



**UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA**

**ANÁLISIS TEORICO-PRACTICO EN LA INTERFACE
QUITOSANO/HUESO MEDIANTE MONOLITOS COMPACTOS
Y POROSOS**

TESIS:

Para obtener el título de
Maestro en Ciencias en Ingeniería Química

PRESENTA:

Christian Vianey Paz López

ASESOR

Doctor en Ciencias en Ingeniería
Salomón Ramiro Vásquez García

Morelia, Michoacán, Noviembre 2013

ÍNDICE

ÍNDICE	i
RESUMEN.....	v
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABLAS.....	ix
GLOSARIO	x
NOMENCLATURA	xi

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN	1
1.2 OBJETIVOS.....	4
1.2.1 Objetivo General.	4
1.2.2 Objetivos específicos	4
1.3 JUSTIFICACIÓN.....	5
1.4 HIPOTESIS	6
CAPÍTULO II. MARCO TEORICO.	7

2.1 CONCEPTOS FUNDAMENTALES	7
2.1.1 Polímeros	7
2.1.2. Polímeros Naturales	8
2.1.3. Biopolímeros	9
2.2. QUITOSANO	9
2.2.1. Usos del quitosano	10
2.3. BIOCERÁMICOS.....	11
2.3.1. Biomateriales	11
2.3.2. Hidroxiapatita y Biocompatibilidad.....	12

2.4. HUESO	15
2.4.1 Composición	15
2.4.1. Características estructurales.	15
2.4.2. Hueso cortical (Compacto)	17
2.4.3. Componentes Orgánicos	17
2.4.4. Componentes Minerales.....	18
2.4.5. Propiedades Mecánicas, Generalidades y Rigidez.....	18
2.4.5. Hueso trabecular (Esponjoso)	21
2.4.5.1. Componentes Orgánicos y Minerales.	21
2.4.5.2. Propiedades Mecánicas: Módulos y Resistencia	22
2.4.6. Deterioro de huesos.....	23
2.5. ADHESIÓN.....	23
2.5.1. Generalidades.....	23
2.5.2. Clasificación de los Adhesivos.	25
2.5.3. Teorías en los Fenómenos de la Interfase.	26
2.5.4. Teorías Modernas.....	27
2.5.5. Rugosidad Superficial	29
2.5.6. Viscosidad del Adhesivo.....	29
2.6. MÉTODOS DE CARACTERIZACION.....	29
2.6.1. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	30
2.6.2. Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier (FITR)	31
2.6.3. Difracción de Rayos X (DRX).....	32
2.6.4. Dureza Vickers.....	33
2.7. SIMULACIÓN MOLECULAR	33
2.7.1. Calculo de enlaces Puente de Hidrogeno.	34
2.7.2. Calculo de enlaces de contacto.	34
2.7.2.1. Fuerzas Van der Waals.....	35
2.7.2.2. Reglas Slater.....	35
2.7.2.3. Enlaces Metálicos.....	35
2.7.2.4. Enlaces Iónicos.....	36

2.7.2.5. Enlaces Covalentes	36
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA 37	
3.1 Reactivos y Materiales	37
3.2 Formación de Películas de Quitosano	37
3.3 Preparación de monolitos de hueso animal	38
3.4 Recubrimientos y Secado de Monolitos	39
3.5 Técnicas de caracterización.	40
3.5.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)	40
3.5.2 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)	40
3.5.3 Difracción de Rayos X.	41
3.5.4 Microidentación Vickers.....	41
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES 42	
SECCION UNO: Películas de QT.....	42
4.1 Apariencia Física	42
4.2 Caracterización por FTIR de películas	42
4.2.1 Acidez Variable vs Concentración de QT Constante	43
4.2.2 Concentración de QT Variable vs Acidez constante	50
4.3 Análisis MEB. Películas de QT.	54
SECCION DOS: Monolitos de hueso con/sin Recubrimiento	56
4.4 Apariencia Física	56
4.5 Dureza Vickers	57
4.5.1 Comportamiento del QT en hueso poroso	57
4.5.2 Comportamiento del QT en hueso compacto	58
4.6 Caracterización por FTIR	58
4.6.1 FTIR del HC vs HP	58
4.6.2 FTIR del HP con QT	59
4.6.3 FTIR del HC con QT	60

4.7 Caracterización por MEB	62
4.8 Caracterización por Rayos X.	63
4.9 SIMULACION COMPUTACIONAL	67
4.9.1 Comportamiento del QT puro	67
4.9.2 Comportamiento de la hidroxiapatita puro	69
4.9.3 Comportamiento QT/Hidroxiapatita	70
4.10. CONCENTRADO DE RESULTADOS.....	74
CONCLUSIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	80

RESUMEN

Análisis Teórico Práctico en la Interface Quitosano/Hueso mediante Monolitos Compactos y Porosos.

Por: Paz López Christian Vianey, Octubre 2013

Dirigida por: Dr. Salomón Ramiro Vásquez García

Entidad: Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química

Debido a la importancia de los polímeros naturales en el área de la salud, numerosas investigaciones se han centrado en la mejora de sus propiedades de adhesión. En la presente investigación se analizó un estudio entre dos superficies de distinta naturaleza: el polímero de quitosano (QT) y hueso a, este último formado por un 60% de hidroxiapatita. Para la primera etapa se analizó el QT en forma de película y para la segunda etapa en forma de recubrimiento sobre hueso poroso (HP) y compacto (HC). Así películas de QT fueron analizadas por Análisis Infrarrojo (FTIR) y Microscopia Electrónica de Barrido (MEB), variando la concentración del QT y ácido acético (AC) del disolvente; obteniéndose una mayor interacción de los grupos funcionales (OH y C=O), con motivo de un incremento en la solvatación del QT. Por MEB se determinó que a concentraciones altas de QT existía un incremento del espesor de la película (7.20 μm a 28.0 μm para 0.17 M y de 18 μm a 24 μm para 0.30 M) como resultado de un mayor número de moléculas de QT. En este caso, el decremento de la acidez decreció el espesor de la película por una falta de un adecuado acomodo molecular. La dureza de QT/HP decrece (28.34 GPa a 18.3 GPa) por un incremento del QT y acidez., mientras que para el caso del QT/HC esta decrece (35.65 GPa a 34.67 GPa) por el decremento de la acidez. Con el análisis IR se observó interacciones moleculares entre las especies OH, C=O y el ion PO_4^{-3} , también se determinaron especies presentes como colágeno y paredes celulares. Por análisis MEB se observaron superficies rugosas que se modifican dependiendo de la cantidad de QT. Por DRX se determinó que el incremento de la acidez y del QT incrementa la cristalinidad del QT sobre el hueso. También se realizó simulación molecular que permito entender el comportamiento de las moléculas de QT en la superficie, determinándose que las fuerzas de unión QT/Hueso son por interacciones Van der Waals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Estructura de un monómero y su correspondiente polímero.	7
Figura 2.2. Estructura química del quitosano, a) 3D y b) 2D.	10
Figura 2.3. Constituyentes del hueso.	16
Figura 2.4. Tipos de uniones	24
Figura 2.5. Cohesión en la interfase adhesivo/sustrato.	24
Figura 2.6. Adhesión mecánica -Mortero que mantiene juntos los ladrillos.....	27
Figura 2.7. Teoría de la Difusión – Adhesión entre polímeros.....	28
Figura 2.8. La teoría eléctrica – Materiales de naturaleza diferente.	28
Figura 2.9. a) Identador piramidal Vickers, b) Impresión piramidal de dureza Vickers. ..	33
Figura 4.1 Películas de QT. Hacia arriba incremento del QT. A la derecha decremento del pH (mayor cantidad de ácido acético empleado).	42
Figura 4.2 Comparativo FTIR de películas de QT: Peso constante del QT (1wt%) e incremento de la acidez de la solución de AC.	43
Figura 4.3 Ensanchamiento de la banda del OH y desplazamiento del pico del C=O (1wt%) por incremento de acidez.	44
Figura 4.4 Comparativo FTIR de películas de QT: Peso constante del QT (3wt%) e incremento de la acidez de la solución de AC.	45
Figura 4.5 Ensanchamiento de la banda del HO (3wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.	45
Figura 4.6 FTIR de películas de QT (5wt%) con incremento de la acidez de la solución. 46	
Figura 4.7 Ensanchamiento de la banda del HO (5wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.	47
Figura 4.8 Cambio de coloración/porosidad de películas de QT (5wt%) acidez.	47
Figura 4.9 FTIR de películas de QT (7wt%) con incremento de la acidez de la solución. 48	

Figura 4.10 Ensanchamiento de la banda del HO (7wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.	48
Figura 4.11 Cambio de coloración/porosidad de películas de QT (5wt%) acidez.	49
Figura 4.12 FTIR de películas de QT (0.17 M) con incremento de wt% de QT.	50
Figura 4.13 FTIR de películas de QT (0.20 M) con incremento de wt% de QT.	51
Figura 4.14 FTIR de películas de QT (0.20 M) con incremento de wt% de QT.	52
Figura 4.15 FTIR de películas de QT (0.25 M) con incremento de wt% de QT.	52
Figura 4.16 FTIR de películas de QT (0.30 M) con incremento de wt% de QT.	53
Figura 4.17 Micrografías de QT a 10X con una escala de 10µm.	54
Figura 4.18 Micrografías de QT a 20X con escala de 20µm- vista por corte transversal. .	55
Figura 4.19 Fotografías de HP y HC después del tratamiento de limpiado y secado.	56
Figura 4.20 FTIR de HC y HP.	59
Figura 4.21 FTIR de la muestras 3.17QT/HP y 3.30QT/HP.	59
Figura 4.22 FTIR de HC, 3.17QT/HC y 3.30QT/HC.	60
Figura 4.23 FITR de HC, 3.17QT/HC, Colágeno y 3.17QT.	61
Figura 4.24 Micrografías de HP y HC a 2000µm, después del limpiado y secado.	62
Figura 4.25 Micrografías de monolitos 1.17QT/HP, 1.30QT/HP, 3.17QT/HP, 3.30QT/HP, 7.17QT/HP y 7.17QT/HP a 400µm.	63
Figura 4.26 Micrografías 3.17QT/ HC y 3.30QT/ HC a 200µm.	63
Figura 4.27. DRX Hidroxiapatita Estándar Internacional.	64
Figura 4.28. Hidroxiapatita de vaca.	64
Figura 4.29 Difractograma del HP, QT y HP recubiertos con QT.	65
Figura 4.30 Difractograma del 7.30QT/HP y QT.	66
Figura 4.31 Difractograma del monolito 3.17QT/HC, 3.30QT/HC y HC.	67
Figura 4.32 Simulación de la molécula de QT: Análisis por enlaces de Hidrogeno.	68

Figura 4.33 Simulación de la molécula de QT: Análisis Van der Waals	68
Figura 4.34 Superficie de hidroxiapatita con 6 Celdas unitarias: Análisis Van der Waals.	69
Figura 4.35 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis por enlace de Hidrogeno.	70
Figura 4.36 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Van der Waals.	71
Figura 4.37. Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Slater.	71
Figura 4.38 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Metálicas.	72
Figura 4.39 Interacción superficie de hidroxiapatita y QT. Análisis de fuerzas Iónicas. ..	73
Figura 4.40 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Covalentes.	73

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Valores resistencia del hueso y fosfato de calcio.....	14
Tabla 2.2. Valores típicos húmedos de densidades aparente, modulo y fuerza de compresión para el hueso trabecular humano.	19
Tabla 2.3. Propiedades Mecánicas de los huesos, autores y obtenciones.	20
Tabla 2.4. Clasificación de adhesivos.	25
Tabla 3.1 Etiquetado de Películas de QT en relación al QT/AC.....	38
Tabla 3.2 Etiquetado de Monolitos recubiertos con soluciones filmogénicas de QT.	39
Tabla 4.1 Señales características de IR del QT, observadas en películas preparadas mediante disolución en AC.	49
Tabla 4.2 Espesores de películas de QT, determinadas por MEB.	55
Tabla 4.3 Micro-dureza de huesos compactos y porosos con y sin recubierto.	57
Tabla 4.4 Señales características de IR del colágeno, hidroxiapatita y hueso bovino, observadas en monolitos de HP y HC, recubiertos y sin recubrir con QT.....	61
Tabla 4.5. Películas de QT disueltas en solución ácida de AC.	75
Tabla 4.6. Hueso recubierto con QT.	76

GLOSARIO

Aglomeración: Conjunto de partículas consolidadas.

Agregación: Conjunto de partículas no consolidadas.

Cerámico: Inorgánico sintetizado, con buenas propiedades térmicas y mecánicas.

Cristalinidad: Empaquetamiento ordenado de átomos, con patrones de repetición, que forman estructuras tridimensionales periódicas.

Dureza: Oposición de un material a la abrasión o rayado, al absorber energía ante un esfuerzo antes de deformarse.

Fisisorción: Adsorción física de una molécula adherida a una superficie, conservando su naturaleza química.

Interfase: Superficie de separación entre dos fases, en QT/Hueso, superficie de interacción electrostática entre fases heterogéneas.

Polímero: Macromoléculas formadas por la unión de moléculas pequeñas o unidades respectivas llamadas monómeros.

Solvatación: Proceso de asociación de moléculas de disolvente con moléculas o iones de soluto.

NOMENCLATURA

AC	Acido Acético
d	Diagonal de la huella de indentación promedio
DRX	Difracción de Rayos X
FTIR	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier
H	Hueso
HC	Hueso Compacto
HP	Hueso Poroso
Hv	Microdureza Verdadera
MEB	Microscopía electrónica de barrido
nm	Nanómetros
QT	Quitosano
Tg	Temperatura de transición vítrea
%wt	Porcentaje de masa en solución.
μm	Micrómetros

DEDICATORIA

A Dios

Por darme la fortaleza de luchar todos los días.

A mis padres.

Aurora López García y Francisco Paz Chalacha, por su amor, comprensión, dedicación, disciplina, constancia y confianza. No estaría aquí si ellos.

“Gracias por haberme hecho la persona que soy y espero algún día ser la mitad de honorables que son ustedes”.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo (UMSNH) a través de la **División de Estudio de Posgrado de la Facultad de Ingeniería Química (DEPFIQ)** por el apoyo a la formación educativa que se me brindó durante mi estancia.

A la facultad de Ingeniería Química por el apoyo otorgado para el uso de las instalaciones.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)** por el apoyo económico brindado a través de su programa de becas para posgrado.

A mi asesor de tesis **Dr. Salomón Ramiro Vásquez García** por su guía, apoyo y conocimiento en el trabajo de investigación. A mi co-asesor la **Dra. Nelly Flores Ramírez** brindarme su apoyo y cariño constante.

A mis sinodales **Dr. Leandro García González**, **Dr. Marco Antonio Martínez Cinco**, **Dr. Javier Lara Romero**, por su atención, tiempo y aportaciones.

A las personas que dejaron huella en mi vida y que siempre han estado conmigo.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

El área de la salud demanda materiales adecuados para procedimientos quirúrgicos que generen resultados óptimos en la regeneración de tejidos y prótesis, que sean biocompatibles. Así, han surgido nuevas prótesis, pegamentos, incrustaciones y dispositivos eléctricos biocompatibles.

Con la ascensión de nuevas prácticas en la medicina, términos como biocompatibilidad, biomateriales, biopolímeros entre otros son de uso cada vez más frecuentes. En el caso particular de los biomateriales, este es definido como un material que interacciona con los sistemas biológicos para evaluar, tratar, aumentar o substituir cualquier tejido, órgano o función del cuerpo” según la *Second Consensus Conference on definitions in Biomaterials, Chester, Reino Unido 1992*. Otra definición indica que es “un material de origen natural o sintético que se utiliza para dirigir, suplementar o reemplazar alguna función de un tejido vivo” o como “una sustancia sistemáticamente y farmacológicamente inerte diseñada para su implantación dentro de un sistema vivo o su incorporación a éste”. (1).

En los últimos 20 años se ha observado una tendencia creciente del desarrollo y empleo de los biomateriales para la reparación y regeneración del tejido óseo dañado. Los biocerámicos de fosfatos de calcio han generado gran interés en el área de la ortopedia debido a su similitud con el componente mineral del tejido óseo. Estos se han utilizado como gránulos en implantes pequeños que no requieran soportar cargas como: en el oído medio, en implantes dentales y en recubrimientos sobre metales. Así también se han hecho presentes en los implantes porosos para estimular el crecimiento huesos, y en los cementos que se implantan en estado pastoso y fraguan *in vivo*.

Los inconvenientes clínicos asociados con los biocerámicos se centran fundamentalmente en la baja resistencia mecánica y en la lenta cinética de reabsorción en comparación con el tejido circundante. Es por ello que los estudios actuales están enfocados a crear nuevas formulaciones compuestas por fosfatos de calcio y biopolímeros, dirigidos a evitar la migración frecuente de las partículas biocerámicas del sitio del implante, disminuir la posibilidad de daños a los tejidos blandos próximos al implante; así como mejorar la

biodegradabilidad, las propiedades de fraguado, la resistencia mecánica y la inyectabilidad de los biomateriales. (2).

Uno de los materiales esenciales en la formulación de los cerámicos es el quitosano. Este es un biopolímero natural que se obtiene cuando la desacetilación de la quitina es incompleta, se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades $\beta(1-4)$ -2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y $\beta(1-4)$ -2-amino-2-desoxi-D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción.

La presencia de grupos aminos en la cadena polimérica han hecho del quitosano uno de los materiales más versátiles que se han estudiado desde hace más de 30 años. Debido a que estos biopolímeros presentan la posibilidad de realizar una amplia variedad de modificaciones: reacciones de anclaje de enzimas, reacciones de injerto y obtención de películas entrecruzadas, entre otras. De estas reacciones se obtienen materiales con propiedades adecuadas para aplicaciones inmediatas y futuras en biotecnología, biomedicina, agricultura, etc. (3)

Por otro lado la fase minera de los huesos es hidroxiapatita, este es un biomaterial cristalino integrado por tres moléculas de fosfato de calcio y de una molécula de hidróxido de calcio. La hidroxiapatita es la matriz de calcio encontrada en el hueso sin procesar en una proporción del 60%. El hueso natural contiene aproximadamente 30% de colágeno, 10 % de otras proteínas y aminoácidos pequeños (hidroxiprolina, glicina y ácido glutámico). El calcio abarca entre el 24-30% de la matriz de la hidroxiapatita junto con varios minerales (zinc, potasio, silicio, magnesio, fierro) forma un conjunto biodispensable activo de calcio. (4)

La adhesión del quitosano a la hidroxiapatita es importante en el área de la medicina. Sin embargo el uso de adhesivos es anterior a la era cristiana, y han sido empleados extensamente hasta la actualidad. Existen ejemplos de polímeros naturales que presentan una alta adhesión; como es el caso de las telas de araña, de los panales de abejas o de las sustancias que unen las fibras de los nidos de los pájaros. Se han hallado vestigios del uso de la sangre animal como adhesivo durante la Prehistoria. Los babilonios empleaban cementos bituminosos hacia el 4000 A.C, mientras que los egipcios preparaban adhesivos mediante la cocción de huesos de animales para la adhesión de láminas de madera hacia el 1800 A.C.

El término adhesivo se puede definir como aquella sustancia que aplicada entre las superficies de dos materiales permite una unión que se opone a la separación. Los sustratos o adherentes son los materiales que se une mediante el adhesivo. El conjunto de interacciones físicas y químicas que tienen lugar en la interface adhesivo/adherente recibe el nombre de adhesión. (5)

El quitosano es considerado un polímero catiónico por los grupos aminos (NH_3^+ , $\text{pKa} \sim 6.3$) en su estructura, mientras que el carácter iónico de la hidroxiprolina la hace una cerámica dura, refractaria, con punto de fusión mayor que 1500°C . Además, este carácter iónico le proporciona la capacidad de la sustitución parcial o completa de iones de la red por otros de tamaño similar (PO_4^{3-} por HPO_4^{2-} , Ca^{+2} por K^+ o Mg^{+2} , OH^- por F^- , Cl^- , Br^-). (6). De manera que el quitosano y la hidroxiapatita son dos compuestos de carácter iónico opuestos que presentan atracción. Al unir estas sustancias genera una interface que modifica las propiedades mecánicas de los materiales.

Por medio del análisis de la configuración de estas interfaces, al optimizar la conformación molecular en un software (Materials Studio) y aplicando análisis microscópicos y espectroscópicos, es posible determinar los posibles cambios y el proceso óptimo para llevar a cabo la adhesión superficial.

En relación a lo anterior este trabajo está dirigido a analizar el comportamiento de manera práctica y teórica de las moléculas de quitosano sobre un hueso. El hueso se presenta en forma de monolitos y es obtenido de un ejemplar vacuno. Por otro lado, se realiza el análisis teórico sobre hueso considerando a la hidroxiapatita como matriz elemental.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo General.

Empleando una investigación práctica-teórica determinar el nivel de interacción molecular que existe entre hueso y quitosano al analizar la agregación del quitosano sobre las dos fases del hueso (poroso y compacto) mediante la inmersión de las piezas óseas. Esto con el propósito de impartir resistencia al hueso.

1.2.2 Objetivos específicos

1. Obtención de monolitos de hueso poroso y compacto. Por tratamiento alcalino y corte para obtener sustratos que soporten al quitosano.
2. Determinar las características físicas y de aglomeración de las cadenas del quitosano, cuando estas son disueltas a diferentes concentraciones de soluciones acidas.
3. Valorar de forma visual, la compatibilidad en la interface Quitosano/Hueso. Esto mediante la inmersión y emersión de las piezas óseas en soluciones de quitosano/ácido acético.
4. Establecer la interacción que existe en la interface Quitosano/Hueso empleando métodos ópticos, espectroscópicos y físico-mecánicos: MEB, FTIR, difracción de rayos X y dureza Vickers.
5. Estimar las condiciones de la interacción Quitosano/Hidroxiapatita empleando simulación computacional.

1.3 JUSTIFICACIÓN.

En la actualidad, las afecciones óseas constituyen uno de los problemas fundamentales que enfrenta la medicina regenerativa, debido al incremento de la longevidad de la población y del número de traumas ocasionados por accidentes de diversa índole. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la osteoporosis es el segundo problema sanitario asistencial en el mundo después de las enfermedades cardiovasculares. Así actualmente, la investigación se orienta cada vez más hacia el desarrollo y diseño de nuevos materiales que estimulan la regeneración y/o reparación de los tejidos óseos dañados, que faciliten una rápida recuperación del paciente y reduzcan los elevados costos quirúrgicos y de los materiales.

Los materiales cerámicos tienen excelentes propiedades osteo-inductivas. Presentan una baja degradabilidad, con una alta resistencia mecánica y biocompatibilidad. La hidroxiapatita ofrece la oportunidad de valorar el comportamiento del hueso humano ante la interacción con polímeros orgánicos. Uno de los biopolímeros empleados con más frecuencia en la preparación de compuestos con fosfatos de calcio es el quitosano, el cual es biocompatible, no presenta toxicidad, de alta resistencia mecánica, bajo costo y de gran disponibilidad global.

Dado lo anterior, este trabajo presenta la oportunidad de combinar el quitosano/hueso a nivel laboratorio y valorar a nivel teórico a la hidroxiapatita/quitosano en una unión donde el polisacárido tendrá la función de adhesivo y absolvedor de impacto al ubicarse al interior de la grietas del hueso e hidroxiapatita. La hidroxiapatita se toma como referente debido a que es una estructura menos compleja que el hueso para el análisis teórico.

Adicional a los resultados de este estudio, los mismos servirán para ampliar el conocimiento en el área de los materiales híbridos, polímeros/cerámicos enfocados en un uso biomédico.

1.4 HIPOTESIS

El proceso de descalcificación (osteoporosis) del hueso provoca la presencia de fisuras, las cuales al propagarse generan fracturas. Estas fisuras se propagan por modificaciones en la tensión y contracción (presión) en los puntos límites de unión hueso-hueso. Polímeros como el quitosano son de buen desempeño mecánico y han demostrado biocompatibilidad con el hueso. Esta aceptación se genera principalmente en la matriz del hueso, la cual está compuesta en un 60% en peso de hidroxiapatita. En respuesta a estas condiciones es posible emplear al quitosano como bio-adhesivo con el hueso, para formar una interface híbrida indicada como quitosano/hidroxiapatita. La cual se puede estudiar teóricamente por métodos computacionales.

CAPÍTULO II. MARCO TEORICO.

2.1 CONCEPTOS FUNDAMENTALES

2.1.1 Polímeros

Un polímero es una molécula formada por la unión de muchos monómeros (griego, poli, - muchos, meros, -partes y mono -uno) (7), cuyo comportamiento difiere de las moléculas pequeñas; siendo necesario su estudio mediante técnicas especiales.

