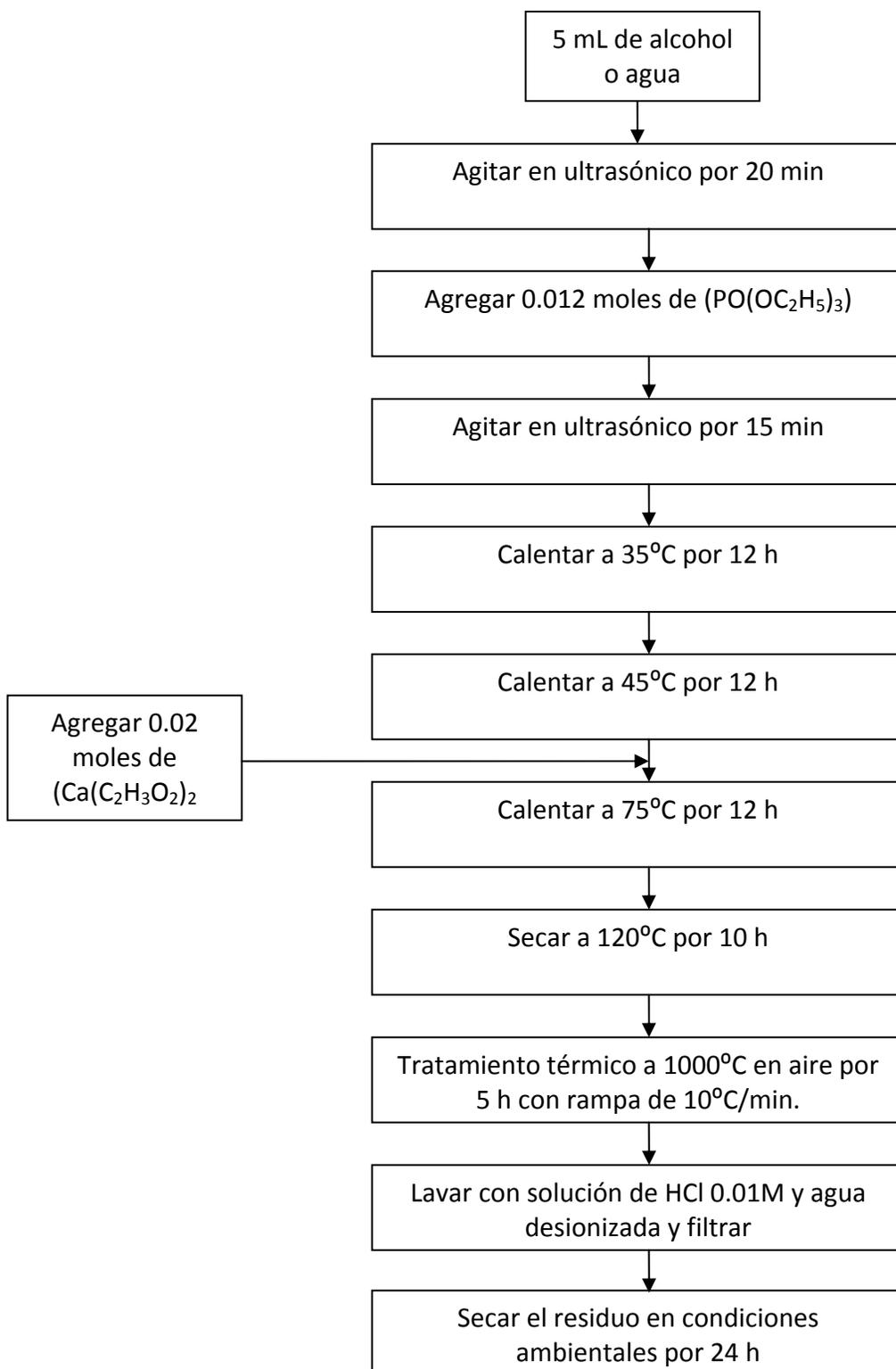


Figura 8. Diagrama de flujo para la síntesis de hidroxiapatita por el método Sol-Gel.

III.3. Técnicas de Análisis.

III.3.1. Análisis Termogravimétrico-Análisis Térmico Diferencial (ATG-ATD).

Para detectar las transformaciones que ocurren en los materiales con la modificación de su temperatura se utilizó el ATG, en combinación con el ATD. Ambos análisis se desarrollaron en un equipo analizador simultáneo DSC-TGA (TA Instruments SDT 2990, New Castle, DE). El intervalo de calentamiento fue desde la temperatura ambiente hasta 1000°C, a una velocidad de 10°C/min con un flujo de aire de 23 cm³/min. Se utilizaron 3 mg de muestra colocados sobre 10 mg de alúmina.

III.3.2. Difracción de Rayos-X (DRX).

Los patrones de difracción de rayos-X se obtuvieron con un difractómetro de polvos Phillips X'PERT (Phillips Electronics, N.V. Eindhoven, Netherlands), con radiación CuK α (40 mA, 45 KV) y velocidad de barrido de 1.2°/min. En ambos casos, variando el ángulo 2 θ desde 10° hasta 80°.

III.3.3. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR).

Los espectros de infrarrojo se obtuvieron con un espectrómetro FT-IR Perkin-Elmer Modelo Spectrum GX (Perkin-Elmer, Shelton CT). Las muestras fueron mezcladas con KBr y prensadas para formar pastillas las cuales fueron analizadas en modo de transmisión, en el intervalo de 4000-400 cm⁻¹.

III.3.4. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).

Para el análisis de la morfología externa de los materiales se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL-5300 (Tokyo, Japón), como el que se muestra en la Figura 9, todas las micrografías presentadas se obtuvieron sin ningún tipo de recubrimiento de los materiales.



Figura 9. Microscopio electrónico de barrido (MEB).

III.3.5. Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).

Las imágenes de alta resolución y los patrones de difracción de electrones de área selecta (SAED), se obtuvieron con un microscopio electrónico de transmisión JEOL, JEM-2010F (Tokyo, Japón), como el que se muestra en la Figura 10. Las muestras fueron preparadas por dispersión de los polvos en agua desionizada formando suspensiones muy diluidas, posteriormente se colocó una gota de esta suspensión en una rejilla de cobre recubierta con carbón.



Figura 10. Microscopio electrónico de transmisión (MET).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

IV.1. Caracterización de la Hidroxiapatita Producida Utilizando Etanol o Agua como Medio Solvente.

IV.1.1. Análisis Termogravimétrico-Análisis Térmico Diferencial (ATG-ATD).

Para conocer el efecto de las temperaturas sobre los xerogeles secos obtenidos al final de la etapa Sol-Gel, se desarrollaron las técnicas de análisis térmico gravimétrico (ATG) y térmico diferencial (ATD), con el objeto de conocer las diferentes transformaciones que experimentan los materiales hasta alcanzar los productos finales deseados.

La Figura 11, muestra las curvas de ATG combinadas con las curvas de ATD, para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en etanol, tratado térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de 10°C/min. La curva de ATG presenta algunas señales de pérdida en peso al principio del calentamiento, las cuales pueden ser atribuidas a pérdidas de humedad del sistema, así como a la evolución de compuestos orgánicos presentes en el xerogel, los cuales fueron añadidos como precursores o formados a partir de una reacción con todos los componentes del medio.

La primera transición térmica importante ocurre en el intervalo de temperatura de 350°C-480°C a la cual le corresponde una pérdida en peso de aproximadamente 29%, esta se encuentra relacionada con un intenso pico exotérmico en la curva de ATD alrededor de 400°C, esta primera transformación está asociada con la formación de hidroxiapatita acompañada de carbonato de calcio en forma de calcita (CaCO_3) [18].

Alrededor de 620°C y 715°C, se observa una transición térmica adicional, correspondiente a una pérdida en peso alrededor de 15%, relacionada con un pico

endotérmico alrededor de 680°C, el cual se debe a la conversión de carbonato de calcio a óxido de calcio (CaO) y dióxido de carbono [18].

