



Universidad Autónoma
de Querétaro

Facultad de Ingeniería

**ELABORACIÓN DE UN MATERIAL
POLIMÉRICO A BASE DE PROTEÍNAS Y
MINERALES**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de:

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta:

Leticia Esmeralda Luna Rodríguez

Dirigido Por:

Dra. Esther Pérez Torrero

Santiago de Querétaro, Querétaro a enero de 2021.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ingeniería.

Especialidad en Ingeniería en Nanotecnología.

ELABORACIÓN DE UN MATERIAL POLIMÉRICO A BASE DE PROTEÍNAS Y
MINERALES

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el Grado de:

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA.

Presenta:

Leticia Esmeralda Luna Rodríguez.

Dirigido por:

Dra. Esther Pérez Torrero

Dra. Esther Pérez Torrero
Presidente

Firma

Dr. José Alberto Rodríguez Morales.
Secretario

Firma

M en I. Gerardo Antonio Fonseca Hernández
Vocal

Firma

Dr. Manuel Toledano Ayala
Director de la Facultad

Dra. Guadalupe Flavia Loarca Piña
Directora de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
enero de 2021
México

Dirección General de Bibliotecas UAQ

RESUMEN

Gracias a la nanotecnología, se ha dado apertura a la creación de materiales con propiedades que los hacen adecuados para múltiples aplicaciones. Una de las áreas de gran interés, es la biomedicina, que requiere materiales aptos para su uso en el organismo, lo que nos lleva a la búsqueda frecuente de materiales o combinaciones de estos, que además, presenten características mecánicas similares a las del sistema a reparar, mejorar o sustituir. Se desarrolló un material experimental en base polimérica, con la finalidad de evaluarlo con posibles aplicaciones en el área biomédica, y elaborado a partir de biomateriales de uso comercial. Se realizaron pruebas de espectroscopia IR, difracción de rayos-x, así como pruebas mecánicas bajo el modo de flexión y compresión con la finalidad de encontrar la mezcla más adecuada para elaborar un material reforzado mediante partículas de plata, para mejorar la resistencia. Los materiales elaborados durante este estudio, tienen características, que permiten utilizarlos para distintas aplicaciones en el área biomédica.

Palabras clave: Biomaterial, proteínas, polímeros, partículas metálicas, propiedades mecánicas.

DEDICATORIA

A mis sobrinos, para Aáron que has crecido tanto desde que comencé este camino y me has enseñado más de lo que te imaginas, quiero que sepas que puedes lograr lo que te propongas con tu creatividad y perseverancia, para Aranza, por ser esa pequeña que alegra cada uno de mis días, sé que todos tus sueños se harán realidad.

A mis abuelitas, Conchita y Agus, gracias por su cariño y por siempre creer en mí.

A todas las mujeres que lograron abrir una puerta en cada universidad, para todas.

*"Nuestros problemas son enormes
y necesitan las mejores mentes"
Michelle Obama*

AGRADECIMIENTOS

Gracias a la Facultad de Ingeniería de la Universidad Autónoma de Querétaro y en especial al personal de la carrera de Ingeniería en Nanotecnología, por todos los años en los que tuve un lugar en sus aulas y laboratorios.

Gracias a la Universidad Autónoma de México UNAM, al Centro de Física y Tecnología Aplicada, por su colaboración en el estudio presente, así como la oportunidad de realizar prácticas profesionales en esta institución. En especial al M. en I Gerardo Antonio Fonseca Hernández del Laboratorio de Pruebas Mecánicas, por el apoyo técnico y especializado en los ensayos mecánicos, que además fungió como sinodal de esta Tesis y al Doctor Eric Mauricio Rivera Muñoz del Laboratorio de Difracción de Rayos X.

A los doctores José Alberto Rodríguez Morales y Esther Pérez Torrero, sinodales del presente trabajo. A la Dra. Esther, que además de ser la directora de esta tesis, estuvo siempre al pendiente y me brindo su orientación como profesora y como persona, durante el desarrollo de la misma.

A todos los docentes de la carrera, que durante mi tiempo como estudiante me dejaron grandes aprendizajes en lo académico y lo personal.

Quiero agradecer a mi familia en especial a mis padres, Francisco y Leticia, que sin su apoyo, aliento y soporte, no hubiera logrado llegar a este punto en mi educación, gracias por su amor y comprensión.

A mis amigos y compañeros de la carrera de Ingeniería en Nanotecnología, que siempre estuvieron ahí para aprender y crecer juntos, a mis compañeras y amigas Ceci y Brenda, y a los compañeros de la primera generación (2010), en especial a Chayann E. Rubio Ruiz por su amistad y apoyo académico.

Y por último a Chris, por ser una de las mejores personas que he conocido, gracias por estar conmigo en cada paso dado, en cada obstáculo y siempre impulsarme a dar lo mejor de mí.

Contenido

ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 BIOMATERIALES	1
<i>1.1.1 Generaciones de los biomateriales.....</i>	<i>1</i>
<i>1.1.2 Clasificación de los biomateriales.....</i>	<i>2</i>
<i>1.1.3 Polímeros</i>	<i>4</i>
<i>1.1.4 Biomateriales para reemplazo de tejido óseo.....</i>	<i>12</i>
1.2 BIOMATERIALES EN LA INDUSTRIA.....	14
<i>1.2.1 Implantes y prótesis.....</i>	<i>14</i>
1.3 PROTEÍNAS	17
1.4 POLIMETILMETACRILATO.....	22
1.5 PARTÍCULAS COLOIDALES.....	24
1.6 EL TEJIDO ÓSEO.....	28
<i>1.6.1 Composición del hueso.....</i>	<i>30</i>
<i>1.6.2 Propiedades mecánicas del hueso</i>	<i>32</i>
2. JUSTIFICACIÓN.....	34
3. OBJETIVOS.....	36
3.1 OBJETIVO GENERAL.....	36
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	36
4. HIPÓTESIS.....	36
5. MÉTODOS Y MATERIALES	36
5.1 MÉTODO SOL-GEL.....	36

5.2 DENSIDAD.....	39
5.3 PRUEBAS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).....	40
5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X.....	41
5.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	43
5.6 PRUEBAS DE COMPRESIÓN.....	45
5.7 PRUEBAS DE FLEXIÓN.....	47
5.8 ADICIÓN DE PARTÍCULAS METÁLICAS.....	48
5.9 ANALISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS.....	49
6. RESULTADOS	49
6.1 DENSIDAD.....	49
6.2 PRUEBAS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR).....	49
6.3 PRUEBAS DE RAYOS X.	53
6.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO.....	55
6.5 PRUEBAS DE FLEXIÓN.....	58
6.6 PRUEBAS DE COMPRESIÓN.....	60
6.7 ADICIÓN DE PARTÍCULAS METÁLICAS.....	62
7. DISCUSIÓN	62
8. CONCLUSIONES	63
9. TRABAJOS CITADOS	66

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de los Biomateriales acorde a su origen. (Parida, Behera, & Chandra Mishra, 2012; Ali, Almaatoq, & Mohamed, 2013)	3
Figura 2. Clasificación de los polímeros acorde a sus propiedades físicas.....	10
Figura 3. Materiales usados en la elaboración de dispositivos protésicos externos. Modificado de (Quiroz, 2018).	17
Figura 4. Estructura 2D de la molécula de caseína (National Center for Biotechnology Information, 2020).....	20
Figura 5. Representación del PMMA en donde las flechas indican los carbonos que participan en los enlaces de polimerización. Modificado de (Bienfait & Ertl, 2013).....	23
Figura 6. Gráfica de porcentajes de los componentes principales de la parte orgánica e inorgánica del tejido óseo.	29
Figura 7. Diagrama estructural del hueso, la parte superior del diagrama representa el hueso compacto, la parte inferior nos muestra al hueso esponjoso, sin embargo, ambos tienen la misma composición. Modificado de (Boskey & Coleman, 2010).....	30
Figura 8. 1) Cadenas α entrelazadas ($d=15 \text{ \AA}$) . 2) Microfibras de colágeno ($d= 200-400\text{\AA}$). 3) Fibrillas (300-500 nm). 4) Fibras ($d= 4-12 \text{ }\mu\text{m}$). 5) Conjunto de Fibras. Modificado de (Vogler, 2009).	31
Figura 9. Representación de la dispersión en las partículas de un sol y un gel. ...	37
Figura 10. Proceso de Sol-Gel y ejemplo de geles que se pueden obtener (Aegerter, Leventis, & Koebel, 2011).	38
Figura 11. Diagrama del proceso de preparación de muestras para su observación mediante SEM.....	44
Figura 12. a) Muestra previa a la compresión. b) Muestra que ha sufrido un cambio en su tamaño debido a la compresión aplicada.	45
Figura 13. Muestras preparadas para la prueba de compresión en los moldes de acuerdo a la normativa ASTM. Diámetro de 8mm y longitud de 16 mm.	46
Figura 14. Probeta en el equipo durante la prueba de compresión.....	46

Figura 15. Molde estandarizado con mezcla para pruebas de flexión.....	48
Figura 16. Probeta en el equipo durante prueba de flexión a tres puntos.	48
Figura 17. Imágenes obtenidas mediante SEM. Las fotografías corresponden a la muestra de caseína. a) Vista a escala de 10 μ m. b) Escala de 100 μ m.....	55
Figura 18. Imágenes obtenidas mediante SEM de PMMA. Vista a escala de 20 μ m.	56
Figura 19. Imágenes Col-Mx a diferentes escalas, obtenidas mediante SEM a), b) y d) Vista a escala de 10 μ m. c) Vista a escala de 10 μ m.	56
Figura 20. Imágenes de la mezcla Cas-Mx, obtenidas mediante SEM. a) y b) Vistas a 100 μ m. c) y d) Vistas a 20 μ m.	57

Dirección General de Bibliotecas UAQ

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Espectro IR de polimetilmetacrilato. Se observan los picos correspondientes a los grupos funcionales del PMMA.....	50
Gráfica 2. Espectro IR de colágeno. Se observa el patrón característico para los grupos funcionales del colágeno, en este caso, correspondientes a colágeno tipo 1, obtenido de piel de bovino.....	51
Gráfica 3. Espectro IR de caseína. El patrón coincide con el descrito para los grupos funcionales correspondientes a la caseína.....	52
Gráfica 4. Difractogramas de colágeno (rojo), caseína (verde) y polimetilmetacrilato (negro).	53
Gráfica 5. Difractograma de hueso de rata Wistar con 15 semanas de edad (negro). Comparativa con Hidroxiapatita sintética (rojo).	53
Gráfica 6. Difractograma de Rayos X para la Mezcla de Minerales de grado alimenticio.	54
Gráfica 7. Gráfica de comparación entre el difractograma para las mezclas Col-Mx, Cas-Mx y mezcla de minerales, con hidroxiapatita sintética.	54
Gráfica 8. Comparación entre los diferentes materiales, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.	58
Gráfica 9. Módulo de Young de los diferentes materiales, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.	58
Gráfica 10. Medición del esfuerzo máximo para las diferentes mezclas, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.....	59
Gráfica 11. Comparación del porcentaje de deformación máxima, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.	59
Gráfica 12. Gráfica comparativa de la Fuerza máxima que soportan los materiales PMMA y Cas-Mx.	60
Gráfica 13. Fuerza Final de la prueba de compresión.....	61
Gráfica 14. Peso aplicado que se interpreta como fuerza por metro.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades Mecánicas de algunos biomateriales usados en el reemplazo de hueso.....	13
Tabla 2. Materiales utilizados como implantes de hueso y su densidad.	14
Tabla 3. Clasificación de los injertos acorde a su origen.....	15
Tabla 4. Componentes de la leche de bovino.	18
Tabla 5. Proporción de tipos de caseína en leche de bovino.	19
Tabla 6. Propiedades Físicas del Hueso.....	33
Tabla 7. Composición y clave de las muestras	38
Tabla 8. Componentes de la mezcla de minerales AIN-93.	39
Tabla 9. Datos de Densidad.....	49

INTRODUCCIÓN

1.1 BIOMATERIALES

Los biomateriales son materiales diseñados para entrar en contacto con tejido vivo, sin afectar o verse afectado por el mismo, esto con finalidades terapéuticas o para completar al tejido.

Algunos de los biomateriales en realidad no fueron diseñados con este fin, sin embargo, al notar sus propiedades de biocompatibilidad se ha buscado para aplicaciones en humanos y animales.

Podemos interpretar la biocompatibilidad de un material como la aceptabilidad biológica del material por el organismo del paciente (Piña Barba, 2010). Es decir, el cuerpo o tejido receptor no debe sufrir respuestas contradictorias.

1.1.1 Generaciones de los biomateriales

Los biomateriales, se han utilizado durante décadas, sin embargo, estos han evolucionado a través del tiempo, teniendo diferentes objetivos en cada generación, podemos agruparlos en función a las características de bioinercia, biotolerancia, bioactividad y biocompatibilidad, en cuatro diferentes generaciones.

La primera de estas generaciones, se caracterizaba por generar materiales que sirvieran como un reemplazo del miembro, tomando en cuenta solo la bioinercia, que es la propiedad de un material que crea una capa entre el tejido vivo y el mismo.

La segunda generación, comenzó a preocuparse por las propiedades químicas y físicas del biomaterial, considerando principalmente, materiales bioinertes o bioactivos. Los segundos, se caracterizan por ayudar al organismo mediante una función específica.

La tercera generación, incorpora conocimientos de diversas áreas, con la finalidad de lograr un biomaterial bioactivo, que ayude a la reparación del tejido funcional y que una vez que ha cumplido esto, se incorpore al tejido o bien se degrade sin causar efectos secundarios.

Junto con las características de esta última, la cuarta generación, busca una respuesta celular adecuada, además, permite el paso de nutrientes. Dentro de estos biomateriales, encontramos los conocidos como biomiméticos, ya que, imitan los procesos fisiológicos.

Para las nuevas generaciones de dispositivos médicos, es de gran importancia que el organismo logre repararse, o bien, que el dispositivo cumpla la función de la pieza a reparar. Por ello, han surgido diferentes tecnologías multidisciplinarias, como los biomateriales, factores de crecimiento y cultivos celulares, todas estas, forman parte de la ingeniería de tejidos (Velasco Peña & Garzón Alvarado, 2010).

1.1.2 Clasificación de los biomateriales

Al momento de diseñar un dispositivo médico, una prótesis, un marcapasos, etc., la persona o equipo a cargo, deben considerar las propiedades que quieren que esté presente, la facilidad para fabricarlo y disponer del biomaterial esencial, por ello, es necesario tener una clasificación como referencia en donde podamos agrupar los distintos tipos de biomateriales en un grupo con características similares.

Dentro del área de biomateriales, encontramos distintas clasificaciones para los mismos, dentro de estas, se encuentra la clasificación por su tipo, esta toma en cuenta las propiedades físicas y químicas de los biomateriales y se divide en metales y sus aleaciones, polímeros, cerámicos y compositos.

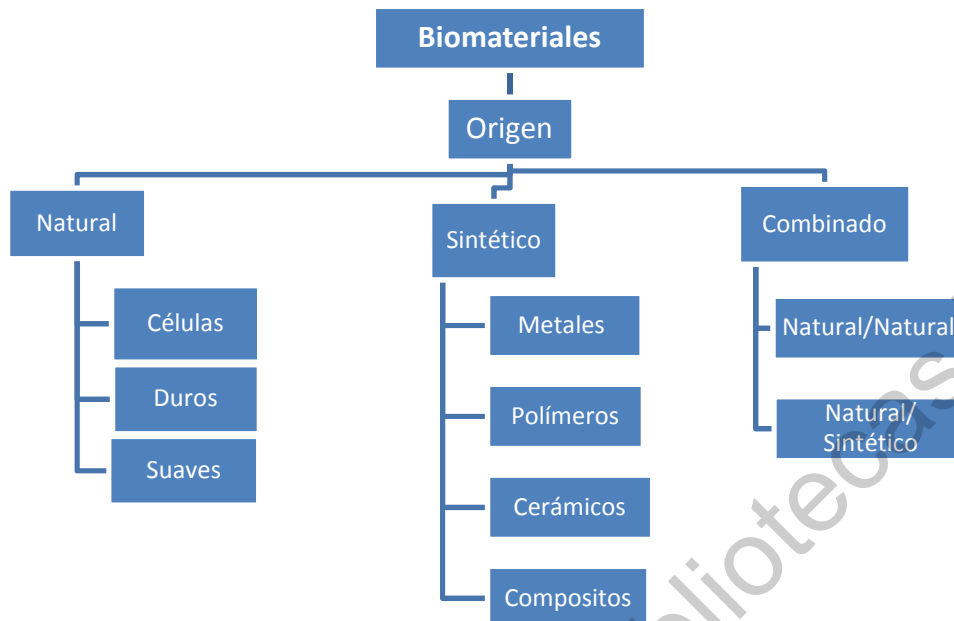


Figura 1. Clasificación de los Biomateriales acordé a su origen. (Parida, Behera, & Chandra Mishra, 2012; Ali, Almaatoq, & Mohamed, 2013)

Los metales, a su vez, se pueden dividir en bioelementos y biomateriales metálicos. Los primeros, son aquellos que el organismo necesita para llevar a cabo sus procesos de forma eficiente. Los biomateriales metálicos son los que se han elaborado con la finalidad de ser utilizados en algún tratamiento médico.

Los biomateriales metálicos mantienen un enlace tipo metálico, tienen en común su dureza, resistencia y el hecho de que son bioinertes en su mayoría. Los biomateriales metálicos se utilizan principalmente como prótesis para el sistema óseo.

Los cerámicos por su parte, son duros, frágiles, pueden soportar temperaturas altas y visualmente parecidos al hueso. Además, se ha logrado encontrar biocerámicos que sirven como cimientos para la formación de hueso.

Los polímeros pueden ser moléculas provenientes del mismo organismo o sintetizadas en el laboratorio. Su principal característica es el hecho de presentar

cadena larga, en cuanto a sus propiedades físicas, varían mucho de un material al otro.

Por último, tenemos los composites, estos materiales son una mezcla de dos tipos de material, se forman por una matriz (generalmente metálica) y fibras que recubren a la misma (polimérica en su mayoría), estos materiales son de gran importancia, ya que, sus propiedades químicas, físicas y biológicas de la matriz se ven modificadas y mejoradas.

1.1.3 Polímeros

Los polímeros son macromoléculas conformadas por unidades de menor tamaño que se repiten constantemente, estas moléculas se conocen como monómeros. La IUPAC, define a las macromoléculas, como moléculas de relativamente alto peso molecular compuestas por moléculas de relativamente bajo peso molecular. En donde, si uno de los monómeros es removido, el polímero no sufrirá cambios drásticos en sus propiedades, exceptuando algunos polímeros (IUPAC, 1996).

