

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



**“SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE
HIDROXIAPATITA CON INCORPORACIÓN DE IONES
DE TIERRAS RARAS PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS”**

TESIS
PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL TÍTULO DE

BIOINGENIERO

PRESENTA

EDUARDO LÓPEZ DELGADO

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. DAVID CERVANTES VÁSQUEZ

CODIRECTOR:

DRA. EUNICE VARGAS VIVEROS

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, 2018.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

**Síntesis y caracterización fisicoquímica de Hidroxiapatita con
incorporación de iones de tierras raras para aplicaciones
biomédicas**

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIOINGENIERO

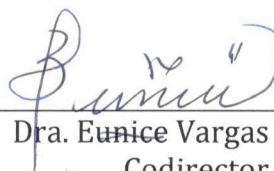
PRESENTA:

EDUARDO LÓPEZ DELGADO

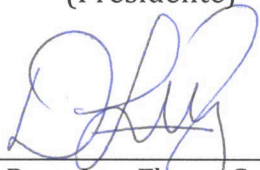
Aprobada por:



Dr. David Cervantes Vásquez
Director
(Presidente)



Dra. Eunice Vargas Viveros
Codirector
(Secretario)



Dra. Dora Luz Flores Gutiérrez
Sinodal
(Vocal)



Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez
Sinodal
(Vocal)



Dr. Rubén César Villarreal Sánchez
Sinodal
(Vocal)

RESUMEN

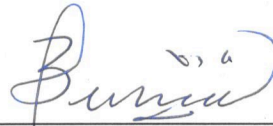
De la tesis de Eduardo López Delgado, presentada como requisito para la obtención del título de BIOINGENIERO. Ensenada, Baja California. Mayo de 2018.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE HIDROXIAPATITA CON INCORPORACIÓN DE IONES DE TIERRAS RARAS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS.

Resumen aprobado por:



Dr. David Cervantes Vásquez
Director de Tesis



Dra. Eunice Vargas Viveros
Codirector de tesis

En el presente trabajo se llevó a cabo la síntesis y caracterización fisicoquímica de hidroxiapatita (HAP) con incorporación de iones de tierras raras (Eu^{3+} , Tb^{3+} , Ce^{3+}) a diferentes concentraciones atómicas utilizando el método de síntesis sol-gel asistido con ácido tartárico. Se obtuvo una serie de materiales con concentraciones atómicas de 1%, 2% y 3% para cada metal de tierra rara. Posteriormente, se llevó a cabo el análisis de las propiedades luminiscentes de las series de materiales por medio de Espectrofotometría de Fluorescencia. La estructura cristalina fue determinada mediante difracción de rayos X y la composición del material mediante espectroscopía de dispersión de energía. Se determinó la morfología del material utilizando la técnica microscopía electrónica de barrido. Los resultados obtenidos mostraron una exitosa incorporación de los iones de tierras raras en la red huésped del material, así como espectros de excitación y emisión característicos de las transiciones de cada uno de los iones de tierras raras incorporados y una estructura morfológica mesoporosa típica de la HAP. Con base en los resultados obtenidos los materiales sintetizados presentan aplicaciones potenciales como agentes para el rastreo de fármacos en aplicaciones biomédicas.

Palabras Clave: hidroxiapatita, europio, terbio, cerio, fluorescencia, sol-gel.

ABSTRACT

From the thesis of Eduardo López Delgado, announced as a requirement to get the BIOENGINEERING title. Ensenada, Baja California. May 2018.

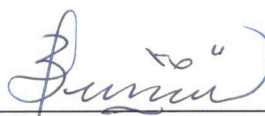
SYNTHESIS AND PHYSICOCHEMICAL CHARACTERIZATION OF HYDROXYAPATITE WITH INCORPORATION OF RARE EARTH IONS FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Abstract approved by:



Dr. David Cervantes Vásquez

Advisor



Dra. Eunice Vargas Viveros

Co-Advisor

In the present work, *rare earths* (Eu^{3+} , Tb^{3+} , Ce^{3+}) doped hydroxyapatite (HAp) was synthesized and physicochemical characterization was carried out. Synthesis involved different atomic concentrations of the dopant agent by sol-gel technique, assisted with tartaric acid. A material series was obtained with atomic concentrations of 1%, 2% and 3% for each *rare earth* metal. The optical properties, structure, morphology and element composition were systematically characterized by photoluminescence spectra (PL), X Ray Diffraction (XRD), Scanning Electron Microscopy (SEM) and Energy Dispersion Spectroscopy (EDS). The obtained results show a successful incorporation of the *rare earth* ions in the material lattice, as well as the excitation and emission spectra characteristics of each one; besides a typical HAp mesoporous morphological structure. Based on the results, synthesized materials show potential applications as drug tracking agents in biomedical applications.

Key words: hydroxyapatite, europium, terbium, cerium, fluorescence, sol-gel.

DEDICATORIA

Con mucho cariño principalmente a mis padres que me dieron la vida y han estado conmigo en todo momento. Gracias por todo el apoyo, por creer en mi y darme lo necesario para obtener lo necesario para construir por mi mismo un futuro, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado ahí para mi, por todo esto les agradezco de todo corazón el que estén a mi lado. Este año de trabajo les pertenece también, ya que no lo habría logrado sin ustedes.

Dedicado también para mi hermana Karen y mi perrita Penny, sin ellas este año de trabajo hubiese sido mucho más difícil. Por último, dedico este trabajo a mi mismo, por que al realizarlo logré demostrarme que no soy la misma persona que era al iniciar la carrera. Que tengo potencial para no quedarme en este escalón de mi vida y apuntar por retos más complejos, que sé me costarán mucho, pero ahora podré voltear atrás y recordar que ya me enfrenté a retos difíciles que si pude con ellos podré con los que vengan, recordando siempre todo lo que se me fue enseñado, y lo que aprendí por cuenta propia.

El único verdadero fracaso es aquel del que no aprendemos nada.

Henry Ford.

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño de la Universidad Autónoma de Baja California, por brindarme las instalaciones, recursos y conocimientos necesarios para mi formación como profesionista.

Al Dr. David Cervantes Vásquez por guiarme en cada paso de este proyecto, siendo un mentor paciente y dedicado.

A la Dra. Eunice Vargas Viveros por apoyarme con sus conocimientos para la realización de un buen trabajo.

Al comité de tesis por contribuir con sus observaciones para ayudarme a realizar un mejor escrito.

A mis padres y hermanas por ser mi apoyo e impulsarme a continuar en cada paso que doy.

A mis amigos y colegas por los ánimos que me dieron para no rendirme en el trayecto.

Contenido

RESUMEN.....	Error! Bookmark not defined.
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
Contenido.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	viii
1. Introducción.....	1
2. Antecedentes.....	15
3. Hipótesis.....	20
4. Objetivos.....	20
4.1. Objetivo general.....	20
4.2. Objetivos específicos.....	20
5. Marco teórico.....	22
5.1. Método sol-gel.....	22
5.2. Difracción de rayos X.....	24
5.3. Luminiscencia.....	28
5.4. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	32
5.5. Espectroscopía de dispersión de energía (EDE).....	34
6. Metodología experimental.....	36
6.1. Reactivos y materiales.....	36
6.2. Síntesis de HAP con incorporación de iones de tierras raras.....	37
6.3. Caracterización fisicoquímica.....	38
6.3.1. Propiedades luminiscentes por fotoluminiscencia.....	38
6.3.2. Estructura cristalina por difracción de rayos X.....	39
6.3.3. Imágenes de superficie y composición química cualitativa por microscopía electrónica de barrido.....	39
7. Resultados y discusión.....	40
7.1. Estructura cristalina.....	40
7.2. Análisis de fotoluminiscencia.....	41
7.3. Imágenes de superficie y análisis elemental por microscopía electrónica de barrido.....	47
7.4. Análisis elemental por espectroscopía de dispersión de energía.....	49
8. Conclusiones.....	52
9. Referencias.....	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN DE LA VARIACIÓN DEL RADIO ATÓMICO A TRAVÉS DE LA SERIE DE IONES TRIVALENTES DE METALES LANTÁNIDOS (GARZA RODRÍGUEZ, 2010).	4
FIGURA 2. ARREGLO ATÓMICO EN LA CELDA UNITARIA HEXAGONAL DE LA HAP, MOSTRANDO POSICIONES ATÓMICAS DEL Ca, P, O E H DENTRO DE LA CELDA UNITARIA (GARCÍA-CORDUÑO, 2006).	6
FIGURA 3. ESQUEMA DE LA CONVERSIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE HAP:EU ³⁺ FLUORADAS RECUBIERTAS CON ÁCIDO OLEICO EN NANOCRISTALES FLUORESCENTES CON PLURONIC F127 Y SU USO EN PRUEBAS DE IMAGEN CELULAR(HUI, 2012).	10
FIGURA 4. SISTEMA DE MARCAJE FLUORESCENTE PARA VISUALIZACIÓN DE MICROORGANISMOS EN MICROSCOPIO (OLIVES, 2010).	11
FIGURA 5. REPRESENTACIÓN DE UNA MOLÉCULA GENERANDO UNA REACCIÓN DE FLUORESCENCIA EN RESPUESTA A LA INTERACCIÓN CON UN DETERMINADO ANALITO (OLIVES, 2010).	12
FIGURA 11. IMAGEN FLUORESCENTE DE CÉLULAS INCUBADAS CON LOS NANORODILLOS DE HAP FUNCIONALIZADOS (GUANGJIAN ET AL., 2017).	17
FIGURA 12. LIBERACIÓN DEL FÁRMACO ACOPLADO AL NANOROD EN FUNCIÓN DEL TIEMPO A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE PH (ZENG, 2017).	18
FIGURA 13. DIAGRAMA DEL PROCESO SOL-GEL PARA LA OBTENCIÓN DE DIFERENTES TIPOS DE PRODUCTOS (BRINKER, 2013).	23
FIGURA 14. REPRESENTACIÓN DE UNA ESTRUCTURA CRISTALINA DE DIAMANTE (VALENZUELA CALAHORRO, 1995).	25
FIGURA 15. REPRESENTACIÓN DE INTERFERENCIA CONSTRUCTIVA (A) E INTERFERENCIA DESTRUCTIVA (B) (ATKINS, 2006).	25
FIGURA 16. DIAGRAMA DE DIFRACCIÓN DE RAYOX-X POR UN CRISTAL (SURYANARAYANA, 1998).	26
FIGURA 17. CONFORMACIÓN BÁSICA DE UN ESPECTROFOTÓMETRO (ALBELLA MARTÍN, 2003).	31
FIGURA 18. DIAGRAMA DEL PRINCIPIO DE FORMACIÓN DE IMÁGENES DEL MEB (HERNÁNDEZ ALBAÑIL, 2002).	34
FIGURA 19. ESQUEMA GENERAL DEL FUNCIONAMIENTO ESPECTRÓMETRO DE DISPERSIÓN DE ENERGÍA (VÁZQUEZ NIN, 2000).	35
FIGURA 21. ESPECTROS DE EXCITACIÓN HAP:EU ³⁺ ($\lambda_{EMS}=617$ NM).	42
FIGURA 22. ESPECTRO DE EMISIÓN HAP:EU ³⁺ ($\lambda_{EXT}=251$ NM).	43
FIGURA 23. ESPECTRO DE EMISIÓN HAP:EU ³⁺ ($\lambda_{EXT}=394$ NM).	43
FIGURA 24. ESPECTRO DE EXCITACIÓN ($\lambda_{EMS}=544$ NM) HAP:Tb ³⁺	45
FIGURA 25. ESPECTRO DE EMISIÓN ($\lambda_{EXT}=223$ NM) HAP:Tb ³⁺ .	45
FIGURA 26. ESPECTRO DE EXCITACIÓN ($\lambda_{EMS}=416$ NM) HAP:Ce ³⁺	46
FIGURA 27. ESPECTRO DE EMISIÓN ($\lambda_{EXT}=208$ NM) HAP:Ce ³⁺ .	47
FIGURA 28. IMAGEN DE SEM DE HAP:EU ³⁺ 3%.	48
FIGURA 29. IMAGEN DE SEM DE HAP:Tb ³⁺ 3%.	48
FIGURA 31. ESPECTROS EDS DE HAP:EU ³⁺	50
FIGURA 32. ESPECTROS EDS DE HAP:Tb ³⁺	51
FIGURA 33. ESPECTROS EDS DE HAP:Ce ³⁺	51

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. FÓRMULA GENERAL DE LOS MINERALES DE APATITAS Y LAS POTENCIALES SUSTITUCIONES EN SUS 3 SUBCATEGORÍAS (VALLET-REGÍ, 2004).....	8
--	----------

1. Introducción

En la actualidad, el campo de la biomedicina se ha visto altamente beneficiado por la implementación de los biomateriales. Las propiedades físicas, químicas y mecánicas que éstos presentan, han permitido la mejora y el desarrollo de dispositivos médicos, así como, directamente aplicados en protocolos de diagnóstico o tratamientos médicos (Duffo, 2011).

El concepto de biomateriales ha ido variando con el paso de los años. Se pueden encontrar tantas definiciones del término, como autores que han escrito sobre el tema. El origen de este término es difícil de identificar, pero puede atribuirse a los primeros simposios de Biomateriales realizados por la Universidad de Clemson a principios del año 1970 (Ratner, 2004). El Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos de América define un biomaterial como cualquier materia, superficie, o constructo que interactúa con sistemas biológicos. Estos pueden ser de origen natural o sintetizado en laboratorio usando componentes metálicos, polímeros, cerámicas o materiales compuestos (U.S. Department of Health & Human Services, 2018).

Pese a que los biomateriales han tenido un papel importante en la ciencia durante el último siglo, el origen de éstos data desde miles de años atrás. La primera evidencia de un biomaterial es encontrada en el caso del hombre Kennewick; en el año 1996 se encontraron los restos de un individuo prehistórico, cuya edad se estimó en unos 9000 años. En los restos de la cadera del individuo se encontró una punta de flecha incrustada. Se observó que la incorporación inintencionada de la flecha en la cadera no afectó de manera considerable la funcionalidad de la misma, dando así el primer

ejemplo de la capacidad del cuerpo para tolerar la implantación de materiales ajenos al mismo organismo (Ratner, 2012).

El uso de los biomateriales tiene una amplia serie de aplicaciones a lo largo de la historia. En la antigüedad, los egipcios cerraban heridas utilizando hilo hecho de lino. Durante la Edad Media, fueron utilizadas suturas de cuerda de tejido de pared intestinal en la vieja Europa. En la cultura Inca, los cirujanos utilizaban platos de oro para la reparación de fracturas craneales. Los mayas crearon dientes artificiales de nácar utilizando conchas de mar en el año 600, logrando una integración sin costuras en el hueso, lo que hoy en día es conocido como integración ósea (Wojtezak, 2009; Ratner, 2004; Duffo, 2011)

Durante la segunda guerra mundial, el médico Sir Harold Ridley, observó que algunos aviadores que volvían del combate tenían incrustaciones en los ojos de material estrellado de la cabina de los aviones, mostrando que el ojo presenta una tolerancia ante la incrustación del material. Con base en dichas observaciones, Radley concretó una de las primeras evaluaciones de “biocompatibilidad” de la historia. Tiempo después, aprovechó la tolerancia ofrecida por el ojo ante el material incrustado y creó un implante de lente intraocular hecho del mismo, un plástico llamado polimetilmetacrilato (Wojtezak, 2009).