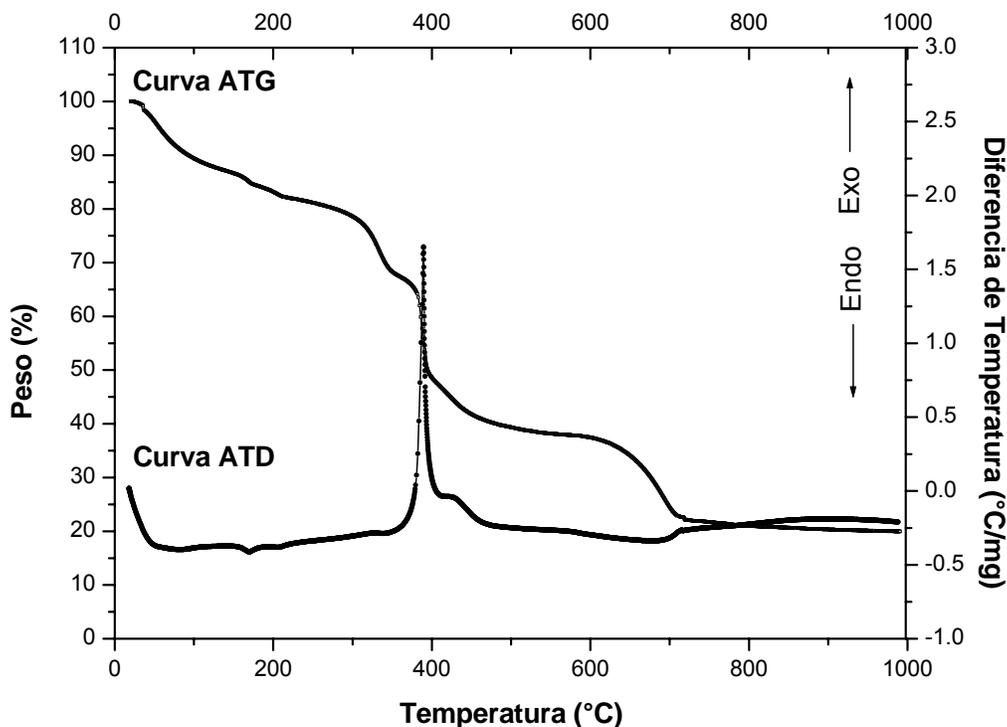
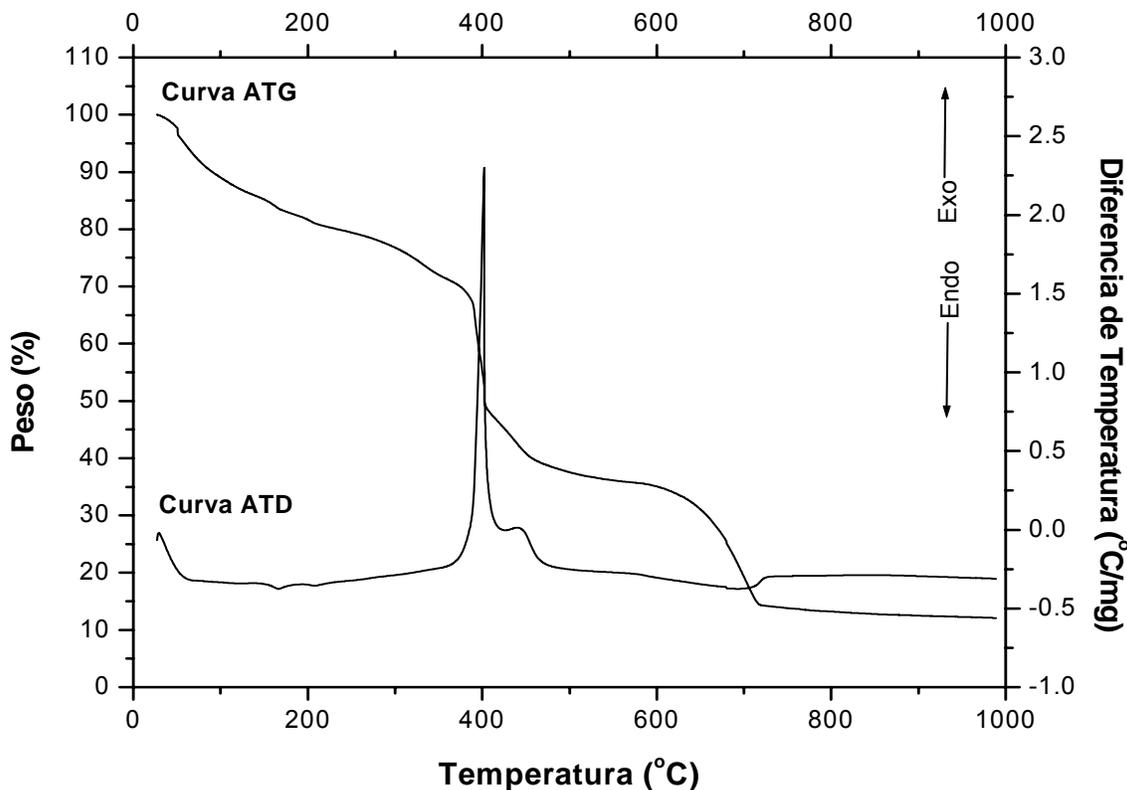


Figura 11. Curvas ATG-ATD para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en etanol, tratando térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de 10°C/min.

La Figura 12, muestra las curvas de ATG combinadas con las curvas de ATD, para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua, tratado térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de 10°C/min.

En esta figura se observa las mismas transiciones, a los mismos niveles de temperatura encontradas en medio alcohólico. Sin embargo las pérdidas en peso aparecen más pronunciadas en medio acuoso en relación con el medio alcohólico, lo cual sugiere que la cantidad de producto final será mayor en este último medio. Lo anterior quedó demostrado en trabajos anteriores donde después de llevar a

cabo todas las etapas de síntesis, se encontraron 1.028 y 0.678 g de hidroxiapatita en medio alcohólico y acuoso respectivamente [18].



F

figura 12. Curvas ATG-ATD para el xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato en agua, tratando térmicamente desde la temperatura ambiente hasta 1000°C a una velocidad de 10°C/min.

IV.1.2. Difracción de Rayos-X (DRX).

La Figura 13, nos muestra los patrones de difracción de rayos-X para diferentes etapas, en el tratamiento térmico del xerogel seco, formulado para producir hidroxiapatita pura a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol como medio solvente. En la Figura 13(a), el análisis del xerogel seco no muestra ningún indicio de la presencia de hidroxiapatita hasta esta etapa de procesamiento, únicamente se aprecia el acetato de calcio como componente principal (JCPDS 19-0199) en una mezcla compuestos provenientes de los

agentes precursores. La Figura 13(b), corresponde al mismo xerogel seco tratado térmicamente hasta 500°C, donde se puede apreciar los primeros indicios de la presencia de hidroxiapatita (JCPDS 09-0432), pero acompañada de carbonato de calcio (JCPDS 47-1743). Lo anterior también se confirmó visualmente, ya que al final de esta etapa, el material pasó de ser un polvo blanco a un polvo gris oscuro, producto de esta transformación. La Figura 13(c) corresponde al mismo xerogel seco, tratado térmicamente hasta 1000°C, donde puede observarse la presencia de hidroxiapatita, apreciándose una cristalización considerablemente definida de las especies y la conversión de los carbonatos de calcio a óxido de calcio (JCPDS 37-1497). Esto también se pudo comprobar visualmente, ya que al final de este tratamiento térmico, el material se transformó de nuevo de un polvo gris oscuro a un polvo blanco, compuesto por pequeños aglomerados de partículas individuales. La Figura 13(d) muestra la hidroxiapatita después de los lavados con solución de HCl diluida, y posteriormente lavada con agua con el fin de convertir los CaO en CaCl₂ y solubilizarlo en esta última.

La Figura 14, nos muestra los patrones de difracción de rayos-X, para diferentes etapas en el tratamiento térmico del xerogel seco, formulado para producir hidroxiapatita pura, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua como medio solvente. En la Figura 14(a), el análisis del xerogel seco al igual, que el xerogel seco formulado en etanol no muestra ningún indicio de la presencia de la hidroxiapatita hasta esta etapa de procesamiento, únicamente se aprecia el acetato de calcio como componente principal (JCPDS 19-0199) en una mezcla de compuestos provenientes de los agentes precursores. La Figura 14(b), corresponde al mismo xerogel seco, tratado térmicamente hasta 500°C, donde se puede apreciar los primeros indicios de la presencia de hidroxiapatita (JCPDS 09-0432), pero acompañada de nueva cuenta de carbonato de calcio (JCPDS 47-1743). Lo anterior también se confirmó visualmente, ya que al final de esta etapa el material pasó de ser un polvo blanco a un polvo gris oscuro, producto de esta transformación. La Figura 14(c) corresponde al mismo xerogel seco, tratado térmicamente hasta 1000°C, donde puede observarse la presencia de

hidroxiapatita, apreciándose una cristalización considerablemente definida de las especies y la conversión de los carbonatos de calcio a óxido de calcio (JCPDS 37-1497). Esto también se pudo comprobar visualmente, ya que al final de este tratamiento térmico, el material se transformó de nuevo de un polvo gris oscuro a un polvo blanco, compuesto por pequeños aglomerados de partículas individuales. La Figura 14(d) muestra la hidroxiapatita después de los lavados con solución de HCl diluida, y posteriormente lavada con agua con el fin de convertir los CaO en CaCl_2 y solubilizarlo en esta última.

