

**OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”**

**JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.**



Caracterización Espectroscópica del Hueso en presencia de Radiación Infrarroja y Solar

Angélica Hernández-Rayas^a, Teodoro Córdova-Fraga^a, Andrea Ceja Fernández^a,
Christian Gómez Solís^a, Martha A. Hernández-González^b

^aUniversidad de Guanajuato, División de Ciencias e Ingenierías, 37150 León, GTO, México

^bUMAE Clínica T1 Bajío, Centro Médico Nacional, 37320 León, GTO, México.

email: angelicahr@fisica.ugto.mx

Keywords: DRX, Hueso, Hidroxiapatita, Espectroscopia de Fluorescencia

Resumen

El tejido óseo presenta tres componentes fundamentales: minerales, matriz orgánica y células óseas las cuales pueden ser afectadas por la radiación infrarroja y solar, pudiendo generar un daño importante en la estructura cristalina y mineral del hueso. Metodología: Se expusieron a diferentes radiaciones muestras de hueso y utilizando las técnicas espectroscópicas de Difracción de rayos X (DRX), UV-VIS y fotoluminiscencia para correlacionar los cambios estructurales y las propiedades del material, principalmente de la fase de hidroxiapatita. Conclusiones: Los espectros obtenidos con cada técnica presenta una variación de estructura cristalina, el cambio estructural modifica las propiedades de absorción y fluorescencia, las cuales se deben principalmente a la degradación de la fase de hidroxiapatita debido a rompimiento de los enlaces carboxílicos en su elemento principal, la cual se puede relacionar a futuro con anomalías que se pueden tener en huesos de pacientes con osteoporosis. de acuerdo los resultados los huesos expuestos a la radiación infrarroja presentaron un mayor efecto en el cambio de la fase cristalina de la hidroxiapatita además de cambios en sus propiedades luminiscentes y de absorción debidos principalmente por el rompimiento de los enlaces pi, que general la emisión en la región azul (400-450 nm).

1.- Introducción

El principal órgano del esqueleto es el hueso, el cual poseen una estructura sólida que se debe a las sales de calcio, que da soporte al cuerpo y protege a los órganos. El hueso tiene 2 componentes principales las cuales son: a) La matriz ósea o inorgánica, el cual sus compuestos minerales tiene cationes (calcio, magnesio) y aniones (fosfato) (1)(2) y el colágeno representa el 94%; b) Matriz orgánica u osteoide, formada por líquido extracelular y complejo carbohidrato-proteína el cual representa el 25% del peso y el 38% del volumen del hueso adulto. La segunda proteína que abunda en los huesos es la osteocalcina, que influye en la mineralización ósea uniéndose a la hidroxiapatita (3,4)(5)

Los minerales de los huesos no permanecen fijos, sino que constantemente son intercambiados y reemplazados con los componentes orgánicos en un proceso llamado como remodelación ósea, que, con respecto al tiempo, la pérdida del tejido óseo causa un decremento de masa ósea, esto genera que los huesos sean más propensos a fracturarse, los nutrientes principales para evitar esto, es el consumo de calcio y Vitamina D.

**OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”**

**JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.**



La vitamina D permite que el cuerpo absorba Calcio para mineralizar los huesos. La exposición a las radiaciones solares ultravioletas (UV)(6) inducen una modificación de los esteroides cutáneos (sustancias orgánicas asociables a los lípidos) con producción de la vitamina D o llamada también "vitamina antirraquítica".

La energía de las radiaciones solares (UV) como radiación ionizante electromagnética puede provocar transformación a nivel celular; estas energías se transfieren desde una región del espacio a otra, la región UV va desde 10 a 400 nm, se subdivide en 3 regiones: 1) UVA (320 nm a 400 nm), 2) UVB (280 nm a 320 nm) y c) UVC (200 nm a 280 nm) (7).