Dentro del campo de médico, los biomateriales son rara vez utilizados como simples materiales, su uso más común es la integración de estos en dispositivos biomédicos. Las principales aplicaciones de los biomateriales son como: dispositivos médicos,

bioelectrodos y biosensores, suturas, aplicaciones oftalmológicas, ortopédicas y dentales, apósitos para quemaduras y sustitutos de piel, y sistemas de administración de fármacos (Rezaie, Bakhtiari, & Öchsner, 2015).

Los biomateriales presentan una amplia gama de propiedades las cuales permiten la implementación de estos en diferentes tipos de aplicaciones para diversos campos con usos prácticos o de investigación (Ronda, 2008).

Enfocándose específicamente en las propiedades ópticas que ofrecen los biomateriales, campos como el de la Biología, Biofísica y Medicina, son algunos de los que se han visto altamente beneficiados por el aprovechamiento de dichas propiedades. Algunas de las aplicaciones desarrolladas para estos campos hacen uso de materiales nanoestructurados con incorporación de iones de tierra raras, los cuales son implementados en estudios biofísicos, imagenología médica, diagnósticos médicos, terapia contra el cáncer y detecciones biológicas, debido a la alta versatilidad que estos ofrecen (Jain, 2008).

Los lantánidos (Ln) o tierras raras son aquellos elementos que siguen del lantano (La) hasta el lutecio (Lu), en la tabla periódica, es de este hecho de donde se deriva su nombre de lantánidos. A esta serie de elementos también se le conoce como *tierras raras* lantánidas, no queriendo decir que su escases es mayor a la de otros elementos, como se creía en el siglo XIX cuando se encontró un único depósito de elementos de tierras raras en Suiza (Voncken, 2015), si no que entre sus características se encuentra el hecho de que forman óxidos refractarios, lo cual en términos alquímicos significa

“tierras” (Rochow, 1981). Los elementos Ln se encuentran de forma natural juntos en algunos minerales en la litosfera (Beatty, 2007).

Los iones trivalentes de la serie de los elementos lantánidos presentan una configuración electrónica general $[Pd]4f^n 5s^2 5p^6 5d^0$ ($n=1-14$), la cual lleva a un apantallamiento de los electrones en la capa $4f$ por los $5s^2 5p^6$ que genera el fenómeno conocido como contracción lantánida, que provoca una reducción del radio iónico a través de la serie conforme aumenta la carga nuclear (Figura 1), provocando una atracción por el núcleo de cada electrón de la capa $4f$ (Garza Rodríguez, 2010).

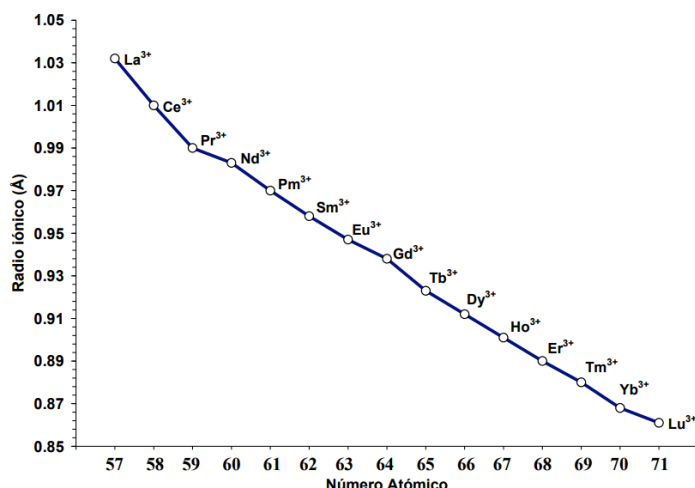


Figura 1. Representación de la variación del radio atómico a través de la serie de iones trivalentes de metales lantánidos (Garza Rodríguez, 2010).

Los elementos lantánidos presentan propiedades biológicas que se basan principalmente en la similitud que estos poseen con el elemento Calcio (Ca). Esta serie de metales constituye el primer grupo de elementos de transición interna, donde se van completando los orbitales atómicos $4f$. Tienen un comportamiento químico muy similar

entre sí. Un estado de oxidación trivalente es la base principal de su similitud, y las diferencias que se dan entre los elementos de la serie están definidas por la disminución de su número atómico (Enrique, 2007).

En su estado de oxidación trivalente, los iones lantánidos presentan similitud con los iones de Ca^{2+} en su estado divalente en cuanto a su radio iónico, y a su vez, una alta afinidad por los sitios ocupados por el Ca^{2+} en sistemas biológicos. Esta sustitución puede ser vista en las conocidas “pruebas metálicas”, donde se reemplazan iones de Ca^{2+} , Mg^{2+} o Zn^{2+} difíciles de estudiar a través de los métodos espectroscópicos comunes por iones Ln^{3+} , al igual que se realiza en proteínas y otras biomoléculas (Enrique, 2007).

Los compuestos de apatitas ($\text{M}_{10}(\text{TO}_4)_6\text{X}_2$) han probado ser materiales eficientes para aplicaciones ópticas gracias a sus propiedades luminiscentes al incorporarles iones de tierras raras. Entre las apatitas se encuentra, la Hidroxiapatita (HAP), que es uno de los más utilizados ya que sus propiedades pueden ser modificadas mediante la sustitución de alguno de sus iones (Ca, P) favoreciendo su uso para aplicaciones en áreas como las biocerámicas, purificación de agua, patologías óseas y en especial, el campo de la luminiscencia (Ravindranadh, 2015).

Su estructura, como se muestra en la Figura 2, consta de átomos de calcio, fósforo, hidrógeno y oxígeno con fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Además, en su estado natural se encuentra con porcentajes mínimos de cloro, sodio, magnesio y carbonatos,

los cuales juegan un papel importante en la remineralización del hueso. (García-Corduño, 2006; Brown, 1994).

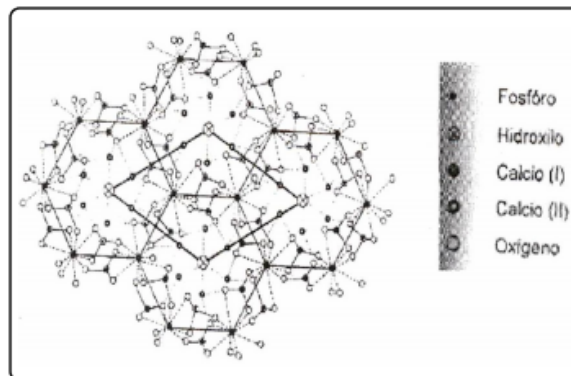


Figura 2. Arreglo atómico en la celda unitaria hexagonal de la HAP, mostrando posiciones atómicas del Ca, P, O e H dentro de la celda unitaria (García-Corduño, 2006).

La HAP puede ser sintetizada fácilmente en forma de polvo, normalmente presenta una estructura hexagonal que se forma mediante precipitación de soluciones supersaturadas a temperaturas de entre 25-100°C. Su fase cristalina monoclinica se obtiene principalmente al someter el material con estructura hexagonal a un tratamiento térmico, a temperatura de 850°C con flujo de aire y un enfriado posterior a temperatura ambiente (Mucalo, 2015).

La HAP es el biomaterial con mayor aceptación en el campo de la reparación y reconstrucción de tejido óseo defectuoso. Siendo uno de los materiales más estudiados para la sanación del hueso humano, es un componente natural del hueso, así como uno sintético de la era moderna (Ratner, 2004). Su bioactividad, biocompatibilidad, gran similitud química con la fase inorgánica del hueso humano, sus propiedades no tóxicas, no inflamatorias y no inmunogénicas, así como su osteoconductividad son las características que han convertido a la HAP en un material de injerto ampliamente

usado para aplicaciones dentales y ortopédicas. (Gshalaev, 2012; Mucalo, 2015). Debido a las propiedades mencionadas, la HAP ha generado un gran interés en la química moderna de materiales, por lo que se ha buscado modificar su morfología, composición, estructura cristalina y tamaño de partícula para obtener características específicas de acuerdo al tipo de aplicación en la que se vaya a implementar (Zhang, 2009).

Debido a las características ya mencionadas, la HAP presenta una amplia gama de aplicaciones como un material biomédico. Entre estas, se encuentran su uso como relleno óseo, aleaciones bioactivas, cromatografía de columna para rápido fraccionamiento de biomoléculas debido a su excelente biocompatibilidad y su alta similitud química con la fase inorgánica del hueso humano, propiedades osteoconductoras, sistema de carga y entrega de fármacos/proteínas/genes, andamios de ingeniería de tejidos óseos y reparación de tejidos blandos (Mucalo, 2015).

Por otro lado, muchos tratamientos médicos requieren poder monitorear de alguna manera la ubicación de fármacos o la detección de tejidos, por lo cual, se requieren de materiales que posean propiedades luminiscentes que ayuden a este tipo de monitoreo.

Para lograr un mayor aprovechamiento de las propiedades luminiscentes que la HAP es capaz de ofrecer, se recurre a sustituciones catiónicas por iones de elementos de tierras raras, las cuales reemplazan iones de Ca^{2+} de la HAP (Tabla 1) (Vallet-Regí, 2004). Estos elementos presentan interesantes atributos ópticos debido a su especial interacción con la luz, ofreciendo una mejorada dispersión y absorción la misma. Sus propiedades ópticas, en conjunto con sus dimensiones nanométricas, hacen más factible su

incorporación en sistemas biológicos, pudiendo lograr una mayor especificidad molecular mediante la conjugación con pequeñas moléculas o ligandos de reconocimiento.

Tabla 1. Fórmula general de los minerales de apatitas y las potenciales sustituciones en sus 3 subcategorías (Vallet-Regí, 2004).

Fórmula general de minerales de apatita	
$M_{10}(ZO_4)_6X_2$	
Subcategoría	Sustituciones potenciales
M	Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, Mg, Na, K, H, D.
Z	P, CO ₃ , V, As, S, Si, Ce, Tb, Eu, B.
X	OH, OD, CO ₃ , O, BO ₂ , F, Cl, Br.

Al realizar la incorporación de los iones de tierras raras en la estructura de la HAP se logra potenciar hasta 5 veces, o más, las propiedades ópticas de la matriz con la que se esté trabajando, esto en comparación con algunas técnicas ya implementadas, como los tintes biomoleculares, mejorando el área de las pruebas sensitivas, donde cada nanopartícula puede ser considerada como un núcleo luminiscente que equivale a más de un millón de tintes moleculares. (Jain, 2008; Zheng, 2015).

La implementación de elementos de la serie de los lantánidos como iones incorporados en nanopartículas inorgánicas permite sobrellevar las deficiencias presentadas por agentes de etiquetado, como por ejemplo, los puntos cuánticos (*quantum dots*)

semiconductores o nanopartículas de fosfatos o sílice. Estos agentes, pese a que presentan buenas propiedades luminiscentes, como los tintes orgánicos, no cubren por completo los requerimientos necesarios para ser excelentes agentes de etiquetado. Esto se debe, a la presencia de Cd y As, los cuales convierten a los materiales semiconductores en sistemas tóxicos, y a que la capacidad luminiscente de estos viene acompañada del efecto de parpadeo (*flickering effect*) el cual limita la resolución espacial durante análisis de bioluminiscencia.

Los iones de la serie de los lantánidos ofrecen una fluorescencia que se caracteriza por largos tiempos de vida fluorescente, alta estabilidad fotoquímica y emisiones puntuales ya que el ancho del pico de emisión abarca unos pocos nanómetros de longitud de onda en el espectro electromagnético (Al-Kattan, 2010).

Se ha utilizado la incorporación de iones de Eu^{3+} y Tb^{3+} para llevar a cabo la conversión de HAP hidrofóbica fluorada en una versión hidrofílica de las misma con asistencia de un surfactante. En la Figura 3 se observa el esquema del proceso de conversión de las nanopartículas. Las partículas que se obtuvieron mostraron una excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad, así como fuertes propiedades fluorescentes, haciéndolas prometedoras para su aplicación en imagen celular en células vivas (Hui, 2012).

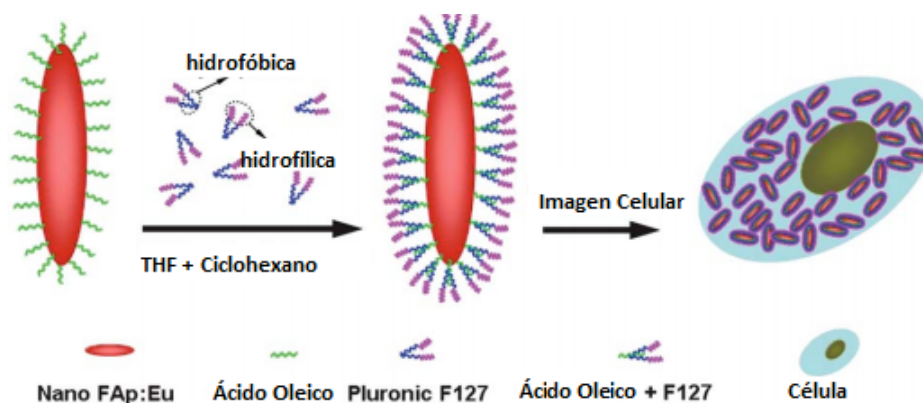


Figura 3. Esquema de la conversión de nanopartículas de HAP:Eu³⁺ fluoradas recubiertas con ácido oleico en nanocristales fluorescentes con Pluronic F127 y su uso en pruebas de imagen celular(Hui, 2012).

A su vez, el elemento incorporado debe cumplir con ciertas propiedades que lo hagan adecuado para su internalización en organismos biológicos, como lo son la baja o nula toxicidad, presentar propiedades luminiscentes y su interacción con la matriz huésped. (De Araujo, 2007).

Los iones de Eu³⁺, Tb³⁺, Gd³⁺, Er³⁺, Mn²⁺ han sido incorporados en matrices de HAP para aplicaciones como imagen biológica, agentes de contraste para imagen de resonancia magnética, marcado luminiscente para observaciones *in vivo* no destructivas, pruebas de biocompatibilidad para la internalización celular, agentes de transporte/liberación de fármacos en periodos de tiempo extendidos, rastreo *in vivo*, pruebas fluorescentes en células, monitoreo de procesos de recuperación en tejidos óseos, LEDs de luz blanca, lámparas fluorescentes, tubos de rayos catódicos, dispositivos de visualización, láseres de estado sólido y etiquetado biológico (Chen, 2011; Alshemary, 2015; Ravindranadh, 2015; Zheng, 2015).

Por otro lado, muchos tratamientos médicos requieren poder monitorear de alguna manera la ubicación de fármacos o la detección de tejidos; por lo cual, se requieren de materiales que posean propiedades luminiscentes que ayuden a este tipo de monitoreo.