Los polímeros son una familia de materiales muy diversos entre sí, por lo que, sus usos se han diversificado bastante. A lo largo de la historia, estos se han utilizado en la industria textil, en la fabricación de recubrimientos como el teflón y en la actualidad se utilizan en la industria electrónica como semiconductores y en la creación de emisores de luz.

Existen dos métodos básicos para la creación de polímeros sintéticos, uno de ellos es la polimerización en etapas en donde esta ocurre mediante la unión de dos monómeros con un grupo funcional distinto, estos grupos reaccionan entre sí, dando como resultado un tercer grupo y una molécula pequeña (en algunas ocasiones). Este nuevo grupo funcional se sigue repitiendo a lo largo de la cadena.

El otro tipo de reacciones de obtención de polímeros, son las reacciones en cadena, son aquellas que presentan las etapas de iniciación, propagación, transferencia y terminación. La etapa de iniciación puede contener un grupo activo o bien un compuesto con un radical libre que comienzan la propagación de la cadena al reaccionar, en la transferencia el grupo funcional cambia de una cadena a otra, lo cual genera ramificaciones y la terminación se da por combinación del grupo funcional o por la deficiencia en el reactivo limitante.

Gracias a las ciencias como la nanotecnología, la ingeniería de tejidos, la biomedicina y otras, se han encontrado diversos polímeros que tienen aplicaciones como dispositivos médicos, o piezas para implantes.

Sin embargo, debido a las diferencias entre un polímero y otro, es necesario conocer las propiedades específicas del polímero que utilizaremos. Las principales propiedades químicas de los polímeros como son, el grado de polimerización (que está ligado al peso molecular y la longitud de cadena), la temperatura de transición vítrea y su grado de cristalinidad, es decir, el arreglo de sus cadenas (Coreño Alonso & Méndez Bautista, 2010).

Para hablar de los polímeros, es necesario hacer hincapié en sus enlaces químicos, en los polímeros predominan los enlaces covalentes y se presentan fuerzas intermoleculares, estas son las uniones físicas entre las moléculas y son de menor fuerza que los enlaces atómicos.

Estas uniones entre moléculas, se rigen por las cargas parciales de los átomos que se encuentran en las mismas, en el caso de los polímeros las fuerzas intermoleculares presentes serán los puentes de hidrógeno y las fuerzas de Van der Waals (Coreño Alonso & Méndez Bautista, 2010).

Para que exista un puente de hidrógeno debe existir un átomo de hidrogeno enlazado covalentemente a un átomo cuya electronegatividad es elevada, como el

nitrógeno, oxígeno o flúor. Este átomo de hidrógeno tendrá una carga parcial positiva, que será atraída hacia un átomo diferente de densidad electrónica elevada, creando una unión. Dicha unión, se denomina puente de hidrógeno y se considera dinámica, ya que, en un sistema, estas interacciones están en constante formación, pero igual se rompen (Cesteros Iturbide, 2004).

Las fuerzas de Van der Waals son diferentes tipos de interacciones entre átomos con distintas cargas parciales y se clasifican como dipolo-dipolo, dipolo- dipolo inducido y dipolo instantáneo- dipolo inducido o fuerzas de London.

Es necesario establecer que es un dipolo, cuando tenemos dos o más átomos unidos por enlace covalente polar, estos tendrán una carga parcial asociada, sea positiva o negativa acorde a su electronegatividad. A esto le llamamos dipolo, debido a que, cada parte del enlace tendrá cierta polaridad (Torres, y otros, 2005).

Dipolo-dipolo: es la que se da entre dos moléculas que poseen dipolos en ellas, al estar cercanas el átomo con una carga parcial positiva se ve atraído hacia la carga parcial negativa del átomo de la molécula vecina, sin romper su enlace covalente.

Dipolo-dipolo inducido: un dipolo permanente al entrar en contacto con una segunda molécula, puede inducir un momento dipolar en esta, generando este tipo de unión, que es de menor fuerza que la de dipolo-dipolo.

Dipolo instantáneo-dipolo inducido: También se denomina fuerzas de London, en una molécula los electrones pueden estar en constante movimiento, lo que puede llegar a producir dipolos en la misma, esto al encontrarse cerca de una segunda molécula induce un dipolo con el que interactúa.

En los hidrocarburos, mientras mayor sea el número de átomos, también aumenta el número de este tipo de interacción y con ello se afectan algunas de sus propiedades, como son el estado de agregación en el que se encuentran a

temperatura ambiente, la solubilidad de los mismos, las propiedades térmicas y mecánicas, etcétera.

Un ejemplo de esto, lo tomaremos de la familia de los alcanos en donde los primeros 5, son gases a temperatura ambiente; los que poseen de 5 a 17 átomos de carbono en su cadena, son líquidos a temperatura ambiente y los que tienen más carbonos los encontraremos en estado sólido.

Además de las fuerzas intermoleculares, el grado de polimerización, es uno de los factores que afectan en gran medida las propiedades físicas de los polímeros. Este se define como la medida de la longitud de las cadenas poliméricas (Coreño Alonso & Méndez Bautista, 2010) y está ligado directamente al peso molecular del mismo.

El grado de polimerización se ve afectado por el tipo de síntesis por el que se pretende obtener el polímero deseado, ya sea que la cadena polimérica tenga un crecimiento dependiente del tiempo de síntesis o que el crecimiento se determine por la disposición de grupos reactivos en el entorno de la cadena (Beltrán, 2011).

Como consecuencia de ello, en una síntesis, el polímero final, tendrá una diferente distribución de grado de polimerización entre sus diferentes cadenas. A esto se le conoce como índice de polidispersidad, este es el cociente entre el peso molecular promedio en peso y el peso molecular promedio en número, al ser mayor a 1, este refleja mayor dispersión en las cadenas del polímero (Hernandez G. & Aguirre C., 2005).

A su vez, el peso molecular promedio en número, nos ayuda a determinar la resistencia del polímero, esto se debe a que, a mayor número de monómeros en una misma cadena, las fuerzas de Van der Waals tienen un incremento, lo que, ayuda a que las moléculas (monómeros) del polímero se entrelacen y tengan una mayor resistencia.

Una característica importante es el grado de cristalinidad, este depende directamente del acomodo de las cadenas del polímero que pueden formar regiones cristalinas que son las ordenadas y regiones amorfas, que son aquellas que sus cadenas están en completo desorden. Así surge otra clasificación para los polímeros acorde a su grado de cristalinidad, en donde encontramos a los semicristalinos y los polímeros amorfos.

En el caso de los polímeros semicristalinos, se han propuesto diferentes modelos estructurales, ya que, estos poseen tanto partes cristalinas como amorfas, en la actualidad existe un modelo que considera una región cristalina, una interfacial y una amorfa. La región interfacial, es la parte que se encuentra entre las regiones amorfa y cristalina (Benavente, 2007). Esta propiedad, la cristalinidad, tiene como consecuencia polímeros resistentes y rígidos, además, estas regiones, aumentan la dispersión de luz en el polímero, lo que vemos reflejado en la opacidad de los mismos.

Los polímeros amorfos, como se mencionó anteriormente, son aquellos cuyas cadenas se unen sin tener un ordenamiento específico, esto puede producirse al momento de la síntesis, ya sea por un porcentaje de copolímeros alto, por la creación de ramificaciones en el polímero o polímeros cuyo grupo funcional está distribuido en diferentes partes de la cadena principal. Las regiones amorfas son las responsables de que tengamos polímeros con flexibilidad y tenacidad.

En las regiones amorfas, encontramos una característica distintiva de los mismos, que es la temperatura de transición vítrea. La temperatura de transición (T_g) vítrea es un punto en el que una fase amorfa que es rígida, dura y frágil (estado vítreo), cambia a un estado viscoelástico o blando (López Beceiro, 2011; Pineda Manzano, 2009).

Este fenómeno ocurre principalmente cuando el polímero es enfriado a una temperatura menor que la temperatura de transición vítrea y posteriormente se calienta hasta llegar a la misma. La T_g , es una propiedad, tanto de, polímeros amorfos, como de semicristalinos.

En el caso de estos últimos, además de la T_g , encontramos la temperatura de fusión, que es una propiedad que corresponde a las zonas cristalinas de dicho polímero.

La temperatura de fusión (T_f) de un polímero, es la temperatura en la que sus zonas cristalinas funden. Por lo general, cuando el polímero semicristalino tiene una T_g alta, su T_f también será alta. Los factores que afectan a la temperatura de transición vítrea, son los mismos que afectan a la temperatura de fusión.

Entre estos factores se encuentran las ramificaciones de los polímeros, las fuerzas de Van der Waals y los puentes de hidrógeno, la flexibilidad de la cadena, el volumen libre en la molécula y el entrecruzamiento.

Esto se debe a que, mientras menor sea la posibilidad de que las moléculas tengan movimiento, la energía necesaria para que esto pase será mayor, lo que genera temperaturas de fusión y de transición vítrea mayores. En los polímeros cristalinos, el mejor empaquetamiento hace que estos módulos sean mayores (Coreño Alonso & Méndez Bautista, 2010).

Como resultado de la temperatura de transición vítrea, los polímeros pueden tener diferente comportamiento mecánico, lo que propone una clasificación de los mismos en tres tipos que se presentan en la Figura 2 (Coreño Alonso & Méndez Bautista, 2010).

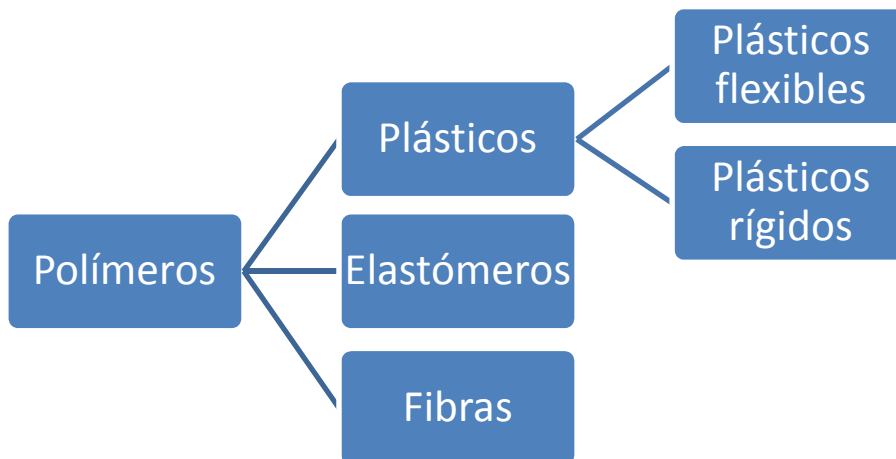


Figura 2. Clasificación de los polímeros acorde a sus propiedades físicas.

Para poder entender de mejor forma esta clasificación, es necesario hablar sobre las propiedades mecánicas que poseen los materiales en específico los poliméricos.

La resistencia es una de las propiedades mecánicas que poseen los materiales, se podría ver como la tensión necesaria para que el material tenga una ruptura. Sin embargo, la aplicación de estas fuerzas se puede deber a diferentes causas. Como resultado de ello, la resistencia se considera dependiendo a ello.

Podemos entonces tener la resistencia a la tensión, que se da cuando existen cargas axiales que alargan al polímero. En la resistencia a la compresión, estas cargas pretenden compactar al material. La resistencia a la flexión, es cuando un polímero soporta cargas que provocan momentos flectores en su sección transversal, cuando esta sección soporta momentos torsores entonces el material es resistente a la torsión.

Otra característica relacionada a la resistencia, es la tenacidad de un material, en donde el material sufre un impacto y lo resiste. Es decir, el material absorbe la energía de dicho impacto sin sufrir un daño.

La propiedad de la elongación es lo que describe el comportamiento del material antes de llegar a su resistencia límite, es un tipo de deformación que se debe a la tensión en un material, cuando este sufre un alargamiento. Esta se mide mediante un porcentaje de alargamiento.

Existen dos tipos de elongación, que es la final, cuando la muestra sufre una deformación que no es reversible y la elongación elástica, en la que la muestra sufre el alargamiento y regresa a longitud original.

Por otro lado, la resistencia a tener una deformación de parte de un material, se conoce como módulo de elasticidad. Si una muestra tiene un alto módulo de elasticidad, es muy resistente a la deformación, mientras que si el módulo es bajo, la muestra se puede deformar fácilmente.

Una vez que se definen estas propiedades, es posible explicar las características de los polímeros enunciados en la figura 5.

Los elastómeros o elásticos son aquellos cuya estructura puede ser deformable mediante una fuerza externa, y regresar a su forma y tamaño de reposo. Estos poseen una estructura amorfa, y un porcentaje de elongación de hasta 1000%.

Los plásticos flexibles, pueden ser amorfos o semicristalinos, tienen bajo módulo, una baja resistencia tensil y una elongación menor que los elastómeros, pero sus cadenas moleculares siguen siendo flexibles.

Los plásticos rígidos, tienen un módulo que va de 70 000 a 350 000 N/cm², lo que se considera alto, también son resistentes a la tensión y muy poco flexibles, esto se refleja en su baja capacidad de elongación, y principalmente se debe a que, la mayor parte de las cadenas en su estructura están entrecruzadas.

Por último, encontramos a las fibras, que son estructuras en donde las cadenas poliméricas se alinean a lo largo de un eje, mostrando mejores propiedades mecánicas en la misma, mientras que, en la dirección perpendicular, estas propiedades decrecen.

Las fibras poseen una alta resistencia tensil (mayor que los plásticos rígidos), alto módulo ($>35\ 000\ \text{N/cm}^2$) y no tienden a deformarse. Su estructura es semicristalina, la mayor parte de las regiones son cristalinas.

Gracias a estas variaciones en cuanto a estructura, interacción de las fuerzas moleculares, ramificaciones y demás, los polímeros son una familia de materiales bastante amplia, lo que nos brinda la oportunidad de encontrar las propiedades que se requieren en algún material polimérico.

1.1.4 Biomateriales para reemplazo de tejido óseo

Con la finalidad de encontrar el material más apto para el reemplazo médico, podemos encontrar una división en el tipo de tejido que se busca reparar o sustituir, así, denominamos como "tejido blando" (Soft tissue en inglés) a la piel, tendones, ligamentos y algunos órganos internos y "tejido duro" (Hard tissue en inglés) a los huesos y dientes.

En el caso del sistema óseo, este se ha visto afectado especialmente por el ritmo de vida en la actualidad, las enfermedades, los accidentes e incluso las guerras, han provocado que muchísimas personas, pierdan alguna extremidad o sufran lesiones en los huesos.

El sistema óseo es de gran importancia, ya que, este es el encargado, de brindar soporte al organismo y protección a los órganos internos, además, en el caso de las extremidades, estas son de gran importancia para llevar una mejor calidad de vida e independencia.

Tabla 1. Propiedades Mecánicas de algunos biomateriales usados en el reemplazo de hueso.		
Material	Módulo de Young (GPa)	Resistencia a la Ruptura (MPa)
Caucho Sintético	0.004	10-12
Acero	193	480-655
Cobalto (aleación)	195	655-1400
Platino (aleación)	147	152-485
Titanio (aleación)	100-105	550-680
Hidroxiapatita	19	600
Óxidos	160-1400	90-380(GPa)
(Silver, 1994)		

Por otro lado, las piezas dentales de igual forma, son parte de este tejido, por lo tanto, se busca que los biomateriales utilizados no solo cumplan con las expectativas mecánicas de los dientes, también se espera que su aspecto sea similar.

Los materiales utilizados como reemplazo de tejido óseo, deben de poseer un equilibrio entre flexibilidad y resistencia, no deben sufrir deformación plástica y no deben de presentar memoria de flexión, esto se debe a que el tejido óseo es el encargado de soportar las cargas.

Dentro de los materiales utilizados para soporte de carga, los principales son cerámicos y metales, como podemos observar en la Tabla 1, sin embargo, los polímeros y composites han cobrado fuerza en esta área aportando nuevas ventajas a los biomateriales.

De igual forma la densidad de los mismos es de gran importancia, se recomienda que el material tenga una densidad aproximada a la del tejido a sustituir, en este

caso nos ayudará prevenir lesiones por decúbito, relacionadas a la presión en los tejidos blandos (Urzua, 1993). Como podemos apreciar en la Tabla 2, los metales y sus aleaciones, son los materiales con mayor densidad, mientras que los polímeros, se encuentran por debajo de estos.

Tabla 2. Materiales utilizados como implantes de hueso y su densidad.

Material	Densidad (g/cm³)
Aleaciones con base Paladio	10.8
Aleación Cromo-Cobalto	8.50
Cromo	7.19
Zirconia	6.10
Titanio	4.51
Aleación Titanio-Aluminio-Vanadio (Ti-6Al-4V)	4.40
Alúmina	3.85
Hidroxiapatita	3.16
Cemento de Fosfato de Zinc	2.59
Cemento de Hidróxido de calcio	1.90
Metil metacrilato	0.94
Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular	.0945

(AZoM, 2002)

1.2 BIOMATERIALES EN LA INDUSTRIA

1.2.1 Implantes y prótesis

Un injerto, es la incorporación de un material, tejido u órgano, al cuerpo, con la finalidad de reemplazar una parte dañada, para ello existen dos partes, la receptora y donante. El autoinjerto es el que se utiliza mayoritariamente en el caso del tejido óseo.

Sin embargo, se sometería a dos procesos quirúrgicos al paciente, además de qué, al tener una lesión mayor, el hueso no sería suficiente. Al utilizar un cerámico

o metal para realizar la implantación, se pretende que este realice funciones de locomoción así como la protección para órganos vitales.

Tabla 3. Clasificación de los injertos acorde a su origen.

Tipo de Injerto	Origen
Autoinjerto	Donante y receptor son el mismo individuo.
Isoinjerto	Donante y receptor son individuos genéticamente idénticos.
Alloinjerto u homoinjerto	Donante y receptor son de la misma especie.
Xenoinjerto o heteroinjerto	Donante y receptor son de especies diferentes.
Implante	Es un injerto producido en un laboratorio o de manera serial. No proviene de un donante.

(Hennessey, López Noriega, & Sámano Osuna, 2005)

Se debe considerar, entonces, que los implantes de biomateriales, cuenten con las características mecánicas de dicho tejido, además de que las superficies en contacto con el tejido deben ser biocompatibles, presentar poca corrosión y baja toxicidad tanto el material como sus posibles productos de degradación, esto en prótesis internas.

Posterior al proceso de implantación, nos encontramos con la etapa de cicatrización, que es el periodo en el que el hueso circundante acepta el implante y ocurre mediante osteoinducción, osteosustitución u osteoconducción.

La osteoinducción, es la propiedad de un biomaterial de proporcionar proteínas inductivas para la estimulación de la osteogénesis (proceso de formación de hueso nuevo). La osteosustitución, se da cuando un material es biodegradable, permitiendo al tejido su reemplazo por este mismo. La osteoconducción se obtiene cuando el material tiene propiedades que lo hacen una matriz óptima para el crecimiento de hueso nuevo.