Al exponerse cualquier material a esta radiación, los electrones son puestos de forma temporal en un mayor estado de energía, luego esa energía es liberada volviendo los electrones a su estado normal. Esta energía liberada, llamada fluorescencia, se logra apreciar en el espectro visible permitiendo tener un análisis físico constitución de materiales y alteraciones que este pudo haber sufrido. (5,8)

En este trabajo, se presenta los efectos de diferentes radiaciones UV en el hueso para determinar la variación de estructura y minerales que afectan a la degradación de éste son presentados, teniendo como elemento principal la Hidroxiapatita(9), que es relacionado con anomalías que se pueden tener en huesos de pacientes con osteoporosis, utilizando las técnicas espectroscópicas de Difracción de rayos X(DRX)(9), UV-VIS y Fotoluminiscencia se complementaron los resultados para correlacionar los cambios estructurales y las propiedades ópticas del material.

2.- Experimental

La realización de este estudio experimental sobre el comportamiento del hueso se fundamentó en observar aspectos importantes en el proceso de desmineralización, el cual se describen a continuación.

1) El protocolo de fragmentación de hueso inicia con un proceso de lavado para eliminar los residuos de sangre y materia grasa, continuando con una serie de lavados con agua destilada. El hueso se deja secar toda la noche a temperatura ambiente.

2) EL hueso fue seccionado en 3 partes de 10 x 10 cm; una sección del hueso se etiquetó como Control, este no es expuesto a radiación; la segunda sección fue expuesta a la Radiación Infrarroja, usado un foco de 40 W de longitud de onda entre 780 y 1400 nm; y la tercera porción de hueso fue expuesta a Radiación Solar con un espectro de longitud de onda entre 380nm y 780nm.

3) En el arreglo del experimento se acopló el foco de 40W en un socket con base flexible y posicionando la muestra a una distancia de 5 cm entre la muestra y el foco.

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.



4) El hueso expuesto a radiación Solar, en intervalo de tiempo fue en las horas de mayor intensidad de las 11:00 a las 16:00 h, cuando el sol alcanza su máxima altura, de acuerdo con al informe de dirección de Secretaria del Medio ambiente (10) y la Secretaria de Salud [4]. *Figura 1.*

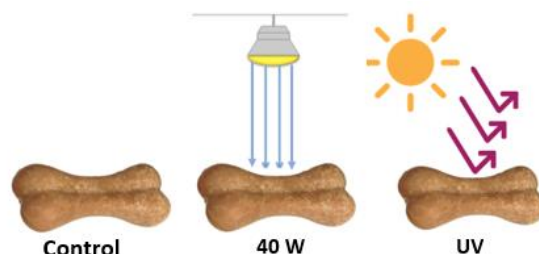


Figura 1. Hueso expuesto a diferentes radiaciones.

Las muestras irradiadas se analizaron mediante Difracción de Rayos X (XRD) empleando un difractómetro Bruker en rango 2θ con barrido de 20–70 grados con una radiación CuK ($\lambda=1.5418 \text{ \AA}$) a temperatura ambiente y con una tasa de escaneo de $0.05^\circ/\text{segundo}$. La absorción óptica fue obtenida con un espectrofotómetro Perkin -Elmer UV-Vis de doble haz a temperatura ambiente en el rango de 300 -500 nm.

La absorción óptica fue obtenida con un espectrofotómetro UV-Vis (Agilent) de doble haz a temperatura ambiente en el rango de 200 a 800 nm con tiempo de intervalo de 1s. También se aplicó la técnica de fluorescencia, la cual absorbe la energía excitación e inmediatamente emite la radiación luminosa.

Por lo que los materiales que fluorescen lo hacen debido a que contienen estructuras con configuraciones moleculares particulares identificadas como fluoróforos o fluorocromos, estas son capaz de absorber fotones y emitir fotones de energía de menos longitud de onda ($>$ longitud de onda) y un fluoróforos es responsable de la emisión de la fluorescencia. Se utilizo un Fluorómetro de Princeton Instruments, con un monocromador de emisión SP-2500i unido a un foto multiplicador R955 (Hamamatsu) , bajo condiciones de temperatura ambiente, y la obtención de las curvas de tiempo después de 2 días de radiación infrarrojo y solar.

3. Resultados y Discusión

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.



Los resultados obtenidos de las muestras de huesos están relacionados tanto en su composición química como con el medio en el que han sido expuestos, presentando de manera visible un cambio de color, y decremento en la densidad del hueso, así como su estructura. En la Figura 2 se muestra (a) Control, (b) UV presenta alteración de coloración amarillenta debido a la degradación del colágeno y calcio y (c) Foco 40 W provocó pequeñas grietas y espacios vacíos, porosidad, generando una modificación en la estructura cristalina.

