

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CIUDAD MADERO

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA



TITULACIÓN INTEGRAL
TESIS

SÍNTESIS DE LA HIDROXIAPATITA A PARTIR DE LA CÁSCARA DE HUEVO

Que para obtener el Título de
Ingeniero Químico

Presenta
Alexandra Ortiz De Leija
18070998

Asesor
Dra. Beatriz Adriana Salazar Cruz



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Ciudad Madero
Subdirección Académica
Departamento de Ingeniería Química y Bioquímica

Ciudad Madero, Tamaulipas, **17/Mayo/2023**

No. Oficio: O.0213/23
Asunto: Autorización de Impresión.

C. ALEXANDRA ORTIZ DE LEIJA
No. CONTROL 18070998

De acuerdo al fallo emitido por el Jurado asignado para la revisión de su trabajo profesional, integrado por los siguientes catedráticos:

PRESIDENTE:	BEATRIZ ADRIANA SALAZAR CRUZ
SECRETARIO:	JOSÉ LUIS RIVERA ARMENTA
VOCAL:	NANCY PATRICIA DÍAZ ZAVALA
SUPLENTE:	RUTH ZURISADAI DEL ÁNGEL ALDANA

Y considerando que llena todos los requisitos del reglamento de titulación en vigor del Sistema Nacional de Institutos Tecnológicos, doy a Usted autorización para que proceda a imprimir su trabajo profesional de la Opción **TITULACIÓN INTEGRAL (TESIS)**.

"SINTESIS DE LA HIDROXIAPATITA A PARTIR DE LA CASCARA DE HUEVO"

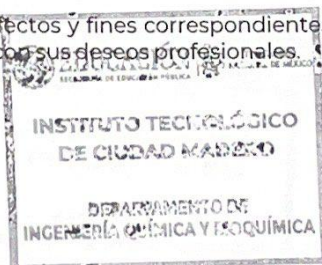
Lo hago de su conocimiento para los efectos y fines correspondientes a su Examen Profesional, esperando que el logro del mismo sea congruente con sus deseos profesionales.

ATENTAMENTE

Excelencia en Educación Tecnológica
"Por mi patria y por mi bien"

PATRICIA MENDOZA GUZMÁN
JEFA DEL DEPTO. DE INGENIERÍA QUÍMICA Y BIOQUÍMICA

ccp. Archivo
PMC/dahb



Av. 1º de Mayo y Sor Juana I. de la Cruz S/N Col. Los Mangos C.P. 89440 Cd. Madero, Tam.
Tel. 01 (833) 357 48 20, ext. 3050, e-mail: quimica@cdmadero.tecnm.mx
tecnm.mx | cdmadero.tecnm.mx



2023
Francisco
VILLA

Agradecimientos.

Primeramente, a Dios, por darme salud y sabiduría durante mis estudios.

A mis padres, Alejandra y Pepe, por siempre apoyarme y estar al pendiente de mi en cada paso que doy, gracias por motivarme para alcanzar mis metas.

A mi hermano, Andrés, mi compañero de vida, quien sabe darme un consejo cuando más lo necesito.

A mis amistades de la carrera, que se convirtieron en maestros, gracias por su paciencia y cariño.

A mi Roco (+) y Rocki, por ser mi apoyo emocional durante las clases en línea, no fue fácil los dos años de pandemia, pero siempre estuvieron ahí para calmar mi estrés.

A Adair, por su apoyo y motivación desde el día uno hasta este momento.

A la Dra. Betty y todo el personal del campus 3, gracias por su amabilidad y por hacer agradable esta estancia.

Resumen.

La hidroxiapatita sintética es un tipo de sustituto óseo compuesto de fosfato y calcio con una estructura similar al componente inorgánico del tejido óseo humano. Sus componentes permiten que provea de estabilidad y dureza a la estructura cristalina. Su biocompatibilidad ha sido demostrada por la interacción del Ca^{+2} y el PO^{-3} dentro de las funciones celulares y fisiológicas, además de ser bioactivo al degradarse sin alterar el proceso de cicatrización del tejido óseo; además que su biodegradabilidad es dependiente de su composición y propiedades físico químicas ^[1,2].

La resistencia mecánica de la HAp, depende del tamaño del grano, su distribución, porosidad y otros defectos microestructurales, por lo que la HAp ha sido sintetizada por varios métodos, entre los que se encuentran: el químico-húmedo en solución acuosa; el sol-gel; el hidrotermal; la deposición térmica; la precipitación continua y el método de reacción en estado sólido. Teniendo en cuenta lo anterior, una nueva generación de materiales porosos sintéticos de HAp, en cuanto al tamaño del poro, el más adecuado es el que va en un rango de 100-300 nm y respecto a la estructura del poro, es vital que éstos se encuentren interconectados ^[3].

En este trabajo se sintetizó la HAp a partir del desecho de la cáscara de huevo, ya que dicho residuo está constituido en un 90% por CaCO_3 ; el ácido nítrico en una concentración de 5% y 15% a la par que el exceso de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ fueron las variantes en la metodología para obtener la HAp. El material obtenido pasó por un tratamiento térmico a 800°C durante 10h. Se encontró que el material obtenido presenta los grupos funcionales característicos de la hidroxiapatita mediante la técnica de caracterización FTIR, así como las estructuras cristalinas de la HAp mediante la técnica DRX.

Índice.

Agradecimientos.....	i
Resumen.....	ii
Introducción.....	1
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO.....	3
1.1 Antecedentes.....	4
1.2 Biomateriales.....	6
1.3 HAp.....	7
1.4 Síntesis de HAp.....	10
1.5 Aplicaciones de la HAp.....	13
CAPÍTULO II. METODOLOGÍA.....	15
2.1 Reactivos.....	16
2.2 Obtención del carbonato de calcio a partir de la cáscara de huevo.....	16
2.3 Síntesis de HAp por exceso de ácido nítrico.....	18
2.4 Técnicas de caracterización.....	23
2.4.1 Microscopía óptica.....	24
2.4.2 Difracción de rayos X.....	26
2.4.3 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier.....	28
2.4.4 Análisis termogravimétrico.....	29
2.4.5 Dispersión de luz dinámica.....	30
CAPÍTULO III RESULTADOS.....	32
3.1 Microscopía óptica.....	33
3.2 Difracción de rayos X (DRX).....	35
3.3 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	37
3.4 Análisis termogravimétrico (TGA).....	40
3.5 Dispersión de luz dinámica (DLS).....	43
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES.....	47
Bibliografía.....	50

Índice de figuras.

Figura

1.1.	Aplicaciones de biomateriales.....	6
1.2.	Prótesis dentales no permanentes fabricadas con metal, polímero y cerámica.....	7
1.3.	Estructura cristalina de la hidroxiapatita.....	8
1.4.	Reconstrucción maxilofacial en forma de bloques porosos.....	9
1.5.	Residuo biológico: cáscara de huevo.....	10
1.6.	Prototipos bioimplantes de hidroxiapatita para tejidos dentales y óseos.....	13
2.1.	Cáscaras de huevo antes de ser pulverizadas.....	17
2.2.	Polvo de cáscara de huevo en tamices.....	17
2.3.	Proceso de síntesis de la HAp.....	19
2.4.	Muestra en reposo después de la síntesis.....	20
2.5.	Filtración de la muestra.....	21
2.6.	Muestras de experimentación 1 (izquierda), 2 (centro) y 3 (derecha) después del tratamiento químico.....	21
2.7.	Muestra antes del tratamiento térmico.....	22
2.8.	Muestras en las canoas de cuarzo.....	22
2.9.	Muestra después del tratamiento térmico (HAp).....	23
2.10.	Microscopio óptico compuesto.....	24
2.11.	Microscopio óptico analizando partículas de cáscara de huevo.....	25
2.12.	Difractómetro D8 Brucker Advance.....	27
2.13.	Muestras en los discos para analizar en el Difractómetro.....	27
2.14.	Equipo FTIR.....	28
2.15.	Equipo TGA-DSC.....	29
2.16.	Analizador del tamaño de partícula.....	30
2.17.	Análisis de índice de absorbancia.....	31
3.1-a.	Cáscara de huevo aumento 10x.....	34
3.1-b.	Experimentación 1 aumento 5x.....	34
3.1-c.	Experimentación 2 aumento 5x, 10x, 40x	34
3.1-d.	Experimentación 3 aumento 5x, 10x, 40x	34
3.2	Patrón de difracción del polvo de cáscara de huevo e HAp 5%.....	35

3.3.	Patrón de difracción ácido nítrico 5%, 15% y exceso $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	36
3.4.	Patrón DRX de polvo de Hidroxiapatita obtenidos, sintetizándolo y envejeciendo a 25°C por diferentes tiempos.....	37
3.5.	Espectro IR de la hidroxiapatita y polvo de cáscara de huevo.....	38
3.6.	Espectro IR de la hidroxiapatita carbonatada sintetizada por el método de precipitación y sintetizada a 800°C.....	39
3.7.	Termograma TGA de las tres experimentaciones de HAp y polvo de cáscara de huevo.....	40
3.8.	Termograma TGA de las tres experimentaciones de HAp.....	41
3.9.	Termograma DTG de las tres experimentaciones de HAp y polvo de cáscara de huevo.....	42
3.10	Termograma DTG de las tres experimentaciones de HAp.....	43
3.11.	Histograma DLS polvo cáscara de huevo.....	45
3.12.	Histograma DLS para muestra HAp con ácido nítrico 5%.....	45
3.13.	Histograma DLS para muestra HAp con ácido nítrico 15%.....	46
3.14.	Histograma DLS para muestra HAp exceso $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	46

Índice de tablas.

