



Tecnológico Nacional de México

Instituto Tecnológico de Oaxaca
Departamento De Ingeniería Química Y Bioquímica

SINTESIS DE VIDRIOS BIOACTIVOS MESOPOROSOS DOPADOS CON COBRE

TESIS

Que para obtener el título de

Ingeniero Químico

P R E S E N T A

Jimena Simeí de la Rosa Calleja

DIRECTOR(A) DE TESIS

Dra. Claudia López Sánchez

Dra. Abril Fonseca García



Oaxaca de Juárez, Oaxaca., 2023

DEDICATORIA

Para mi mamá, noble guerrera y fuerza.

Para ti, que con este trabajo

Hacemos realidad un sueño.

Te amo.

AGRADECIMIENTOS

“La ciencia moderna aún no ha producido un medicamento tranquilizador tan eficaz como lo son unas pocas palabras bondadosas”

-Sigmund Freud

Una de las mejores cosas que eh adquirido al poder realizar este trabajo de tesis, ha sido el enriquecimiento científico y personal. Por eso me es un gusto poder externar mis más sinceros agradecimientos a mi alma mater, el Instituto tecnológico de Oaxaca, por haberme permitido progresar en mi formación académica; por las experiencias vividas en sus aulas, y por el conocimiento logrado.

Agradezco al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por la oportunidad de realizar este trabajo de investigación bajo su infraestructura, por el apoyo brindado durante mi estadía, así como por el uso de equipos, reactivos, y recurso humano. Por el aprendizaje logrado. Agradezco a mi asesora, la Dra. Abril Fonseca García, por su muy amable dirección en todo instante durante el proceso de investigación, desde mi residencia profesional hasta este presente trabajo de tesis. Agradezco la confianza depositada en mi persona. En sobremanera hago énfasis y aplaudo el trato para conmigo, que marca un punto de inflexión en mi vida profesional.

Agradezco a la Dra. Claudia López Sánchez, por su apoyo académico, palabras de aliento y dedicación. Por sus sabios consejos, motivación, confianza y tiempo brindados. Gracias por su

guía durante todo el proceso de titulación y en mi paso por el ITO. A usted mi apreciada doctora, no me resta más que agradecerle profunda e infinitamente. Gracias, porque en mi vida usted es un referente de lo que yo quiero llegar a ser en mi vida profesional.

Gracias a mis profesores, compañeros de aula y amigos, por sus conocimientos, cálida compañía y por el enriquecimiento personal que sus vidas han aportado a la mía.

Especialmente agradezco a mi familia, a mis hermanas; a mi querida Montse, por poner sus oídos todas las veces que le pedí me escuchara mientras le recitaba una y otra vez cada párrafo de este trabajo, por sus sabios consejos y su elocuente paráfrasis. A mi hermana Nefris; por las porras y ánimos, por su guía en los procesos administrativos en el tecnológico. Agradezco infinitamente a mi madre, por su esfuerzo, para hacer posible este sueño de culminar una carrera profesional, por ser una mujer aguerrida, ejemplo de trabajo honesto, compromiso, ética y moral. Porque aprendí de ella, lealtad y humildad profesional y a ser una persona responsable.

El presente trabajo se desarrolló en el Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA), en el departamento de Química Macromolecular y Nanomateriales, en el área de síntesis de polímeros, bajo la supervisión de la Dra. Abril Fonseca García. En colaboración con el Instituto Tecnológico de Oaxaca (ITO), en el departamento de Ingeniería Química y Bioquímica. Con el comité tutorial integrado por los señores profesores Dra. Claudia López Sánchez, M.C María de Jesús Gil Gallegos, Q.B José López Matadamas, M.C Moisés Caleb López Martínez

ÍNDICE DE TEMÁTICO

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
ÍNDICE TEMÁTICO.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES	5
2.1. MATERIALES BIOCERÁMICOS	5
2.2. EL DESCUBRIMIENTO DE LOS VIDRIOS BIOACTIVOS	9
2.3. VIDRIOS BIOACTIVOS MESOPOROSOS	11
2.3.1. <i>Vidrios mesoporosos de sílice y su funcionalidad.....</i>	<i>13</i>
2.3.2. <i>Agente director de estructura (SDA)</i>	<i>13</i>
2.3.3. <i>Surfactantes empleados para la formación de vidrios mesoporosos con estructura de sílice</i>	<i>14</i>
2.4. PROCESO SOL–GEL	16
2.4.1. <i>Etapas identificadas para el proceso sol–gel.....</i>	<i>17</i>
2.4.2. <i>Ventajas e inconvenientes del método sol–gel.....</i>	<i>19</i>
2.5. PREPARACIÓN DE VIDRIOS BIOACTIVOS MESOPOROSOS MEDIANTE RUTA DE DIGESTIÓN POR MICROONDAS Y ULTRASONIDO	20
2.6. RELEVANCIA DE LA INCORPORACIÓN DE IONES METÁLICOS A LOS BIOCERÁMICOS	22
2.7. BIOACTIVIDAD <i>IN VITRO</i> DE LOS VIDRIOS BIOACTIVOS MESOPOROSOS	22
2.8. BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS VIDRIOS BIOACTIVOS MESOPOROSOS	24
3. JUSTIFICACIÓN	26
4. OBJETIVOS.....	28
4.1. OBJETIVO GENERAL	28
4.2. Objetivos específicos	28
5. HIPÓTESIS	29

6. MATERIALES Y METODOS.....	30
6.1. REACTIVOS	30
6.2. EQUIPO	31
6.2.1. Equipos utilizados para la síntesis de los vidrios.....	31
6.2.1.1. Ruta: Sol-gel	31
6.2.1.2. Ruta: Digestión por microondas y ultrasonidos.....	32
6.2.2. Equipos utilizados para la caracterización de las muestras.....	32
6.3. METODOLOGÍA	32
6.3.1. Preparación para el vidrio por ruta sol-gel.....	32
6.3.2. Preparación de los vidrios por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos	33
6.4. CARACTERIZACIÓN	35
6.4.1. Determinación de los enlaces químicos (FTIR)	35
6.4.2. Análisis de la estructura de las muestras mediante (XRD).....	35
6.4.3. Análisis mediante (SEM).....	35
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
7.1. ANÁLISIS XRD	36
7.1.1. Análisis XRD por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos antes del ensayo de bioactividad	36
7.2. ANÁLISIS FTIR	39
7.2.1. Análisis FTIR de los vidrios antes del ensayo de bioactividad	39
7.3. PRUEBA DE BIOACTIVIDAD	42
7.3.1. Evaluación in vitro de la respuesta bioactiva de los vidrios sintetizados.	42
7.4. MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM)	48
8. CONCLUSIONES	50
9. REFERENCIAS	52
10. ANEXO	59
10.1. DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN EMPLEADAS	59
10.1.1. Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR)	59
10.1.2. Difracción de rayos X (XRD)	61
10.1.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición molar en porcentaje de vidrios bioactivos sintetizados	31
Tabla 2. Picos de absorción indexados del difractograma obtenido en las muestras sintetizadas por la ruta de digestión por microondas y ultrasonido. (2 θ grados)	38
Tabla 3. Localización de las bandas de absorción en el espectro ir sintetizado por la ruta de digestión por microondas y ultrasonido.	41
Tabla 4. Localización de las bandas de absorción en el espectro ir sintetizado por la ruta sol-gel	41
Tabla 5. Concentración de los principales picos y bandas detectadas en ftir, para los vidrios antes y después de solución biológica simulada (sbf) a diferentes tiempos.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación por generaciones de los biomateriales adaptado	9
Figura 2. Resumen de los componentes de los vidrios bioactivos mesoporosos en el sistema SiO_2 -CaO-P $_{25}$	12
Figura 3. Representación de una molécula convencional de surfactante y formación de micela esférica	15
Figura 4. Descripción gráfica de las etapas de los procesos sol-gel.....	18
Figura 5. Representación ilustrativa de un baño de ultrasonido.....	21
Figura 6. Iones utilizados para mejorar los biocerámicos y sus efectos biológicos	22
Figura 7. Etapas del proceso in vitro de los MBGS tras su inmersión en solución biológica simulada.	24
Figura 8. Difractograma de los geles sintetizados por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos, antes de prueba de bioactividad.	36
Figura 9. Espectros ftir de los vidrios antes del ensayo de bioactividad.	39
Figura 10. Espectro ftir, de los vidrios antes y después de inmersión en solución biológica simulada, durante k=0,1,3,7,14 días.....	42

Figura 11. Micrografías sem de las muestras antes y después de inmersión en sbf, por 0, 1, 3,7 días.	48
Figura 12. Modo de interacción entre una muestra y un haz de infrarrojo de reflexión total atenuada (ATR).....	60
Figura 13. Representación del accesorio de ATR	60
Figura 14. Representación de una fuente de rayos x y la identificación de sus partes.....	62
Figura 15. Representación del espectro de frenado y movimiento de lo que ocurre cuando llega un electrón al átomo.....	62
Figura 16. Representación de la generación de picos sobre el espectro de frenado y representación de lo ocurrido en el átomo.....	63
Figura 17. Representación del ensayo de difracción de rayos x	63
Figura 18. Representación de difracción de rayos x y ley de bragg.....	65
Figura 19. Esquema básico de las diferentes señales generadas a raíz de la interacción del haz primario con la superficie de la muestra.	67

“El mundo es tuyo joven. Eres la pieza clave que el mundo necesita. Me siento alegre por ti. La vida es cíclica y el mundo pequeño, de seguro nos volveremos a encontrar, quizá ya como licenciado.

Arístides Alfredo Vara Horna

1. INTRODUCCIÓN

Una de las grandes y principal problemática a la que se enfrenta el área de salud a nivel mundial, es el relacionado con el sistema óseo. Los cuales están en incremento, de acuerdo con estadísticas reportadas por la organización mundial de la salud para el año 2050. En México como consecuencia del crecimiento y envejecimiento poblacional, se ven expresados en gran medida problemas relacionados con el sistema óseo.

Las causales principales de este acontecimiento son la pérdida de hueso a causa de accidentes o enfermedades como la osteoporosis, cáncer de hueso (osteosarcoma) o la pérdida de hueso en mandíbula ocasionada por apócope dental. El tejido óseo pierde la capacidad de repararse a sí mismo cuando los defectos que presenta son demasiado grandes. El relleno carozo es el tratamiento utilizado para solucionar esta problemática. Por ello el desarrollo de estos materiales tiene una función dirigida al harto óseo.

De tal motivo que la medicina regenerativa expande sus horizontes hacia diferentes áreas en busca de alternativas, que satisfagan la necesidad. Se hace parte a la ciencia de materiales, la cual se encarga de desarrollar materiales que puedan dar soporte y ayuden a la reparación del hueso. El diseño y caracterización de biomateriales es una aproximación a la reparación, siendo éstas las pruebas de funcionalidad, las cuales involucran que los materiales sean probados *in vitro* y/o *in vivo* antes de llegar a su aplicación en humanos mediante pruebas clínicas.

Estas características hacen que un material sea funcional; la bioactividad (en la superficie de éste cuando se sumerge en una solución biológica simulada con concentraciones de iones y pH muy similar al plasma humano, se forma hidroxapatita (HA)), la osteoconductividad (guía el

crecimiento de hueso nuevo), la capacidad de estimular la osteogénesis (promueve la formación de hueso nuevo), la angiogénesis (induce la formación de vasos sanguíneos), la citocompatibilidad (biocompatible a nivel celular), la biocompatibilidad en nivel de tejidos *in vivo* y/o la biodegradable (que no haya necesidad de remoción cuando el hueso se encuentre reparado) (C. Wu, y colaboradores, 2013) (Bari, y colaboradores, 2017) (Gomez Cerezo, 2019) (Baino, 2020). En la actualidad, este es el enfoque más atractivo en el diseño de biomateriales novedosos con aplicación en el resarcimiento óseo.

Al presente, el material que sigue siendo utilizado y es por excelencia el mejor material para remplazo óseo es el titanio; sin embargo, éste no se bioabsorbe *in vivo* y cuando ya ha cumplido su función es necesaria una nueva intervención para su retiro. Hoy por hoy se buscan biomateriales que cumplan con varios de los requisitos mencionados para reemplazarlo.

En el caso de los rellenos óseos, se utilizan injertos que van desde lo autólogo o autoinjertos (hueso del individuo mismo, de una zona a otra del esqueleto óseo), los injertos homólogos, aloinjertos o homoinjertos (hueso de humano, pero no del paciente, ej.: hueso de banco, liofilizado y desmineralizado), injerto heterológico o xerogénico (procedente de especies distintas al receptor, bien de hueso animal como el hueso bovino o minerales semejantes al hueso, derivados de corales o algas), injerto aloplástico (materiales sintéticos e inertes, al igual que los xeroinjertos son osteoconductores, se incluye el biovidrio 45S5, cristales bioactivos como betafosfato tricálcico, cerámicos como HA, copolímeros ácidos poliláctico ácido poliglicólico o teflón). (Organización colegial de dentistas de España, 2022) (Martinez Alvarez, y colaboradores, 2018).

Por consiguiente, el desarrollo de materiales bioactivos que den sostén y además tengan propiedades antibacterianas representa una solución valiosa en la prevención de infecciones postquirúrgicas. Desde otro ángulo, la reparación ósea se puede ver afectada cuando hay una infección emanada de la fractura expuesta o posterior a una cirugía de reparación ósea. Los procedimientos convencionales incluyen la administración ordenada de antibióticos, limpieza y/o drenaje de herida. La principal característica que presentan los vidrios bioactivos es la capacidad de formar enlaces químicos con el hueso. Esto se infiere de estudios *in vitro* que han reportado tener la capacidad de formar hidroxiapatita en la superficie del material en contacto con el hueso.

El primer vidrio (biovidrio 45S5) fue descubierto por (Hench L. y colaboradores, 2006) en la Universidad de Florida. El cual se obtuvo a través de la función de sus precursores a temperatura de 1300-1400 (°C). La estructura molar del biovidrio 45S5 es de $45\text{SiO}_2-24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5$ (% mol). Los vidrios bioactivos cuya composición está dominada por un elemento, son denominados por el nombre de éste, por ejemplo si la mayor proporción molar corresponde a B_2O_3 se denominaría vidrios bioactivo de borato y si fuese P_2O_3 sería un vidrio bioactivo de fosfato. (Jones, 2013). El material es conocido como vidrio bioactivo de silicato, dado que la mayor parte de su composición molar es de sílice. A la postre, se descubrió que con el método sol-gel se podían generar otro tipo de vidrio bioactivo de una manera más versátil y presenta la ventaja de que se utilizan temperaturas de reacción baja, haciendo posible obtener sistemas con diferentes tamaños de poro y morfologías variadas, entre otras características interesantes (Sarkar, y colaboradores, 2014).

A los vidrios bioactivos se le han añadido iones metálicos biológicamente activos, para ser redimidos *in vivo*, de tal manera que sus propiedades antibacterianas, osteogénicas,

cementogénicas u angiogénicas suscitan el buen ejercicio del hueso (Philippart, y colaboradores, 2017) (Baino, 2020) (Bari, y colaboradores, 2017). Como ejemplo de estos se refieren los siguientes iones metálicos que se han incorporado y han sido estudiados y clasificados de acuerdo con su función *in vivo*; son los iones de Cobre, Cobalto, Boro, Estroncio, Hierro, Magnesio, Zinc, Litio, Cesio, Galio y Plata. (Philippart, y colaboradores, 2017) (Gomez Cerezo, 2019) (Wu, y colaboradores, 2013).

2. ANTECEDENTES

2.1. Materiales biocerámicos

(Hench, 1991) define los materiales bioacerámicos como aquellos que fueron particularmente creados para reparar y reconstruir partes del cuerpo que han sufrido algún daño o enfermedad. (Yamamuro, 2016) complementa esta definición especificando que los cerámicos son materiales sólidos, cristalinos, con excepción de los metales, que no causen alergias, no sean tóxicos, carcinógenos o teratogénicos y deben ser altamente biocompatibles. Por su parte, (Gómez Cerezo, 2019), reporta que el envejecimiento de la población pasados los 60 años, trajo consigo como respuesta secundaria el aumento de la demanda de dispositivos ortopédicos, mismos que requieren revisiones posteriores a su colocación. En el año 2013, Hench (Hench, 2013) en su investigación señala una proyección poblacional mundial de más de mil millones de personas por encima de los 60 años para el 2050.

El departamento de economía y asuntos sociales en el documento perspectivas de la población mundial del año 2022 (United Nations, 2022) reportan que para el año 2050, la expectativa de vida rondará los 77.2 años, y en Latinoamérica 80.6 años. A partir de los treinta años de vida; los tejidos comienzan un proceso natural de deterioro (Hench, 2009). Frente a esta situación, en donde enfermedades como, osteoporosis, osteosarcoma, osteoartritis, osteogénesis, suelen ser frecuentes, así como fracturas por accidentes, pérdida de hueso en mandíbula por pérdida dentaria, siendo estos que guardan relación con el sistema óseo los principales problemas a los que se enfrenta el área de salud. Cuando los defectos son tan grandes que el hueso no alcanza a reparar por sí solo, el implemento de materiales biocerámicos, representa una solución innovadora en el campo de la medicina.