Los polímeros han estado presentes desde tiempos históricos tempranos. Particularmente se empleaban en la construcción, el desarrollo de las herramientas prehistóricas y refugios, los cuales eran fabricados con polímeros naturales como la madera y de paja. Estos dos polímeros son a base de celulosa, que es un biopolímero de la glucosa. La ropa se hacía de piel y pelo de los animales, los cuales contiene proteínas, que son biopolímeros de los aminoácidos. Después de que se aprendiera a utilizar el fuego, se empezaron a hacer utensilios de cerámica y de vidrio, que son polímeros inorgánicos naturales. (8)

La ciencia de la química de los polímeros comenzó en la década de 1920. En esta época los científicos hicieron grandes progresos al elucidar las estructuras químicas de varias sustancias y generalmente se desconcertaban por el comportamiento de algunas de ellas. Estas “nuevas” sustancias sugerían la presencia de solutos de muy alto peso molecular.

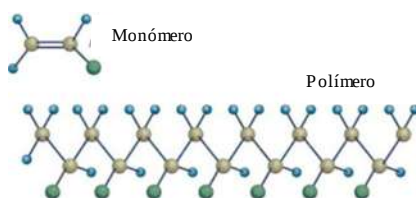


Figura 2.1. Estructura de un monómero y su correspondiente polímero.

Inicialmente se consideró que estos materiales eran agregados formados de pequeñas unidades moleculares como lo refleja la Fig. 2.1, que se mantenían unidas por fuerzas intermoleculares. Este error en la concepción subsistió por varios años, hasta que Hermann Staudinger demostró con claridad que los llamados “agregados” eran moléculas

enormes, cada una de las cuales contenían muchos miles de átomos unidos por enlaces covalentes.

La condición de existencia de las macromoléculas y sus propiedades condujo a la fabricación de polímeros, los cuales desempeñan un elemento de gran importancia en casi cualquier aspecto de nuestra vida diaria. El factor económico de los polímeros es tan importante que aproximadamente 90% de los químicos trabajan con polímeros. (9).

Dado el origen de los polímeros, estos se dividen en dos clases: naturales y sintéticos. Donde la mayor parte de estos son compuestos orgánicos.

2.1.2. Polímeros Naturales

El término de polímero natural se usa para referirse a polímeros sintetizados biológicamente por la naturaleza y se obtienen de plantas o animales. (10). Los polímeros naturales tales como la seda, lana, celulosa, etc. se han empleado abundantemente y han tenido mucha importancia a lo largo de la historia. (Askeland D.R. 1998). Dado que la línea de esta investigación está ligada a los polímeros naturales. Estos se abordarán con más extensión.

Particularmente los polímeros naturales pueden ser obtenidos por la extracción a partir de la biomasa (celulosa, almidón, quitosano, gelatina, colágeno, gluten, zaina, sueros, cerasentre otros.), por síntesis química a partir de monómeros obtenidos de biomasa (poliacrilato láctico y otros poliésteres), o bien producidos por microorganismos (celulosa bacteriana, polihidrixialcanoatos, etc.).

Actualmente los biopolímeros basados en polisacáridos, proteínas y lípidos, son los que están siendo objeto de un mayor estudio como material de envase y recubrimientos de alimentos. La ventaja de la utilización de estos materiales radica en que los mismos son biodegradables y en muchas ocasiones pueden ser extraídos de residuos o como subproductos de la industria agrícola alimentaria. Por ello la ventaja es doble, ya que el costo de la materia prima se reduce y además, se le da un valor añadido a un residuo o subproducto industrial. (11)

2.1.3. Biopolímeros

Los materiales poliméricos tienen una amplia variedad de aplicaciones en el campo de la medicina, ya que presentan propiedades físico-químicas más cercanas a la de los tejidos vivos, que en su mayor parte están formados por polímeros naturales, también conocidos como biopolímeros, como son las proteínas y los polisacáridos. Estos materiales se han empleado en investigaciones de liberación controlada de fármacos y en el campo de ingeniería de tejidos, pues son biocompatibles, no tóxicos y biodegradables en condiciones fisiológicas, con una velocidad de reabsorción in-vivo que puede variar de acuerdo con las características de la macromolécula.

Actualmente existe la tendencia de usar biopolímeros en la formulación de materiales para fines periodontales, maxilofaciales y en la ingeniería de tejidos óseos. Si bien los materiales poliméricos presentan ciertas limitaciones que impiden su aplicación en regiones del organismo que reciben una carga o tensión alta y cíclica, como las caderas y las rodillas, sus propiedades físicas son similares a las de la fase orgánica presente en los tejidos óseos, lo que promueve e induce la formación de estructura ósea a través de su matriz. Ello permite que la osteointegración y la reabsorción de los materiales compuestos con polímeros naturales sean más rápidas.

Debido a sus excelentes propiedades y sus diversas fuentes naturales de obtención los biopolímeros más ampliamente estudiados, son el colágeno, la gelatina, el alginato, la quitina y el quitosano (2).

2.2. QUITOSANO

El quitosano (Figura 2.2) es un polisacárido de cadena lineal que se obtiene mediante la desacetilación extensiva de la quitina. Este es el segundo biopolímeros más abundante en la naturaleza, después de la celulosa; que se encuentra presente en la mayoría de especies de hongos y algas, siendo un componente fundamental del exoesqueleto de los insectos y crustáceos.

El quitosano ha sido solubilizado en soluciones ácidas, y a través de su modificación estructural por reacciones de alquilación y acilación. Así, se han obtenido derivados

solubles o hinchados en agua. Esto presenta un mejor manejo para su producción y el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas. (12).

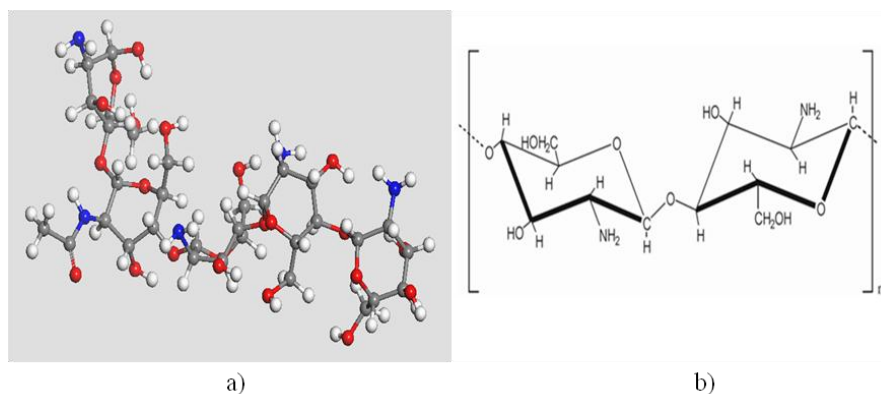


Figura 2.2. Estructura química del quitosano, a) 3D y b) 2D.

2.2.1. Usos del quitosano

El uso del quitosano en ortopedia ha sido impulsado debido a su capacidad de inducir y promover formación ósea, solo o en combinación con fosfatos de calcio. Esto se genera por su capacidad para producir fibras que proporcionan resistencia y generar recubrimientos bioactivos sobre sustratos de titanio con mínima degradación bajo exposición. El quitosano también ha sido utilizado para la ingeniería de tejidos en la fabricación de matrices que soportan el crecimiento celular. Este tipo de matrices exigen una estructura tridimensional porosa (con porcentajes y diámetros de poro definidos) con propiedades mecánicas apropiadas para cada aplicación.

Trabajos realizados a nivel mundial muestran diferentes métodos para la fabricación de matrices a partir de soluciones de quitosano. (13)

Una de las características fundamentales del quitosano son sus propiedades muco adhesivas, que facilitan la liberación de los principios activos directamente al tracto nasal o peri oral, contribuyendo a que la asimilación del principio sea más rápida y efectiva. De la misma manera sus propiedades biológicas permiten que el quitosano sea útil para el tratamiento de reconstrucción de la piel, convirtiéndolo en una película altamente delgada que sirve como soporte para las células epiteliales y, que por medio de sus características

humectantes y antibactericidas, sea útil para personas con quemaduras graves o con problemas de la piel. (14). De manera específica se enlistan algunos usos del quitosano según diversas áreas.

- Cosméticos: hidratante, emulsificante, emoliente, espesante, formación de películas.
- Salud: control del colesterol, liberación de drogas, prótesis dentales, suturas, biomateriales, vendas para los ojos, antibacterial, anticongelante.
- Agricultura: nematicida, alimentación animal, liberación continua, tratamiento de semillas.
- Alimentos: clarificación, fibra dietética, remoción de taninos, cromatografía, agentes gelatinizados y espesante, reutilización de proteínas, procesos de desecho.
- Biotecnología: inmovilización de enzimas, encapsulamiento, filtro ayuda, inmovilización de células, reutilización de proteínas.
- Tratamiento de aguas: procesamiento de alimentos, agua potable, remoción de colorantes, remoción de metales.

2.3. BIOCERÁMICOS

2.3.1. Biomateriales

La ciencia de los materiales se considera como uno de los prototipos más característicos de campos de investigación y desarrollo totalmente interdisciplinario, cuyo crecimiento más espectacular se ha producido predominantemente durante las dos últimas décadas. (15).

Uno de los principales incentivos del desarrollo de la ciencia de biomateriales ha sido la imperiosa necesidad de encontrar, desarrollar y utilizar materiales biocompatibles, es decir que induzcan una respuesta apropiada con el medio fisiológico. (16)

Los biomateriales son utilizados para reparar, restaurar o reemplazar tejidos u órganos humanos que han sufrido daños irreversibles. Atendiendo a sus orígenes, los biomateriales pueden ser naturales como el colágeno purificado, fibras proteicas, polisacáridos y tejidos

tratados. Esos materiales son en general complejos, heterogéneos y difícilmente caracterizables y procesables. (17) (18)

Los biomateriales sintéticos pueden ser metales, cerámicos o polímeros y han sido denominados por varios autores como “Materiales Biomédicos” para diferenciarlos de los biomateriales de origen natural.

La principal propiedad de estos materiales es su compatibilidad con los tejidos del cuerpo humano, propiedad que se define a partir de una serie de observaciones médicas, ya que el material no debe incluir su separación, reacción inflamatoria o de cuerpo extraño. No debe provocar respuesta del sistema inmunológico, no debe ser toxico originalmente, ni tampoco los productos de su descomposición, no debe ser bioabsorbida al extremo de su destrucción en el medio biológico, no debe ser eliminado naturalmente, ni debe alterar genéticamente las células adyacentes. (19)

La utilización de los bancos de huesos (huesos humanos o bovinos liofilizados o sintetizados) para obtención de injertos representa un alto costo en su mantenimiento. Este hecho ha originado que en los últimos años numerosos autores propongan la utilización de materiales inertes como sustitutos de hueso. Las propiedades más buscadas en estos biomateriales han sido la osteoinducción, es decir, la capacidad de estimular la formación de hueso. (20)

Los cerámicos han generado un gran interés en los últimos años. Sus características como materiales biocompatibles son ampliamente recocidas pero no siempre ha sido posible materializar todo su potencial, debido a ciertas dificultades que se presentan en las técnicas de fabricación. Los cerámicos tanto bioactivos como inertes han sido ampliamente utilizados en diferentes situaciones clínicas. Sin embargo, la fragilidad de estos materiales tiende a limitar sus aplicaciones clínicas hacia áreas donde la naturaleza de los esfuerzos sea predominantemente en compresión. (21)

2.3.2. Hidroxiapatita y Biocompatibilidad

La cerámica de fosfato y calcio más utilizada como material biomédico es la hidroxiapatita (HA). Este mineral es el componente más importante de los tejidos óseos y

posee una estructura similar a la fase mineral de dientes y huesos. (22). La fórmula química de la hidroxiapatita es $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Existen diferencias en la composición química de la hidroxiapatita natural y la producida en el laboratorio. La hidroxiapatita sintética estequiometrica contiene 39.9% Ca, 8.5% P y 3.38% OH y tiene una relación calcio/fosfato (Ca/P) estequiometrica de 1.67.

Desde el punto de vista termodinámico, la hidroxiapatita es la única fase estable en el sistema de los fosfatos de calcio en soluciones acuosas bajo condiciones normales. La hidroxiapatita pertenece al sistema $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$. (23)

La hidroxiapatita natural no solo contiene iones de P^- , Ca^{+2} , y OH^- sino que contiene también pequeñas cantidades de CO_3^{-2} , Mg^{+2} , Na^+ y trazas de elementos como F^- , Cl^- y K^+ y la relación calcio/fosforo difiere del valor estequiometrico. En el hueso, por ejemplo, se tiene un 26.7% de Ca^{+2} , 12.47% de PO_4^{-3} , 3.88% de CO_3^{-2} , 0.436% de Mg^{+2} , 0.731 % de Na^+ , 0.055% de K^+ , 0.08% de Cl^- y 0.07% de F^- .

Actualmente el termino hidroxiapatita cubre una amplia gama de estequiometrias. El valor teórico de la relación molar calcio/fosforo de 1.667, sin embargo, se reporta desde 1.62 hasta 1.69. Su composición es un parámetro de suma importancia ya que la biodegradación y el comportamiento mecánico del material, por ejemplo, depende de ella. (24) (25). La hidroxiapatita tiene una estructura hexagonal con los siguientes parámetros de red $a=b=9.42 \text{ \AA}$ y $c=6.88 \text{ \AA}$.

La hidroxiapatita consiste de un esqueleto de tetraedros PO_4^{-3} , dos átomos de oxígeno están en un plano horizontal; los otros dos están en un eje paralelo al eje C. En una celda unitaria los tetraedros PO_4^{-3} están divididos en dos capas, a una altura de $\frac{1}{4}$ y $\frac{3}{4}$ del cristal, respectivamente. (26) (27). Así, la hidroxiapatita permanece estable hasta 1200°C bajo condiciones normales de presión y temperatura, pierde sus iones hidroxilo (OH^-) de forma gradual al transcurrir el tiempo. (28)

La biocompatibilidad de los fosfatos de calcio y de la hidroxiapatita sintética ha sido sugerida no solamente por su composición sino también por los resultados obtenidos en su implantación *in vivo*, los cuales han demostrado la ausencia de toxicidad local o sistémica, sin provocar inflamación como respuesta a un cuerpo extraño. (29).

La naturaleza altamente biocompatible y osteoconductora de la hidroxiapatita la convierte en un material muy atractivo para ser empleado como sustituto del injerto óseo, su uso está limitado a regiones del esqueleto donde no se soportan cargas considerables, dada su naturaleza quebradiza y poco tenaz, valores reflejados en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Valores resistencia del hueso y fosfato de calcio.

Material	Resistencia a la		Módulo de elasticidad (GPa)
	Compresión (MPa)	Tracción (MPa)	
Hueso			
Duro o cortical	137.8	68.9	13.8
Trabecular o esponjoso	41.4	3.5	-----
Fosfato De Calcio			
Denso	208.7-895.7	68.9-192.9	34.5-103.4
Poroso	6.9-68.9	2.48	-----

Por sus propiedades mecánicas la hidroxiapatita no permite construir con ella grandes piezas, más sin embargo, es muy utilizada para la reconstrucción ósea, reconstrucción maxilofacial, el llenado de vacíos dejados por extracciones dentales para evitar la reabsorción ósea posterior, vacíos provocados por diferentes patologías o traumas en tejidos óseos del cuerpo humano.

La capacidad de la hidroxiapatita para promover el crecimiento óseo depende no solamente de su composición química sino también de la presencia de poros. Así, por ejemplo la invasión ósea es favorecida por la presencia de poros mayores de 100 μm . De igual forma mediante el aumento de la porosidad, el área de contacto entre el tejido y el implante se incrementa con lo cual se reduce la concentración de esfuerzos en la interface. (30). La microestructura también juega un papel importante en la degradación del material, se considera que un material totalmente denso es más estable y en cambio los poros son más degradables. Incluso en ocasiones los efectos de la microestructura opacan a los efectos químicos. (31) (32)

2.4. HUESO

2.4.1 Composición

En 1926, los investigadores Gross y Mehmel determinaron que el principal componente inorgánico mineral presente en el esmalte, dentina y en los huesos, es la hidroxiapatita; también encontraron que las principales diferencias entre las hidroxiapatita biológicas y sintéticas están relacionadas con las relaciones de concentraciones calcio/fosforo (Ca/P), con las dimensiones de la celda unitaria y con sus frecuencias de absorción en el espectro infrarrojo. (33)

En el cuerpo humano se encuentran en promedio 780 gr. de fosforo, de los cuales casi el 85% está presente en los huesos como hidroxiapatita. La composición aproximada de los huesos humanos de adulto, después de eliminar el agua es: hidroxiapatita 60%, colágeno 30%, lípidos, proteínas, polisacáridos, etc, 10%.

El hueso está constituido por largas cadenas de proteínas, principalmente de colágeno, reforzadas por un depósito mineral que es mayoritariamente hidroxiapatita. La microestructura del colágeno puede ser descrita en términos de cilindros concéntricos de capas sucesivas de colágeno alrededor de los vasos sanguíneos. (34)

Longitudinalmente a los canales ocupados por los vasos sanguíneos, existen pequeños espacios donde se alojan las células hematopoyéticas y millares de canales. El colágeno a su vez contiene multitud de microcristales de hidroxiapatita. El enlace de compuestos inorgánicos y orgánicos varía según el tipo de hueso, la edad del individuo, etc.

2.4.1. Características estructurales.

En el ámbito macroscópico, el hueso tiene una apariencia densa “hueso duro o cortical” el cual constituye la mayor parte estructural de los huesos largos tales como el fémur, la tibia, etc. También se encuentra en la forma conocida como “hueso trabecular o esponjoso”, mas poroso encontrado en las costillas, pelvis y otros. (35)

En referencia a lo reportado por Gross y Mehmel, las muestras de huesos tienen una relación Ca/P de 1.50 mientras que la estequiometría de la hidroxiapatita pura es de 1.67,

esta diferencia se atribuye principalmente a que el fósforo se encuentra unido a otros cationes.

El crecimiento del hueso involucra la formación inicial de un material amorfo que mediante un proceso sumamente complejo y a temperatura corporal (37°C) cristaliza en forma de agujas dentro de las fibras de colágeno. (36)

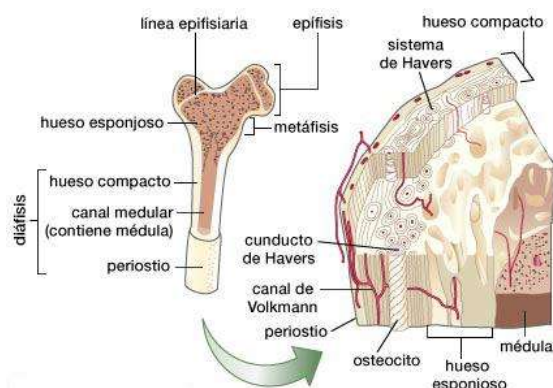


Figura 2.3. Constituyentes del hueso.

El hueso es una estructura compleja que está constituido por fases minerales y orgánicas. La fase orgánica involucra células las cuales se distribuyen mediante canales y estructuras reflejadas en la Fig. 2.3.

En el hueso, la fase mineral está compuesta principalmente de cristales microscópicos de fosfato de calcio donde la hidroxiapatita es la más importante. Otras fases minerales son el fosfato de dicalcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), el fosfato de calcio dibásico (CaHPO_4), el fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) y algunas fases amorfas de fosfato de calcio.

La razón principal por la cual no se utiliza el hueso como implante, se deriva de que este no siempre está disponible en la cantidad necesaria de hueso natural para realizar el implante. (22)

2.4.2. Hueso cortical (Compacto)

Los componentes principales del hueso cortical son la hidroxiapatita mineral, la proteína fibrosa colágeno y agua, también contiene algo de material orgánico que no son colágeno. (37).

2.4.3. Componentes Orgánicos

El componente orgánico principal del hueso es el colágeno, la mayoría es de tipo I, pero hay pequeñas cantidades de Tipo III y Tipo VI, que se encuentra en lugares restringidos.

Lentamente el colágeno calentado se contrae a una temperatura particular dando indicación de la estabilidad de las moléculas. El colágeno en los huesos de hombres tiene una temperatura de contracción alrededor de 61.5– 63.5°C hasta la edad de alrededor de 60 años; pero por arriba de esa edad temperatura de contracción decrece hasta 60° C.

El hueso de mujeres es mucho más variable. Aproximadamente el 10% del material orgánico del hueso no es colágeno, a continuación se enlistan los principales componentes que no son colágeno.

- Osteocalcina (OC), o proteína Gla ósea (BGP): La osteocalcina es una hormona peptídica lineal formada por 49 aminoácidos y producida por los osteoblastos durante la formación ósea, incorporándose dentro de la matriz del hueso. Este péptido tiene una vida media muy corta; se metaboliza en el hígado y el riñón rápidamente. Puede unirse a la hidroxiapatita.
- Osteonectina (ON) o SPARC: La Osteonectina es una glicoproteína ligada del calcio. La Osteonectina también tiene afinidad por el colágeno. Es una fosfoproteína que interacciona con colágeno y sales inorgánicas. Se encuentra en los osteoblastos. Proteína altamente reactiva se localiza preferentemente en las áreas de mayor grado de calcificación.
- Osteopontina (OPN) o Fosfoproteína I secretada (SPPI): La osteopontina también unida a la hidroxiapatita es similar a la fibronectina. Su función es sellar la zona donde actúa el osteoclasto.
- Sialoproteína ósea (BSP): Une osteoblastos y osteocitos a la matriz extracelular.

Las cantidades relativas de esta proteína pueden variar en gran medida. Ninomiya y colaboradores reportaron mucha más Osteocalcina (31 veces) en el hueso cortical (compacto) que en el hueso trabecular (esponjoso) y mucha más Osteonectina (29 veces) en el hueso trabecular que en hueso cortical. (37)

2.4.4. Componentes Minerales

La fase mineral tiene un acomodo parecido a placas, los cristales son muy pequeños 4nm 50nm 50nm. El mineral es una variante de la hidroxiapatita, siendo una variante de fosfato de calcio: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})$. Los cristales son impuros. Particularmente hay alrededor de 4-6% de carbonato que remplazan los grupos fosfatos. Haciendo del mineral técnicamente un carbonato de apatita, dahllita y otras sustancias. (37). Adicionalmente el hueso húmedo tiene una densidad del hueso cortical de 1990 kg/m^3 .

2.4.5. Propiedades Mecánicas, Generalidades y Rigidez

Existe una gran cantidad de valores sobre las propiedades mecánicas del hueso en la literatura. Esto se debe a que los valores son susceptibles a las siguientes cuestiones:

A.- Diferencia en el tratamiento de las muestras. Secar el hueso y volver a humedecer produce algunas pequeñas diferencias, como lo hace la fijación con formalina. Pruebas de huesos seco produce resultados bastante diferentes del hueso húmedo; el hueso seco es más rígido, más fuerte y considerablemente más frágil.

B.- Diferencia de edad y salud de los donadores. La edad puede afectar las propiedades intrínsecas. El hueso osteoporoso difiere del “normal” por el hecho de ser más poroso. Hay evidencia de que el colágeno es diferente de un sujeto no osteoporotico de similar edad. El hueso en pacientes con Ontogénesis imperfecta tiene mayor proporción de colágeno Tipo III y Tipo V, en comparación con el colágeno de tipo I, que es el que se ve en sujetos de huesos normales. El colágeno que se aprecias en huesos de sujetos osteoporoticos es más viejo que el de sujetos normales y tiene diferentes propiedades

C.- Diferencias entre los huesos y su localización. Los huesos del oído (Osículos) y parte de los huesos temporales (Petrosals) son altamente mineralizados y, sin duda, son más

rígidos y más frágiles que los demás (aunque al parecer no han sido investigados en humanos). Los huesos largos presentan diferencias a lo largo de su longitud y alrededor de su circunferencia. El hueso distal es menos mineralizado y más débil en la carga estática a la tracción y a la compresión, y en cualquier nivel de la parte posterior es igualmente menos mineralizado y más débil.

Los valores indicados en la tabla 2.2 presentan valores de esfuerzos de pruebas realizadas en el hueso obtenido a partir de una persona de edad media con ninguna enfermedad. (37)

Tabla 2.2. Valores típicos húmedos de densidades aparente, modulo y fuerza de compresión para el hueso trabecular humano.