Tabla

2.1	Reactivos empleados para la síntesis de la HAp.....	16
3.2	Rampa de calentamiento en horno tubular.....	22
4.1	Microscopía óptica de la matriz experimental para la síntesis de la HAp.....	34
4.2.	Resultados: temperaturas de descomposición máxima.....	43
4.3	Resumen de resultados de prueba DLS.....	43

Introducción.

La HAp es un compuesto químico de gran importancia en la industria biomédica, especialmente en la fabricación de implantes dentales y óseos. Actualmente, la HAp se produce a partir de fuentes naturales como huesos bovinos y fosfatos de calcio, lo que puede ser costoso y generar residuos contaminantes. Por lo tanto, la búsqueda de fuentes alternativas y sostenibles para la producción de HAp es un área de investigación en crecimiento.

El tejido óseo de los animales vertebrados y del ser humano está formado por 65% de fase inorgánica la cual se asemeja a la estructura de la HAp, este es un biocerámico que posee la propiedad de unirse químicamente con el tejido óseo, por lo tanto, es considerado un material biocompatible. ^[3]

La HAp es un mineral biológico formado por fosfatos y calcio. La composición química, la estructura, el tamaño, la morfología y las propiedades de la HAp suelen estar determinadas por el proceso de preparación.

La HAp sintética, es un tipo de HAp que se obtiene mediante un procedimiento químico y ésta a su vez se produce con la finalidad de usarse por lo regular en aplicaciones como la medicina.

En la actualidad la preocupación por reducir el índice de residuos biológicos ha dado pie a la ardua búsqueda de alternativas en procesos de obtención de materiales esto con el fin de aprovechar los residuos y utilizarlos como materia prima.

En este sentido, la cáscara de huevo es una fuente natural abundante y fácilmente accesible que contiene una alta cantidad de carbonato de calcio y otros componentes que podrían ser utilizados en la síntesis de HAp. La síntesis de HAp a partir de la cáscara de huevo tiene el potencial de ser una alternativa rentable y amigable con el medio ambiente.

Por lo tanto, en este proyecto se propone investigar la síntesis de HAp a partir de la cáscara de huevo. Se realizarán pruebas y experimentos para determinar las condiciones óptimas de producción y se evaluará la calidad y las propiedades de la hidroxiapatita sintetizada. El objetivo final es establecer un proceso rentable y sostenible para la producción de HAp a partir de la cáscara de huevo.

Es importante tomar en cuenta la composición de la HAp (fosfatos y calcio) y así buscar un residuo que contenga estos compuestos, de ahí se selecciona la cáscara de huevo, con la única finalidad de producir un material útil utilizando una materia prima orgánica.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes.

La HAp es un mineral biológico formado por fosfatos y calcio. La composición química, la estructura, el tamaño, la morfología y las propiedades de la HAp suelen estar determinadas por el proceso de preparación.

Actualmente existen distintos tipos de síntesis de HAp, uno de ellos es a partir de residuos biológicos.

En 2014, Vélez y colaboradores realizaron la síntesis de la HAp por combustión utilizando la cáscara de huevo de gallina como fuente del carbonato de calcio. Una vez sintetizada la HAp, se caracterizó mediante las técnicas de difracción de rayos X, los resultados obtenidos confirmaron la presencia de la HAp, con cantidades adicionales de óxidos de calcio e hidróxidos de calcio. El método utilizado en esta investigación evidencia una alternativa que beneficia al medio ambiente ya que se recicla el residuo de la cáscara de huevo.

En 2018, Camacho y colaboradores sintetizaron HAp a partir del CaCO_3 obtenido de la cáscara de huevo por el método de precipitación húmeda, utilizando titulaciones con ácido nítrico como disolvente y agente quelante al ser calentado a una temperatura de 700°C durante 8 horas, para ellos este método fue sencillo ya que no acarrea elevados costos. La HAp se caracterizó por la técnica de DRX, el difractor confirmó la presencia de ésta.

En 2019, Molina logró sintetizar HAp mediante residuos de la cáscara de huevo a través de una reacción de estado sólido. El polvo de la HAp se caracterizó por las técnicas microscopía electrónica de barrido (SEM) y DRX, se apreció una morfología porosa que de acuerdo a las referencias bibliográficas, este podría ser utilizado como tecnología de bajo costo en aplicaciones biomédicas.

En 2020, Enríquez y colaboradores llevaron a cabo la síntesis de HAp a partir del desecho de cáscaras de huevo, resaltan dos factores importantes a controlar en este método, el tiempo de impregnación, y el tiempo del tratamiento térmico. Obtuvieron una HAp carbonatada, esto les fue beneficioso ya que este material sería sometido a la fotocatalisis para remoción de contaminantes.

En 2022, García y colaboradores obtuvieron HAp a partir de la cáscara de huevo afín de evaluar la bioactividad para uso potencial como cemento óseo. En este estudio se realizó una comparación entre la HAp sintetizada a partir de la cáscara de huevo de gallina (HAh) e Hidroxiapatita comercial (HAc). Mediante el método de tratamiento térmico se obtuvo la hidroxiapatita, ésta se caracterizó por medio de SEM y Espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (EDS). La HAp obtenida se comportó de forma estable y eso permitió la interacción y unión con el tejido óseo.

1.2 Biomateriales.

Sabiendo que el cuerpo humano está constituido por polímeros (proteínas) y cerámicos (minerales óseos), al paso de los años, los biomateriales han sido de gran relevancia. Un biomaterial es una sustancia sintética que ha sido diseñada para reemplazar parte de un sistema vivo o que está en íntimo contacto con fluidos biológicos. ^[4]

No cualquier material puede ser considerado como biomaterial, esto debido a que el material debe ser biocompatible, esta es la habilidad que posee el material para ser aceptado por el cuerpo y que este no produzca una respuesta inflamatoria, reacciones alérgicas o cáncer.