A la fecha, la aplicación de los biocerámicos cuenta con más de cuarenta años de trayectoria en el área de biomedicina, con enfoque en reparar y reconstruir defectos óseos, como es reportado por (Gómez Cerezo, 2019), no obstante, los cerámicos se remontan siglos atrás en la historia de la humanidad.

Biocerámicos; existen de diferentes tipos, como son; monocristalinos, policristalinos, vidrio, vitrocerámicos o un compuesto de estos. En esta dirección, muchos de estos se han probado, y pocos son los que cumplen los requerimientos para ser utilizados en aplicaciones clínicas en seres humanos. Los materiales biocerámicos que, si llegan a cumplir con los requerimientos, son actualmente utilizados para relleno en defectos de tejidos, injertos óseos, como partículas, piezas o algún otro componente de prótesis.

Los materiales cerámicos; pueden utilizarse como implantes óseos, debido a que presentan toxicidad baja. (Gomez Cerezo, 2019) en su trabajo sobre vidrios mesoporosos bioactivos para el tratamiento de patologías óseas, describe una clasificación con base en la respuesta biológica que presentan los cerámicos. La primera; es una respuesta casi inerte, que es aquella en la que el tejido óseo forma envoltura no adherente alrededor del implante, la segunda; representa una respuesta bioactiva, en donde se forman enlaces con el implante o se regenera de forma natural. La tercera respuesta es en la que existe una disolución del implante; en donde el material se reabsorbe y el tejido reemplaza al implante. Esta última respuesta es la que da existencia a una clasificación de hasta ahora en la actualidad de cuatro generaciones de cerámicas.

- Primera generación o cerámicos bioinertes: están disponibles de forma natural y son inertes ante un sistema vivo, caracterizada por el uso de alúmina (Al_2O_3) y circonio (ZrO_2). Presentan buena biocompatibilidad y dureza, razón por la cual su utilización

continúa en la actualidad, por mencionar algunos ejemplos; para materiales clínicos para fijación de prótesis de cadera, cirugía maxilofacial, cementos óseos, acrílicos como el polimetilmetacrilato (PMMA). (Hench L. L., 2013) (Hench, 1980)

- Segunda generación o cerámicos bioactivos: se diferencian de la primera generación por presentar interfase entre el material y el tejido óseo, sin llegar a formar capsula fibrosa. Están diseñados para alcanzar una respuesta biológica específica en la interfase del material, por ser reabsorbibles. Exhiben una degradación química controlada; a medida que el tejido óseo crece, en este sentido, la cinética de solubilidad es pieza fundamental para controlar la tasa de reabsorción del cerámico. De la misma manera sobre la superficie de la cerámica implantada comienza a formarse una capa de hidroxiacarbonatita sintética, que guarda estrecha relación con la apatita que biológicamente crece en los huesos. (Vallet Regi, 2010). Esta generación se bifurca en dos tipos, los que favorecen la osteoconducción (crecimiento del hueso sobre la superficie, poros y canales) (Albrektsson y Johansson, 2001) y la osteointegración (proceso por el cual se forman los enlaces del material y el hueso) (Gómez Cerezo, 2019). Y los osteoconductores.
- Tercera generación: poseen la capacidad de combinar las dos principales propiedades de las cerámicas de segunda generación, que son bioactividad y reabsorbibles, con el objetivo de ayudar al cuerpo a curarse así mismo. Están diseñados para estimular respuestas celulares específicas a nivel molecular (Hench y Polak, 2002). Son cerámicos osteoinductores. Favorecen la liberación de especies solubles como la sílice, fósforo y calcio, al medio. Se obtiene una rápida regeneración del hueso. (Gómez Cerezo, 2019) En esta generación se describen los vidrios bioactivos. A partir de esta

generación surgieron dos nuevas rutas para regenerar tejidos; la ingeniería de tejidos y la regeneración *in situ* de tejido, que involucra el uso de soluciones, micropartículas dopadas para estimular la regeneración local de tejido (Hench, 2006).

- Cuarta generación o biomateriales inteligentes: los materiales de cuarta generación se caracterizan por la capacidad de desarrollar andamios, con el objetivo específico de controlar de forma eficiente el microambiente y reclutar células progenitoras específicas de tejido; en el sitio de la lesión, utilizando la propia capacidad del cuerpo para regenerarse. Estos materiales que se encuentran en desarrollo; tratan de imitar las propiedades de la estructura de la matriz extracelular del tejido original, recreando el ambiente que rodea las células con estímulos controlados (Sachot, y otros, 2015) Ejemplo de material de esta generación es el reportado en el artículo prótesis total de cadera primaria con par de fricción cerámica sobre cerámica de cuarta generación: resultados clínicos y de supervivencia con un seguimiento de mínimo cinco años por Novoa-Parra y colaboradores en el año 2018 (Novoa Parra, y otros, 2018). La cerámica se caracteriza por la adicción de zirconio el cual presenta una mayor dureza y resistencia a la fractura en las pruebas realizadas en laboratorio.

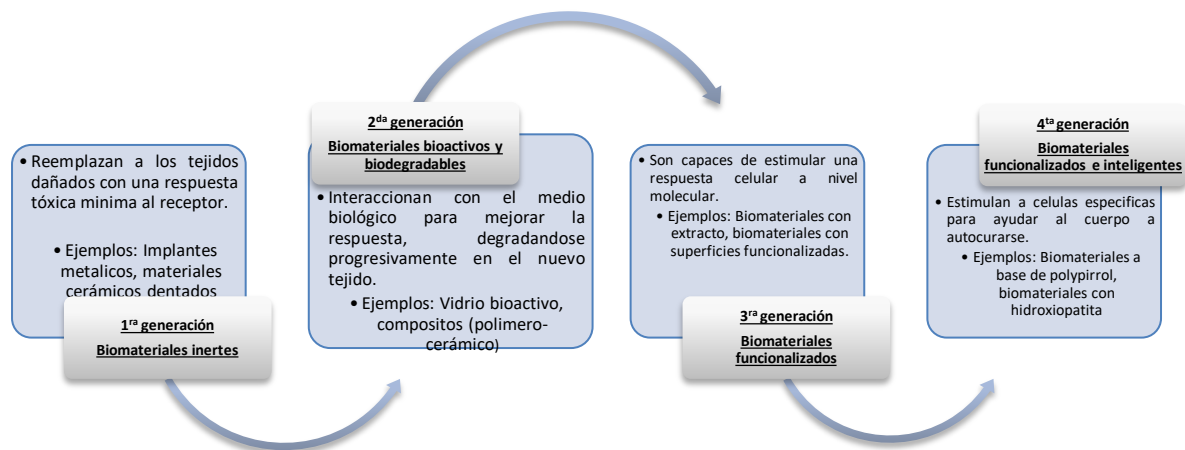


Figura 1. Clasificación por generaciones de los biomateriales adaptado (Reyes Blas y colaboradores, 2019)

2.2. El descubrimiento de los vidrios bioactivos

El primer vidrio bioactivo de composición ($45\text{SiO}_2-24.5\text{Na}_2\text{O}-24.5\text{CaO}-6\text{P}_2\text{O}_5$) (%mol), fue creado en 1969 por Larry Hench, obtenidos por fusión y enfriamiento rápido. Estos primeros vidrios proveyeron una explicación para la interfase formada entre el hueso y el implante. Los cristales de hidroxiapatita (HA) se unen a capas de colágeno que se producen en la interfaz por los osteoblastos. Esta capa de hidroxiapatita formada en los ensayos *in vitro* es muy parecida a la reportada en los ensayos *in vivo* (Hench, 2006). Los vidrios y vitrocerámicas cuya composición contienen SiO_2 y CaO , son bioactivos en la superficie del material y promueven la formación de una capa de hidrogel de sílice que permite la cristalización de una fase de apatita (Vallet Regi, 2001). Estos dos componentes, el dióxido de sílice y el óxido de fósforo, fungen como formadores de la red del vidrio. El óxido de sodio y el óxido de calcio son fundamentales para aumentar la reactividad química del vidrio, mediante la incorporación de

defectos en la red. Gracias a esta función es posible formar un vidrio con contenido de dióxido de sílice menor al 60% mol (Gomez Cerezo, 2019).

Los vidrios se pueden definir como materiales sólidos con estructuras desordenadas. Como un sólido desordenado que es altamente reactivo o como un líquido de viscosidad elevada. Los vidrios que realmente son reactivos, en su superficie forman una capa de apatita. Dado que un vidrio está constituido por más de una fase, algunas más solubles que otras, el proceso de bioactividad comienza en las áreas más solubles (Vallet Regi, 2010). La principal desventaja que presentan estos vidrios radica en que las propiedades mecánicas son deficientes, haciendo que sea imposible utilizarlos en reparaciones grandes de defectos óseos. Por tanto, la aplicación de estos se centra en reparar defectos pequeños, en donde lo que importa es la tasa de regeneración, dejando en segunda instancia la problemática ocasionada por las propiedades mecánicas.

En el año 2019 Gómez Cerezo, en la tesis doctoral de vidrios mesoporosos bioactivos para el tratamiento de patologías óseas, describe el proceso que ocurre durante la formación de carbonato apatita (HCA) en la superficie del material que se unirá fuertemente al hueso. Describe primeramente la existencia del intercambio catiónico con los hidrógenos que se encuentran en el medio circundante a los materiales. Ocurre una sesión de especies solubles de sílice al medio causadas por la ruptura de los enlaces de siloxano, los cuales mantienen la estructura del vidrio para formar Si-OH.

Posteriormente ocurre la condensación de los grupos Si-OH, lo que da lugar a la capa de sílice hidratado en la superficie del vidrio. Inicia la fase de fosfato amorfo causado por el intercambio de iónico. Posterior a esta nucleación ocurre la cristalización de la capa de carbonato de hidroxiapatita por la incorporación de aniones al medio. A estas etapas se les conoce como

disolución, precipitación y cristalización de la fase de HCA y pueden ser simuladas en condiciones *in vitro*, haciendo uso de soluciones biológicas simuladas (SBF). La solución SBF más utilizada es la reportada por (Kokubo,1990). Solución con concentraciones de iones y pH muy similar al plasma humano.

2.3. Vidrios bioactivos mesoporosos

El interés del mundo de la biomedicina por los materiales mesoporosos se debe a sus principales características; la primera es que es posible lograr una gran área de superficie con los materiales formados con una base de sílice y grupos silanol en la superficie externa del material. La segunda reside en la mesoporosidad ordenada, los cuales pueden ser utilizados para múltiples aplicaciones, como especies biológicas activas, fármacos, entre otros y utilizarlos como sistemas locales de liberación controlada.

En los sistemas ternarios compuestos por $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ cada componente cumple una función específica en el restablecimiento óseo. (Gomez Cerezo, 2019).

El Sílice juega un rol muy importante en procesos metabólicos de formación, promoviendo que la actividad metabólica sea mayor, estimulando la formación de nódulos óseos mineralizados y la calcificación de huesos. (Jones, 2013) (Hoppe y colaboradores, 2011). En disolución acuosa, es responsable de inducir la precipitación de hidroxiapatita en tejido óseo y estimular la formación de colágeno tipo I; es el tipo de colágeno más abundante en piel, huesos, córnea y tendones. (Jones, 2013) (Hoppe y colaboradores, 2011) (Gomez Cerezo, 2019).

El calcio favorece la proliferación osteoblástica, la diferenciación y la mineralización de la matriz extracelular. Se ha demostrado en experimentos *in vivo* que la presencia de calcio incrementa la formación de hueso, la densidad ósea y la osteointegración. (Gomez Cerezo, 2019). Se tiene por conocimiento que el Calcio tiene efectos osteoblásticos en células *in vitro*,

que es conveniente para la proliferación de osteoblastos, diferenciación y mineralización de la matriz extracelular (ECM). (Hoppe y colaboradores, 2011). Establece además, un papel importante en la remodelación del hueso, activando mecanismos intracelulares, por ejemplo; el calcio extracelular incrementa la expresión de insulina IGF-I y II, y factores que regulan la proliferación de osteoblastos. (Jones, 2013) (Hoppe y colaboradores, 2011)

El fósforo cumple la función de estimular la expresión de la proteína Gla de matriz (MGP), que actúa como regulador en la formación de huesos. (Hoppe y colaboradores, 2011 (Gomez Cerezo, 2019)).

La figura 2 esquematiza la función que cada componente presenta en la estructura de los vidrios bioactivos mesoporosos y se especifica la función de cada uno de ellos en el proceso de regeneración ósea.

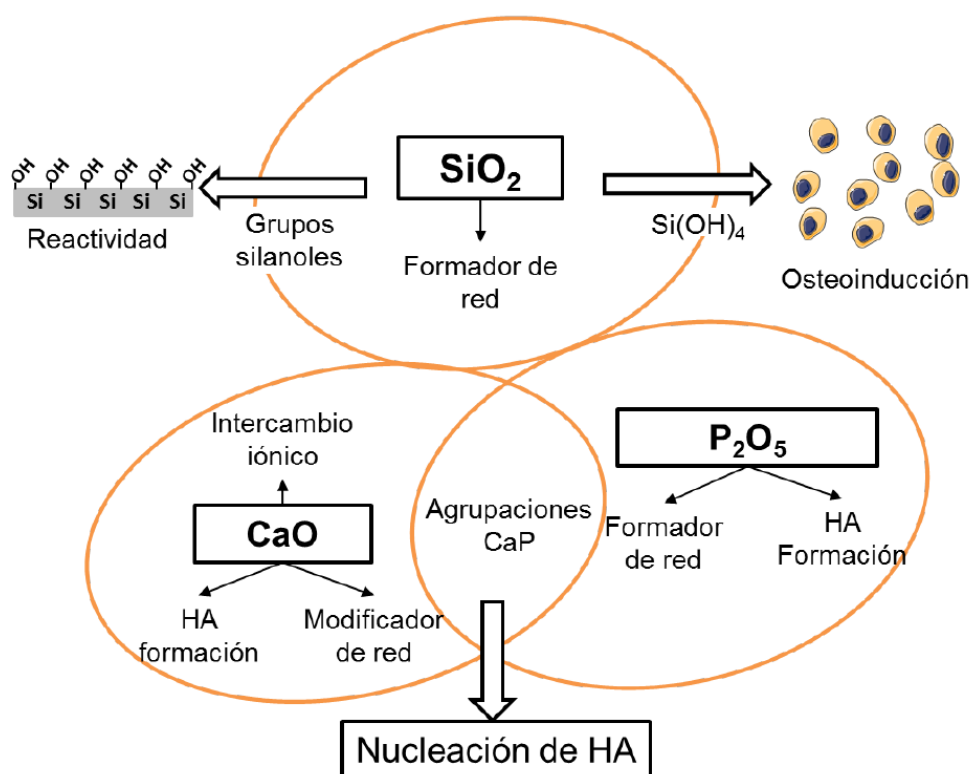


Figura 2. Resumen de los componentes de los vidrios bioactivos mesoporosos en el sistema SiO₂-CaO-P₂O₅. Extraída de (Gómez Cerezo, 2019)

2.3.1. Vidrios mesoporosos de sílice y su funcionalidad

Los vidrios mesoporosos son buenos candidatos en aplicaciones médicas, gracias a que presentan mesoestructura ordenada que acelera la tasa de reacción de bioactividad, y grupos silanol en la superficie del material que presentan una elevada reactividad química, capaz de interactuar con fluidos fisiológicos permitiendo la formación de interface de apatita (Vallet Regi y colaboradores, 2010) (Hench, 2006). Además de tener aplicaciones en regeneración de tejido, también son utilizados como sistemas locales de liberación controlada, como lo demostró la doctora Vallet Regi en su trabajo sobre matrices de sílice mesoporosas nanoestructuradas en nano-medicina. (Vallet Regi, 2010)

Los materiales de sílice mesoporosa ordenada fueron sintetizados por primera vez por *Mobil Oil Corporation* a inicios de 1990, fueron los primeros que incorporaron un surfactante, que actuaba como agente director de estructura durante la síntesis del óxido de sílice a partir de alcoxi-silanos.