Los biomarcadores, por ejemplo, tienen entre sus funciones el indicar respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica, mediante la medición objetiva de una característica o cambio morfológico, fisiológico o bioquímico. Las técnicas de medida de fluorescencia consisten en la unión de moléculas fluorescentes con células huésped (Figura 4) que al ser excitadas por una fuente de energía externa emiten radiación lumínica que permite su rastreo en sistemas biológicos, así como la distinción de células vivas y células muertas, células normales y otras que se llegan a encontrar en tejidos ya deteriorados o con ciertas patologías presentes (Olives, 2010).



Figura 4. Sistema de marcaje fluorescente para visualización de microorganismos en microscopio (Olives, 2010).

Los biomarcadores también funcionan como sensores químicos mediante la reacción de una molécula huésped de un sistema fluorescente con un cierto analito, produciendo así una respuesta fluorescente visible, como se demuestra en las Figuras 5 y 6 (Olives, 2010; Galán, 2015).

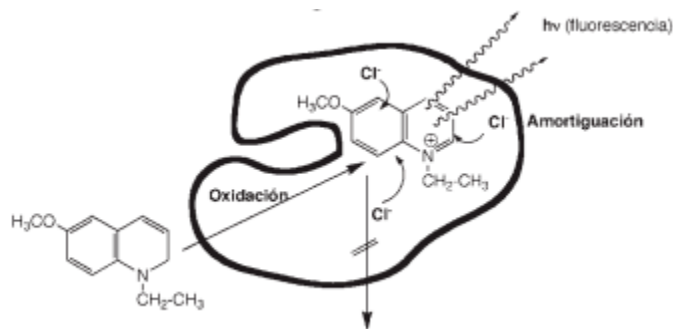


Figura 5. Representación de una molécula generando una reacción de fluorescencia en respuesta a la interacción con un determinado analito (Olives, 2010).

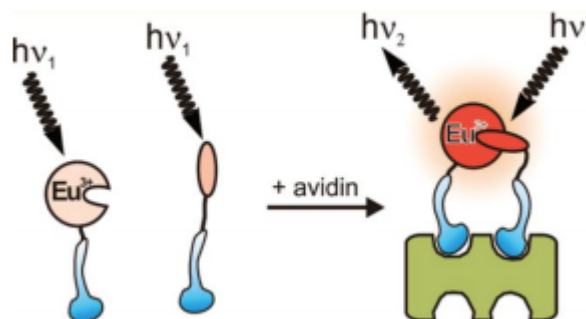


Figura 6. Mecanismo interruptor de marcaje luminiscente utilizando uniones de complejos lantánidos con analitos (Galán, 2015).

El transporte y entrega de fármacos en organismos biológicos es una de las aplicaciones más innovadoras que se han desarrollado en los últimos años. Para llevar a cabo dicha tarea se requiere de un material que presente las propiedades necesarias para interactuar adecuadamente con un organismo biológico, capacidad de ser cargado con un fármaco, así como propiedades luminiscentes que permitan llevar a cabo el rastreo de dicho fármaco y poder observar la liberación y efectividad del mismo en un tratamiento. Los polímeros biodegradables, hidrogeles, xerogeles, materiales mesoporosos como la HAP, nanopartículas mesoporosas de sílice, SBA-15 y MCM-41 (los dos tipos más comunes

de sílices mesoporosas), son utilizados para la aplicación de sistemas de transporte y entrega de fármacos (Zhang, 2010).

Otra de las aplicaciones para estos materiales es la obtención de imágenes médicas mediante técnicas como la tomografía computarizada (CT) o tomografía de emisión de positrones (PET), donde se utilizan materiales luminiscentes de alta densidad que se encargan de realizar la conversión de rayos X y rayos γ en luz visible (Ronda, 2008), al igual que en el área de diagnóstico de radiología médica (Grabmaier, 1994). Los cristales de ortoaluminato de lutecio con incorporación de iones de Cerio son un ejemplo de materiales utilizados para el desarrollo de centelladores (Dujardin, 1998) (scintillators) que realizan la conversión de rayos X y rayos γ en luz visible en CT y PET (Ronda, 2008).

1.2. Mecanismo de luminiscencia de un complejo de un ion Ln

Para la obtención de una emisión luminiscente se requiere de dos procesos principales, la excitación y la emisión. De manera general, la excitación consiste en la irradiación de energía a una partícula por un medio externo; en el proceso de emisión, dicha partícula libera el exceso de energía absorbida en forma de radiación luminiscente.

De manera más específica, el mecanismo por el cual se lleva a cabo el proceso de emisión luminiscente en un compuesto con iones de tierras raras se puede representar mediante el Diagrama Jablonski (Figura 7), en el cual un electrón del ion de la tierra rara pasa del estado basal (S_0) a un estado excitado (S_1), debido a la absorción de

energía al exponer el material a una fuente externa de energía; por ejemplo, una fuente de luz ultravioleta. Una vez que los electrones se encuentran en un estado oxidado pueden tomar dos vías de relajación, la de emisión radiativa o la de emisión no-radiativa. Por medio de la vía de emisión radiativa el electrón regresa a su estado basal generando la emisión de fluorescencia. En el otro caso, la vía de emisión no-radiativa, la energía liberada por los electrones al regresar al estado base provoca vibraciones en la red cristalina lo que ocasiona generación de calor y no de luminiscencia (Garza Rodríguez, 2010).

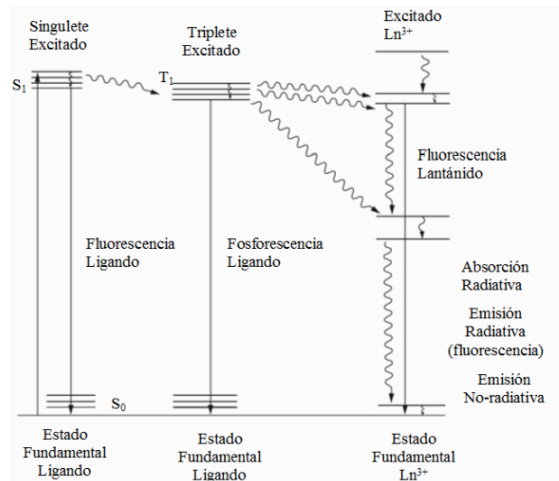


Figura 7. Representación del Diagrama Jablonski (Garza Rodríguez, 2010).

2. Antecedentes

En 2008, Yang et al. desarrollaron un compuesto de HAP dopada con iones de Europio (HAP:Eu), con propiedades bioactivas, luminiscentes y mesoporosas; con la finalidad de probarlo como transportador de fármacos para investigar sus propiedades de almacenaje y liberación, utilizando como fármaco modelo al ibuprofeno (IBU). Los resultados demostraron que se puede hacer un rastreo y monitoreo de la liberación del fármaco incorporado en el complejo HAP:Eu, por medio de la emisión roja emitida por los iones de europio bajo irradiación UV (Figura 8), la cual varía en función de la liberación del fármaco (Yang P. Q., 2008).

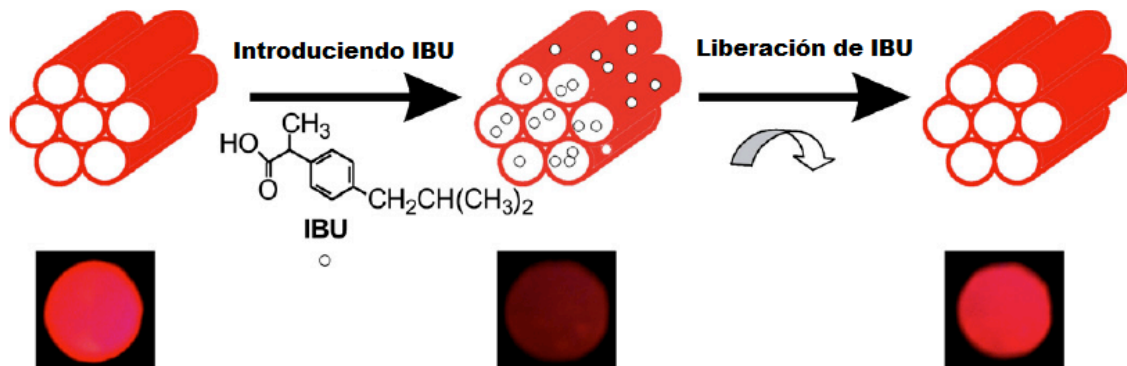


Figura 8. Representación del sistema de almacenaje y liberación de y IBU en HAP:Eu y fotografías de las muestras bajo irradiación de UV a 365nm (Yang P. Q., 2008).

En 2017 se llevaron a cabo varios trabajos relacionados con la síntesis de HAP y la incorporación de iones lantánidos. Haoshuo et al., realizaron la síntesis de HAP por medio de un método hidrotérmal libre de surfactante asistido con coprecipitación para el estudio del mecanismo de crecimiento de nanoestructuras de HAP, controlando las

condiciones de reacción. Estas nanoestructuras de HAP se doparon con iones de Terbio y Europio, encontrando que, bajo irradiación por luz azul, aquellas dopadas con Terbio presentaron una emisión de color verde, y las dopadas con Europio, una emisión rojamarrojo, como se muestra en la Figura 9. Con lo que concluyeron que estas nanoestructuras dopadas con Terbio/Europio tienen aplicaciones potenciales en la fototerapia de luz azul y en el etiquetado fluorescente (Haoshuo et al., 2017).

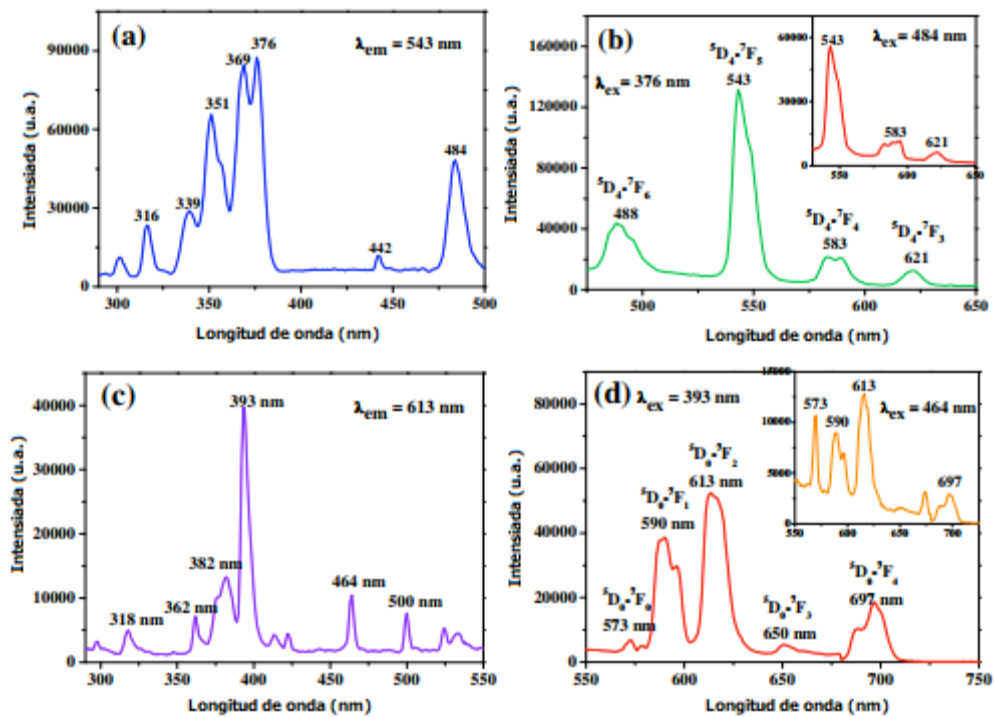


Figura 9. Espectros de emisión (a,c) y excitación (b,d) de HAP:Tb (a,b) e HAP:Eu (c,d) (Haoshuo et al., 2017).

Gayathri et al., utilizaron un método hidrotérmal con nitrato de calcio y fosfato de diamonio, como precursores para la síntesis de nanopartículas de HAP dopados con Neodimio (III) (Figura 10). La incorporación del Neodimio (III) en la fase cristalina de las nanopartículas de HAP las convierte en potenciales emisores del infrarrojo cercano,

con una emisión a 1064 nm, demostrando el potencial de estas nanopartículas para aplicaciones biomédicas del área de imagen infrarroja, entrega dirigida de fármacos y aplicaciones de imagen terapéutica dirigida (Gayathri, 2017).

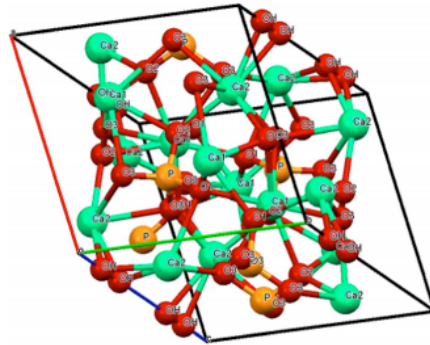


Figura 10. Representación de la celda unitaria de HAP:Nd³⁺ (Gayathri, 2017).

Guangjian et al., elaboraron nanorodillos de HAP funcionalizados con polímeros luminiscentes dopados con Eu³⁺ mediante la combinación de reacciones de intercambio de ligandos y el método de polimerización de radicales por transferencia de átomos (ATRP) libre de superficie metálica iniciada. Debido a sus excelentes propiedades como actividad biológica, biodegradabilidad y biocompatibilidad, estos nanorodillos de HAP tienen potenciales aplicaciones en la imagen celular y la entrega de fármacos (Figura 11) (Guangjian et al., 2017).

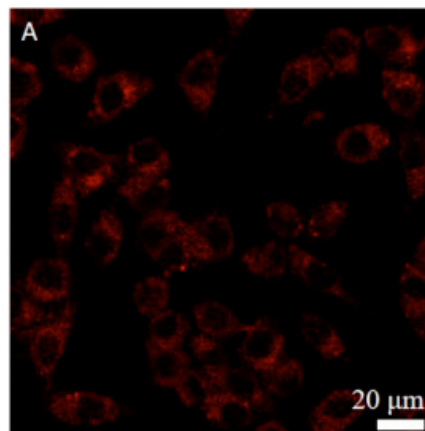


Figura 61. Imagen fluorescente de células incubadas con los nanorodillos de HAP funcionalizados (Guangjian et al., 2017).

Feng Zeng et al., 2017, evaluaron la capacidad de nanorodillos de fluorapatita dopados con Europio como transportadores de fármacos anticancerígenos, utilizando el método de síntesis el hidrotérmal. La estructura de los cristales de los nanorods que obtuvieron permitió la introducción del fármaco (Doxorrubicina) en los nanorodillos. Debido a las propiedades fluorescentes de los nanorodillos de fluorapatita dopados con iones de europio, se puede llevar a cabo el rastreo de la internalización de las nanopartículas en células (Figura 12) (Zeng, 2017).