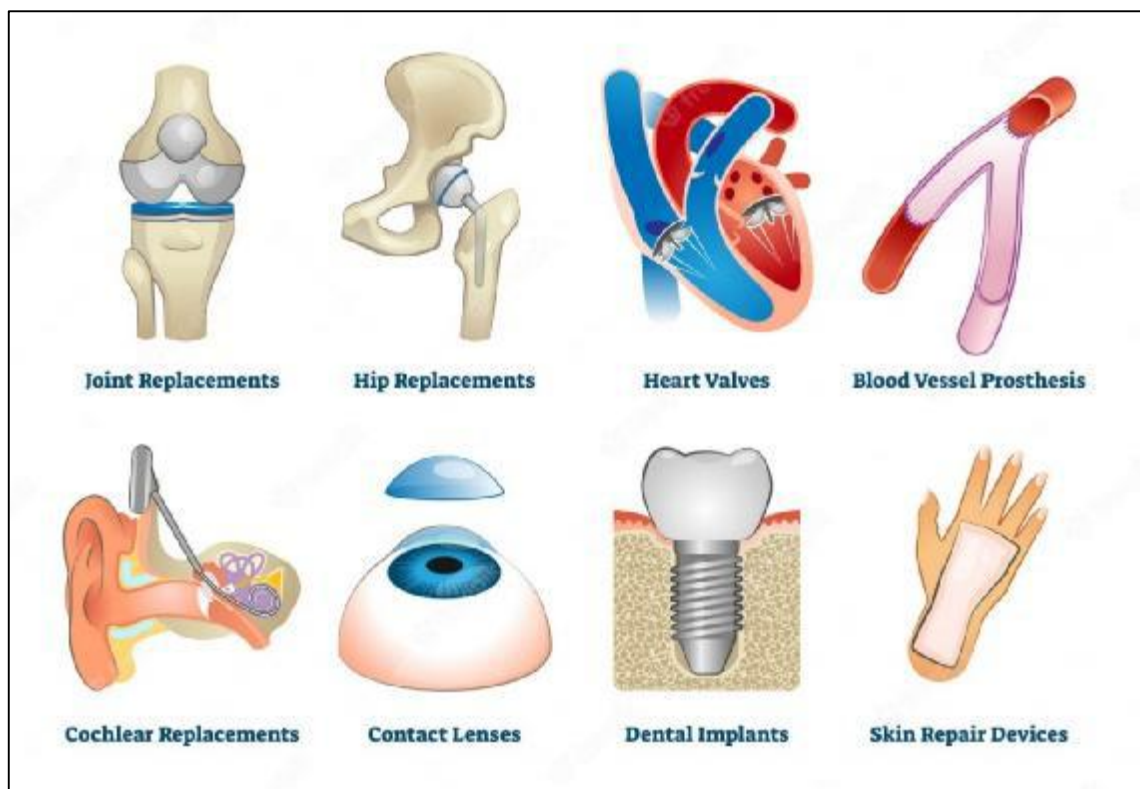


Figura 1.1. Aplicaciones de biomateriales.

Actualmente el uso de los biomateriales para realizar reconstrucciones de partes dañadas del cuerpo humano, para esto, dichos biomateriales deben de cumplir con ciertas condiciones

que aseguren una determinada duración. Muchos de estos materiales son diseñados, sintetizados y procesados afín de tener una aplicación en la vida cotidiana.



Figura 1.2. Prótesis dentales no permanentes fabricadas con metal, polímero y cerámica.

Por ejemplo, el sistema óseo posee diversas aplicaciones de estos biomateriales como los son reemplazo de articulaciones, cemento para huesos, reparación de defectos óseos, implantes dentales. Los biomateriales frecuentemente usados para estos reemplazos son las aleaciones de titanio, alúmina, polimetilmetacrilato e HAp.

1.3 HAp.

La HAp es una molécula cristalina esencialmente compuesta por fósforo y calcio de acuerdo con la fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Esta constituye cerca del 65 % de la fracción mineral del hueso ^[5]. La HAp está presente en dientes y huesos confiriéndoles su dureza característica, pertenece a la familia de las apatitas, presenta una estructura hexagonal, con el grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ (Figura 1.3). En la naturaleza las apatitas se pueden encontrar formando parte de las rocas sedimentarias y metamórficas. ^[5]

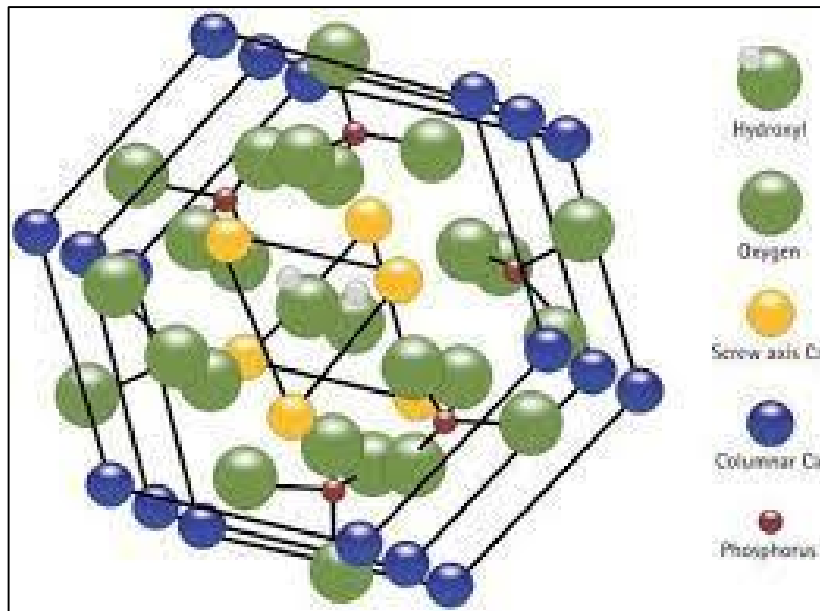


Figura 1.3. Estructura cristalina de la HAp.

Los principales componentes químicos de la HAp son el calcio y el fosfato. Sin embargo, la HAp natural contiene porcentajes mínimos de sodio, cloro, carbonatos y magnesio, los cuales juegan un papel fundamental en la función remodeladora del hueso ^[6]. Por esta razón, no se le considera una apatita pura.

Las HAp sintéticas, que se obtienen a partir de fosfatos dicálcicos y tricálcicos a través de un proceso de síntesis.

La creciente necesidad de materiales porosos, explican la cantidad de esfuerzos destinados a la preparación, caracterización y el estudio de la HAp bajo diferentes condiciones fisicoquímicas, clínicas y sobre diferentes tipos de sustratos ^[7].

El polvo de HAp ha sido utilizado en cirugías desde el año 1920 con el objetivo de promover la consolidación del hueso en aplicaciones ortopédicas, dentales y maxilofaciales. Entre la familia de los fosfatos cálcicos, sólo la HAp y el fosfato dibásico cálcico (DCP) son químicamente estables a la temperatura y el pH fisiológico (37 °C y un pH alrededor de 7).

El fosfato tricálcico (β -TCP) muestra una estabilidad química a altas temperaturas, pero se transforma en HAp a la temperatura del cuerpo humano en contacto con agua ^[7]. La HAp difiere de la apatita biológica en su estequiometría, composición química y cristalinidad, así como otras propiedades físicas, químicas y mecánicas. La ocurrencia de sustituciones por carbonato tipo A y B es muy frecuente en la HAp, alterando su estructura y propiedades. Cuando las sustituciones se llevan a cabo, la HAp es comúnmente conocida como HAp carbonatada (CHAp). La estabilidad térmica de la HAp es cercana a los 1000°C. La incorporación de grupos carbonato en la estructura de la HAp provoca un aumento en su reactividad, permitiendo una rápida disolución en medios ácidos y una menor estabilidad térmica, levemente superior a los 500 °C. Esta sustitución es considerada una manera potencial de incrementar la similitud de este material con respecto a la apatita biológica incrementando su bioactividad y biocompatibilidad ^[8].

La HAp puede ser utilizada en forma de polvo, bloques porosos o gránulos para rellenar los defectos óseos o espacios que se pueden generar cuando grandes secciones de hueso han sido removidas, como por ejemplo en cáncer óseo o reconstrucciones maxilofaciales (figura 1.4).

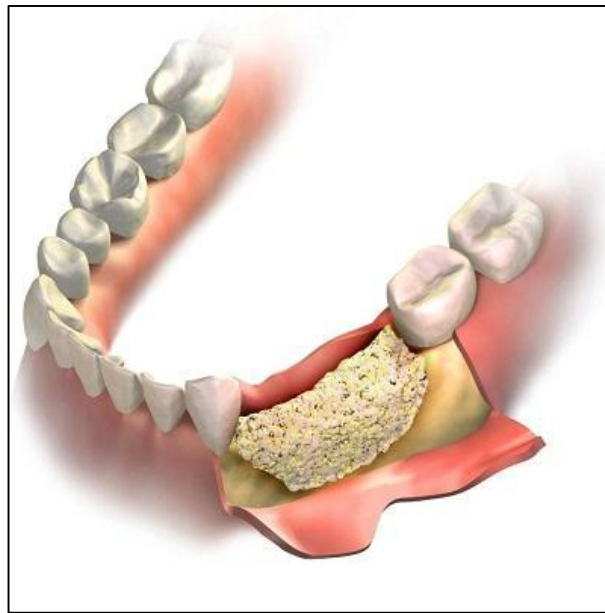


Figura 1.4. Reconstrucción maxilofacial en forma de bloques porosos.

1.4 Síntesis de HAp.

Existen diferentes protocolos para sintetizar HAp, métodos como síntesis en estado sólido a altas temperaturas, hidrotermales, crecimientos a partir de cubiertas de sales, crecimiento en gel, hidrólisis de fosfato de calcio, pirólisis, secado en frío, secado en calor, y deposición electroquímica ^[9]. Reacciones en estado sólido a altas temperaturas han sido utilizadas para mejorar el procesamiento de polvos de cerámica y el estudio de fase. Estos métodos por calor involucran la precipitación desde soluciones acuosas, reacciones ácido-base, hidrólisis, etc. En los métodos hidrotermales, la condición para la síntesis consiste en la aplicación de alta temperatura y presión a soluciones acuosas para inducir la precipitación de apatitas cristalizadas. El crecimiento en gel es inducido en un sistema acuoso que contiene iones Ca^{2+} y PO_4 a una temperatura y pH cercana al fisiológico ^[7].