Fue la doctora Vallet Regi, y colaboradores quienes con su trabajo reportado en el año 2001 sentaron el punto de partida para fabricar sistemas basados en sílice mesoporosa, utilizados como sistemas de liberación controlada de fármacos. Cuando demostró que estos materiales eran capaces de liberar alendronato (ibuprofeno). (Vallet Regi, 2001) (Vallet Regi, 2009)

2.3.2. Agente director de estructura (SDA)

La naturaleza química del surfactante aunado a las condiciones de síntesis, son los que determinan la estructura mesoporosa del vidrio. Los surfactantes son moléculas tensoactivas, en las que se reconocen dos zonas; una hidrofóbica que se caracteriza por ser no polar y la otra hidrofilia por ser polar. Son estructuras entorno a la cual se formará una segunda estructura que

se consolida formando una matriz, de tal forma que, al remover el surfactante, se creará una cavidad con la configuración que este imprimió. (Cartes y Pereira, 2016). Es por esto por lo que los surfactantes manifiestan la capacidad de agruparse en disoluciones por medio de las interacciones sucedidas entre sus cadenas apolares y sus cabezas polares. La estructura de los SDA influye en los parámetros de empaquetamiento de los surfactantes y por tanto en la forma que estas moléculas tienen de agruparse en disolución. Este comportamiento es variado para cada disolvente y es específico para cada surfactante, por lo que con SDA similares se pueden obtener materiales con estructuras porosas muy variadas. Dando lugar a micelas de tipo esférica, cilíndrica, bicapa plana, cubica, hexagonal. (Gomez Cerezo, 2019)

2.3.3. Surfactantes empleados para la formación de vidrios mesoporosos con estructura de sílice

La implementación de un surfactante, y un precursor de sílice son importantes para dar lugar a la estructura mesoporosa que tendrá el vidrio. Esta es la razón por la cual la síntesis de materiales de sílice mesoporosa centra su atención en el uso de un surfactante que actúe como agente direccionador de la estructura durante el proceso de condensación de las especies precursoras del dióxido de sílice. (Gómez Cerezo, 2019). Al incorporar un agente director de estructura a la síntesis, se logra una mesofase ordenada, gracias a la propia organización del SDA en micelas. Los agentes directores de estructura utilizados para la obtención de vidrios bioactivos mesoporosos se pueden clasificar en iónicos y no iónicos.

Los SDA iónicos, a su vez se clasifican en catiónicos los cuales poseen un grupo de cabeza hidrofilia con carga positiva, por lo general un grupo alquilamonio y una cadena hidrocarbonada de cadena larga para formar la zona hidrófoba, como ejemplo el CTAB., Aniónicos; los cuales poseen un grupo de cabeza hidrofilia con carga negativa, por lo regular

grupos fosfato, sulfato o carboxilo y una cadena hidrocarbonada de cadena larga para formar la zona hidrófoba. Como lo es el SDS. Neutro o anfóteros; que poseen una cabeza polar, la cual es una amina protonable y una cola hidrófoba formada por una cadena hidrocarbonada larga. Los SDS no iónicos; no contienen grupos iónicos o ionizables en condiciones normales. Poseen una cadena alifática y una cadena polar, compuesta por lo regular por grupos etoxilados o polietilenglicol. Este tipo de surfactantes pueden ser denominados poliméricos, destacan los surfactantes de tipo Pluronic®.

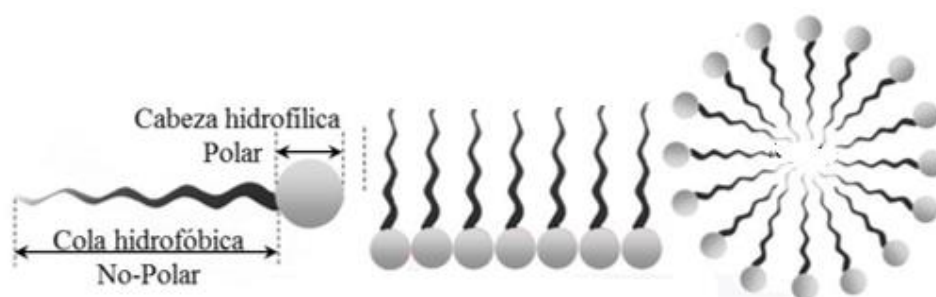


Figura 3. Representación de una molécula convencional de surfactante y formación de micela esférica extraída de la referencia (Cartes y Pereira, 2016).

El uso de agentes directores de estructura es importante para determinar las propiedades texturales finales de los vidrios bioactivos mesoporosos y por ende en sus aplicaciones. De este modo, resulta indispensable analizar el comportamiento de los SDA en disolución y su interacción con los precursores de los vidrios. Dado que las especies solubles precursoras de SiO_2 , CaO y P_2O_5 , se condensan en torno a las micelas, que actúan como plantilla orgánica, conduciendo a estructuras mesoporosas ordenadas tras su eliminación en la etapa de calcinación. Los vidrios bioactivos mesoporosos obtenidos de esta forma, presentan hasta cinco veces más porosidad y poseen superficies específicas superiores a las de los vidrios obtenidos por sol-gel tradicionales.

2.4. Proceso sol-gel

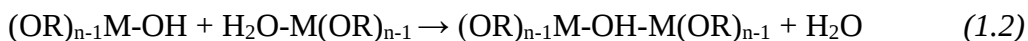
El proceso sol-gel, es una técnica ampliamente estudiada, gracias a su versatilidad química y el amplio campo de aplicación para la elaboración de diversos materiales como los cerámicos, recubrimientos ópticos, películas, polvos, granos, esferas, fibras, materiales compuestos o composites, geles porosos y membranas como soportes y catalizadores o sensores, óxidos mixtos, nanosensor magnético como el utilizado en el nanosatélite NANOSAT en el año 2004, por el Instituto Nacional de Técnica Aeroespacial, de la Agencia Espacial Española, que le permitía medir parámetros gravitacionales de la Tierra y permitir la orientación del satélite.

(Rojas Cervantes, 2012) define el proceso sol-gel como un método de síntesis en el cual, partiendo de precursores moleculares como alcóxidos metálicos o sales inorgánicas, se obtiene un esqueleto del óxido mediante reacción de hidrólisis y polimerización a baja temperatura, lo cual permite la síntesis de fases metaestables del óxido e incluso sólido mixto organoinorgánicos. (Cartes y Pereira, 2016) definen el proceso, como una técnica que comprende dos reacciones secuenciales y en paralelo: hidrólisis y posterior condensación, que pueden ser controladas para determinar la morfología y la estructura de los nanomateriales sintetizados.

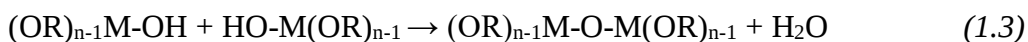
En general el proceso da lugar a dos reacciones, una hidrólisis y una posterior condensación. La hidroxilación del precursor conduce a la formación de enlaces de tipo M-OH: si se trata de una sal inorgánica, ocurre una modificación de pH de la disolución acuosa, lo que da como resultado una protonación de oxoaniones o desprotonación de aniones, si se trata de alcóxidos entonces la hidrólisis ocurre por adición de agua:



Posteriormente ocurre un proceso de policondensación que se efectúa entre dos moléculas parcialmente hidrolizadas, en donde son removidas moléculas de alcohol o agua, mediante procesos de olación (formación de puentes de OH)



U oxolación (formación de puentes de oxígeno)



Este tipo de reacciones de condensación son reacciones de sustitución o adicción nucleofílica, dependiendo del número de coordinación preferente del metal, este satisfecho o no, respectivamente.

Los principales parámetros que afectan las reacciones químicas son la temperatura ya que por lo general las altas temperaturas aceleran la reacción, pH bajo, suele favorecer la polimerización procurando moléculas lineales. Agua, en cuanto al solvente es de conocimiento que las composiciones más complejas son fáciles de mezclar en alcoholes de cadena larga y los precursores, de los cuales los grupos orgánicos de cadena larga dan velocidades de reacción más lenta a comparación de los grupos metilo, de los cuales la velocidad de reacción es mucho más rápida. (Rojas Cervantes, 2012) y (Morales Acosta, 2007).

2.4.1. Etapas identificadas para el proceso sol-gel

De forma general se identifican cinco etapas, que son las que a continuación se describen:

- I. Sol: La reacción de hidrólisis y polimerización conducen a la formación del sol, el cual es una suspensión de partículas sólidas coloidales en un líquido.
- II. Gel: Posteriormente, mediante la adición de agua se consigue desestabilizar el sol para dar paso a la formación de un gel, que es un sólido coloidal amorfo con un componente fluido disperso y atrapado en una estructura tridimensional.
- III. Sinéresis: O envejecimiento, ocurre el encogimiento del esqueleto del gel, en donde la formación de enlaces o la atracción entre partículas induce a una contracción del esqueleto y a la expulsión del líquido de los poros formados.
- IV. Secado: Después del envejecimiento el gel debe llevarse a secado, para esto existen varias formas de llevarse a cabo, haciendo uso de un secado convencional (xerogeles), por secado con fluidos supercríticos (aerogeles), mediante aditivos químicos de control del secado como el etilenglicol o el ácido oxálico, o mediante *freeze-drying* (congelación).
- V. Tratamiento térmico: Posterior a la etapa de secado, el gel es sometido a tratamiento térmico para conseguir el óxido metálico que se busca.

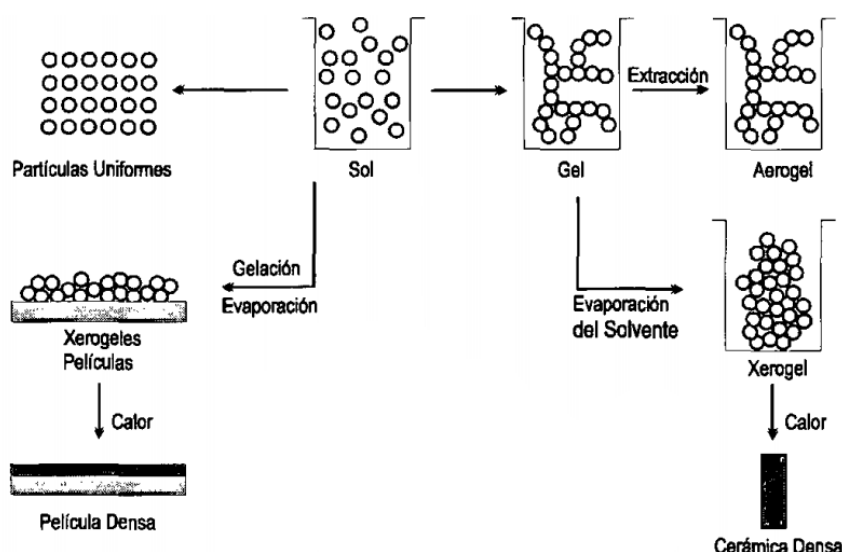


Figura 4. Descripción gráfica de las etapas de los procesos sol-gel tomada de (Carballo y Galindo, 2001)

2.4.2. Ventajas e inconvenientes del método sol-gel

Entre las ventajas más destacables resalta la alta homogeneidad de las disoluciones multicomponentes, así como de los geles y los materiales obtenidos a final del proceso. Es un proceso basado en química suave en la que una solución que contiene los precursores, los cuales experimentan reacciones de tipo poliméricas o de policondensación para formar un gel. Las propiedades estructurales y superficiales, como área superficial y porosidad, pueden ser finamente reguladas dependiendo de la composición y las condiciones de síntesis, pudiéndose obtener materiales nanoestructurados controlados, con un alto grado de pureza y homogeneidad. (Moreno Angulo, 2018).

El proceso sol gel ha permitido obtener vidrios bioactivos con propiedades de superficie y porosidad remarcables. Tanto la superficie como la porosidad de las cerámicas obtenidas por sol gel, optimizaban las propiedades bioactivas, ya que favorecen el intercambio iónico con el medio. Aunque se ha documentado en numerables publicaciones científicas las ventajas que presenta este método, este valor que aportan aún no ha sido suficiente para pasar a tener aplicaciones médicas. (Gómez Cerezo, 2019) (Vallet Regi, 2010) (Hench L., 2009) (Jones, 2013).

La principal desventaja que este método presenta es el alto costo económico de los precursores, los problemas de encogimiento en la etapa de secado al pasar del gel húmedo a gel monolítico, debido a la eliminación del disolvente, puesto que hace variar el tamaño de los poros, grupos hidroxilos residuales, riesgo de las disoluciones orgánicas y el tiempo requerido para realizar el proceso. (Rojas Cervantes, 2012).

2.5.Preparación de vidrios bioactivos mesoporosos mediante ruta de digestión por microondas y ultrasonido

La preparación de muestras en los procesos analíticos es necesaria en todas o casi todas las técnicas. Esta etapa de proceso es el cuello de botella de la mayoría de las metodologías analíticas, ya que constituye la principal fuente de inclusión de error y uno de los pasos dentro del procedimiento que mayor tiempo consume. La síntesis asistida por ultrasonido y microondas ha llamado la atención, ya que este enfoque es capaz de realizar la reacción en un menor tiempo, así como modificar el entorno de reacción para producir materiales amorfos y puede ser utilizada en la síntesis de vidrios bioactivos puesto que la energía ultrasónica crea microburbujas en las cuales la presión y temperatura aumentan, alcanzando valores altos en periodos de tiempo realmente cortos.

La organización molecular a largo alcance a temperatura ambiente también tiene influencia en el comportamiento mecánico, biológico o químico del vidrio bioactivo.

La digestión está en función de la energía que se utilice para el calentamiento de la muestra (Sarkar y colaboradores, 2014) (Priego Capote y Luque de Castro, 2007)

La aplicación de la energía del sonido generalmente ultrasonidos es conocida como sonicación, utilizada para ayudar en los procesos de mezcla y dispersión uniforme de las partículas. De acuerdo con el centro de Sonoquímica de la Universidad en el Reino Unido reportado en 2006, el ultrasonido es utilizado por la posibilidad de realizar evaluaciones no invasivas ni destructivas y por ser fuente de energía (Azuola y Vargas, 2007). Las ondas de ultrasonido son ondas de sonido cuya frecuencia supera los 20 kHz. A los equipos elaborados para esta tarea se les conoce como sonicadores. Son los responsables de transformar la energía eléctrica en

mecánica, generando ultrasonido por medio de la oscilación de los transductores piezoeléctricos.

A bajas frecuencias el ultrasonido tiene efectos mecánicos y químicos que ayudan a disolver la muestra en estado sólido. Los efectos mecánicos presentes más importantes son un microchorro que ocurre como consecuencia de la cavitación acústica que se forma cerca o en la superficie sólida formando burbujas que a su vez terminarán colisionando entre ellas o implosionando en la superficie. El segundo efecto mecánico dispersa las partículas y facilita la disolución. (Priego Capote y Luque de Castro, 2007).

La digestión por microondas es un mecanismo por el cual mediante un sistema aislado se consigue por incidencia de las microondas a altas presiones y temperaturas, degradar las muestras. Las microondas son un tipo de radiación no ionizante, que hacen que las moléculas que tienen dos polos eléctricos puedan girar, ocurre al contacto con las moléculas, generando energía y con ello calor.

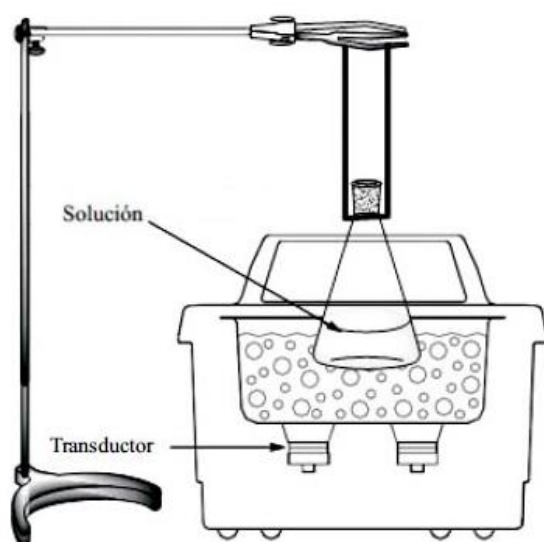


Figura 5. Representación ilustrativa de un baño de ultrasonido. Referencia adaptada de (Colonia, Martinez, Solis, y Gómez, 2013)

2.6.Relevancia de la incorporación de iones metálicos a los biocerámicos

La incorporación de iones metálicos biológicamente activos como Cu^{2+} y otros más a la matriz de los vidrios bioactivos mesoporosos, para ser liberados *in vivo*, promueven el buen funcionamiento del hueso, gracias a sus propiedades, como las angiogénicas; que induce la formación de vasos sanguíneos, osteogénicas; que promueven la formación de hueso nuevo, cementogénicas y antibacterianas (Hoppe, y colaboradores 2011) (Baino, 2020) (Bari y colaboradores, 2017).



Figura 6. Iones utilizados para mejorar los biocerámicos y sus efectos biológicos referencia adaptada de (Vallet Regi, 2016)

2.7.Bioactividad *in vitro* de los vidrios bioactivos mesoporosos

La importancia de las propiedades regenerativas de los vidrios bioactivos depende en gran medida de su capacidad para intercambiar iones con el medio circundante, principalmente Ca^{2+} - H^+ . Estas reacciones dan como resultado la nucleación y el crecimiento de una fase de

hidroxiapatita, muy similar al componente mineral del hueso y la dentina que recubre los dientes sobre la superficie de los materiales. Por otra parte, la liberación de especies solubles de sílice al medio, como ácido ortosilícico y oligómeros de este, tiene un fuerte osteoinductor. Tras las investigaciones del grupo del profesor Kokubo en 1990 se estableció que cualquier material capaz de formar una fase tipo apatita cuando se sumerge en Solución Biológica Simulada (SBF), es susceptible de presentar bioactividad en condiciones *in vivo*. Es decir, los materiales se unirán al hueso.