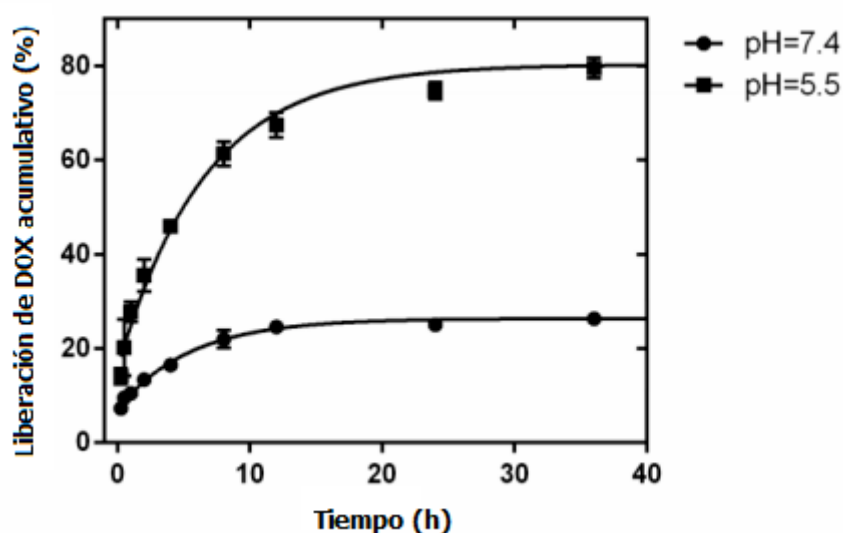


Figura 72. Liberación del fármaco acoplado al nanorod en función del tiempo a diferentes concentraciones de pH ((Zeng, 2017).

Pogosava et al., en el 2017, sintetizaron una HAP de calcio dopado con cobre sustituido con europio por medio del método de reacción en estado sólido. Los resultados de los análisis realizados mostraron una emisión de un ligero color rosado en comparación con la HAP de calcio dopada con cobre libre de europio, y una emisión rojo-naranja luminiscente representativa de las apatitas únicamente dopadas con europio. Tales

resultados proponen la implementación de HAP de calcio dopada con cobre o dopada con europio como pigmentos de colores ligeros con propiedades luminiscentes (Pogosova et al., 2017).

El en trabajo reportado por Padilla et al., 2007, se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de HAP dopadas con Eu y Tb mediante precipitación a bajas temperaturas sin tratamiento térmico posterior. Las nanopartículas obtenidas fueron estabilizadas con una capa de DNA e incorporadas en células vivas. Los resultados de las pruebas arrojaron que las nanopartículas de HAP son fluorescentes en el intervalo del visible del espectro electromagnético mediante excitación usando microscopio de escaneo láser confocal. Ya que pueden ser internalizadas por células y detectadas por medio de su fluorescencia pueden ser utilizadas para rastreo o etiquetado intracelular. La diferencia en los colores de emisión representativos de los iones de Eu y Tb resulta de utilidad para la distinción de la fluorescencia de las nanopartículas de la de otros marcadores (Padilla et al., 2007).

Cabe mencionar que la mayoría de los trabajos reportados acerca del dopado de HAP con metales lantánidos se han llevado a cabo utilizando el Eu^{3+} , lo cual puede deberse a su excelente contribución a las propiedades luminiscentes de la HAP mostrando una fuerte emisión de luz roja, la cual tiene prometedoras aplicaciones en el área biomédica.

3. Hipótesis

El biomaterial hidroxiapatita con incorporación de iones de tierras raras, presenta propiedades luminiscentes para aplicaciones potenciales en áreas médicas.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Obtener hidroxiapatita con propiedades luminiscentes a través de la incorporación de iones de tierras raras en su estructura.

4.2. Objetivos específicos

- Sintetizar tres series de materiales de hidroxiapatita con la incorporación de iones de Ce^{3+} , Tb^{3+} y Eu^{3+} , respectivamente.
- Determinar las propiedades luminiscentes de la serie de materiales a través de los espectros de emisión y excitación por espectrofotometría de fluorescencia.
- Determinar la estructura cristalina de la serie de materiales mediante la difracción de rayos X.

- Caracterizar morfológicamente las series de materiales a través de la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido.

5. Marco teórico

5.1. Método sol-gel

El método sol-gel consiste en la formación de redes compuestas de elementos inorgánicos, estas redes se obtienen por medio de dos reacciones químicas que se llevan a cabo de manera simultánea, hidrólisis y polimerización por condensación (Ramírez Palma, 2010). Este método parte de precursores moleculares, como alcóxidos metálicos o sales inorgánicas, obteniendo un esqueleto del óxido por medio de las reacciones químicas a una baja temperatura, permitiendo así, la síntesis metaestable del óxido y la obtención de sólidos mixtos organo-inorgánicos (Rojas Cervantes, 2012).

Una de las ventajas que ofrece este método es la de controlar la síntesis a lo largo de todo el proceso, desde el precursor hasta el producto obtenido. Las características que aportan los soles y los geles permiten la obtención de láminas, fibras, geles, polímeros tridimensionales y cadenas (Rojas Cervantes, 2012). En comparación con los métodos de síntesis tradicionales, la síntesis por sol-gel permite una manipulación precisa a escala de la estructura y de las impurezas (Reyes Gómez, 2017).

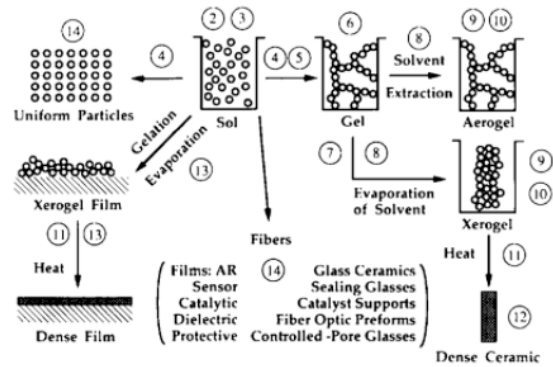


Figura 83. Diagrama del proceso sol-gel para la obtención de diferentes tipos de productos

(Brinker, 2013).

El proceso de síntesis se lleva a cabo en las siguientes etapas:

- Reacción de hidrólisis: adición de agua para la obtención de enlaces M-OH.
- Reacción de polimerización por condensación: se lleva a cabo la liberación de una molécula de tamaño pequeño, como el agua o el alcohol, llevando así a la creación de puentes OH o de oxígeno, formando polímeros lineales. En este punto se obtiene el sol, una suspensión en líquido de partículas sólidas coloidales.
- Gelificación: por adición de agua al sol para desestabilizarlo, se obtiene un sólido coloidal amorfo con un componente fluido disperso que se encuentra confinado en un esqueleto tridimensional, a este sólido se le denomina gel.
- Envejecimiento: cambios estructurales y de propiedades posteriores a la etapa de gelificación.

- Sinéresis: expulsión líquido de los poros mediante la contracción del esqueleto debido a la atracción entre partículas o a la formación de enlaces.
- Secado y tratamiento térmico (Rojas Cervantes, 2012; Brinker, 2013).

5.2. Difracción de rayos X

La obtención de información cualitativa y cuantitativa, así como estructural y acerca de las propiedades de los materiales es de gran importancia. La implementación de la técnica de difracción de rayos X (XRD, por sus siglas en inglés) permite la obtención de este tipo de información de sólidos cristalinos de una manera no destructiva (Ryland, 1958). Por medio de XRD se puede determinar cómo se encuentran acomodados los átomos en arreglos cristalinos de compuestos sólidos. Se obtiene información de los ángulos y distancia entre los planos cristalinos de los átomos que conforman al compuesto (Atkins, 2006).

Los sólidos cristalinos tienen como característica una distribución geométrica espacial que se encuentra definida, esta es constante en el tiempo una vez definida una cierta temperatura (Correa Maya, 2002).



Figura 94. Representación de una estructura cristalina de diamante (Valenzuela Calahorro, 1995).

La técnica de XRD se basa en un fenómeno óptico conocido como difracción, este consiste en la interferencia entre ondas generada cuando se encuentra un objeto en su trayecto. La interferencia se da cuando dos o más ondas viajan por el espacio en la misma región, observándose un aumento (interferencia constructiva) o disminución (interferencia destructiva) en la amplitud total de la onda (Atkins, 2006).

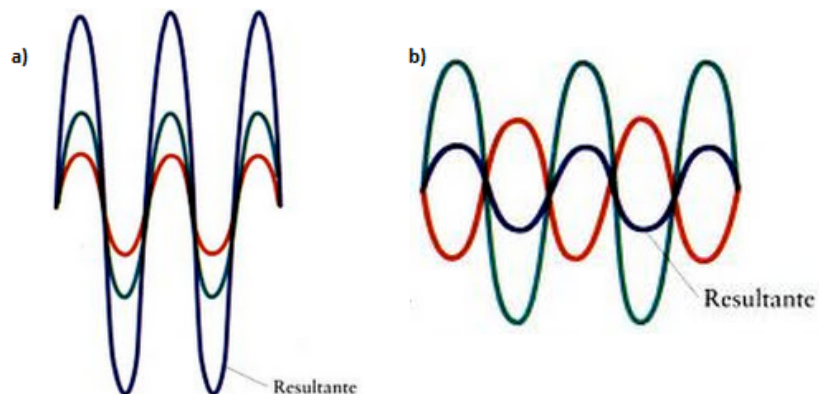


Figura 105. Representación de interferencia constructiva (a) e interferencia destructiva (b) (Atkins, 2006).

Cuando un haz de luz con determinada longitud de onda incide sobre los átomos de un material con estructura cristalina se produce el efecto de dispersión y se emite un haz de luz con la misma longitud de onda que la incidida. Cuando esto se da en una red de átomos cristalina se da el fenómeno de difracción. La difracción consiste en un efecto de dispersión generado en los diferentes planos de una red cristalina de átomos, como se muestra en la Figura 16, donde un haz incide sobre los átomos de cada plano en forma paralela. Se da una dispersión en cada plano de átomos de la misma manera en cada uno.

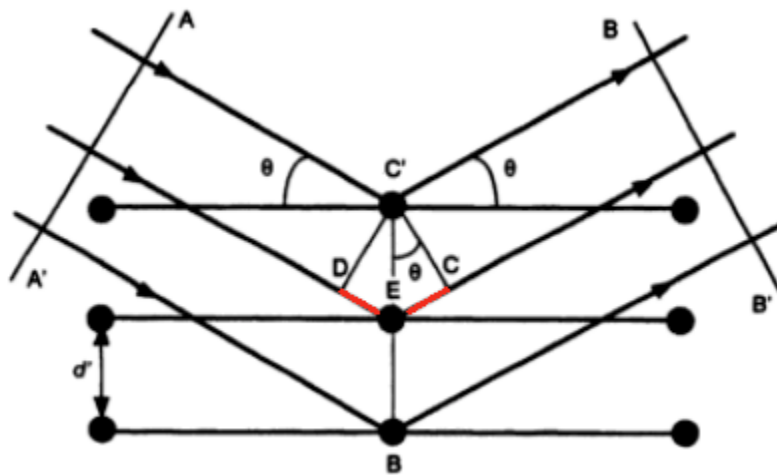


Figura 116. Diagrama de difracción de rayos-X por un cristal (Suryanarayana, 1998).

La ley de Bragg describe las condiciones para que los rayos dispersos en el fenómeno de difracción se encuentren en fase:

- La distancia entre los trayectos DE y EC (mostrados en la Figura 16) deben ser un múltiplo de la longitud de onda para que en todos los rayos, incididos y dispersados, las ondas se encuentren en fase. Esta condición se encuentra representada por la siguiente ecuación:

$$DE + EC = n\lambda$$

Ya que los trayectos DE y EC tienen la misma longitud, la ecuación puede reescribirse como:

$$2DE = n\lambda$$

Donde $DE = d \operatorname{sen} \theta$, siendo θ el ángulo de incidencia y dispersión de los rayos en la red cristalina. Obteniendo así, la ecuación representativa de la ley de Bragg:

$$2d \operatorname{sen} \theta = n\lambda$$

Donde

d : distancia entre cada plano de la red cristalina

θ : ángulo de incidencia y dispersión del haz de luz

λ : longitud de onda del haz de luz incidido

n : orden de difracción

Mediante esta ley se puede obtener la distancia entre planos de un cristal y, así mismo, determinar los parámetros de la red (Kittel, 1995; Suryanarayana, 1998).

En trabajos experimentales, la implementación de la técnica de XRD permite obtener información que lleva a la interpretación de diversas caracterizaciones de materiales. En

el área de materiales luminiscentes como la HAP es común realizar la medición del tamaño de cristalización de muestras, lo cual significa medir el tamaño del polvo muestra obtenido mediante esta técnica (Graeve, 2010), así como determinar parámetros cristalográficos, identificar las diversas fases en cada paso de un proceso de síntesis, interpretar los resultados para determinar la presencia o ausencia de elementos o compuestos en la muestra (Kusrini, 2012; Liang, 2013) y obtener información acerca de la morfología del compuesto (Peng et al., 2000).

5.3. Luminiscencia

La luminiscencia es la energía emitida en forma de radiación por algunas sustancias, la cual se genera al excitar con una fuente de energía externa. Al excitar a la sustancia, algunos electrones de sus átomos, pasarán a un estado de mayor energía y, posteriormente, volverán a su estado basal. La transición de estos electrones de un estado al otro genera una emisión de radiación luminosa en el intervalo de longitudes de onda de entre 400 y 700nm, el cual, es visible para el ojo humano, a esta radiación se le denomina luminiscencia (Zehe, 2001; Kitai, 2008). Esta se puede categorizar en función del tiempo de emisión de energía luminiscente, siendo fluorescencia, la luminiscencia con tiempo de decaimiento del orden de un segundo de duración aproximadamente, por lo que la luminiscencia termina una vez que la fuente de excitación es interrumpida, y fosforescencia, luminiscencia persistente que continua emitiendo luminiscencia por un determinado periodo de tiempo mayor a un segundo después de interrumpir la fuente de excitación (Shriver, 1998).

La luminiscencia también puede clasificarse en diferentes tipos dependiendo del tipo de fuente de excitación, los cuales varían en sus aplicaciones (Kitai, 2008; Tiwari, 2016):

- Fotoluminiscencia: emisión de luz generada por la transición de un electrón a un mayor nivel de energía mediante la excitación con fotones (haz de radiación electromagnética). La energía de la radiación de luz producida normalmente es menor a la energía de la radiación incidente para la excitación, ya que parte de esta energía de excitación es consumida para la transformación en vibraciones no radiantes de los átomos o iones de la red cristalina. Ésta es utilizada para análisis de determinación de defectos, calidad de materiales, niveles de impureza, mecanismos de recombinación y determinación de separación de bandas.
- Radioluminiscencia: emisión generada por el bombardeo a ciertos materiales con radiación electromagnética de alta energía, como por ejemplo, rayos X o rayos gamma.
- Electroluminiscencia: generación de luminiscencia al exponer un material a un campo eléctrico. De esta manera, el material luminiscente se carga de energía eléctrica generando un exceso en la concentración de portadores de carga, rompiendo el equilibrio de carga, lo que conlleva, a una emisión de radiación en el visible. Ésta es aplicada en diodos de emisión de luz y monitores de pantalla plana (Hlawiczka, 1977).