En términos generales, las diferencias básicas entre los patrones de difracción de los materiales sintetizados en alcohol y agua, se pueden englobar en los perfiles de los picos de difracción referentes a los planos cristalográficos, donde se puede apreciar que en el caso del medio alcohólico aparentemente se encuentran más definidos en relación con el medio acuoso. Lo anterior puede tener dos implicaciones, la primera tendría que ver con el grado de cristalización de los materiales donde aparentemente se presentarían con un grado de cristalización mayor en medio alcohólico, sin embargo los perfiles más amplios en los picos de los materiales sintetizados en el medio acuoso podrían deberse también a un tamaño menor en las partículas de hidroxiapatita sintetizadas por esta vía. Lo anterior se discutirá más adelante al analizar las características de las partículas y las difracciones electrónicas en el análisis por MET.

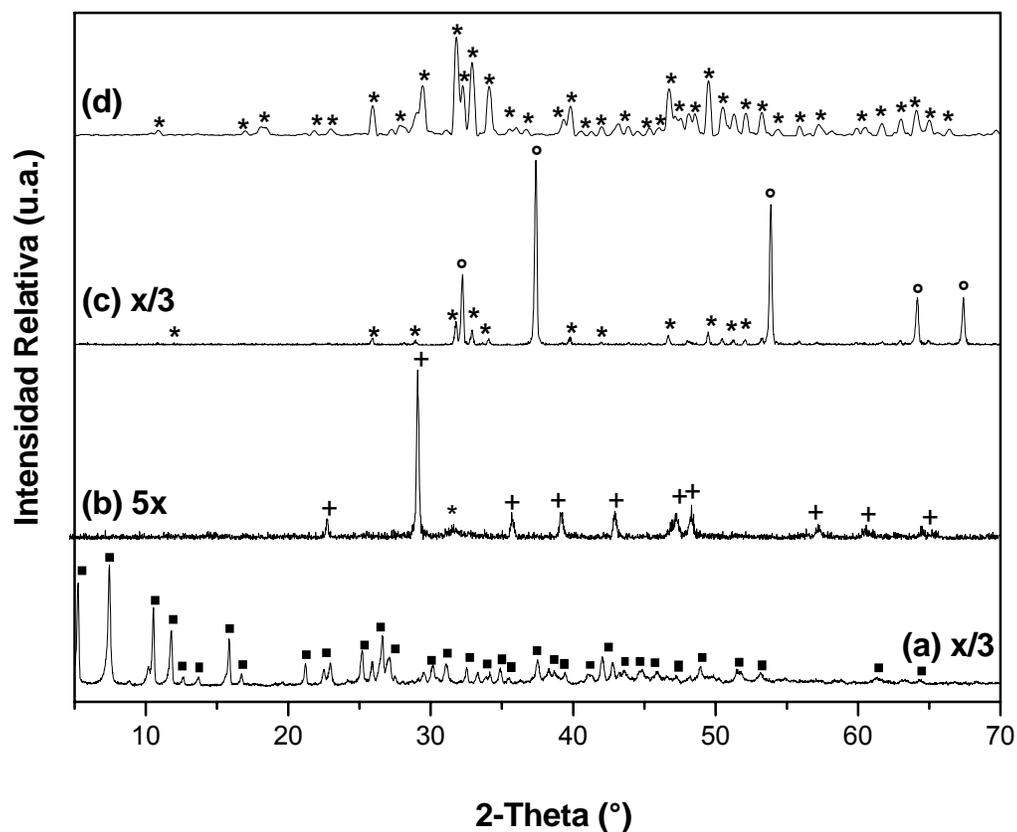


Figura 13. Patrones de DRX para el xerogel seco de acetato de calcio y trietil fosfato en etanol como medio solvente. (a) xerogel seco a 120°C, (b) xerogel seco tratado hasta 500°C, (c) xerogel seco tratado hasta 1000°C, (d) xerogel seco tratado térmicamente hasta 1000°C y tratado con HCl. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (+) Carbonato de calcio, (▪) Acetato de calcio.

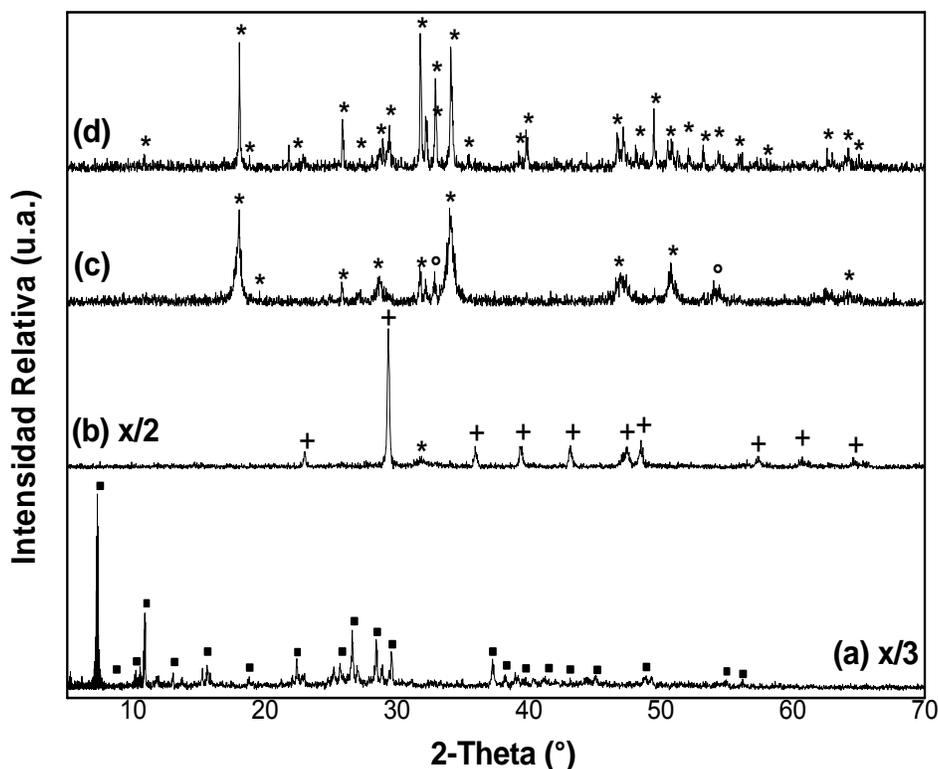


Figura 14. Patrones de DRX para el xerogel seco de acetato de calcio y trietil fosfato en agua como medio solvente. (a) xerogel seco a 120°C, (b) xerogel seco tratado hasta 500°C, (c) xerogel seco tratado hasta 1000°C, (d) xerogel seco tratado térmicamente hasta 1000°C y tratado con HCl. (*) Hidroxiapatita, (o) Óxido de calcio, (+) Carbonato de calcio, (▪) Acetato de calcio.

IV.1.3. Espectroscopia Infrarroja de Transformadas de Fourier (FT-IR).

La Figura 15 muestra comparativamente los espectros FT-IR para los xerogeles secos, producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol secado a 120°C (Figura 15a), tratado térmicamente hasta 460°C (Figura 15b), tratado térmicamente hasta 1000°C (Figura 15c) y tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada (Figura 15d). Los espectros de infrarrojo de esta figura, pueden dividirse en cuatro regiones caracterizadas por los picos alrededor de 3650-3500 cm^{-1} , 1500-1400 cm^{-1} , 1100-1000 cm^{-1} y 650-570 cm^{-1} . Las bandas que aparecen alrededor de 3600 cm^{-1} y 634 cm^{-1} , corresponden respectivamente a los modos vibracionales de estiramiento y flexión de los iones OH^- . Las bandas entre 1471-1414 cm^{-1} se deben a la absorción infrarroja de los

carbonatos en el modo vibracional ν_3 . El modo vibracional ν_2 de los carbonatos resulta también en una intensa banda de absorción aproximadamente a 876 cm^{-1} . Las bandas de absorción a 1049 cm^{-1} y 1090 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de los fosfatos en el modo vibracional ν_3 y la banda que aparece a 963 cm^{-1} corresponde al modo de estiramiento simétrico ν_1 de los mismos fosfatos. Las bandas a 603 cm^{-1} y 573 cm^{-1} , son causadas por las vibraciones de flexión ν_4 de los mismos fosfatos. La clara presencia de las bandas a 603 cm^{-1} y 573 cm^{-1} , junto con aquella que aparece a 634 cm^{-1} confirma la presencia de hidroxiapatita en los materiales.