Fuente del tejido.	Número y edad de Cadáveres	Número de Muestras	Densidad Aparente Mojada (g/cm^3)		Módulos (GPa)		Carga de ruptura (MPa)	
			Media, SD	Rango	Media, SD	Rango	Media, SD	Rango
Tibia Proximal ⁻¹	9, 59-82	121	0.29, 0.10	0.09-0.66	0.445, 0.257	0.061, 1.174	5.33, 2.93	0.68-14.1
Fémur ⁻²	10, 58-83	299	0.50, 0.16	0.14-1.00	0.389, 0.270	0.044-1.531	7.36, 4.00	0.56-22.9
Espina Lumbar ⁻³	42, 15-87	40	0.24, 0.07	0.11-0.47	0.067, 0.044	0.010-0.180	2.45, 1.52	1.00-7.00
Espina Lumbar ⁻⁴	3, 71-84	231	0.19, 0.08	0.06-0.40	0.023, 0.015	0.001-0.110	1.55, 1.11	0.05-8.00

*Fuente: 1. Linde F. 2- Rohlmann A., Zilch H., Bergman G. y col. 3- Mosekilde L. y Danielsen, CC. 4- Hansson T.H., Keller T.S. y Panjabi M.M.

Hay dos formas de probar huesos: mecánicamente, relacionando las fuerzas en sitios localizados; ultrasónicamente mediante la exposición hueso al ultrasonido y midiendo la velocidad del sonido. Reilly y Burstein dieron valores mecánicos (presentados en la Tabla 2.3), Ashman y colaboradores presentaron mediciones ultrasónicas. Reilly y Burstein asumieron la isotropía transversal (esto se refiere a la simetría alrededor de la longitud axial del hueso), mientras que Ashman y colaboradores asumieron la ortotropía (se refiere a que los valores de la rigidez pueden variar a través de la dirección longitudinal, radial y tangencial del hueso).

Reilly y Burstein proporcionaron valores (reflejados en Tabla 2.3) para el módulo de Young en un número de orientaciones angulares intermedias, pero esto no presenta

mucha uniformidad. Módulo de tensión vs módulo de compresión. Reilly y colaboradores aplicaron pruebas, específicamente en especies de femorales, para determinar si los valores del módulo de Young eran diferentes en tensión y compresión. Ver la Tabla 2.3.

Tabla 2.3. Propiedades Mecánicas de los huesos, autores y obtenciones.

		Tensión en Fémur		Compresión en Fémur
		(Ashman y col.) ortotrópia	(Reilly y Burstein)	(Reilly y Burstein) isotropía transversal
Módulo de elasticidad(GPa):	E ₁	12.0	12.8	11.7
	E ₂	13.4	12.8	11.7
	E ₃	20.0	17.7	18.2
Módulo de cizallamiento (GPa):	G ₁₂	4.5	-	-
	G ₁₃	5.6	3.3	-
	G ₂₃	6.2	3.3	-
Relación de Poisson:	v ₁₂	0.38	0.53	0.63
	v ₁₃	0.22	-	-
	v ₂₃	0.24	-	-
	v ₂₁	0.42	0.53	0.63
	v ₃₁	0.37	0.41	0.38
	v ₃₂	0.35	0.41	0.38

Una prueba pareada de “t” de Student mostro diferencias significativas entre los módulos de compresión y tensión en un nivel de confianza del 95%. Las pruebas estadísticas sobre los datos muestran un intervalo de confianza el 95% para el módulo de compresión superior a 1.72 GPa y para módulos de tensión superior a 0.27 GPa. La huella que genera la carga de deformación muestra que no hay cambio de pendiente entre compresión-tensión y viceversa. (37)

El módulo de flexión para muestras muy pequeñas fue 6.62 GPa. Mientras que el comportamiento de la compresión en cubos proporciona una relación sobre las propiedades de densidad en las especies, usando ρ_a (masa dividida entre el volumen anatómico, g*cm-3) como la variable independiente:

$$\text{Módulo de Young para huesos compactos } \text{Young (GPa)} = 3.3 * \rho_a^{2.4}$$

Los valores superiores de ρ_a de magnitud igual a 1.8 g*cm-3 (1800 Kg*m-3), esta ecuación produce un valor de 13.5 GPa para tal muestra. Un análisis de regresión múltiple

mostro la dependencia de los módulos de Young en la densidad fueron causados por el contacto de la posición en la densidad y eso es, en las especies, el efecto del mineral. (37).

2.4.5. Hueso trabecular (Esponjoso)

El hueso trabecular está constituido principalmente por láminas de hueso, organizadas en paquetes que forman interconexiones irregulares ordenadas en forma de platos y varillas llamadas trabéculas. En promedio estas trabéculas tienen espesores que se encuentran entre el rango de 100-200 micras, esto depende en gran medida del sitio anatómico y la edad del donante. El espacio entre las trabéculas es llenado con medula ósea, la arquitectura de los platos y varillas trabeculares también dependen del sitio anatómico, haciendo del hueso trabecular un material sumamente heterogéneo. La mayoría de las propiedades mecánicas del hueso trabecular dependen, en gran medida, de la densidad aparente definida como el producto de la densidad de las trabéculas individuales, la densidad del tejido y la fracción de volumen presente en la especie. El rango donde se encuentra típicamente la fracción de volumen va desde 0.60 para el hueso trabecular denso a 0.05 para el hueso trabecular poroso. La densidad del tejido (mojado) para el hueso humano trabecular es sumamente constante y se encuentra en el aproximadamente en el rango 1.6-2.0 gr/cm³. Por contraste la densidad aparente (mojada) varía sustancialmente y es típico encontrarla en el rango 0.05-1.0 gr/cm³. Comparándolo con el hueso cortical, el hueso trabecular tiene similar superficie en la relación área y volumen (SVR por sus siglas en inglés, Excluyendo Lagunas y Canales), pero el SVR aumenta de forma no lineal cuando la fracción de volumen es cada vez mayor (VF) en el hueso: $SVR = 8.4 * (VF)^{0.705}$

2.4.5.1. Componentes Orgánicos y Minerales.

Las trabéculas individuales tienen composiciones relativamente uniformes que son similares al tejido óseo cortical pero un poco menos mineralizado y es ligeramente más hidratado que el tejido cortical.

El porcentaje en volumen de agua, componentes inorgánicos y orgánicos para trabéculas hidratadas ha sido reportado como 27%, 38% y 35% respectivamente, donde los valores

precisos dependen de la posición anatómica, edad y salud del donante. En húmedo, seco y ceniza, la densidad aparente para los especímenes desengrasados en el hueso trabecular de la espina lumbar humana, el porcentaje en peso de los componentes inorgánicos, orgánicos y agua para este tejido se pueden calcular que aproximadamente son 54%, 26% y 20% respectivamente. (37)

2.4.5.2. Propiedades Mecánicas: Módulos y Resistencia

El hueso trabecular es linealmente elástico, hasta ceder a la fractura en aproximadamente 1-2%. Después de ceder, puede sostener grandes deformaciones (arriba de un esfuerzo del 50%) mientras todavía mantiene su capacidad de carga. Así el hueso trabecular puede absorber energía sustancial por encima de la falla mecánica. Al ser un sólido poroso de celdas abiertas heterogéneas, el hueso trabecular tiene propiedades mecánicas anisótropas que dependen de la porosidad en el espécimen, así como la arquitectura de las trabéculas individuales. Con el fin de conocer sus propiedades mecánicas, hay que especificar factores tales como el sitio anatómico, la dirección de carga con respecto a la principal orientación de las trabéculas, la edad y salud del donador. El módulo de Young puede variar 100 pliegues dentro de una sola epífisis y en promedio puede variar en un factor de 3, dependiendo de la dirección de carga. Típicamente el modulo del hueso trabecular humano se encuentra en el rango de 0.010-2 GPa dependen de los factores anteriormente mencionados. La resistencia, que es lineal y está fuertemente correlacionada con los módulos, comúnmente se encuentra en el rango 0.1-3.0 MPa. (37)

La relación entre propiedades mecánicas estáticas del hueso trabecular y la densidad aparente varia en diferentes clases de estructuras en el hueso trabecular. Relaciones lineales y leyes de potencia pueden ser usadas para describir la dependencia de los módulos y la fuerza de compresión en la densidad aparente, con los típicos coeficientes de determinación (r^2 valores) en el rango 0.5-0.9. Diferencias en la capacidad de predicción, entre la variación lineal y las leyes de potencia, usualmente son despreciables y el rango de la densidad aparente, que presenta el hueso trabecular, se encuentra en un orden menor de magnitud.

Los valores medidos de la relación de Poisson han sido reportados cerca de cero hasta menores a 1. Poco se sabe acerca de las causas de esta amplia gama. El punto de fallo (rendimiento y ultimátum) del hueso trabecular humano tiene solo una débil dependencia, si acaso, en la densidad aparente y los módulos. Se supone que los valores finales de la fuerza de compresión para el hueso tibial proximal han sido reportadas en aproximadamente $2.0 \pm 0.4\%$. (37).

2.4.6. Deterioro de huesos.

Patologías tales como osteoporosis, osteoartritis y cáncer de hueso son conocidas por afectar las propiedades mecánicas. (37)

La cirugía ortopédica necesita realizar en muchas ocasiones resecciones masivas de tejido óseo (tumores, infecciones, cirugías protésicas, etc.) las cuales producen cavidades óseas extensas debilitadas por las pérdidas del hueso. Estas cavidades presentan una disminución en la resistencia mecánica y por lo tanto con tributarias de complicaciones como la aparición de fracturas patológicas, aflojamiento precoz en la cirugía endoprotésica, etc. Para evitar estas complicaciones se ha recurrido a la utilización de injertos óseos. (20)

2.5. ADHESIÓN

2.5.1. Generalidades

Desde tiempos antiguos, los adhesivos se conocieron y fueron empleados extensamente, lo cual continúa en la actualidad. Existen ejemplos de adhesivos naturales, como es el caso de las telas de araña, de los panales de abejas o de los nidos de pájaros. Se han hallado vestigios del uso de la sangre animal como adhesivo durante la Prehistoria. Los babilonios empleaban cementos bituminosos hacia el 4000 A.C, mientras que los egipcios preparaban adhesivos mediante la cocción de huesos de animales para la adhesión de láminas de madera hacia el 1800 A.C.

El sector de los adhesivos está en crecimiento y su desarrollo será mayor en los próximos años, dado que ofrece rendimientos similares y en ocasiones superiores a los de otras

soluciones para el ensamblaje y el sellado con ventajas en cuanto a costos. La clasificación de uniones se presenta en la Fig. 2.4. Un adhesivo se puede definir como una sustancia capaz de sujetar dos cuerpos mediante la unión de sus superficies.



Figura 2.4. Tipos de uniones

La junta de unión formada, parecida a una o película, puede ser resistente a la tracción mecánica y a la agresión química y ser estable frente a la acción atmosférica, temperatura y tiempos de uso. Se llama sustrato o adherentes a los materiales a unir por medio del adhesivo. (38)

La adhesión es el conjunto de interacciones físicas o químicas en la interfase adhesivo/adherente que dan lugar a la unión (Fig. 2.5). La interfase es la región de grosor finito, menor de $0.1\ \mu\text{m}$, formada entre dos fases diferentes y donde tanto la composición y energía varían continuamente desde el seno de una fase a la otra. (39).

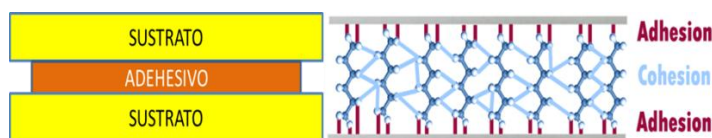


Figura 2.5. Cohesión en la interfase adhesivo/sustrato.

La energía libre de superficie o energía superficial de un sólido permite determinar las interacciones físicas en él y otros sólidos, líquidos y gases. La energía libre de superficie ayuda a interpretar fenómenos como son la mojabilidad y adhesión, los cuales se encuentran íntimamente relacionados con las interacciones intermoleculares que pueden establecerse en la interfase entre la superficie del material y el medio que le rodea. Al contrario de lo que sucede con los líquidos, en un sólido no es posible la determinación

directa de su energía de superficie debido a la falta de movilidad de sus moléculas, por lo cual se deben evaluar las interacciones entre el sólido y diversos líquidos para realizar una estimación de dicha energía superficial. (40).

2.5.2. Clasificación de los Adhesivos.

Una de las clasificaciones más empleadas se basa en el mecanismo de formación de la junta adhesiva. Así, se pueden distinguir dos grandes grupos de adhesivos. Los **adhesivos prepolymerizados**, es decir, aquéllos cuyo polímero ya existía antes de ser aplicado el adhesivo sobre la unión y **adhesivos reactivos**, (descritos y ejemplificados en la Tabla 2.4). Estos últimos se caracterizan porque el adhesivo en estado líquido, viscoso, gel, etc. se halla constituido por monómeros o cadenas oligómeras que polimerizan y/o se entrecruzan durante el proceso de polimerización que ocurre cuando tal adhesivo se ubica entre los sustratos a unir. Dentro de estos grandes grupos se definen diversas subclases:

Tabla 2.4. Clasificación de adhesivos.

Adhesivos	Fase	Condición	Ejemplos
Prepolimerizados	Líquida	Soluciones acuosas	Cementos, las colas o el almidón
		Soluciones orgánicas	Caucho natural
		Emulsiones o líquidas	Adhesivos en base a PVC
Reactivos	Sólida	Piezosensibles	De contacto o las cintas adhesivas.
		Termofusibles o hot-melts	Vinilacetato-etileno
		Curan por poliadicción	Cianoacrilatos, anaeróbicos o acrílicos.
		Curan por policondensación	Los epoxidos o las siliconas

Los principios de la adhesión son comunes a todas las familias adhesivas. Sin embargo, sólo los adhesivos reactivos son capaces de dar soluciones fiables a los problemas de ingeniería. (41)

Los componentes básicos de los adhesivos reactivos son: a) Producto base - mezcla de monómeros, oligómeros y/o polímeros y b) Activos – colorantes, antioxidantes, iniciadores, plastificantes, agentes de "tack" (untuosidad), sustancias fluorescentes, agentes de acoplamiento o promotores de la adhesión, estabilizantes y cargas/espesantes

Los fenómenos que tienen lugar antes de que el adhesivo cure, es decir antes del ensamblaje, tienen un efecto directo sobre la interfase adhesiva de la unión. La adhesión

es un fenómeno superficial que precisa un contacto íntimo entre las fases involucradas. Los factores en esta fase preliminar son dos:

- La relación tensión superficial del adhesivo y la energía superficial del sustrato.
- Las propiedades reológicas del adhesivo antes de curar.

A excepción de los adhesivos piezosensibles (por ejemplo, las cintas adhesivas), el mismo material no cumple ambas funciones a no ser que se produzca un cambio físico-químico en su seno. Este proceso es lo que genéricamente se denomina curado y tiene lugar según diferentes mecanismos:

Mecanismos físicos: sucede en los denominados adhesivos prepolimerizados. 1. Evaporación de un vehículo o solvente que emulsiona o disuelve la base del adhesivo. 2. Paso desde un estado fluido a temperaturas elevadas a un estado sólido a temperatura ambiente, 3. Mecanismos combinados: como ciertos hot-melts que se pre-aplican sobre los sustratos como adhesivos en base solvente y 4. Mecanismos químicos: ocurre en los adhesivos de polimerización durante la unión adhesiva: a. Polimerización por policondensación, b. Polimerización por poliadición, c. Fenómenos de postcurado o reticulación del adhesivo una vez curado y d. Mecanismos combinados: como las cintas adhesivas curables por calor.

El mecanismo de curado afecta fundamentalmente a las características cohesivas del material adhesivo. No existe una teoría unificada que explique el fenómeno en conjunto, sino diferentes modelos que justifican cada caso particular. (42).

2.5.3. Teorías en los Fenómenos de la Interfase.

Básicamente, se pueden distinguir dos tipos de fenómenos en la interfase sustrato-adhesivo: los de tipo físico y los de tipo químico. Las diferentes teorías pueden encuadrarse dentro de esta primera división:

1. Mecanismos físicos: sucede en los denominados adhesivos prepolimerizados.
 - a) Modelo de adhesión mecánica.
 - b) Teoría de la difusión.
 - c) Teoría eléctrica.

2. Fenómenos químicos:

- a) Teoría de la adsorción termodinámica o mojado superficial.

2.5.4. Teorías Modernas

Existen teorías modernas que incluyen los efectos debidos a las propiedades cohesivas del adhesivo y a la aparición de capas débiles en los sustratos.

El modelo de adhesión mecánica es el primero y más antiguo de todos. En este modelo, la adhesión se debe a un anclaje del polímero (adhesivo) en los poros y rugosidades superficiales del sustrato, un ejemplo cotidiano es la unión entre mortero y ladrillos (Fig.2.6). La penetración del adhesivo en la orografía superficial provoca que la zona de contacto real entre los dos materiales sea varias centenas de veces superior a la correspondiente a la superficie aparente de contacto. Así, la rugosidad y porosidad son favorables a la adhesión. Es preciso asegurar una buena humectabilidad del sustrato por el adhesivo, ya que las cavidades no alcanzadas por el adhesivo son puntos potenciales de iniciación de rotura de la unión adhesiva.



Figura 2.6. Adhesión mecánica -Mortero que mantiene juntos los ladrillos.

La teoría de la difusión explicar la adhesión entre polímeros, dada por una interdifusión de las moléculas de los planos superficiales, lo que crea una zona de transición entre el adhesivo y el adherente, la cual sustituye la noción de interfase pura sin espesor por la noción de interfase espesa o densa o "**interface**"(Fig. 2.7). El mecanismo parece ser basado en la migración de las cadenas poliméricas largas que son mutuamente solubles. Este fenómeno está limitado a la autoadhesión, a la adhesión de polímeros compatibles y quizás también a la soldadura termoplástica o con disolvente.



Figura 2.7. Teoría de la Difusión – Adhesión entre polímeros.

La teoría eléctrica compara el sistema adhesivo/sustrato a un condensador plano cuyas placas están constituidas por la doble capa eléctrica que se forma cuando dos materiales de naturaleza diferente se ponen en contacto (Fig. 2.7), como él un polímero -vidrio. La existencia de una doble capa eléctrica es fundamental para explicar los fenómenos de adhesión, pero no puede considerarse un modelo universal, y sólo se puede aplicar a determinados casos particulares. Además, la contribución a la adhesión debida a fuerzas de van der Waals es en algunos casos superior a la procedente de interacciones electrostáticas.

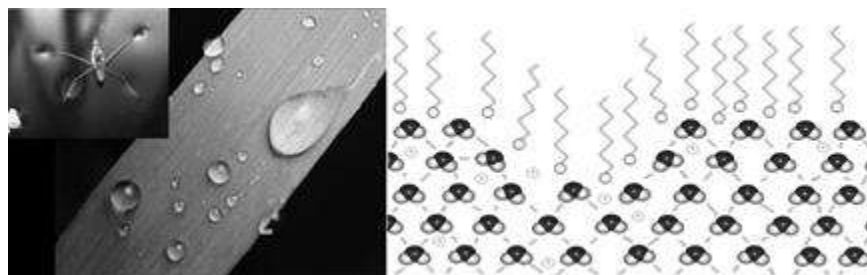


Figura 2.8. La teoría eléctrica – Materiales de naturaleza diferente.

La teoría de la **adsorción termodinámica o mojado** superficial explica muchas de las uniones adhesivas que se realizan habitualmente. Algunos autores apoyan la idea de que al poner en contacto íntimo dos sólidos con o sin difusión se producen fuerzas intermoleculares en la interface que son suficientes para garantizar una adhesión del mismo orden de magnitud, no existiendo por tanto una frontera clara entre difusión y adsorción termodinámica. En esta teoría estas fuerzas se denominan "fuerzas de humectación o mojabilidad" porque cuando se forma una unión adhesiva se pasa por una fase de contacto entre el líquido y el sólido, y este proceso es al fin y al cabo de mojado.

(43)

En general, se distinguen diferentes tipos de fuerzas involucradas en el fenómeno de adsorción: 1. Enlaces secundarios: Fuerzas de van der Waals y Puentes de hidrógeno. 2. Enlaces primarios: Enlace iónico y Enlace covalente

A pesar de su debilidad relativa, los enlaces secundarios generan en la práctica uniones muy fuertes, dado que la superficie es considerable. Los enlaces primarios mejoran la durabilidad de las adhesiones y suelen ser necesarios para la adhesión de materiales cerámicos y vidrio. (43)

2.5.5. Rugosidad Superficial

La rugosidad superficial influye enormemente en la resistencia de la adhesión. La relación exacta entre resistencia, durabilidad y rugosidad superficial es difícil de prever y puede variar entre adhesivos. Superficies rugosas proporcionan un anclaje mecánico para el adhesivo, pero pueden quedar atrapados pequeños volúmenes de aire, causando un mojado incompleto. Es posible que los adhesivos rígidos sean más compatibles con superficies suaves (lisas) que los adhesivos flexibles a causa de la ausencia de puntos de rugosidad que eviten la aparición de puntas de tensión que a su vez podrían actuar como iniciadores de la fractura. Los adhesivos flexibles pueden deformarse bajo tensiones y resistir la rotura o el desgarro, de modo que la rugosidad no es un factor crítico para su uso. (44)

2.5.6. Viscosidad del Adhesivo

La viscosidad del adhesivo debe ser adecuada a la estructura geométrica fina y al estado energético de la superficie. Esto significa que las desigualdades de la superficie deben ser rellenadas y que las capas de adhesivo deben tener un espesor capaz de recubrir las holguras entre los sustratos. De ser así, la totalidad de la superficie podrá participar en la adherencia. (44).

2.6. MÉTODOS DE CARACTERIZACION

El estudio de las superficies poliméricas ha sido de gran importancia para la ingeniería y manufactura, que hasta hace poco tiempo, se mantuvo por estudios empíricos. Hoy en día,

con el desarrollo de nuevos instrumentos y teorías, este campo en la ciencia de los polímeros ha crecido rápidamente para comprender el fenómeno superficial a nivel molecular. (45)

Enseguida se describen las técnicas empleadas para caracterizar los materiales obtenidos, permitiendo conocer morfológicamente por medio de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB), así como estructuralmente utilizando Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier (FTIR). Las pruebas de dureza se midieron mediante Identación Vickers.

2.6.1. Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Esta técnica constituye una de las más empleadas para el análisis de superficies, gracias a que proporciona una imagen visual tridimensional, el análisis cuantitativo es relativamente directo. (45)

Para obtener la imagen por microscopia electrónica, la superficie de una muestra sólida es barrida según un modelo raster con una luz de electrones muy fina. Un raster es un modelo de barrido similar al utilizado en un tubo de rayos catódicos en el que un haz de electrones barre la superficie en línea recta, vuelve a la posición inicial y después es desplazado hacia abajo a una distancia establecida. Este proceso se repite hasta que el área deseada de la superficie ha sido barrida. Al barrer la superficie con una pistola de electrones de energía elevada se producen diversos tipos de señales. Estas señales incluyen electrones retrodispersados y secundarios, además fluorescencia de rayos X y otros fotones de diversas energías. El microscopio electrónico de barrido forma la imagen con los electrones secundarios que se generan en la interacción de la radiación electrónica con una capa superficial y fina de la muestra mediante un proceso de rastreo y los electrones reflejados son atraídos por un detector que proporciona las imágenes topográficas.

Proporcionan información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos que son normalmente necesarias para entender el comportamiento de estas, donde las áreas oscuras indican las zonas de baja reactividad y las áreas blancas a las zonas rugosas y

relieves superficiales. Por lo que la microscopia electrónica es a menudo la primera etapa en el estudio de las propiedades de las superficies de un sólido. (46)

2.6.2. Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier (FITR)

Espectroscopia Infrarroja (IR) trata la parte infrarroja del espectro electromagnético. Esta cubre una forma de espectroscopia de absorción. Así como otras técnicas espectroscópicas, puede usarse para identificar un compuesto e investigar la composición de una muestra. Desde el punto de vista de las aplicaciones es conveniente subdividir el espectro infrarrojo en tres regiones: 1. El infrarrojo cercano. Va de la región de los 14000-4000 cm^{-1} , puede excitar sobretonos o vibraciones armónicas. 2. El infrarrojo medio. Cubre la región 4000-400 cm^{-1} , puede ser usado para estudiar las vibraciones fundamentales y la estructura rotacional vibracional. 3. El infrarrojo lejano. Va aproximadamente de los 400-10 cm^{-1} y se encuentra adyacente a la región de microondas, posee una baja energía y puede ser usado en espectroscopia rotacional.