Acordé a esto, la ingeniería de tejidos a buscado que los materiales utilizados en los implantes para tejido óseo cumplan al menos una de estas características, se han utilizado metales, polímeros y cerámicos con esta finalidad.

Los materiales utilizados como injertos de tejido óseo, deben de poseer un equilibrio entre flexibilidad y resistencia, no deben sufrir deformación plástica y no deben de presentar memoria de flexión, esto se debe a que el tejido óseo es el encargado de soportar las cargas.

Dentro de los materiales utilizados para soporte de carga, los principales son cerámicos y metales, sin embargo, los polímeros y compositos han cobrado fuerza en esta área aportando nuevas ventajas a los biomateriales.

Existen partes del cuerpo en las que podemos utilizar implantes en base a biomateriales, como la cadera, una fractura pequeña, dientes, etc., sin embargo, en el caso de las extremidades existe posibilidad de una pérdida total del área, como puede ser en un accidente automovilístico o en el caso de una amputación por enfermedad.

La medicina actual se sigue apoyando en el uso de prótesis externas, en especial para los pacientes que han perdido alguna extremidad, esto principalmente por las condiciones del área a reemplazar.

Una prótesis es una estructura que busca reemplazar una fracción o la totalidad de una parte del cuerpo humano, realizando al mismo tiempo, las funciones básicas del mismo. En la actualidad, además se busca que las prótesis tengan una estética similar a la del miembro a sustituir (Meneses, Rios, & Valderrama, 2017). En la Figura 3, podemos observar, los polímeros utilizados para el diseño de prótesis externas y cuál es su uso, es decir, si cumplen la función de carga o de ajuste.

En países que se encuentran en vías de desarrollo, muchos de los materiales que se han desarrollado para la creación de prótesis, no están al alcance económico del paciente, siendo las prótesis de fibra de vidrio/poliuretano (GF/ HDPE) las más accesibles, sin embargo, estas sacrifican la comodidad del paciente, la función mecánica de la misma y tienen limitantes de fabricación (Scholz, y otros, 2011).



Figura 3. Materiales usados en la elaboración de dispositivos protésicos externos. Modificado de (Quiroz, 2018).

1.3 PROTEÍNAS

Como se menciona en la clasificación de biomateriales, Figura 1, los biomateriales de origen natural pueden ser células, tejidos duros o suaves. Dentro de esta última clasificación, encontramos a las proteínas y sus diversas estructuras.

El uso de biomateriales de origen natural, nos trae diferentes beneficios, como una nula toxicidad para el organismo huésped, la posibilidad de tener una función benéfica y en algunos casos, se puede generar un biomaterial que tenga una degradación natural por medio del organismo (Ali, Almaatoq, & Mohamed, 2013).

Las proteínas, son moléculas poliméricas presentes en todos los organismos vivos, realizando funciones de transporte, estructura, catálisis, como receptoras de información, reguladoras de procesos bioquímicos y en el sistema inmunológico.

Gracias a la diversidad de las mismas, así como su origen, la ciencia de los materiales ha encontrado en estas biomoléculas una oportunidad para modificar y mejorar los biomateriales actuales.

La leche es una sustancia que se genera naturalmente en las hembras de diferentes especies, incluida la humana, esta tiene una gran aplicación en la elaboración de productos para la industria alimenticia, sin embargo, los componentes de la misma, por si solos, pueden tener diversos fines.

Dentro de estos componentes, destacaremos las proteínas, como podemos observar en la Tabla 4, estas forman un promedio del 3.4% de los componentes de la leche, y a su vez, el 80% de las proteínas, es caseína. La caseína se clasifica dentro de las fosfoproteínas, es decir, contiene un grupo fosfato, como podemos apreciar en la Figura 4.

Tabla 4. Componentes de la leche de bovino.	
Agua	85.3-88.7%
Proteínas (Principalmente Caseína)	2.3-4.4%
Azúcares (Lactosa)	3.8-5.3%
Grasas	2.5-5.5%
Minerales	0.57-0.83%
(Walstra, Wouters, & Geurts, 2005)	

La caseína, se compone por diferentes fracciones, que se denominan α -caseína (que se divide a su vez, como α_{s1} -caseína y α_{s2} -caseína), β -caseína, γ -caseína y

κ -caseína. Los diversos tipos de caseínas tienen pesos moleculares entre 19 000 y 23 900 y varían en la composición de aminoácidos. En la Tabla 5 podemos observar los porcentajes en los que las encontramos en leche de bovino.

Tabla 5. Proporción de tipos de caseína en leche de bovino.	
α -caseína	48%
β -caseína	36%
κ -caseína	13%
γ -CN	3%
	*El γ -CN alguna literatura solo lo menciona como un componente minoritario
(Audic, Chaufer, & Daufin, 2003)	

En la leche, las moléculas de caseína se encuentran en forma de micelas, esto debido a los fragmentos de fosfato de calcio amorfo que le confieren estabilidad, además de la κ -caseína que es la que se encuentra en la superficie de la micela (Schulte, Stöckermann, & Gebhardt, 2020). Por otro lado, la estructura de la caseína depende del ambiente fisicoquímico que la rodea (Holt, Carver, Ecroyd, & Thorn, 2013).

Esta proteína se produce o se obtiene por medio de la precipitación ácida o enzimática (Becerra López & Paz Rueda, 2009), dentro del proceso de elaboración del queso, se puede obtener esta como subproducto, sin embargo, debe llevarse a un proceso de lavado para eliminar grasas, seroproteínas, sales y lactosa.

Otra forma de obtención de la caseína, es por medio de una membrana de filtración, a partir del suero de la leche, algunas de las proteínas que esta contiene y la caseína, se separan de la lactosa y minerales, quedando las primeras en la membrana, posteriormente estas se separan por microfiltración con membrana (Guo & Wang, 2016).

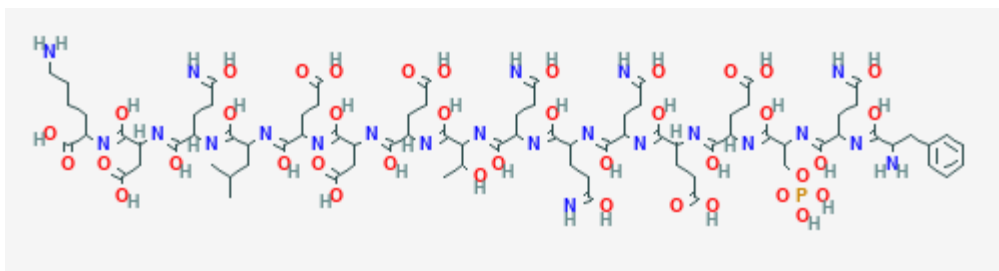


Figura 4. Estructura 2D de la molécula de caseína (National Center for Biotechnology Information, 2020).

Tradicionalmente, la caseína se utiliza ampliamente en diferentes industrias, de las cuales cabe mencionar su uso en la elaboración de maquillaje, como pegamento y dentro de la industria de construcción, ya que, esta se añade para elaborar cementos. Sin embargo, siempre es un componente secundario, que se agrega junto con otros reactivos, lo que la hace poco importante dentro de los procesos.

Además, la caseína se puede utilizar en la elaboración de plásticos duros y flexibles, esto depende del proceso que se lleve a cabo. Los plásticos duros de caseína se obtienen al endurecer a la misma con formol. Mientras que los plásticos flexibles se logran al tratar la caseína con hidróxido cálcico o hidróxido sódico.

Su uso como biomaterial se relaciona directamente con estas últimas aplicaciones, ya que, se ha utilizado en la creación de películas comestibles, con la finalidad de empaquetar alimentos sin producir contaminantes.

Participa en la absorción de calcio, hierro y zinc, por lo que, en la actualidad se utiliza como biomaterial en la intervención dental. También se ha utilizado en forma de fosfato de calcio amorfo en la elaboración de productos para la salud bucal, ya que, está relacionado con la fijación de iones de calcio. Se utiliza como pasta dental, en prótesis dentales junto a otros componentes, materiales limpiadores y demás productos (Simeone Giordano, 2010).

En la actualidad, existen artículos en los que se ha utilizado la caseína como parte de material de reemplazo de tejido óseo y cartílago, sin embargo se utiliza a modo de composito junto a algún biomaterial inorgánico (Wang, Di, Ren, & Wang, 2009).

Una de las proteínas que más se ha utilizado como biomaterial, es el colágeno, su uso puede ir desde la industria de alimentos, en donde se genera gernetina a partir del mismo, el área médica, lo utiliza como material de relleno para huesos y dientes (esto se debe a que, sirve para regenerar el tejido óseo) y en la industria farmacéutica, recientemente se ha estudiado como un material de transporte de fármacos. Además, el colágeno ha sido uno de los materiales de mayor interés en la industria de cosméticos.

El primer reporte que se tiene de su uso como biomaterial, data de 1881, época en la que se utilizó para elaborar suturas biodegradables, preparadas a partir de colágeno proveniente de una parte de intestino de oveja, Joseph Lister y William Macewen fueron los responsables de este avance para la cirugía moderna (Lister, 1881; Macewen, 1881).

Para los biomateriales, no todos los tipos de colágenos serán utilizados, el colágeno tipo I, es el de mayor interés en esta área. El colágeno tipo I, presenta dos grandes ventajas, una es la facilidad para su obtención, porque, es uno de los colágenos más abundantes y su biocompatibilidad. El colágeno puede formar cadenas entrecruzadas que generan sólidos compactos, de igual forma, al tomar otra configuración, este puede formar geles.

El colágeno se compone por tres cadenas polipeptídicas distintas, que se unen en una hélice triple, estas a su vez, se unen mediante puentes de hidrógeno, los aminoácidos que se encuentran en mayor proporción son prolina, glicina e hidroxiprolina (Castro Vargas, 2012), esta última es un derivado de la prolina. El 10.5% de la estructura del colágeno sigue la configuración Prolina-Hidroxiprolina-Glicina (Pro-Hyp-Gly) , siendo el triplete que más se repite.

Las fibras de colágeno suelen ser color blancas y opacas, son viscoelásticas, con una temperatura de fusión se encuentra entre 62 y 65°C en el colágeno proveniente de mamíferos, mientras que el que se obtiene de peces está entre 38 y 54°C, mientras que la temperatura de desnaturalización es 25-30° menor que la temperatura de fusión (Avila Rodríguez, Rodríguez Barroso, & Sánchez, 2017).

El colágeno se extrae principalmente de piel o cuero, cartilago, tendones y huesos de animales, especialmente del puerco y bovinos (Gómez Guillen, Giménez, López Caballero, & Montero, 2011). Además de las fuentes de origen animal, existe el material de origen sintético llamado KOD, que es una proteína sintética de 36 aminoácidos que forman una triple hélice y mimetiza al colágeno natural (Avila Rodríguez, Rodríguez Barroso, & Sánchez, 2017).

Una de las principales causas por las que el colágeno se ha utilizado ampliamente, es su biocompatibilidad y el hecho de ser biodegradable. En el cuerpo humano, el colágeno exógeno, es capaz de degradarse por las colagenasas (enzimas) existentes en el mismo.

Los productos de degradación del colágeno introducido, pueden llegar a generar quimiotaxis con los fibroblastos circundantes, lo que produce una regeneración del tejido y recuperación de la funcionalidad del mismo.

1.4 POLIMETILMETACRILATO

El polimetilmetacrilato (PMMA), es un polímero amorfo y sintético, posee dos grupos ésteres, como podemos observar en la Figura 5. Fue descubierto en Alemania, utilizado con diferentes fines dentro de la industria, debido a sus propiedades mecánicas, que lo hacen resistente, además de ser un plástico transparente. El PMMA, se puede sintetizar por medio de la polimerización en volumen, en solución, en suspensión y en emulsión.

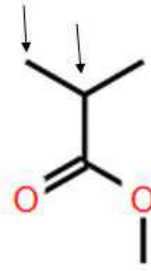


Figura 5. Representación del PMMA en donde las flechas indican los carbonos que participan en los enlaces de polimerización. Modificado de (Bienfait & Ertl, 2013).

Se utiliza en la industria automotriz, así como para elaborar productos de iluminación y cosméticos y también tiene usos como biomaterial, específicamente como cemento óseo y para reemplazo en zonas con carga mecánica, además de utilizarse en la fijación de implantes de cadera. Al ser transparente, sirve para la elaboración de lentes de contacto y ojos artificiales.

Dentro de las ventajas del PMMA como cemento óseo, encontramos que no se requiere donante, es maleable, liviano, fuerte, inerte, no ferromagnético y estable (Peñón Vivas, Casanova Díaz, & Guerra Cobián, 2011), lo que facilita su uso como implante. Tiene una densidad de 1.19 gr/cm^3 .

Presenta excelente tenacidad y estabilidad química. El agua absorbida internamente hace disminuir la resistencia a la tensión y el módulo de Young (llamado “efecto plastificante”) hasta estabilizarse con el tiempo a un valor constante (Echavarría, 2003).

La resistencia a la tracción que posee el PMMA llega a los 10000 psi. Además de tener una resistencia al impacto similar a la de los copolímeros de estireno resistentes al impacto. En sus propiedades ópticas, destaca su transparencia y el hecho de que transmite más luz que el vidrio, tiene una temperatura de transición vítrea de 120°C y se puede moldear fácilmente a partir de los 100°C .

Como desventajas, este presenta complicaciones al momento de polimerizar, ya que, puede llegar a los 80°C y en uso terapéutico esto se asocia con necrosis, al usarse como cemento en prótesis, si esta se llega a aflojar, el organismo puede llegar a tener una respuesta inflamatoria en el lugar que se encuentra la prótesis. (López Hernández & González Santos, 2006 ; Echavarría, 2003)

1.5 PARTÍCULAS COLOIDALES

Por otra parte, con el avance de la ciencia, en especial la microscopía, hemos logrado observar los elementos en escalas menores, como la micrométrica y la nanométrica. A diferencia de otras escalas, a escala nanométrica, los materiales presentan la particularidad de que sus átomos superficiales aumentan mientras que el volumen es menor.

Gracias a las características de los nanomateriales, se han desarrollado diferentes aplicaciones para los mismos, dentro de la industria, se han utilizado como catalizadores, recubrimientos, pinturas, productos electrónicos, etc. Además, han sido uno de los impulsos más grandes dentro del área médica, puesto que, se utilizan para diagnóstico, liberación de fármacos, tratamientos médicos y en la elaboración de nuevos productos aptos para injertos.

En específico, las nanopartículas metálicas, son uno de los avances en esta área más extenso. Dentro de los elementos que encontramos en su variedad nanométrica, tenemos oro, plata, óxido de hierro, aleaciones cobalto-níquel, paladio, apoferritina-gadolinio, etc. Todas estas han tenido diferentes aplicaciones dentro del área médica.

Cada elemento, otorgará a las nanopartículas propiedades dichas del mismo, sin embargo, existen propiedades comunes que son de gran importancia al momento de trabajar con las mismas en un ambiente como el organismo.

El tamaño de partícula, es uno de los parámetros a tomar en cuenta para los desarrolladores de biomateriales nanométricos, debido a que las nanopartículas deben de tener un tamaño lo suficientemente grande para no entrar a las células (cuando no es necesario) y a la vez, no pueden ser de una talla mayor, debido a la aglomeración de las mismas, la cual interfiere en las propiedades del material.

El tamaño de nanopartículas utilizadas en aplicaciones biomédicas, se sitúa entre los 5 y 100 nm de diámetro (Ramos & Castillo, 2011). El crecimiento de las partículas se controla mediante el método de síntesis.

Los métodos de síntesis de nanopartículas pueden ser métodos químicos o físicos y generalmente se agrupan en métodos top-down y bottom-up. Los primeros son métodos en los que un material másico se lleva hacia la escala nanométrica. La segunda clasificación corresponde a métodos que llevan a cabo la agrupación de átomos, generando así las nanopartículas.

Dentro de los métodos bottom-up, encontramos diversos métodos químicos, dentro de los cuales se encuentra el método coloidal. El método coloidal genera partículas que se encuentran en el rango de las nanopartículas con dimensiones similares entre sí, llegando a variar de 1-10 nm (Rodríguez, 2015).

Los coloides se conforman por partículas mayores a los átomos, cuyas dimensiones son lo suficientemente pequeñas para presentar movimiento browniano (Zanallela, 2012). Un coloide se define como una sustancia que está formada por partículas que no se disuelven ni sedimentan, es decir, permanecen suspendidas.

Por otro lado, tenemos la plata, el elemento número 47 de la tabla periódica, la plata es un metal y tiene diferentes características correspondientes a este grupo, es un buen conductor eléctrico, lo cual la vuelve de gran interés en la

electroquímica y electrónica en general. Además de tener un uso estético, en joyas y algunas ornamentas para el hogar.

La plata coloidal constituye una solución de partículas de plata suspendidas junto con un pequeño porcentaje de iones de plata (menor al 10%) (Melaiye & Youngs, 2005), es un producto de uso comercial. Su uso, comenzó varios años atrás como tratamiento en contra de hongos y bacterias, previo al descubrimiento de los antibióticos modernos (Varner, El-Badawy, Feldhake, & Venkatapathy, 2010).

La concentración de la plata coloidal juega un lugar muy importante en su uso como bactericida, este debe encontrarse entre 3 y 5 partes por millón (ppm) (Manzanares Leal, 2013), de esta forma se previenen efectos secundarios y se logra su efectividad.

Los compuestos que contienen plata, los iones de plata Ag^+ y la plata coloidal pueden actuar de diferentes maneras, interrumpiendo la respiración de cierto tipo de microorganismos, pueden destruir la pared celular, unirse a tipos de enzimas iniviendo su actividad, modificar el metabolismo de la célula o causar alteraciones del ARN o ADN (Melaiye & Youngs, 2005).

Los compuestos a partir de partículas de plata, se pueden utilizar en conjunto con materiales poliméricos. Este tipo de composito sirve para elaborar instrumentos o dispositivos médicos con la finalidad de prevenir una infección por medio de bacterias.

Las nanopartículas inorgánicas pueden variar significativamente las propiedades mecánicas, la conductividad eléctrica y la conductividad térmica del polímero que se modifica con las mismas. En este tipo de compuestos, el polímero funciona como una matriz en la que las partículas de plata se encuentran embebidas y se pueden utilizar en concentraciones de 0.3-1.5% en caso de nanopartículas y 1-5% en el caso de las micropartículas (Rosales Velásquez, 2008).

Por otra parte, las nanopartículas de plata, se han utilizado en la elaboración de prótesis experimentales (Quiroz, 2018; Tanoira, 2014). Esto se debe a la posibilidad de desarrollar una infección en la zona que recibe la prótesis ya sea interna o externa como exponen dichos autores.

Una de las principales preocupaciones de la ciencia de los biomateriales, es evitar las reacciones adversas que pueda llegar a producir el dispositivo médico. En el caso de las prótesis, la infección por bacterias es uno de estos efectos negativos que se pueden presentar.