- Catodoluminiscencia: corresponde a la emisión generada al exponer al material a un haz de electrones. Ésta es aplicada en la construcción de pantallas LCD y tubos de rayos catódicos.
- Bioluminiscencia: es el proceso de generación de luz por organismos vivos (reacciones bioquímicas). La emisión de luz es el resultado de procesos de oxidación catalizados por enzimas en presencia de aire. Como ejemplos, se tiene a las luciérnagas, algunas medusas y algunos tipos de peces.
- Quimioluminiscencia: es la emisión de luz generada como resultado de reacciones químicas o electroquímicas relacionadas a procesos de oxidación-reducción. Algunos de los productos fabricados con propiedades quimioluminiscentes son utilizados para análisis en laboratorios forenses.
- Termoluminiscencia: es la emisión de luz generada por un fenómeno dependiente de la temperatura producido en el calentamiento de algunos materiales cristalinos. Se utiliza en la determinación de la antigüedad de algunas muestras de cerámica antigua, sedimentación, mineralización y tasas de crecimiento de dunas de arena.

En particular, la espectrofotometría de fluorescencia o fotoluminiscencia tiene como base la emisión luminiscente por parte de un material cuyos electrones en un nivel de energía base han sido excitados a un nivel de mayor energía, por la exposición a una fuente de luz, UV por lo general, para finalmente, regresar a su estado original de

manera espontánea con la consecuente emisión de luz en la región del visible (Albella Martín, 2003).

Un espectrofotómetro de fluorescencia, como se muestra en la Figura 17, está conformado básicamente de:

- Fuente de luz: se encarga de llevar a cabo la excitación de los electrones al irradiar la superficie del material luminiscente. Esta puede ser un diodo emisor de luz, un láser o una lámpara xenón.
- Monocromador: realiza el análisis espectral de la luminiscencia que es emitida por la muestra y obtiene su espectro de emisión al hacer un barrido en el intervalo de longitudes onda seleccionado. Generalmente se trata de una red de difracción.

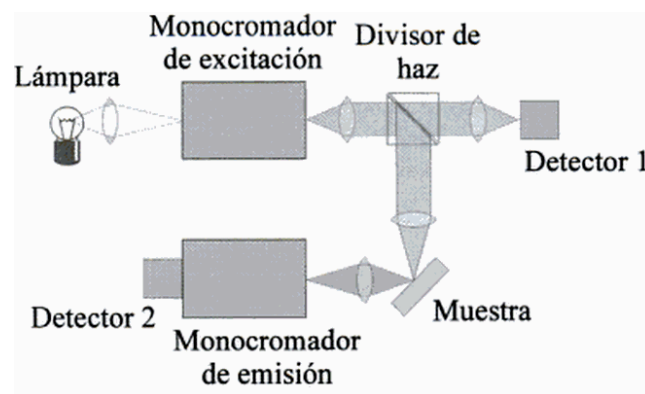


Figura 127. Conformación básica de un espectrofotómetro (Albella Martín, 2003).

La aplicación de esta técnica permite llevar a cabo el estudio de capas delgadas de materiales semiconductores, aislantes y orgánicos. Mediante el análisis de la radiación

luminiscente se obtiene información acerca del estado energético de cuerpos sólidos, como la localización de defectos cristalinos, tipo de impurezas en la muestra, simetría cristalina alrededor de las impurezas, distancia entre bandas, estructura electrónica de la matriz y de las impurezas, transiciones de absorción óptica, etc.

En materiales poseedores de impurezas, se puede encontrar bandas correspondientes a las transiciones que se dan entre los niveles de la matriz y la impureza cuando se analiza su espectro de emisión. Tratándose de impurezas como las tierras raras, fácilmente se identifica la emisión característica de estos iones (Albella Martín, 2003; Zehe, 2001).

5.4. Microscopia electrónica de barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido (MEB) permite la generación de imágenes de alta resolución y apariencia tridimensional utilizando electrones, radiaciones emitidas o reflejadas por el lado de la muestra en donde se está incidiendo el haz electrónico, por lo que usualmente se observa la superficie de un objeto opaco al haz. Del análisis realizado se obtiene información fisicoquímica del cuerpo de la muestra. Se hace uso de diferentes transductores que captan las señales emitidas por la muestra y las transforman en corriente eléctrica para ser procesadas (Vázquez Nin, 2000; Hernández Albañil, 2002).

El principio de operación del MEB consta de la construcción de imágenes y contraste resultado del aprovechamiento de la emisión de electrones de la muestra estudiada al momento de incidírsele un haz de electrones enfocado. A su vez, la muestra emite rayos

X y estos son captados por detectores que permiten su análisis para recabar información acerca de la composición de la muestra, de igual manera que otras emisiones de la muestra son captadas por diferentes detectores para un análisis más completo (Hernández Albañil, 2002).

Entre las características especiales del MEB destacan su habilidad para examinar de manera directa superficies de muestras con una larga profundidad de campo, la capacidad de detectar diferentes variaciones potenciales en la superficie de la muestra, su profundidad de enfoque, alta resolución, observación de propiedades magnéticas, entre otras, permitiendo así realizar estudios topográficos, examinación de superficies ásperas y microanálisis para la determinación de la presencia cualitativa y/o cuantitativa de elementos en detalles microscópicos (Goldstein et al., 2012; Hernández Albañil, 2002; Oatley, 1966).

Un equipo de MEB consta básicamente de los siguientes componentes (ver Figura 18) (Hernández Albañil, 2002):

- Cañón de electrones: se encarga de la producción del haz de electrones.
- Lentes electromagnéticas condensadoras: reducen el diámetro del haz de electrones para regular el aumento de la imagen obtenida.
- Apertura final: controla la divergencia del haz incidente en la muestra.

- Lente objetivo: realiza el enfoque del haz de electrones en la superficie de la muestra.
- Sistema de barrido: desplaza el haz de electrones por la superficie de la muestra.
- Detectores de señales: son transductores que captan las señales emitidas por la muestra (electrones secundarios, electrones reflejados, rayos X, etc.).
- Tubo de rayos catódicos (TRC): donde se lleva a cabo la presentación de la imagen.

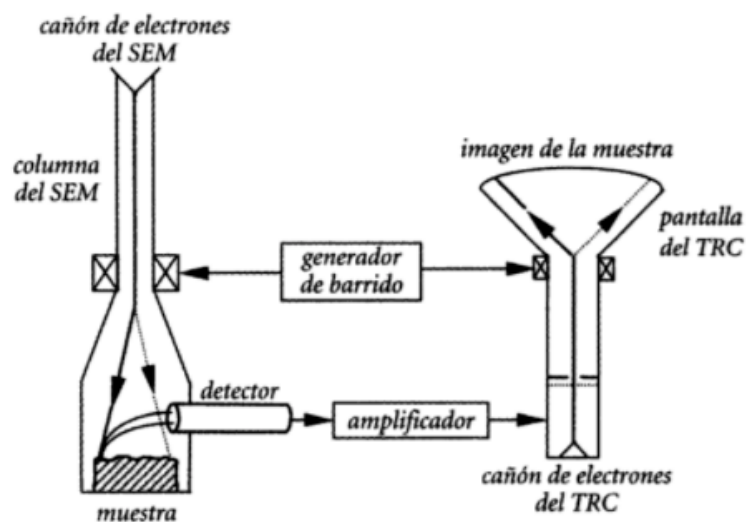


Figura 138. Diagrama del principio de formación de imágenes del MEB (Hernández Albañil, 2002).

5.5. Espectroscopía de dispersión de energía (EDE)

Esta técnica implementa un detector que utiliza un cristal semiconductor para producir la ionización de un número de átomos de la estructura cristalina mediante la incidencia

de un fotón de radiación X. La cantidad de átomos ionizados aumentará mientras más grande sea la energía del fotón. La energía de ionización es recogida gracias a que la intensidad de emisión es muy baja, esto, a la par con la velocidad de los equipos de cómputo utilizados para realizar el análisis, permite digitalizar y archivar el voltaje antes de que otro fotón sea incidido. Mide las transiciones a las que corresponden los átomos mediante el reconocimiento de las frecuencias de emisión de diversas energías. Representa los resultados con una gráfica semiconductiva donde se encuentran identificados los átomos emisores de radiación analizable en la región irradiada de la muestra y sus abundancias relativas (Vázquez Nin, 2000).

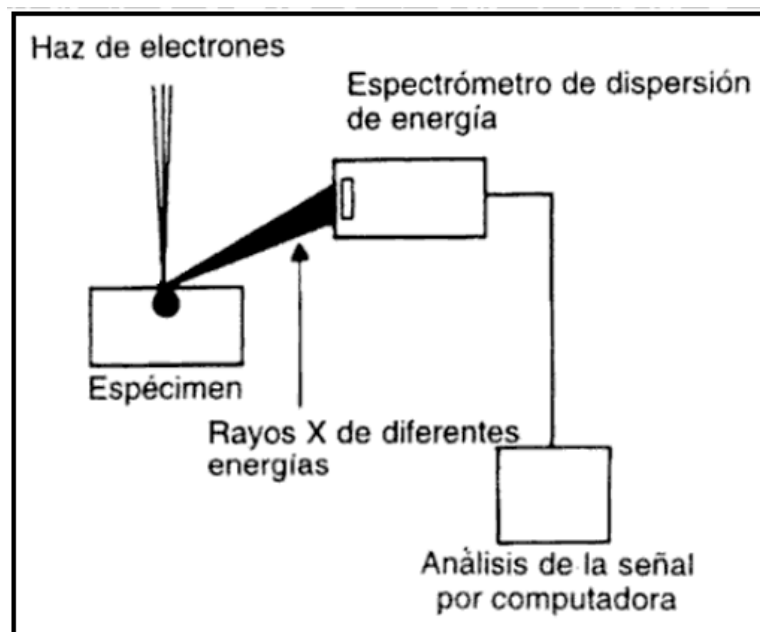


Figura 149. Esquema general del funcionamiento espectrómetro de dispersión de energía (Vázquez Nin, 2000).

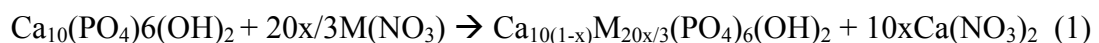
6. Metodología experimental

6.1. Reactivos y materiales

Para la síntesis de HAP con incorporación de iones de tierras raras, llevada a cabo mediante la técnica de sol-gel, se utilizaron los siguientes reactivos : hidroxapatita comercial, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$; ácido tartárico, $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$; nitrato de terbio, $\text{Tb}(\text{NO}_3)_3$; nitrato de cerio, $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$; y nitrato de europio, $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3$.

La síntesis de la serie de biomateriales HAP:TR, donde TR pueden ser: Ce^{3+} , Tb^{3+} o Eu^{3+} , se realizó mediante el método sol-gel asistido con ácido tartárico basado en el método reportado por Taxak (Taxak et al., 2009).

La reacción química planteada y con la cual se realizaron los cálculos estequiométricos para determinar las cantidades de reactivos involucradas en este proceso fue:



donde:

M: Metal de tierra rara

X: Variación de fracción molar del ión de tierra rara.

6.2. Síntesis de HAP con incorporación de iones de tierras raras

Se sintetizaron tres series de biomateriales HAP:TR, cada serie con una tierra rara diferente y, a su vez, se utilizaron diferentes porcentajes atómicos de iones de tierra rara en casa una de las series de biomateriales, quedando de la siguiente manera:

- Eu^{3+} : 1%, 2% y 3%
- Tb^{3+} : 1%, 2%, 3% y 4%
- Ce^{3+} : 1%, 2% y 3%

El procedimiento de síntesis queda descrito en los siguientes puntos:

- I. Se pesaron las cantidades estequiométricas en base a la ecuación (1) para $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, ácido tartárico y los nitratos de las tierras raras Eu, Tb y Ce.
- II. Se disolvieron los nitratos y la $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en 50 ml de ácido nítrico al 14%, manteniéndose la muestra en agitación constante durante 20 min. A la par, se preparó una disolución de ácido tartárico ($\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_6$) en 50 ml de agua destilada.
- III. Posterior a los 20 minutos de agitación se incorporó la disolución de ácido tartárico a la disolución de nitrato de tierra rara con $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ en ácido nítrico. La muestra se mantuvo en agitación por 24 h.

- IV. Después de 24 h de agitación, se elevó la temperatura hasta 80°C por un periodo de 2 h (disminuyendo la temperatura en función de la evaporación del disolvente para evitar quemar precipitadamente la muestra).

Una vez evaporado el disolvente, se extrajo la muestra residual y se colocó en un crisol para, posteriormente, calcinar dicha muestra en un horno con una temperatura de 900°C por 2 h. Terminada la calcinación, la muestra se pulverizó en un mortero y se guardó con la etiqueta respectiva.

6.3. Caracterización fisicoquímica

6.3.1. Propiedades luminiscentes por fotoluminiscencia

Las propiedades luminiscentes de las series de biomateriales se obtuvieron a través de los espectros de emisión y de excitación por medio de un espectrofotómetro de fluorescencia marca HITACHI modelo f-7000. Para la obtención de los espectro de emisión se utilizó una radiación electromagnética en la región del ultravioleta con longitudes de onda específicas de acuerdo al ion de tierra rara incorporado en la HAP, siendo las principales 251 nm, 223 nm y 208 nm para los sistemas HaP:Eu, HAP:Tb y HAP:Ce, respectivamente. En el caso de los espectros de excitación, se tomaron como referencia de emisión las longitudes de onda 617 nm, 544 nm y 416 nm para los sistemas HAP:Eu, HAP:Tb y HAP:Ce, respectivamente.

6.3.2. Estructura cristalina por difracción de rayos X

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras de la hidroxiapatita con la incorporación de iones de tierras raras, se obtuvieron por medio de la técnica de difracción de rayos X, utilizando un difractómetro marca BRUKER modelo D2 PHASER. La radiación que emplea este equipo es $K\alpha$ del Cu, con una longitud de onda de 1.54 Å. Los patrones de difracción de rayos X obtenidos, representan la caracterización estructural de las muestras sintetizadas, representativas para cada uno de los sistemas con los iones de tierras raras utilizadas en este trabajo (HAP:Ce³⁺3%, HAP:Eu³⁺3%, HAP:Tb³⁺4%).

6.3.3. Imágenes de superficie y composición química cualitativa por microscopía electrónica de barrido

Se tomaron imágenes de la superficie de algunos de los materiales para analizar diferencias morfológicas asociadas a las diferentes tierras raras utilizadas en la síntesis de estos biomateriales. Adicionalmente, se realizó un análisis cualitativo de la composición elemental para corroborar la presencia de los elementos químicos que forman parte de la estructura de la serie de los biomateriales sintetizados. Estos análisis fueron hechos con ayuda de un microscopio electrónico de barrido marca JEOL modelo JSM-5300.

Se analizaron las muestras representativas para cada una de las diferentes concentraciones de iones de tierras raras utilizadas (HAP:Ce³⁺3%, HAP:Eu³⁺3%, HAP:Tb³⁺4%).

7. Resultados y discusión

7.1. Estructura cristalina

En su mayoría las propiedades de un material dependen de su estructura cristalina, entre ellas, la luminiscencia. Es por ello que en este trabajo fue importante realizar una caracterización estructural de las muestras en estudio.