En los vidrios bioactivos mesoporosos el contenido de calcio es un parámetro muy importante en la formación de HCA, dado que, en ésta, la secuencia de reacciones se acelera como consecuencia de las elevadas áreas superficiales y porosidad de estos materiales, que facilitan el intercambio iónico con los del medio circundante.

Además de la formación más rápida de HCA en condiciones *in vitro*, los vidrios bioactivos mesoporosos con alto contenido de calcio exhiben un proceso de maduración del fosfato de calcio neoformado casi equivalente al que se produce en los sistemas biológicos (Strazić Geljić, y otros, 2017), es decir formación fosfato cálcico amorfo (ACP), evolución a fosfato octacalcio (OCP) y cristalización como hidroxicarbonatoapatita deficiente en calcio (HCA), como se muestra en la figura 7, (Blair y colaboradores, 1992) .

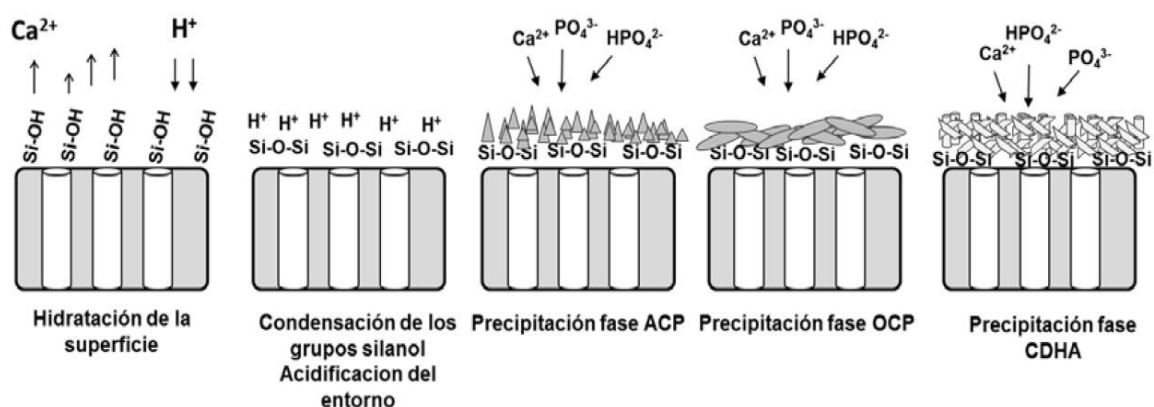


Figura 7. Etapas del proceso in vitro de los MBGs tras su inmersión en Solución Biológica Simulada. Referencia tomada de (Gómez Cerezo, 2019)

El alto contenido de calcio y la porosidad de estos vidrios bioactivos mesoporosos permiten que una elevada cantidad de Ca^{2+} esté dispuesto de forma muy accesible en la superficie de los materiales. En contacto con Solución Biológica Simulada (SBF) el intercambio iónico $\text{Ca}^{2+} - \text{H}^+$ libera Ca^{2+} al medio circundante, mientras favorece la incorporación de H^+ a la superficie y acidifica el medio generando un rango de pH que estabiliza la nucleación del OCP. Tras la nucleación de OCP en superficie, la precipitación de HA nanocrystalina se ve favorecida mimetizando el mecanismo de formación ósea de los mamíferos.

2.8. Biocompatibilidad de los vidrios bioactivos mesoporosos

La biocompatibilidad de los vidrios bioactivos mesoporosos ha sido estudiada en condiciones *in vitro* e *in vivo*. (Gómez Cerezo, 2019) (Vallet Regi, 2013) (Hench, 2004). La capacidad de intercambiar iones con el medio favorece una respuesta celular positiva en las células de tipo osteoblasto, desencadenando una serie de reacciones bioquímicas que favorecen la regeneración de hueso.

Los llamados vidrios bioactivos promueven la formación de tejido óseo en la superficie y se adhieren al tejido vivo circundante cuando son implantados *in vivo*. Una característica común de los materiales bioactivos es la formación de la capa similar de apatita en la superficie cuando está en contacto con fluido fisiológico o soluciones que asemejan al plasma. (Strazic Geljic, y otros, 2017).

Se ha reportado que el contenido límite de SiO_2 para la bioactividad de un vidrio por fundición es del 60% mol y por la técnica sol-gel del 90% mol. El proceso sol-gel permite obtener vidrios de mayor pureza, área de superficie y homogeneidad en comparación con los obtenidos por fusión. Además, de que permite preparar vidrios a bajar temperaturas; por ende, no es necesario incluir componentes para reducir la temperatura de fusión, lo que permite simplificar la composición de los vidrios así obtenidos.

La fuerza mecánica de estos vidrios es insuficiente por eso su aplicación se ha limitado a implantes sin carga. Algunos materiales bioactivos que se utilizan en la actualidad como Biovidrio, Ceravital y Cerabone, contienen CaO , P_2O_5 y SiO_2 . (Brink y colaboradores, 1997), (Roman, Padilla, y Vallet Regi, 2003).

3. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de los vidrios bioactivos con potencial antibacteriano que promueva la formación de hueso después de su pérdida por accidente o enfermedad, son de gran importancia para la ingeniería de tejidos. Por tal motivo, se propone la incorporación de cobre a la matriz de vidrio, ya que este material posee potencial antibacteriano, angiogénico y osteogénico. Sin dejar de lado que se plantea el uso de una nueva ruta de síntesis más asequible y amigable con el medio ambiente a comparación de las reportadas como lo son la ruta sol-gel y la ruta tradicional por fundición.

La perspectiva de la población mundial realizada en 2019, estima que el envejecimiento poblacional será del 16% para 2050, lo que significa que una de cada seis personas tendrá mas de 65 años. A nivel mundial, uno de los principales problemas a los que el área de salud se enfrenta, son los relacionados con el sistema óseo.

En busca de una solución a la problemática que se presenta cuando las lesiones son tan grandes que el tejido óseo no logra repararse a sí mismo, se recurre a la ciencia de los materiales que es capaz de ofrecer enfoques atractivos en el diseño de biomateriales capaces de promover la bioactividad, el crecimiento, formación y dirección de nuevo hueso, formación de vasos sanguíneos, además de ser biocompatible a nivel celular y biodegradable una vez que haya cumplido su propósito.

El uso y desarrollo de materiales bioactivos capaces de dar soporte y promover actividades antibacterianas, representa una solución valiosa en la prevención de infecciones postquirúrgicas. Los vidrios bioactivos poseen la capacidad de formar enlaces con el hueso vivo, haciendo posible la formación de hidroxiapatita en la superficie del material en contacto

con el hueso. Con la implementación del método sol-gel, se descubrió que era posible sintetizar vidrios bioactivos más diversos y económicos. Estos han sido utilizados en aplicaciones biomédicas, hace poco se comenzó a incorporar iones metálicos biológicamente activos, con el fin de utilizar sus propiedades para el buen funcionamiento del hueso.

Una de las principales finalidades de este trabajo es la de realizar una síntesis de vidrios bioactivos mesoporosos por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos, con el objetivo de aportar un procedimiento que sea más asequible económicamente y que reduzca el tiempo de proceso, teniendo en consideración que ésta es una vía novedosa, de la que se han obtenido resultados favorables y validables para publicación durante la primera etapa del proyecto, así como la de aportar un estudio de factibilidad de un vidrio de sílice mesoporoso que sea bioactivo y capaz de expresar capacidad bactericida. Considerando que el cobre es un material económico capaz de proveer esta cualidad.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Desarrollar vidrios bioactivos mesoporosos con incorporación de cobre en la matriz del vidrio, para permitir un efecto antibacteriano y osteoinductor en el vidrio bioactivo.

4.2. Objetivos específicos

Para lograr tal objetivo se plantean los siguientes objetivos particulares

- Síntesis de vidrio bioactivo mesoporoso mediante ruta sol-gel, de composición 58SiO_2 - $5\text{P}_2\text{O}_5$ - 37CaO que funja como control positivo de bioactividad.
- Síntesis de vidrio bioactivo mesoporoso dopado con cobre mediante ruta de digestión por microonda y ultrasonido $[58\text{SiO}_2-5\text{P}_2\text{O}_5-(37-X)\text{CaO}-(X\text{CuO}; X=0,2,5)]$ (%mol)
- Caracterización fisicoquímica de la síntesis obtenida por ruta sol-gel y de digestión por microondas y ultrasonidos mediante Difracción de rayos X (DRX), Espectroscopia infrarroja por Transformada de Fourier (FT-IR), y Microscopia electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en ingles).
- Evaluación *in vitro* de la respuesta bioactiva de los vidrios sintetizados. Utilizando el método propuesto por (Kokubo y Takadama, 2006).

5. HIPÓTESIS

La síntesis de un vidrio bioactivo mesoporoso con incorporación de cobre es factible mediante la ruta de digestión por microondas y ultrasonidos. Logrando aportar a la ciencia de los materiales un estudio de factibilidad mediante esta vía novedosa. Para aportar aun vidrio bioactivo que entre sus cualidades posee la capacidad de formar una capa de hidroxiapatita cálcica similar a la que se encuentra de forma natural en el hueso. Que además permite reducir los tiempos de procesos y reducir los costos, puesto que el cobre es un material económico capaz de expresar capacidades osteogénicas, angiogénicas y actividad antibacteriana.

6. MATERIALES Y METODOS

6.1.Reactivos

En la realización de la síntesis del vidrio bioactivo mesoporoso por ruta sol-gel, se utilizaron los siguientes precursores metálicos; nitrato de calcio tetrahidratado [$\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], como fuente de sílice se utilizó tetraetilo ortosilicato (TEOS) [$\text{C}_8\text{H}_{20}\text{O}_4\text{Si}$] (CAS:78-10-4), trietil fosfato (TEP) [$\text{C}_6\text{H}_{15}\text{O}_4\text{P}$] (CAS: 78-40-0), como agente direccionador de estructura (surfactante) se utilizó Pluronic P-123 ($M_n \sim 5800$, CAS:9003-11-6) copolímero tribloque anfifílico con secuencia Poli(etilenglicol)-bloque-poli (propilenglicol)-bloque-poli(etilenglicol) (PEG-PPG-PEG), a modo de solvente se usó etanol absoluto [$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$], todos los reactivos antes mencionados pertenecientes a la marca Sigma-Aldrich, agua desionizada y por último para catalizar la reacción se hizo uso de ácido clorhídrico [HCl], adquirido de Analytyka.

Para realizar la síntesis de los vidrios bioactivos dopado con cobre mediante ruta de digestión por microondas y ultrasonido se utilizaron los siguientes precursores; metasilicato de sodio [Na_2SiO_3] (CAS: 6834-92-0), nitrato de calcio tetrahidratado [$\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$], nitrato de cobre (II) hemi-(pentahidratado) [$\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$], Pluronic P-123 ($M_n \sim 5800$, CAS:9003-11-6) copolímero tribloque anfifílico con secuencia [Poli(etilenglicol)-bloque-poli (propilenglicol)-bloque-poli(etilenglicol)] (PEG-PPG-PEG), etanol absoluto [$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$], todos obtenidos de Sigma-Aldrich. Agua desionizada y, por último, fosfato diamónico [$(\text{NH}_4)_2 \cdot \text{HPO}_4$] (CAS: 7783-28-0) adquirido de Analytyka.

Tabla 1. Composición molar en porcentaje de vidrios bioactivos sintetizados

MUESTRA	SiO ₂ (%mol)	P ₂ O ₅ (%mol)	CaO (%mol)	CuO (%mol)
SG	58	5	37	0
MO	58	5	37	0
MO Cu 2%	58	5	35	2
MO Cu 5%	58	5	32	5

*SG: Sol-gel, MO: Microondas y ultrasonidos. (%mol)

6.2. Equipo

A continuación, se describen los equipos utilizados para ambas metodologías empleadas en la síntesis de los vidrios bioactivos mesoporosos.

6.2.1. Equipos utilizados para la síntesis de los vidrios

En ambas rutas, para realizar el pesaje de los precursores, se hizo uso de una balanza analítica *Ohaus* modelo *Adventure Pro*, así como de una parrilla de agitación magnética *CIMAREC* para mezclar homogéneamente los solventes y solutos, posteriormente se requirió de un Horno de calor *Precision™ Thermo Scientific* para secar los geles y finalmente una mufla *Thermo Scientific Lindberg/Blue M Moldatherm* para llevar a incineración las muestras que posteriormente fueron caracterizadas por las técnicas descritas en este trabajo.

6.2.1.1. Ruta: Sol-gel

Adicional a los equipos detallados para ambas metodologías, para la ruta sol-gel no se requirió de algún equipo extra para concluir la síntesis de los vidrios bioactivos mesoporosos. Los vidrios sintetizados bajo esta ruta de síntesis con formulación molar de 58% mol SiO₂ - 37%

mol CaO- 5% mol P₂O₅ se realizaron con el objetivo de tener un vidrio bioactivo que se ha reportado es altamente bioactivo y en su superficie crecen apatitas.

6.2.1.2. Ruta: Digestión por microondas y ultrasonidos

- Sonicador *BRANSON* modelo 5510 en baño de ultrasonido estándar a 60°C por 3 horas.
- La síntesis de digestión por microondas se realizó en un reactor de teflón propio del equipo *MARS_6* de la marca *CEM*, durante 10 minutos a temperatura de 80°C y con una potencia de 700 W a presión atmosférica.

6.2.2. Equipos utilizados para la caracterización de las muestras

- Para llevar a cabo la técnica de Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR). Se utilizó el espectrofotómetro *NicoletTMISTM FT-IR* de *Thermo Scientific*.
- Para la técnica de Difracción de Rayos X (XDR) se utilizó el difractómetro de polvo de Rayos X *SIEMENS D500* con un voltaje de 35 kV y una corriente de 25 mA con lámpara de cobre K α =1.5406 Å en geometría *Bragg-Brentano* de 20° a 60°, 2 θ .

6.3. Metodología

La metodología realizada por digestión por microondas y ultrasonidos, se incorporó cobre a la matriz de los vidrios, reemplazando parcialmente las composiciones molares de calcio presente. Mientras que para el vidrio preparado por sol-gel únicamente se realizó la preparación de la muestra sin cobre, ya que su preparación es de control en la respuesta bioactiva.

6.3.1. Preparación para el vidrio por ruta sol-gel

La formulación para la composición química del vidrio bioactivo realizado para servir como control positivo de bioactividad se reporta a continuación. La formulación de vidrio con 0%

molar de Cu (radio molar Si/P/Ca/Cu= 58/5/37/0, nombrado SG P123). Se realizó disolviendo 57 gramos de Pluronic P-123 en 840 mL de etanol y 15 mL de HCl, disolución que se utilizó para preparar ésta y dos muestras más que no se incorporaron en este trabajo.

Posteriormente, a esta solución, se agregaron 34 mL, de TEOS, 4.75mL de TEP, 24.9970g $[\text{CaN}_2\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$. Los precursores antes mencionados fueron agregados a intervalos de tiempo de 90 minutos de diferencia entre cada uno y manteniendo agitación constante mediante una parrilla de agitación magnética. Posteriormente el sol fue vertido en un recipiente de plástico para reposar y formar el gel. Debido a que se utilizó una mayor cantidad de tensoactivo, Pluronic P-123, para mantener la formación del mesoporo, se llevó el gel a evaporación, manteniéndolo en estufa por 5 horas a 60°C, lo que ayudó a la evaporación del alcohol y maduración del gel.

Una vez envejecido el gel, se llevó a secado con ayuda de una estufa, en dos etapas, la primera haciendo uso de una rampa de calentamiento durante 15 minutos, hasta llegar a los 80°C, en la segunda etapa se mantuvo la temperatura de 80°C por 48 horas.

Después del secado, los xerogel fue sometido a calcinación mediante una mufla a 700°C por 3 horas, con calentamiento de 3°C/min. El polvo resultante fue caracterizado mediante FT-IR, DRX, antes de realizar la prueba de bioactividad y posteriormente se analizaron por FT-IR, DRX, y SEM para etapa de bioactividad de este trabajo.

6.3.2. Preparación de los vidrios por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos

Se realizaron cálculos para las composiciones químicas con incorporación de cobre en la matriz de los vidrios quedando de la siguiente manera, el primer vidrio con 0% molar de Cu (radio molar Si/P/Ca/Cu= 58/5/37/0, nombrado como MO P123), el segundo con 2% molar de Cu

(radio molar Si/P/Ca/Cu= 58/5/35/2, nombrado como MO P123 Cu 2%), el tercer vidrio con un 5% molar de Cu (radio molar Si/P/Ca/Cu= 58/5/32/5, nombrado como MO P123 Cu 5%). Fueron preparados de la misma forma, comenzando con la disolución de 57g de Pluronic P-123 en 840mL de etanol y 15mL de HCl. Y agua desionizada para la formación de las tres muestras. Posteriormente, a esta solución, se agregaron los precursores $[\text{Na}_2\text{SiO}_3]$, $[(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4]$, $[\text{CaN}_2\text{O}_6\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$, $[\text{Cu}(\text{NO}_3)_2\cdot 2.5\text{H}_2\text{O}]$ a intervalos de 90 minutos por cada precursor y agitación constante mediante una parrilla de agitación magnética.