En las prótesis internas, entre las complicaciones más frecuentes se encuentran las infecciones protésicas, las cuales se pueden presentar en diferentes momentos posteriores a la operación.

Se pueden dar infecciones superficiales, que se pueden identificar por el estado de la herida quirúrgica y dolor en la zona, estas suelen presentarse inmediatamente y son causadas por un mal proceso de cicatrización.

Cuando la infección profunda se da dentro de las primeras 12 semanas posteriores al implante, se clasifican como agudas y suelen ser fácilmente identificables debido a los síntomas. Posteriormente la infección se conoce como tardía profunda hasta los 24 meses y tardía hematógena cuando la infección se da después de los 24 meses postoperatorios.

Como medida de prevención ante las infecciones profundas, Tanoira propone el uso de nanopartículas de plata en aleaciones con titanio (material común en prótesis internas), con la finalidad de eliminar a los microorganismos involucrados en el proceso infeccioso.

En este proceso, las bacterias forman una biopelícula en la superficie de la pieza protésica, para Tanoira, la incorporación de iones de plata, generaron una disminución de cepas bacterianas en la superficie de las aleaciones de titanio utilizadas (Ti-6Al-4V y Ti-6Al-4V modificado).

Por otro lado, las prótesis externas, también pueden ser causantes de infecciones. En este caso, las infecciones se dan en el área entre la piel y la pieza protésica, en su mayoría estos se pueden presentar por factores como la sudoración y humedad en el área del muñón.

En estos casos, la humedad puede producir lesiones en el área de la piel que está en contacto con la prótesis, estas lesiones, pueden llegar a estar expuestas a hongos y bacterias que son las causantes de infección.

Para disminuir dicha probabilidad, en la tesis "*Compuesto polimérico con capacidades antimicrobianas usando nanopartículas de plata para la interfaz en órtesis y prótesis externas de miembro inferior*" (Quiroz, 2018) se propone utilizar plata como agente antimicrobiano.

En dicha tesis, además se establece que la plata puede llegar a tener repercusiones favorables en la dureza y resistencia a la compresión en el polímero que se desarrolló, esto en concentraciones entre 16.49 y 32.94 $\mu\text{g/ml}$ de Nanopartículas de plata.

1.6 EL TEJIDO ÓSEO

Los huesos cumplen distintas funciones dentro del organismo, como son: la función de locomoción de brazos y piernas, protección para órganos vitales, producción sanguínea y como soporte de músculos.

El hueso está formado de 65% de minerales y 35% de matriz orgánica, células y agua. La matriz ósea rígida abarca el 90% de volumen del tejido y el resto es

ocupado por células, mecanismos celulares y vasos sanguíneos. La matriz orgánica se compone un 90% colágeno y el resto son diversas proteínas, como se muestra en la Figura 6 (Cerrud Sánchez, Narvaéz Clemente, Muñoz Gonzáles, & Schouwenaars, 2005).

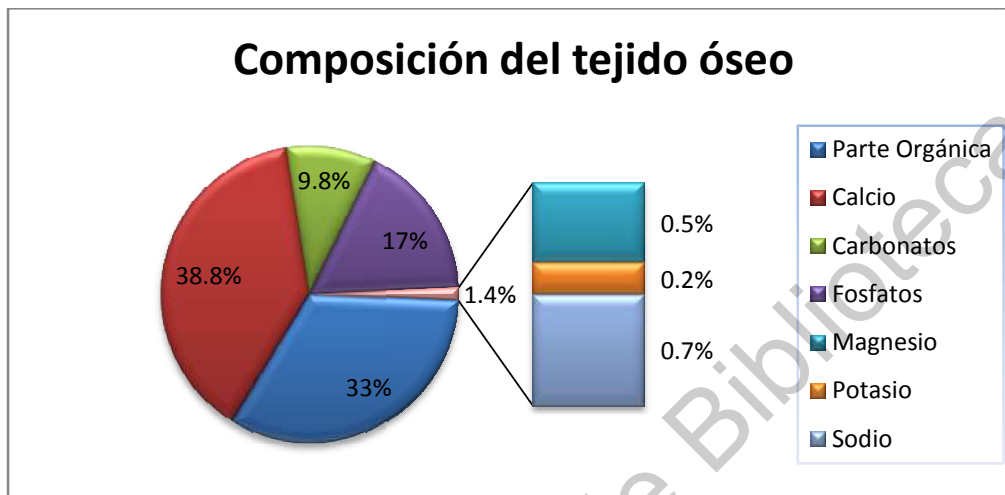


Figura 6. Gráfica de porcentajes de los componentes principales de la parte orgánica e inorgánica del tejido óseo.

El tejido óseo, es una estructura constituida por dos fases, una parte interna llamada médula ósea que se encuentra recubierta por una parte externa, llamada matriz ósea.

La médula ósea es una especie de tejido viscoso, que se encuentra en el centro de los huesos largos y axiales, conforma principalmente por tejido hematopoyético (responsable de la formación de glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas), células adiposas y senos vasculares (Travlos, 2006).

La matriz ósea, es el tejido duro, y el de principal interés para esta investigación. La matriz ósea, puede tomar dos diferentes arreglos estructurales, lo que da origen al hueso compacto o cortical y al hueso esponjoso o trabecular. Estas diferencias en su función mecánica, se ven reflejadas en su estructura, debido a

que, el hueso esponjoso tiene poros de mayor tamaño que el hueso compacto (Figura 7), sin embargo, la composición química de ambos es la misma.

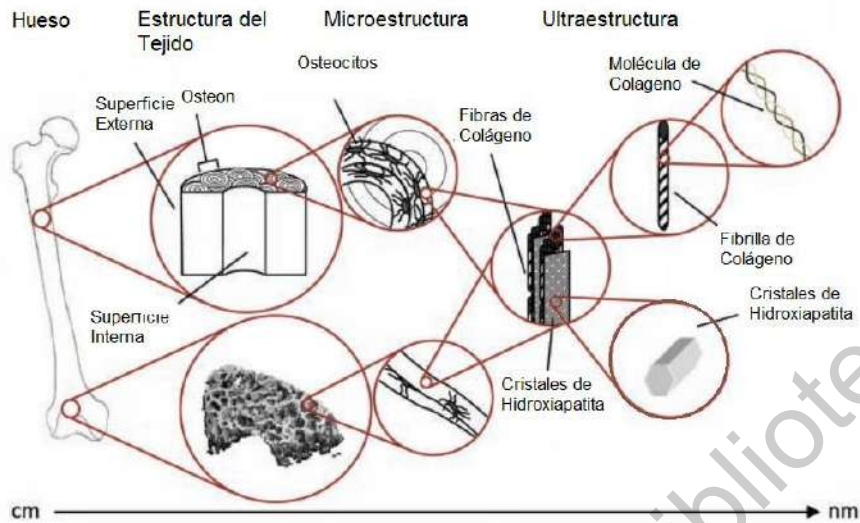


Figura 7. Diagrama estructural del hueso, la parte superior del diagrama representa el hueso compacto, la parte inferior nos muestra al hueso esponjoso, sin embargo, ambos tienen la misma composición. Modificado de (Boskey & Coleman, 2010).

1.6.1 Composición del hueso

La composición del hueso, tiene un tercio de componentes orgánicos y dos terceras partes de material inorgánico, que se divide en diferentes minerales (Figura 6).

La fase orgánica es una combinación de colágeno, osteocalcina, osteonectina, osteopontina, trombospondina, sialoproteínas, proteínas morfogenéticas, proteínas de suero, agua y diferentes tipos de células.

En el caso de los huesos, las proteínas juegan un papel importante, específicamente el colágeno. Las proteínas denominadas colágeno, forman un

grupo de aproximadamente 29 tipos, de los cuales, podemos encontrar 16 tipos del mismo en el cuerpo humano, siendo el colágeno tipo I el más frecuente.

La estructura de estos, se basa en una cadena denominada α , en una molécula de colágeno, se encuentran tres cadenas α ensambladas entre sí. Los aminoácidos de la proteína del colágeno, deben tener la configuración glicina-X-Y, esto para ayudar al empaquetamiento de las cadenas α (Parenteau-Bareil, Gauvin, & Berthod, 2010).

La estructura primaria del colágeno, como ya se mencionó, es una cadena levógira, posteriormente, estas cadenas se agrupan, formando moléculas de tropocolágeno, una vez que esta configuración está formada dentro de la célula, es expulsada dentro de vesículas, cuando se encuentra fuera de la célula, el colágeno inicia su polimerización. En la Figura 8, podemos apreciar este proceso.

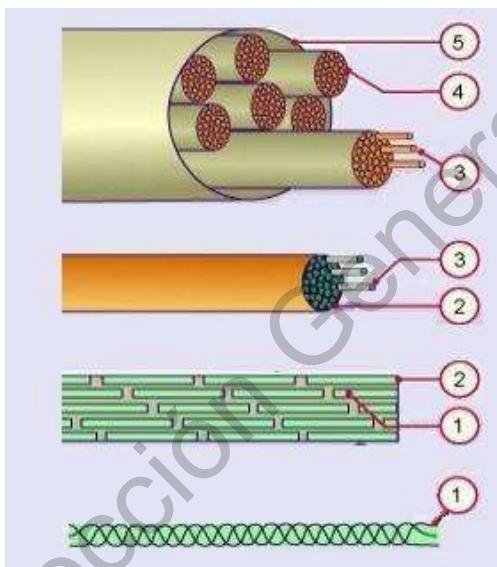


Figura 8. 1) Cadenas α entrelazadas ($d=15 \text{ \AA}$) . 2) Microfibras de colágeno ($d=200-400 \text{ \AA}$). 3) Fibrillas (300-500 nm). 4) Fibras ($d= 4-12 \text{ \mu m}$). 5) Conjunto de Fibras. Modificado de (Vogler, 2009).

La fase inorgánica del hueso, se forma de Hidroxiapatita, carbonatos, sodio, magnesio, iones de cloro (Cl^-), Fosforo (F^-), Potasio (K^+), Estroncio (Sr^{2+}), Plomo (Pb^{2+}), Zinc (Zn^{2+}), Cobre (Cu^{2+}) y Hierro (Fe^{2+}).

La Hidroxiapatita, es la sustancia que se encuentra en mayor proporción en la fase inorgánica, mientras que el colágeno lo es para la fase orgánica. La hidroxiapatita, pertenece a la familia de las apatitas, esta tiene una fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, en el hueso, se encuentra en escala de nanocristales unidos al colágeno tipo I (de dimensiones nanométricas).

En el cuerpo humano, la hidroxiapatita es la molécula con una mayor cantidad de calcio, teniendo en su configuración el 99% de este elemento, además, contiene algunos iones de magnesio, cloro, carbonatos y sodio (García Garduño & Reyes Gasga, 2006).

1.6.2 Propiedades mecánicas del hueso

Las propiedades mecánicas del hueso, varían conforme a la especie del vertebrado, sexo y edad, el hueso específico del que hablamos (por ejemplo: fémur, cadera, cráneo, etc.) su tipo de función y la biomineralización, en general, podemos apreciar propiedades similares a las descritas por la Tabla 6, para individuos saludables.

Los dos tipos de hueso, cortical y trabecular, presentan diferentes funciones, el primero es el encargado de soportar las cargas de flexión y el segundo soporta cargas repetitivas. El hueso cortical es el que da la estructura rígida, mientras que la parte trabecular ayuda a minimizar el peso.

Si se analiza desde el punto de vista de la ciencia de los materiales, la hidroxiapatita se clasifica como un cerámico, estos tienen la cualidad de ser duros y rígidos, por lo que, se tornan frágiles debido a su baja tenacidad. En los huesos, la fase inorgánica presenta estas ventajas, pero al estar interactuando con la fase

orgánica, la desventaja de la fragilidad se ve reducida, ya que el colágeno, le brinda la elasticidad y resistencia necesaria al hueso Figura 7.

Tabla 6. Propiedades Físicas del Hueso.		
	Hueso Compacto	Hueso Esponjoso
Densidad (g/cm ³)	18-22	0.1-1.0
Densidad Aparente (g/cm ³)	1.8-2.0	0.1-1.0
Volumen superficie/hueso (mm ² /mm ³)	2.5	20
Módulo de Young (GPa)	14-20	0.05-0.5
Límite a Compresión (MPa)	170-193	7-10
Límite a Tensión (MPa)	50-150	10-20
Resistencia a la fractura (MPa m ^{1/2})	2-12	0.1
(Bernabeu Martínez, López-Oliva Muñoz, Larena Pallejero, Tur Gil, Piedra Gordo, & Montero Escobar, 2006)		

Otro de los factores de gran importancia al momento de analizar las propiedades mecánicas del hueso, es la biomineralización. Este es un proceso en el que los minerales son depositados en el tejido. Cabe mencionar, que a medida que el organismo envejece, este proceso se ve afectado, generando una menor densidad de los minerales presentes en el hueso.

La mineralización fisiológica, tiene dos etapas, la primera, se da mediante el transporte de iones de calcio y fosfato inorgánico hacia el interior de vesículas

especializadas, denominadas, vesículas de matriz. En estas, los iones de calcio y el fosfato inorgánico se acumulan hasta formar cristales de hidroxiapatita.

La segunda etapa de la biomineralización, comienza cuando los cristales de hidroxiapatita alcanzan la membrana de la vesícula de matriz y continua creciendo dentro del espacio extracelular, el líquido que se encuentra fuera de la célula ósea, tendrá suficiente calcio y fosforo disponibles para abastecer al cristal, lo que le permite rellenar los espacios entre la vesícula y las fibrillas de colágeno (Negri, 2011).

De esta forma, los tejidos mineralizados tendrán diferente tamaño de cristales, así como una distribución y forma específicas, lo que nos lleva a una variación entre las propiedades del mismo. Esto se debe a que, cada tejido estará destinado a una función.

2. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad, la necesidad de encontrar nuevos materiales que cumplan con las funciones que el organismo no puede realizar por diferentes tipos de deficiencias, se ha facilitado con estudios multidisciplinarios, como es el caso de la nanotecnología y la ciencia en materiales.

En este trabajo se pretendió obtener un material de base polimérica y mezcla de minerales y proteína, que cumpla con las características necesarias para su uso en aplicaciones como biomaterial.

Por otra parte, se eligieron materiales que se puedan manipular fácilmente, a esto agregamos que son materiales accesibles en cuanto a disponibilidad y costo.

Los materiales que se eligieron finalmente, fueron el PMMA, mezcla de minerales de grado alimenticio, colágeno y caseína, siendo las proteínas, la variable de este estudio.

Los polímeros son de gran importancia en la industria de los materiales, de igual forma lo son para la creciente área como biomateriales. El PMMA, en específico, es un biomaterial que se utiliza como cemento óseo por sus propiedades mecánicas. Su síntesis es bien conocida y adaptable a diferentes formas, se puede producir en piezas grandes o pequeñas y posee una buena resistencia mecánica, sin embargo, está asociado a algunos efectos secundarios como la necrosis en células aledañas al implante.

De las características que le brindan a la caseína su utilidad en este proyecto es su composición similar al hueso, su biocompatibilidad, logra polimerizar y asociarse en complejos y tiene una ligera hidrofobicidad.

La caseína, es una proteína que se ha utilizado (en combinación con otros reactivos) para la elaboración de plásticos, duros y flexibles, además se utiliza como resinas dentales debido a los fosfopéptidos en su estructura, lo que proporciona fosfatos de calcio amorfo (Simeone Giordano, 2010).

El colágeno por su parte, es uno de los materiales componentes del hueso, además de promover la reparación del tejido que se reemplace, ser biodegradable y además tener un alto grado de biocompatibilidad.

Por ello, hemos decidido utilizar ambos materiales, posteriormente, acorde a los resultados obtenidos, se hará una combinación del material que presente las características deseadas, en combinación con plata coloidal, para lograr mejorar las propiedades mecánicas del mismo y reducir las posibilidades de un efecto secundario por el PMMA.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

- Elaborar un material polimérico con propiedades similares al hueso, idóneo de ser utilizado en aplicaciones biomédicas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaboración de dos materiales de base polimérica, que contenga proporciones de proteínas y minerales similares al hueso.
- Realizar las pruebas mecánicas a los materiales para describir su comportamiento en función a las características del hueso.
- Evaluar que material reúne las propiedades adecuadas para su uso en aplicaciones biomédicas.
- Mejorar las propiedades de las muestras mediante reforzamiento por partículas metálicas.

4. HIPÓTESIS

El material polimérico elaborado a base de proteínas, mezcla de minerales y PMMA, mostrará propiedades similares a las del hueso.

5. MÉTODOS Y MATERIALES

5.1 MÉTODO SOL-GEL

El método de sol-gel es un método de síntesis que involucra una polimerización a baja temperatura, que sirve en la obtención de fibras, láminas, cadenas, geles y polímeros tridimensionales. Los compuestos que se originan a partir de una

síntesis mediante sol-gel, por lo general, son óxidos, sin embargo, podemos llegar a obtener sólidos mixtos, compuestos por productos orgánicos e inorgánicos.

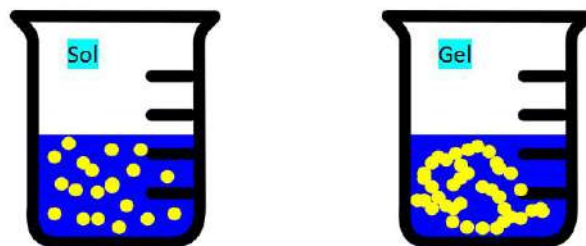


Figura 9. Representación de la dispersión en las partículas de un sol y un gel.

Durante el proceso, primero se da la formación de soles (Figura 9), que es una suspensión de partículas coloidales dentro de un líquido. Posteriormente, se desestabiliza el sol al agregar algún otro componente y se forma el gel, que es un sólido coloidal amorfo con un componente fluido disperso (Figura 10). Por último, al dejar "envejecer" el gel, este sufre reacciones internas provocadas por la atracción de las partículas, lo que hace a la estructura unirse y expulsar el líquido que estaba inmerso (Rojas Cervantes, 2015).

Una vez que se termina el proceso, es necesario dejar secar el compuesto que se obtiene y dependiendo el caso, puede ser necesario un tratamiento térmico.

En el caso de los materiales híbridos (orgánico-inorgánico), el método sol-gel, favorece la creación de cargas, en presencia de un polímero con grupos funcionales, estas cargas sirven para que el polímero y la fase inorgánica se unan.