La Figura 16 muestra comparativamente los espectros FT-IR para los xerogeles secos, producidos a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en agua secado a 120°C (Figura 16a), tratado térmicamente hasta 460°C (Figura 16b), tratado térmicamente hasta 1000°C (Figura 16c) y tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl y agua desionizada (Figura 16d). Los espectros de infrarrojo de esta figura, pueden dividirse en cuatro regiones caracterizadas por los picos alrededor de $3650\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$, $1500\text{-}1400\text{ cm}^{-1}$, $1100\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ y $650\text{-}570\text{ cm}^{-1}$. Las bandas que aparecen alrededor de 3600 cm^{-1} y 632 cm^{-1} corresponden respectivamente a los modos vibracionales de estiramiento y flexión de los iones OH^- . Las bandas entre $1469\text{-}1417\text{ cm}^{-1}$ se deben a la absorción infrarroja de los carbonatos en el modo vibracional ν_3 . El modo vibracional ν_2 de los carbonatos resulta también en una intensa banda de absorción aproximadamente a 875 cm^{-1} . Las bandas de absorción a 1048 cm^{-1} y 1091 cm^{-1} , corresponden a las vibraciones de los fosfatos en el modo vibracional ν_3 y la banda que aparece a 963 cm^{-1} corresponde al modo de estiramiento simétrico ν_1 de los mismos fosfatos. Las bandas a 602 cm^{-1} y 571 cm^{-1} son causadas por las vibraciones de flexión ν_4 de los mismos fosfatos. La clara presencia de las bandas a 602 cm^{-1} y 571 cm^{-1} , junto con aquella que aparece a 632 cm^{-1} confirma la presencia de hidroxiapatita en los materiales.

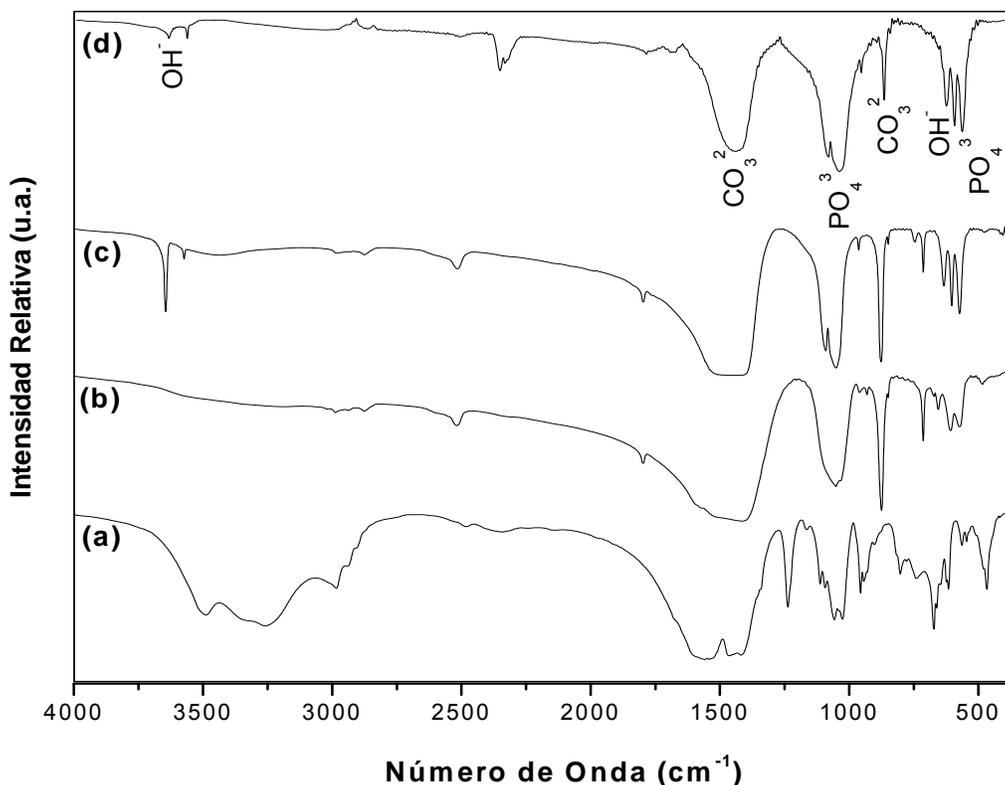


Figura 15. Espectros FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol: (a) Secado a 120°C, (b) Tratado térmicamente hasta 460°C, (c) Tratado térmicamente hasta 1000°C, (d) Tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

En la síntesis de hidroxiapatita tanto en medio alcohólico y acuoso, el producto final resulta en un compuesto carbonatado. La presencia de las bandas aproximadamente a 1470, 1415 y 876 cm^{-1} , indica claramente la presencia de carbonatos sustituyendo a los fosfatos en la estructura de la hidroxiapatita, correspondiendo en ambos casos a hidroxiapatita carbonatada del tipo “B”.

Lo que pudiera parecer como una desventaja de ambos métodos, ya que al pretender sintetizar hidroxiapatita pura se obtuvo un producto final carbonatado, dio como resultado una ventaja adicional de estas técnicas, ya que el componente inorgánico principal de los tejidos duros del organismo corresponde en mayor parte a hidroxiapatita carbonatada del tipo “B”, lo cual indica que se han obtenido productos sintéticos semejantes a los que conforman los tejidos naturales.

La presencia de carbonatos en la hidroxiapatita influye su sinterabilidad, solubilidad y actividad biológica en los materiales de implante. Por tal razón, la hidroxiapatita carbonatada, ofrece confiabilidad para lograr una sinterización adecuada y una evaluación eficiente de las propiedades bioactivas en estos materiales [19].

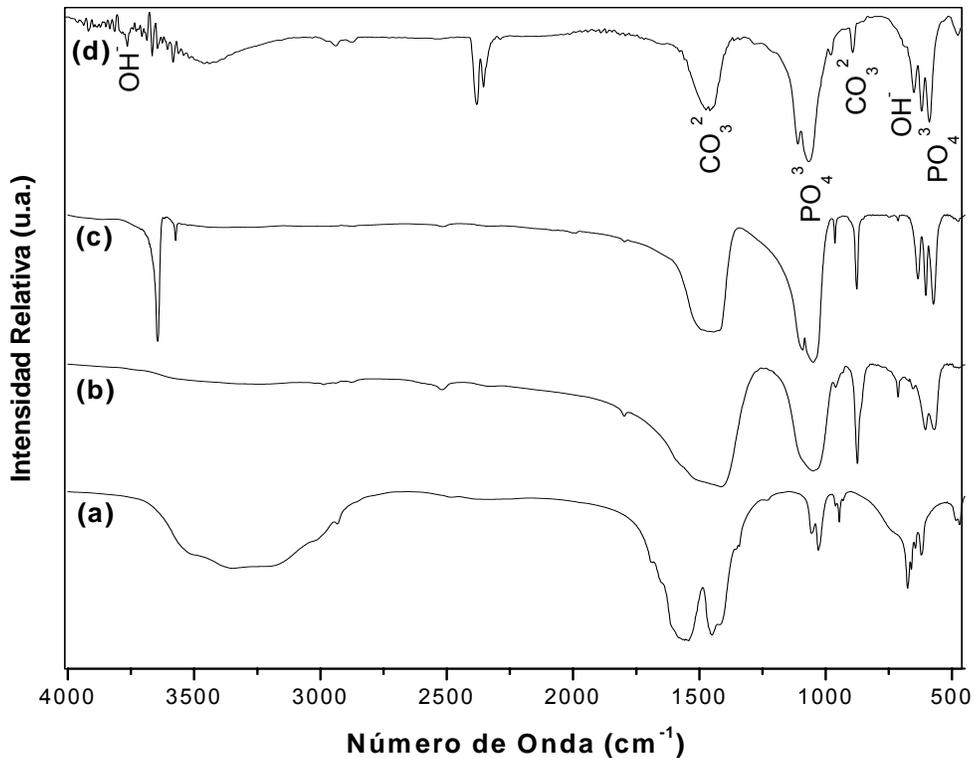


Figura 16. Espectros FT-IR del xerogel seco producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua: (a) Secado a 120°C, (b) Tratado térmicamente hasta 460°C, (c) Tratado térmicamente hasta 1000°C, (d) Tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

IV.1.4. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB).

La Figura 17 muestra la imagen en MEB del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C. En esta imagen se observa la presencia de un monolito, de aspecto rugoso y con cierta porosidad. Estas características morfológicas posiblemente fueron adquiridas por la evolución de los gases formados a partir de los remanentes del solvente y de los agentes precursores. Los cuales se formaron desde el principio del calentamiento, logrando su máxima evolución aproximadamente entre 380 y 420°C, como se demostró en los análisis térmicos.

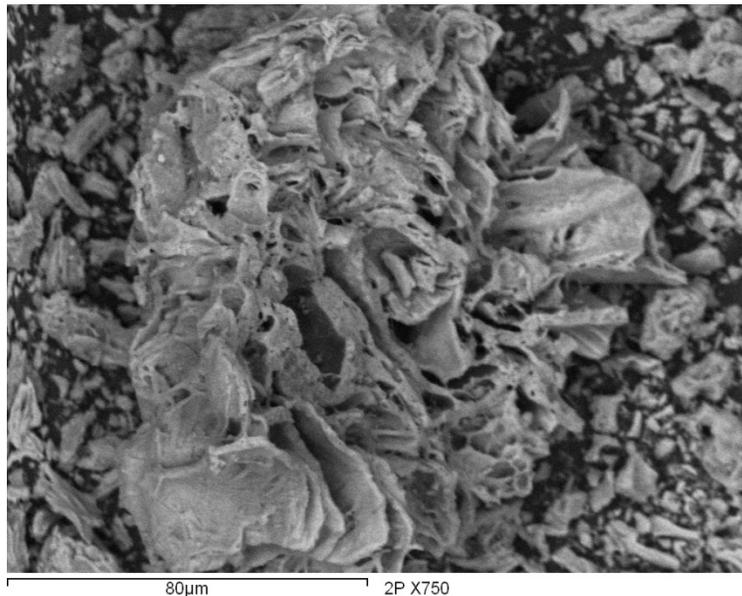


Figura 17. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C.