Posteriormente, las mezclas fueron colocadas en un reactor de teflón a 80°C en baño de ultrasonidos por un periodo de 3 horas. Al cabo de este tiempo, el reactor fue colocado en un sistema de digestión de microondas modelo MAR 6, por 10 minutos a una potencia de 700W, temperatura de 80°C, a presión atmosférica. Al retirar las muestras del reactor se realizaron 3 lavados a cada muestra con agua desionizada. Con ayuda de una estufa se llevaron a secado a 70°C durante 12 horas y después hasta calcinación por 3 horas a 700°C con calentamiento de 5°C/min, haciendo uso de una mufla.

Las muestras se prepararon con diferentes composiciones molares como se muestra en la **tabla 1**, y los polvos obtenidos fueron caracterizados mediante las técnicas de difracción de rayos X, transformada de Fourier de espectro infrarrojo antes de ser sometidos a prueba de bioactividad. Con esta misma metodología se preparó un vidrio de radio molar Si/P/Ca= 58/5/32, nombrado MO S/P123. Que no contiene Pluronic P-123. Que junto con las composiciones realizadas por microondas y ultrasonidos fueron caracterizados para la prueba de bioactividad mediante DRX, FT-IR y SEM

6.4. Caracterización

6.4.1. Determinación de los enlaces químicos (FTIR)

La identificación de los enlaces químicos se realizó mediante la técnica de Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR). El espectro de absorción FTIR utilizado comprende números de onda desde los 650 cm^{-1} hasta los 4000 cm^{-1} .

6.4.2. Análisis de la estructura de las muestras mediante (XRD)

La interpretación de la estructura de las muestras se llevó a cabo mediante la técnica de Difracción de Rayos X (XRD). Gracias a esta técnica se obtiene información acerca de las distancias entre átomos. Nos permite estudiar la periodicidad en un material, y su estructura mesoporosa.

6.4.3. Análisis mediante (SEM)

Gracias a esta técnica es posible analizar la superficie de una muestra basándose en las interacciones del electrón y la materia. Se utilizó esta técnica para caracterizar la morfología de los vidrios mesoporosos bioactivos y para evaluar la evolución de su superficie en contacto con fluidos biológicos simulados con el tiempo.

7. Resultados y discusión

7.1. Análisis XRD

7.1.1. Análisis XRD por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos antes del ensayo de bioactividad

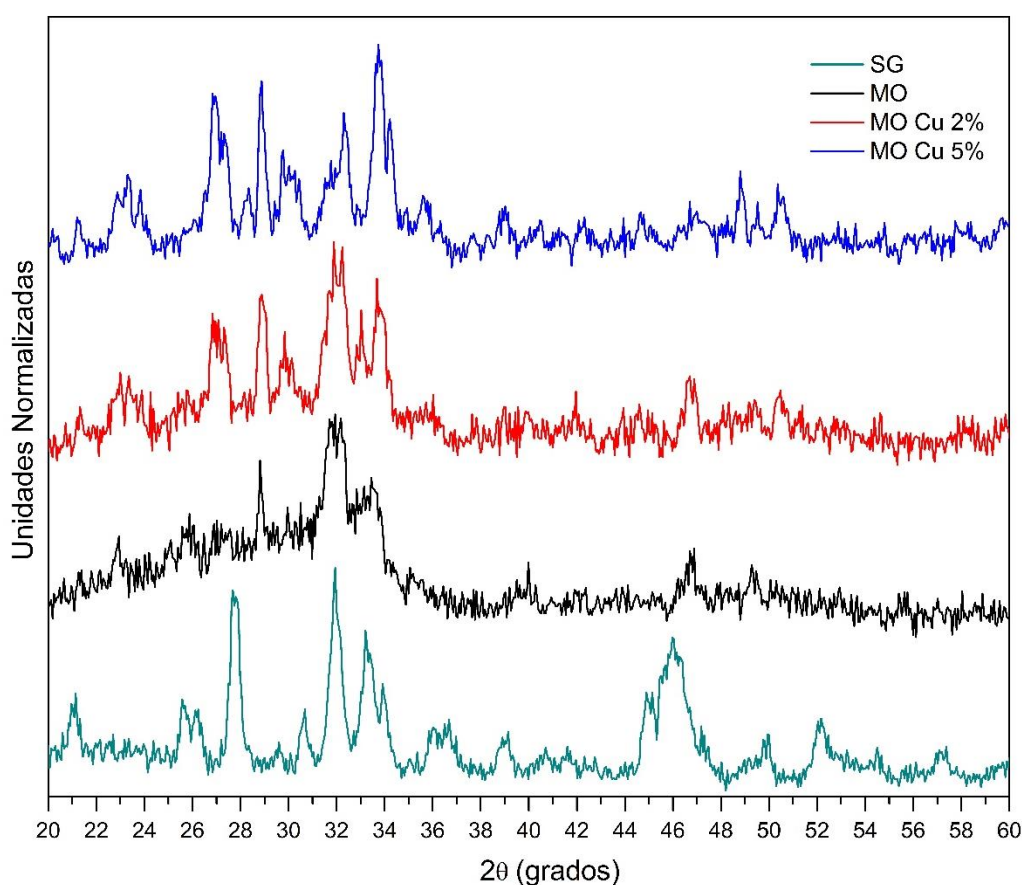


Figura 8. Difractograma de los geles sintetizados por ruta de digestión por microondas y ultrasonidos, antes de prueba de bioactividad.

Los patrones de XRD de los vidrios sintetizados se muestran en la figura 8. Es posible identificar una serie de picos de absorción bien definidos, que responden a formas cristalinas, por tanto se tienen muestras semi-amorfas.

Es característico notar que los vidrios identificados como MO, MO Cu 2%, MO Cu 5% presentan ensanchamiento en el rango de 20° a 35°, que es característico de los vidrios amorfos de sílice. (Baino, 2020). Se reitera la naturaleza semi amorfa de los materiales analizados, dada la presencia de cristalinidad indicada por los picos de absorción identificados como wollastonita y pseudowollastonita. Según lo reportado por (Roman, Padilla, y Vallet Regi, 2003).

Se observó que las muestras con 2% y 5% de Cu, presentan más fases cristalinas que la muestra que no contiene cobre, siendo en comparación con las otras más amorfas. Si bien no se esperaba que el Cu se uniera de esta forma a la red de sílice, esto no quiere decir que no esté presente en su estado oxidado en la red.

En la muestra SG, se pueden observar estructuras cristalinas de baja simetría y materiales semi-amorfos, se llegan a estas conclusiones a partir de comparar los resultados obtenidos con los reportados por (Roman, Padilla, y Vallet Regi, 2003), de lo cual se pudo identificar que los principales picos identificados corresponden a la wollastonita (W, β -CaSiO₃) y pseudowollastonita (PsW, α -CaSiO₃).

Tabla 2. Picos de absorción indexados del difractograma obtenido en las muestras sintetizadas por la ruta de digestión por microondas y ultrasonido. (2 θ grados)

	W	PsW	CT	TCP
MO Cu 5%	23.30	26.85		
	28.88	32.29		
	29.79	48.81		
	33.73	50.34		
MO Cu 2%	23.37	31.86		
	26.83	46.68		
	28.89			
	29.85			
	33.69			
MO	28.81	31.94		
	33.44	46.88		
		49.25		
SG	26.25	25.59		31.94
	30.06	27.70		
	33.20	36.70		
	33.90	45.11		
	40.15	45.98		
	52.15	49.95		

*W Wollastonita, PsW Pseudowollastonita, CT Cristobalita, CTP Fosfato tricálcico

7.2. Análisis FTIR

7.2.1. Análisis FTIR de los vidrios antes del ensayo de bioactividad

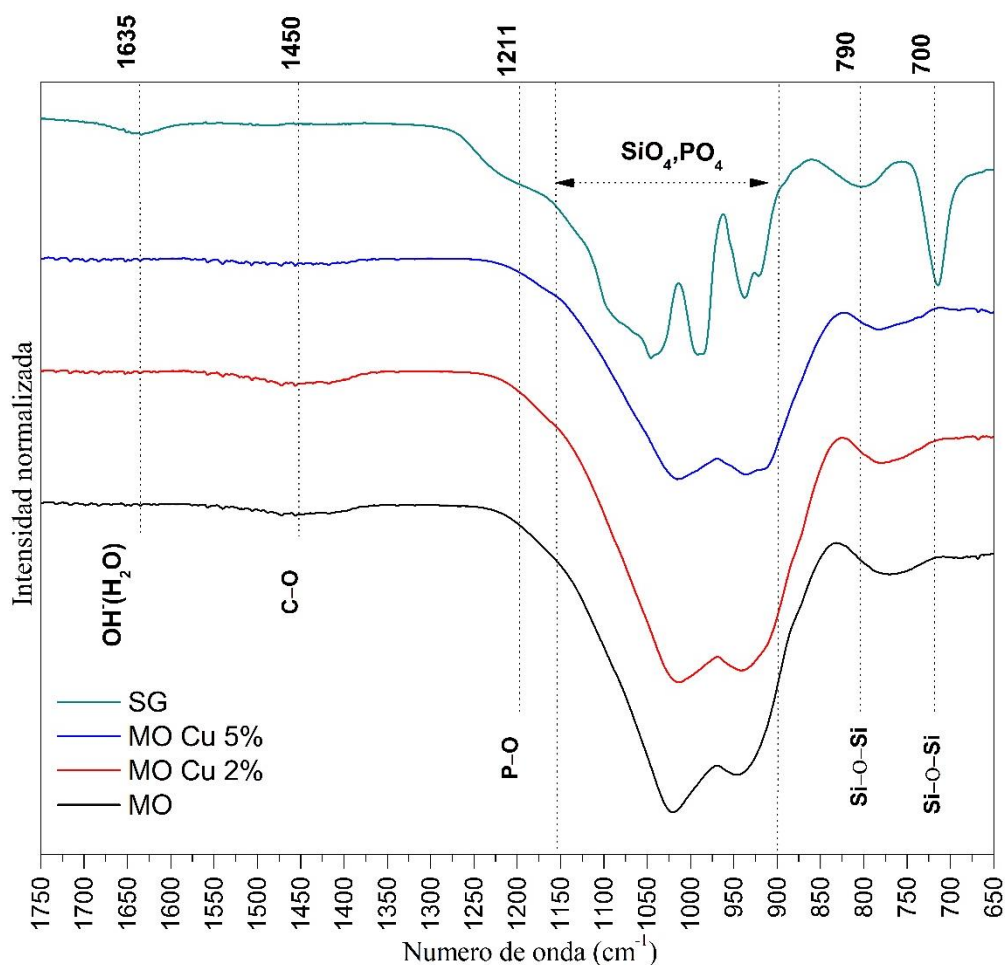


Figura 9. Espectros FTIR de los vidrios antes del ensayo de bioactividad.

Resultados obtenidos mediante la técnica de espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier para los vidrios sintetizados mediante ruta de digestión por microondas y ultrasonidos y sol gel.

En la figura 9, se muestra el espectro FTIR utilizado para caracterizar los vidrios sintetizados por la ruta de digestión por microondas y ultrasonidos. La principal banda de absorción en el IR del vidrio de sílice presentado se encuentra ubicada a los 1000 cm^{-1} , (Si-O) con estiramiento asimétrico. Por esta razón la banda es tan grande e intensa. Otro pico de Si-O-Si se presenta alrededor de los 760 cm^{-1} , y presenta modo de vibración simétrico. Las bandas que se

pronuncian a los $935\text{-}910\text{ cm}^{-1}$, y los 1430 cm^{-1} , se atribuyen a la vibración de Si-(OH) y C-O en el grupo carbonato (CO_3)²⁻ respectivamente.

En la figura 9, se presenta el espectro del vidrio sintetizado mediante ruta Sol-gel, caracterizado mediante la técnica de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para identificar los principales grupos funcionales que conforman la estructura de la muestra.

Se identificó en el rango de $800\text{ a }1200\text{ cm}^{-1}$ como una zona de bandas de vibración de las unidades tetraédricas de $(\text{SiO}_4)^{4-}$ y $(\text{PO}_4)^{3-}$ (Vaid y Murugavel, 2013). La primera banda identificada en el espectro aparece a los 800 cm^{-1} , y corresponde al grupo de los silicatos, Si-O-Si la que presenta un modo de vibración simétrico. El pico más característico y principal en el espectro infrarrojo del óxido de sílice (SiO_2), es la caracterizada a los 1030 cm^{-1} que también es la banda más intensa. Esta tiene un modo de vibración asimétrico de estiramiento.

El pico de absorción registrado en el rango de los $900\text{ a }940\text{ cm}^{-1}$, tiene relación con el grupo hidroxilo y sílice en la estructura; remanente del agua que se absorbió. (Koohkan y colaboradores, 2018). La banda a los 1230 cm^{-1} , está asociada al grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$ que funge como ion modificador del vidrio de sílice debido a su baja concentración de apenas el 5% de P_2O_5 , y no como formador de estructura (Letaïef y colaboradores, 2014).

La banda sobre los 1630 cm^{-1} , es referida al modo de deformación del ligado O-H-O, proveniente de las moléculas de agua absorbidas. El último grupo identificado corresponde al O-H, localizado a partir de los $3180\text{-}3680\text{ cm}^{-1}$, con modo de estiramiento en Si-O-H.

Existen reportes de bandas a los 550 cm^{-1} correspondiente a enlaces de P-O, sin embargo, no se muestran debido a que la resolución del equipo comienza a los 650 cm^{-1} . (Jiménez-Holguín, y colaboradores, 2020) (Letaïef, y colaboradores, 2014) (Mezahi, y colaboradores, 2009).

Tabla 3. Localización de las bandas de absorción en el espectro IR sintetizado por la ruta de digestión por microondas y ultrasonido.

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibración
~700	-----
~800	Si-O-Si (B)
935-910	Si-(OH) (S)
1003	Si-O (S)
1430	C-O
~1635	-----

B vibración de flexión, S vibración de tensión

Tabla 4. Localización de las bandas de absorción en el espectro IR sintetizado por la ruta Sol-Gel (Letaïef y colaboradores, 2014)

Número de onda (cm ⁻¹)	Vibración
~700	Si-O-Si (S)
~800	Si-O-Si (B)
900-940	Si-(OH)
1030	Si-O-Si (S)
~1230	P-O
~1450	-----
~1630	OH ⁻ (H ₂ O)

B vibración de flexión, S vibración de tensión

7.3. Prueba de bioactividad

7.3.1. Evaluación *in vitro* de la respuesta bioactiva de los vidrios sintetizados.

Las pruebas de bioactividad *in vitro* fueron realizadas sumergiendo los vidrios pulverizados en solución biológica simulada (SBF), y estudiando los cambios ocurridos en la superficie de los vidrios. La espectroscopia FTIR fue utilizada para evaluar los cambios en la superficie de los vidrios bioactivos en función del tiempo de sumergimiento. En la figura 12 se muestran los espectros obtenidos a diferentes tiempos de sumergimiento de 0, 1, 3, 7, y 17 días en contacto con SBF y se detallan los cambios observados en función del tiempo.