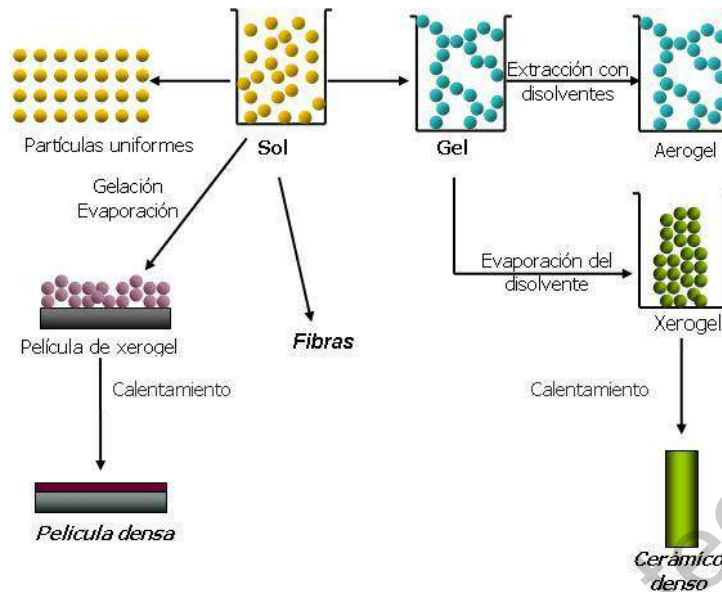


Figura 10. Proceso de Sol-Gel y ejemplo de geles que se pueden obtener (Alvarado Rivera, 2015).

Como resultado, obtenemos un compuesto homogéneo, a una temperatura baja, e incluso es posible llevarse a cabo la reacción a temperatura ambiente, lo que ayuda a que el polímero no sufra una degradación.

Mediante el método de sol-gel, se elaboraron dos diferentes materiales, el primero se elaboró a partir de los siguientes precursores: colágeno, mezcla de minerales y PMMA, junto con un agente polimerizante (monómero), mientras que para el segundo se sustituyó el colágeno por caseína, por último se llevaron a cabo las muestras de PMMA, que se utilizaron como puntos de referencia, en la Tabla 7, se definen las abreviaturas de las mezclas, así como sus componentes.

Tabla 7. Composición y clave de las muestras	
Muestras	Clave
Polimetilmetacrilato	PMMA
PMMA - Mezcla de Minerales- Colágeno	Col-Mx
PMMA - Mezcla de Minerales- Caseína	Cas-Mx

Se consideró una composición en proporciones similares a las del hueso, es decir, un 30% de parte orgánica (proteínas).

La mezcla de minerales corresponde a la denominada AIN-93, su composición se detalla a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8. Componentes de la mezcla de minerales AIN-93.	
Mineral	Contenido (mg/kg)
Calcio	5000.00
Potasio	3600.00
Fosforo	1992.00
Cloro	1571.00
Sodio	1019.00
Magnesio	507.00
Azufre	300.00
Hierro	35.00
Zinc	30.00
Manganeso	10.00
Cobre	6.00
Silicio	5.0
Cromo	1.0
Flúor	1.0
Boro	0.5
Níquel	0.5
Iodo	0.2
Molibdeno	0.15
Selenio	0.15
Litio	0.1
Vanadio	0.1

(Reeves, Nielsen, & Fahey, 1993)

5.2 DENSIDAD

Para llevar a cabo el cálculo de la densidad de los diferentes materiales, se hizo mediante la obtención de la masa promedio de muestras preparadas en los moldes correspondientes a la prueba de flexión, esto para obtener probetas uniformes, cuyas medidas son de 79mm de largo, 10mm de ancho y 5mm de grosor, de lo que obtuvimos un volumen de 3.95cm³.

Como sabemos la densidad (ρ) se define como la cantidad de masa (m) que hay en un centímetro cúbico del material:

$$\rho = \frac{m}{v}$$

5.3 PRUEBAS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)

Gracias a la espectroscopia infrarroja, podemos determinar la concentración de un compuesto en una muestra o mezcla más compleja, así como la pureza de un compuesto o de lo contrario la contaminación del mismo (Velandia C. & Hurtado M., 2018).

El espectrofotómetro, tiene una fuente que emite un haz de luz, este se enfoca mediante un lente, lo que genera un solo haz de luz que posteriormente pasa por un monocromador, que deja pasar solamente la luz que se encuentra dentro de un espectro de longitud de onda específico, como resultado, la luz llega a la muestra, que fue previamente colocada en una bandeja, y absorbe una cantidad de luz, la otra parte, pasa a la bandeja y llega a un fotodetector que mide la cantidad de luz que no se absorbe por la muestra (transmitancia). Cada grupo funcional tiene una capacidad de absorción determinada y la transmitancia es la medida inversamente proporcional de esta (García, 2018).

Podemos definir a la absorbancia (A) como el logaritmo negativo de la transmitancia (T). A su vez esta se relaciona directamente con la concentración de la sustancia (c) por la ley de Lambert-Beer, en donde, tenemos que ϵ es el

coeficiente de absorción molar, que depende del compuesto, y l es el largo de la bandeja que contiene la muestra. (Gavira Vallejo & Hernanz Gismero, 2011)

$$A = -\log T$$

$$A = \epsilon lc$$

Se realizaron las pruebas de espectroscopia IR para los componentes de las muestras, es decir, colágeno, caseína y PMMA, con la finalidad de comprobar la pureza de los productos a utilizar.

Las pruebas se realizaron en un equipo Bruker Tensor 37, en modo de transmitancia, se realizaron 32 escaneos con una resolución de 1 cm^{-1} . Se utilizaron muestras sin polimerizar de los productos a utilizar, PMMA, colágeno y caseína, en forma de polvo. Las gráficas se elaboraron con el programa Origin Pro 2015, 64 bits.

5.4 DIFRACCIÓN DE RAYOS X

La difracción de rayos x (XRD) es una herramienta utilizada tradicionalmente para la caracterización de materiales como minerales, aleaciones, metales entre otros. Los rayos x es una radiación capaz de atravesar cuerpos que son considerados opacos.

En un difractograma tenemos un cátodo por el que viajan electrones que inciden en un ánodo lo que genera los rayos x, estos son proyectados hacia la muestra lo que genera el fenómeno de difusión o de difracción.

En el caso de la difusión, los rayos generan una interferencia que generalmente es destructiva por lo que no se puede leer. Sin embargo, cuando la interferencia es constructiva, se genera una difracción de los rayos. La difracción se explica como

el fenómeno que ocurre cuando una onda encuentra un obstáculo a su paso, este desvía la onda convirtiéndose en una fuente secundaria de la misma.

En el caso de la espectroscopia de rayos x, podemos observar, que los materiales cristalinos generan mejores condiciones para la difracción, además de que cada arreglo de red, tendrá un patrón de difracción específico (Amigó, 2002).

En 1913 se desarrolló la ecuación conocida como la Ley de Bragg (Bragg & Bragg, 1913), que establece las condiciones necesarias para que se dé la difracción.

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

En donde:

n= orden de la difracción

λ = longitud de onda del haz incidente

d= distancia entre planos (arreglos de átomos)

θ = ángulo de la onda difractada (respecto al plano)

Los ángulos de difracción θ , se registran y se pueden visualizar mediante el software del equipo, estos se representan mediante picos que forma el difractograma, en el caso de los arreglos cristalinos, se pueden ver claramente los espacios entre un pico y otro, sin embargo, los materiales amorfos generan mayor número de ondas difractadas, por lo que observamos un difractograma saturado, en el que se observa una especie de ruido (Pérez, 2012).

Se llevaron a cabo pruebas de difracción de rayos x de polvos, a los materiales utilizados como reactivos, además de a las mezclas producto de la tesis, así como a una muestra hueso de rata Wistar con una edad de 15 semanas. Esto con la finalidad de comparar la composición de las mezclas, con el material de uso comercial y el hueso.

Las pruebas se llevaron a cabo mediante en el laboratorio de difracción de Rayos-X de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), mediante el Difractómetro Rigaku, modelo Ultima IV, este, posee dos detectores, uno convencional de centelleo y uno ultra rápido de estado sólido (D/ tex Ultra) y un tubo de rayos-X con blanco de Cobre.

Además se utilizan los software especializados para análisis de difractogramas "Materials Data Jade" y PDXL2, con ayuda de la base de datos institucional avalada por el "National Institute of Standards an Technology" y la base de datos publicada por el "Institutional Centre for Diffraction Data".

Para la prueba realizada a hueso de rata Wistar, se siguió el procedimiento de obtención y limpieza de hueso, previamente descrito en (Rubio Navarro, Foseca Hernández, & Pérez Torrero, 2016).

5.5 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

La microscopía electrónica de barrido (en inglés, Scanning electron microscope SEM) es una técnica que nos permite observar un material a escala nanométrica, con una resolución cercana a los 0.5 nm. Consiste en hacer incidir un haz de electrones en el material generando interacciones tanto elásticas, como inelásticas.

La interacción elástica, se genera cuando el haz de electrones sufre un cambio de dirección, ya sea, por el núcleo o por los electrones de valencia del átomo de la muestra y tiene una perdida casi nula de energía. En algunos casos, uno de estos electrones incidentes, sufre un cambio de dirección de 90° (electrones retrodispersados), lo que produce una señal que se puede utilizar para la generación de imagen.

En las interacciones inelásticas, el haz de electrones, interactúa de distintas maneras con el átomo, además de existir una transferencia energética considerable hacia el átomo. Durante este estado de ionización de la muestra, los electrones excitados generan electrones secundarios que pueden ser utilizados para la generación de la imagen o para analizar la muestra. Estos electrones, se utilizan especialmente para conocer la textura y el relieve de la muestra (Rodríguez Tobías, 2009).

Las pruebas se realizaron en un Microscopio Electrónico de Barrido marca Carl Zeiss, modelo EVO-50, que trabaja a alto y bajo vacío, y cuenta con detectores SE1, BSD y EDX (Rayos x). El equipo cuenta con secadores a punto crítico (EM CPD300, Leica; SAMDRI-PTV-3D, Tousimis) y recubridores de oro, paladio y carbón (DESK II, Denton vacuum; EM ACE200, Leica; SC7620, Quórum).. Las muestras fueron previamente preparadas mediante el proceso que se muestra en la Figura 11.



Figura 11. Diagrama del proceso de preparación de muestras para su observación mediante SEM.

5.6 PRUEBAS DE COMPRESIÓN

La compresión, es el cambio que sufre un cuerpo que se somete a una carga, esta carga se puede definir como un vector de fuerza que se aplica en una dirección en un punto del objeto y produce un cambio en este, lo que genera el efecto descrito por la Figura 12.

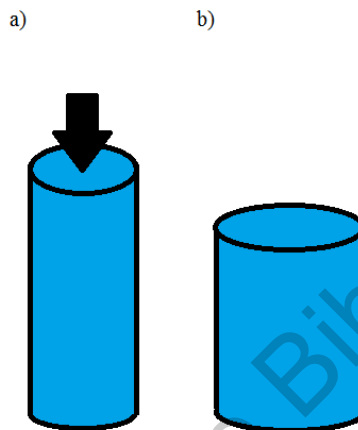


Figura 12. a) Muestra previa a la compresión. b) Muestra que ha sufrido un cambio en su tamaño debido a la compresión aplicada.

Las pruebas de compresión, se llevan a cabo en una máquina universal de ensayos mecánicos, mediante la aplicación de una carga y desplazamiento de una celda y un cabezal respectivamente, son pruebas estandarizadas, en las que se utilizan cubos de 8mm de lado o cilindros de 8mm de diámetro, con una relación de longitud y ancho de 2:1 para asegurar que la prueba no sufra errores de medición que pueden ser ocasionados por daños en la superficie de la muestra.

Este tipo de ensayo, arroja datos de esfuerzo vs deformación, con los que podemos obtener información sobre la resistencia de un material.

Las muestras se analizaron a una temperatura de 25.2°C, humedad 46% usando una máquina de ensayos universales marca Zwick/Roell modelo Z005

(certificación ISO178:1993), dentro del Laboratorio de pruebas mecánicas del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM.

Las pruebas se hicieron bajo los estándares establecidos por la normativa ASTM F2150-19 (ASTM International, 2019). Para las pruebas de compresión, se utilizó un método convencional previamente descrito (Keaveny, Borchers, Gibson, & Hayes, 1993; Guede, Gonzáles, & Caerio, 2013) con las medidas mostradas en la Figura 13.



Figura 13. Muestras preparadas para la prueba de compresión en los moldes de acuerdo a la normativa ASTM. Diámetro de 8mm y longitud de 16 mm.



Figura 14. Probeta en el equipo durante la prueba de compresión.

Las probetas se colocaron en la mordaza inferior de la máquina de ensayos mecánicos de la forma mostrada en la Figura 14, bajo las siguientes condiciones: temperatura ambiente de 24.5° C y una humedad de 58%, el punto de carga baja a una velocidad constante de 1mm/min utilizando una celda de carga de 5000 N.

5.7 PRUEBAS DE FLEXIÓN

La flexibilidad es la propiedad de un material de sufrir grandes deformaciones en su zona elástica, se relaciona directamente con el módulo de Young, si este es pequeño el material será flexible, sin embargo, si el módulo de Young tiene un valor alto, el material será rígido, es decir, necesitara un esfuerzo grande para ser deformado.

Existen dos tipos distintos de ensayos de flexión, los ensayos a tres puntos y los ensayos a cuatro puntos. En el caso de la prueba de flexión a tres puntos, la muestra se coloca en dos soportes y se aplica una fuerza en el centro de la misma, para la prueba en cuatro puntos, la diferencia consiste en que la fuerza se aplica fuerza de manera simultánea en dos puntos simétricos (Guede, Gonzáles, & Caerio, 2013).

Las muestras se analizaron a una temperatura de 25.2°C, humedad 46% usando una máquina de ensayos universales marca Zwick/Roell modelo Z005, dentro del Laboratorio de pruebas mecánicas del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM.

Las probetas fueron colocadas de forma horizontal, sobre dos soportes horizontales espaciados a 22 mm; el punto de carga central de contacto con la superficie posterior del punto medio del material (Figura 16).

El accesorio para realizar el ensayo de flexión se desplaza hacia abajo a una velocidad constante de 1mm/min hasta la ruptura de acuerdo con la normatividad oficial ISO 178:1993. Las probetas se hicieron con medidas de 4mm de espesor, 10 mm de ancho y 79 mm de longitud, con base en las pruebas de flexión de 3 puntos (Sanz Ruiz, Paz, Abenojar, del Real, Forriol, & Vaquero, 2013).



Figura 15. Molde estandarizado con mezcla para pruebas de flexión.



Figura 16. Probeta en el equipo durante prueba de flexión a tres puntos.

5.8 ADICIÓN DE PARTÍCULAS METÁLICAS

Con base a las pruebas mecánicas, se eligió la mezcla Cas-Mx para añadir plata coloidal de grado alimenticio. Se realizó la mezcla mediante el método sol-gel a partes iguales de los componentes, agregando los microlitros de plata coloidal correspondientes al peso de la probeta. En esta prueba, no se utilizó ningún material metálico, para evitar errores en la misma.

Se observó color, densidad de la probeta y se realizó la prueba de flexión, sin embargo, por la situación actual no se cuentan con los datos para la elaboración del análisis estadístico, por lo que solamente se hicieron anotaciones cualitativas.

5.9 ANALISIS ESTADÍSTICO DE LOS DATOS

Los datos obtenidos se analizaron mediante el programa EXCEL, utilizando la prueba "t" Student.

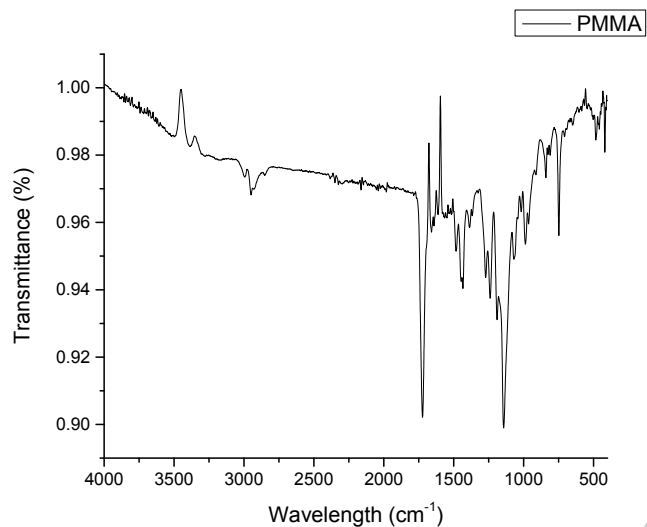
6. RESULTADOS

6.1 DENSIDAD

Tabla 9. Datos de Densidad		
Muestras	Densidad (g/cm ³)	Diferencias Significativas (p<0.05)*
1. PMMA	1.1712 ± 0.0103	1 vs 2,3,4*
2. Col-Mx	1.4817±0.0340	2 vs 1,3,4*
3. Cas-Mx	1.3831 ± 0.0202	3 vs 1,2*
4. Cas-Mx-Ag	1.3668 ± 0.0134	4 vs 1,2*

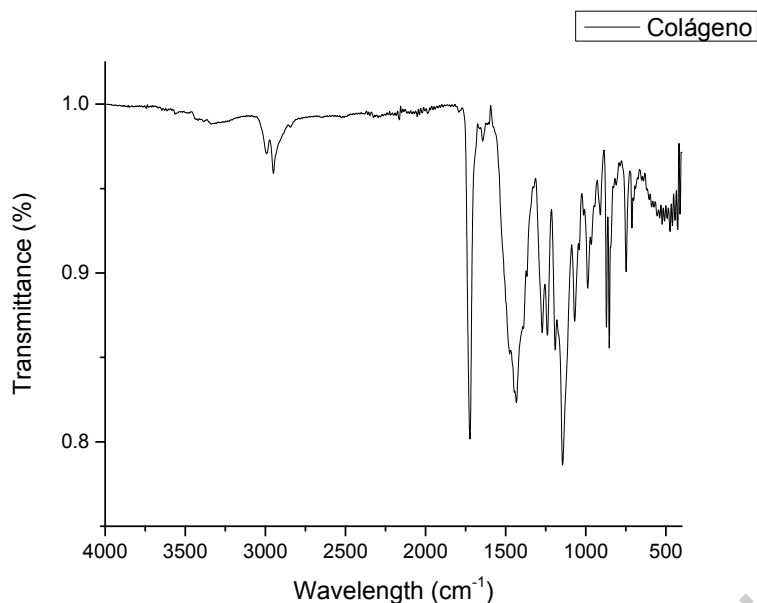
Como se estableció en el capítulo

6.2 PRUEBAS DE ESPECTROSCOPIA INFRARROJA (IR)



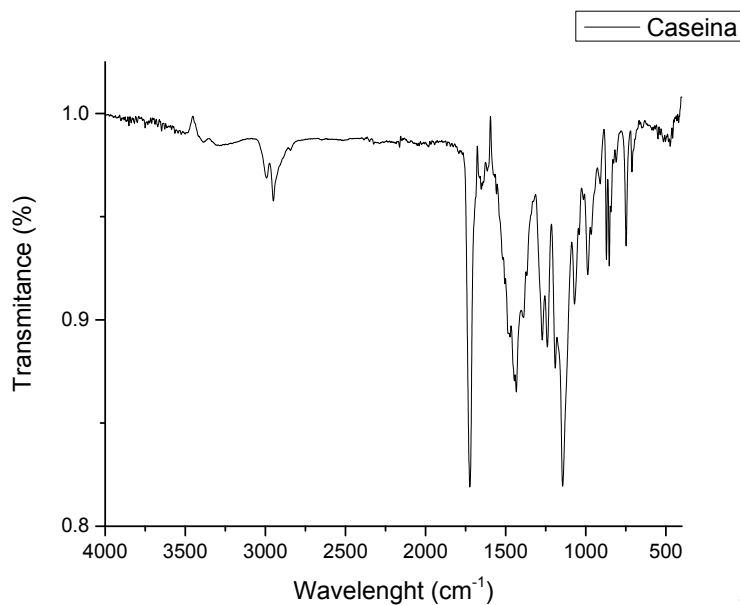
Gráfica 1. Espectro IR de polimetilmetacrilato. Se observan los picos correspondientes a los grupos funcionales del PMMA.