La Figura 18 muestra la imagen en MEB del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C. En esta imagen se observa también la presencia de monolitos, de aspecto rugoso y con cierta porosidad, sin embargo, estos aparecen de menor tamaño que los formados en el medio alcohólico. Esto posiblemente esté relacionado con la menor cantidad de material producido en

medio acuoso en relación con el medio alcohólico, debido a la mayor evolución de volátiles en el primer caso. De igual forma que en medio alcohólico las características morfológicas de estos monolitos posiblemente fueron adquiridas por la evolución de los gases formados a partir de los remanentes del solvente y de los agentes precursores. Los cuales se formaron también desde el principio del calentamiento, logrando su máxima evolución aproximadamente entre 380 y 420°C, como se demostró en los análisis térmicos.

Como se demostró en los análisis de DRX, en ambos casos estos materiales corresponden a una fase de hidroxiapatita en sus etapas iniciales de cristalización, acompañada de carbonato de calcio.

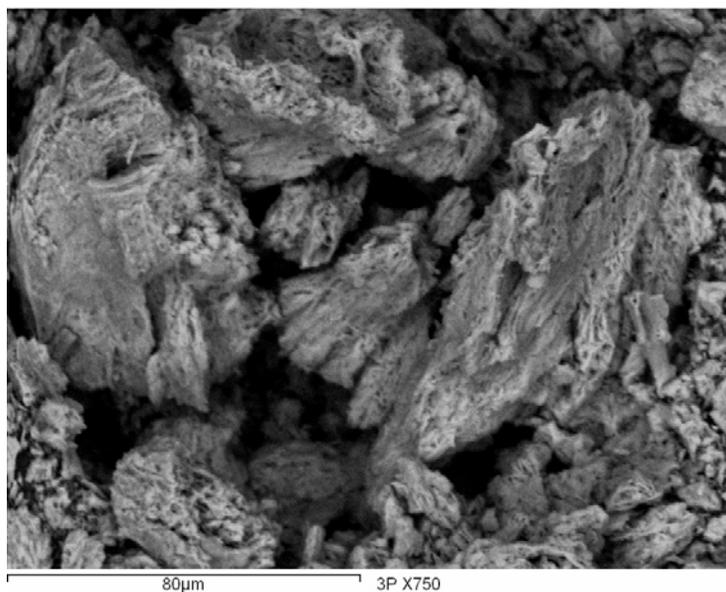


Figura 18. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C.

La Figura 19 muestra la imagen en MEB del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C. En esta imagen se aprecia la presencia de partículas granulares, las cuales muestran una fuerte tendencia a aglomerarse, formando piezas más grandes. A este nivel de tratamiento térmico de nuevo se aprecia un aspecto rugoso y con cierta porosidad en los

aglomerados. Estas características morfológicas posiblemente fueron adquiridas por la evolución de los gases formados a partir de la descomposición de los carbonatos en óxido de calcio y dióxido de carbono gaseoso, logrando su máxima evolución aproximadamente entre 600 y 700°C, como se demostró en los análisis térmicos.

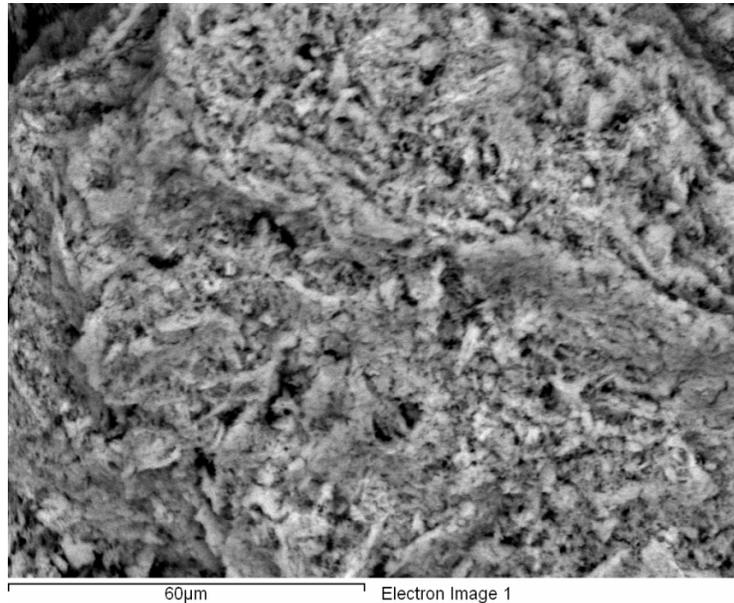


Figura 19. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C.

La Figura 20 muestra la imagen en MEB del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C. En esta imagen se aprecia la presencia de partículas granulares en conjunto con partículas aciculares, las cuales muestran también una fuerte tendencia a aglomerarse, formando piezas más grandes. A este nivel de tratamiento térmico de nuevo se aprecia un aspecto rugoso y con cierta porosidad en los aglomerados. Estas características morfológicas posiblemente fueron adquiridas por la evolución de los gases formados a partir de la descomposición de los carbonatos en óxido de calcio y dióxido de carbono gaseoso, logrando su máxima evolución aproximadamente entre 600 y 700°C, como se demostró en los análisis térmicos, de igual manera que en el medio alcohólico.

Como se demostró en los análisis de DRX, en ambos casos estos materiales corresponden a una fase de hidroxiapatita acompañada de óxido de calcio.

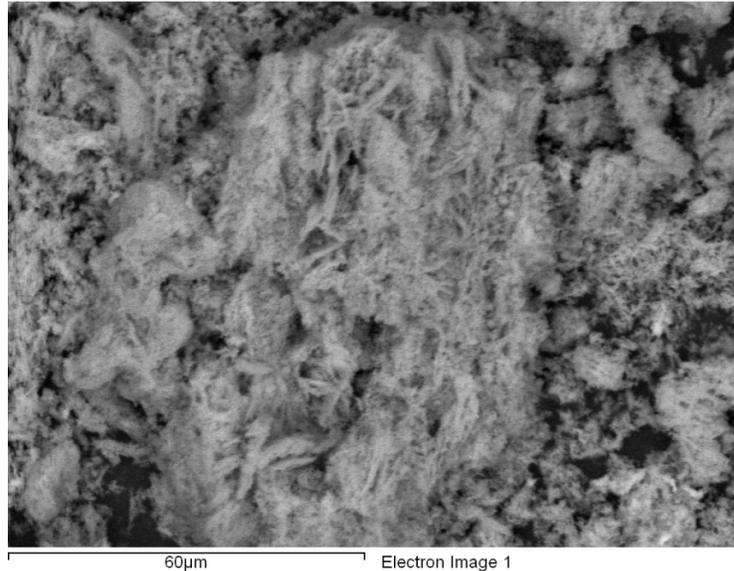


Figura 20. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C.

La Figura 21 muestra la imagen de microscopio electrónico de barrido de la muestra de xerogel seco, formulado para producir hidroxiapatita pura, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en alcohol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada. En esta figura puede apreciarse que las partículas de hidroxiapatita presentan tamaños submicrométricos, con formas esféricas bien definidas, y mostrando una fuerte tendencia a aglomerarse.

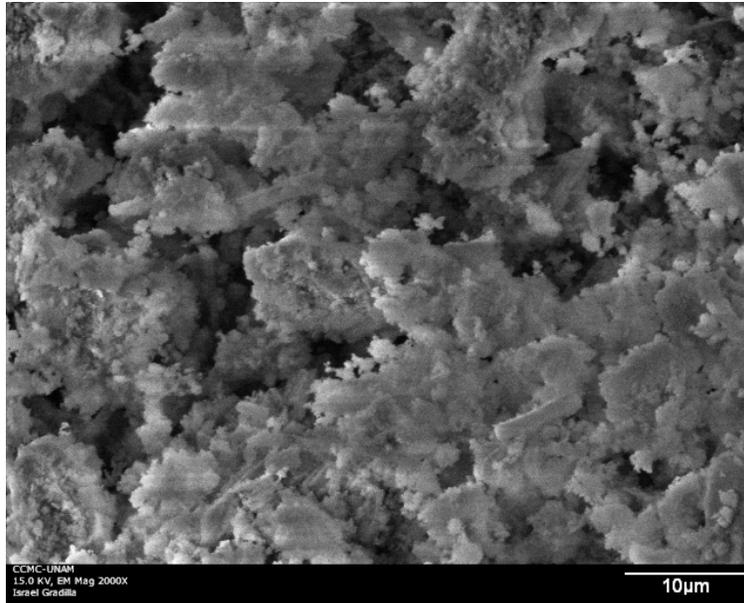


Figura 21. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

La Figura 22 muestra la imagen en MEB del xerogel seco, formulado para producir hidroxiapatita a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada. En esta figura puede apreciarse que las partículas de hidroxiapatita, presentan tamaños submicrométricos con formas esféricas, aunque aún prevalecen algunas con forma acicular, dando lugar a aglomerados semiesféricos en algunas secciones, así como en forma de hojuelas en otras, pero en ambos casos mostrando una fuerte tendencia a aglomerarse. Sin embargo, salvo a esta ligera diferencia morfológica, al momento de aglomerarse, las partículas de hidroxiapatita producidas tanto en medio acuoso como en medio de etanol, presentan características muy similares, como se demostrará con los análisis en MET.