En la Figura 20, se presentan los patrones de difracción de rayos X de las muestras representativas sintetizadas de los sistemas estudiados en este trabajo (HAP:Ce³⁺ 3%, HAP:Eu³⁺ 3%, HAP:Tb³⁺ 4%), así como la muestra de referencia, siendo ésta, la hidroxiapatita pura (HAP). En esta figura se muestran los picos característicos de los planos cristalinos en 2 theta, y su intensidad relativa, comparados con el patrón estándar número 090432 de la base de datos JCPDS que corresponde a la estructura hexagonal de la hidroxiapatita con parámetros de red $a = 9.418 \text{ \AA}$ y $c = 6.884 \text{ \AA}$ con grupo espacial P63/m aún después de la incorporación de los iones de tierras raras.

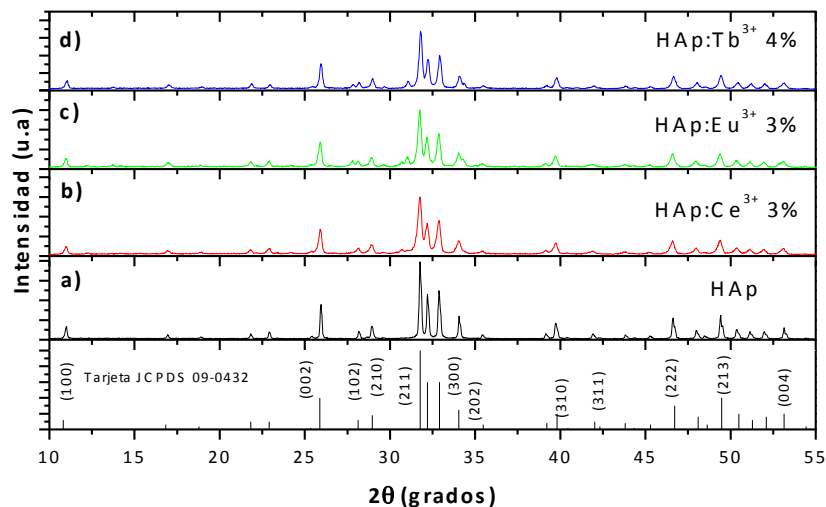


Figura20. Patrones de DRX: a)HAP pura, b) HAP:Ce³⁺ 3%, c) HAP:Eu³⁺ 3%, d) HAP:Tb³⁺ 4%.

Es posible observar que todas las muestras de HAP con incorporación de iones de tierras raras, mostraron los picos de difracción típicos encontrados en la muestra de HAP comercial (HAPR1). Lo anterior indica que no hay fases cristalinas diferentes, pues no se encontraron picos de otras formas alotrópicas. Esto demuestra que la incorporación de los iones de Eu^{3+} , Tb^{3+} y Ce^{3+} , no causa variación en la estructura del compuesto, aunque sean provenientes de diferentes elementos.

Por otro lado, la concordancia de los picos característicos obtenidos en ángulos de 27° , 32° y $47-54^\circ$, de acuerdo a lo reportado por Zhao et al., 2011, indica una incorporación exitosa de los iones de metales lantánidos en la estructura hexagonal de la HAP.

7.2. Análisis de fotoluminiscencia

En este apartado se reportan las propiedades luminescentes de la serie de biomateriales HAP:TR a través de las gráficas de los espectros de emisión y de excitación. De manera general, se observan las emisiones características asociadas a cada una de las tierras raras utilizadas, siendo las emisiones en las regiones del rojo, verde y el azul para los sistemas HAP:Eu^{3+} , HAP:Tb^{3+} y HAP:Ce^{3+} , respectivamente. Los espectros de excitación muestran que las tres series de materiales son activados con luz UV en un intervalo de longitudes de onda de 200 a 250 nm.

Las Figuras 21, 22 y 23 muestran los espectros de emisión y excitación de HAP:Eu^{3+} utilizando concentraciones atómicas de iones de Eu^{3+} de 1%, 2% y 3%.

En la Figura 21 se muestran los espectros de excitación al monitorear la longitud de onda de emisión en 617nm, presentando dos picos de mayor intensidad ubicados en las longitudes de onda de 252 nm y de 394 nm.

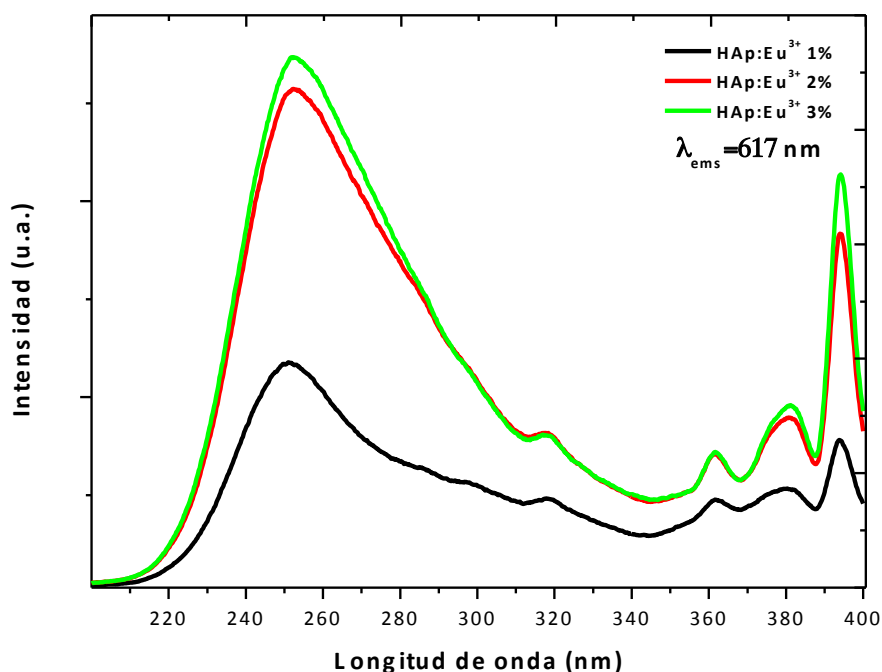


Figura 151. Espectros de excitación HAP:Eu³⁺ ($\lambda_{\text{ems}}=617 \text{ nm}$).

Las Figuras 22 y 23 muestran los espectros de emisión al excitar con longitud de onda de 251nm y 394nm, respectivamente. En la Figura 22 se observan los picos correspondientes a las transiciones $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ (577nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ (592nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ (617nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ (656nm), en la Figura 23 se observan las transiciones $^5D_0 \rightarrow ^7F_0$ (575nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_1$ (592-602nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_2$ (617 y 630nm), $^5D_0 \rightarrow ^7F_3$ (656nm) y $^5D_0 \rightarrow ^7F_4$. Estas transiciones son el resultado del regreso de los electrones en los iones de Eu^{3+} de un estado excitado a su estado basal. En ambos análisis de emisión se presenta un pico principal situado en una longitud de onda de 617nm, correspondiente a la región del rojo. Las transiciones obtenidas en los espectros concuerdan con lo reportado por Olivia Greave y por Yang et al.. En los espectros se puede apreciar una relación en el

aumento de la intensidad obtenida con el aumento de la concentración de iones de Eu^{3+} sin presentar variación en la posición de la longitud de onda de los picos de emisión. Esto sugiere que la incorporación de una mayor concentración de iones de Eu^{3+} puede ofrecer una mayor intensidad de emisión sin alterar la estructura de la matriz huésped de HAP.

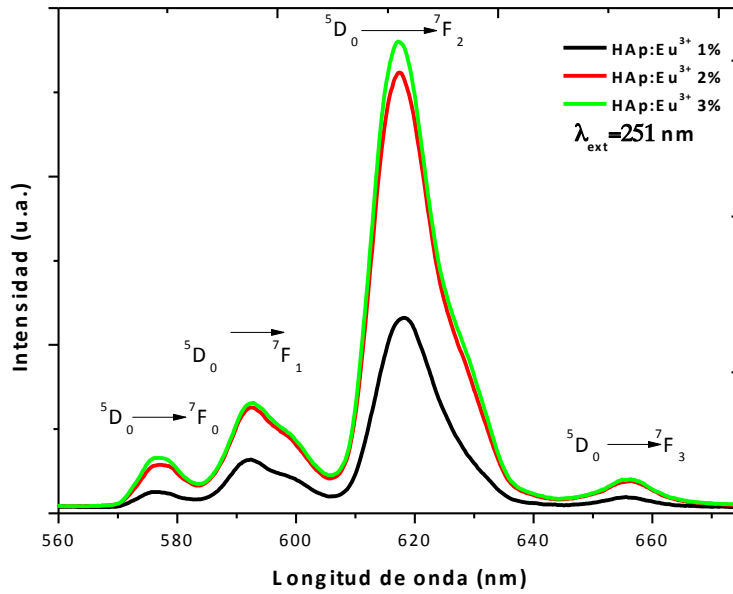


Figura 162. Espectro de emisión HAP:Eu³⁺ ($\lambda_{\text{ext}}=251 \text{ nm}$).

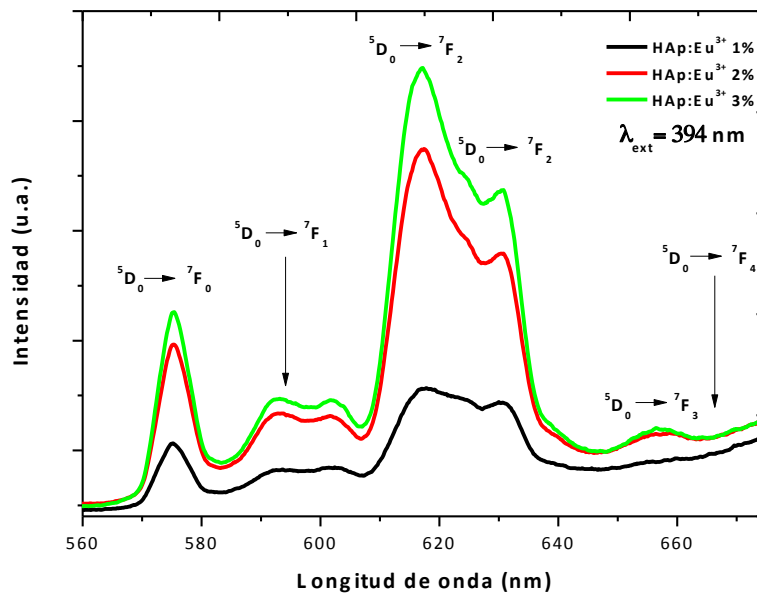


Figura 173. Espectro de emisión HAP:Eu³⁺ ($\lambda_{\text{ext}}=394 \text{ nm}$).

En las Figuras 24 y 25 se muestran los espectros de excitación y de emisión del sistema HAP:Tb³⁺ utilizando concentraciones de iones de Tb³⁺ de 2%, 3% y 4%.

La Figura 24 presenta los espectros de excitación al monitorear la longitud de onda de emisión en 544 nm mostrando un pico principal a 223nm para las 3 concentraciones de iones de Tb³⁺. En la figura 25 se observa el espectro de emisión al excitar con una longitud de onda de 223 nm. Los picos obtenidos corresponden a las transiciones de los electrones, en los iones de Tb³⁺, de un estado excitado a su estado basal, las cuales son $^5D_4 \rightarrow ^7F_6$ (489nm), $^5D_4 \rightarrow ^7F_5$ (544nm), $^5D_4 \rightarrow ^7F_4$ (588nm), $^5D_4 \rightarrow ^7F_3$ (621nm), con su pico principal a 544 nm, que corresponde a la región del verde. En ambos casos es posible observar un aumento en la intensidad de los espectros obtenidos en relación con el aumento de concentración de iones de Tb³⁺. Tales transiciones corresponden a las reportadas por Yang et al., en el 2008. Los resultados obtenidos en los espectros de emisión muestran que la incorporación de los iones de Tb³⁺ en los diferentes porcentajes no presentan variación en la posición de la longitud de onda de sus picos de emisión y, además, se observa un incremento en la intensidad de la emisión al aumentar la concentración de iones de Tb³⁺.

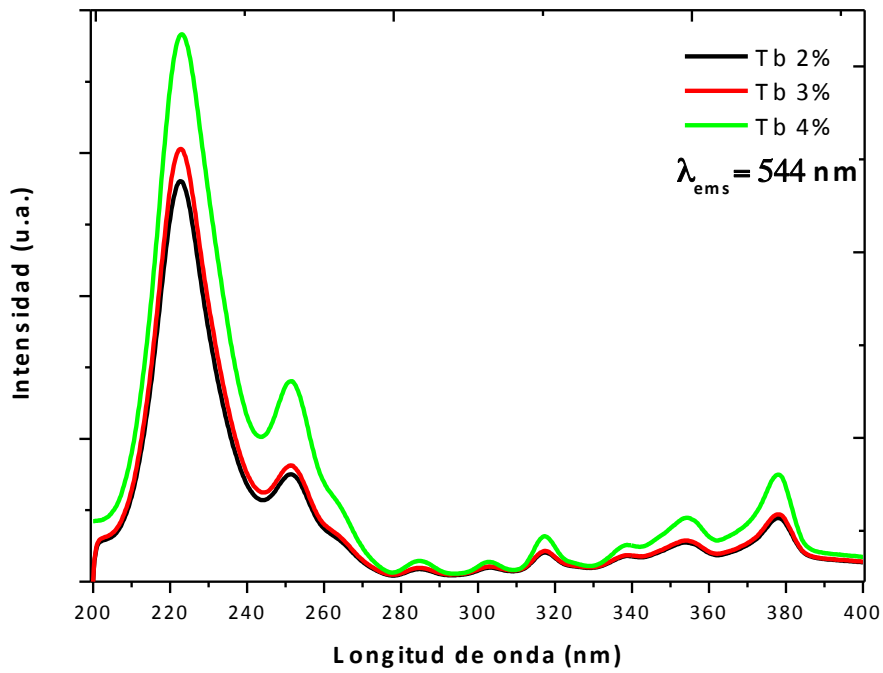


Figura 184. Espectro de excitación ($\lambda_{\text{ems}}=544\text{nm}$) HAP:Tb³⁺

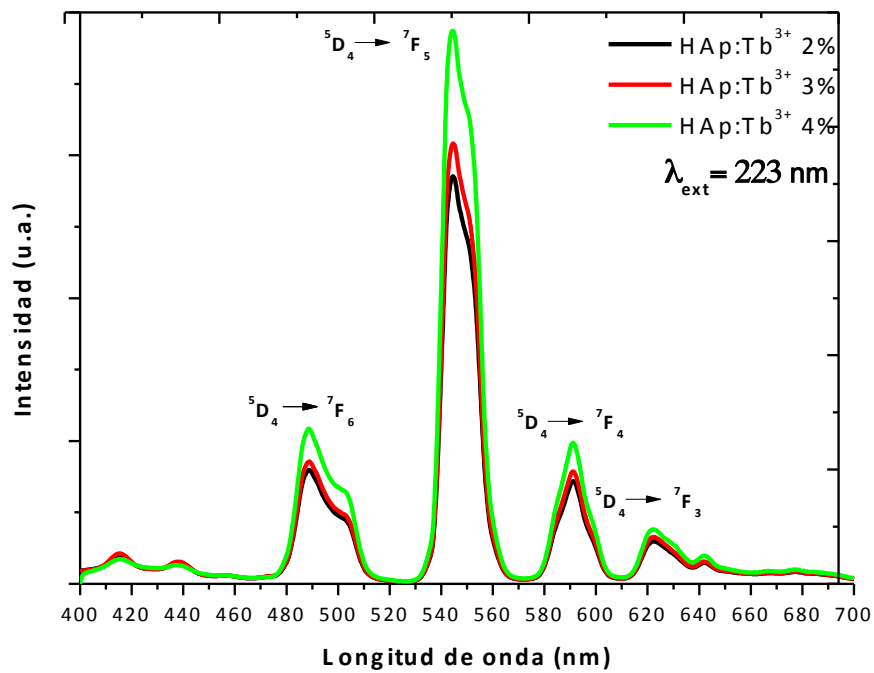


Figura 195. Espectro de emisión ($\lambda_{\text{ext}}=223\text{ nm}$) HAP:Tb³⁺.