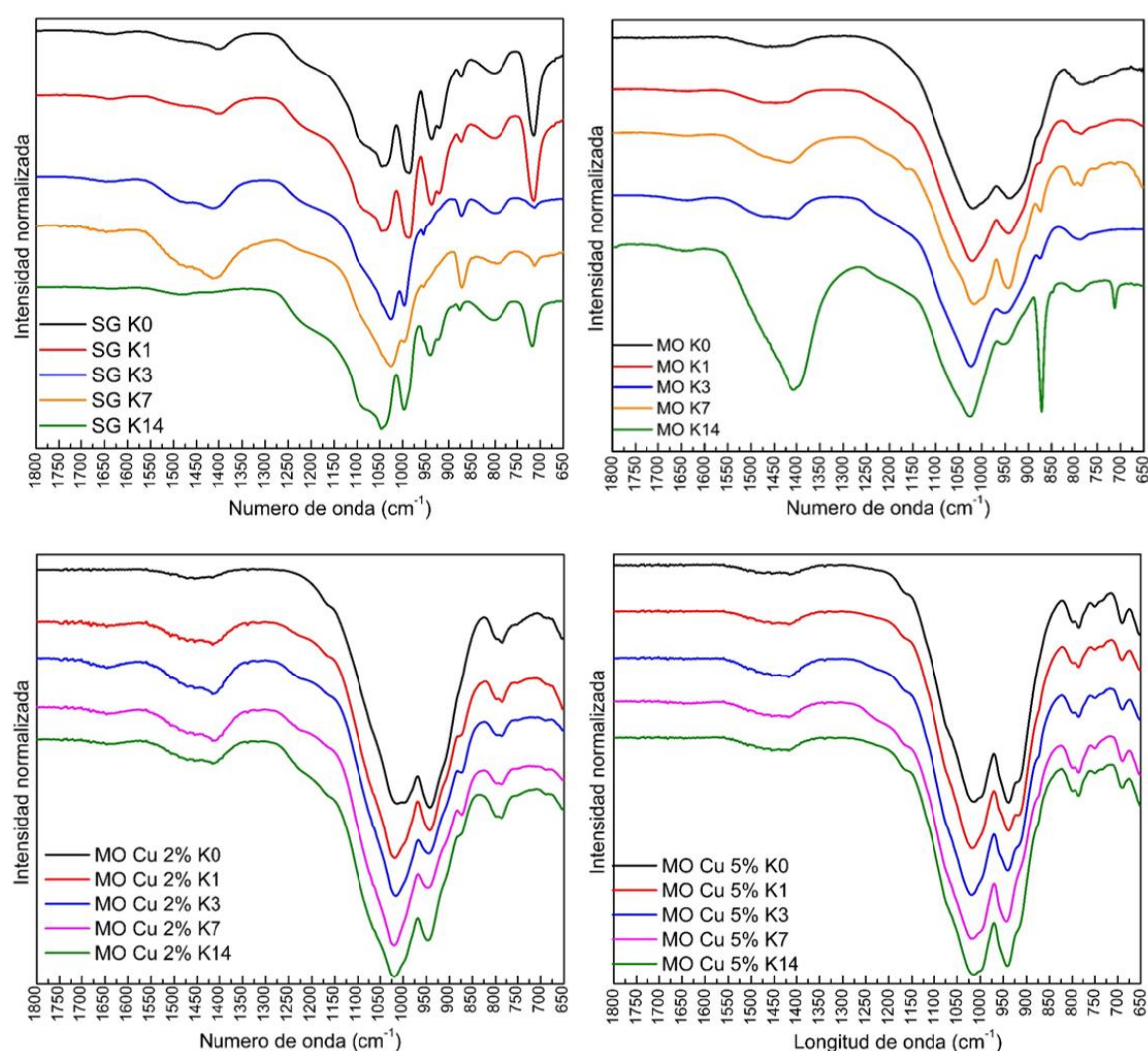


Figura 10. Espectro FTIR, de los vidrios antes y después de inmersión en Solución biológica Simulada, durante K=0,1,3,7,14 días

Al tiempo 0, los vidrios presentan espectros muy similares, con las bandas de absorción características de los vidrios de sílice SiO_2 , localizadas en, 800 a 1000 cm^{-1} que corresponden a vibraciones de enlaces silicio-oxígeno y fosfatos que pueden ser clasificadas por el tipo de movimiento, de flexión y estiramiento, respectivamente. Además, se pueden apreciar bandas en el intervalo de $850\text{-}990\text{ cm}^{-1}$ característica de una silica xerogel, en este rango la banda alrededor de 950 cm^{-1} es asignada a la vibración de enlaces Si-OH (Silanoles). (Martínez y Ruiz, 2002).

Se aprecian desplazamientos hacia menores números de onda, esto en parte es atribuido a la cantidad de sílice que conforma la red del vidrio, a la incorporación de metales catiónicos; en este caso el cobre que reacomoda la estructura debido al radio atómico. Y la correspondencia existente entre $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS}$, ya que, si esta relación es grande, se favorece una hidrólisis más completa, lo que facilita el entrecruzamiento de cadenas poliméricas, dando lugar así a una red tridimensional interconectada de siloxanos con contenido de grupos OH y H_2O . Haciendo que en el espectro IR, se espere observar bandas con características más agudas. Como se ha reportado en literatura que las posiciones y los anchos de banda dependen fuertemente de la composición de las soluciones iniciales. (González-Hernández, 2000).

Tras 7 días de inmersión en Solución Biológica Simulada los vidrios muestran a los $1350\text{-}1560$ una banda correspondiente a los carbonatos $\nu_3(\text{CO}_3^{2-})$, como producto del intercambio de grupos OH^{1-} por CO_3^{2-} y $\nu_2(\text{CO}_3^{2-})$ a los 870 cm^{-1} . Identificados como carbohidroxiapatita, de acuerdo con lo reportado por (Rehman y Bonfield, 1997), (Sequeda y colaboradores, 2012), (Suresh Kumar y colaboradores, 2010). Es por esto que se aprecia que las muestras SG, MO, y MO Cu 2%, tienen un mejor comportamiento bioactivo, dado que estas bandas aparecen a tiempos menores y presenta mayor intensidad respectivamente, indicando que estos materiales

propician la nucleación más rápida y por ende el crecimiento de una fase de apatita más eficazmente comparado con la muestra que contiene 5% de cobre.

Sol-gel (**SG**): En la figura 10, en la imagen identificada como SG, que funge como control en este estudio, se observan bandas características de los grupos fosfatos (PO_4^{3-}), que presentan modos vibracionales ν_3 . El modo ν_3 localizado en el rango de los $1190\text{-}975\text{ cm}^{-1}$ forma parte de la estructura y además se traslapa con los grupos PO y SiO son distintivos de esta región en los vidrios de sílice.

Para la gráfica del vidrio identificado como **MO** en la fig. 10. Al día 1 y 7 en la banda ubicada a $\sim 800\text{ cm}^{-1}$ asignada a $\delta(\text{Si-O-Si})$ presenta una fase cristalina. Esto tiene relación con lo observado en XRD en donde se aprecian especies cristalinas en el vidrio desde antes de inmersión en Solución Biológica Simulada. La banda sobre los 935 cm^{-1} asignada a SiO_{NBO} crece, puede deberse a la mayor frecuencia de absorción de SiO, como resultado de una menor cantidad de NBOs. Estas observaciones están relacionadas con las micrografías SEM en donde se aprecia crecimiento desde el día 1 de inmersión en Solución Biológica Simulada (SBF).

Discusión: Es notoria la similitud del espectro de SG y MO, en cuanto a bandas principales observadas en FTIR que dan indicios de bioactividad se refiere, en ambas se identifican CO_3^{2-} a los ~ 1450 y $\sim 870\text{ cm}^{-1}$ y PO_4^{3-} a los $\sim 1040\text{ cm}^{-1}$, considerando que se tiene la misma composición y se utilizó SG como método de referencia. Al observar las micrografías SEM, se observan depósitos de hidroxiapatita carbonada a partir del día uno de inmersión en Solución Biológica Simulada (SBF) en ambas muestras, en donde la cantidad depositada que se observada es similar entre ambas, lo que lleva a inferir que el método de microondas y ultrasonidos comparado contra sol-gel, no presenta ninguna interferencia ni retrasa el depósito de apatita en la superficie del vidrio. Los desplazamientos observados en FTIR son

considerados como consecuencia de la formación de la capa de apatita, dado que esto es indicio de los primeros pasos de desarrollo de esta capa.

En la fig. 10, el espectro detallado como MO Cu 2%. Se identifican las bandas principales de los vidrios de sílice (M. Maçkoviç-A.Hope, y colaboradores, 2012), la banda identificada alrededor de los $\sim 1040\text{ cm}^{-1}$ en la cual se traslapan Si-O-Si con P-O, hace complicado analizar esta zona. La banda a $\sim 1440\text{ cm}^{-1}$ corresponde a $\nu_3(\text{CO}_3^{2-})$ está presente desde el inicio de inmersión en Solución Biológica Simulada y aumenta su intensidad conforme transcurre el tiempo.

Al tercer día de inmersión se observa la aparición de un pico a los 870 cm^{-1} identificado como CO_3^{2-} , de acuerdo con lo reportado por (N. Letaïef y colaboradores, 2014), este crecimiento concuerda con los escasos depósitos de apatita vistos en las micrografías SEM, se observan mínimos recorrimientos de longitud de onda. Se logran apreciar pequeños cambios en las bandas a 940 cm^{-1} y 785 cm^{-1} las cuales principalmente pueden ser atribuidas a SiO_{NBO} , dada la menor frecuencia de NBOs. Hasta el día 3, 7 y 14 se observa de mejor manera el pico a los 870 cm^{-1} asignado a $\nu_2(\text{CO}_3^{2-})$.

Los principales desplazamientos de longitud de onda observados son atribuidos a la formación de la capa de apatita. El pico observado alrededor de los $\sim 800\text{ cm}^{-1}$ asignado a Si-O-Si también presenta fases cristalinas desde el tiempo 0 de inmersión. Comparando con los espectros de MO y SG, se observa que el crecimiento del pico a $\sim 680\text{ cm}^{-1}$ es relativamente menor, inferencia que se puede adjudicar a la incorporación de Cu a la estructura.

El vidrio en la fig. 10, identificado como MO Cu 5%, la banda de carbonato $\nu_3(\text{CO}_3^{2-})$, identificada alrededor de los 1450 cm^{-1} está presente desde el inicio de la prueba de

bioactividad e incrementa al paso del tiempo, la presencia de esta banda es indicativo de formación de hidroxiapatita (D. Kaur, y colaboradores, 2020), hasta el día 3 se observa el crecimiento de un pico correspondiente a carbonato $\nu_2(\text{CO}_3^{2-})$ a los 870 cm^{-1} que es evidente hasta el día 7, pero sigue siendo muy pequeño. La reducción de la banda a 935 cm^{-1} es evidente y el pico que sobresale al hombro de la banda principal ya no se observa. Esto se puede atribuir a la formación de nuevas fases de apatita y la formación de Si-O-Si. Se observan las bandas significativas de los vidrios de sílice. Y se aprecia que los crecimientos de apatita en este vidrio son significativamente pequeños, en el espectro se puede ver que el tiempo de respuesta de bioactividad se ve retardado por la incorporación de cobre en la estructura del vidrio.

Discusión: En los espectros identificados como MO Cu 2% y MO Cu 5%, se observa principalmente que la respuesta de bioactividad se ve retardada por la incorporación de cobre, se observa que, a mayor cantidad de Cu, la tasa de respuesta bioactiva se ve retardada. (Jiménez-Holguín, y colaboradores, 2020).

En MO Cu 2% se observa bioactividad a partir del día 3, aunque se observan en las micrografías SEM mínimos depósitos desde el día uno. En comparación con MO Cu 5%, en donde definitivamente se observan depósitos hasta el día 7. La banda observada a los $\sim 1440\text{ cm}^{-1}$ confirma la formación de apatita cálcica (Kaur, y colaboradores, 2020) Comparadas estas muestras con MO y SG, es notorio que los depósitos de apatita son mayores desde el día uno. Estas conclusiones mencionadas concuerdan con lo observado en las micrografías SEM.

Tabla 5. Concentración de los principales picos y bandas detectadas en FTIR, para los vidrios antes y después de Solución Biológica Simulada (SBF) a diferentes tiempos.

Asignación	Posición (cm ⁻¹) y forma	Tiempo en el que aparecen				Comentario
		SG	MO	MO Cu 2%	MO Cu 5%	
(Si-O-Si)	Pico a los ~712	Desde que se preparó	Solo al día 3 y 14	Pico muy pequeño desde el inicio	Desde que se preparó	Indica el inicio de la formación de apatita
δ(Si-O-Si)	Pico a ~800	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Forma parte de la estructura de Sílice
ν ₂ (CO ₃ ²⁻)	Pico a ~872	Permanente	A partir del primer día	A partir del día 1	A partir del día 3	Banda característica del grupo de apatitas carbonatadas, está relacionada a la apatita adsorbida en la superficie y la sustituida en la capa de apatita. Debida a la presencia de CO ₃ ²⁻ en el sitio de OH ⁻ o a HPO ₄ característico de HA deficiente en calcio.
SiO _{NBO}	Banda a ~936	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Hasta el día 7, se observa cambio	La intensidad decrece, por la lixiviación de cationes
ν _{asim} (Si-O-Si) ν ₃ (PO ₄ ³⁻)	Banda ancha intensa a ~1040	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Desde que se preparó	Esta banda es compleja 1190-975 cm ⁻¹ porque se traslapan grupos de absorción de PO y SiO. Esta banda oscurece a ν ₁ (PO ₄ ³⁻) a 960 cm ⁻¹
ν ₃ (CO ₃ ²⁻)	Dos picos a ~1400 ~1488	Todas las reacciones en SBF	Todas las reacciones en SBF	Todas las reacciones en SBF	Todas las reacciones en SBF	Se atribuyen a adsorción de Ca ²⁺ o CO ₃ ²⁻ . A iones de carbono sustituidos en apatita carbonatada. Debida a la presencia de CO ₃ ²⁻ en el sitio de PO ₄ ³⁻ Nota: En SG, esta banda se intensifica a los 3 días en relación con ν ₂ (CO ₃ ²⁻) a ~872 cm ⁻¹
δ (H ₂ O)	Pequeño pico a 1630	En todas las etapas de SBF	Se aprecia a partir del día 7	Se aprecia a partir del día 3	No se observa	Moléculas de agua coordinadas adsorbidas en la superficie. Nota: En todos los vidrios menos en MO Cu 5%

Referencias: (Rehman y Bonfield, 1997), (M. Maçkoviç, y colaboradores, 2012) (Mezahi, y colaboradores, 2009)

7.4.MICROSCOPIA ELECTRONICA DE BARRIDO (SEM)

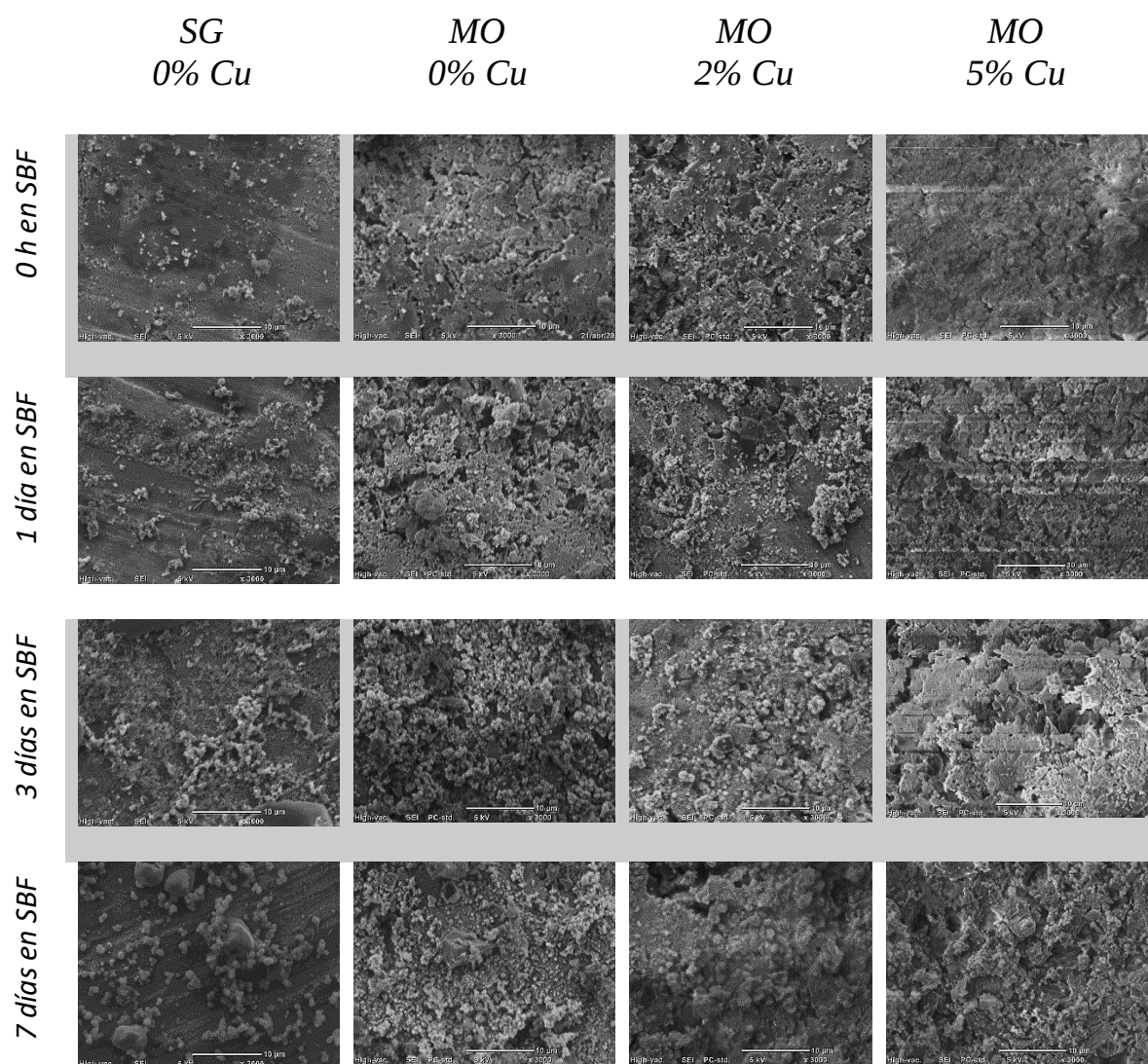


Figura 11. Micrografías SEM de las muestras antes y después de inmersión en SBF, por 0, 1, 3, 7 días.