En la gráfica anterior, podemos observar un pequeño pico en la región de 2900 cm^{-1} que representa los enlaces C-H al igual que el que se encuentra en 1440-1450 cm^{-1} del PMMA, además en 1730-1740 cm^{-1} , encontramos una banda correspondiente a los enlaces dobles entre C-O, y entre 1200 y 1300 cm^{-1} observamos dos pequeños picos característicos del C-O del grupo éster. Se realizó la comparación, con el espectro tomado del repositorio Institucional (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 2010).



Gráfica 2. Espectro IR de colágeno. Se observa el patrón característico para los grupos funcionales del colágeno, en este caso, correspondientes a colágeno tipo 1, obtenido de piel de bovino

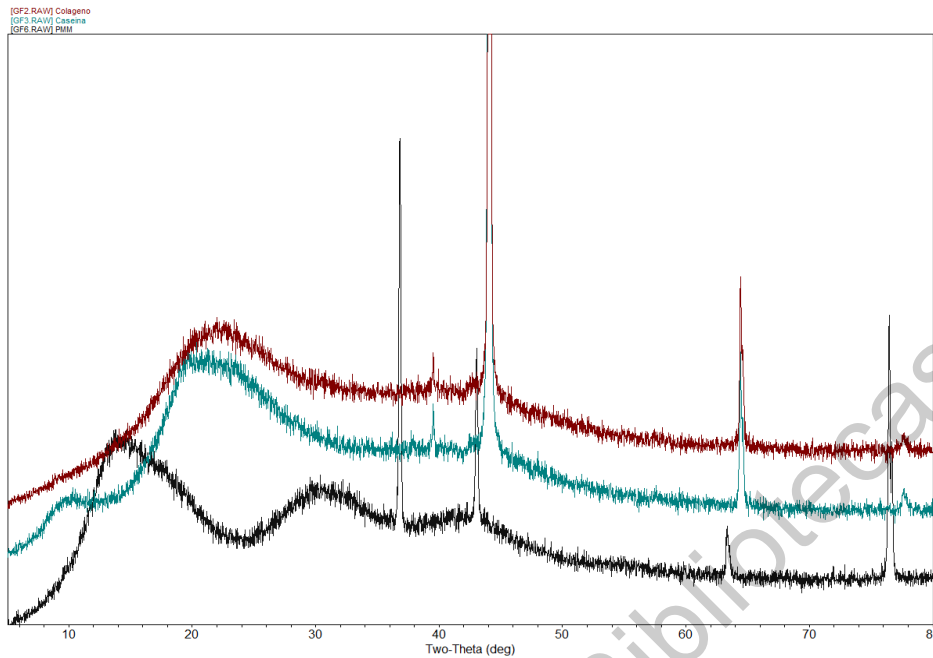
Se comparó el espectro obtenido con el de un estudio previamente realizado **(Tanaka, y otros, 2018)**. Podemos observar las bandas correspondientes a las aminas I,II y III en las bandas de 1657, 1552, 1241 cm⁻¹ respectivamente. Esto se debe a que como vimos en el punto anterior, en esta región podemos observar los enlaces entre N-H y dobles enlaces, C-O **(Payne & Veis, 1988)**.



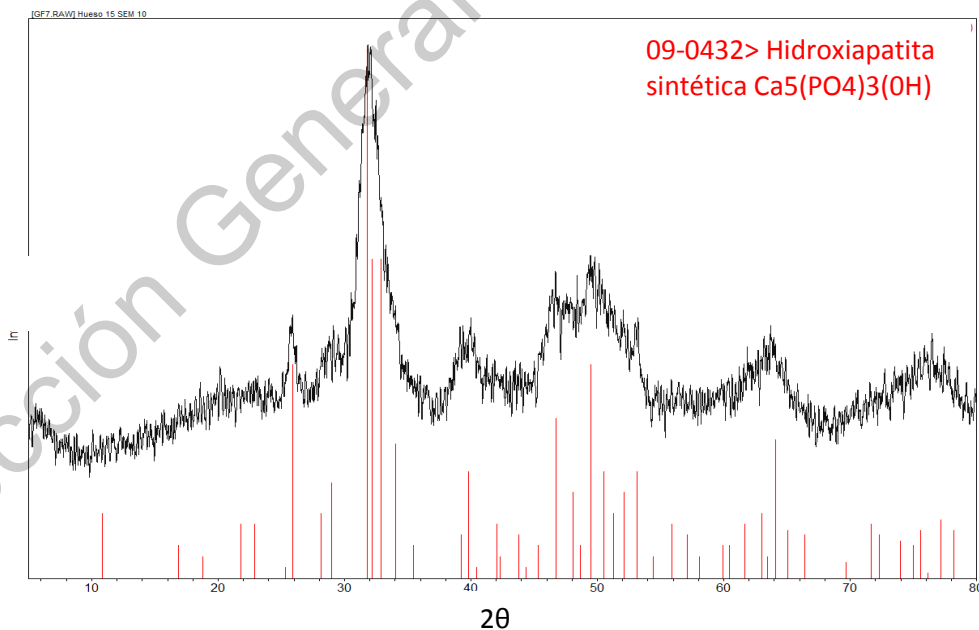
Gráfica 3. Espectro IR de caseína. El patrón coincide con el descrito para los grupos funcionales correspondientes a la caseína.

Podemos observar una banda en 1750 cm^{-1} que se debe a los enlaces dobles de C=O presentes en la estructura, en 1650 cm^{-1} se observa una pequeña banda que corresponde a la presencia de amida I dada por el enlace N-H. La amida II se representa en las bandas $1550\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ por los enlaces N-H y C-N (doble) (Fontecha, Bellanato, & Juarez, 1993; Bastidas, 2015).

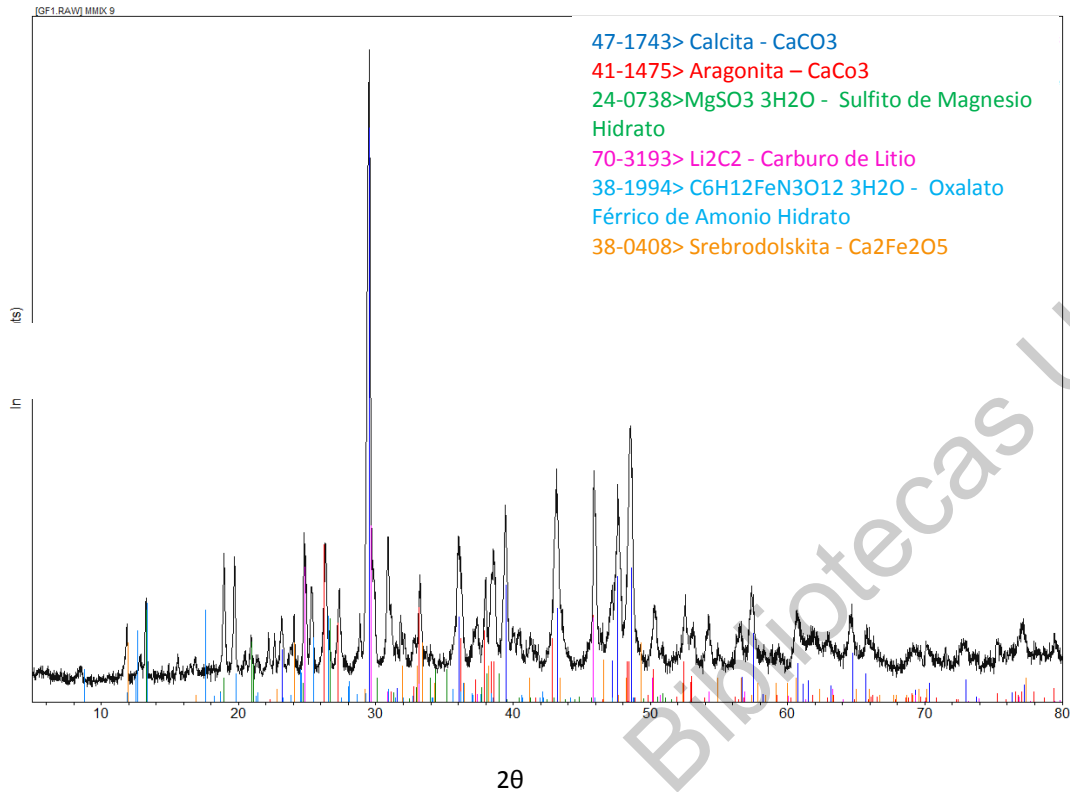
6.3 PRUEBAS DE RAYOS X.



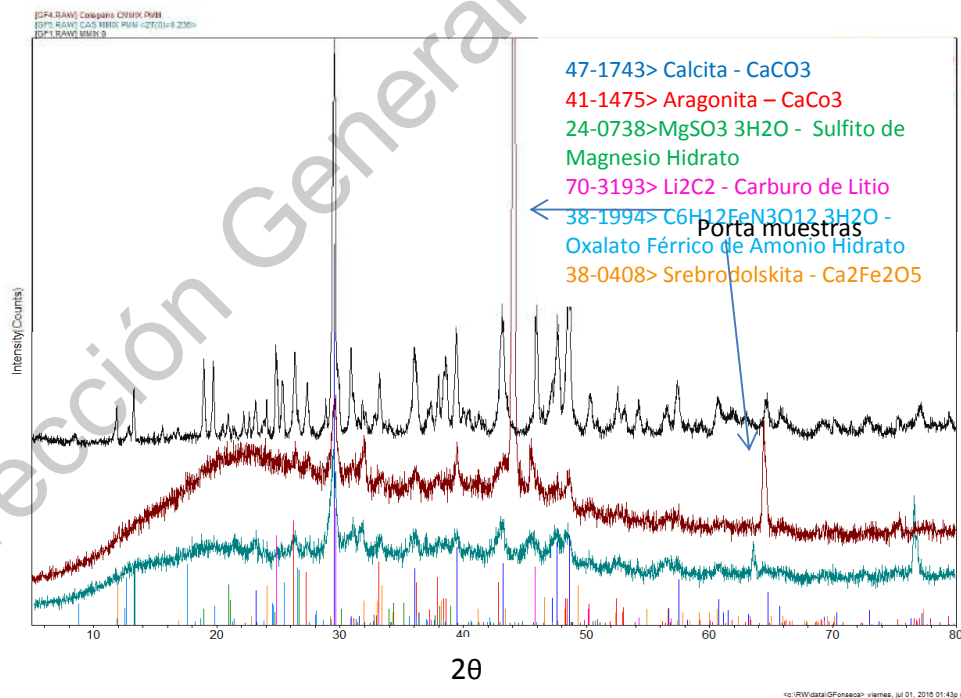
Gráfica 4. Difractogramas de colágeno (rojo), caseína (verde) y polimetilmetacrilato (negro).



Gráfica 5. Difractograma de hueso de rata Wistar con 15 semanas de edad (negro). Comparativa con Hidroxiapatita sintética (rojo).



Gráfica 6. Difractograma de Rayos X para la Mezcla de Minerales de grado alimenticio.



Gráfica 7. Gráfica de comparación entre el difractograma para las mezclas Col-Mx, Cas-Mx y mezcla de minerales, con hidroxiapatita sintética.

Para los diferentes difractogramas, el análisis se llevo a cabo mediante los programas previamente descritos en la página 41, en donde podemos apreciar que la muestra de hueso, tiene una estructura similar a la hidroxiapatita sintética, que es un material usado comúnmente para remplazo de tejido óseo (Gráfica 5).

En el caso de la mezcla de minerales, se encontraron diferentes fases cristalinas, esto se debe a su composición variada que se describe en la Gráfica 6.

Por otra parte, se realizo la comparación de las muestras de PMMA, caseína y colágeno, sin polimerizar, de donde podemos observar que tanto la caseína como el colágeno, tienen una estructura similar (Gráfica 4).

Se analizaron los difractogramas para Col-Mx y Cas-Mx (Gráfica 7) en donde podemos observar una diferencia en el ángulo difractado $2\theta \sim 77^\circ$ para la muestra de Cas-Mx, donde podemos ver que los picos de mayor intensidad corresponden a la Calcita y Carburo de litio, la primera posee una estructura romboédrica (Pimentel, 2017). Para la estructura de Col-Mx, tenemos picos de mayor intensidad que coinciden con el Carburo de Litio, Calcita y Srebrodolskita lo que igual sugiere una estructura romboédrica.

6.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO

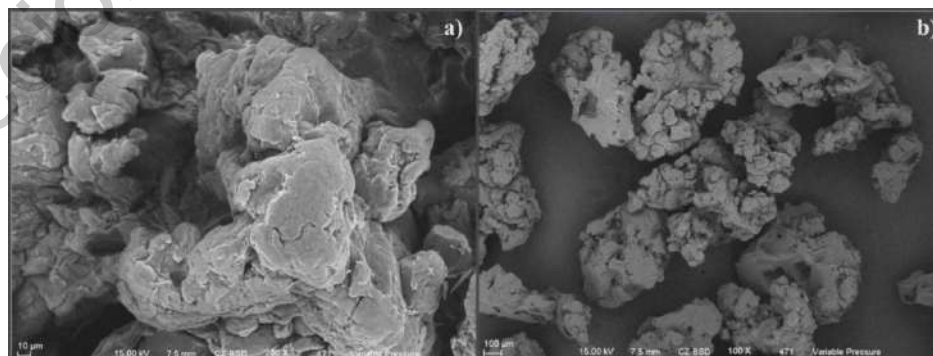


Figura 17. Imágenes obtenidas mediante SEM. Las fotografías corresponden a la muestra de caseína. a) Vista a escala de 10µm. b) Escala de 100µm.

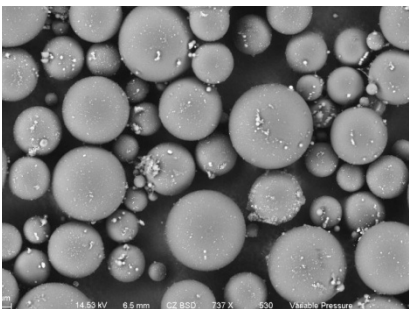


Figura 18. Imágenes obtenidas mediante SEM de PMMA. Vista a escala de 20 μm .

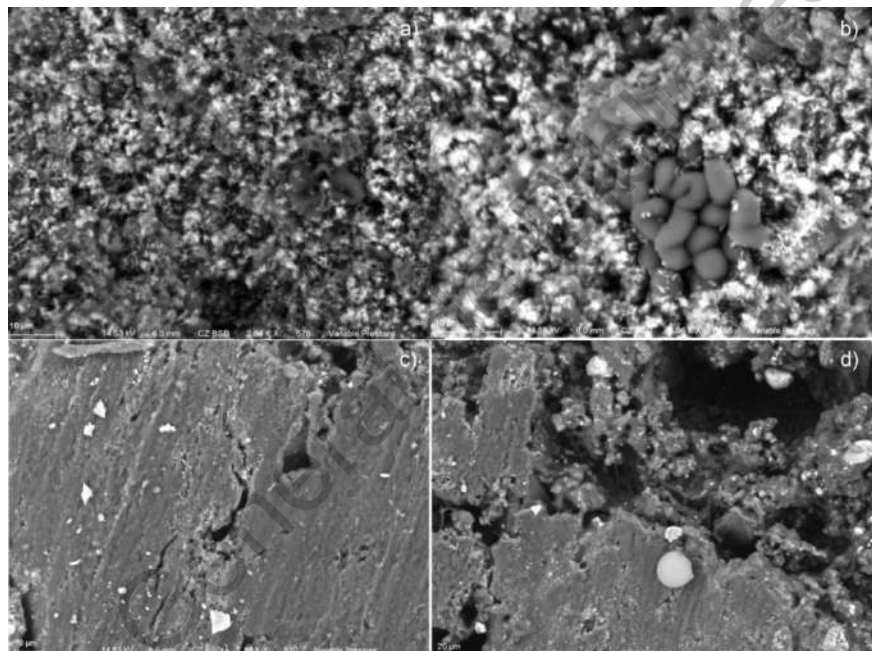


Figura 19. Imágenes Col-Mx a diferentes escalas, obtenidas mediante SEM a), b) y d) Vista a escala de 10 μm . c) Vista a escala de 10 μm .