La mayoría de las aplicaciones analíticas se han restringido al uso de la región del infrarrojo medio comprendido de 4000 a 400 cm^{-1} . (46)

Para que exista la absorción en el infrarrojo, las vibraciones moleculares deben producir un cambio en el momento dipolar del enlace. Mientras más polar sea el enlace será mayor la intensidad de su absorción y viceversa. Se observaran bandas intensas para las vibraciones entre dos átomos con mucha diferencia en sus electronegatividades tales como el C=O. Las vibraciones simétricas que ocurren sobre un centro de simetría molecular son inactivas en el infrarrojo, porque el enlace no es polar. Así, grupos como C-C, C=C, O-O son semi-simétricos (los dos átomos son iguales) y mostraran absorciones débiles o muy débiles; en perfecta simetría no se observara ninguna señal. Pero, se observaran absorciones fuertes para grupos C-O, C-N, O-H, N-H, C=O, etc. Cada enlace diferente que cubra estas características dará lugar a una o varias señales en el infrarrojo, debido a estiramiento y a la deformación. La intensidad de la absorción depende de la diferencia de carga entre los átomos del enlace. Un enlace polar absorberá fuertemente, un poco polar débilmente, dos átomos con carga idéntica no absorben. La posición de la

absorción depende del tipo de átomos que forman el enlace, de la fuerza de este y del cambio ocurrido (estiramiento o deformación). (46).

El FTIR utiliza un interferómetro para medir un espectro. La luz infrarroja va desde la fuente incandescente hasta un separador de luz luminoso, una parte atraviesa el separador y otra es reflejada. La luz reflejada incide sobre un espejo estacionario, mientras que la transmitida incide sobre un espejo que se mueve a velocidad constante. Los rayos retornan de los espejos al separador y crean un modelo de interferencia denominado interferograma, que llega al detector. El interferograma se encuentra en el dominio de tiempo, que corresponde a la energía registrada por el detector cuando se mueve el espejo a través de la señal. Un algoritmo computacional llamado transformada de Fourier, convierte el dominio de tiempo en el espectro de dominio de frecuencia, el cual permite ver la intensidad de la absorción como una función de la frecuencia (o de longitud de onda) (7) (47) (48).

2.6.3. Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de rayos X es uno de los fenómenos que se producen al interaccionar un haz de rayos x, de una determinada longitud de onda, con una sustancia cristalina. La difracción de rayos X se basa en la dispersión coherente de rayos X por parte de la material (se mantiene la longitud de onda de la radiación) y en la interferencia constructiva de las ondas que están en fase y que se dispersan en determinadas direcciones del espacio.

El fenómeno de la difracción puede describirse con la Ley de Bragg, que predice la dirección en la que se da interferencia constructiva entre haces de rayos X dispersados coherentemente por un cristal:

$$n\lambda = 2 * d * \text{Sen}\theta$$

La difracción de rayos X en muestras policristalinas permite abordar la identificación de fases cristalinas puesto que todos los sólidos cristalinos poseen su difractograma característico, tanto en su aspecto cualitativo como cuantitativo. Los estudios de polimorfismo, transiciones de fases, y soluciones solidas, medida del tamaño de partícula,

determinación de diagramas de fase, etc., se realizan habitualmente por difracción de rayos X.

2.6.4. Dureza Vickers.

La dureza es una prueba mecánica que proporciona una medida de la habilidad del material para resistir la deformación bajo una carga aplicada.

Durante las mediciones estandarizadas de dureza Vickers se hace penetrar un indentador de diamante en forma de pirámide de cuatro caras con un ángulo determinado en el vértice (Fig. 2.8). La utilización de una pirámide de diamante tiene las siguientes ventajas:

1. Las impresiones resultan bien perfiladas, cómodas para la medición.
2. La forma de la impresión es geoméricamente semejante, por lo cual la dureza para un mismo material es constante, independientemente de la magnitud de la carga.
3. La dureza con la pirámide coincide con la dureza Brinell para los materiales de dureza media.
4. Este método es aplicable con igual éxito para los materiales blandos y duros.

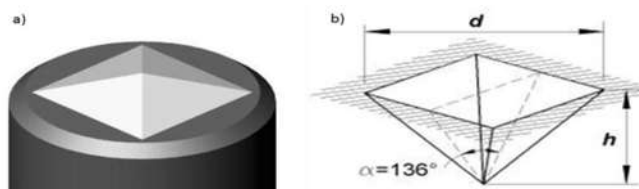


Figura 2.9. a) Identador piramidal Vickers, b) Impresión piramidal de dureza Vickers.

2.7. SIMULACIÓN MOLECULAR

El modelado y simulación molecular son términos generales que engloban métodos teóricos y técnicos computacionales para imitar el comportamiento de moléculas y predecir la estructura tridimensional así como las propiedades fisicoquímicas de las moléculas. Los métodos de simulación molecular son usados para investigar la estructura, dinámica y termodinámica de sistemas inorgánicos, biológicos y poliméricos. Esta técnica permite reducir tiempos y costos de investigación cuando se busca realizar síntesis de compuestos con posibilidades de aplicación en diversas áreas químicas y biológicas. Se ha demostrado que el modelado molecular es una poderosa herramienta en la caracterización

de una gran cantidad de sistemas químicos. Muchas propiedades se pueden calcular con una precisión que es comparable a la capacidad experimental. La simulación de propiedades es especialmente importante para sistemas que son difíciles de estudiar experimentalmente, debido a su limitada solubilidad en solventes comunes. En otros casos, el experimento en sí mismo, puede ser difícil ya sea debido a la sensibilidad para preparar la muestra o a las ambigüedades en la interpretación de resultados. (49)

Accelrys Materials Studio es un programa computacional de modelado y simulación, diseñado principalmente para líneas de investigación en química, materiales y desarrollo de farmacéuticos. Provee soluciones y aplicaciones para el estudio de materiales, estructura de cristales y procesos de cristalización, catálisis, propiedades de polímeros y relación estructura-actividad de las moléculas. (50)

Accelrys Materials Studio ha sido muy empleado para la simulación de biomacromoléculas, así como para biopolímeros. (51).

2.7.1. Calculo de enlaces Puente de Hidrogeno.

El enlace puente de hidrógeno es una atracción que existe entre un átomo de hidrógeno (carga positiva) con un átomo de O, N o X (halógeno) que posee un par de electrones libres (carga negativa).

“Calculating hydrogen bonds” esta herramienta, usa los criterios asignados a los puentes de hidrogeno, estos criterios son la distancia entre el hidrogeno y el átomo aceptor; y el ángulo entre el donador, el hidrogeno y el aceptor.

2.7.2. Calculo de enlaces de contacto.

La herramienta “Calculating close contacts” permite identificar los contactos cercanos entre pares de átomos en la estructura. Los criterios usados para calcular los contactos son la distancia y la suma de los radios atómicos. Los cálculos son realizados de acuerdo a las condiciones características de los enlaces Van der Waals, Slater, Metálico, Iónico y Covalente. Estas características se encuentran en la base de datos del programa con las cuales se realizan cálculos cuánticos.

2.7.2.1. Fuerzas Van der Waals.

Las atracciones por Van der Waals son fuerzas atractivas o repulsivas intra-moleculares o entre moléculas distintas. Estas fuerzas son relativamente débiles en comparación con los enlaces químicos. Estas fuerzas intramoleculares tienen contribuciones importantes. En general un potencial intermolecular tienen un componente repulsivo y uno atractivo, este último contiene las siguientes contribuciones:

1. Interacción electrostática o interacción Keesom.
2. Inducción o polarización electroquímica.
3. Fuerza de dispersión de London. Opera entre cualquier par de moléculas sin importar su simetría a distancias de radio Van der Waals.

2.7.2.2. Reglas Slater.

En química cuántica las reglas de Slater proporcionan valores numéricos de carga nuclear efectiva. En cualquier átomo, cada electrón experimenta una carga nuclear menor, debido al efecto pantalla de los otros electrones. Así, para cada electrón, las reglas de Slater proporcionan un valor para la constante de apantallamiento que relaciona las cargas nucleares efectivas y reales.

2.7.2.3. Enlaces Metálicos.

El enlace Metálico se da entre elementos de electronegatividades bajas y muy parecidas, en estos casos ninguno de los átomos tiene más posibilidades que el otro de perder o ganar los electrones. La forma de cumplir la regla de octeto es mediante la compartición de electrones entre muchos átomos. Se crea una nube de electrones que es compartida por todos los núcleos de los átomos que ceden electrones al conjunto. Este tipo de enlace se produce entre elementos poco electronegativos (metales). Los electrones que se comparten se encuentran deslocalizados entre los átomos que los comparten. Mantiene unida la fuerza de atracción entre las cargas positivas de los núcleos y las cargas negativas de la nube de electrones.

2.7.2.4. Enlaces Iónicos

Es el enlace que se da entre elementos de electronegatividades muy diferentes. Se produce una cesión de electrones del elemento menos electronegativo al más electronegativo y se forman los respectivos iones positivos (los que pierden electrones) y negativos (los átomos que ganan los electrones). Este tipo de enlace suele darse entre elementos que están a un extremo y otro de la tabla periódica. Es decir, el enlace se produce entre elementos muy electronegativos (no metales) y elementos poco electronegativos (metales). No, se forman redes cristalinas (ordenadas). Por tanto, los iones que se forman con este enlace no forman moléculas aisladas sino que se agrupan de forma ordenada en redes en las que el número de cargas positivas es igual al de cargas negativas, compuesto es neutro.

2.7.2.5. Enlaces Covalentes

Es el enlace que se da entre elementos de electronegatividades altas y muy parecidas, en estos casos ninguno de los átomos tiene más posibilidades que el otro de perder o ganar los electrones. La forma de cumplir la regla de octeto es mediante la compartición de electrones entre dos átomos. Cada par de electrones que se comparten es un enlace. Este tipo de enlace se produce entre elementos muy electronegativos (no metales). Los electrones que se comparten se encuentran localizados entre los átomos que los comparten. Estos enlaces forman moléculas como tales en el caso de las sustancias moleculares. Si los átomos que se unen con enlace covalente forman 'sólidos covalentes' o 'redes covalentes', no se tienen moléculas como tales entidades que se puedan aislar.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Reactivos y Materiales

Quitosano (Chitosan, Quitosane, QT, $C_{12}H_{24}N_2O_9$, No. CAS 9012-76-4). Sigma-Aldrich, peso molecular medio, $M_w=310000$ g/gmol, %DA=75-85%, viscosidad 200 000 centipoises (cps). Polvo color amarillo pálido, inodoro, soluble en ácidos acuosos diluidos. Biodegradable, no representa daño potencial a la salud. Se conserva en lugar seco a temperatura ambiente y se emplea sin tratamiento previo.

Ácido acético (*Acetic acid*, AC, CH_3CO_2H , No. CAS 64-19-7). Sigma-Aldrich, peso molecular 60.05 g/gmol, pureza $\geq 99.7\%$. Líquido incoloro, volátil, aroma característico, soluble en agua. Temperatura de ebullición $118.30^\circ C$, densidad relativa 1.05. Se mantiene almacenado en un lugar seco, y a temperatura ambiente.

Hueso animal. Piezas de huesos con restos orgánicos. Adquiridas en Morelia, Michoacán, México. Provenientes de la cadera de una vaca (hembra). Edad: aproximadamente 30 meses: Raza: Angus: Peso de 275 Kg. Alimentación: Pastizales.

3.2 Formación de Películas de Quitosano

Las películas de QT se generaron mediante el vaciado sobre vidrio de una solución filmogénica conteniendo QT.

Solución filmogénica. Esta fue obtenida al agregar el QT al ácido acético, para después, agitar la solución por 1 hora. Al término de este, se obtuvo una solución homogénea y transparente. Los valores de concentración del QT en la solución filmogénica se indican en la Tabla 3.1.

Obtención de películas de QT. Para la formación de las películas, la solución filmogénica fue vaciada en placas de vidrio de igual tamaño. Una vez que el solvente fue evaporado, las películas fueron llevadas a peso constante. Esto se realizó mediante repetidas mediciones en ciclos que comprendan la introducción-extracción de la película de un horno con presión y temperatura controlada. La temperatura fue fijada a $50^\circ C$ y la presión a 18 in Hg (tiempo promedio del proceso 30 hrs).

Tabla 3.1 Etiquetado de Películas de QT en relación al QT/AC.

Etiqueta de Películas	% en peso de QT	Molaridad (M) de la Solución de AC	PH de la solución	PH de la solución con QT
1.17QT	1	0.1666	3.05	4.59
1.20QT	1	0.1999	3.03	---
1.25QT	1	0.2499	3	---
1.30QT	1	0.3334	2.89	4.63
3.17QT	3	0.1666	3.05	4.9
3.20QT	3	0.1999	3.03	---
3.25QT	3	0.2499	3	---
3.30QT	3	0.3334	2.89	4.69
5.17QT	5	0.1666	3.05	---
5.20QT	5	0.1999	3.03	---
5.25QT	5	0.2499	3	---
5.30QT	5	0.3334	2.89	---
7.17QT	7	0.1666	3.05	6.51
7.20QT	7	0.1999	3.03	---
7.25QT	7	0.2499	3	---
7.30QT	7	0.3334	2.89	5.58

3.3 Preparación de monolitos de hueso animal

Las piezas de huesos adquiridas contenían restos orgánicos, como músculos y tendones (tejidos). Así, se requirió de una remoción intensa de la fase orgánica hasta obtener una fase inorgánica o mineral única (hueso puro). El procedimiento se indica a continuación:

- A. Remoción de tejidos. Cuidadosamente mediante instrumentos de corte fueron removidos los tejidos que contenía el hueso, hasta obtener un hueso limpio.
- B. Remoción de trazas orgánicas. Los hueso limpios, se depositaron en un recipiente de vidrio que contenía una solución acuosa sobresaturada de óxido de calcio (CaO). Esta solución se llevó a ebullición (100°C) por un periodo de 24 hrs, con un nivel de agua constante. Al término del proceso, se obtuvieron huesos con una superficie blanca.

- C. Obtención de monolitos de hueso. Las piezas del hueso se fracturaron en dos partes, con lo cual se obtuvo una fase porosa expuesta, contenida en el interior del hueso. Posteriormente, de manera consecutiva se realizaron varios cortes hasta obtener monolitos del tipo compacto y poroso con un tamaño promedio de centímetros.
- D. Secado de monolitos de hueso. Para eliminar restos de agua que se encontraban dentro de la estructura porosa y compacta, los monolitos se sometieron a un proceso de secado hasta peso constante a 16 in Hg y 60 °C durante 48 hrs.
- E. Pulido del Monolito y preparación. El tratamiento previo para la muestra fue soportar el monolito en resina comercia, previamente catalizada, posteriormente pulir la pieza hasta un pulido espejo con papel lija de 4 diferentes tamaños 40, 80,180 y 300 micras.
- F. Lavado y inmersión. Después del pulido se realizó un lavado ultrasónico para liberar la pieza de residuos provenientes del papel lija. Terminado lo anterior los monolitos fueron secados (apartado D). Una vez obtenida la pieza limpia y seca se realizó el proceso de inmersión en solución filogénica y el secado.

3.4 Recubrimientos y Secado de Monolitos

Las inmersiones para el recubrimiento de los monolitos porosos y compactos fueron lentas para reducir o eliminar el aire atrapado dentro de los poros y superficie del hueso, evitando con ello la presencia de aire ocluido entre la interfase recubrimiento/hueso.

Tabla 3.2 Etiquetado de Monolitos recubiertos con soluciones filmogénicas de QT.

Etiquetado del Monolito	Monolito
P 1.17	Poroso
P 1.30	Poroso
P 3.17	Poroso
P 3.30	Poroso
P 7.17	Poroso
P 7.30	Poroso
C 3.17	Compacto
C 3.30	Compacto

Recubrimiento de Monolitos. Las inmersiones para el recubrimiento de los monolitos fueron llevadas a cabo en soluciones filmogénicas de 50 mL, empleando un equipo de inmersión programado a una velocidad de inmersión de 20 mm/s, con un tiempo de residencia de 5 seg y un número de repeticiones de cuatro. Los monolitos obtenidos se muestran en la Tabla 3.2.

Secado de Monolitos. Posterior a la inmersión, los monolitos se sometieron a un proceso de secado en un horno Fisher a 50°C con un nivel de vacío de 18 in Hg durante 24 hrs.

3.5 Técnicas de caracterización.

Los materiales obtenidos en forma pura, así como integrados, se analizaron mediante: Espectroscopia por Infrarrojo, Microscopia Electrónica de Barrido, Difracción de rayos X y pruebas Microindentación Vickers, con el propósito de valorar la compatibilidad funcional, las características superficiales, orientación molecular e interface que se presentan en las matrices QT, y fases QT/hueso respectivamente.

3.5.1 Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La caracterización por FTIR se llevó a cabo directamente por ATR, sin tratamiento previo, a temperatura ambiente y presión atmosférica; utilizando un equipo FTIR TENSOR 27 BRUKER, rango de número de onda de 400 a 4000 cm^{-1} . Las muestras a analizar fueron monolitos de hueso con un peso aproximado de 2 g recubiertos con quitosano; posteriormente se colocaron en el equipo de tal forma que se incidiera la luz en la cara recubierta. Una vez obtenida la señal se eliminó cierta cantidad de ruido aproximadamente un 60% de ruido.

3.5.2 Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)

Se empleó esta técnica para analizar la superficie de las películas, los monolitos, y la integración de ambos materiales. La herramienta de caracterización es un MICROSCOPIO JEOL modelo JSM 5300 con resolución de 100 nm y magnificación máxima de 300000 X. El tratamiento previo fue un recubrimiento con grafito de aproximadamente 1 hora, con el propósito de mejorar la resolución de las micrografías.

3.5.3 Difracción de Rayos X.

Se utilizó la técnica de difracción de rayos X para identificar las fases cristalinas presentes, el equipo utilizado fue un Difractómetro de rayos X Bruker D8 Advance con óptica primaria de Espejo de Göbel y detector de centelleo; los parámetros utilizados en el generador fueron 40 kV y 40 mA, ocupando $\theta = 1^\circ$ y un barrido en 2θ de 10 a 100° con un tamaño de paso de 0.02° en un tiempo de 1 s, utilizando una rejilla de apertura de 1 mm. La longitud de onda utilizada fue Cu $k_{\alpha 1}$ de 1.5406 Å. Para realizar la identificación de las fases presentes se utilizó la base de datos Powder Diffraction File (PDF-2) del International Center Diffraction Data (ICDD).

3.5.4 Microindentación Vickers

Esta técnica empleada, se llevo a cabo en un equipo LEITZ WETZLAR modelo 7756. Constituido de un indentador de diamante con geometría de pirámide; un microscopio con micrómetro transversal; un revolver-objetivo; un porta-muestras.

La muestra se colocó horizontalmente sobre el porta-muestras para enfocar y visualizar, mediante el microscopio la zona a indentar. Manualmente se gira el revólver-objeto para activar la función del indentador de diamante y orientarlo hacia la zona de descarga. La Microindentación se efectuó sobre la muestra durante 5 segundos, con una carga aplicada (P) que no induzca al micro agrietamiento (0.025 Kgf). El indentador se removió de la zona, activando nuevamente la función del microscopio; se midió la diagonal de la huella del indentador promedio (d) de la huella resultante; el dato de (P) en conjunto con el dato (d) determina la microdureza (H). Los datos reportados fueron el promedio de 7 ensayos realizados por muestra.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

SECCION UNO: Películas de QT

4.1 Apariencia Física

La Figura 4.1, muestra las películas de QT, que fueron obtenidas por vaciado a partir de la solución filmogénica (Tabla 3.1).

1. Al incrementarse la concentración de QT (hacia arriba) las películas mostraban: a)- un cambio de color de blanco a un café intenso, b)- una menor transparencia, c)- un incremento de rigidez y d)- la presencia de aire ocluido en el interior de la película.
2. Al incrementarse la acidez de la solución filmogénica (hacia la derecha) las películas revelaban: a)- con baja concentración de QT, no diferencias de color, b)- ningún cambio en la transparencia, c)- un incremento en la rigidez y d)- con alta concentración de QT mayor presencia de aire ocluido.

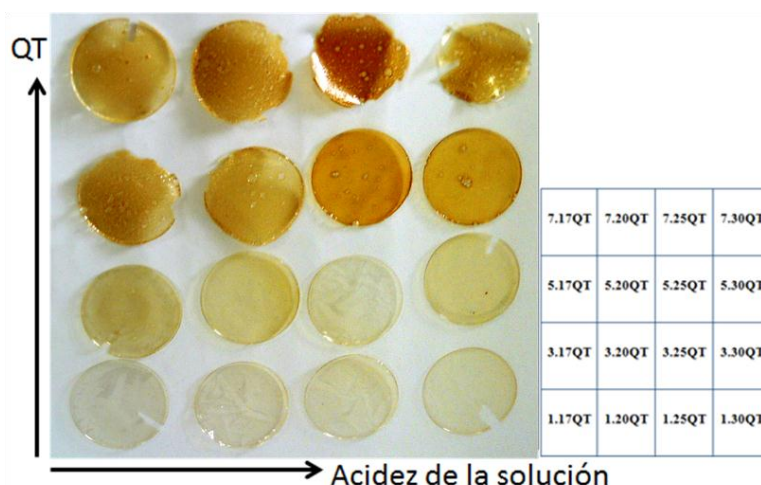


Figura 4.1 Películas de QT. Hacia arriba incremento del QT. A la derecha decremento del pH (mayor cantidad de ácido acético empleado).

4.2 Caracterización por FTIR de películas

Todas las películas de QT fueron analizadas por FTIR, considerado principalmente dos momentos dipolares: HO- y C=O a un número de onda cercana a 3500 y 1700 cm^{-1} respectivamente.

4.2.1 Acidez Variable vs Concentración de QT Constante

A). 1 wt% de Quitosano

En el análisis se mantiene constante la concentración del QT, siendo la acidez la variable respuesta (por un aumento de la molaridad del AC). La Figura 4.2 y 4.3 muestra la película de QT etiquetada como 1.17QT, 1.20QT, 1.25QT y 1.30QT. Primero se considera que los espesores de las películas son iguales (dado que se utilizó peso constante de QT, 1wt%) y que la película no presenta burbujas.

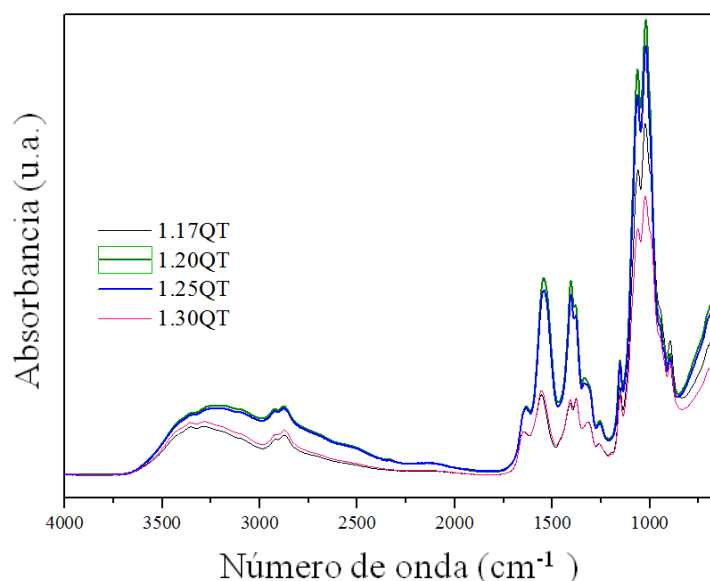


Figura 4.2 Comparativo FTIR de películas de QT: Peso constante del QT (1wt%) e incremento de la acidez de la solución de AC.

En la Figura 4.3, se observa inicialmente que al incrementar la acidez del disolvente (solución de AC), se incrementa la absorción de las bandas, lo que posteriormente se invierte. Así, se registran absorciones máximas en las películas intermedias 1.20QT y 1.25QT, y mínimas en los extremos 1.17QT y 1.30Q.

En las películas 1.20QT y 1.25QT existe (Figura 4.3): 1) un ensanchamiento de la banda HO- (H- enlazado, $3400-3200\text{ cm}^{-1}$), y 2) un desplazamiento de los picos del C=O. Esto sugieren la presencia de mayores enlaces intra- e inter-moleculares. Esto ofrece arreglos de cadenas mejor orientadas y más estables, con lo cual se mejora la resistencia físico-química de las cadenas y de la película.

Dado lo anterior, la concentración del ácido empleado generó un efecto más positivo sobre las muestras 1.20QT y 1.25QT. Siendo escasamente mayor para 1.20QT.