Varios estudios han propuesto la utilización de la cáscara de huevo como fuente de calcio en la preparación de HAp ^[7,8,9]. El uso de este residuo industrial representa una potencial disminución en los costos de manufactura de biomateriales con la ventaja adicional del reciclaje (figura 1.5), ayudando a la reducción de contaminación por residuos ^[7].



Figura 1.5. Residuo biológico: cáscara de huevo.

Químicamente, las cáscaras de huevo están formadas por carbonato de calcio (94%), carbonato de magnesio (1%), fosfato de calcio (1%), trazas de otros minerales y aproximadamente un 4% de materia orgánica y pigmentos ^[10].

El estudio de Rivera-Muñoz et al, reporta la síntesis de HAp siendo el precursor la cáscara de huevo, mediante la transformación del CaCO_3 en óxido de calcio (CaO) que es sometido a una reacción con hidrógeno fosfato de calcio (CaHPO_4) a 1100 °C utilizando gradientes de temperatura. En este estudio los productos obtenidos fueron HAp, Whitlockita y CaO , cuyas concentraciones eran muy dependientes de la gradiente de temperatura empleada y cuya porosidad estaba presente, pero era insuficiente para permitir osteoconducción. La desventaja de este método es la producción por medio de muy altas temperaturas, lo que incrementa los costos considerablemente en la generación de biomateriales, así como la síntesis de otros productos distintos a HAp ^[7].

Prabakaran et al., por su parte, sintetizaron HAp mediante la aplicación de una solución 0,6 M de ácido ortofosfórico (H_3PO_4) a una solución acuosa de polvo de cáscara de huevo manteniendo una relación Ca:P de 1,67 para luego calcinar el precipitado a temperaturas superiores a 900°C por dos horas. La relación estequiométrica de Ca:P de 1,67 es la indicada para la formación de HAp pura. Los resultados fueron exitosos, pero el procesamiento calórico eliminó la mayor cantidad de iones CO_3^{2-} propios de las apatitas carbonatadas, haciendo la biocerámica menos biocompatible ^[9].

Un especial interés se ha puesto a la generación de apatitas precipitadas en soluciones acuosas debido a la natural sustitución de tipo B por carbonato. Cuando la HAp es precipitada cerca de los 37-60 °C está pobremente cristalizada y se asemeja más a las apatitas naturales que a las apatitas sintéticas preparadas a 900-1000 °C, debido a que los precipitados con bajo contenido de carbonato tienden a generar cristales en forma de espigas. Acevedo-Dávila et al., a diferencia de los otros estudios, buscó sintetizar CHAp a partir de la cáscara de huevo utilizando 3 métodos químicos a baja temperatura. En el método 1 se utilizó una solución de H_3PO_4 sobre el polvo de CaCO_3 mientras que los dos métodos restantes involucraron la generación previa de acetato de calcio ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) con la aplicación de ácido acético ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$) para posteriormente aplicar soluciones acuosas de dodecahidrato fosfato de sodio tribásico ($\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) para el método 2 y una solución

de fosfato de amonio dibásico $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$ en el método 3. En los tres casos se obtuvieron partículas finas de CHAp más una solución residual acuosa.

En todos los casos, la solución fue estimada para una relación molar de Ca:P de 1,67 y llevada a cabo a temperatura ambiente.

La caracterización demostró que el contenido de carbonato era mayor en el método 1, seguido del método 2 y 3 en comparación con un hueso bovino, por lo que la síntesis a través del método 1 produce un material más parecido al hueso, en términos de carbonato. Esto se debe principalmente a la alta afinidad que posee la solución de H_3PO_4 de captar moléculas de CO_2 ambientales. Pero no basta solamente con producir CHAp si ésta posee poca porosidad. Para introducir porosidad a una cerámica se han desarrollado varios métodos, como la utilización de una sal soluble que deja poros al ser removida con agua y que usualmente genera porosidad no conectada o que están conectados por pequeños canales de escaso diámetro que no permiten la osteoconducción; o la incorporación de un polímero orgánico que se elimina mediante sinterización, creando un sistema poroso interconectado, sin embargo, requiere de un tratamiento de muy altas temperaturas, aumentando los costos y cambiando la cristalinidad de la HAp, lo que conlleva a una baja tasa de biodegradación.

Diversos métodos se han reportado, como la impregnación de esponjas de celulosa con HAp, seguidos por calcinaciones a $1250\text{-}1280^\circ\text{C}$, o a partir de mezclas de HAp con polvo de polivinilbutirato o metilcelulosa seguidas de sinterizaciones a 1350°C .

Tadic et al., desarrollaron un método que consiste en la mezcla de cristales de sal y fibras de polímeros solubles en agua polivinilalcohol (PVA) con fosfato de calcio, seguidos por la aplicación de presión fría isoestática. Como estos porógenos son fácilmente solubles en agua pueden ser removidos sin necesidad de aplicar calor. La aplicación de sal aumenta el tamaño de poros, y la aplicación de PVA genera la conectividad, para poseer una adecuada conectividad se debe incrementar la cantidad de sal y de fibras de PVA lo que va en desmedro de las propiedades mecánicas de la cerámica. La estabilidad mecánica disminuye al aumentar la porosidad, disminuyendo considerablemente entre $1/10$ a $1/20$ su fuerza compresiva, lo que favorece la propagación de fracturas ^[11]. Es necesario, por lo tanto, conseguir porosidad interconectada sin recurrir al uso de sales que reduce la resistencia mecánica de la biocerámica.

1.5 Aplicaciones de la HAp.

La HAp es un cristal biocompatible que ha incursionado en la biomedicina como restaurador. En las últimas décadas la HAp ha sido un biomaterial de gran interés para los investigadores debido a su gran biocompatibilidad tanto para los humanos como para los animales.

Las principales aplicaciones de este biomaterial en humanos son en reconstrucciones maxilofaciales, implantes dentales, preservación del reborde alveolar, reconstrucción ósea, artrodesis, entre otras. Con respecto a las aplicaciones en animales, estas dieron inicio con caninos y felinos que presentaban alguna fractura. La HAp funcionaba de forma de recubrimiento en los huesos fracturados para posteriormente reforzar dicho recubrimiento con metales si así lo requería. ^[12]



Figura 1.6. Prototipos bioimplantes de HAp para tejidos dentales y óseos.

Otra área de aplicación de la HAp es en ortopedia. Se han probado de igual forma, precursores como los fosfatos y carbonatos de calcio sobre todo en la práctica odontológica.

Las investigaciones del esmalte dental humano han dado luz al conocimiento de la estructura, origen y función. Con el diseño de técnicas para microscopía electrónica los

avances han ido más allá de la clásica descripción de forma de cerradura compactada en un arreglo hexagonal.

Sin importar el origen de la HAp, previamente se debe de realizar un análisis de biocompatibilidad ya que no puede ser utilizado en todo tipo de restauración, ni en las diferentes edades, debido a los cambios que genera la respuesta fisiológica ante la dinámica de respuesta de los diferentes pacientes. ^[13]

Cabe mencionar que existen algunos factores importantes a considerar con respecto a las propiedades físicas y químicas de la HAp, tales como su resistencia, dureza, porosidad, disolución, adhesividad, entre otras.

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2. Metodología.

2.1 Reactivos.

Para la síntesis de la HAp se emplearon los siguientes reactivos que se muestran en la tabla 2.1:

Tabla 2.1. Reactivos empleados para la síntesis de la HAp.

REACTIVO	PUREZA	MARCA
Ácido nítrico (HNO_3).	70%	Fermont
Fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	98%	Fermont
Hidróxido de amonio (NH_4OH).	30%	Fermont

La síntesis de la HAp fue realizada bajo el fundamento de la metodología establecida por Camacho y col.,2018, realizando algunas variantes^[14], llevándose a cabo mediante una serie de pasos que a continuación se describen:

2.2 Obtención del carbonato de calcio a partir de la cáscara de huevo.

Se realizó la recolección de cáscaras de huevo para ser utilizado como materia prima, posteriormente se lavó con agua destilada hasta la eliminación de todas las impurezas, como lo fue el retiro la película interna. Posteriormente se llevó el material a un proceso de secado en la estufa red LINE a una temperatura de 60°C por un periodo de 24h para eliminar la humedad existente. Al paso de las 24 horas, se retiró la cáscara seca para proceder a molerla (figura 2.1.) en un molino BioloMix multifuncional GRINDER a velocidad 3500rpm por un periodo de 3 minutos.