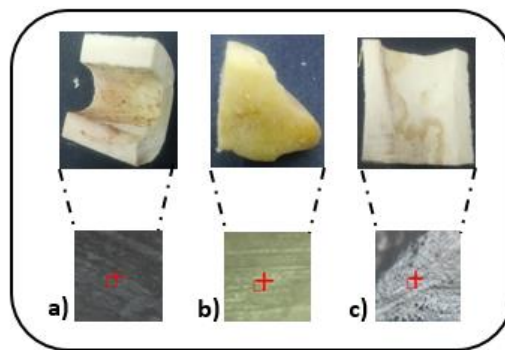


Figura 2: Muestras expuestas a radiación a) Control, b) Solar y c) Foco 40 W.

En la Figura 3, se puede observar los difractogramas de las diferentes muestras expuestas a radiación solar e infrarrojo. Las muestras presentan la fase correspondiente a la estructura de Hidroxiapatita, presentando señales en los ángulos $2\theta = 33,25.5, 28.5, 39.79, 41.5, 49.45, 53.19,$ y 63.9 los cuales correspondientes a los plano (300), (002), (210), (130), (222), (213), (004) y (304) respectivamente de acuerdo a la tarjeta JCPDF# 01-073-8420).

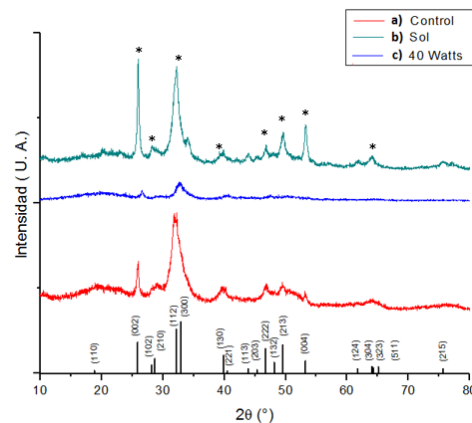


Figura 3: Espectro DRX de muestra con radiación.

En los espectros se muestra una notable variación, en el espectro (2b) Control se observa definitivamente los picos característicos de la hidroxiapatita que corresponde a los crecimiento en los planos presentado una estructura laminar de las apatitas (11) en el espectro (2c) irradiada con foco de 40 w , la presencia de un pico a $2\theta = 28.12$ y $2\theta = 33$ presenta una degradación

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.



morfológica sensible a calor (3). Se observa en el espectro (2a) la presencia de un pico a $2\theta=25.5, 33, 39.79$ y 41.5 de menor intensidad, evidenciando la presencia de descalcificación.

Con la intención de complementar los resultados obtenidos mediante la técnica de espectroscopia de Fluorescencia. En esta técnica, la cual la energía y la frecuencia que incide el fotón es absorbida por el material provocando su estado de energía excitado y que al regresar rápidamente a su estado basal depende exceso de energía, generando una emisión de tipo fluorescencia. La fluorescencia se presenta cuando las energías de radiación son respecto a la longitud de onda más grandes que la energía absorbida; por lo que los huesos al tener modificación estructura y su propiedad de polarización eléctrica es posible intercambiar sus iones de calcio, y presentan un espectro de excitación y de emisión característico.

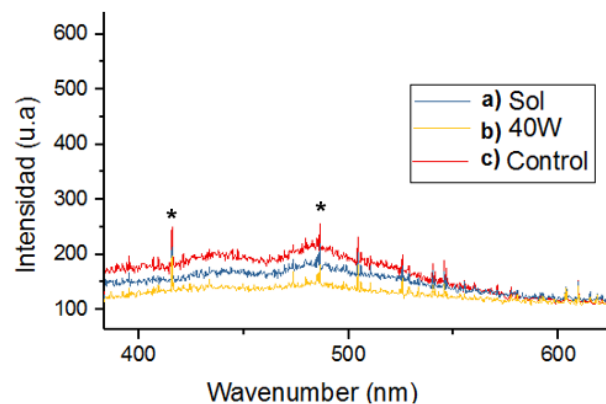


Figura 4. Fluorescencia en las muestras.