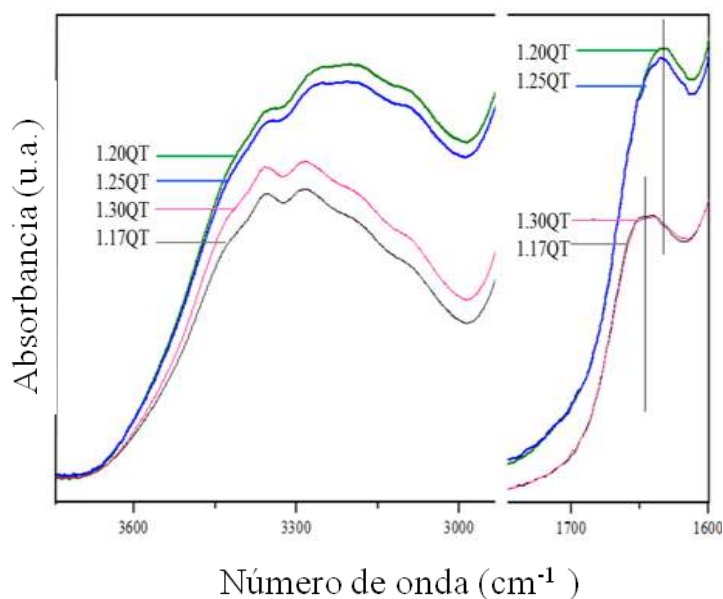


Figura 4.3 Ensanchamiento de la banda del OH y desplazamiento del pico del C=O (1wt%) por incremento de acidez.

B). 3 wt% de Quitosano

La figura 4.4 muestra una película con 3 wt% en peso de quitosano y preparada a una molaridad de AC variable. En esta Figura se puede notar un nuevo arreglo de absorciones con el incremento en la concentración de QT de 1 a 3 wt%.

Se consideran nuevamente películas con espesores iguales y sin presencia de burbujas ocluidas. De mayor a menor las absorciones son: 3.20QT (con HO-), 3.30QT (con C=O), 3.25QT y 3.17QT.

Considerando el acercamiento en la Figura 4.5, las películas ensacharon sus bandas (área bajo la curva) respecto al HO en el siguiente orden: 3.25QT, 3.30QT, 3.25QT y 3.17QT. Por su parte, el C=O, presentó una ligera inter-acción molecular con motivo del incremento de la concentración del AC. Esto es evidente para las películas 3.30QT, 3.20QT, 3.25QT.

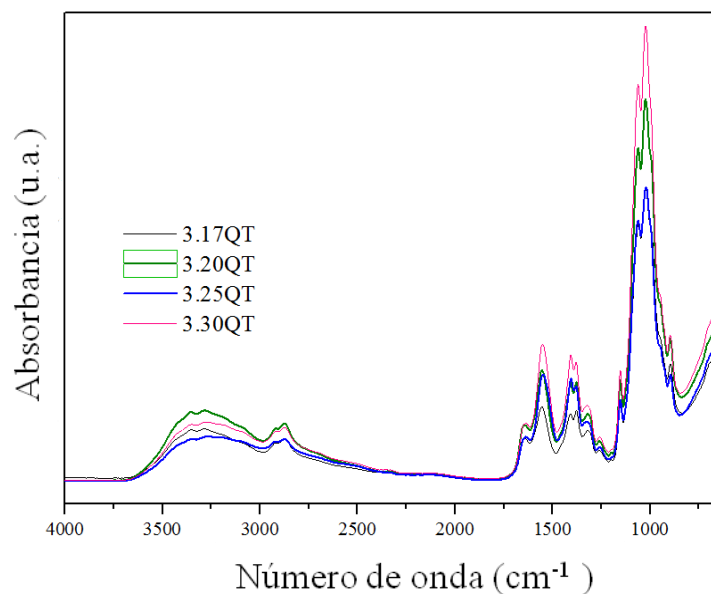


Figura 4.4 Comparativo FTIR de películas de QT: Peso constante del QT (3wt%) e incremento de la acidez de la solución de AC.

De lo anterior se establece que una mayor cantidad de ácido es requerido para disolver un mayor número de cadenas de QT. La cantidad de ácido empleado fue más apropiada para disolver la película 3.25QT, en virtud del mayor ensanchamiento de banda.

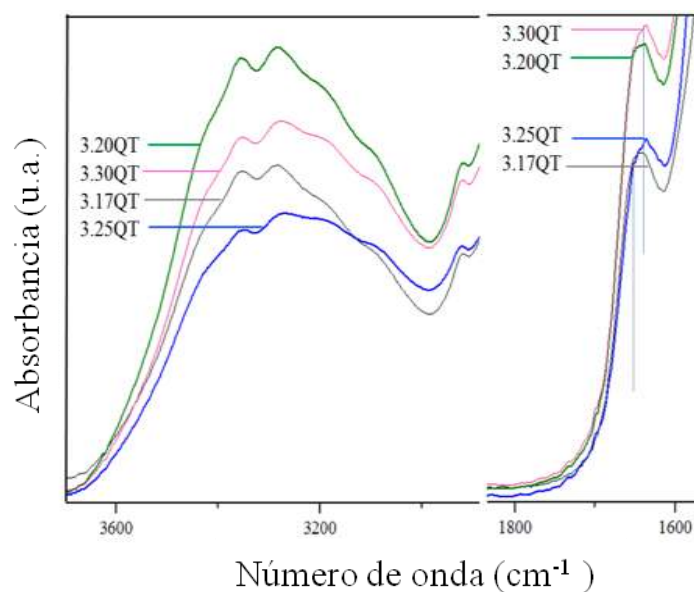


Figura 4.5 Ensanchamiento de la banda del HO (3wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.

C). 5 wt% de Quitosano

La Figura 4.6 muestra una película de QT con 5 wt% de QT, preparada a una molaridad variable de AC.

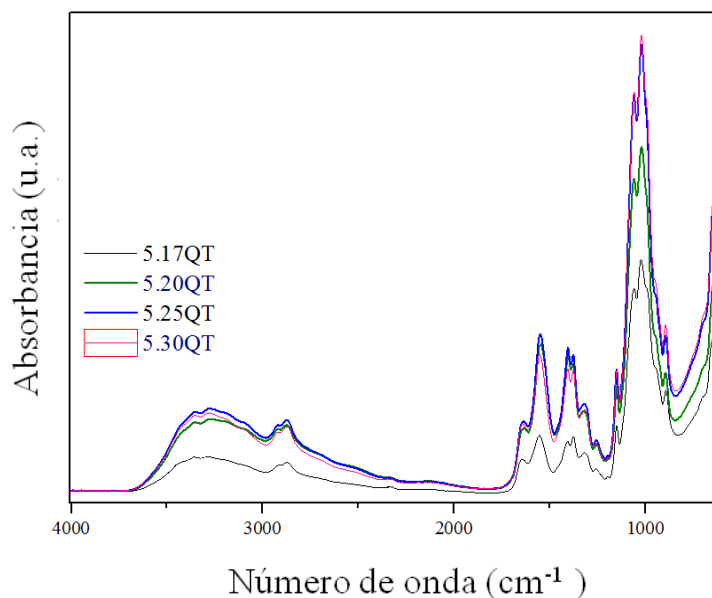


Figura 4.6 FTIR de películas de QT (5wt%) con incremento de la acidez de la solución.

En esta Figura 4.6 se aprecia el arreglo de absorciones siguiente: 5.25QT, 5.30QT, 5.20QT y 5.17QT por el incremento en la concentración del QT.

En la Figura 4.7, se observan los ensanchamientos de la curva en $3500\text{--}300\text{cm}^{-1}$, que en orden decreciente es: 5.25QT, 5.30QT, 5.20QT y 5.17QT. Esto indica que hay una tendencia a las asociaciones por OH derivado de un aumento del AC.

En la Figura 4.7, lado derecho se observan modificaciones por cambio de tensión del grupo C=O , tres películas muestran una alta proximidad 5.25QT, 5.30QT y 5.20QT, lo que indica que registraron tensiones semejantes a las observadas en los grupos OH's. Estas tensiones indican la presencia de enlaces inter- e intra-moleculares y de un mejor reacomodo de las cadenas.

Una particularidad de las películas de esta serie (5.17QT...) es la presencia de burbujas ocluidas. Esto se debió a la degradación del quitosano lo que generó la presencia de CO_2 . La degradación del QT, se ve favorecida por el ataque localizado que realizan los ácidos

en moléculas con bajo movimiento, como consecuencia del incremento en la viscosidad generado por una alta concentración de QT en la solución.

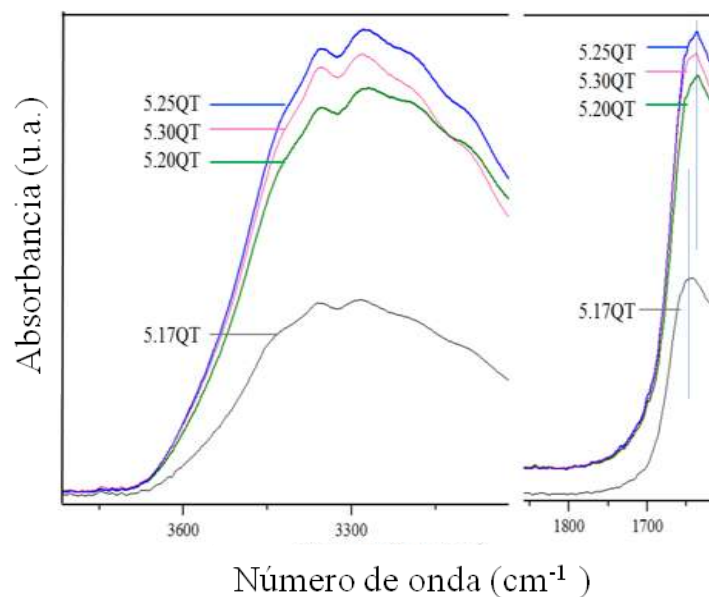


Figura 4.7 Ensanchamiento de la banda del HO (5wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.

En la Figura 4.8 se observa el cambio de color de las películas de QT, así como la presencia de poros. La película 5.20QT presenta la mayor homogeneidad de color y de superficie (más plana). Lo anterior, revela que la anterior concentración de AC fue más favorable para disolver a las cadenas de QT.



Figura 4.8 Cambio de coloración/porosidad de películas de QT (5wt%) acidez.

D). 7 wt% de Quitosano

La Figura 4.9 muestra películas de QT con 7wt% de QT, preparada a una molaridad variable de AC.

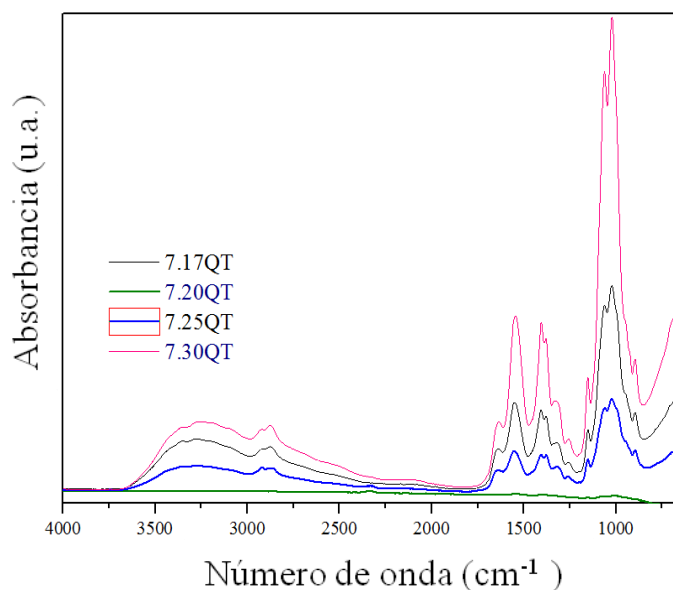


Figura 4.9 FTIR de películas de QT (7wt%) con incremento de la acidez de la solución.

En esta Figura 4.9 se valora el arreglo de absorciones siguiente: 7.30QT, 7.17QT, 7.25QT, y 7.20QT por el incremento en la concentración del QT. Así, solo los extremos de las concentraciones de acidez ofrecen 7.30QT y 7.17QT las máximas absorciones.

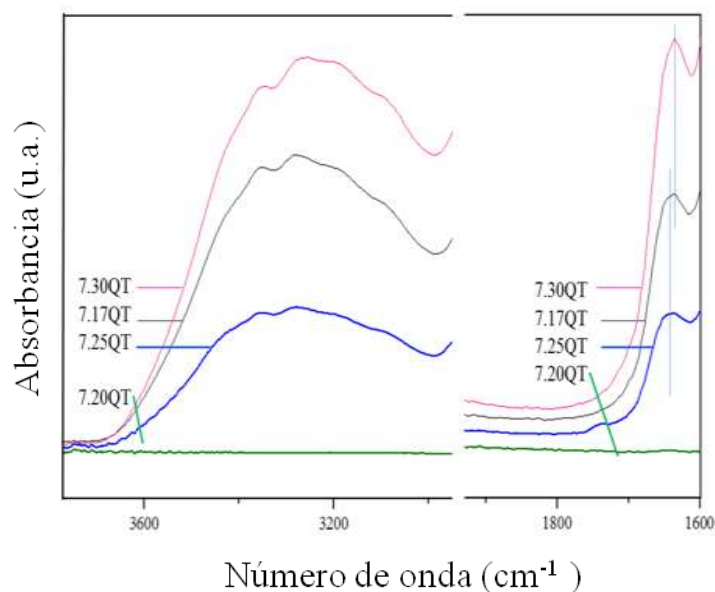


Figura 4.10 Ensanchamiento de la banda del HO (7wt%) y desplazamiento del pico de C=O por incremento de la acidez.

Adicionalmente la Figura 4.10 muestra que al incrementarse la concentración del QT, se visualiza una mayor amplitud de banda (área bajo la curva) para la película 7.25QT. Esto

indica, que una concentración alta de AC es requerida para obtener las asociaciones intra e intermoleculares.

La Figura 4.11 se observa el cambio de color de las películas de QT, así como la presencia de aire ocluido. La película 7.17QT presenta la mayor homogeneidad de color y de superficie. Por lo anterior se deduce que la concentración de AC 0.17M es, mas favorable para la disolver 7wt% de QT.



Figura 4.11 Cambio de coloración/porosidad de películas de QT (5wt%) acidez.

Las señales características adicionales del QT y que no fueron consideradas en el presente análisis y se indican en la Tabla 4.1.

Tabla 4.1 Señales características de IR del QT, observadas en películas preparadas mediante disolución en AC.

Numero de Onda (cm^{-1})	Grupo funcional
3350	Vibración de tensión -OH
3275	Vibración -NH
2925	Vibración simétrica -CH ₃
2875	Vibración -CH ₃
1639	Vibración de tensión -NH
1545	Vibración -NH ₂
1404	Vibración de deformación asimétrica -CH ₂
1152	Vibración de tensión simétrica C-O-C
1061	Vibración de tensión asimétrica C-O-C
1022	Vibración de tensión C-O-C

4.2.2 Concentración de QT Variable vs Acidez constante

A). Solución de AC 0.17 molar.

La figura 4.13 muestra la película de QT etiquetada como 1.17QT, 3.17QT, 5.217QT y 7.17QT. Con acercamientos en las bandas OH desplazamientos del pico C=O.

Inicialmente se observa que para la banda OH ($3600\text{-}3500\text{cm}^{-1}$), existe un nivel de absorción de mayor a menor en el siguiente orden: 7.17QT, 3.17QT, 1.17QT y 5.17QT. Por su parte, la máxima amplitud de la banda (un ensanchamiento de la banda HO-) es para 5.17QT, seguida por la 7.17QT.

Segundo, para la señal de C=O se observa que existe un nivel de absorción de mayor a menor en el siguiente orden: 1.17QT, 3.17QT, 7.17QT y 5.17QT. Por su parte, la máxima amplitud de la banda es para 5.17QT, seguida por la 7.17QT.

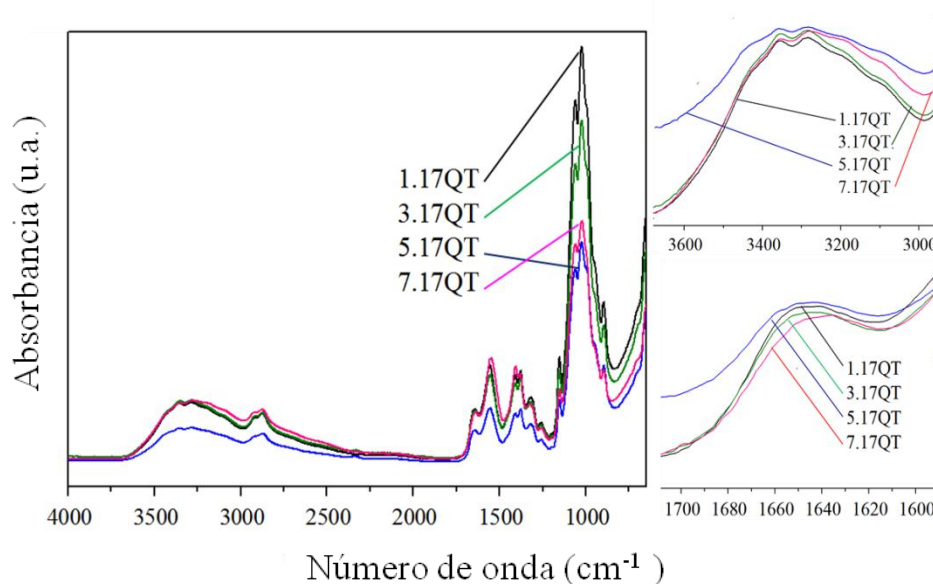


Figura 4.12 FTIR de películas de QT (0.17 M) con incremento de wt% de QT.

Lo anterior, sugieren la presencia de mayores enlaces intra- e inter-moleculares para el caso de las máximas concentraciones de QT que son 5.17QT y 7.17QT.

Así existe un incremento interacciones de los grupos funcionales por un aumento de la concentración del QT (concentración de 0.17 molar de QT).

B). 0.20 Molaridad de AC

La Figura 4.13 muestran películas de QT preparadas en un solución molar de 0.20 de AC. Así mismo en la Figura 4.13 se advierte que para la banda OH al incrementar la acidez de la solución, las absorciones de mayor a menor de fueron: 1.20QT, 3.20QT, 5.20QT y 7.20QT. Así existe un incremento de la absorción en relación al aumento de la concentración del QT. Considerando la amplitud de las bandas, estas resultaron en el siguiente orden: 1.20QT, 3.20QT, 5.20QT, y 7.20QT.

Por su parte, para la señal de C=O se observa que existe un nivel de absorción de mayor a menor en el siguiente orden: 1.20QT, 3.20QT, 5.20QT y 7.120QT. Por su parte, la máxima amplitud de la banda es para 1.20QT, seguida por la 3.20QT.

Así existe un decremento interacciones de los grupos funcionales por un *aumento* de la concentración del QT (concentración de 0.20 molar de QT).

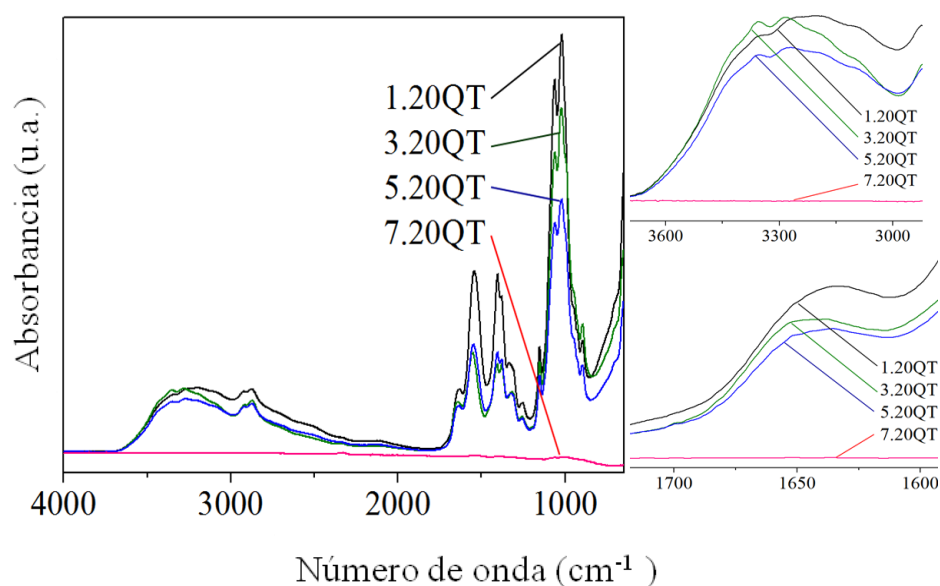


Figura 4.13 FTIR de películas de QT (0.20 M) con incremento de wt% de QT.

En la Figura 4.14, se analiza el resultado de la absorción de la película 7.20 (sin aparente señal) a reducidos niveles de absorciones. En este caso, se observa una modificación de las señales, especialmente un incremento en la respuesta del grupo OH y un decremento de los grupos C=O y aminos. La respuesta de las señales está indicando la presencia de la oxidación de la cadena del QT, lo cual origina una que la banda del OH sea estrecha.

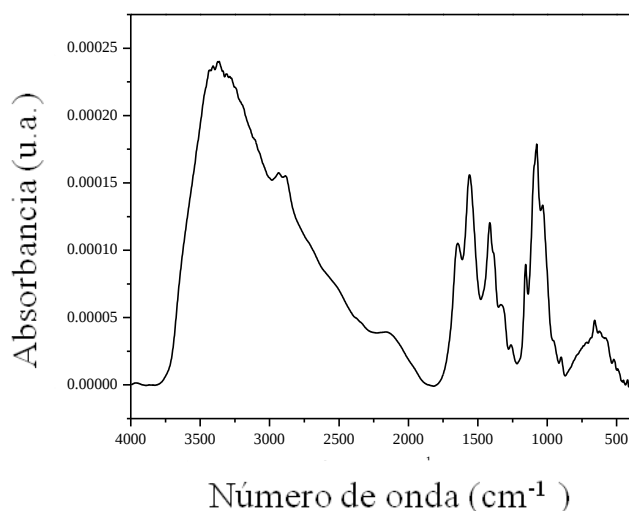


Figura 4.14 FTIR de películas de QT (0.20 M) con incremento de wt% de QT

C). 0.25 Molaridad de AC

La Figura 4.15 muestran películas de QT preparadas en una solución molar de 0.25 de AC, se advierte que para la banda OH al incrementar la acidez de la solución, las absorciones de mayor a menor de fueron: 1.25QT, 5.25QT, 3.25QT y 7.25QT. Así existe un *decremento de la absorción* en relación al aumento de la concentración del QT.

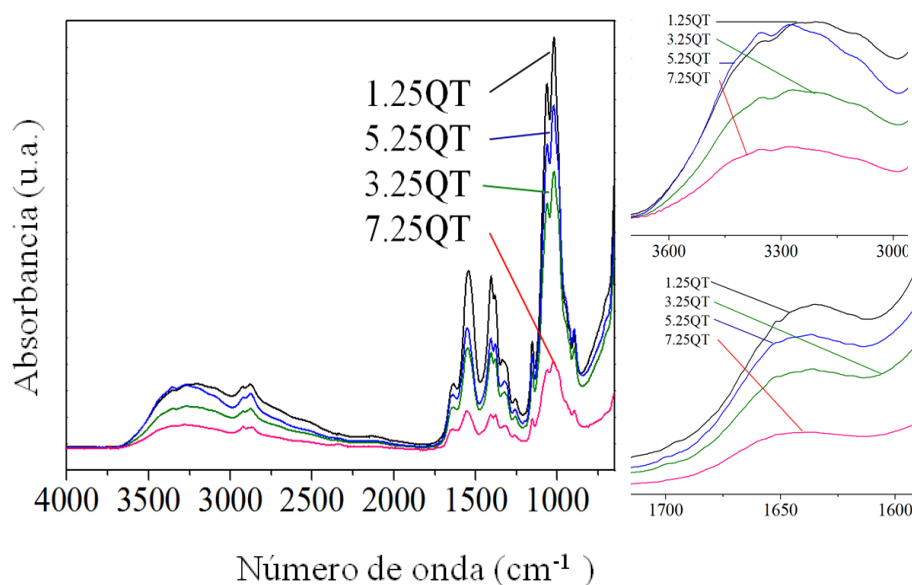


Figura 4.15 FTIR de películas de QT (0.25 M) con incremento de wt% de QT.