Figura 2.1. Cáscaras de huevo antes de ser pulverizadas.

Una vez obtenido el polvo de la cáscara de huevo (figura 2.2.), se procede a realizar un proceso de tamizado para obtener un tamaño de partícula de $53\mu\text{m}$, para este paso se utilizó una serie de mallas ASTM de las cuales se seleccionó la malla No. 270, y así se obtener el tamaño deseado.



Figura 2.2. Polvo de cáscara de huevo en tamices.

2.3 Síntesis de HAp por exceso de ácido nítrico.

Para el proceso de síntesis de la HAp realizaron tres experimentaciones, en donde se utilizaron dos niveles de concentración de ácido nítrico al 5 y 15% respectivamente, y una tercera experimentación realizada con exceso de fosfato de amonio. Dichas muestras se realizaron con un peso estequiométrico entre las partículas de la cáscara de huevo molida y el fosfato de amonio.

Experimentación 1- ácido nítrico al 5% v/v.

Para la síntesis de la HAp con la primera variante se preparó una solución de ácido nítrico al 5% v/v, la cual se colocó en una bureta graduada montándola en un soporte universal, esta solución se adicionará gota a gota a un vaso de precipitado el cual estaba sobre una parrilla de calentamiento y agitación marca IKA. En el vaso de precipitado de un litro se adicionaron 12g. de partículas de cáscara en 100ml de agua destilada manteniendo agitación constante hasta tener una mezcla homogénea. Por otro lado, se preparó una solución de fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$), preparada con 5.03g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en 10 ml de agua destilada (solución 4M). En consecuencia, la solución 4M de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ se adicionó a la solución de las partículas de cáscara de huevo y se mantuvieron a una temperatura y agitación de 40°C y 200rpm respectivamente. En este sistema se adicionó gota a gota el ácido nítrico observándose un efecto de efervescencia referido a la liberación de CO_2 , es importante mencionar que la adición de HNO_3 al 5% v/v se detuvo hasta no percibir el efecto antes mencionado. Esto se fundamentó con la adición de 25.9ml. de la solución de HNO_3 al 5% v/v, Nota: en la síntesis se nota una efervescencia como una nube blanca con pequeñas manchas de color amarillo, esta reacción concluye con un pH de 0.5. (figura 2.3).

Es importante considerar que con base a la referencia de Camacho y col.^[14] para obtener la estructura de la HAp se recomienda tener un pH de 9, para lograr esto se adicionó hidróxido de amonio hasta alcanzar dicho valor.



Figura 2.3. Proceso de síntesis de la HAp.

Experimentación 2- ácido nítrico al 15%.

Para la variante 2 de la matriz experimental para la obtención de la HAp, se desarrolló de manera similar a los pasos redactados en la experimentación 1, con la diferencia que la solución de ácido nítrico se realizó al 15% v/v (HNO_3 al 5% v/v).

Experimentación 3- exceso de fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$).

Para este nivel de la matriz experimental se realizó adicionando a un matraz de precipitado de un litro 12g de partículas de cáscara de huevo con 100ml de agua destilada, por otro lado, se preparó una solución con 10.03g de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en 10ml de agua destilada solución 8M, la cual se adiciono en su totalidad en el vaso de precipitado antes mencionado, dicha solución se agito hasta la obtención de una solución homogénea. El reactor se colocó en una parrilla de calentamiento marca IKA a una temperatura y agitación de 40°C y 200rpm respectivamente y a este sistema se le adicionó gota a gota una solución de ácido nítrico al 5% v/v por medio de una bureta graduada como se muestra en la figura 2.4., donde se observa la emisión de CO_2 por medio de un fenómeno de efervescencia hasta ya no obsérvala

se define el término de la reacción para la obtención de la HAp esto se definió con un volumen de 11.24ml de la solución de HNO_3 al 15% v/v. Posteriormente se establece que el pH dicha solución alcance un valor de 9, lo cual se definió con un volumen de 20ml de hidróxido de amonio.

Cada una de las síntesis antes mencionadas se dejaron reposar un periodo de 24h para la obtención de un precipitado (figura 2.4.) que posteriormente fue filtrado con una bomba usando agua destilada (figura 2.5.). Las muestras obtenidas pasaron a un proceso de secado colocándolas en la estufa modelo red LINDER a una temperatura de 60°C por un periodo de 24 h.



Figura 2.4. Muestra en reposo después de la síntesis.

Al terminar el proceso de filtración, las muestras fueron colocadas dentro de la estufa modelo red LINDER a una temperatura de 60°C por un periodo de 24 h para eliminar la humedad existente. En la figura 2.6., se muestran las tres experimentaciones antes de ser llevadas al tratamiento térmico.

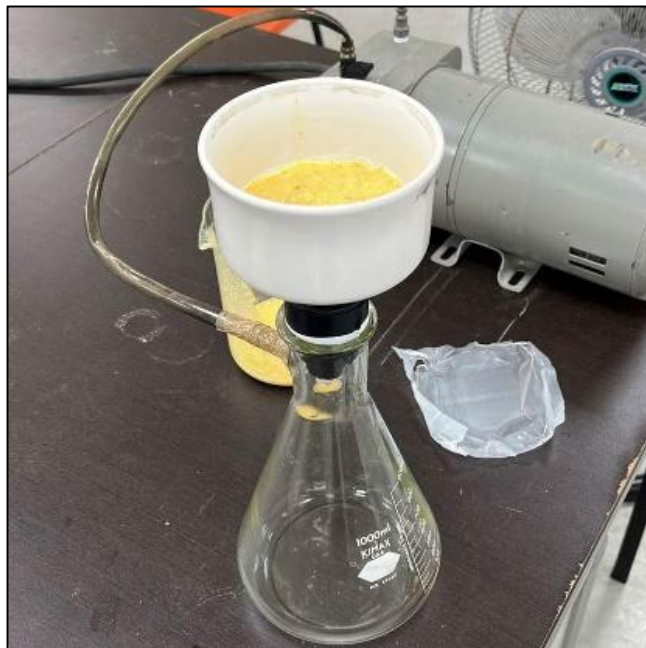


Figura 2.5. Filtración de la muestra.



Figura 2.6. Muestras de experimentación 1 (izquierda), 2 (centro) y 3 (derecha) después del tratamiento químico.

Finalmente, como el material en todo el proceso de síntesis se aglomeró se procedió a reducir su tamaño con un mortero de ágata (figura 2.7) hasta obtener un polvo, es material fue colocado en canoas de cuarzo (figura 2.8.) para ser llevadas al horno OTF-1200X para su proceso de sinterización.



Figura 2.7. Muestra antes del tratamiento térmico.



Figura 2.8. Muestras en las canoas de cuarzo.

El horno calentamiento es acondicionado con varias temperaturas para el proceso de calcinación, primeramente, se establece un flujo de gas inerte (nitrógeno) a 10 ml/min, y se establece una rampa de calentamiento como se muestra en la Tabla 2.2.

Tabla 2.2. Rampa de calentamiento en horno tubular.

Temperatura °C	Tiempo (min)
450	170
450	30
800	140
800	240

Al terminar el proceso isotérmico, las muestras obtenidas (figura 2.9.) se almacenaron para utilizarlas en caracterizaciones posteriormente.



Figura 2.9. Muestra después del tratamiento térmico (HAp).

2.4 Técnicas de caracterización.

De acuerdo a lo planeado, al obtener la HAp, se realizaron análisis para corroborar la naturaleza del producto. Dichos análisis fueron llevados a cabo por medio de técnicas de

caracterización, en este caso Microscopía Óptica, Difracción de rayos X (DRX), Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Análisis termogravimétrico (TGA) y Dispersión de luz dinámica (DLS).

2.4.1 Microscopía óptica.

Esta técnica se utiliza para hacer visibles pequeñas estructuras y muestras al proporcionar una imagen ampliada de cómo interactúan con la luz visible, por ejemplo, su absorción, reflexión y dispersión. Esto es útil para comprender cómo se ve la muestra y de qué está hecha.

Existen varios tipos de microscopios, simples (tienen una sola lente) y compuestos (tienen lentes múltiples).



Figura 2.10. Microscopio óptico compuesto.

En un microscopio compuesto (figura 2.10.) la muestra se ilumina desde la parte inferior para observar la luz transmitida, o desde la parte superior para observar la luz reflejada. La luz de la muestra se recoge mediante un sistema óptico que consta de dos grupos de lentes principales: el objeto y el ocular, que en conjunto permiten aumentos mucho más altos que los de un microscopio simple. El objetivo recolecta luz de la muestra y generalmente tienen un aumento de 40-100 x. ^[15]



Figura 2.11. Microscopio óptico analizando partículas de cáscara de huevo.