En la figura 4 se muestran los espectros de Intensidad de emisión, las cuales fueron excitado con un Fluorómetro en la longitud de onda $\lambda_{exc}= 358$ nm. Los espectros de la muestra control 4a presentan mayor emisión debido a que no tuvo modificación estructural ,presentan numerosas sustituciones incluyendo cationes metálicos tales como K^+ , Na^+ , Mn^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+} entre otros en la posición del Ca^{2+} y complejos aniónicos como CO_3^{2-} o reemplazando al PO_4^{3-} en la red cristalina (12–16). En las muestras figura 4(b y c) al tener modificaciones estructuras y decremento en la densidad y una posible sustitución en los enlaces iónicos(Cl, F y el carbonato) en la estructura de la apatita, lo que causa una ligera desviación de las posiciones de las intensidades (unidades arbitrarias u. a) , teniendo menor absorción en el material y por lo tanto una menor respuesta de fluorescencia.

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.

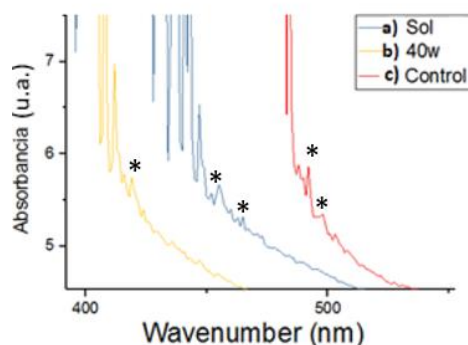


Figura 5. Absorbancia en las muestras

En la Figura 5 se presentan los espectros de absorbancia los cuales muestran los niveles vibracionales del estado excitado y el espectro de emisión los niveles vibracionales del estado basal, en la mayoría de los fluorocromos son similares (ocurren las mismas transiciones electrónicas bandas de vibración características de los grupos funcionales del fosfato en la apatita cerca de los 1000cm^{-1}). en la donde se puede apreciar una banda en 420 nm referente a vibraciones de fosfato, posiblemente a un cambio en el entorno químico o en la concentración de grupos asociados al fosfato por deformación del grupo O-P-O a la transformación de una estructura de un fosfato de calcio y su proceso de desmineralización durante la exposición a radiación, por lo que solo tiene picos de absorción en la región espectral de ultravioleta.

Conclusiones

- Con base a los resultados presentados estas pruebas pueden ayudar a la caracterización mediante diferentes técnicas espectroscópicas complementarias relación entre el tipo de radiación electromagnética a la que se expusieron las muestras de hueso.
- Así como los efectos de desmineralización y cambios estructurales que revelan que la se modifica de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ y a Apatita $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$.
- La exposición a radiaciones provocaría una diferencia, causando en el tipo de sustitución de iones de iones de carbonato que se ven reflejadas en diferentes bandas en las bandas de UV_VIS.

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.



- Se presentan una fase orgánica compuesta principalmente por colágeno y una inorgánica la cual está constituida por apatita, que respecto al tiempo de exposición del hueso disminuye la presencia de carbonatos en la red, además el tamaño del cristalito decremente generando porosidad en las muestras.