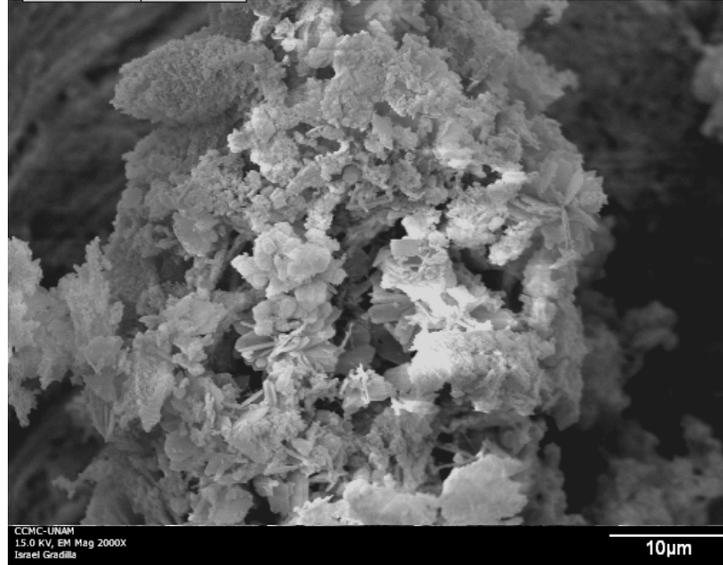


Figura 22. Imagen en MEB del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

IV.1.5. Microscopia Electrónica de Transmisión (MET).

La Figura 23 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C. En esta imagen se observa la presencia de partículas de hidroxiapatita en las primeras etapas de cristalización, caracterizados por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 50-100 nm. Sin embargo, esta se encuentra acompañada de otra fase, en forma de un material muy fino, la cual posiblemente pudiera deberse a material residual, fases amorfas de hidroxiapatita y carbonato de calcio.

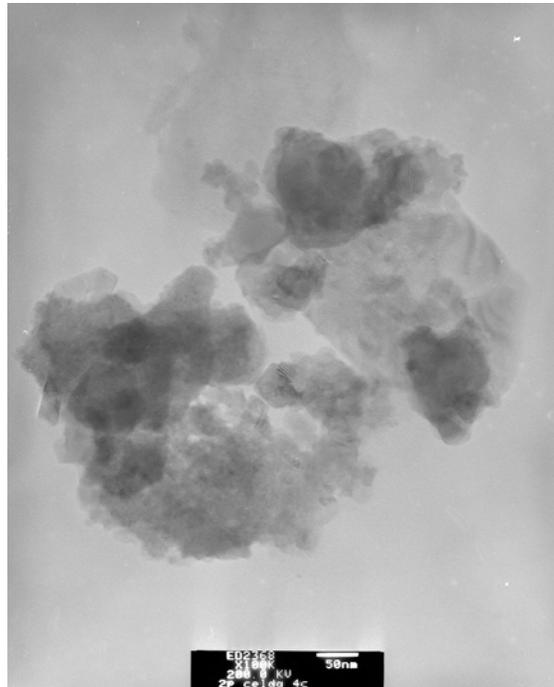


Figura 23. Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 460°C.

La Figura 24 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C. En esta imagen, también se observa la presencia de partículas de hidroxiapatita, en las primeras etapas de cristalización, caracterizados por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 30-100 nm. Sin embargo, esta se encuentra acompañada de otra fase que prácticamente recubre a las partículas de hidroxiapatita, en forma de un material muy fino, la cual posiblemente pudiera deberse a material residual, fases amorfas de hidroxiapatita y carbonato de calcio.

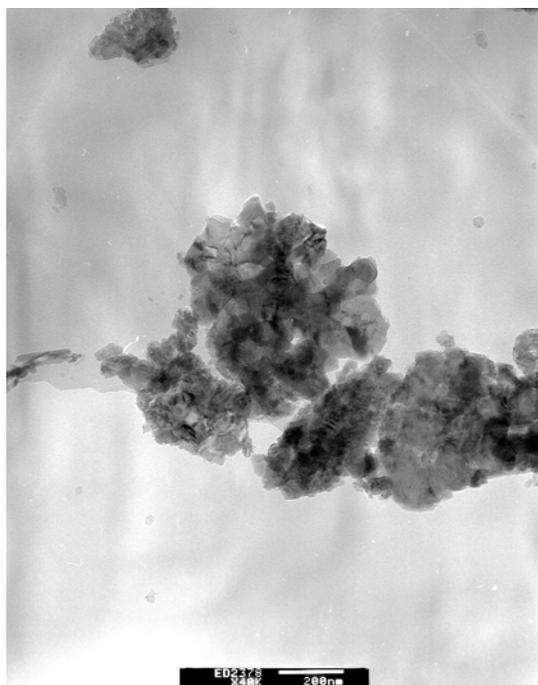


Figura 24. Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 460°C.

La Figura 25 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C. En esta imagen, se observa la presencia de partículas de hidroxiapatita, en un estado de cristalización mejor definido, caracterizadas por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 50-200 nm. Sin embargo, aunque en menor cantidad todavía se encuentran acompañadas de otra fase que prácticamente recubre en algunas secciones a las partículas de hidroxiapatita, en forma de un material fino, la cual posiblemente pudiera deberse a la presencia de óxido de calcio en el material.

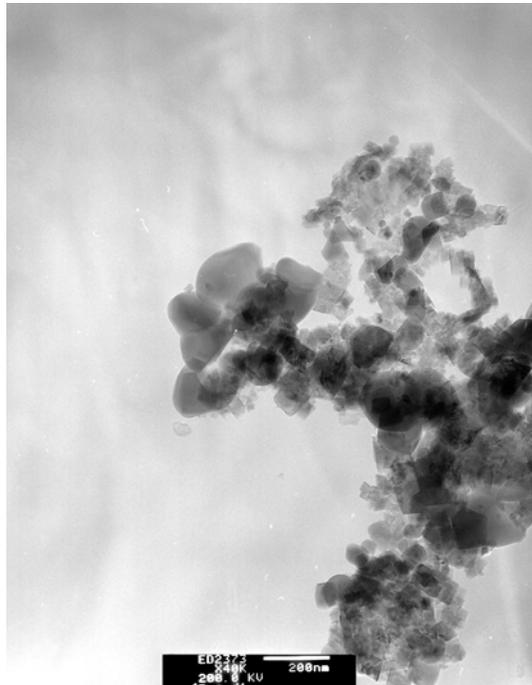


Figura 25. Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C.

La Figura 26 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C. En esta imagen, también se observa la presencia de partículas de hidroxiapatita en un estado de cristalización mejor definido, caracterizadas por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 30-200 nm. Cabe hacer la aclaración que en términos generales se observan partículas más pequeñas que las encontradas en el medio alcohólico, sin embargo, aunque en menor cantidad todavía se encuentran acompañadas de otra fase que prácticamente recubre en algunas secciones a las partículas de hidroxiapatita, en forma de un material fino, la cual posiblemente pudiera deberse a la presencia de óxido de calcio en el material.

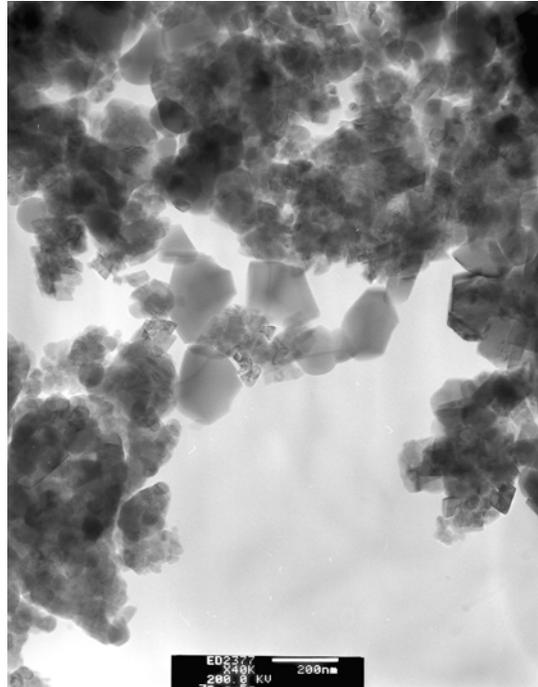


Figura 26. Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C.