Por medio del microscopio óptico (figura 2.11) se analizaron las siguientes muestras:

- Polvo de cáscara de huevo.
- Experimentación 1 ácido nítrico 5%.
- Experimentación 2 ácido nítrico 15%.
- Experimentación 3 exceso de fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$).

2.4.2 Difracción de rayos X.

Esta técnica revela información estructural, tal como la composición química, la estructura cristalina, el tamaño de los cristales, la deformación y el espesor de las capas.

La información se obtiene al hacer incidir Rayos X monocromáticos a través de una muestra cristalina. Todos los aspectos de la difracción de Rayos X, como la longitud de onda incidente y el ángulo de dispersión, corresponden a la ley de Bragg.

Esta técnica se utiliza para analizar una amplia gama de materiales, desde polvos y sólidos hasta las películas delgadas y nanomateriales. ^[16]

Esta técnica no requiere una preparación compleja de la muestra solo se debe tener cuidado de que sea homogénea y pequeña en tamaño de partículas, para esta caracterización se utilizó un difractómetro de rayos X Siemens D-5000 con tubo de rayos X y ánodo de cobalto (Co K α 1,2 emission, $\lambda = 1,7903$ A modelo D8 ADVANCE Bruker AXS.

Por medio de un difractómetro D8 ADVANCE Bruker AXS (figura 2.12) se caracterizaron las siguientes muestras (figura 2.13):

- Polvo de cáscara de huevo sin tratamiento químico.
- Experimentación 1 ácido nítrico al 5%.
- Experimentación 2 ácido nítrico al 15%.
- Experimentación 3 exceso de fosfato de amonio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$).



Figura 2.12. Difractómetro D8 Brucker Advance

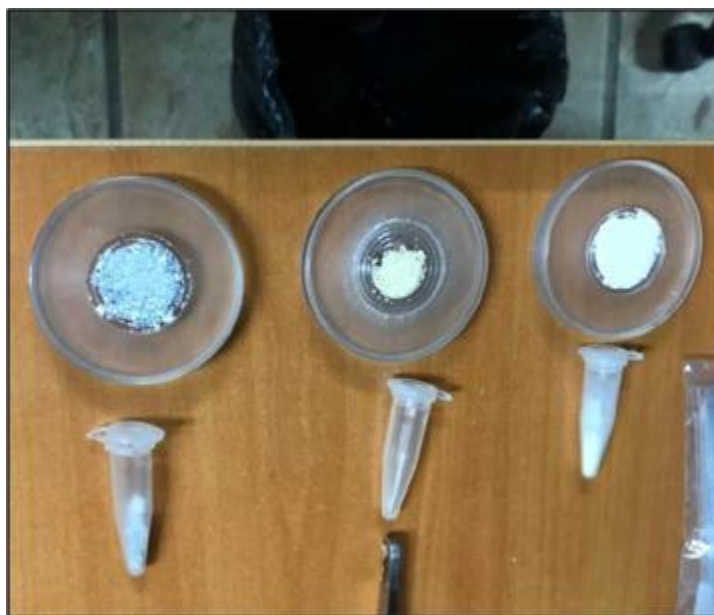


Figura 2.13. Muestras en los discos para analizar en el Difractómetro.

2.4.3 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier.

La espectroscopía infrarroja es una técnica que se utiliza para obtener información, proporcionando un espectro de reflexión de las bandas de los grupos funcionales de las sustancias inorgánicas y orgánicas, con lo que es posible realizar una identificación de los materiales. Esta técnica es posible por la interacción entre la luz infrarroja y la materia que se analiza.



Figura 2.14. Equipo FTIR.

El análisis de FTIR se realizó en un espectrofotómetro, el equipo de la imagen es un modelo Spectrum One marca Perkin Elmer, (figura 2.14). Inicialmente sería por medio de pastillas KBr con cada una de las muestras respectivamente. Al finalizar el análisis de las pastillas, el operador del equipo recomendó realizar el análisis directamente con 2mg de cada muestra con ayuda de un accesorio Reflectancia Total Atenuada (ATR) equipado con una placa de diamante en el rango de 4000 a 400 cm^{-1} .

Los datos obtenidos se muestran en el Capítulo III.

2.4.4 Análisis termogravimétrico.

El análisis termogravimétrico (TGA), es una técnica que mide la variación de masa de una muestra mientras se calienta o se mantiene isotérmicamente en una atmósfera definida.

Se utiliza principalmente para el análisis cuantitativo de productos. Las mediciones termogravimétricas se registran en forma de una curva, dicha curva muestra los pasos de pérdida de masa relacionados con la pérdida de componentes volátiles (humedad, solventes), descomposición de la muestra, combustión de la sustancia y residuos finales (ceniza).

Este método permite estudiar la descomposición de productos y materiales y establecer conclusiones sobre sus componentes individuales.

Los análisis termogravimétricos se realizaron por medio de un analizador simultaneo TGA/DSC marca TA instruments modelo STD Q600 (figura 2.15), utilizando porta muestras reutilizables de alúmina con 10-15 mg de muestra, en una atmósfera controlada de Nitrógeno con un flujo de 100 ml/min, y un rango de temperaturas de temperatura ambiente a 800°C, con una velocidad de calentamiento de 10°C/min.



Figura 2.15. Equipo TGA-DSC.

2.4.5 Dispersión de luz dinámica.

La Dispersión de luz dinámica (DLS) es una técnica basada en la dispersión de luz, utilizada para caracterizar partículas de hasta un mínimo de 1 nanómetro de diámetro.

Este método se basa en un rayo láser que ilumina la muestra y un fotodetector que detecta las fluctuaciones de la luz dispersada en un ángulo de dispersión conocido. Las partículas dispersan la luz, dando como resultado información sobre su movimiento.

El primer paso para llevar a cabo esta técnica, es analizar el índice de absorbancia. Tomando en cuenta el tamaño de partícula de 10-100 nm, se procedió a pesar 5mg de cada una de las muestras. Posteriormente se depositaron una a la vez en un vaso de precipitado de 100ml, este contenía 50 ml de agua destilada, para tener un total de 4 muestras.

Para obtener mejores resultados, el vaso de precipitado con la muestra se llevó a una tina de ultrasonido para homogenizar durante 3 minutos. Al pasar los 3 minutos, con una pipeta de 1ml se tomó una muestra del centro del vaso de precipitado para colocar en el lente del equipo de absorbancia (figura 2.16).



Figura 2.16. Análisis de índice de absorbancia.

Al finalizar el análisis del índice de absorbancia se procedió a realizar la medición del tamaño de partícula. Para la técnica DLS se usó el equipo Litesizer 500 de la marca Anton Paar (figura 2.17), por medio de una celda de cuarzo de 1ml se logró obtener el tamaño de partícula de cada muestra respectivamente.



Figura 2.17. Analizador del tamaño de partícula.

CAPÍTULO III

RESULTADOS

3. Discusión de resultados.

3.1 Microscopía óptica.

En la síntesis de la HAp se realizaron varias caracterizaciones dentro de las cuales una de ellas fue la morfología de las partículas esta se realizó por medio de microscopia óptica con un microscopio óptico ZEISS Axio Lab. A1.

El desarrollo de esta prueba consistió en la colocación de las partículas tanto de la cáscara de huevo como de las partículas de la HAp en un portaobjetos el cual se colocó en la platina del microscopio y se ajustó la intensidad de la luz con el condensador, ajustando la imagen con los tornillos macro y micrométrico hasta la obtención de una imagen con una buena resolución, esto se repitió con las ópticas de 5, 10 y 40x de aumento.

En la tabla 3.1-a se muestra el polvo de la cáscara de huevo con un aumento de 10x sin ningún tratamiento químico ni tratamiento térmico, este con el propósito de analizar visualmente la morfología de las partículas. Se pueden apreciar una distribución homogénea del tamaño de partículas, con ciertas aglomeraciones. Cabe mencionar que se descartaron las imágenes del aumento de 5x y 40x ya que solo se eligió el lente de 10x por proporcionar la imagen con una mejor definición.

