

Cristalización controlada de apatito nanocristalino sobre membranas orgánicas

Pedro Álvarez-Lloret (1*), Isabel Navarro-Zabarburú (2), Adriana Torres-Mansilla (1), Jaime Gomez-Morales (3), Susana Calderón-Toledo (2), Amparo Iris Zavaleta (2)

(1) Departamento de Geología, Facultad de Geología, Universidad de Oviedo, Oviedo (España)

(2) Laboratorio de Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima (Perú)

(3) Laboratorio de Estudios Cristalográficos. IACT-CSIC, 18100, Armilla (España)

* corresponding author: pedroalvarez@uniovi.es

Palabras Clave: Apatito, Superficie orgánica, Materiales biomiméticos. **Key Words:** Apatite, Organic surface, Biomimetic materials.

INTRODUCCIÓN

La cristalización de apatito es fundamental en diversos procesos de biomineralización e ingeniería de biomateriales. El apatito constituye el principal componente inorgánico de tejidos mineralizados, como huesos y dientes, los cuales presentan una estructura única formada por cristales de tamaño nanocristalino incrustados en una matriz orgánica, compuesta principalmente de colágeno (Pasteris et al., 2008). En el desarrollo de materiales biomiméticos el apatito sintético debe replicar las propiedades cristalinas y composicionales presentes en estos tejidos mineralizados.

Los materiales híbridos matriz orgánica-apatito sintético han mostrado un gran potencial en diversas aplicaciones industriales y tecnológicas. Investigaciones previas han evaluado su uso en ámbitos biomédicos, incluyendo apósitos para heridas, ingeniería de tejidos, “stents” vasculares y sustitutos óseos (Been et al., 2021; Ingole et al., 2019). Además, con objeto de facilitar su compatibilidad en el tejido, es crucial que estos biomateriales sintéticos presenten estabilidad química en distintas condiciones de pH y temperatura, así como una porosidad y densidad adecuadas para su integración en el tejido huésped (Mondal et al., 2023). Asimismo, estos materiales deben ofrecer una resistencia mecánica adecuada para soportar las cargas fisiológicas asociadas a cada función, y una biodegradabilidad controlada que permita la sustitución gradual del material por el tejido regenerado.

El método de cristalización por difusión de vapor en gota sedente (SDVD, por sus siglas en inglés) ha sido utilizado previamente para sintetizar cristales de apatito nanocristalino, permitiendo la precipitación en superficie con alta reproducibilidad, utilizando para ello condiciones experimentales controladas (Iafisco et al., 2010). En el presente estudio, esta metodología se ha empleado en la mineralización de dos superficies orgánicas de origen natural: la membrana de la cáscara de huevo y una membrana de celulosa obtenida por asimilación bacteriana (Machado et al., 2016). Los composites membrana orgánica/apatito obtenidos se han caracterizado fisicoquímica, morfológica y microestructuralmente con el fin de identificar las propiedades clave del material para potenciales aplicaciones biomédicas, como la regeneración ósea guiada.

MATERIALES Y MÉTODOS

Síntesis de composites membrana orgánica/apatito

Se emplearon dos superficies orgánicas: 1) una membrana de cáscara de huevo de gallina doméstica *Gallus gallus* obtenida mediante remoción manual, y 2) una membrana de celulosa bacteriana, sintetizada a partir de *Komagataeibacter sp. SU12*, en un medio basado en residuos de productos de mango (*Mangifera indica*).

Los ensayos de cristalización controlada mediante el método SDVD se realizaron en un dispositivo denominado "seta de cristalización" (Triana Sci. & Tech., Spain). Para ello, se depositaron microgotas (mezclando soluciones de $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ y $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) sobre la superficie de las membranas orgánicas. El pH de las gotas se reguló mediante difusión de NH_3 y CO_2 , producto de la descomposición de una solución de NH_4HCO_3 colocada en la cámara inferior de la seta, que actúa como reservorio. La duración de los experimentos fue de 1, 3, 5, 7 y 15 días.

Caracterización de los materiales sintetizados

Los materiales híbridos obtenidos se analizaron mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) para la identificación de las morfologías cristalinas y la distribución mineral en las superficies de las membranas. Por otra parte, se empleó la difracción de rayos X (DRX) para determinar las fases cristalinas formadas, y las espectroscopías FTIR y Raman para conocer los grupos funcionales característicos de los componentes orgánicos e inorgánicos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método SDVD posibilitó la formación de apatito nanocristalino en las superficies de las membranas de la cáscara de huevo y la celulosa bacteriana, proporcionando un control preciso de la cristalización durante los tiempos de reacción experimentales. La precipitación de apatito sobre la superficie de las membranas se distribuyó heterogéneamente formando agregados cristalinos (Figura 1). La cantidad de deposición mineral aumentó con el tiempo, recubriendo superficialmente las fibras entrecruzadas de ambos materiales. Las espectroscopías vibracionales FTIR y Raman identificaron los grupos orgánicos funcionales de las membranas biológicas y los modos de vibración molecular característicos del apatito: ν_1 - ν_3 PO_4^{3-} (grupos fosfatos) y ν_3 CO_3 (grupos carbonatos).