Considerando la amplitud de las bandas, estas resultaron en el siguiente orden: 1.25QT, 5.25QT, 3.25QT, y 7.25QT. Por su parte, para la señal de C=O se observa que existe un

nivel de absorción de mayor a menor en el siguiente orden: 1.25QT, 5.25QT, 3.25QT, y 7.25QT. Teniendo el mismo orden de amplitud de banda, 1.25QT, 5.25QT, 3.25QT, y 7.25QT. Por lo anterior el incremento en la concentración de QT generó un *efecto negativo* sobre las interacciones de los grupos funcionales en soluciones de alta acidez (concentración de 0.25 molar de QT).

Así existe un decremento interacciones de los grupos funcionales por un aumento de la concentración del QT (concentración de 0.25 molar de QT).

D). 0.30 Molaridad de AC

La Figura 4.16 muestra películas de QT, preparada a una molaridad 3.30 de AC. Con wt% de QT variable. Mostrando acercamientos en bandas OH y picos C=O.

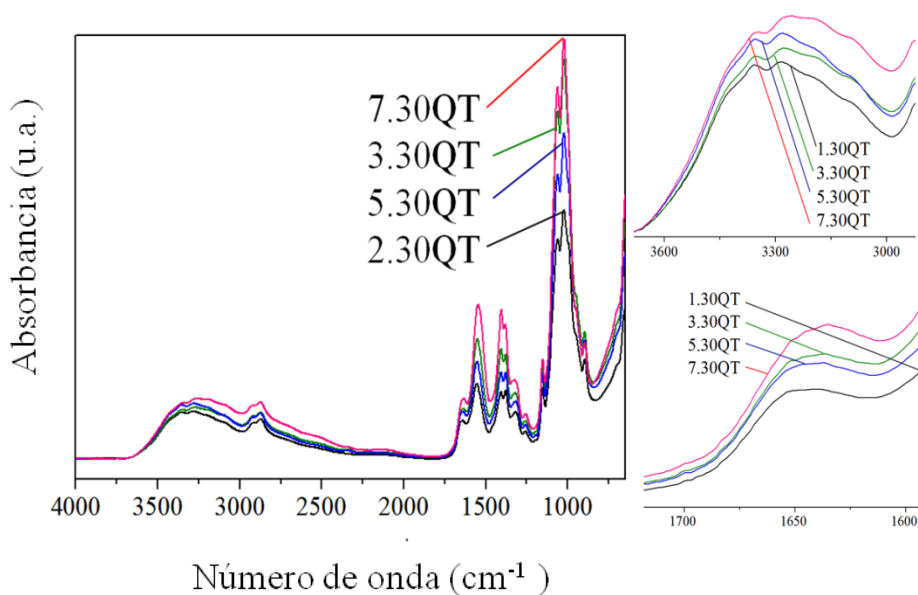


Figura 4.16 FTIR de películas de QT (0.30 M) con incremento de wt% de QT.

La Figura 4.16 se advierte que para la banda OH, al incrementar la acidez de la solución, las absorciones de mayor a menor de fueron: 7.30QT, 5.30QT, 3.30QT y 1.30QT. Teniendo el mismo orden de amplitud de banda. Por su parte, para la señal de C=O se observa que existe un nivel de absorción de mayor a menor en el siguiente orden: 7.30QT, 5.30QT, 3.30QT y 1.30QT. Teniendo el mismo orden de amplitud de banda.

Así existe un incremento interacciones de los grupos funcionales por un aumento de la concentración del QT (concentración de 0.30 molar de QT).

4.3 Análisis MEB. Películas de QT.

De acuerdo con las micrografías obtenidas mediante análisis de MEB, los polímeros puros forman películas homogéneas, sin fases separadas. Más allá de esto, se puede apreciar el efecto que ocasiona el incremento de la acidez y el wt% de QT.

La Figura 4.17 muestra las micrografías a 10X de películas de quitosano 1.17QT, 1.30QT, 3.17QT, 3.30QT, 7.17QT y 7.30QT con una escala de 10 μm . En estas películas no se observa la presencia de fases, siendo una superficie homogénea y casi totalmente lisa. Esto debido a una disolución del QT con la solución AC.

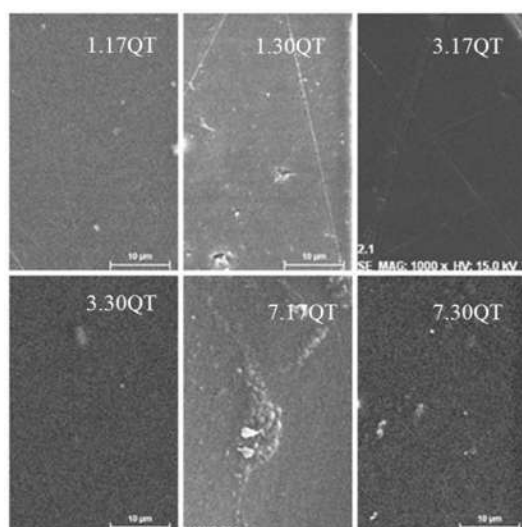


Figura 4.17 Micrografías de QT a 10X con una escala de 10 μm .

De forma particular las películas 7.17QT y 7.30QT, muestra la presencia de aglomerados en la superficie, lo cual fue debido al incremento en la concentración del QT. Esta actividad fue independiente de la acidez de la solución (0.17 y 0.30M).

La Figura 4.18 muestra los cortes transversales de las películas de quitosano, permitiendo apreciar y calcular los espesores de la película. El tamaño de los espesores se muestra en

la Tabla 4.2, así como su incremento y/o decremento porcentual en relación a la variación de AC.

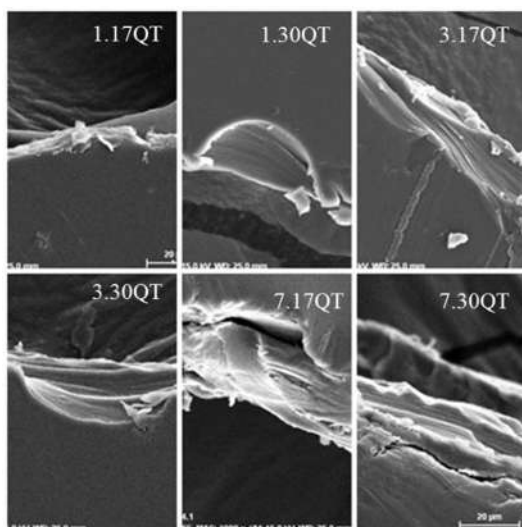


Figura 4.18 Micrografías de QT a 20X con escala de 20µm- vista por corte transversal.

Al incrementarse la concentración del QT, a una determinada concentración AC, los espesores aumentan. Para 0.17 molar de AC es: 7.20, 16 y 28 nm y para 0.30 molar de AC, se tiene: 18, 20 y 24 nm. Con estas lecturas se establece que el espesor se incrementa con el incremento en la concentración de QT y que existen mayores espesores a menores valores de acidez (mayor acidez menor espesores). El decremento en el espesor del QT puede ofrecer un mejor acomodo y más compacto de las cadenas de QT. Así niveles de acidez mayores de la solución decrecieron el espacio cadena-cadena de QT, y con ello mayor inter-acción molecular, principalmente del tipo inter-molecular.

Tabla 4.2 Espesores de películas de QT, determinadas por MEB.

Películas de QT	Espesores promedios (µm)	Incremento del espesor (%)*
1.17QT	7.20	---
3.17QT	16.0	222.22
7.17QT	28.0	388.00
1.30QT	18.0	--
3.30QT	20.0	111.11
7.30QT	24.0	133.33

*En relación a la primera disolución.

SECCION DOS: Monolitos de hueso con/sin Recubrimiento**4.4 Apariencia Física**

La Figura 4.19 muestra las piezas de hueso de cadera de res, de la cual se extrajeron los monolitos de hueso poroso (HP) y hueso compacto (HC). Estas piezas tienen un tamaño promedio de 2.8x1.0x0.5cm.

Las tres imágenes superiores HP-I, HP-II y HP-III, corresponden a la fase porosa del hueso. En la Figura HP-I se puede apreciar la pieza completa previa a la fractura. En la Figura HP-II queda expuesta la fase porosa, esto se logró mediante un corte transversal de la pieza ósea. La Figura HP-III muestra un acercamiento de la fase porosa, previa al tratamiento de pulido. La fase porosa tiene una coloración oscura debido a un remanente de componentes orgánicos oxidados, como colágeno, lípidos y células atrapados entre los poros. Posteriormente, este color disminuye con el pulido la pieza.

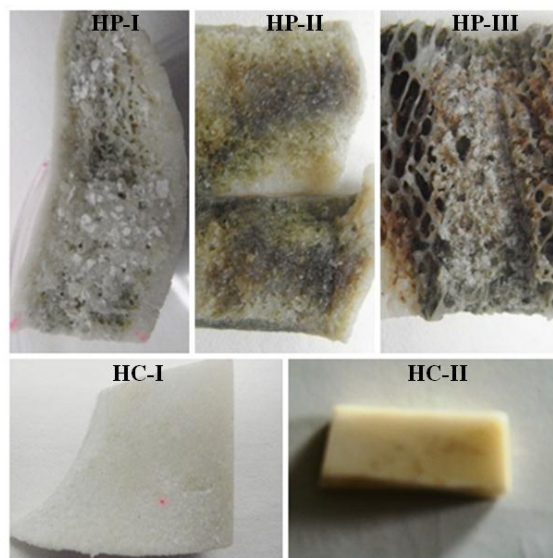


Figura 4.19 Fotografías de HP y HC después del tratamiento de limpiado y secado.

De una misma pieza ósea de cadera de res se extrajo la fase compacta y porosa, siendo cada una de ellas de zonas diferentes: La fase porosa se encuentra en el centro de la pieza ósea y la compacta en las esquinas. En la parte inferior de la Figura 4.19 se aprecia la fase compacta del hueso (HC). En la Figura HC-I se observa la esquina de la cual se obtuvo el hueso compacto, la Figura HC-II muestra el monolito después de haber hecho los cortes.

La fase compacta del hueso es blanca y densa. Después de la pulida conserva su coloración y sobre la superficie se logra obtener un pulido espejo.

4.5 Dureza Vickers

La huella de indentación se realizó bajo una carga P de 0.025 Kgf (carga máxima soportada antes de la fractura), debido a que naturaleza de HP. La P fue ejercida durante un periodo de 15 segundos. Las estructuras medidas fueron monolitos de HC y HP, recubiertos con 1.17QT, 1.30QT, 3.17QT, 3.30QT, 7.17QT y 7.30QT.

La Tabla 4.3 muestra las etiquetas de cada muestra analizada con sus respectivos valores de dureza, la cual varía en función de la acidez y el tipo de hueso.

Tabla 4.3 Micro-dureza de huesos compactos y porosos con y sin recubierto.

Micro-dureza Vickers				
Recubrimiento	Tipo de Hueso	Dureza promedio (GPa) del Hueso		Diferencia porcentual (%)
		Sin recubrimiento	Con recubrimiento	
1.17 QT	HP	28.34	29.84	5.29
3.17 QT	HP	28.34	35.64	25.76
7.17 QT	HP	28.34	18.3	-35.43
1.30 QT	HP	28.34	34.44	21.521
3.30 QT	HP	28.34	22.05	-22.19
7.30 QT	HP	28.34	19.5166	-31.13
3.17 QT	HC	35.65	34.67	-2.75
3.30 QT	HC	35.65	41.56	16.58

4.5.1 Comportamiento del QT en hueso poroso

El incremento del QT en una solución de baja acidez (0.17M de AC) incrementa la dureza; de 29.84 a 35.64GPa. Sin embargo, se observa un decremento de la dureza con el incremento de QT.

Al emplear una acidez media (0.30 M de AC) se genera una dureza alta con la concentración más baja de QT (1.30QT), la cual disminuye como consecuencia adiciones posteriores de QT. El anterior resultado indica que a menores concentraciones de QT, las cadenas son acopladas de manera tal que ofrecen una mayor resistencia a la penetración con motivo de un arreglo más cerrado.

Lo cual es producto de las asociaciones entre cadenas de QT. La orientación debe de ser de tal naturaleza que ofrece una asociación QT-QT que resiste la penetración, incluso cuando los espesores son menores (Tabla 4.2).

A bajas concentraciones de QT es posible que el arreglo permita un acomodo organizado y con fuerte uniones sobre la superficie del hueso. A altas concentraciones de QT es posible que los ovillos cerrados de QT no produzcas una asociación importante con el hueso lo cual hace que estas cadenas se separen fácilmente en el proceso a la penetración.

Adicionalmente se observa que el incremento en el nivel de ácido, incrementa la orientación de las cadenas, que se unen y acoplan para impedir la penetración, incluso si los espesores son menores.

4.5.2 Comportamiento del QT en hueso compacto

Para el HC se incrementa la dureza en función del incremento de la acidez. Los valores indican que este cambio es muy grande, mostrando que la superficie solida contribuye generar estructuras cerrada de QT más estables.

4.6 Caracterización por FTIR

4.6.1 FTIR del HC vs HP

La Figura 4.20 muestra el incremento de la absorbancia en el HP y HC. Los FITR muestran la presencia de la fase mineral del hueso (hidroxiapatita) que se encuentra en las señales 566 cm^{-1} correspondientes a la fuerza de torsión del ion PO_4^{-3} y a la señal 1022 cm^{-1} atribuidas a la fase Hexagonal del ion PO_4^{-3} .

Por medio de las señales 2853 y 2925 cm^{-1} se confirma la presencia de los lípidos. También se indica la existencia de membranas celulares, la cuales son atribuidas a las señales 2707 y 2686 cm^{-1} y que están presentes en el hueso de bovino.

El Colágeno fue identificado por señales características de 1550 cm^{-1} y 1240 cm^{-1} por la amida primaria y terciaria respectivamente. El colageno y a las celulas de hueso se puede eliminar a altas temperaturas, sin embargo la temperatura maxima utilizada en las muestras

fue de 60°C. Las señales de FTIR mostraron que la señal atribuida a la hidroxiapatita, la cual es más fuerte en el HC que en el HP. El HP y HC presentan la misma intensidad en las señales del Colágeno.

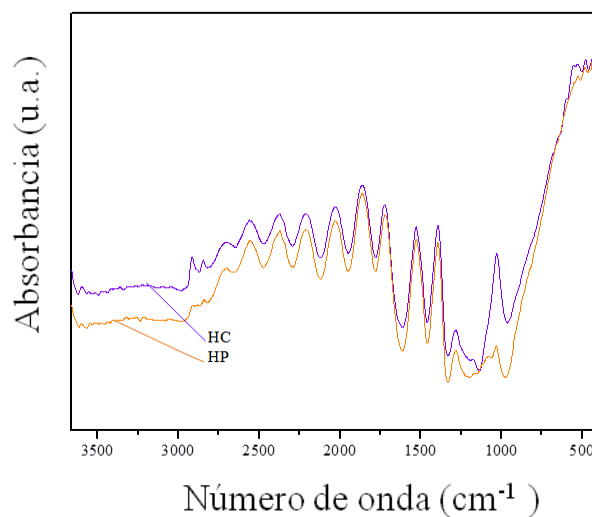


Figura 4.20 FTIR de HC y HP.

4.6.2 FTIR del HP con QT

La Figura 4.21 muestra los monolitos de HP recubiertos con 3.17QT y 3.20 QT.

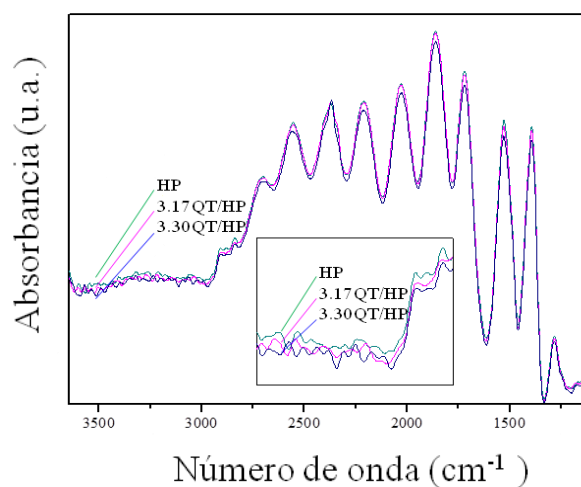


Figura 4.21 FTIR de la muestras 3.17QT/HP y 3.30QT/HP.

En un primer análisis se observa que las señales de los tres sustratos son muy similares, siendo necesario realizar ampliaciones particulares para una valoración más localizada.

Las señales provenientes de HP es tan intensa que incluso llegan a impedir el análisis de las señales que origina el QT. Con la adición del QT en solución acida, solo observa una ligera disminución de las bandas características del HP.

4.6.3 FTIR del HC con QT

En la Figura 4.22 muestra la interacción QT-HC. Inicialmente se observa la pérdida de la señal del ion Fosfato (PO_4^{3-} , 566 cm^{-1}). Posteriormente se aprecia la pérdida total de la señal atribuida a la fase hexagonal de la hidroxiapatita (1022 cm^{-1}) y la ausencia de la banda atribuida a OH's del QT. Esto indica la interacción de fase mineral (hidroxiapatita)/orgánica (Colageno y células) del hueso con el QT.

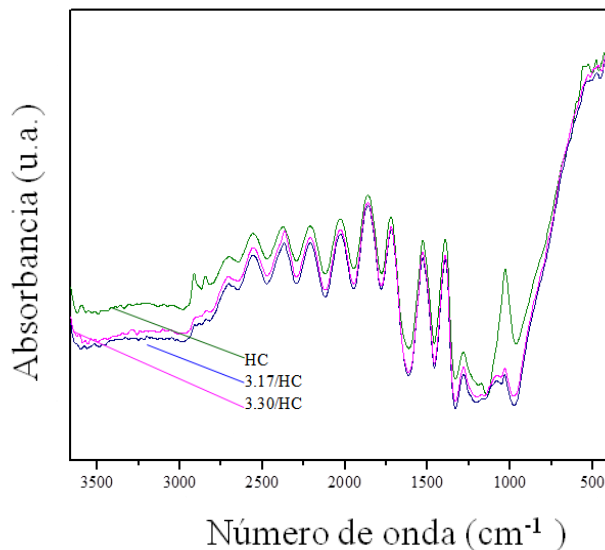


Figura 4.22 FTIR de HC, 3.17QT/HC y 3.30QT/HC.

La Figura 4.23 muestra las señales presentes en el HC, 3.17QT/HC, Colageno y QT. Así se aprecia la interacción entre el hueso/colágeno/QT, con una nueva señal a 1450 cm^{-1} .

La interacción es evidente con la eliminación del pico característico del QT 1021 cm^{-1} (atribuido a la vibración de tensión C-O-C) y a la ausencia de la banda 3350 cm^{-1} atribuida a la vibración de tensión del grupo OH. Las señales obtenidas en los espectros IR de HC, HP, recubiertos y sin recubrir se encuentran agrupados en la Tabla 4.4.

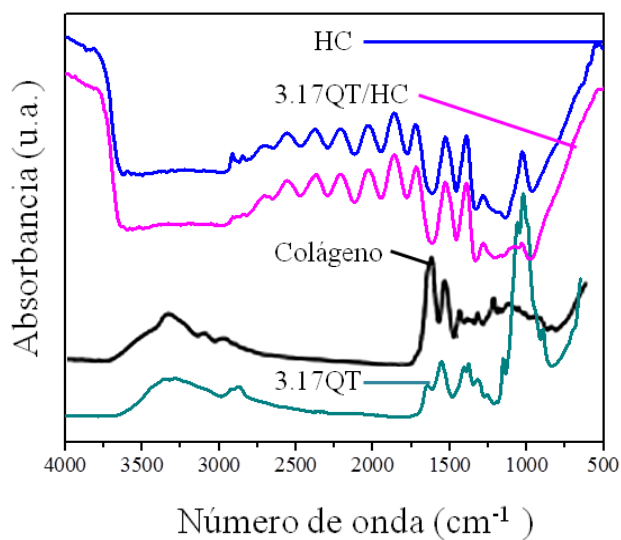


Figura 4.23 FITR de HC, 3.17QT/HC, Colágeno y 3.17QT.

Tabla 4.4 Señales características de IR del colágeno, hidroxiapatita y hueso bovino, observadas en monolitos de HP y HC, recubiertos y sin recubrir con QT.

Frecuencia (cm ⁻¹)	Grupo Funcional
Colágeno	
1650	Deformación Axial del enlace -C=O
1550	Deformación angular -NH y estiramiento -CN
1450	Enlace -C-H del anillo piridina
1240	Vibración en el plano de la amida III, debido al estiramiento C-N y a la deformación N-H
2380	Vibración de estiramiento del amino cuaternario.
Hidroxiapatita	
566	Fuerza de torsión del ion PO ₄ ⁻³
1022	Fase Hexagonal de ion PO ₄ ⁻³
Hueso Bovino	
1994	Vibración de tipo estiramiento y cambio en el ángulo de enlace del grupo fosfato PO ₄ ⁻³
2072	
2141	
2853	Bandas asignadas a lípidos
2925	
2707	Bandas asociadas a lípidos en paredes celulares
2686	

4.7 Caracterización por MEB

Los resultados de las Micrografías obtenidas, mostradas en la Figura 4.24, 4.25 y 4.26, reflejan la morfología de las piezas Oseas y la unión entre Hueso/QT. En algunos casos se analizaron zonas donde el recubrimiento por QT se terminaba (interface).

La Figura 4.24 corresponde a la fase porosa y a la fase compacta del hueso con un nivel de $2000\mu\text{m}$. La imagen superior corresponde a la superficie del HP, esta es rugosa y presenta cavidades o poros que se encuentran entre los $500\mu\text{m}$ y $200\mu\text{m}$. La micrografía inferior corresponde a la fase compacta del hueso (HC), la cual muestra una superficie rugosa, sin porosidad aparente.

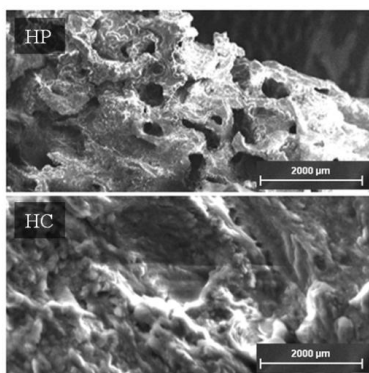


Figura 4.24 Micrografías de HP y HC a $2000\mu\text{m}$, después del limpiado y secado.

La Figura 4.25 corresponde a las micrografías de la unión HP/QT a una escala de $400\mu\text{m}$. Los monolitos recubiertos con QT son 1.17QT/HP, 1.30QT/HP, 3.17QT/HP, 3.30QT/HP, 7.17QT/HP y 7.30QT/HP. En 1.17QT/HP y 1.30QT/HP se observan dos fases: La fase rugosa atribuida al HP y la fase lisa que corresponde al QT. En este caso, la superficie del QT sobre el HP es rugosa y delgada. Al incrementarse la acidez de la solución disolvente, la película de QT reduce su rugosidad. Esto es notorio al observar los pares 1.17QT/HP vs 1.30QT/HP, 3.17QT/HP vs 3.30QT/HP y 7.17QT/HP vs 7.30QT/HP.

En las imágenes 7.17QT/HP vs 7.30QT/HP se observa que las películas de QT carecen de rugosidad y es más gruesa que las anteriores. Esto es el resultado del incremento en el contenido del QT, lo que decrece el seguimiento del QT sobre la rugosidad superficial sobre el hueso

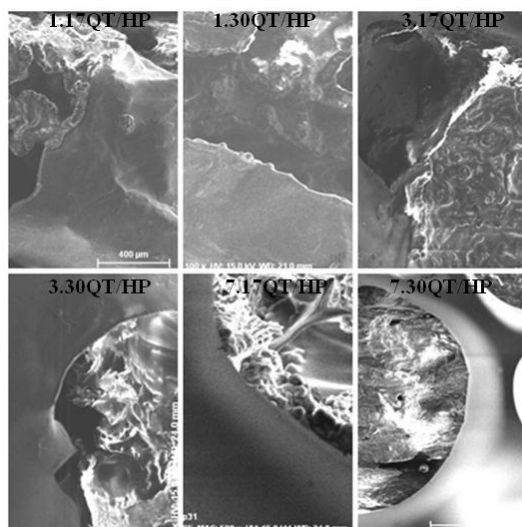


Figura 4.25 Micrografías de monolitos 1.17QT/HP, 1.30QT/HP, 3.17QT/HP, 3.30QT/HP, 7.17QT/HP y 7.30QT/HP a 400 μm .