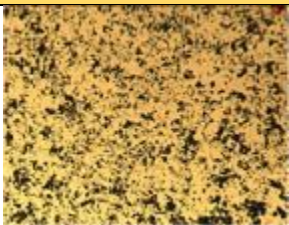
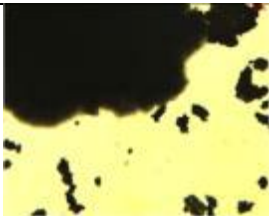
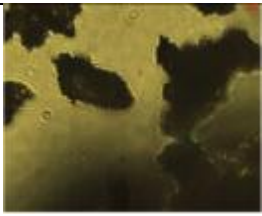
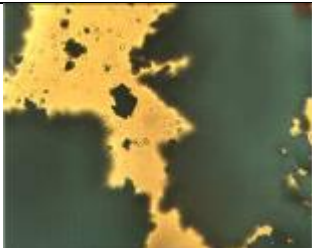
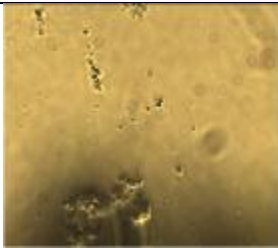
En la tabla 3.1-b se utilizó el lente de aumento 5x para analizar los resultados obtenidos de la HAp sintetizada en la *experimentación 1*, la HAp fue obtenida con una concentración del ácido nítrico al 5% v/v. Las partículas obtenidas de la HAp presentan aglomeraciones, esto se debió a que las partículas de mayor tamaño no fueron dispersadas al colocarlas en el lente posiblemente por estática presente entre ellas. Las imágenes del aumento 10x y 40x no se tomaron en cuenta para discutir los resultados ya que no eran relevantes y solo se consideró el aumento de 5x debido a una mejor visualización.

En la tabla 3.1-c se determina la morfología de las partículas con tres diferentes lentes de aumento 5x, 10x y 40x respectivamente, donde se logró visualizar las partículas de la HAp con la variante de la reacción adición de ácido nítrico al 15% v/v. En la figura 3.1-c con el aumento de 5x, las partículas que se aprecian una distribución uniforme del tamaño de partículas, sin embargo, al aumentar el lente a 10x de aumento se aprecia que las partículas

presentan aglomeraciones entre ellas y con el lente 40x se presenta una morfología de la zona de análisis con tamaño de partículas similares.

En la tabla 3.1-d, se muestran las partículas de la HAp con la variante de exceso de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Se presenta una morfología de las partículas de la HAp con un aumento de tamaño mayor en comparación con la experimentación 1 y 2. Además, es importante mencionar que las partículas de la HAp presentan una coloración de amarillo más intenso en comparación a las otras dos síntesis y esto es debido al exceso de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

Tabla 3.1 Microscopias Ópticas de la matriz experimental para la síntesis de la HAp

Aumentos Muestras	5x	10x	40x
Cáscara de huevo (a)			
Experimentación 1 Síntesis de HAp (HNO_3 al 5%v/v) (b)			
Experimentación 2 Síntesis de HAp (HNO_3 al 15%v/v) (c)			
Experimentación 3 Síntesis de HAp ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ en exceso) (d)			

3.2 Difracción de rayos X (DRX).

La técnica DRX nos ayuda a la identificación de los elementos característicos obtenidos en la síntesis de la HAp en cada de las experimentaciones propuestas.

Se obtuvieron los patrones de difracción de las muestras obtenidas en las diferentes síntesis 1, 2 y 3. La metodología de DRX se utiliza para determinar las propiedades estructurales de las muestras sintetizadas con las diferentes variantes propuestas en la matriz experimental en la figura 3.2. se muestra el patrón de difracción de la cáscara de huevo identificado como CÁSCARA, la muestra de cáscara con tratamiento químico identificada con las siglas TQ y la muestra de cáscara con tratamiento químico y térmico identificada con las siglas TQT.

Se puede visualizar en el patrón de difracción que el patrón característico de la muestra CÁSCARA el cual es propio de la calcita, donde el pico representativo se encuentra ubicado a $2\theta=29.4$, cuando se realiza el tratamiento térmico TQ la intensidad de ese pico antes mencionado disminuye en intensidad lo que puede traducirse en los cambios del tamaño del cristalito con respecto al consumo de la calcita.

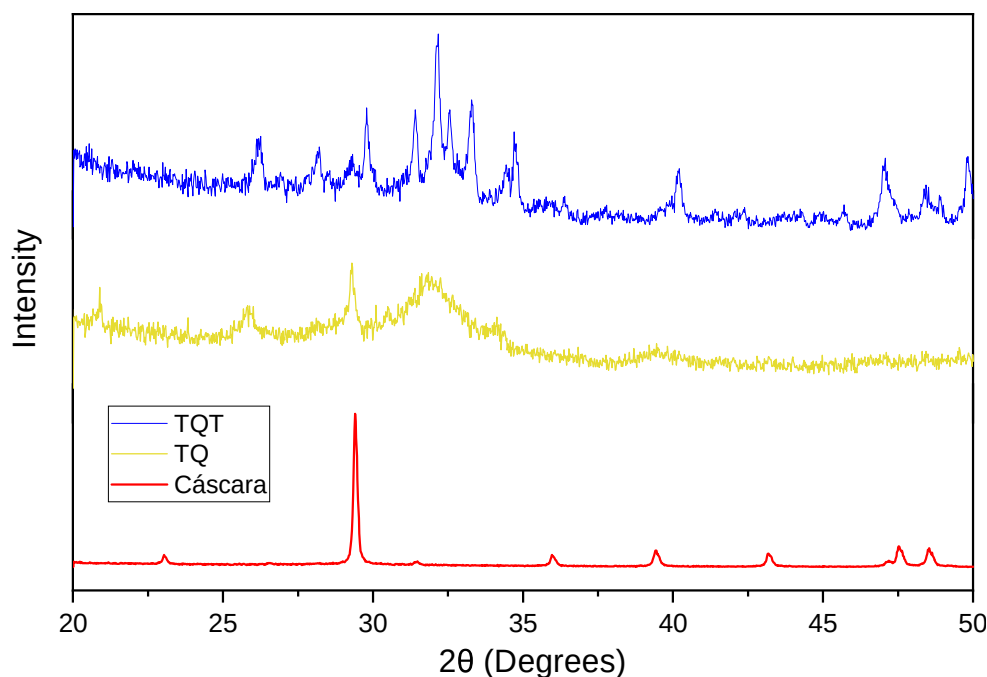


Figura 3.2. Patrón de difracción del polvo de cáscara de huevo e HAp 5%.

Para la síntesis de la HAp con el Fosfato de Amonio, se identifica un espectro identificado como TQ donde se observa una señal que se asocia con zonas amorfas en el material ubicado en la región $2\theta=32.2-34.8$, posteriormente al realizar el tratamiento térmico para la muestra identificada como TQT se presentan una serie de señales en la región 2θ en 33, 34, 40, 48, 50 picos característicos correspondientes a la estructura de la HAp, es importante hacer mención que la intensidad del pico en la región 2θ en 30-35 es derivada de la conformación del tamaño del cristalito. Los picos pequeños y anchos significan un cristalito más pequeño.

En el patrón de difracción de la figura 3.3. se muestran las experimentaciones de ácido nítrico y $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, se presentan una serie de señales en la región 2θ en 25, 30, 32, 33, 38, 40, 44 y 48 picos característicos correspondientes a la estructura de la HAp. Esto confirma que en ambas experimentaciones está presente la HAp. Estos valores son muy semejantes a los valores de la HAp obtenida mediante de dos métodos de síntesis a partir de precursores químicos de calcio y fósforo (figura 3.4), donde la serie de señales en la región 2θ en 25, 30, 32, 33, 40, 46, 48 y 50, sintetizados por Spadavecchia ^[22].