El estudio de la modificación de la superficie de los vidrios SG, MO, MO Cu 2% y MO Cu 5%, después de inmersión en Solución Biológica Simulada (SBF) a diferentes intervalos de tiempo, revela la formación de una capa, asumiendo partículas mayormente redondas; que se aprecian en los vidrios SG y MO a partir del día 1, constituida por apatita. (Roman, Padilla, Vallet Regi, 2003). Mientras que en MO Cu 2% los depositos son visibles hasta el día 3 en a

baja concentración y en MO Cu 5% el crecimiento es mínimo viéndose depósitos hasta el día 7. Aunque se observa una cantidad considerable de depósitos, esta no cubre en su totalidad la superficie del vidrio. Estas formaciones se observan a mayores tiempos de inmersión. Las conclusiones mencionadas concuerdan con lo que se observa en los espectros FTIR.

Es interesante notar que la incorporación de cobre a los vidrios retrasa la formación de la capa similar a la apatita, siendo que los vidrios son bioactivos, la tasa de formación de apatita es más lenta. Lo que concuerda con lo analizado en FTIR y SEM en donde se observan crecimiento de los picos y depósitos a partir del día 3 y 7, en MO Cu 2% y MO Cu 5%, respectivamente. Kokubo y colaboradores, proponen que en los materiales bioactivos existe un intercambio entre iones de Ca^{2+} del material y los iones de H_3O^+ de la solución, que dan lugar a grupos silanoles en la superficie del material que inducen la nucleación de apatita. Esto concuerda con las bandas identificadas a 930 cm^{-1} en FTIR.

Los resultados analizados en las micrografías SEM soportan los resultados obtenidos en FTIR y sugieren que la mayor densidad de silanoles, textura superior, propiedades y composición adecuada (disolución de fosforo y calcio en SBF) son los factores clave responsables de una tasa de respuesta bioactiva más rápida *in vitro* para vidrios bioactivos mesoporosos. (C. Vaid y S. Murugavel, 2013) (D. Kaur y colaboradores, 2020).

8. CONCLUSIONES

Se sintetizaron cerámicas mesoporosas de sílice en el sistema ternario $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ para analizar la bioactividad *in vitro*, el efecto antibacteriano ante la incorporación de cobre al 2% y 5% mol, así como el efecto osteoinductivo.

En la caracterización fisicoquímica; con la técnica de difracción de rayos X (DRX), se observaron detalles sobre la estructura de las muestras, se pudo observar que se obtuvieron vidrios semiamorfos, presenta cristalinidad, fases cristalinas de bajo ordenamiento. Se observa que los vidrios analizados están principalmente regidos por composición de pseudowollastonita, wollastonita y fosfato tricálcico, que favorecen la bioactividad.

Fue posible sintetizar cerámicas con este sistema ternario y controlar la incorporación de cobre, mediante ruta sol gel y por microondas y ultrasonidos. Los vidrios logrados son semiamorfos y bioactivos. En la caracterización fisicoquímica de espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), se pudieron identificar (1) los principales grupos funcionales que caracterizan la estructura de los vidrios de sílice, (2) se observó que en los vidrios existe el intercambio de especies solubles de calcio y sílice, que favorecen la formación de una nueva capa de sílice y la formación de hidroxiapatita, que es tomada por indicador de bioactividad.

Se observa depósitos de apatita en los tres vidrios sintetizados, y se aprecia también que la respuesta bioactiva (depósitos de HA en la superficie del vidrio) se ve retardada por la incorporación de cobre, por tanto, los resultados obtenidos muestran que los iones de cobre deforman la red de sílice, y gracias a la incorporación de P_2O_5 se logra detener la deformación de la red, esto se consigue mediante la formación de ortofosfato con los cationes de cobre.

Durante el ensayo *in vitro* en solución biológica simulada, la síntesis del vidrio MO comparado que el vidrio sintetizado por el método sol gel, se observan depósitos de apatita en la superficie del material desde el día 1 de inmersión en solución biológica simulada, esto es indicativo de que el método de síntesis por microondas y ultrasonidos no afecta o retarda la bioactividad en las cerámicas. Se aprecia que a medida que incrementa el contenido de cobre, la respuesta bioactiva se ralentiza, dado que en el vidrio MO Cu 2%, se observa crecimiento de apatita a bajas concentraciones hasta el tercer día de inmersión, y en el vidrio MO Cu 5% hasta el día séptimo comienzan a haber depósitos.

El crecimiento de hidroxiapatita como indicativo de bioactividad en las cerámicas es muy importante, dado que entre más rápido sea el crecimiento más rápido se creará el vínculo del material con el hueso. Teniendo presente esto, se expresa que de las cerámicas sintetizadas la que presenta las mejores proporciones de formación es MO Cu 2%,

Por tanto se concluye que; los resultados obtenidos permiten concluir que las cerámicas mesoporosas sintetizadas son bioactivas *in vitro* y se propone: se continúen las investigaciones sobre este material, para conseguir aportar al campo de los biomateriales, una cerámica capaz de ser utilizada en la regeneración o reparación de tejido óseo.

9. REFERENCIAS

1. Albrektsson, T., & Johansson, C. (2001). Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *European Spine Journal*, 10(0), S96–S101. <https://doi.org/10.1007/s005860100282>.
2. Azuola, R., & Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA). *Tecnología en marcha*, 30-31.
3. Baino, F. (2020). Copper-doped Ordered Mesoporous Bioactive Glass: A Promising Multifunctional Platform for Bone Tissue Engineering. *Bioengineering*, 1-10. Doi:10.3390/bioengineering7020045.
4. Bari, A., Bloise, N., Fiorilli, S., Novajra, G., Vallet Regi, M., Bruni, G., . . . Vitale-Brovarone, C. (2017). Copper-containing mesoporous bioactive glass nanoparticles as multifunctional agent for bone regeneration. *Acta Biomaterialia*, 493-504. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2017.04.012>.
5. Blair, H., Teitelbaum, S., Tan, H., & Schlesinger, P. (1992). Reversible inhibition of osteoclastic activity by bone-bound gallium (III). *Journal of Cellular Biochemistry*, 48(4), 401–410. Doi:10.1002/jcb.240480409.
6. Brink, M., Turunem, T., Happonen, R., & Yli Urpo, A. (1997). Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system Na₂O-K₂O-mgo-caO-B₂O₃-P₂O₅-sio₂. *Journal of Biomedical Materials Research*, 37(1). [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(199710\)37:1<114::aid-jbm14>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199710)37:1<114::aid-jbm14>3.0.co;2-g).
7. Carballo, S. L., & Galindo, V. H. (2001). Estudio de los procesos Sol-Gel para la obtención de un aglutinante apropiado para el peletizado de alúmina. *Revista Ingeniería e Investigación*, 57-60.
8. Cartes, P., & Pereira, J. (2016). Emulsions as templates agents using in elaboration of porous materials. *Revista Ingeniería*, 308-318.
9. Colonia, R., Martinez, V., Solis, J., & Gómez, M. (2013). Síntesis de nanopartículas de zno₂ empleando ultrasonido: caracterización estructural y morfológica para aplicaciones bactericidas. *Sociedad Química de Perú*, 78-79.

10. Gomez Cerezo, N. (2019). *Gómez Cerezo. (2019). Vidrios mesoporosos bioactivos para el tratamiento de patologías óseas Mesoporous bioactive glasses for the treatment of bone pathologies.* Madrid: E-Prints Complutense. Eprints.ucm.es. <https://doi.org/https://eprints.ucm.es/id/eprint/51270/>.
11. González-Hernández, J., Pérez-Robles, J., Ruiz, F., & Martínez, J. (2000 (11), 1-16[fecha de Consulta 19 de Octubre de 2022]). Vidrios sio2 nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión. *Vidrios sio2 nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión. Superficies y vacío [en línea]*, ISSN: 1665-3521. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?Id=94201101>. Obtenido de csuperficies y vacío [en línea]. 2000, (11), 1-16[fecha de Consulta 19 de Octubre de 2022]. ISSN: 1665-3521. Dispo
12. Hench, L. (1991). Bioceramics: From Concept to Clinic. *Journal of the American Ceramic Society.*, 74(7), 1487-1510. <https://doi.org/10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x>.
13. Hench, L. L. (1980). *Biomaterials on JSTOR. (2022).* Science: Jstor.org., 826-831, <https://www.jstor.org/stable/1683589>. Obtenido de Jstor.org., 826-831, <https://www.jstor.org/stable/1683589>
14. Hench, L. L. (2006). The story of Bioglass. *Journal Mater Science: Mater med.*, 967-978.
15. Hench, L. L. (2009). Genetic design of bioactive glass. *Journal of the European Ceramic Society. Journal of the European Ceramic Society*, 29(7), 1257–1265. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2008.08.002> .
16. Hench, L. L. (2013). Chronology of Bioactive Glass Development and Clinical Applications. *New Journal of Glass and Ceramics.*, 67-70.
17. Hench, L. L., & Polak, J. M. (2002). Third-Generation Biomedical Materials. *Science*, 295(5557), 1014–1017. <https://doi.org/10.1126/science.1067404>.
18. Hoppe, A., GÜldal, N., & Boccaccini*, A. (2011). A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*, 2757- 2774 doi:10.1016/j.biomaterials.2011.01.004.

19. Hoppe, A., Güldal, N., & Boccaccini, A. (2011). A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. *Biomaterials*, 2757-2774 doi:10.1016/j.biomaterials.2011.01.004.
20. Jiménez-Holguín, J., Sánchez-Salcedo, S., Vallet-Regí, M., & Salinas, A. (2020). Development and evaluation of copper-containing mesoporous bioactive glasses for bone defects therapy. *Microporous and Mesoporous Materials*, 1387-1811, <https://doi.org/10.1016/j.micromeso.2020.110454>.
21. Jones, J. R. (2013). Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. *Acta Biomaterialia*, 4457-4486, doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2012.08.023>.
22. Kaur, D., Reddy, M., & Pandey, O. (2020). Synthesis, characterization, drug loading and in-vitro bioactivity studies of rice husk derived SiO_2 - P_2O_5 - MgO - CaO - SrO bioactive glasses. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 1773-2247, <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.102154>.
23. Kokubo, T., & Takadama, H. (2006). How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, 2907-2915, doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
24. Kokubo, T., Kushitani, H., Sakka, S., & Yamamuro, T. (1990). *Biomed. Mater. Res*, 24, 721.
25. Letaief, N., Lucas-Girot, A., Oudadesse, H., Dorbez-Sridi, R., & Boullay, P. (2014). Investigation of the surfactant type effect on characteristics and bioactivity of new mesoporous bioactive glass in the ternary system SiO_2 - CaO - P_2O_5 : Structural, textural and reactivity studies. *Microporous and Mesoporous Materials*, 102-111, <http://dx.doi.org/10.1016/j.micromeso.2014.03.035>.
26. Mac'kovic, A., Hoppe, R., Detsch, D., Mohn, W. J., Stark, E., Spiecker, & A. R. Boccaccini. (2012). Bioactive glass (type 45S5) nanoparticles: in vitro reactivity on nanoscale and biocompatibility. *J Nanopart Res*, DOI 10.1007/s11051-012-0966-6.
27. Martínez Álvarez, O., Barone, A., Covani, U., Fernández Ruíz, A., Jiménez Guerra, A., Monsalve Guil, L., & Velasco Ortega, E. (2018). Injertos óseos y biomateriales en implantología oral. *AVANCES EN ODONTOESTOMATOLOGÍA*, 34 (2): 111-119.

28. Martínez, J., & Ruiz, F. (2002). Mapeo estructural de sílica xerogel utilizando espectroscopía infrarroja. *Revista mexicana de física*, 48(2) 142-149.
29. Mezahi, F. Z., Oudadesse, H., harabi, A., Lucas-Girot, A., Le Gal, Y., Chaair, H., & Cathelineau, G. ((2009)). DISSOLUTION KINETIC AND STRUCTURAL BEHAVIOUR OF NATURAL HYDROXYAPATITE vs. THERMAL TREATMENT Comparison to synthetic hydroxyapatite. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 95, 1, 21–29.
30. Morales Acosta, D. (2007). *Síntesis y caracterización de materiales híbridos versátiles PMMA-sio2 para el desarrollo de recubrimientos*. México: Tesis de maestría, Centro de investigación y desarrollo tecnológico en electroquímica (CIDETEQU).
31. Moreno Angulo, C. E. (2018). *SÍNTESIS DE VIDRIOS BIOACTIVOS IMPREGNADOS CON NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC COMO BIOMATERIAL PARA LA REGENERACIÓN DE TEJIDO ÓSEO*. Ensenada, Baja California.
32. Novoa Parra, C., Pelayo Tomas, J., Gomez Aparicio, S., López Trabucco, R., Morales Suarez, M., & Rodrigo Perez, J. (2018). Prótesis total de cadera primaria con par de fricción cerámica sobre cerámica de cuarta generación: resultados clínicos y d. *Revista Española de Cirugía, Ortopedia y traumatología*, 12.
33. Organización colegial de dentistas de España. (16 de noviembre de 2022). *Protocolo de utilización de sustitutos óseos e injertos*. Obtenido de www.consejodentistas.es:content/uploads/2016/05/32_Protocolo_utilizacion_de_injertos_01.pdf
34. Philippart, A., Gómez-Cerezo, N., Arcos, D., Salinas, A., Boccardi, E., Vallet-Regi, M., & Boccaccini, A. ((2017)). Novel ion-doped mesoporous glasses for bone tissue engineering: Study of their structural characteristics influenced by the presence of phosphorous oxide. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 90–97. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2016.10.031>.

35. Priego Capote, F., & Luque de Castro, M. (2007). Ultrasound-assisted digestion: A useful alternative in sample preparation. *Biochemical and biophysical methods*, 299-302.
36. Rehman, I., & Bonfield, W. (1997). Characterization of hidroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8(1) 1-4 doi:10.1023/a:1018570213546 .
37. Reyes Blas, H., Olivas Armendáriz, I., Martel Estrada, S., & Valencia Gómez, L. (2019). Use of Functionalized Biomaterials with Bioactive molecules in Biomedical Engineering. *Revista mexicana de ingeniería biomédica*, 1-20.
38. Rojas Cervantes, M. L. (2012). *Diseño y síntesis de materiales "a medida" mediante el método de sol-gel*. Madrid: UNED.
39. Roman, J., Padilla, S., & Vallet Regi, M. (2003). Sol–Gel Glasses as Precursors of Bioactive Glass Ceramics. *Chemistry of Materials*, 15(3), 798–806. Doi:10.1021/cm021325c.
40. Sachot, N., Mateos Timoneda, M., Planell, J., Velders, A., Lewandowska, M., Engel, E., & Castaño, O. (2015). Towards 4th generation biomaterials: a covalent hybrid polymer–ormoglass architecture. *The Royal Society of Chemistry*, 15349–15361.
41. Sarkar, S. K., Sadiasa, A., & Taek Lee, B. (2014). Synthesis of a novel bioactive glass using the ultrasonic energy assisted hydrothermal method and their biocompatibility evaluation. *J. Mater.*, Vol. 29, 1781-1784.
42. Sequeda, L., Díaz, J., Gutiérrez, S., Perdomo, S., & Gómez, O. (2012). Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, Vol. 41 (1), 50-66.
43. Strazic Geljic, I., Melis N., F., Boukhechba, F., Shaub, S., Mellier, C., Janvier, P., . . . Scimeca, J.-C. (2017). Gallium enhances reconstructive properties of a calcium phosphate bone biomaterial. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(2). <https://doi.org/10.1002/term.2396> .

44. Suresh Kumar, G., Girija, E., Thamizhavel, A., Yokogawa, Y., & Narayana Kalkura, S. (2010). Synthesis and characterization of bioactive hydroxyapatite–calcite nanocomposite for biomedical applications. *Journal of Colloid and Interface Science*, 349, 56–62 doi:10.1016/j.jcis.2010.05.038.
45. United Nations. (10 de septiembre de 2022). *Department of Economic and Social Affairs*. Obtenido de World Population Prospects 2022 Summary of Results: https://www.un.org/development/desa/pd/sites/www.un.org.development.desa.pd/files/wpp2022_summary_of_results.pdf
46. Vaid, C., & Murugavel, S. (2013). Alkali oxide containing mesoporous bioactive glasses: Synthesis, characterization and in vitro bioactivity. *Materials Science and Engineering*, C 33, 959–968, <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2012.11.028>.
47. Vallet Regi, M. (2001). Ceramics for medical applications. *The Royal Society of Chemistry. J. Chem. Soc., Dalton Trans.,* 97-108.
48. Vallet Regi, M. (2009). Nanostructured mesoporous silica matrices innanomedicine. *Blackwell Publishing Ltd Journal of Internal Medicine*, 267, 22-43.
49. Vallet Regi, M. (2010). Evolution of bioceramics within the field of biomaterials. *Comptes Rendus Chimie. Comptes Rendus Chimie*, 13(1-2), 174–185. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2009.03.004>.
50. Vallet Regi, M. (2010). Nanostructured mesoporous silica matrices in nanomedicine (review). *Journal of internal medicine*, 267: 22-43.
51. Vallet Regi, M., & Salinas, A. J. (2016). Glasses in bone regeneration: A multiscale issue. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 432, 9-14.
52. Vallet Regi, M., Rámila, A., Del Real, R. P., & Pérez Pariente, J. (2001). M. Vallet-Regí, A. Rámila, Real, & Joaquín Pérez-Pariente. (2001). A new property of MCM-41: Drug delivery system. Researchgate; American Chemical Society. *American Chemical Society.*, 308-311, https://www.researchgate.net/publication/231235779_A_new_property_of_MCM-41_Drug_delivery_system.