La Figura 27 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl diluidos y agua desionizada. En esta imagen, se observa la presencia de partículas de hidroxiapatita perfectamente cristalizadas, caracterizadas por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 50-200 nm. Asimismo, en el intervalo de tamaño antes mencionado, la mayor parte de las partículas se distribuyen hacia el límite superior. En esta imagen, a diferencia de las anteriores, las partículas de hidroxiapatita se observan totalmente limpias y exentas de cualquier otra fase o componente.

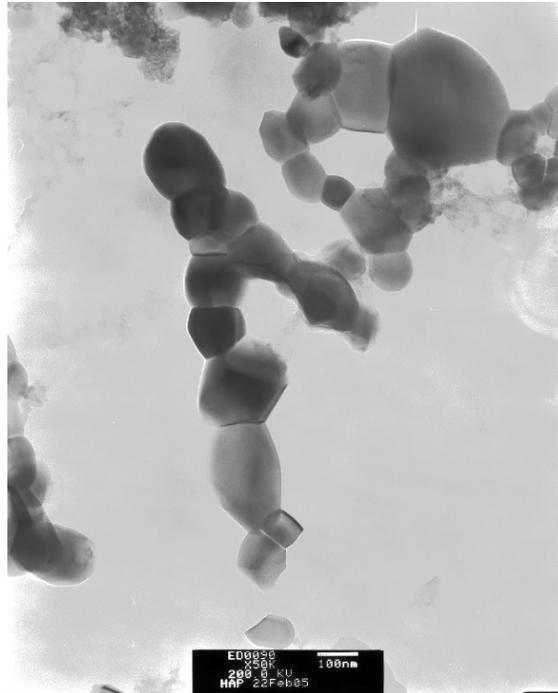


Figura 27. Imagen en MET del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

La Figura 28 muestra la imagen en MET del xerogel en polvo, formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl diluidos y agua desionizada. En esta imagen, se observa también la presencia de partículas de hidroxiapatita perfectamente cristalizadas, caracterizadas por su forma típica hexagonal, con un diámetro aproximado en el intervalo de 30-200 nm. Sin embargo, en el intervalo de tamaño antes mencionado, la mayor parte de las partículas se distribuyen hacia el límite inferior, generando partículas de tamaños más pequeños, comparadas con las producidas en medio alcohólico. En esta imagen, al igual que el producto obtenido en medio alcohólico a este nivel de procesamiento, las partículas de hidroxiapatita se observan totalmente limpias y exentas de cualquier otra fase o componente.

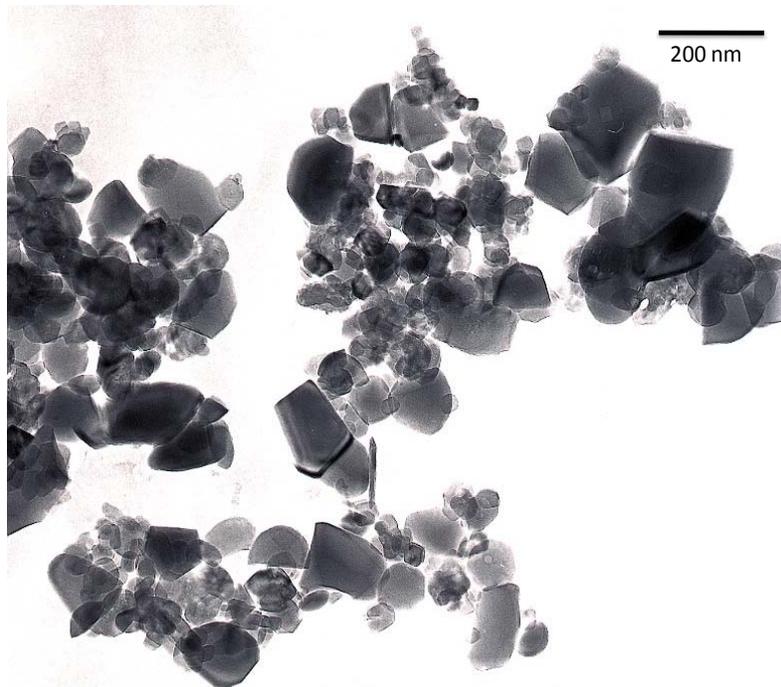


Figura 28. Imagen en MEB del xerogel formado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl y agua desionizada.

La Figura 29 muestra las imágenes de difracción electrónica de área selecta (DEAS), para el gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl 0.01 M y agua desionizada, en la cual se observa la forma clásica de difracción electrónica de un monocristal con celda hexagonal compacta, demostrando la homogeneidad cristalina de la hidroxiapatita sintetizada en etanol como solvente.

Asimismo, la Figura 30 muestra las imágenes de difracción electrónica de área selecta (DEAS), para el gel producido a partir de acetato de calcio y trietil fosfato inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C , lavado con HCl 0.01 M y agua desionizada, en la cual se observa la forma clásica de difracción electrónica de un material cristalino con celda hexagonal compacta, sistema al cual pertenece la hidroxiapatita.

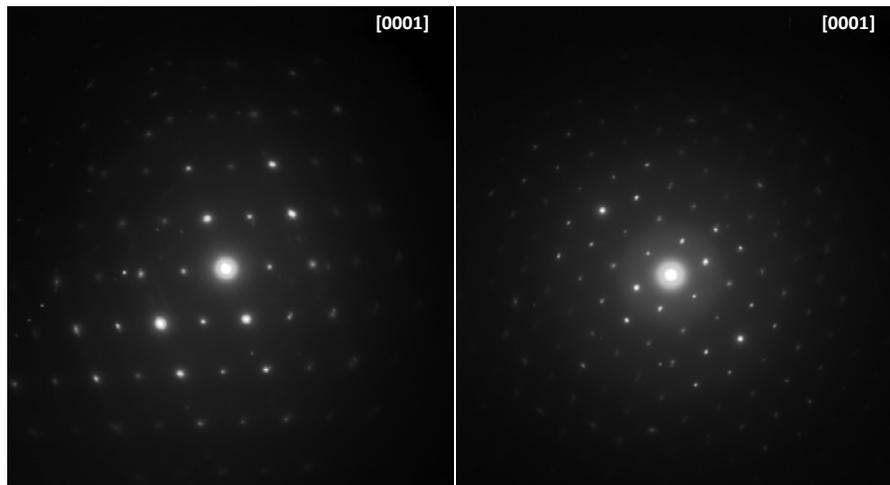


Figura 29. Imagen de DEAS del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en etanol, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

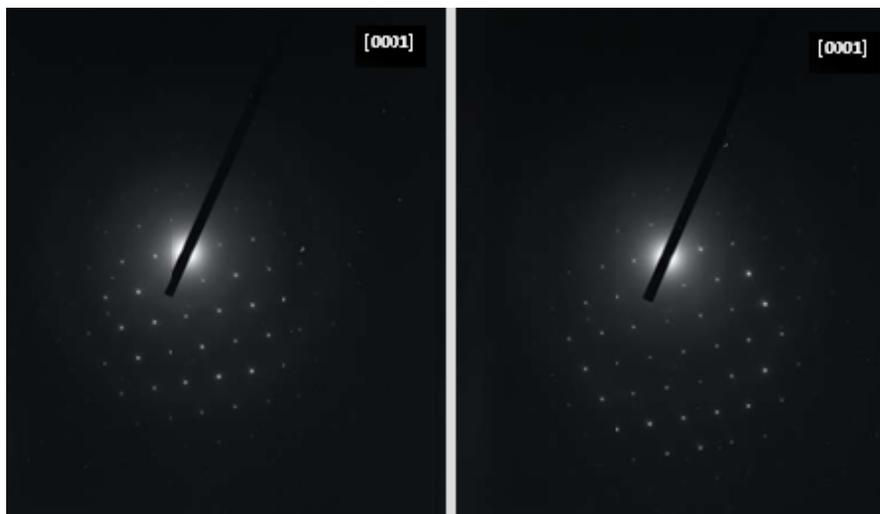


Figura 30. Imagen en DEAS del xerogel formulado para producir hidroxiapatita, a partir de acetato de calcio y trietil fosfato, inmersos en agua, tratado térmicamente hasta 1000°C, lavado con HCl y agua desionizada.