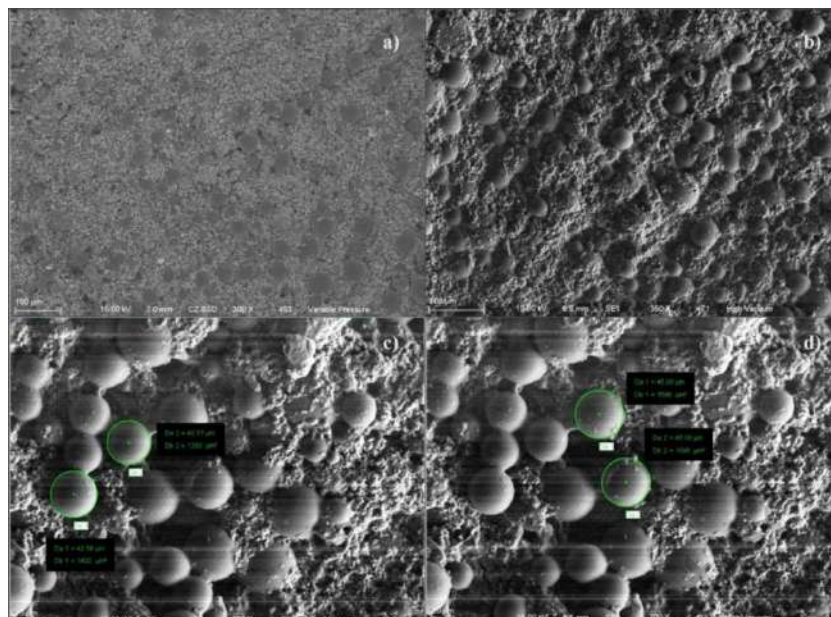


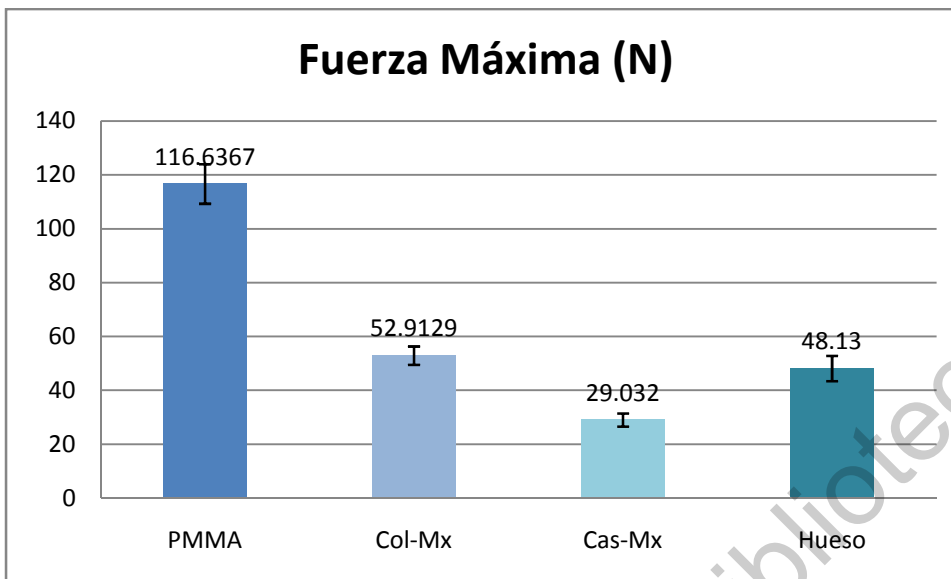
Figura 20. Imágenes de la mezcla Cas-Mx, obtenidas mediante SEM. a) y b) Vistas a 100 μm . c) y d) Vistas a 20 μm .

Naturalmente, el PMMA tiene esferas de distintos diámetros, además de que no presentan uniones entre ellas, ni aglomerados, como se puede apreciar en la Figura 18.

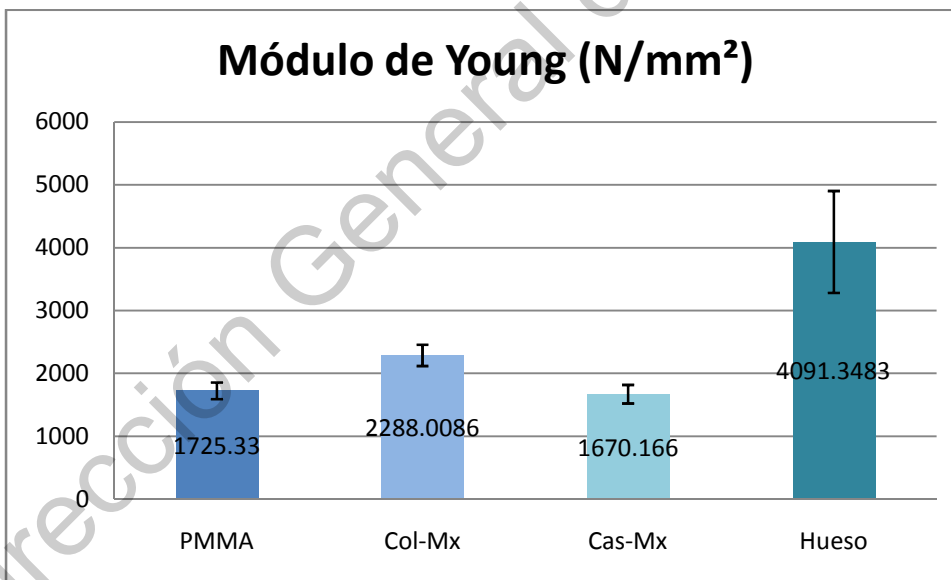
En el caso de la mezcla Col-Mx (Figura 19), las esferas de PMMA forman aglomerados, perdiendo su forma regular y mostrando una estructura amorfa, en algunas partes de la estructura podemos observar una especie de pared formada por la mezcla, esto podría indicarnos una región cristalina dentro de nuestro polímero.

A diferencia de la Figura 18, en el caso de la mezcla Cas-Mx, se puede observar que las esferas de PMMA tienen un tamaño similar con diámetros entre 40 y 48 μm . Además no presentan los aglomerados que se muestran en la Figura 19 para la mezcla Col-Mx, esto se debe principalmente a que la caseína junto con la mezcla de minerales, forman una barrera física que no permite la aglomeración de las esferas de PMMA, en la Figura 20 en las vistas c) y d), se distingue una unión entre las esferas de PMMA, lo cual, nos indica que pudo llegar a existir aglomeración.

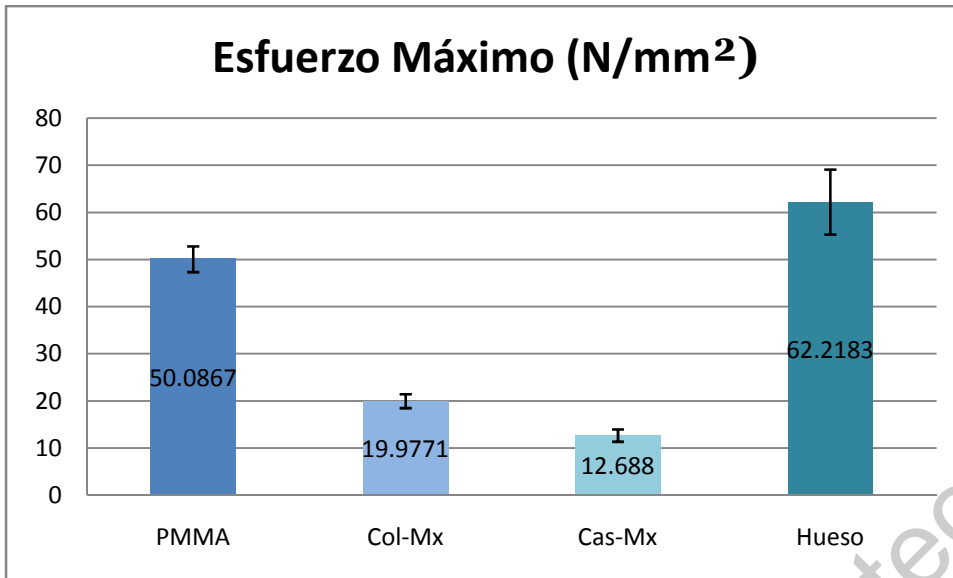
6.5 PRUEBAS DE FLEXIÓN



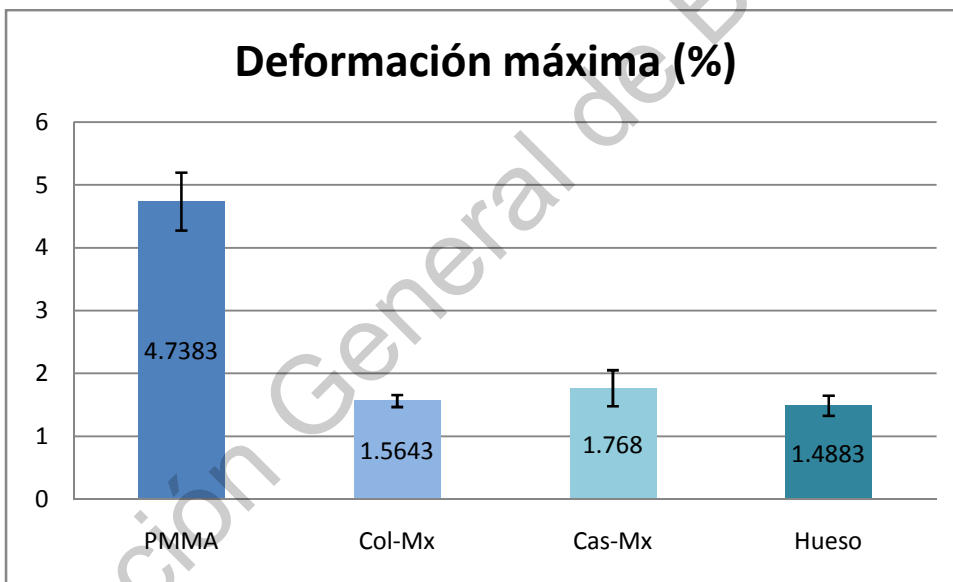
Gráfica 8. Comparación entre los diferentes materiales, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.



Gráfica 9. Módulo de Young de los diferentes materiales, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.



Gráfica 10. Medición del esfuerzo máximo para las diferentes mezclas, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.



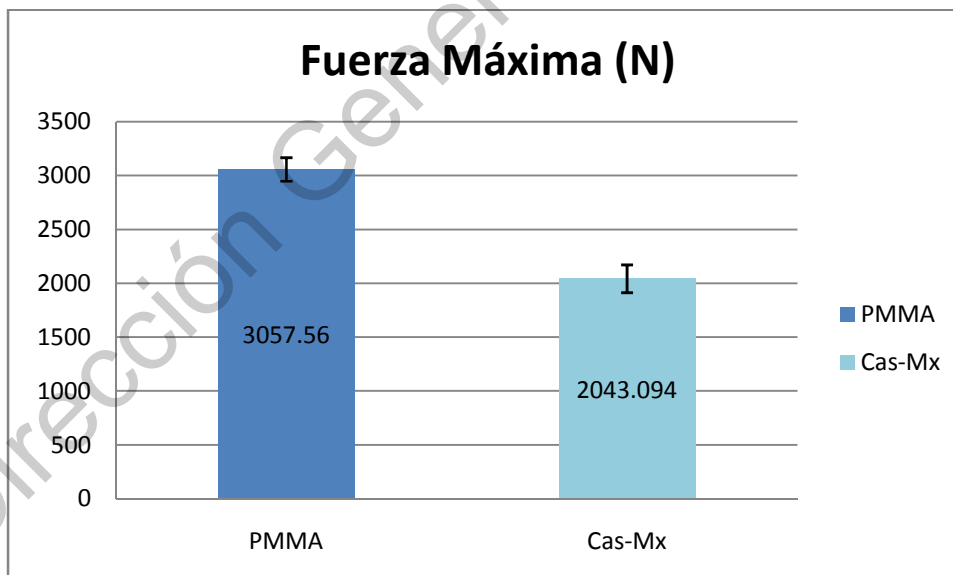
Gráfica 11. Comparación del porcentaje de deformación máxima, utilizando como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas de edad.

La fuerza máxima correspondiente a la Gráfica 8, nos habla de cómo funciona el ensayo de flexión, ya que la fuerza que aplica el equipo, se hace mediante intervalos, en este caso, se registra la fuerza máxima que logran soportar los materiales sin llegar a la ruptura.

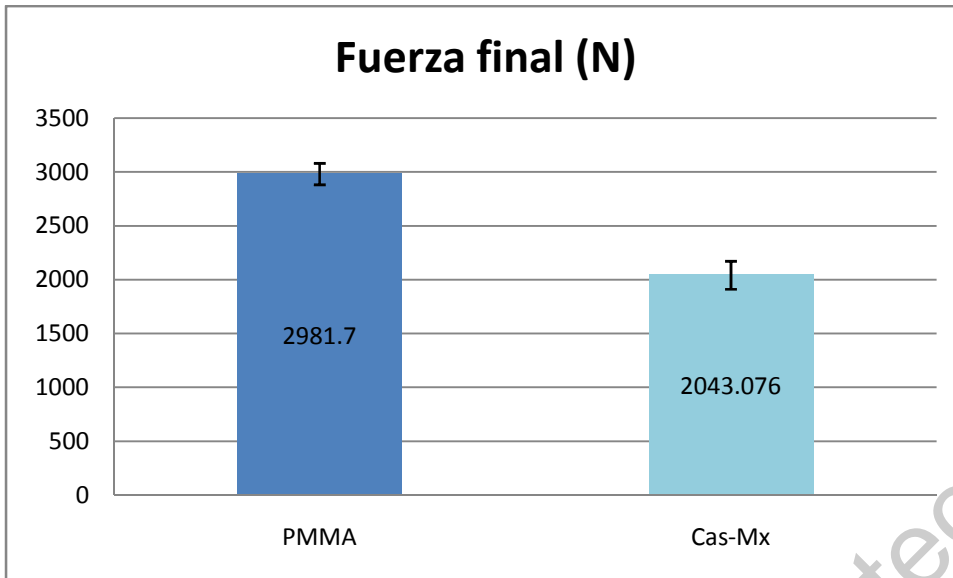
En la Gráfica 9, podemos comparar el módulo de Young obtenido para los distintos materiales, en el caso de la muestra de Rata Wistar, este se encuentra por encima de los materiales utilizados en este proyecto, sin embargo, la mezcla Col-Mx presenta un módulo de Young superior al PMMA (material de referencia), mientras que el módulo de Young para PMMA y la mezcla Cas-Mx, no muestran una diferencia significativa.

Por otra parte, el esfuerzo máximo y el porcentaje de deformación máxima, son los datos mediante los cuales se puede obtener el parámetro de la resistencia a la flexión, siendo medidas equiparables al módulo de Young. Esto lo podemos ver en la Gráfica 10 y la Gráfica 11, en donde observamos que el hueso tuvo una mayor carga y un porcentaje de deformación menor, mientras que el caso del PMMA, pesé a que resistió una carga de $\sim 50 \text{ N/mm}^2$, su deformación fue la mayor. Por otra parte, tanto Col-Mx como Cas-Mx tuvieron una deformación similar a la del hueso, pero a cargas notablemente menores.

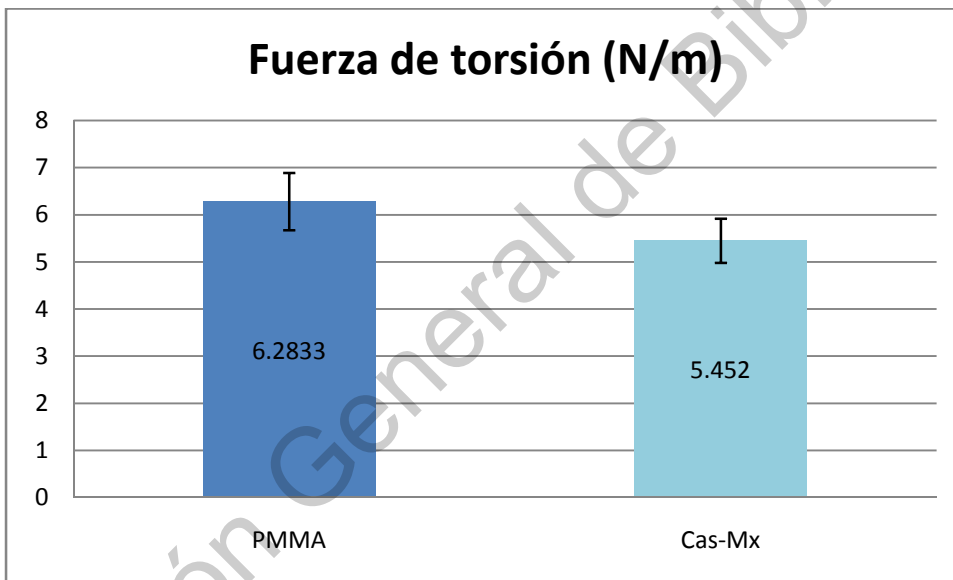
6.6 PRUEBAS DE COMPRESIÓN



Gráfica 12. Gráfica comparativa de la Fuerza máxima que soportan los materiales PMMA y Cas-Mx.



Gráfica 13. Fuerza Final de la prueba de compresión.



Gráfica 14. Peso aplicado que se interpreta como fuerza por metro.

Para las gráficas de la prueba de compresión, solo se tomaron datos del PMMA y la mezcla Cas-Mx, esto debido a que las probetas obtenidas a partir de Col-Mx, no lograron terminar la prueba, lo que ocasiono que no se obtuvieran medidas. Este hecho por sí mismo, nos demuestra la baja resistencia a la compresión de la mezcla Col-Mx.

6.7 ADICIÓN DE PARTÍCULAS METÁLICAS

Las probetas al ser reforzadas con partículas de plata coloidal mostraron ser más resistentes al aplicar la prueba de flexión (no analizadas debido a restricciones por la contingencia sanitaria), se observó un color un poco más oscuro que el que presentan las otras muestras. La elaboración de las mismas, se llevo a cabo sin ningún tipo de contratiempo y la polimerización no requirió de un método adicional, ya que, se realizó a temperatura ambiente al igual que las muestras de PMMA, Col-Mx y Cas-Mx. Aunque cualitativamente se logró apreciar una mayor resistencia debido a la adición de las partículas de plata, no ha sido posible analizar los resultados debido a las complicaciones por la contingencia sanitaria.

7. DISCUSIÓN

En la espectroscopia IR se observa que el PMMA, el colágeno y la caseína que se utilizaron en el trabajo, tienen patrones similares a los reportados por la literatura, en específico, coinciden los puntos de grupos funcionales, lo que validan el uso de los insumos utilizado en el presente proyecto.

Por otra parte, los difractogramas de Rayos-X, se comparó el hueso con Hidroxiapatita, a lo que podemos observar que sus difractogramas son similares, pese a que la hidroxiapatita es sólido cristalino y el patrón para hueso muestra una interferencia debido a que este es amorfo. Además se compararon los 2 materiales generados durante la parte experimental de lo que podemos observar que ambos poseen estructuras semicristalinas y que junto a la mezcla de minerales, generan bandas similares a las producidas por hidroxiapatita.

Al realizar el estudio mediante microscopia SEM, se visualiza que la mezcla Cas-Mx no presenta aglomerados de PMMA, la estructura presentó cierta porosidad, que pudiera estar relacionada con una menor densidad del material en

comparación con la mezcla Col-Mx. Mientras que las esferas de PMMA en la mezcla de colágeno y minerales no poseen un patrón estructurado.

Como podemos observar en la Gráfica 9, se toma como referencia el hueso de rata Wistar de 15 semanas al igual que el PMMA (material de uso comercial), sin embargo, entre ambos existen diferencias notables, que pueden ser atribuidas a la naturaleza del hueso de rata, por otra parte, la mezcla Col-Mx tiene una diferencia significativa respecto a ambos, lo que nos demuestra que tiene una menor rigidez y mayor elasticidad, mientras que la mezcla Cas-Mx tiene un rendimiento similar al del PMMA.

Debido a la estructura que presentan la muestra Cas-Mx, se determinó que sería más óptima para ser reforzada con las partículas de plata. En cuanto a la densidad de las mismas, no tiene una variación significativa. Adicionalmente, en la prueba de flexión, las probetas, al final de la misma, solamente presentaban una ruptura parcial, similar al caso de las probetas blanco de PMMA. Lo que indica que este material tiene mayor resistencia y menor peso, lo que lo hace ideal para aplicaciones en donde se requiera un material resistente y ligero.