En las Figuras 26 y 27 se muestran los espectros de excitación y de emisión del sistema HAP:Ce³⁺ utilizando concentraciones atómicas de iones de Ce³⁺ de 1%, 2%, 3% y 4%.

En la Figura 26 se presenta los espectros de excitación al monitorear la longitud de onda de emisión en 416 nm mostrando un pico principal a 208 nm para las cuatro concentraciones de iones de Ce^{3+} . En la Figura 27 se observa el espectro de emisión al excitar con una longitud de onda de 208nm. Los picos obtenidos corresponden a las transiciones $^5D \rightarrow ^4F$ de los electrones, en los iones de Ce^{3+} , de un estado excitado a su estado basal, con su pico principal en la región del azul del espectro electromagnético. Los picos asociados a las transiciones $^5D \rightarrow ^4F$ de los iones de Ce^{3+} concuerdan con los reportados por Blasse (1991).

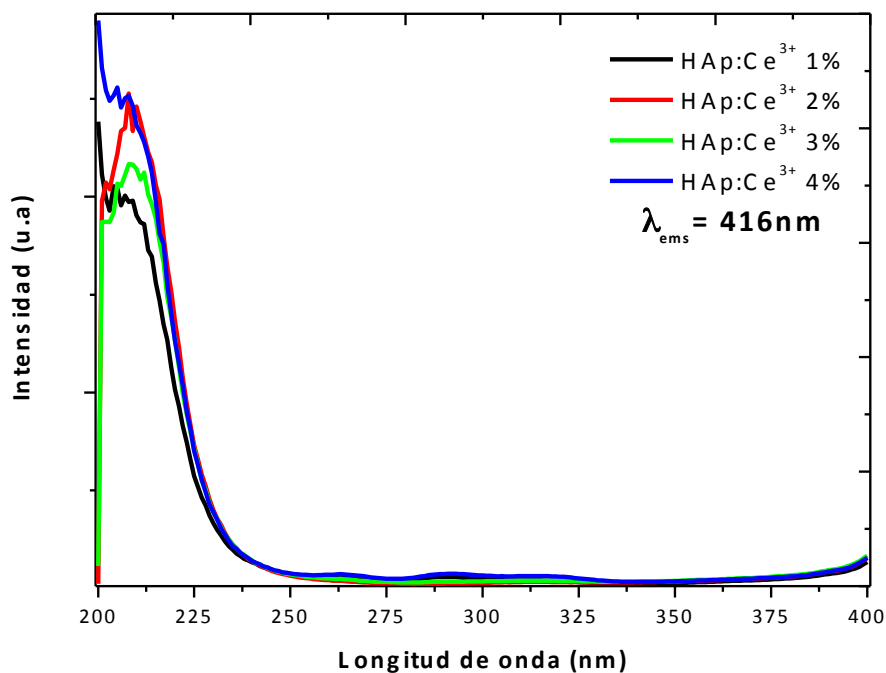


Figura 206. Espectro de excitación ($\lambda_{ems}=416\text{nm}$) HAP:Ce³⁺

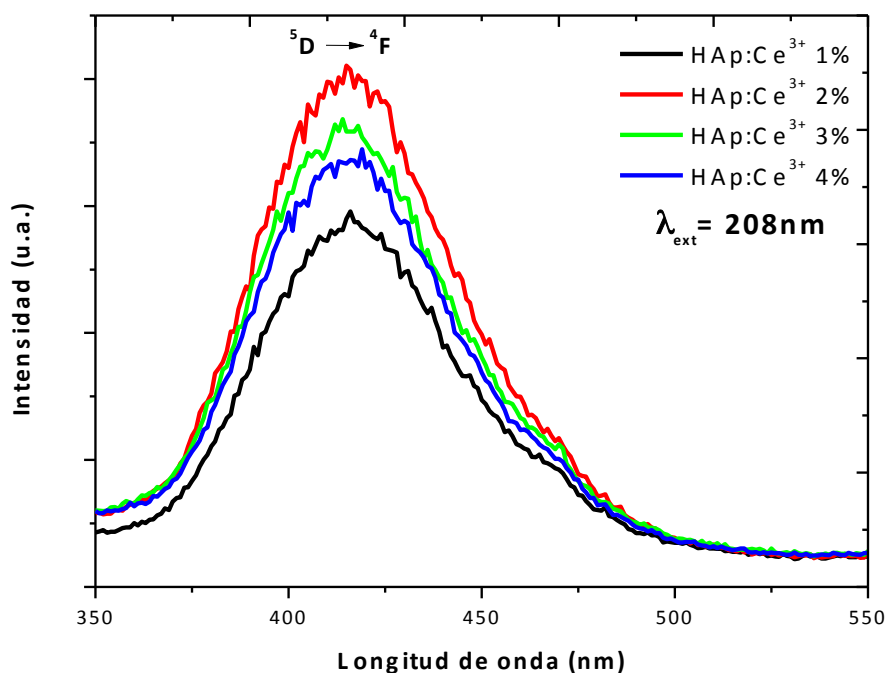


Figura 217. Espectro de emisión ($\lambda_{\text{ext}}=208 \text{ nm}$) HAP:Ce³⁺.

7.3. Imágenes de superficie y análisis elemental por microscopía electrónica de barrido

La obtención de imágenes de la superficie de materiales por microscopía electrónica de barrido (MEB) proporciona información acerca de la morfología de la superficie del material analizado. Por tal razón, resulta interesante observar las posibles diferencias morfológicas al incorporar diferentes iones de tierras raras al sistema HAP, ya que cambios en su morfología pueden tener influencia en sus aplicaciones. Las Figuras 28, 29 y 30 muestran las imágenes obtenidas mediante un SEM de los sistemas HAP:Eu³⁺, HAP:Tb³⁺ y HAP:Ce³⁺.

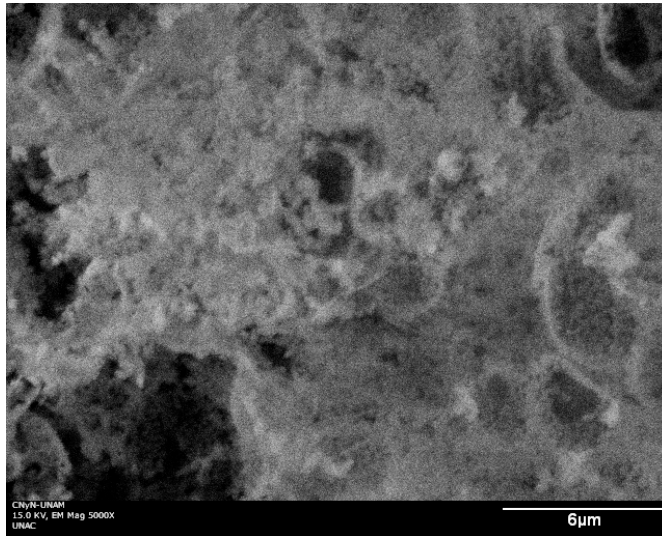


Figura 228. Imagen de SEM de HAP:Eu³⁺ 3%.

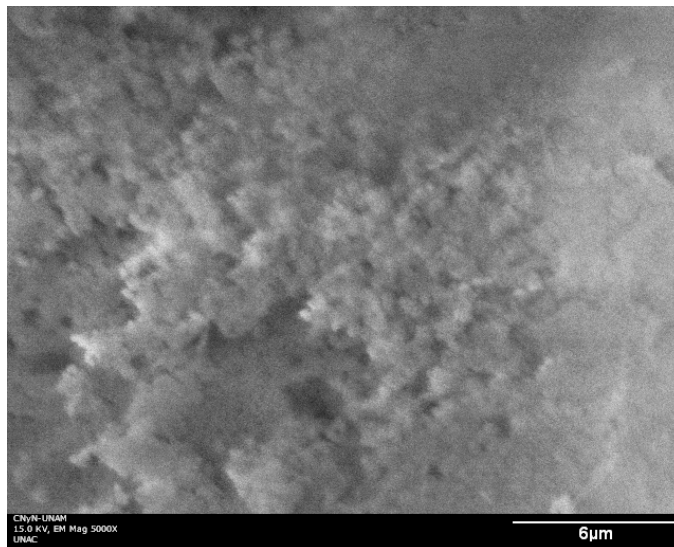


Figura 239. Imagen de SEM de HAP:Tb³⁺ 3%.

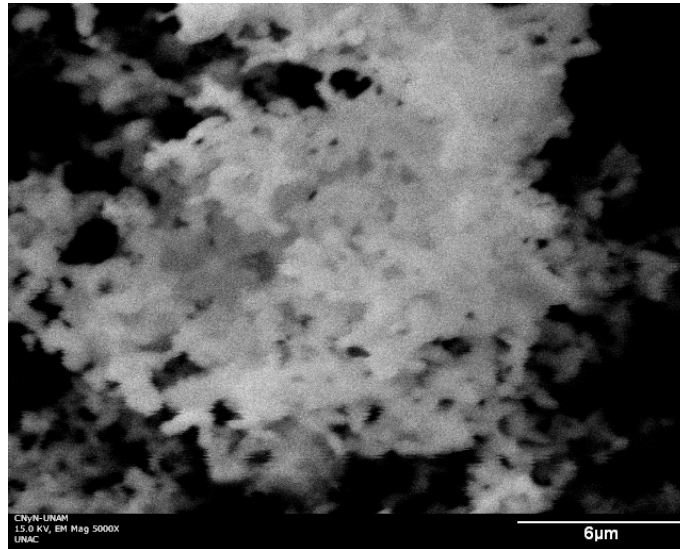


Figura 30. Imagen de SEM de HAP:Ce³⁺ 3%.

Estas imágenes muestran una estructura mesoporosa, característica de la HAP; sin embargo, no se aprecian cambios en morfología que puedan ser asociados a la presencia de una u otra de las tierras raras utilizadas en la síntesis de estos biomateriales. Estos resultados apoyan los objetivos de realizar una modificación únicamente en las propiedades luminiscentes de los biomateriales sintetizados, sin alterar alguna de sus otras características.

7.4. Análisis elemental por espectroscopía de dispersión de energía

Con la intención de conocer la composición elemental de las muestras, se llevó a cabo un análisis elemental por espectroscopía de dispersión de energía. Esto para verificar la presencia únicamente de los elementos involucrados en la síntesis de la HAP dopada con tierras raras.

El análisis por espectroscopía de dispersión de energía (EDS), para las muestras de HAP:Eu³⁺, HAP:Tb³⁺ y HAP:Ce³⁺, observado en las Figuras 31, 32 y 33, muestra la presencia de calcio, fósforo y oxígeno en altas concentraciones, debido a que estos elementos forman la estructura elemental de la hidroxiapatita con fórmula química Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂. En el caso de la presencia de los iones de metales de tierras raras no se aprecian los picos característicos debido a la baja concentración atómica de éstos en las muestras. En la literatura se ha reportado la presencia de iones de tierras raras por medio de EDS a concentraciones de 5% para Eu³⁺, 15% para Tb³⁺ y 1% para Ce³⁺. (Feng et al., 2005; Yang et al., 2008; Zheng, 2015)

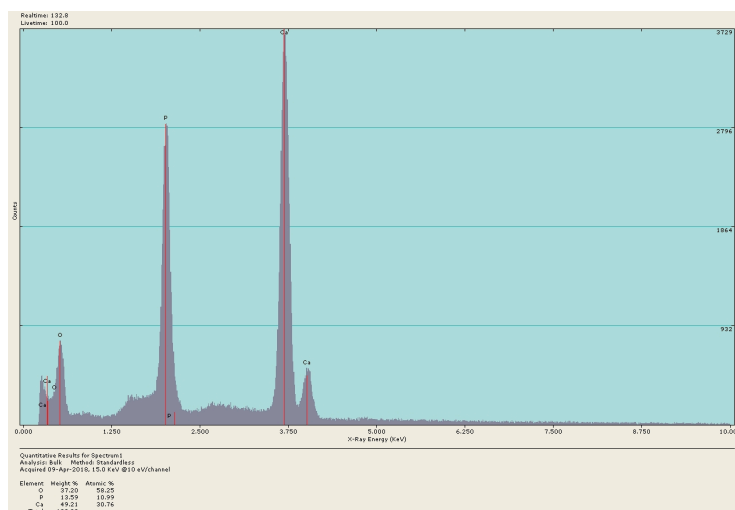


Figura 241. Espectros EDS de HAP:Eu³⁺.

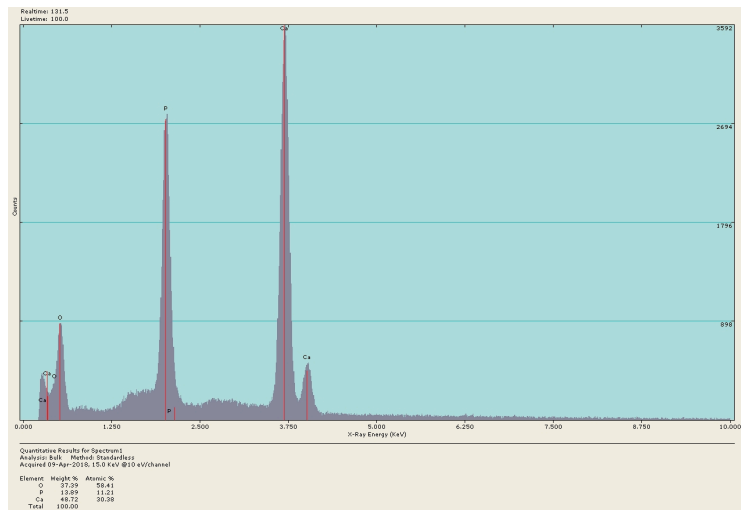


Figura 252. Espectros EDS de HAP:Tb³⁺.