53. Wu, C., Zhou, Y., Xu, M., Chen, L., Chang, J., & Xiao, Y. (2013). Copper-containing mesoporous bioactive glass scaffolds with multifunctional properties of angiogenesis capacity, osteostimulation and antibacterial activity. *Biomaterials*, 422-433, <http://dx.doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.09.066>.
54. Yamamuro, T. (2016). Yamamuro, T. (2016). Bioceramics. Biomechanics and Biomaterials in Orthopedics. *Springer Verlag London*, 21–33. https://doi.org/10.1007/978-1-84882-664-9_3.

10. ANEXO

10.1. Descripción de las técnicas de caracterización empleadas

Este apéndice describe las técnicas específicas de caracterización utilizadas en este trabajo para facilitar la lectura.

10.1.1. Espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier (FT-IR)

Esta técnica consiste en hacer incidir un haz de radiación infrarroja sobre la muestra y posteriormente determinar la radiación incidente absorbido. Las bandas que presentan los espectros obtenidos vienen determinadas por las frecuencias de vibración de los enlaces que forman las estructuras moleculares. De este modo es posible detectar multitud de grupos funcionales presentes en los materiales.

La fortaleza de los enlaces, la masa de los átomos implicadas, la simetría de la molécula y sus modos normales de vibración son factores que definen las absorciones activas, por lo que el espectro IR es característico de cada compuesto analizado.

La técnica de espectroscopia IR, se puede utilizar en dos variantes: transmisión y reflexión. En este estudio se utilizó Reflexión Totalmente Atenuada, también conocida como ATR (acrónimo proveniente del inglés, *Attenuated Total Reflection*), para identificar los enlaces químicos y para analizar los nuevos depósitos formado en el material, dado que es ideal para analizar muestras gruesas o que absorben demasiada radiación IR. Gracias a que es un accesorio versátil, que consta de un cristal de alto índice de refracción, que no absorbe radiación infrarroja, en donde es colocada la muestra a incidir. La muestra alimenticia es colocada en contacto con la superficie del cristal. La radiación IR incide a través del cristal, y de ahí a la interface, fracción de esta radiación es la que penetra a la muestra, la cual selectivamente es

absorbida por la muestra a determinadas frecuencias, el resto sale hacia el detector del espectrómetro.

El fundamento de la reflexión atenuada se encuentra en la ley de Snell, en donde se establece que para que suceda entre la muestra y el cristal el fenómeno de reflexión interna, se debe cumplir la expresión matemática:

$$\sin \theta > \frac{n_2}{n_1}$$

En donde $\frac{n_2}{n_1}$ es la relación de refracción entre la muestra y el cristal. El ángulo de incidencia es mayor que el ángulo crítico ($\theta_1 > \theta_c$), el rayo incidente se refleja internamente. Esto es la reflexión interna total.

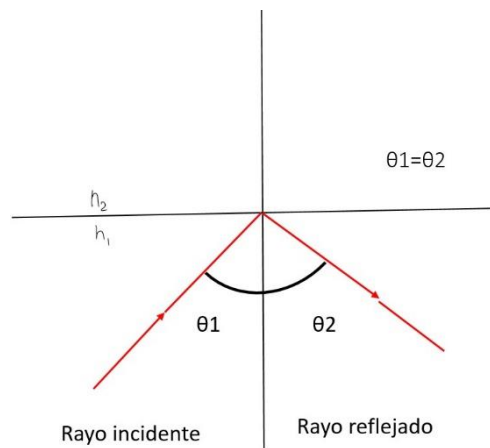


Figura 12. Modo de interacción entre una muestra y un haz de infrarrojo de reflexión total atenuada (ATR)

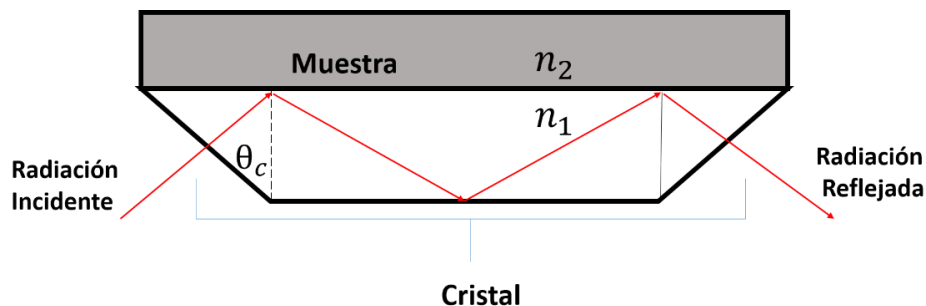


Figura 13. Representación del accesorio de ATR

10.1.2. Difracción de rayos X (XRD)

El científico alemán Röntgen Conrad Wilhelm en 1895 descubrió los Rayos X, denominándolos de esta forma porque era una radiación desconocida con la capacidad de penetrar cuerpos opacos. En 1912, Max Von Laue, tratando demostrar la naturaleza ondulatoria de esta radiación, y la naturaleza periódica de los cristales a través de la difracción, colocó cristales de sulfato de cobre frente a los rayos X, logrando confirmar que los átomos de un cristal están espaciados de tal manera que les permite servir como elementos de una rejilla de difracción tridimensional. Este descubrimiento le valió para que en el año 1914, fuera merecedor del premio Nobel de Física. Los británicos William H. Bragg y William L. Bragg, logran conseguir el Nobel de física 1915, gracias a que logran demostrar la utilidad del fenómeno descubierto por Von Laue. Para lograr obtener la estructura interna de los cristales. Su aportación facilita la interpretación de los resultados.

Como se generan rayos x

En la fuente de Rayos X, se identifican; un tubo de vidrio con vacío, cátodo generalmente hecho de tungsteno, ánodo que puede ser de composición variada y mayormente de cobre, cobalto, molibdeno, cromo o tungsteno.

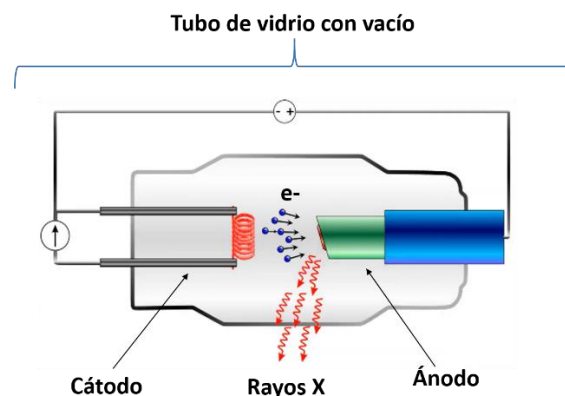


Figura 14. Representación de una fuente de Rayos X y la identificación de sus partes.

Pueden ocurrir dos procesos cuando llega un átomo generado desde el cátodo. Puede ocurrir que un electrón pasa a través del átomo y por las fuerzas electrostáticas del núcleo y electrones, cambiará su trayectoria. Resultando en una pérdida de velocidad y disminución de energía en consecuencia. Esta pérdida resulta en la emisión de un espectro energético continuo, que se conoce como “espectro de frenado”

Si se dibuja la longitud de onda de este espectro contra la intensidad se puede ver una curva continua que empieza en una longitud de onda mínimo que depende del voltaje de aceleración entre cátodo y ánodo.

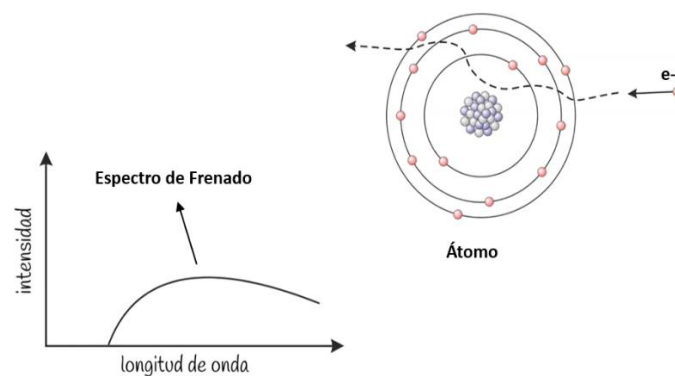


Figura 15. Representación del espectro de frenado y movimiento de lo que ocurre cuando llega un electrón al átomo.

En un segundo caso; puede ocurrir que el electrón emitido desde el cátodo, choque contra otro electrón en una capa interna del ánodo, que puede resultar en la expulsión de este. Si la energía entrante es suficientemente grande, este puede seguir su trayectoria, se forma un átomo ionizado con un hueco en una capa interna. Sin embargo, para minimizar la energía del sistema, un electrón de una capa externa, puede entrar y tomar el espacio, liberando energía muy específica, generando picos característicos para esos saltos de electrones a niveles con menor energía sobre el espectro de frenado.

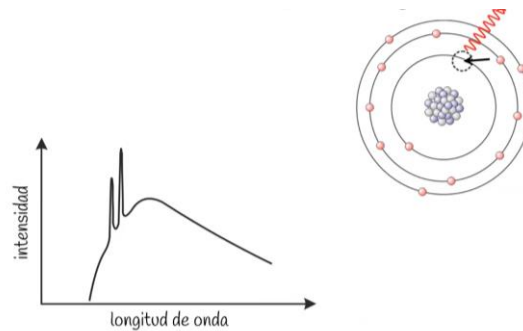


Figura 16. Representación de la generación de picos sobre el espectro de frenado y representación de lo ocurrido en el átomo.

Ensayo de Difracción de Rayos X

Para identificar la estructura cristalina de un material se realiza el ensayo de difracción, en donde la muestra se hace incidir por una fuente de rayos X y se requiere un detector para recibir la señal. El haz de rayos X, interactúa con la muestra, dependiendo de la estructura cristalina. Se demuestra el fenómeno de difracción en ángulos definidos y típicos para la estructura. Para medir el fenómeno de difracción se tiene que filtrar el haz, de tal forma que se utiliza solamente una longitud de onda del espectro. Esa longitud de onda es la radiación característica con la mayor intensidad.

Adicionalmente se forma y enfoca el haz mediante rendijas ópticas para encontrar los ángulos correctos que pertenecen a una estructura cristalina, se puede mover la fuente y el detector a lo largo de un círculo goniómetro.

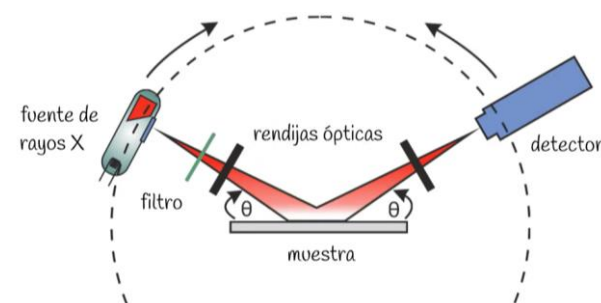


Figura 17. Representación del ensayo de difracción de Rayos X

La interacción de Rayos X, con los planos cristalinos, se describe mediante la ley de Bragg.

La difracción es el fenómeno natural que ocurre cuando una onda incide sobre un obstáculo que está separado por una distancia del mismo orden de magnitud que las longitudes de onda del haz incidente. En este fenómeno se basa la DRX. La técnica de difracción de rayos X permite estudiar la periodicidad en un material. Los rayos X son un tipo de radiación electromagnética cuyo espectro de longitudes de onda se sitúa en el rango de 1-100 Å.

La difracción sólo se da en determinados ángulos de acuerdo con la Ley de Bragg definida por la ecuación:

$$n\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta$$

Donde n es un numero entero, λ es la longitud de onda de la radiación, d es la distancia interplanar y θ es el ángulo de incidencia. La posición de los máximos de difracción correspondientes a cada familia de planos (hkl) permite conocer la estructura cristalina de las muestras.

10.1.3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Esta técnica de microscopía electrónica es capaz de producir imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra basándose en las interacciones electrón-materia. Consiste en hacer incidir un haz de electrones sobre una muestra conductora, con la cual los electrones interactúan, y de esta interacción se emiten dos tipos de electrones; electrones secundarios y los retrodispersados. Los electrones secundarios y retro dispersados son recogidos por un detector para formar la imagen final. Además, estos poseen una gran profundidad de campo que permite enfocar a la vez gran parte de la muestra.

El proceso físico detrás de SEM se parece al de un tubo de rayos catódicos. Los electrones se generan en el cátodo al pasar corriente a través de un filamento metálico. Los electrones generados luego se aceleran hacia el ánodo usando alto voltaje. En el ánodo, el haz de electrones se colima a través de una serie de finas aberturas y genera campos electromagnéticos que rodean la columna.

El haz de electrones finalmente sale de la columna dirigido hacia la superficie de la muestra.

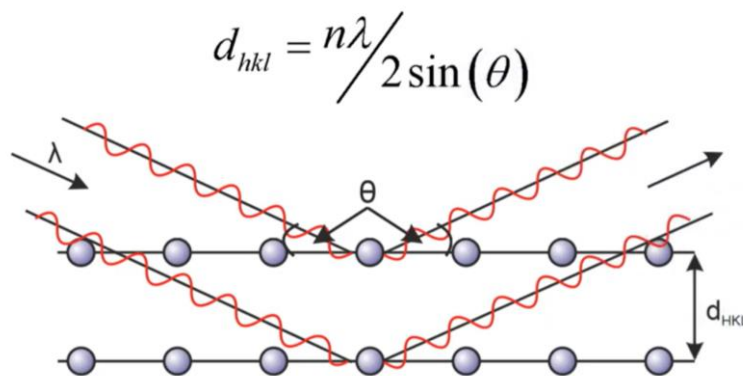


Figura 18. Representación de Difracción de Rayos X y ley de Bragg

Cuando el haz contiguo golpea la muestra, ocurren varios fenómenos físicos; sin embargo, nos enfocamos principalmente en dos de esas interacciones físicas para obtener imágenes: generación de electrones secundarios y electrones retrodispersados.

- Los electrones secundarios son generados a partir de la propia muestra, producidos por la energía de los electrones del haz incidente. Los electrones secundarios son “recogidos” por un detector fuera del eje que utiliza el electrón secundario para generar fluorescencia en un material centellante en la cara del detector.

El material fluorescente en la cara del detector se convierte luego en una señal electrónica, utilizando un tubo fotomultiplicador. El posicionamiento de esa señal de electrones se determina “escaneando” la muestra con el haz de electrones y la señal del detector se acopla a la de la posición del haz incidente

- Los electrones retro dispersados no se regeneran en la muestra. Son los electrones incidentes que rebotan en la muestra y luego regresan fuera de la muestra. Generan imágenes con diferente brillantez en función de la composición química.

Tienen energías mucho más bajas que los electrones secundarios y se utilizan principalmente para ayudar a identificar áreas de diferente número atómico medio, debido a su capacidad para mostrar diferencias en la absorción entre elementos.

La preparación de las muestras para ser evaluadas por esta técnica requiere que estas sean conductoras, esto se consigue recubriéndolas con una capa muy fina de materiales conductores como son el grafito, el oro o mezcla de oro-paladio. En este trabajo se ha utilizado para la caracterización de la morfología de los vidrios mesoporosos bioactivos y para evaluar la evolución de su superficie en contacto con fluidos biológicos simulados con el tiempo.

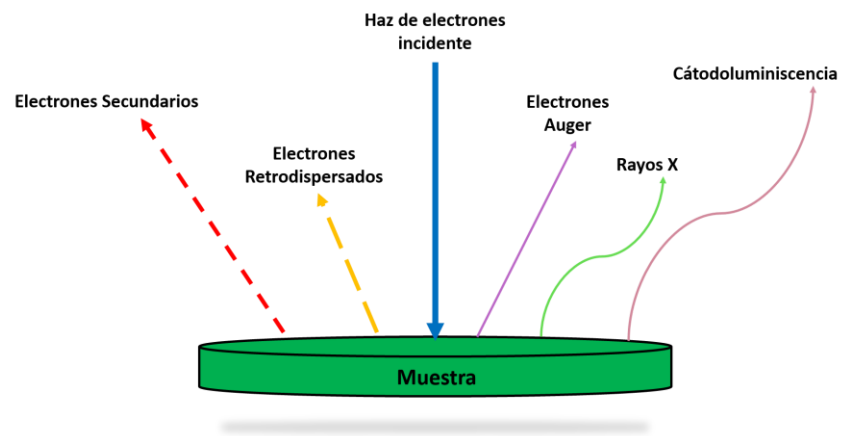


Figura 19. Esquema básico de las diferentes señales generadas a raíz de la interacción del haz primario con la superficie de la muestra.