Las micrografías en la Figura 4.26 corresponden a los monolitos recubiertos 3.17QT/HC y 3.30QT/HC, correspondientes a un nivel de medición de 200 μm . Las muestras presentan una película rugosa, integrada al hueso de manera uniforme. La rugosidad decrece por el incremento del QT.

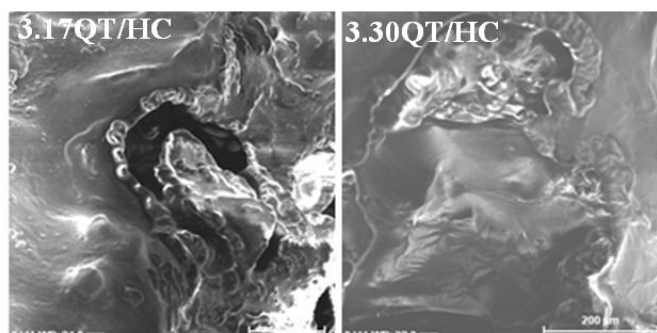


Figura 4.26 Micrografías 3.17QT/ HC y 3.30QT/ HC a 200 μm .

Caracterización por Difracción de Rayos X.

La Hidroxiapatita presenta señales características (reportados por A. Martinelly, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina), éstos se producen en $2\theta = 32, 32,5$ y 33 correspondientes a los planos (211), (112) y (300). En $2\theta = 26, 46,5$ y 49 se producen los

planos (002), (222) y (213), y finalmente $2\theta = 34$ y $39,5$ corresponde a los planos (202) y (310).

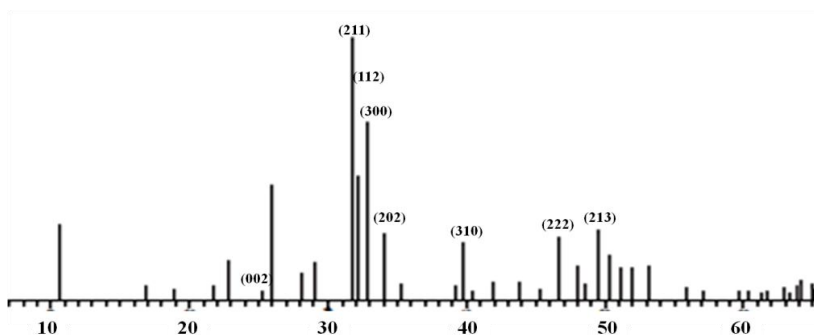


Figura 4.27. DRX Hidroxiapatita Estándar Internacional

La figura 4.27 muestra el difactograma estándar universal de Hidroxiapatita (el equipo utilizado fue un Panalytical X'Pert Pro, equipado con tubo de Cu de longitud de onda de 1.5406 angstrom). Debido a que los sustratos utilizados para este trabajo provienen de huesos vacuno, se presenta el difractograma de la hidroxiapatita proveniente de huesos de vaca, que previamente fue sometido a un calentamiento en una estufa eléctrica tipo muffle a 850 °C con una meseta en la rampa de calentamiento de 2.5 horas. Así en la Figura 4.28 se presentan las señales de la hidroxiapatita de vaca en los ángulos $2\theta = 26, 33, 40, 47$ y 49 .

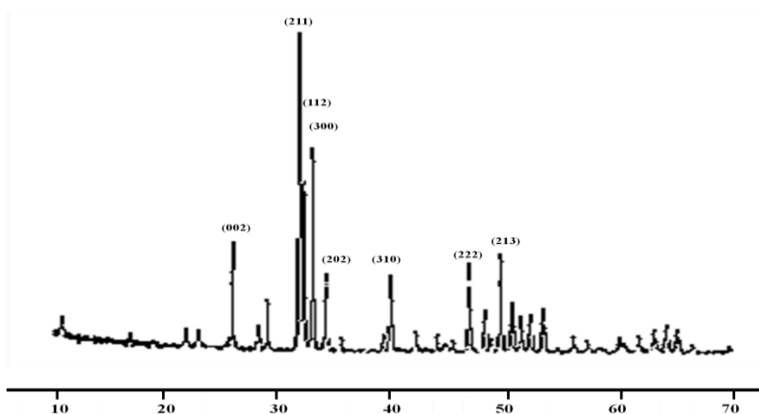


Figura 4.28. Hidroxiapatita de vaca.

En la Figura 4.29 se observan los difractogramas de HP, 1.17QT/HP, 1.30QT/HP, 3.17QT/HP, 3.30QT/HP, 7.17QT/HP y 7.30QT/HP correspondientes a los monolitos recubiertos con QT.

En un primer análisis se observa que el HP y los huesos recubiertos con QT tienen un patrón de difracción congruente con un material amorfo. Sin embargo, de manera especial la muestra 1.30QT/HP presenta nula dispersión, indicando la ausencia de fases cristalinas.

Para el HP la difracción a grados 26, 33, 40, 47 y 49 corresponden a los planos (002), (300), (310), (222) y (213) respectivamente. Estos corresponden a las señales características de la estructura cristalina hexagonal compacta de la hidroxiapatita. Así se puede observar que estas señales se encuentran en 1.17QT/HP, 3.17QT/HP, 3.30QT/HP y 7.17QT/HP y 7.30QT/HP.

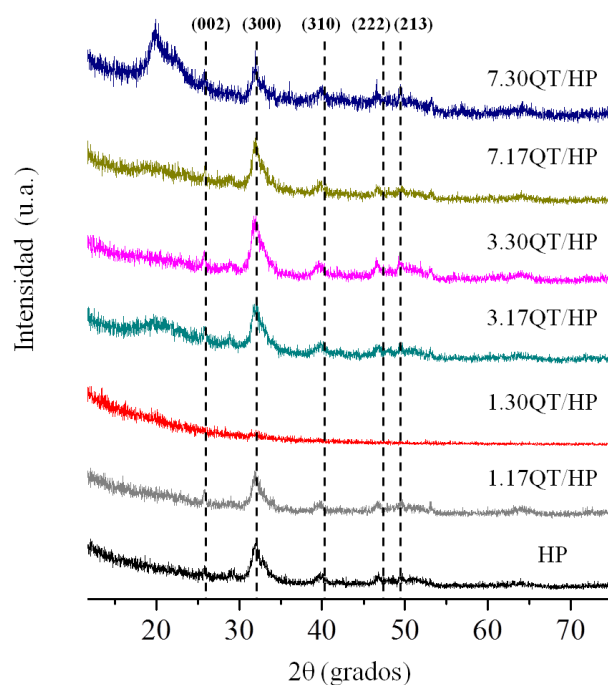


Figura 4.29 Difractograma del HP, QT y HP recubiertos con QT.

Para 3.17QT/HP y 7.30QT/HP se aprecia con mayor intensidad las señales características de QT que se encuentran a 20 grados, indicando que el QT está presente sobre los huesos y formando estructuras ordenadas. Así también al incrementarse la acidez se incrementa el ordenamiento de las cadenas.

La Figura 4.30 muestra una aplicación de la señal entre 10 a 30° (2θ) para 7.30QT/HP y QT. Esto permite observar con más claridad la intensidad y presencia del QT sobre el HP. Como consecuencia de una mayor proporción de QT.

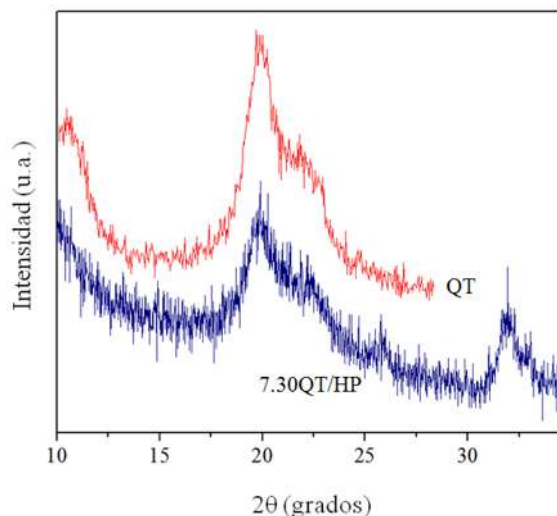


Figura 4.30 Difractograma del 7.30QT/HP y QT.

En contraste con 7.17QT/HP, la muestra 7.30QT/HP exhibe una mayor señal a 20°. Esto por un mejor arreglo de las cadenas conforme se incrementa la acidez de la solución. El grosor de la película de QT sobre el hueso genera incremento de la intensidad de la señal del QT y disminución de la señal de la hidroxiapatita.

La Figura 4.31 corresponde a los monolitos de hueso compacto (HC) recubiertos con el QT, las muestras analizadas fueron HC, 3.17QT/HC y 3.30QT/HC.

En el difractograma se observa con más intensidad las señales de la estructura hidroxiapatita a 26, 33, 40, 47 y 49 grados, confirmando una estructura cristalina y ordenada. Estas aparecen para 3.17QT/HC y 3.30QT/HC. La muestra 3.30QT/HC presenta una estructura más cristalina, indicándose las señales tanto de hidroxiapatita como de QT, confirmando que existe un mejor acomodo cristalino entre las moléculas de QT y HC.

Sobre el HC se observa un mejor arreglo del QT, conforme se incrementa la acidez de la solución del AC.

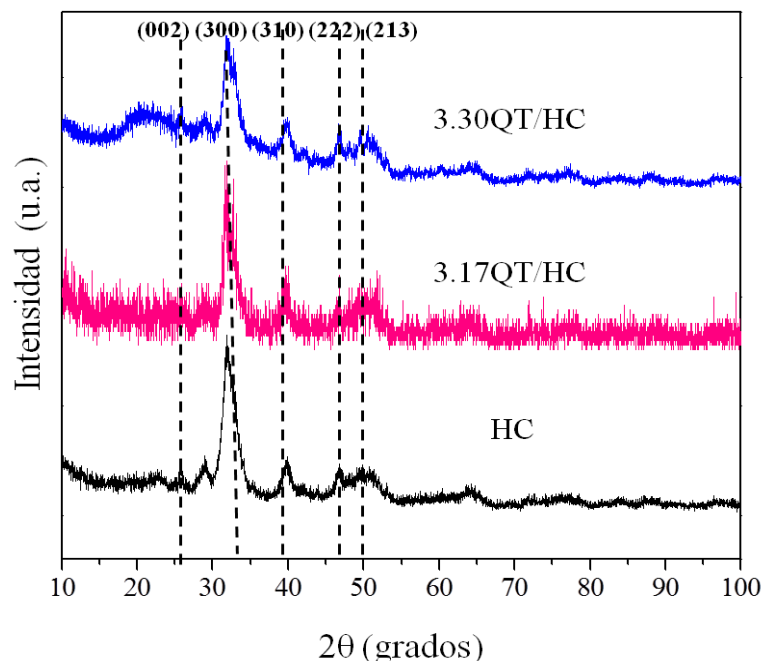


Figura 4.31 Difractograma del monolito 3.17QT/HC, 3.30QT/HC y HC.

Tanto en el HP como en el HC, existe una mayor cristalinidad por el incremento de la acidez del AC. Adicionalmente, existe un mayor acomodo molecular cuando la superficie es lisa (HC), lo que se refleja por una alta cristalinidad de la película a bajas concentraciones de QT.

4.9 SIMULACION COMPUTACIONAL

4.9.1 Comportamiento del QT puro

Para la simulación del QT, una cadena polimérica conteniendo una des-acetilización al 80% fue empleada. El QT conteniendo una cadena de 5 monómeros uno de ellos sin acetilizado es presentado en la Figura 4.30. En esta figura se observa una molécula de QT con mínimo nivel energético y optimización geométrica.

a). Enlace de hidrógeno

La Figura 4.32 presenta el análisis por enlaces por puentes de hidrogeno de la molécula de QT, con una distancia máxima de aceptación de 2.0 y un ángulo mínimo donador-acepto de hidrógenos de 90. Este análisis indica la interacción intra-molecular de la molécula del

QT. Especialmente el monómero medio de la cadena de QT presenta enlaces en los grupos por hidrógenos en: HO---OH y por HO---H-N. En esta misma fracción se observa un enlace del oxígeno del enlace O-glucosídico con el HO del monómero adyacente. Esto afecta el acomodo de la cadena y condiciona o reduce los sitios activos.

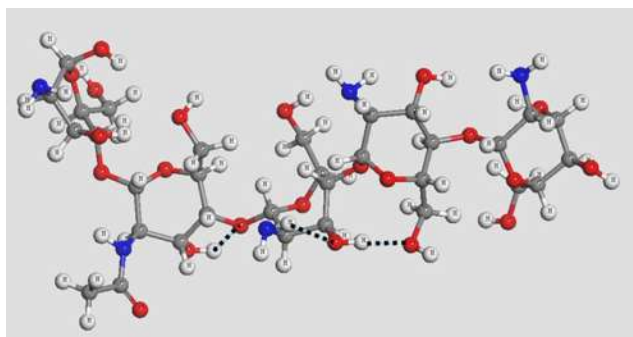


Figura 4.32 Simulación de la molécula de QT: Análisis por enlaces de Hidrogeno.

b). Enlace de Van der Waals

Los enlaces Van Der Waals, son de bajo nivel energético y son importantes en moléculas de alto peso molecular como los polímeros.

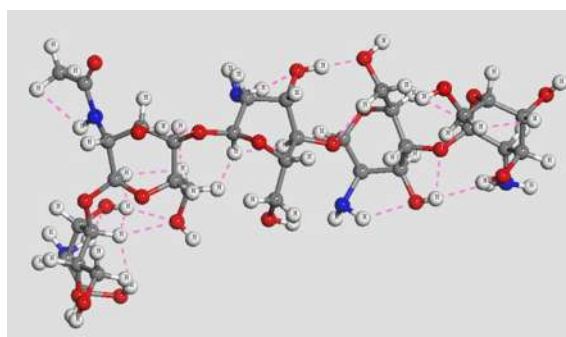


Figura 4.33 Simulación de la molécula de QT: Análisis Van der Waals

Mediante simulación molecular se pueden analizar estas fuerzas en la estructura del QT. La Figura 4.33 se observa el análisis de fuerzas Van der Waals en la cadena del QT. La distancia absoluta del enlace se determinó a 2.35 Å y la escala de sumas de Van der Waals 0.8 radii. En el análisis de Van Der Waals en la cadena QT, se puede apreciar como una gran cantidad de enlaces que actúan a lo largo de toda la estructura molecular del QT, afectando su conformación por enlaces del tipo intramolecular.

La distancia de 2.35 Å a la cual se determinaron los enlaces Van der Waals, fue debida a que una mayor de enlaces son observados a distancias menores, con lo cual no es posible verificar las características de estas interacciones

4.9.2 Comportamiento de la hidroxiapatita puro

a). Enlace de hidrógeno

Se realizó el análisis de Fuerzas Puente de Hidrogeno de la hidroxiapatita a distancia máxima de aceptación de 2.0 y un ángulo mínimo donador-acepto de hidrógenos de 90 a pesar de esto, no se observó enlaces por hidrógenos. Esto es normal por la carencia de los hidrógenos. Sin embargo este análisis es rutinario por la presencia se enlaces hidrógenos que presente el huésped (el QT).

b). Enlace de Van der Waals

La hidroxiapatita es un cristal con parámetros de red hexagonal cubico. La simulación molecular (Figura 4.34) por enlaces Van der Waals indica los enlaces intra- e inter-moleculares presentes.

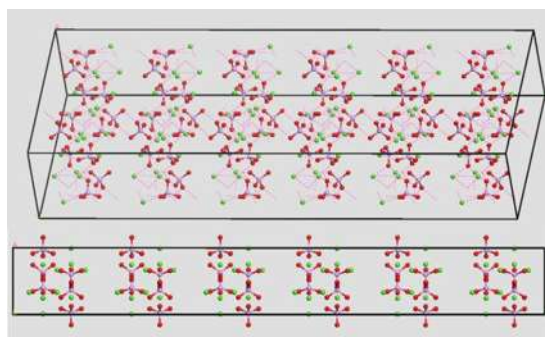


Figura 4.34 Superficie de hidroxiapatita con 6 Celdas unitarias: Análisis Van der Waals.

El análisis se realizó a 2.35 Å y la escala de sumas de Van der Waals 0.8 radii. En este análisis se aprecia la interacción de las fuerzas moleculares y como la forma del cristal es determinada por las atracciones Calcio y Oxígeno del grupo fosfato.

4.9.3 Comportamiento QT/Hidroxiapatita

Las interacciones entre el QT y la hidroxiapatita se analizó bajo dos condiciones: a) cuando el área de contacto de la cadena de QT es mayor y se origina por un acoplamiento lateral, y b) cuando el contacto del QT es puntual y se da solo en un extremo de la cadena polimérica.

a). Enlace de hidrógeno

Figura 4.35 la simulación evidencia como los enlaces de Hidrogeno, no son determinantes en la atracción entre superficie.

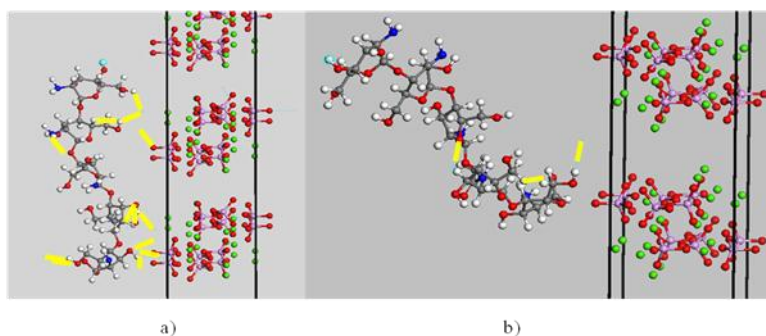


Figura 4.35 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis por enlace de Hidrogeno.

Los puentes de hidrogeno no definen la interacción entre superficies. Sin embargo, de forma intramolecular estas fuerzas afectan la estructura de la cadena polimérica ofreciendo mayor o menor área superficial a la superficie de la hidroxiapatita. Entre las dos posiciones que adopta el QT sobre la superficie de la hidroxiapatita (Figura 4.35 a y b) no se observa ninguna diferencia.

b). Enlace de Van der Waals

Las condiciones para el cálculo de los enlaces Van der Waals se realizó a una distancia absoluta de 2.0 Å y la escala de sumas de Van der Waals 0.90 radii. En la Figura 4.36 se observa el análisis de fuerzas Van der Waals en las superficies de QT e hidroxiapatita. Podemos apreciar como las fuerzas Van der Waals son determinantes en la adhesión entre las superficies, estas fuerzas presentan gran actividad, hasta el grado de generar un efecto

inductivo en la parte posterior de la superficie de la hidroxiapatita donde se realizó el contacto.

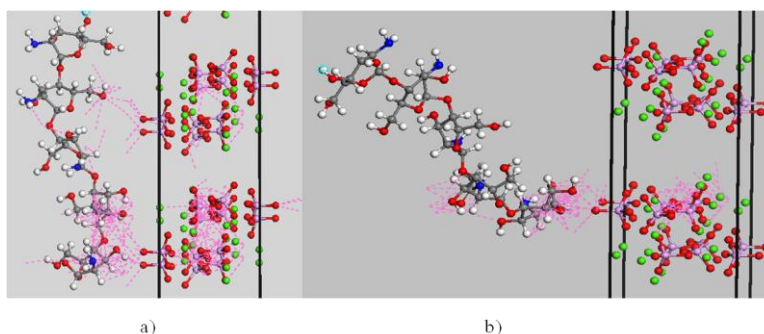


Figura 4.36 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Van der Waals.

La atracción Van der Waals está determinada por el tipo de conformación que el QT presenta sobre la superficie de la hidroxiapatita, siendo máxima cuando el QT presenta una mayor área superficial (Figura 4.36). Esto advierte que un mayor número de enlaces hidrógenos intramoleculares solo reduciría la conformación extendida de la cadena.

c). Enlace Slater

Las condiciones a las cuales se realizó el análisis Slater fue empleando una a una distancia absoluta de $2.0 \text{ \AA}$ y la escala de sumas de Slater 0.70 radii .

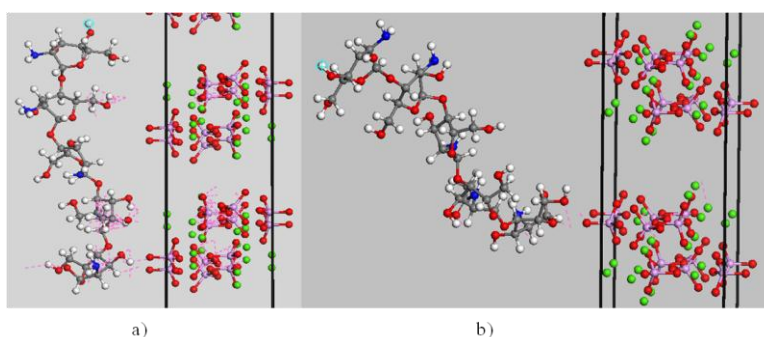


Figura 4.37. Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Slater.

En la Figura 4.37 se presentan el análisis Slater, que corresponde a los enlaces efectivos o reales que se presentan entre las dos superficies. Las asociaciones del QT e hidroxiapatita

están presentes solo áreas donde los contactos entre moléculas son más cercanos (Figura 4.37 a).

d). Enlace Metálico

Las condiciones a las cuales se realizó el análisis de fuerzas metálicas fue empleando una a una distancia absoluta máxima de $3.0 \text{ \AA}$ y la escala de sumas de Metálicas 0.7 radii .

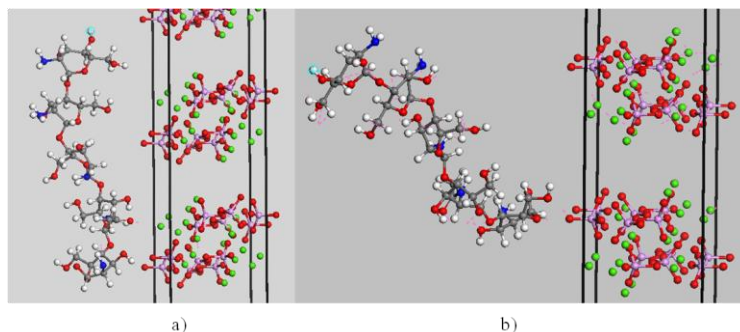


Figura 4.38 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Metálicas.

La Figura 4.38 muestra los resultados del análisis realizado con el simulador, en la cual apreciamos que las fuerzas moleculares Metálicas no intervienen en la unión entre superficies. Esto a pesar del incremento de la distancia absoluta máxima del enlace metálico.

e). Enlace Iónico

Las condiciones a las cuales se realizó el análisis iónico fue empleando una a una distancia absoluta máxima de $2.5 \text{ \AA}$ y la escala de sumas de 0.9 radii . Así, la Figura 4.39 no indica que las fuerzas iónicas presenten efectos determinantes en la adhesión QT/hidroxiapatita.

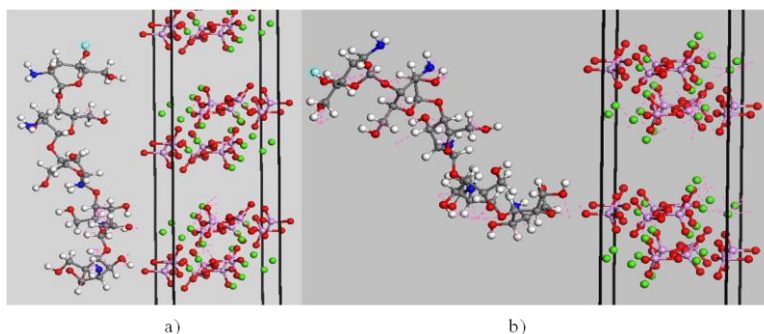


Figura 4.39 Interacción superficie de hidroxiapatita y QT. Análisis de fuerzas Iónicas.

f). Enlace Covalente

Las condiciones a las cuales se realizó el análisis covalente fue empleando una a una distancia absoluta máxima de $2.5 \text{ \AA}$ y la escala de sumas de 0.91 radii . Así, la Figura 4.40 no indica que las fuerzas covalentes presenten efectos determinantes en la adhesión QT/hidroxiapatita.

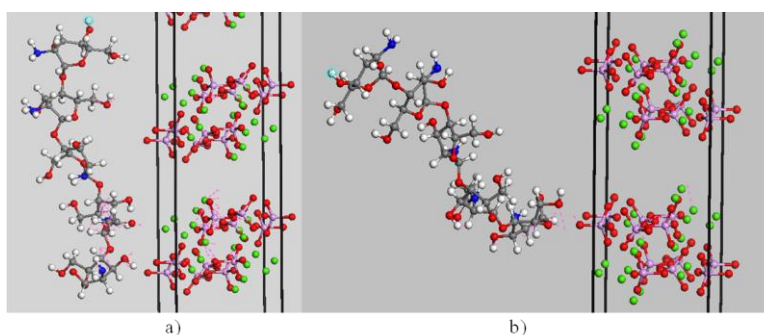


Figura 4.40 Interacción entre superficie de hidroxiapatita y QT. Acoplamiento del QT de forma a) lateral y b) puntual: Análisis de fuerzas Covalentes.