A partir del análisis por MET, se puede inferir, que las características morfológicas y cristalográficas de la hidroxiapatita producida en medio alcohólico y acuoso, son prácticamente semejantes. Únicamente el tamaño de partícula promedio resultó menor en el caso de la síntesis en medio acuoso, lo cual puede tener cierta injerencia en los patrones de difracción obtenidos para ambos materiales, ya que en medio alcohólico aparecieron más estrechos y mejor definidos en relación con los patrones obtenidos para el medio acuoso, lo cual puede deberse únicamente a la diferencia de tamaño que presentan estos cristales y no a diferencias cristalográficas entre los mismos [19].

V. CONCLUSIONES

Después de la caracterización de los materiales a través de las diferentes etapas de síntesis, por medio de ATG-ATD, DRX, FT-IR, y particularmente MEB Y MET, se puede afirmar que tanto en medio solvente de agua, así como de etanol, los polvos de hidroxiapatita se han sintetizado mediante rutas sol-gel adecuadas, con reactivos relativamente económicos y accesibles, con procedimientos sencillos complementados con tratamientos térmicos y lavados con ácidos suaves para lograr su purificación. Donde se destacan las características siguientes:

- Los resultados demuestran que los xerogeles secos obtenidos después del proceso Sol-Gel, en ambos casos, son una mezcla de acetato de calcio residual y una fase amorfa de algún fosfato de calcio, sin embargo, estos constituyen una mezcla de componentes potencialmente activos, que a partir de un tratamiento térmico adecuado pueden convertirse en los productos deseados.
- Durante el tratamiento térmico de los xerogeles obtenidos en ambos medios, destacan las siguientes transformaciones térmicas:
 - i. La primera etapa (para temperaturas menores a 380°C), corresponde a la evolución de compuestos orgánicos remanentes o formados por la reacción de los agentes precursores para dar lugar al xerogel seco.
 - ii. La segunda etapa (alrededor de 460°C), caracterizada por una fuerte reacción exotérmica, indica la formación de hidroxiapatita en las primeras etapas de cristalización, acompañada de carbonato de calcio en forma de calcita.
 - iii. Una tercera etapa (al alcanzar la temperatura de 650°C), correspondiente a una reacción endotérmica, la cual indica la

transformación de carbonato de calcio en óxido de calcio, acompañada por la evolución de dióxido de carbono.

- Finalmente, desarrollando una serie de lavados sucesivos con ácido clorhídrico diluido y agua desionizada, a la mezcla de hidroxiapatita y óxido de calcio obtenidos mediante el tratamiento térmico a 1000°C, el óxido de calcio se convierte a cloruro de calcio, y aprovechando la alta solubilidad de éste último en agua comparado con la baja solubilidad de la hidroxiapatita en este medio, el cloruro de calcio es eliminado de los materiales obteniendo finalmente de hidroxiapatita carbonatada tipo B.
- A partir de los análisis de MEB y MET se pudo reconocer, que las características morfológicas y cristalográficas de los materiales a través, de las distintas etapas de procesamiento, utilizando etanol o agua como solventes, son prácticamente idénticas. El medio solvente utilizado únicamente afectó el tamaño de los cristales de hidroxiapatita, resultando en tamaños menores para el caso del medio acuoso.
- Sin embargo, el medio solvente utilizado influyó significativamente la cantidad del producto final obtenido, resultando en una mayor cantidad de hidroxiapatita en alcohol como medio solvente. Según los análisis desarrollados en este estudio, aparentemente el xerogel seco obtenido en medio acuoso, experimentó mayores pérdidas en peso a través de las diferentes etapas del tratamiento térmico, debido a una mayor pérdida de sustancias volátiles. Por tal razón, posiblemente el xerogel seco obtenido en medio acuoso, experimentó, transformaciones menos eficientes durante las diferentes etapas del proceso Sol-Gel, en relación con las obtenidas en medio alcohólico. Una posible causal de este fenómeno, puede centrarse en la alta polaridad de las moléculas de agua, lo cual pudiera tener un efecto considerable que repercuta en las etapas de gelificación y polimerización de los componentes básicos (Ca-P-O), para la formación de

hidroxiapatita, lo cual puede generar xerogeles potencialmente menos activos, comparados con los obtenidos en medio de etanol.

- Por lo anterior, se considera que el medio alcohólico es la condición más eficiente cuando se trata de obtener mayor cantidad de producto, sin embargo, el medio acuoso es un solvente con menos impacto hacia el medio ambiente. Por lo tanto, debemos de considerar cuales son las prioridades más importantes una vez escalado el proceso a nivel industrial.

VI. RECOMENDACIONES

Para futuros trabajos relacionados con esta área de investigación recomendamos los siguientes puntos de estudio.

- Estudiar el efecto del alcohol y del agua sobre las características y condiciones de las diferentes etapas de sinterización requeridas, para en su caso, convertir los polvos obtenidos en este estudio en piezas de materiales densos.
- Estudiar el efecto del alcohol y del agua en las propiedades bioactivas de la hidroxiapatita sintetizada por este método.
- Estudiar la resistencia mecánica del material obtenido en este estudio.
- Estudiar la optimización del proceso Sol-Gel para la producción de hidroxiapatita, cambiando variables como tiempos de agitación y calentamiento, así como los tiempos en las etapas de tratamiento térmico, entre otras.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] K.C. Dee, D.A. Puleo, R. Bizios, "An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions," Wiley-Liss. 1:2, 1:8, (2002).
- [2] W. Suchanek and M. Yoshimura, "Processing and Properties of Hydroxyapatite Based Biomaterials for Use as Hard Tissue Replacement Implants," *J. Mater. Res.*, 13 [1] 94-117, (1998).
- [3] A.C. Tas, F. Korkusuz, M. Timicin, and N. Akkas, "An Investigation of the Chemical Synthesis and High-Temperature Sintering Behavior of Calcium Hydroxyapatite (HA) and Tricalcium Phosphate (TCP) Bioceramics," *J. Mater. Sci.: Mater. Med.*, 8, 91-96, (1997).
- [4] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.), "Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine," Academic Press, New York, NY. 1.0:2, 2.10:159-166, (2004).
- [5] M. Bostrom, A. Boskey, J. Kaufman, and T. A. Einhorn, "Form and Function of Bone," *Orthopaedic Basic Science, Biology and Biomechanics of the Musculoskeletal System.* eds. J.A. Buckwalter, T.A. Einhorn and S.R. Simon. American Academy of Orthopaedic Surgeons, 320-369, 2000.
- [6] B.D. Ratner, A.S. Hoffman, F.J. Schoen, J.E. Lemons (eds.). "Biomaterials Science - An Introduction to Materials in Medicine," Academic Press, New York, NY. 1.0:2, 2.10:159-166, (2004).
- [7] M.A. Encinas-Romero, S. Aguayo-Salinas, S.J. Castillo, F.F. Castillon-Barraza, and V.M. Castano, "Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite-Wollastonite Composite Powders by Sol-Gel Processing," *Int J. Appl. Ceram. Technol.*, 5 [4] 401-411, (2008).
- [8] C.J. Brinker and G.W. Scherer, "Sol-Gel Science - The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing," Academic Press Inc. Boston, 1990.
- [9] Y.A. Attia "Sol-Gel Processing and Applications," Plenum Press. New York and London, 1994.
- [10] J. Livage J, "Sol-gel Processes," *Curr Opin Solid State Mater Sci.*, 2 132-136, (1997).

- [11] H. Podbielska and A. Ulatowska-Jarza, "Sol-Gel Technology for Biomedical Engineering," *Bulletin of the Polish Academy of Sciences, Technical Sciences*, 53 [3] 261-271, (2005).
- [12] Universidad Nacional del Nordeste, "Hipertexto del área de la biología", <http://www.biologia.edu.ar>. 1998.
- [13] J.I. Goldstein, D. E. Newbury, P. Echlin, D.C. Joy, C.E. Lyman, E. Lifshin, L. Sawyer, J.R. Michael, "Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis." Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. 21-22, (2003).
- [14] J.L. Ojeda, "Métodos de Microscopia Electrónica de Barrido en Biología. Universidad de Cantabria," 25-26, (1997).
- [15] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman. "Principios de Análisis Instrumental," Mc Graw- Hill Interamericana, España, 593-596, (2001).
- [16] J.J. Bozzola, L.D. Russell. "Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists," Jones and Bartlett Publishers Canada. Canada, 150, (1999).
- [17] G. Vazquez, O. Echeverria. "Introducción a la Microscopia Electrónica Aplicada a las Ciencias Biológicas," Universidad nacional autónoma de México, facultad de ciencias, México, 17, (2000).
- [18] C. Millán-Elias, "Análisis Termogravimétrico de la Síntesis de Hidroxiapatita vía la Técnica Sol-Gel," Tesos de licenciatura, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México, (2009).
- [19] M.A. Encinas-Romero, "Síntesis y Caracterización de Compasitos de Hidroxiapatita-Wollastonita Preparados Mediante la Técnica Sol-Gel," Tesis doctoral, Universidad de Sonora, Hermosillo, Sonora, México, Cap. 2, 36-40, (2009).