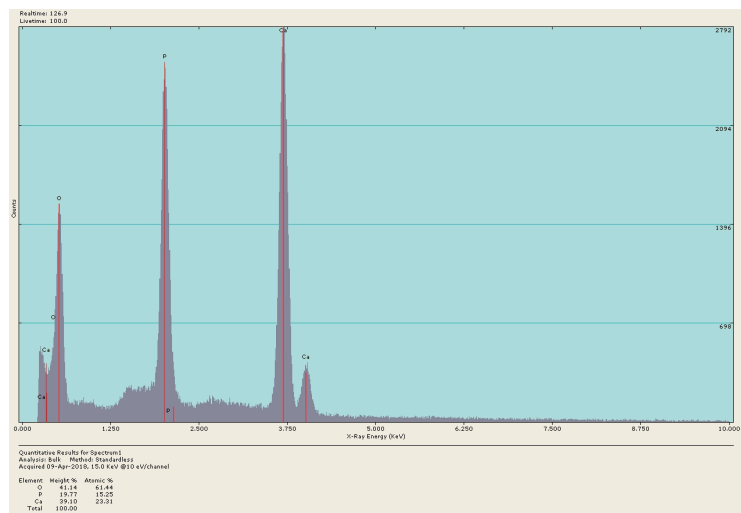


Figura 263. Espectros EDS de HAP:Ce³⁺.

8. Conclusiones

- Se incorporaron iones de tierras raras en la estructura de la hidroxiapatita mediante el método sol-gel asistido con ácido tartárico, ya que las propiedades luminiscentes de estos iones solo se observan al encontrarse como parte de una estructura cristalina.
- La serie de biomateriales HAP:TR con incorporación de iones de Eu^{3+} , Tb^{3+} y Ce^{3+} mostraron la presencia de los picos característicos para las transiciones típicas de cada una de las tierras raras, indicando así, que estos elementos actúan como centros luminiscentes de la estructura.
- La estructura cristalina de la hidroxiapatita no se ve alterada por la incorporación de los iones de tierras raras ya que en análisis de los patrones de difracción de rayos X muestran la estructura hexagonal de la hidroxiapatita con parámetros de red $a = 9.418 \text{ \AA}$ y $c = 6.884 \text{ \AA}$ con grupo espacial P63/m aun después de la incorporación de los iones de tierras raras.
- La composición elemental de los materiales sintetizados corresponde a la composición elemental de la hidroxiapatita (Ca, P y O) aun después de la incorporación de los iones de tierras raras lo que se verificó mediante la espectroscopía de dispersión de energía.

- La incorporación de iones de tierras raras en la estructura de la hidroxiapatita no genera cambios aparentes en la morfología de la superficie de la hidroxiapatita ya que las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido son muy similares independientemente de la tierra rara incorporada.
- Las propiedades luminiscentes adquiridas por la hidroxiapatita al incorporarle iones de tierras raras permiten que este tipo de biomaterial tenga aplicaciones potenciales para funcionar como agente de contraste en aplicaciones de imagen celular o como agentes de rastreo fármacos.

9. Referencias

- Albella Martín, J. M. (Ed.). (2003). *Láminas delgadas y recubrimientos: preparación, propiedades y aplicaciones* (Vol. 11). CSIC-CSIC Press.
- Al-Kattan, A. (2010). Preparation and Physicochemical Characteristics of Luminescent Apatite-Based Colloids. *J. Phys. Chem C.*, *114*(7), 2918-2924.
- Alshemary, A. Z. (2015). Structural characterization, optical properties and in vitro bioactivity of mesoporous erbium-doped hydroxyapatite. *Journal of Alloys and Compounds*, *645*, 478-486.
- Atkins, P. (2006). *Principios de química: los caminos del descubrimiento*. Médica Panamericana.
- Atkins, P., & Jones, L. (2006). *Principios de química: los caminos del descubrimiento*. Médica Panamericana.
- Beatty, R. (2007). *The Lanthanides*. Marshall Cavendish.
- Biomaterials*. (2018). Elsevier.
- Blasse, G. (1993). Luminescence of rare earth ions at the end of the century. *Journal of Alloys and Compounds*(192), 17-21.
- Blasse, G., Schipper, W., & Hamelink, J. (1991). On the quenching of the luminescence of the trivalent cerium ion. *Inorganica Chimica Acta*, *189*, 77-80.
- Brinker, C. J. (2013). *Sol-Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing*.
- Brown, P. W. (1994). *Hydroxyapatite and Related Materials*. CRC Press.
- Chen, F. (2011). The photoluminescence, drug delivery and imaging properties of multifunctional Eu³⁺/Gd³⁺ dual-doped hydroxyapatite nanorods. *Biomaterials*, 9031-9039.
- Correa Maya, C. A. (2002). *Fenómenos químicos*.
- Cortes H., H. F. (2006). *Fundamentos de Cristalografía*. EDICIONES ELIZCOM.
- De Araujo, T. S. (2007). Production and characterization of pure and Cr³⁺-doped hydroxyapatite for biomedical applications as fluorescent probes. *J Mater Sci*(42), 2236-2243.
- Duffo, G. (2011). *Materiales y materias primas*. Ministerio de Educación. Instituto nacional de Educación Tecnológica.
- Dujardin, C. (1998). Optical and scintillation properties of large LuAlO₃:Ce³⁺ crystals. *Journal of Physics Condensed Matter*(10), 3061-3073.
- Enrique, B. J. (2007). La Nueva Farmacoterapia Inorgánica. XVIII. Compuestos de Lantánidos. *Latin American Journal of Pharmacy*, *26*(4), 626-634.
- Feng, Z., Liao, Y., & Ye, M. (2005). Synthesis and structure of cerium-substituted hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, *16*, 417-421.
- Galán, F. L. (Junio de 2015). *SÍNTESIS DE SISTEMAS POLIHETEROCÍCLICOS BASADOS EN ANILLOS DE PIRIDINA, PIRAZON E INDAZOL LUMINISCENCIA DE SUS COMPLEOS CON LANTÁNIDOS Y SU APLICACIÓN EN EL MARCAJE DE OLIGONUCLEÓTIDOS PARA LA DETECCIÓN DE BACTERIAS RESPONSABLES DE SEPSIS*. Tesis, Universidad Autónoma de Madrid, Departamento de Química Orgánica, Madrid.
- García-Corduño, M. V. (2006). La hidroxiapatita, su importancia en los tejidos mineralizados y su aplicación médica. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, *9*(2), 90-95.

- Garza Rodríguez, L. Á. (2010). *SÍNTESIS Y ESTUDIO DE COMPLEJAMIENTO DE NUEVOS RECEPTORES CON METALES LANTÁNIDOS Y DE TRANSICIÓN*. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Gayathri, K. (2017). Optical Characterization Of Infrared Emitting Nd³⁺+Doped HAp Nanoparticles Prepared By Hydrothermal Method. *Journal Of Luminescence*, 180-186.
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Colby, J. W., Yakowitz, H., Lifshin, E., & Coleman, J. R. (2012). *Practical Scanning Electron Microscopy: Electron and Ion Microprobe Analysis*. (J. Goldstein, & H. Yakowitz, Eds.) Springer Science & Business Media.
- Grabmaier, B. (1994). Luminescent materials for medical application. *Journal of Luminescence*(60&61), 967-970.
- Graeve, O. A. (2010). Luminescence variations in hydroxyapatites doped with Eu²⁺ and Eu³⁺ ions. *Biomaterials*(31), 4259-4267.
- Gshalaev, V. S. (2012). *Hydroxyapatite: Synthesis, Properties and Applications*. (N. S. Publishers, Ed.)
- Guangjian, Z., Meiyang, L., Chunling, H., Qiang, H., Liucheng, M., Hongye, H., . . . Yen, W. (2017). Surface polyPEGylation of Eu³⁺ doped luminescent hydroxyapatite nanorods through the combination of ligand exchange and metal free surface initiated atom transfer radical polymerization. *Applied Surface Science*, 499-505.
- Hernández Albañil, H. (2002). *Mecánica de fractura y análisis de falla* (Vol. 8). (U. N. Colombia, Ed.)
- Hlawiczka, P. (1977). *Introducción a la electrónica cuántica*. Reverte.
- Hui, J. (2012). Fluoridated HAp:Ln³⁺ (Ln = Eu or Tb) nanoparticles for cell-imaging. *The Royal Society Of Chemistry*, 4, 6967-6970.
- Jain, P. K. (2008). Noble Metals on the Nanoscale: Optical and Photothermal Properties and Some Applications in Imaging, Sensing, Biology, and Medicine. *ACCOUNTS OF CHEMICAL RESEARCH*, 41(12), 1578-1586.
- Kitai, A. (2008). *Luminescent Materials and Applications*. (J. W. Sons, Ed.)
- Kitai, A. (2008). *Luminescent Materials and Applications* (Vol. 25). (J. W. Sons, Ed.)
- Kittel, C. (1995). *Introducción a la física del estado sólido*. Reverte.
- Kusrini, E. (2012). Characterization of x-ray diffraction and electron spin resonance: Effects of sintering time and temperature on bovine hydroxyapatite. *Radiation Physics and Chemistry*(81), 118-125.
- Li, H., Liu, H., Lefu, M., Yangai, L., Libing, L., & R. Vasant, K. (2017). Growth Mechanism of Surfactant-free Size-controlled Luminescent Hydroxyapatite Nanocrystallites. *Crystal Growth & Design*.
- Liang, Q. (2013). Easy synthesis of highly fluorescent carbon quantum dots from gelatin and their luminescent properties and applications. *Carbon*.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.carbon.2013.04.055>
- Mucalo, M. (2015). *Hydroxyapatite (HAp) for Biomedical Applications*. (Elsevier, Ed.)
- Oatley, C. W. (1966). Scanning Electron Microscopy. *Advances in Electronics and Electron Physics*, 21, 181-247.
- Olives, A. I. (2010). Técnicas analíticas luminiscentes y de separación aplicadas a la identificación y cuantificación de biomarcadores. *MONOGRAFÍA XXX: Biomarcadores: Analítica, diagnóstico y terapéutica*, 169-195.
- Padilla Mondéjar, S., Kovtun, A., & Epple, M. (2007). Lanthanide-doped calcium phosphate nanoparticles with high internal crystallinity and with a shell of DNA as fluorescent probes in cell experiments. *Journal of Materials Chemistry*(17), 4153-4159.

- Peng, X., Manna, L., Yang, W., Wickham, J., Scher, E., Kadavanich, A., & Alivisatos, A. (2000). Shape control of CdSe nanocrystals. *NATURE*, 404, 59-61.
- Pogossova, M. A., Eliseev, A. A., & Azarmi, F. (2017). Synthesis, structure, luminescence, and color features of the Eu- and Cu-doped calcium apatite. *Dyes and Pigments*, 141, 209-216.
- R., H., Bakhtiari, L., & Öchsner, A. (2015). *Biomaterials and Their Applications SpringerBriefs in Materials*. (Springer, Ed.)
- Ramírez Palma, M. T. (2010). Estado del arte del proceso sol-gel en México. *Ciencia Ergo Sum*, 183-188.
- Ratner, B. D. (2004). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (2 ed.). Elsevier Academic Press.
- Ratner, B. D. (2012). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (3rd ed.).
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., & Lemons, J. E. (2004). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine* (2 ed.). Elsevier Academic Press.
- Ravindranadh, K. (2015). Optical and structural properties of undoped and Mn²⁺ doped Ca–Li hydroxyapatite nanopowders using mechanochemical synthesis. *Journal of Luminescence*, 159, 119-127.
- Reyes Gómez, J. (2017). Aplicación de la técnica sol-gel. *Universidad de Colima*.
- Rezaie, H. R., Bakhtiari, L., & Öchsner, A. (2015). *Biomaterials and Their Applications*. (Springer, Ed.) Springer.
- Rochow, E. G. (1981). *Química inorgánica descriptiva*. Reverte.
- Rojas Cervantes, M. (2012). *Diseño y síntesis de materiales "a medida" mediante el método SOL-GEL*. UNED.
- Ronda, C. R. (2008). *Luminescence: From Theory to Applications*. (J. W. Sons, Ed.)
- Ryland, A. L. (1958). X-Ray Diffraction. *Journal Of Chemical Education*, 35(2).
- Seymour, R. B., & Charles, C. E. (1995). *Introducción a la química de los polímeros*. Reverte.
- Shriver, D. F. (1998). *Química inorgánica* (Vol. 2). (Reverte, Ed.)
- Statement NIH Consens. (Nov 1-3 de 1982). Clinical Applications of Biomaterials. 4(5), 1-19.
- Suryanarayana, C. (1998). *X-Ray Diffraction: A Practical Approach*. Springer Science & Business Media.
- Taxak, V., Khatker, S. P., Han, S.-D., Kumar, R., & Kumar, M. (2009). Tartaric acid-assisted sol-gel synthesis of Y₂O₃:Eu³⁺ nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*, 224-228.
- Tiwari, A. (2016). *Advanced Magnetic and Optical Materials*.
- U. (14 de May de 2018). *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering*. Obtenido de National Institute of Health: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/glossary>
- U.S. Department of Health & Human Services. (14 de Mayo de 2018). *National Institute of Biomedical Imaging and Bioengineering*. Obtenido de National Institutes of Health: <https://www.nibib.nih.gov/science-education/glossary>
- Valenzuela Calahorra, C. (1995). *Química general. Introducción a la Química Teórica*. Universidad de Salamanca.
- Vallet-Regí, M. (2004). Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in Solid State Chemistry*, 32, 1-31.
- Vázquez, N. G. (2000). *Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a Las Ciencias Biológicas*. UNAM.

- Vázquez Nin, G. (2000). *Introducción a la Microscopía Electrónica Aplicada a Las Ciencias Biológicas* (1 ed.). (UNAM, Ed.)
- Voncken, J. (2015). *The Rare Earth Elements: An Introduction*. (Springer, Ed.)
- Wojtezak, A. (2009). *Medical Sciences* (Vol. 2). (E. Publications, Ed.)
- Yang, C., Yang, P., Wang, W., Wang, J., Zhang, M., & Lin, J. (2008). Solvothermal synthesis and characterization of Ln (Eu³⁺, Tb³⁺) doped hydroxyapatite. *Journal of Colloid and Interface Science*(328), 203-210.
- Yang, P. Q. (2008). BIOACTIVE, LUMINESCENT AND MESOPOROUS EUROPIUM-DOPED HYDROXYAPATITE AS A DRUG CARRIER. *Biomaterials*, 29(32), 4341-4347.
- Zehe, A. (2001). *Tecnología epitaxial de silicio*. Books on Demand.
- Zeng, H. F. (2017). Synthesis of Europium-doped Fluorapatite Nanorods and Their Multifunctional Biomedical Applications. *Molecules*.
- Zhang, C. (2009). Architectures of Strontium Hydroxyapatite Microspheres: Solvothermal Synthesis and Luminescence Properties. *Langmuir*, 25(23), 13591-13598.
- Zhang, C. (2010). Self-activated luminescent and mesoporous strontium hydroxyapatite nanorods for drug delivery. *Biomaterials*, 31(12), 3374-3383.
- Zhao, Y.-z., Zhu, J., Zhu, S.-h., Huang, Y.-y., Li, Z.-y., & Zhou, K.-c. (2011). Synthesis and characterization of arginine-modified and europium-doped hydroxyapatite nanoparticle and its cell viability. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 1773-1778.
- Zheng, X. (2015). Ln³⁺-doped hydroxyapatite nanocrystals: controllable synthesis and cell imaging. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 17, 20301-20307.