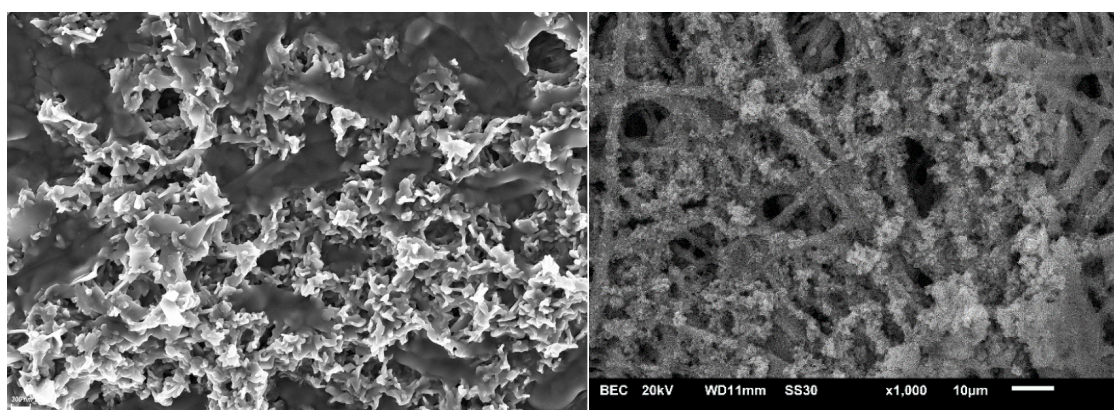


Fig 1. Mineralización controlada de apatito nanocristalino sobre una membrana orgánica de celulosa bacteriana (izquierda; escala 300 nm) y en la superficie externa de membrana de cáscara de huevo (derecha; escala 10 μm).

Los nuevos materiales híbridos presentan importantes ventajas de biocompatibilidad para su uso en dispositivos biomédicos y procedimientos como la regeneración ósea guiada u otras aplicaciones en odontología. Además, el uso de residuos de la producción de mango como sustrato para la producción de celulosa bacteriana y residuos de las industrias de ovoproductos, ofrece una solución sostenible y rentable para el desarrollo de nuevos biomateriales.

Agradecimientos: Financiación del MCIU/AEI, proyecto PID2020-116660GB-I00 y 2023-151538NB-100.

REFERENCIAS

- Been, S., Choi, J., Cho, H., Jeon, G., Song, J.E., Bucciarelli, A., Khang, G. (2021) Preparation and characterization of a soluble eggshell membrane/agarose composite scaffold with possible applications in cartilage regeneration. *J Tissue Eng Regen Med.* **15**(4):375-387.
- Iafisco, M., Morales, J. G., Hernández-Hernández, M.A., García-Ruiz, J.M.; Roveri, N. (2010) Biomimetic Carbonate-Hydroxyapatite Nanocrystals Prepared by Vapor Diffusion. *Adv. Eng. Mater.* **12** (7), B218-B223.
- Ingole, V.H., Vuherer, T., Maver, U., Vinchurkar, A., Ghule, A.V., Kokol, V. (2019) Mechanical Properties and Cytotoxicity of Differently Structured Nanocellulose-Hydroxyapatite Based Composites for Bone Regeneration Application. *Nanomaterials (Basel)* **10** (1), 25.
- Machado, R.T.A., Gutierrez, J., Tercjak, A., Trovatti, E., Uahib, F.G.M., Moreno, G.P., Nascimento, A.P., Berreta, A.A., Ribeiro, S.J.L., Barud, H.S. (2016) *Komagataeibacter rhaeticus* as an alternative bacteria for cellulose production. *Carbohydr Polym.* **5**; 152:841-849.
- Mondal, S., Park, S., Choi, J., Vu, T.T.H., Doan, V.H.M., Vo, T.T., Lee, B., Oh, J. (2023) Hydroxyapatite: A Journey from Biomaterials to Advanced Functional Materials. *Advances in Colloid and Interface Science* **321**, 103013.
- Pasteris, J., Wopenka, B., Valsami-Jones, E. (2008): Bone and Tooth Mineralization: Why Apatite? *Elements* **4**, 97-104.