4.10. CONCENTRADO DE RESULTADOS

En la Tabla 4.5 se ofrecen los resultados obtenidos de la Sección I. Estos se presentan en tabulación. La esquina superior izquierda que corresponde al cambio en la apariencia física, al incrementar la concentración de QT cambia la coloración y aparece aire ocluido. El área que se encuentra en la parte media de la tabla corresponde a los resultados por FITR y describe lo siguiente:

- ✚ Para 1wt% de QT se produjeron aumentos significativos en las intensidades cuando se aplica acidez media (0.20 y 0.25M), lo cual se refleja en un ensanchamiento de la banda correspondiente a los grupos OH y un desplazamiento de las señales atribuidas a los grupos C=O.
- ✚ Para 3wt% de QT, una alta acidez (0.20 y 0.30 M) incrementa la intensidad de las señales del OH y genera un desplazamiento de las señales atribuidas a grupos C=O (0.20, 0.25 y 0.30 M).
- ✚ Para 5wt% de QT, una alta acidez (0.20, 0.25 y 0.30 M), incrementa la intensidad de las señales atribuidas a los grupos OH y a C=O.
- ✚ Para 7wt% de QT, una alta acidez (0.30, 0.25 y 0.17 M), incrementa la intensidad de las señales atribuidas a los grupos OH y a C=O.
- ✚ A acidez constante, 0.17 molar, el incremento en las intensidades de las señales atribuidas a OH se produce a concentraciones bajas (1wt% y 3wt%), en las señales atribuidas al C=O en la incremento en la intensidad se da a 1wt% y 7wt%.
- ✚ A acidez constante, 0.20 molar, el ensanchamiento de la banda OH y el desplazamiento en la señal C=O fue producido a concentraciones bajas de QT (1 y 3 wt%QT).
- ✚ A acidez constante, 0.25 molar, el ensanchamiento en la banda OH y el desplazamiento en la señal C=O se reflejo a concentraciones bajas de QT (1,3 y 5 wt%QT).
- ✚ A acidez constante, 0.30 molar, el ensanchamiento en la banda OH y el desplazamiento en la banda C=O se presenta a concentraciones altas de QT (7, 3 y 5 wt%).

Tabla 4.5. Películas de QT disueltas en solución ácida de AC.

Incremento de:		Apariencia Física	FTIR Ensanchamiento o desplazamiento		Análisis MEB
QT		Color y aire ocluido	OH	C=O	
Acidez		Tenacidad			
Quitosano constante – acidez variable					
1 wt%	Acidez media	1.20QT-1.25QT		1.20QT -1.25QT	
3 wt%	Acidez alta	3.20QT- 3.30QT		3.20QT-3.30QT-3.25QT	
5 wt%	Acidez alta	5.25QT-5.30QT-5.20QT		5.25QT-5.30QT-5.20QT	
7 wt%	Acidez alta	7.30QT-7.17QT-7.25QT		7.30QT-7.17QT-7.25QT	
Acidez constante – Quitosano variable					
0.17 molar	Concentración baja de QT		1.17QT-3.17QT	1.17QT-7.17QT	
0.20 molar	Concentración baja de QT		1.20QT-3.20QT	1.20QT-3.20QT	
0.25 molar	Concentración baja de QT		1.25QT-3.25QT	1.25QT-5.25QT	
0.30 molar	Concentración alta de QT		7.30QT-5.30QT	7.30QT-3.30QT	
Incremento del QT		7.17QT y 7.30QT		Aglomerados	Aumenta
Incremento del QT		7.17QT - 7.30QT		Espesor	Aumenta
Baja de acidez		7.17QT (390%) - 7.30QT (130%)		Espesor	Aumenta

El área inferior de la Tabla 4.5 se presentan los resultados obtenidos por MEB los cuales reflejan que a una alta concentración de QT (7wt%) se incrementan los espesores de las películas y resultan aglomerados; así en películas con 7wt%QT el espesor aumenta hasta un 390% cuando la acidez es baja (0.17 M).

La Tabla 4.6 da los resultados obtenidos en la sección II, los cuales consisten en monolitos de hueso recubiertos con las soluciones Filmogénicas analizadas en la sección I.

La esquina superior izquierda de la Tabla 4.6 corresponde a la apariencia física de los monolitos, los cuales presentan diferencias en la coloración, oscura para HP y blanca para HC.

Tabla 4.6. Hueso recubierto con QT.

	Apariencia Física		Dureza	MEB	DRX
Fase del HP	Obscura		Vickers	rugosidad	Cristalinidad
Fase del HC	Blanca				
Fase del HP	Incremento de QT. $3.17QT=35.64=26\%-7.30QT=19.51=-31.1\%$		Decrece		
	Incremento de acidez $3.17QT=35.64=26\%-3.30QT=22.05=-22.19$		Decrece		
Fase del HC	Incremento de acidez $3.30QT=41.56=17\%-3.17QT=34.67=-2.75\%$		Aumenta		
Fase del HP	Incremento de acidez			Decrece	
	Incremento del QT			Decrece	
Fase del HC	Incremento del QT			Decrece	
Fase del HP	Incremento de acidez	$7.30QT/HP-3.30QT/HP$			Aumenta
	Incremento de QT	$7.30QT/HP$			Aumenta
Fase del HC	Incremento de acidez	$3.30QT/HC$			Aumenta
Simulación	QT	Enlace Intra-molecular por		Hidrógenos y Van der Waals	
	Hidroxiapatita	Enlace Intra-molecular por		Van der Waals e iónicos	
	QT/Hidroxiapatita	Enlace Intrer-molecular por		Van der Waals	

En el área media superior se encuentran los resultados obtenidos mediante Dureza Vickers, para HP el incremento de la proporción de QT (7wt%) generó una disminución en la dureza (hasta un -31.1%), de igual forma al incrementar la acidez disminuye la dureza (hasta un -22.19%); por otro lado el HC presenta un incremento de dureza en un 17%, al incrementar la acidez.

El área media inferior de la Tabla 4.6 contiene la caracterización mediante MEB. Para HP la rugosidad del recubrimiento decrece con el incremento de acidez (0.30 M), el comportamiento es similar al aumentar el QT (7wt%). Para HC el incremento de QT (7wt%) genera disminución en la rugosidad.

El área que se encuentra en la esquina inferior derecha enlista los resultados obtenidos mediante DRX, en el HP al incrementar la acidez (0.30 M) se incrementa la cristalinidad, de igual forma un incremento en el QT (7wt%) genera mayor cristalinidad. Para el HC el incremento en la cristalinidad se genera cuando la acidez es alta (0.30M).

La parte inferior de la Tabla 4.6 refleja los resultados obtenidos por simulación computacional. Se determino que el QT se rige por dos fuerzas intra-moleculares puentes de hidrogeno y enlaces Van der Waals, mientras que para la Hidroxiapatita los enlaces responsables de su cohesión son Iónicos y Van der Waals. Adicionalmente se observo que la unión entre estas dos superficies QT/Hidroxiapatita es debida a los enlaces Van der Waals.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron películas de quitosano mediante remoción de solventes en soluciones filmogénicas con el fin de evaluar sus propiedades físicas antes de ser empleadas sobre huesos porosos y compactos. Posteriormente sus propiedades fueron analizadas sobre el hueso. Así se reportan dos secciones:

a. Películas de Quitosano.

1. A medida que se incrementa la acidez de la solución de ácido acético sobre la cual se disuelve el quitosano se observa una degradación importante, determinada por el obscurecimiento y generación de burbujas en la película. Esto como parte de la oxidación y generación de CO_2 .
2. A medida que se incrementa la concentración de quitosano soluciones de ácido acético de mayor acidez deben de ser empleadas para obtener una mayor asociación entre grupos funcionales como el OH y el C=O, esto observado mediante FTIR.
3. A concentraciones altas de quitosano (7wt%), con bajas concentraciones de ácido acético (0.17 y 0.30 molar) existen aglomeraciones. A concentraciones altas de quitosano se observa un incremento de espesor como resultado de un mayor número de moléculas de quitosano. Pero el espesor es mayor si existe una baja acidez. Esto porque un gran número de cadenas sufren ordenamiento por falta de contacto con el solvente ácido. Lo anterior determinado por MEB.

b. Quitosano recubriendo al hueso

4. En hueso poroso, el incremento del quitosano y acidez disminuye los valores de dureza, esto como consecuencia de un inapropiado acomodo de las cadenas poliméricas por un exceso de las mismas. Una acidez mayor resultó en un deterioro de las cadenas poliméricas, posiblemente por corte de estas. Lo que significa una pérdida de cohesión y de las mismas. Análisis por dureza Vickers.
5. En hueso compacto, el incremento de la acidez de la solución generó un incremento en la dureza. Es posible que aunque se haya generado una degradación

- o fragmentación de la cadena, las mismas encuentren superficie más apropiada para su fijación cuando la superficie es más lisa. Análisis por dureza Vickers.
6. En hueso poroso el incremento de la acidez y del quitosano decrece la rugosidad de la superficie recubierta. Esto se da como consecuencia del acomodo mejor de cadenas que generan mayores espesores y con ello una falta de rastreo a la rugosidad superficial del hueso. Análisis por MEB.
 7. En hueso compacto el incremento del quitosano decrece la rugosidad. Este fenómeno es consecuencia de un acomodo molecular que no responde al relieve del hueso. Esta situación es semejante en hueso poroso. Análisis por MEB.
 8. En hueso poroso y en hueso compacto, el incremento de la acidez y del quitosano incrementa la cristalinidad o reacomodo de las cadenas de quitosano sobre el hueso. Esto porque una acidez mayor genera una mejor disolución en la cadenas de quitosano. El número de cadenas con un buen acomodo es importante para percibir su arreglo molecular. Análisis por DRX. Sin embargo mejores disoluciones y reacomodos se generan con menores concentraciones de quitosano, lo que origina un mayor incremento en la dureza sobre la superficie.
 9. Por simulación molecular se pudo observar que el quitosano presenta enlaces intra-moleculares principalmente por dos tipos de fuerza: de hidrogeno y Van der Waals. Estas fuerzas ejercen un importante efecto sobre la conformación de las cadenas de quitosano.
 10. Por simulación molecular detallo la cohesión de los átomos que constituyen a la hidroxiapatita que es dada principalmente por enlaces Van der Waals y iónicos. Esto genera una asociación que permite la existencia del material en fase sólida.
 11. Entre el quitosano y la hidroxiapatita se determinó la existencia de enlaces con fuerzas mínimas como son la fuerzas de Van der Waals. Estas fuerzas aunque menores logran un efecto inductivo sobre átomos hasta del cuarto nivel inferior superficial. Esta característica adicionada al gran número de unidades que presenta un quitosano estándar (aproximadamente de un peso molecular de 800,000 de peso molecular) logra la fijación de las moléculas sobre el sustrato. Adicionalmente esta adherencia por fisisorción o adsorción física se ve favorecida por el incremento puntual con la superficie.

BIBLIOGRAFÍA

1. Crecimiento biomimético de hidroxiapatita sobre colágeno. E. Rubio, b. Gaspariano-ocotitla, d. Mendoza-anaya y v. Rodríguez-lugo. 2006, universidad autónoma de puebla.
2. Materiales compuestos de quitosano e hidroxiapatita. Carlos peniche, yaimara solis, natalia davidenko, raul garcia. 2010, biotecnología aplicada, págs. 192-201.
3. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. Velásquez, cristóbal lárez. 2, mérida (venezuela): revista iberoamericana de polímeros, 2003, revista iberoamericana de polímeros, vol. 4, págs. 91-109.
4. Hastings, jonathan black and garth. Handbook of biomaterial properties. New york : chapman & hall, 1998.
5. Martínez, j.m. Martín y barceló, a.c. Origel{es. Adhesion. Tecnologia y fundamentos. S.l : inescop & universidad de alicante, 1992.
6. Características cristaloquímicas de la hidroxiapatita sintética tratada a diferentes temperaturas. Marta elena londoño, alejandro echavarría, francenith de la calle. 2006, revista eia, issn 1794-1237, págs. 109-118.
7. Wade l.g. Jr. Química organica 5° edicion. S.l : pearson, 2004.
8. L.g. Wade, jr. Química organica 5° edicion. S.l : pearson, 2004.
9. Chang, raymond. Química 4° edicion. S.l : mcgraw hill, 1992.
10. Morrison robert t., boyd robert n. ,. Química organica, 5a edición. Mexico : pearson educación, 1998.
11. Biobased packaging materials for the food industry. Weber c.j. 2000, publicado en www.alimentatec.com.
12. Obtención y uso de quitosano para tratamientos dérmicos a partir de exoesqueleto de camarón. Juan fernando lemus centes, ligia alejandra martínez zimeri, maria alejandra navarro, álvaro antonio posadas. 2007, universidad rafael landívar, boletín electrónico.

13. Producción de matrices de quitosano extraído de crustáceos. Diana marcela escobar sierra, carlos alberto urrea llano, mariana gutiérrez guerra, paola andrea zapata ocampo. 2011, paola andrea zapata ocampo, págs. 20-25.
14. Juan fernando lemus centes, ligia alejandra martínez zimeri, maria alejandra navarro,álvaro antonio posadas. Obtención y uso de quitosano para tratamientos dérmicos a partir de exoesqueleto de camarón. S.l : universidad rafael landívar, 2007. Boletín electrónico no. 07.
15. Biomaterials highlights. Heimke g. 1989, chem. Inter. E.d. Engl, págs. 28,518.
16. Biomaterials an introduction. Park j. B. 1979, plenum press , new york, pág. 187.
17. Journal of biomedical materials research. Yannas v., burke j. F., gordon p., huanh ., rubenstein r. G.,. 1980, págs. 14, 107.
18. Journal of biomedical materials research. Degalaskis n., flimk j., steiskelis p., burke j.f, yannas i.v.,. 1980, págs. 14,511.
19. Biomaterials medical applications. Lyman d.j., rowland s.m.,. 1989, wiley new york, págs. 203-204.
20. Aplicaciones clínicas de los biomateriales. Morales j. 1997, cyted, págs. 7-8.
21. Forming method for apatite prosthesis. Levitt s., crayton p., condrate r.,. 1969, j. Biomed mater res, pág. 683.
22. The biocompatibility and clinical uses of calcium phosphate ceramics in biocompatibility of tissue analogs. Williams, d.f. 1990, pág. 112.
23. González, maría magdalena méndez. Desarrollo de la porosidad en hidroxiapatita y en recubrimientos cerámicos para uso ortopédico. Mexico d.f : instituto politecnico nacional. Tesis para obtener el grado de doctor en tecnología avanzada, 2006.
24. Akao m., et al. Mechanical properties of sintered hydroxyapatite for prosthetic applications. S.l : j. Mater sci., 1981. Págs. 16,809.

25. Some aspect of crystal structure medeling of biological apatites in colloques internationaux du cnrs. Young, r. Francia : cnrs, 1975, cnrs, págs. 21,115.
26. Elliot j., p. Mackie. Monoclinic hydroxiapatite in colloques internationaux du cnrs. Physico-chimie et cristallographie des apatites d´ intérêt biologique. Francia : cnrs, 1969, págs. 35, 312.
27. Space group of human tooth-enamel crystals. Brés e.f., chems d., vincent r. And morniroli j. P. 1993, acta cryst, pág. 56.
28. The merch index 11 th . S.l : merck & co. Inc., 1989.
29. Bonding behavior between two bioactive ceramics in vivo. Kitsugi t., yamamuro t., nakamura t., kukubo t., takagi m., shibuya t., takeuchi h. And ono m. 1987, journal of biomedical materials research, págs. 1109-1123.
30. Preparation of porous hydroxyapatite tablets and porous hydroxyapatite coatings for orthopaedic use. Méndez-gonzález m., cauich j.v. 2001, bioceramics, págs. 192,195.
31. Growth of fibrous hydroxyapatite in the gel system. Kamimkua k., yoko t. , tanaka k., fujiyama j. 1989, j. Mater. Sci. ; mater in medicine, pág. 827.
32. Ann biomed. Alberktsoon t., branemark p. I., hannsson h. A., kasemo b., larsson k., lundstrom i., mcqueen d.h., salak r. 1989, eng., pág. 1.
33. Williams d.f. Biocompatibility of orthopedic implants. 1986. Págs. 1,56.
34. Chalenges in materials for health care applications. Williams d. F. 1989, chem. Adv. Mater, pág. 678.
35. Calcium phosphate biomaterials and bone mineral. Differences in composition, structures and properties. Rey c., r. 1990, biomaterials, pág. 13.
36. Porous hydroxyapatite as a bone-graft substitute in metaphyseal defects. Holmes r. E., buchoz r., money v.,. S.l : j. Bone, jt. Surg., 1986, j. Bone, jt. Surg., págs. 904,911.

37. Jonathan black, garth hastings. Handbook of biomaterial properties. London • weinheim • new york • tokyo • melbourne • madras : chapman & hall, 1998.
38. Martín martínez, j.m. And orgilés barceló. Adhesión. Tecnología y fundamentos. S.l : a. C., 2005.
39. Atmospheric pressure plasma treatment of polyethylene via a pulse dielectric barrier discharge: comparison using various gas compositions versus corona discharge in air. Lynch, j. B. 1999, journal of applied polymer science, págs. 319-331.
40. Investigation of the hydrophobic recovery of various polymeric biomaterials after 172 nm uv treatment using contact angle, surface free energy and xps measurements. O'connell c., sherlock r., ball m.d., aszalos-kiss b., prendergast u. And glynn t.j. 2009, applied surface science, págs. 4405-4413.
41. P.m., martin. Handbook of deposition technologies for films and coatings. 2010.
42. Martínez, j.m. Martín y barceló., a.c. Orgilés. Adhesión. Tecnología y fundamentos. S.l : inescop & universidad de alicante, 1992.
43. Modern plastics encyclopedia 1988". S.l : mcgraw-hill inc. Copyright, 1987.
44. G.l Schneberger. Adhesives in manufacturing. New york : marcel dekker, inc., 1983.
45. Sperling l.h. Introduction to physical polymer science 4° edicion. S.l : jhon wiley and sons publications, 2006.
46. Skoog douglas, leary james. Analisis instrumental 4° edición. México : mcgraw-hill, 1995.
47. Rouessac francis, rouessac annick,. Analisis químico , metodos y tecnicas instrumentales modernas. España : mcgraw hil, 2003.
48. Sórates g. Infrared characteristic groups frequencies, 2° edición. 1994.
49. Derecskei b., derecskei-kovacs a.,. Molecular dynamic studies of the compatibility of some cellulose derivatives with selected ionic liquids. 2006.

50. Www.accelrys.com. [en línea] [citado el: 25 de enero de 2013.]
[Http://http://accelrys.com/products/materials-studio/](http://http://accelrys.com/products/materials-studio/).
51. Adsorption and conformation of carboxymethyl cellulose at solid.liquid interface using spectroscopic, afm and allied techniques. Wang jing, somasundaran p. ., 2005, journal of colloid and interface science, págs. 75-83.
52. Caracterización estructural y morfológica de hidroxiapatita nanoestructurada: estudio comparativo de diferentes métodos de síntesis. A.b. Martínez-valencia, h.e. Esparza-ponce. 2008, sociedad mexicana de ciencia y tecnología de superficies y materiales, págs. 18-21.
53. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. M. Dash, f. Chiellini , r.m. Ottenbrite, e. Chiellini. 2010, elsevier.
54. Hidroxiapatita: obtenção, caracterização e aplicações. Costa, a. C. F. M., y otros. 2009, revista eletrônica de materiais e processos, págs. 29-38.
55. La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos. Margarita victoria garcía-garduño, josé reyes-gasga. 2006, redalyc, págs. 90-95.
56. Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón. H. Hernández cocoletzi, e. Águila almanza, o. Flores agustin, e.l. Viveros nava, e. Ramos cassellis. 2009, sociedad mexicana de ciencia y tecnología de superficies y materiales, págs. 57-60.
57. Polymer/silica nanocomposites: preparation, characterization, properties, and applications. Hua zou, shishan wu, jian shen. 2008, american chemical society, págs. 3893–3957.
58. Structure and interactions in chitosan hydrogels forme by complexation or aggregation for biomedical applications. J.berger, m. Reist, j.m. Mayers, o. Felt, r. Gurny. 2004, elsevier, págs. 35-52.

59. Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. J.berger, m. Reist, j.m. Mayers, o. Felt, r. Gurny. 2004, elsevier, págs. 19-34.
60. Heterogeneous catalysis on chitosan-based materials: a review. E.guibal. 2005, elsevier, págs. 71-109.
61. Chitosan composites with inorganics, morphogenetic proteins and stem cells, fore bone regeneration. Muzzarelli, riccardo a.a. 2011, elsevier, págs. 1433-1445.
62. Temperature and ph responsive polymers based on chitosan: applications and new graft copolymerization strategies based on living radical polymerization. A.s. Carreira, f.a.m.m. Goncalves, p.v. Mendonca, m.h. Gil, j.f.j. Coelho. 2010, elsevier, págs. 618-630.
63. Effects of degree of deacetylation and cross-linking on physical characteristics, swelling and release behavior of chitosan microspheres. K.c. Gupta, fawzi habeeb jabrail. 2006, elsevier, págs. 43-54.
64. Study of the effects os water when nanocrystalline cellulose and water molecules interact. Ali chami khazraji, sylvain robert.
65. Chemical and structural characterization of the mineral phase from cortical and trabecular bone. A. Bigi, g. Cojazzi, s. Panzavolta, a. Ripamonti, n. Roveri, m. Romanello, k. Noris suarez, l. Moro. 1997, elsevier, págs. 45-51.
66. Crack growth resistance in cortical bone:concept of microcrack toughening. D. Vashishth, j. C. Behiri and w. Bonfield. 1997, elsevier, págs. 763-769.
67. Development of nanocomposites for bone grafting. R. Murugan, s. Ramakrishna. 2005, elsevier, págs. 2385–2406.
68. Dynamic mechanical properties of cortical bone:. Ting wanga, zude feng. 2005, elsevier, págs. 2277 – 2280.

69. Effect of microstructure on the mechanical properties of haversian cortical bone. T. Hoc, l. Henry , m. Verdier , d. Aubry , l. Sedel , a. Meunier. 2005, elsevier, págs. 466–474.
70. Incompatible mechanical properties in compact bone. Currey, john. 2004, elsevier, págs. 569–580.
71. Dynamic fracture of bovine bone. Raghavendra r. Adharapurapu, fengchun jiang, kenneth s. Vecchio. 2006, elsevier, págs. 1325 – 1332.
72. Mechanical properties and the hierarchical structure of bone. Jae-young rho, liisa kuhn-spearing , peter zioupos. 1998, elsevier, págs. 92–102.
73. Mechanical properties of bovine cortical bone at high strain rate. F. Ferreira, m.a. Vaz , j.a. Simões. 2006, elsevier, págs. 71–79.
74. Tensile behavior of cortical bone: dependence of organic matrix. S.p. Kothaa, n. Guzelsu. 2006, elsevier, págs. 2-10.
75. The contribution of the organic matrix to. Burr, d. B. 2002, elsevier, págs. 8-11.
76. Tobolsky, a.v. Properties and structures of polymers. Nueva york : john wiley & sons, 1960.
77. Noller, carl r. Química orgánica. S.l : editorial interamericana, s.a., 1968.
78. Martínez, j.m. Martín y barceló., a.c. Orgilés. Adhesión y adhesivos de contacto. S.l : editorial: inescop & universidad de alicante., 1991.
79. Berrocal, l. Ortiz. Resistencia de materiales. Madrid : mcgraw hill, 1990.
80. Wegman, r. F. Surface preparation techniques for adhesive bonding. New jersey : noyes publications, 1989.
81. Lees, w.a. Adhesives in engineering desing. Londres : the design council, 1984.
82. Wake, w.c. Adhesion and the formulation of adhesives. S.l : editorial dekker, 1983.

83. Jastrzebski, zbigniew d. The nature and properties of engineering materials. New york : john wiley, 1987.
84. Modern plastics encyclopedia . S.l : mcgraw-hill, 1987.
85. Askeland d.r. Ciencia e ingenieria de los materiales 3a edición. México : international thomson editores, 1998.