Bibliografía

1. Rivera J., Fetter G, Bosch P. Efecto del pH en la síntesis de hidroxiapatita en presencia de microondas. *Matéria* (Rio Janeiro) [Internet]. 2010 [cited 2018 Nov 13];15(4):506–15. Available from: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1517-70762010000400003&lng=es&tlng=es
2. Sudarsanan K, Young RA. Significant precision in crystal structural details. *Holly Springs hydroxyapatite. Acta Crystallogr Sect B Struct Crystallogr Cryst Chem* [Internet]. 1969 Aug 15 [cited 2018 Nov 13];25(8):1534–43. Available from: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S0567740869004298>
3. Pareja NM, Escobar DM, Ossa CP, Echavarría A. 67 Producción y caracterización de cuerpos porosos de hidroxiapatita sintética *Rev Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto comercial Synthesis and characterization of microporous hydroxyapatite, comparison with a commercial product* [Internet]. Vol. 43, *Fac. Ing. Univ. Antioquia N.º. Marzo; 2008* [cited 2018 Sep 6]. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rfiua/n43/n43a06.pdf>
4. Jeanjean J, McGrellis S, Rouchaud JC, Fedoroff M, Rondeau A, Perocheau S, et al. A Crystallographic Study of the Sorption of Cadmium on Calcium Hydroxyapatites: Incidence of Cationic Vacancies. *J Solid State Chem* [Internet]. 1996 Nov [cited 2018 Nov 13];126(2):195–201. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022459696903291>
5. Rivera JA, Riaño CH, Echavarría A, Monsalve PA, G. GJA, Restrepo LF, et al. Injertos óseos - Nueva alternativa. Fase III. Obtención, caracterización y evaluación de Hidroxiapatita Sintética y el compuesto de Hidroxiapatita Sintética porosa – Proteínas Morfogenéticas Óseas en un modelo experimental Lapino Jairo. *Rev Colomb Ciencias Pecu* [Internet]. 2016;17(1):20–8. Available from: <https://aprendeenlinea.udea.edu.co/revistas/index.php/rccp/article/view/323920>
6. Castillo-Paz AM, Tirado-Mejía L, Rodríguez-García ME. CARACTERIZACIÓN DE HUESO PORCINO SOMETIDO A TRATAMIENTO HIDROTÉRMICO CHARACTERIZATION OF PORCINE BONE SUBMITTED TO HYDROTHERMAL METHOD [Internet]. [cited 2019 Mar 24]. Available from:

OFFICIAL TEMPLATE FOR THE SUBMISSION OF PAPERS
II INTERNATIONAL SCIENTIFIC CONVENTION
“II ICC UCLV 2019”

JUNE 23th – 30th, 2019
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.



- http://blade1.uniquindio.edu.co/uniquindio/revistainvestigaciones/adjuntos/pdf/6ebe_Revista-2017-v4-definitivo-57-66.pdf
7. Mexico. Secretaría de Salubridad y Asistencia., Instituto Nacional de Salud Pública (Mexico), Centro Nacional de Información y Documentación en Salud (Mexico). Salud pública de México. [Internet]. Vol. 55, Salud Pública de México. [Secretaría de Salubridad y Asistencia]; 2013 [cited 2019 May 6]. 96–116 p. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342013000100014
 8. Carolina D, Coy G. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA DOPADA CON NANOPARTÍCULAS DE ZnO CON POTENCIALES APLICACIONES BIOMÉDICAS Obtaining and Characterization of Hydroxyapatite doped with ZnO nanoparticles with potential biomedical applications. 2016; Available from: <http://www.bdigital.unal.edu.co/54664/1/1053777916.2016.pdf>
 9. Cobalto- ACDE. INGENIERÍA QUÍMICA. 2015;
 10. Dirección de Monitoreo Atmosférico [Internet]. [cited 2019 Mar 23]. Available from: <http://www.aire.cdmx.gob.mx/default.php?opc=%27aqBjnmM=%27>
 11. Varela Caselis J, Reyes Cervantes E, Rubio Rosas E. Crecimiento en fluido fisiológico simulado de hidroxiapatita sobre películas de PMMA sílice-CaO. Superf y vacío [Internet]. 2011;24(3):92–5. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1665-35212011000300004&script=sci_arttext
 12. Dorozhkin S V. Bioceramics of calcium orthophosphates. Biomaterials [Internet]. 2010 Mar 1 [cited 2019 May 8];31(7):1465–85. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0142961209012782?via%3Dihub>
 13. Shepherd JH, Best SM. Calcium phosphate scaffolds for bone repair. JOM [Internet]. 2011 Apr 20 [cited 2019 May 8];63(4):83–92. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11837-011-0063-9>
 14. Pesenti H, Ríos R, Leoni M, Motta A, Scardi P. Re-ingeniería de apatita natural para soporte de tejidos óseos. Rev Mater. 2014;19(3):247–56.
 15. Fernigrini P, Cámara OR, Oliva FY. Síntesis y caracterización de distintas apatitas. Su utilización como biomaterial. Asoc Argentina Mater. 2008;10:1–5.
 16. Mur G, Mur G, Mur G, Ortopedia E. 7 . Hidroxiapatita. 1997;3(Friedman 1992).