8. CONCLUSIONES

Después de analizar los resultados, se llegó a la conclusión de que las mezclas obtenidas, son susceptibles de ser utilizadas para aplicaciones biomédicas, tales como exoprótesis o implantes. Sin embargo, se sugiere, la realización de más pruebas de caracterización, para determinar la mezcla más adecuada que reúna las propiedades mecánicas necesarias para cada el tipo de aplicación.

Mediante la espectroscopia IR, pudimos acreditar que los materiales utilizados en el proyecto corresponden a los espectros reportados en la literatura para dichos compuestos.

Además, mediante la técnica de Rayos X, encontramos que las mezclas Cas-Mx y Col-Mx, tienen un patrón con similitud al generado por hidroxiapatita (material de referencia), que es un material destacado por su uso para implantes de hueso.

Las mezclas utilizadas conservaron la integridad de las proteínas, el colágeno y la caseína, ya que, la polimerización se llevó a cabo a temperatura ambiente, lo que impide la desnaturalización de las mismas.

En el caso de la mezcla Cas-Mx, esta demostró tener un mejor rendimiento en la prueba de compresión, lo que puede ser derivado de la estructura que observamos en la microscopia SEM, ya que, al tener las esferas de PMMA esparcidas, estas podrían brindar una mejor resistencia, ya que como observamos, la mezcla Col-Mx tiene un módulo de Young mayor, pero no logró concluir las pruebas de compresión, esto puede deberse a que en algunas partes, la estructura de Col-Mx, tiene aglomerados de PMMA, lo que representa una imperfección en el material, que puede ser causante de la fragilidad observada.

Las características de los materiales que componen las muestras son de marcas registradas de uso comercial para aplicaciones biomédicas, por lo que, se pretende que en un futuro, el material pueda ser utilizado dentro del cuerpo humano o de animales.

Por otra parte, en el caso de las muestras adicionadas con plata coloidal, con este trabajo de Tesis, se decidió utilizar la mezcla Cas-Mx, debido a su estructura, así como a los resultados de su ensayo de compresión. Con este trabajo, se plantea un material, que además puede llegar a presentar propiedades antibacterianas, lo cual, proporciona un campo aún más amplio de aplicaciones futuras.

Dentro de la perspectiva a largo plazo, se busca reemplazar el polímero utilizado en este material, por uno que sea de origen 100% natural, preferentemente, que

se pueda conseguir con facilidad y a bajo costo. Con estas características el material podría alcanzar una mayor biocompatibilidad.

También se planea, realizar las pruebas establecidas mediante esta tesis, para el material reforzado con partículas coloidales de Plata, con la finalidad, de obtener una mejor referencia para su uso en reemplazo de tejido óseo, así como realizar las pruebas de bioactividad, por un método in vitro y pruebas que comprueben las propiedades antibacterianas de la plata.

Dirección General de Bibliotecas UAQ

9. TRABAJOS CITADOS

1. Aegerter, M. A., Leventis, N., & Koebel, M. M. (2011). *Aerogels Handbook*. Nueva York: Springer .
2. Ali, S., Almaatoq, M., & Mohamed, A. (2013). Clasifications, surface characterization and standarization of nanobiomaterials. *International Journal of Engineering and Technology* , 187-199.
3. Alvarado Rivera, J. (1 de Diciembre de 2015). *Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN*. Recuperado el 11 de Diciembre de 2020, de Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN: <http://qro.cinvestav.mx/~ceramics/hibridos.htm>
4. American National Standards Institute. (1998). ANSI/ASAE S459 MAR98. *Shear and threepoint bending test of animal bone*.
5. Amigó, J. M. (2002). La difracción de rayos X de materiales policristalinos desde la época del Profesor Amorós hasta la actualidad. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia* , 97-112.
6. ASTM International. (2019). *ASTM F2150-19, Satandar Guide For Characterization of Biomaterial Scaffolds Used in Regenerative Medicine and Tissue-Engineered Medical Products*. West Conshohocken, PA.
7. Audic, J.-L., Chaufer, B., & Daufin, G. (2003). Non-food aplicaciones of milk components and dairy co-products: A review. *EDP sciences* , 417-438.
8. Avila Rodríguez, M. I., Rodríguez Barroso, L. G., & Sánchez, M. L. (2017). Collagen: A review on its sources and potential cosmetic application. *Journal of Cosmetic Dermatology* , 1-7.
9. AZoM. (14 de Mayo de 2002). *Azo Materials*. Recuperado el 23 de Julio de 2019, de Azo Materials: <https://www.azom.com>
10. Bastidas, A. (2015). *Obtención de hidrogel basados en caseína y genipina (Trabajo de Grado)*. Universidad de los Andes, Mérida.
11. Becerra López, S., & Paz Rueda, J. (2009). *Uso de la Caseína como film comestible*. Santiago de Chile: Universidad de Chile.
12. Beltrán, M. I. (31 de Marzo de 2011). *Repositorio Institucional de la Universidad de Alicante*. Recuperado el 22 de Febrero de 2020, de

Repositorio Institucional de la Universidad de Alicante:
<http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/16883>

13. Benavente, R. (2007). Polímeros amorfos, semicristalinos, polímeros cristalinos líquidos y orientación. *Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros* , 49-63.
14. Bernabeu Martínez, E., López-Oliva Muñoz, F., Larena Pallejero, A., Tur Gil, A., Piedra Gordo, M. C., & Montero Escobar, M. (2006). Estudio de la composición ósea para su apropiada regeneración con materiales implantados. *Patología del Aparato Locomotor* , 202-207.
15. Bienfait, B., & Ertl, P. (2013). JSME: a free molecule editor in JavaScript. *Journal of Cheminformatics* , 5-24.
16. Boskey, A. L., & Coleman, R. (2010). Aging and Bone. *Critical Reviews in oral biology & medicine* , 1333-1348.
17. Bragg, W. H., & Bragg, W. L. (1913). The reflection of X-rays by crystals. *Proceedings of the Royal Society of London* , 428-438.
18. Castro Vargas, C. D. (2012). *Obtención de colágeno a partir de crestas de pollos. (Tesis de Licenciatura)*. Universidad Industrial de Santander , Bucaramanga.
19. Cerrud Sánchez, S. M., Narvaéz Clemente, M. Y., Muñoz Gonzáles, V., & Schouwenaars, R. (2005). Modelado del comportamiento mecánico del hueso (análisis de los efectos del grado de hidratación). *Ingeniería Mecánica: Tecnología y Desarrollo* , 223-232.
20. Cesteros Iturbide, L. C. (2004). Aplicaciones de la FTIR al estudio de las interacciones polímero-polímero. *Revista Iberoamericana de Polímeros* , 112-132.
21. Coreño Alonso, J., & Méndez Bautista, M. T. (2010). Relación Estructura-propiedades de Polímeros. *Educación química* , 291-299.
22. Echavarría, A. (2003). Una perspectiva de los biomateriales vista desde un diseño específico: La prótesis total de cadera. . *Revista Facultad de Ingeniería* . , 95-108.

23. Fontecha, J., Bellanato, J., & Juarez, M. (1993). Infrared and Raman Spectroscopy Study of Casein in Cheese: Effect of Freezing and Frozen Storage. *Journal of Dairy Science* , 3303-3309.
24. García Garduño, M. V., & Reyes Gasga, J. (2006). La Hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación biomédica. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas.* , 90-95.
25. García, R. D. (2018). Instrumentos que revolucionaron la química: la historia del espectrofotómetro. *Avances en Química* , 79-82.
26. Gavira Vallejo, J. M., & Hernanz Gismero, A. (2011). *Técnicas fisicoquímicas en medio ambiente*. Madrid: UNED ediciones.
27. Gil Chavarría, I., Jiménez García, L. F., Villareal Ramírez, E., & Reyes Gasga, J. (s.f.). *Aspectos microscópicos de la biomineralización*. Recuperado el 08 de Diciembre de 2019, de Aspectos microscópicos de la biomineralización.: <https://www.researchgate.net/>
28. Gómez Guillen, M. C., Giménez, B., López Caballero, M. E., & Montero, M. P. (2011). Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: a review. *Food Hydrocolloids* , 1813-1827.
29. Guede, D., Gonzáles, P., & Caerio, J. R. (2013). Biomecánica y hueso (I): Conceptos básicos y ensayos mecánicos clásicos. *Revista de Osteoporosis y Metabolismo Mineral* , 43-50.
30. Guo, M., & Wang, G. (2016). Milk protein polymer and its application in environmentally safe adhesives. *Polymers* , 324-336.
31. Hennessey, J., López Noriega, J. C., & Sámano Osuna, I. J. (2005). Uso del injerto autógeno en la reconstrucción de defectos óseos de la región maxilofacial: Casos clínicos. *Revista Odontológica Mexicana* , 97-106.
32. Hernandez G., H., & Aguirre C., J. (2005). Estimación de calidad en polímeros empleando sensores virtuales. *Dyna* , 65-73.
33. Holt, C., Carver, J., Ecroyd, H., & Thorn, D. C. (2013). Invited review: Caseins and the casein micelle: their biological functions, structures, and behavior in foods. *American Dairy Science Association* , 6127-6146.

34. IUPAC. (1996). Glossary of Basic Terms in Polymer Science. *Pure & Applied Chemistry* , 2287-2311.
35. Keaveny, T. M., Borchers, R. E., Gibson, L. J., & Hayes, W. C. (1993). Theoretical analysis of the experimental artifact in trabecular bone compressive modulus. *Journal of Biomechanics* , 599-607.
36. Lister, J. (1881). An address on the catgut ligature. *British Medical Journal* , 183-185.
37. López Beceiro, J. J. (2011). *Modelización de la transición vítrea con relajación entálpica a partir de datos térmicos*. Universidade Da Coruña, Ferrol.
38. López Hernández, M., & Gonzáles Santos, R. (2006). Cementos oseos acrílicos modificados con hidroxiapatita para implantes óseos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas* , 77-86.
39. López, R. P. (2009). *Nanocomposites de sílice y polimetilmetacrilato. Caracterización por espectroscopía infrarroja por transformancia de Fourier. (Proyecto de Titulación. Pregrado)*. Universidad Carlos III de Madrid. Escuela Politécnica Superior., Madrid.
40. Macewen, W. (1881). Clinical lectures on some points connected with treatment of wounds. *British Medical Journal* , 150-151.
41. Manzanares Leal, G. L. (2013). Eficacia Antimicrobiana de la Plata Coloidal en Comparación con el Gluconato de Clorhexadina para el Control de Biopelícula de Unidades Dentales (Tesis de Maestría). UEAM, México.
42. Melaiye, A., & Youngs, W. J. (2005). Silver and its application as an antimicrobial agent. *Expert Opinion on Therapeutic Patents* , 125-130.
43. Meneses, G., Rios, A., & Valderrama, V. (2017). Desarrollo de una prótesis transradial externa para miembro superior basada en impresión 3D y control mioeléctrico. En E. Serna M., *Investigación Formativa en Ingeniería*. (págs. 229-240). Medellín: Instituto Antioqueño de Investigación.
44. National Center for Biotechnology Information. (2020). *PubChem Compound Summary for CID 73995022, Casein*. Recuperado el 04 de

- Diciembre de 2020, de PubChem Compound Summary for CID 73995022, Casein: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Casein>.
45. National Institute of Advanced Industrial Science and Technology. (12 de Octubre de 2010). *Spectral Database for Organic Compounds SDBS*. Recuperado el 11 de Diciembre de 2020, de Spectral Database for Organic Compounds SDBS: <https://sdb.sdb.aist.go.jp/sdb/cgi-bin/landingpage?sdbno=4062>
 46. Negri, A. L. (2011). Regulación de la mineralización ósea por factores inorgánicos y peptídicos. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo* , 216-224.
 47. Parenteau-Bareil, R., Gauvin, R., & Berthod, F. (2010). Collagen-Based Biomaterials for Tissue Engineering Applications. *Materials* , 1863-1887.
 48. Parida, P., Behera, A., & Chandra Mishra, S. (2012). Classification of the Biomaterials used in Medicine. *International Journal of Advances in Applied Sciences (IJAAS)* , 31-35.
 49. Payne, K. J., & Veis, A. (1988). Fourier transform IR spectroscopy of collagen and gelatin solutions: deconvolution of the amide I band for conformational studies . *Biopolymers* , 1749-1760.
 50. Peñón Vivas, P. Á., Casanova Díaz, C. P., & Guerra Cobián, O. (2011). El polimetilmetacrilato en la reconstrucción craneofacial. *Revista Cubana de Estomatología* , 136-146.
 51. Pérez, M. (2012). Técnicas de caracterización petrológicas (I): Microscopía Óptica de Polarización (MOP) y Difracción de Rayos X (DRX). En: La conservación de los geomateriales utilizados en el patrimonio. 23-30. Madrid.
 52. Pimentel, C. (2017). *Síntesis y reactividad de minerales del grupo de la dolomita y fases análogas. (Tesis Doctoral)*. Universidad Complutense de Madrid, Madrid.
 53. Pineda Manzano, M. (2009). Influencia de la temperatura de transición vítrea en el ablandamiento por deformación de polímeros semicristalizados. *Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales* , 129-130.

54. Piña Barba, M. C. (2010). *Los Biomateriales y sus aplicaciones*. México: Universidad Autónoma Metropolitana UAM.
55. Quiroz, C. Q. (2018). *Compuesto polimérico con capacidades antimicrobianas usando nanopartículas de plata para la interfaz en órtesis y prótesis externas de miembro inferior. (Tesis de Maestría)*. Universidad Pontificia Bolivariana., Medellín.
56. Qunna, X., Jianzhong, M., Jianhua, Z., Yuyo, W., & Jing, Z. (2013). Bio-based core-shell casein-based silica nanocomposite latex by double-in situ polymerization: Synthesis, characterization and mechanism. *Chemical Engineering Journal* , 281-289.
57. Ramos, M., & Castillo, C. (2011). Aplicaciones biomédicas de las nanopartículas magnéticas. *Ideas CONCYTEG* , 629-646.
58. Reeves, P. G., Nielsen, F. H., & Fahey, G. C. (1993). AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *Journal of Nutrition* , 1939-1951.
59. Rodríguez Tobías, J. H. (2009). *Análisis de métodos y técnicas de caracterización de materiales nanoestructurados. (Tesis de Maestría)*. Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo.
60. Rodríguez, E. M. (2015). Plata Coloidal: Xenobiótico, Antígeno y Disruptor Hormonal. *REB. Revista de Educación Bioquímica* , 10-25.
61. Rojas Cervantes, M. L. (2015). *Diseño y síntesis de materiales "a medida" mediante el método sol-gel*. Madrid: Univerisdad Nacional de Educación a Distancia.
62. Rosales Velásquez, C. P. (2008). *Efecto de la dispersión de nanopartículas de plata en una matriz polimérica sobre sus características fisicomecánicas y antimicrobianas (Tesis de Especialidad)*. Centro de Investigación en Química Aplicada, Saltillo.
63. Rubio Navarro, L., Foseca Hernández, G. A., & Pérez Torrero, E. (2016). Long-term Effects of Pre and Postnatal Food Restriction in Mechanical and

- Structural Properties of Rat Femur. *Current Nutrition & Food Science* , 200-207.
64. Sanz Ruiz, P., Paz, E., Abenojar, J., del Real, J. C., Forriol, F., & Vaquero, J. (2013). Influencia del medio fisiológico sobre las propiedades mecánicas del cemento óseo. ¿Son los estudios actuales extrapolables?! *Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología* . , 3-10.
65. Scholz, M., Blanchfield, J. P., Bloom, L. D., Coburn, B. H., Elkington, M., Fuller, J. D., y otros. (2011). The use of composite materials in modern orthopaedic medicine and prosthetic devices: A review. *Composites Science and Technology* , 1791-1803.
66. Schulte, J., Stöckermann, M., & Gebhardt, R. (2020). Influence of pH on the stability and structure of single casein microparticles. *Food Hydrocolloids* .
67. Silver, F. (1994). *Biomaterials. Medical Devices and Tissue Engineering*. London: Chapman & Hall.
68. Simeone Giordano, S. (2010). Usos y efectos del Fosfato de Calcio Amorfo (FCA) en la odontología restauradora y preventiva. *Acta Odontológica Venezolana* .
69. Tanaka, T., Takahashi, K., Tsubaki, K., Hirata, M., Yamamoto, K., Biswas, A., y otros. (2018). Isolation and characterization of acid-soluble bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) skin collagen. *Fisheries and Aquatic Sciences* , 21 (7).
70. Tanoira, R. P. (2014). *Incorporación de plata para incrementar las propiedades antimicrobianas de aleaciones de titanio. (Tesis Doctoral)*. Universidad Complutense de Madrid., Madrid.
71. Torres, N., Landau, L., Bamonte, E., Di Giacomo, M., Eurasquin, P., Fornaso, C., y otros. (2005). Fuerzas intermoleculares y propiedades físicas de compuestos orgánicos: Una estrategia didáctica. *Educación Química* , 129-136.
72. Travlos, G. S. (2006). Normal Structure, Function, and Histology of the bone Marrow. *Toxicologic Pathology* , 548-565.
73. Urzua, J. (1993). Prótesis y Cirugía. Primera Parte: Fundamentos en Prótesis y Cirugía. *Revista Chilena de Cirugía* , 93-103.

74. Varner, E. K., El-Badawy, A., Feldhake, D., & Venkatapathy, R. (2010). *State of the Science Literature Review: Everything Nanosilver and More*. Washington, D.C.: Us Environmental Protection Agency.
75. Velandia C., F., & Hurtado M., M. F. (2018). Difracción de rayos X: un mundo de aplicaciones por descubrir. *Ingeciencia* , 67-75.
76. Velasco Peña, M. A., & Garzón Alvarado, D. A. (2010). Implantes Scaffolds para regeneración ósea. Materiales, técnicas y modelado mediante sistemas de reacción-difusión. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* , 140-154.
77. Vogler, C. (2009). *Quantifizierung verschiedener Kollagentypen in Gewebeproben mittels (Tesis de Pregrado)*. Hochschule Mittweida, Mittweida.
78. Walstra, P., Wouters, J. T., & Geurts, T. J. (2005). *Dairy Science and Technology*. Taylor & Francis Group.
79. Wang, H.-J., Di, L., Ren, Q.-S., & Wang, J.-Y. (2009). Applications and degradation of proteins used as tissue engineering materials. *Materials* , 613-635.
80. Zanellela, R. (2012). Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. *Mundo nano* , 69-81.
81. Zeigler: Nutrition Through Innovation. (Agosto de 2010). *Zeigler feed*. Recuperado el 30 de Septiembre de 2019, de Zeigler feed: www.zeiglerfeed.com