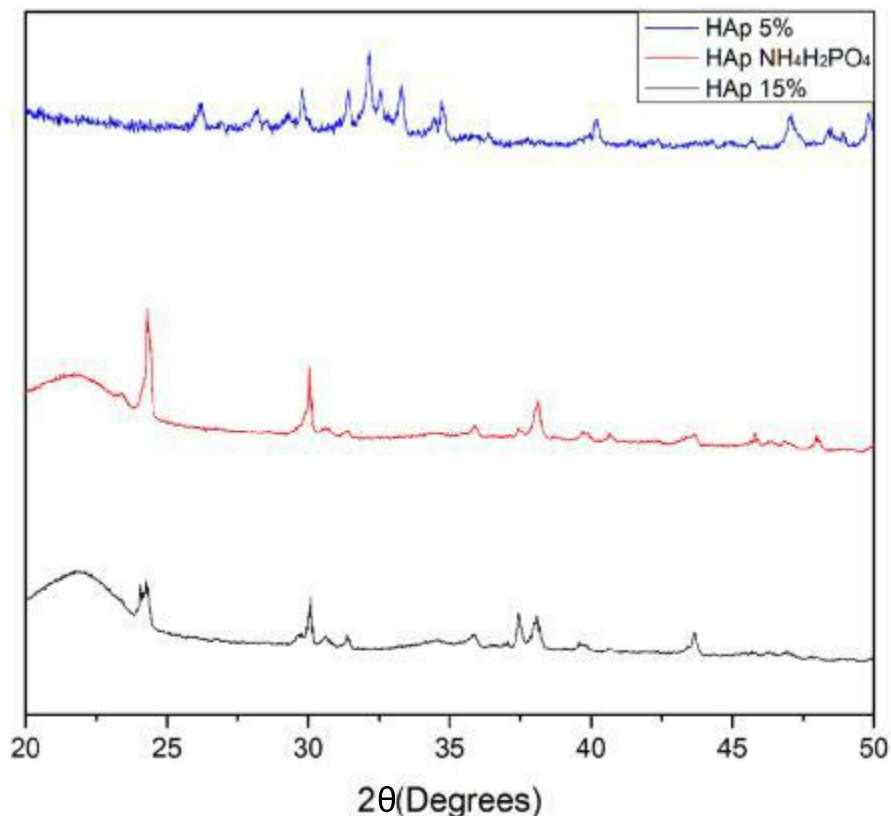


Figura 3.3. Patrón de difracción ácido nítrico 5%, 15% y exceso $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$.

Con respecto a esta referencia, los resultados obtenidos en nuestro trabajo, coinciden por lo que se puede concluir que el material obtenido es HAp.

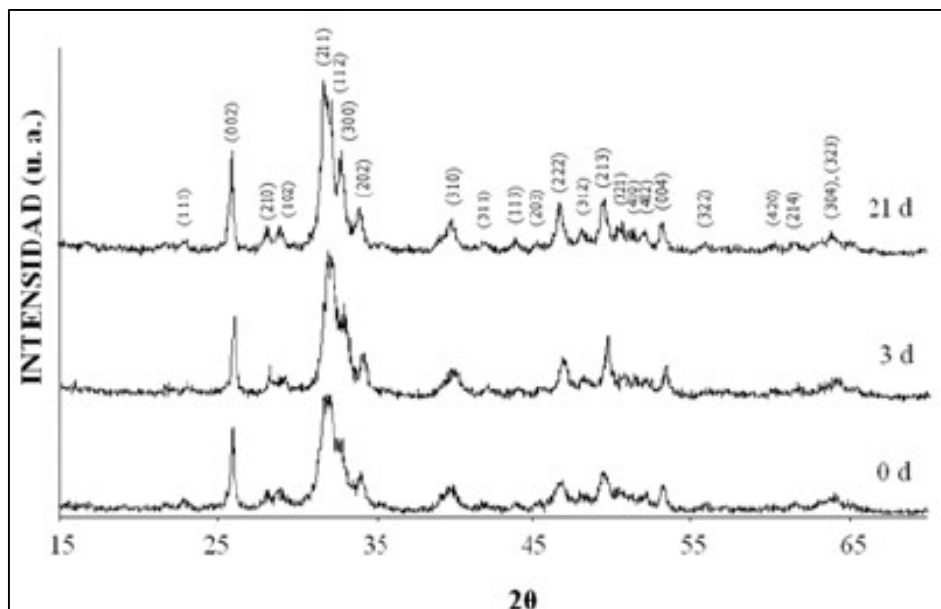


Figura 3.4. Patrón de difracción de polvos de HAp obtenidos, sintetizando y envejeciendo a 25°C por diferentes tiempos. ^[22]

3.3 Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).

La técnica de FTIR, consiste en hacer pasar un haz de luz infrarroja a través de una muestra y la salida de esta se mide la cantidad de luz que se absorbe a diferentes longitudes de onda.

La HAp es un compuesto que contiene enlaces covalentes y puente de hidrógeno, lo que la hace muy sensible a las frecuencias de vibración infrarroja. En la espectroscopia FTIR, la hidroxiapatita presenta una serie de bandas de absorción características, que se corresponden con los modos vibracionales de los enlaces químicos presentes en la muestra, los espectros IR son obtenidos del compuesto con las variantes señaladas en cada gráfico.

Algunas de estas bandas son: La banda de absorción de 3570 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento de los grupos OH^- en la HAp se aprecia muy ligeramente en la

experimentación “HAp 5%” en la figura 3.5. La banda de absorción de 1090 cm^{-1} corresponde a la vibración de estiramiento de los enlaces fosfato (PO_4) en la HAp. La banda de absorción de 960 cm^{-1} corresponde a la vibración de flexión del enlace fosfato (PO_4) en la hidroxiapatita, cabe señalar que todas las bandas aquí mencionadas se presentan en los espectros IR de las diferentes experimentaciones realizadas en este proyecto de investigación para la obtención de la HAp.

El análisis de estas bandas de absorción permite determinar la cantidad y la calidad de la HAp presente en una muestra, así como su grado de cristalinidad y su pureza. Además, la espectroscopia FTIR también permite detectar la presencia de otros compuestos tales como posibles contaminantes o impurezas.

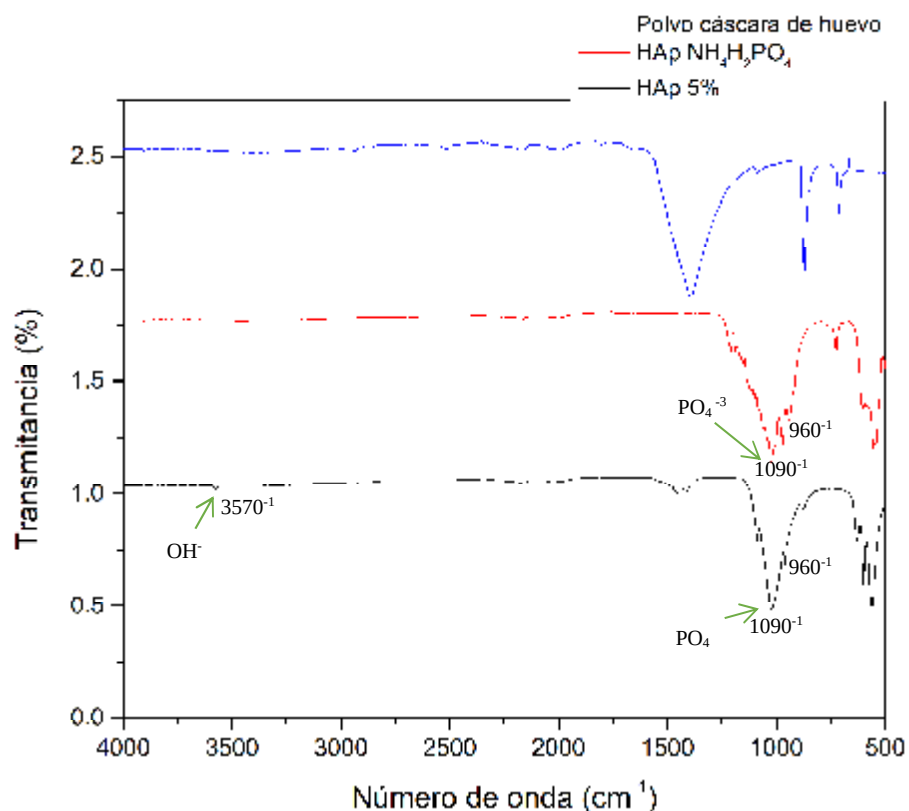


Figura 3.5. Espectro IR de la HAp y polvo de cáscara de huevo.

Moreno y colaboradores ^[23] realizaron una síntesis y caracterización de nanopartículas de HAp carbonatada por el método de calcinación a 800°C . La formación de la HAp fue analizada por un análisis de espectro FTIR. La absorbancia del espectro FTIR fue obtenida en la región de $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$.

Los resultados muestran los picos de absorción característicos de los grupos PO_4^{-3} y OH^{-1} presentes en la estructura de la HAp. Las bandas entre 1100 cm^{-1} y 650 cm^{-1} están relacionadas con las vibraciones del ión PO_4^{-3} y la banda a 3570 cm^{-1} es atribuida a las vibraciones del ión OH^{-1} . [23]

En comparación con la hidroxiapatita obtenida en esta investigación, el método de preparación hace la diferencia. No obstante, donde se encuentran las bandas de fosfato de calcio (HAp), se ubican en la misma región.

En la figura 3.6. se muestra el espectro IR que obtuvieron Moreno y colaboradores en la investigación, donde confirman los grupos funcionales pertenecientes de la HAp.

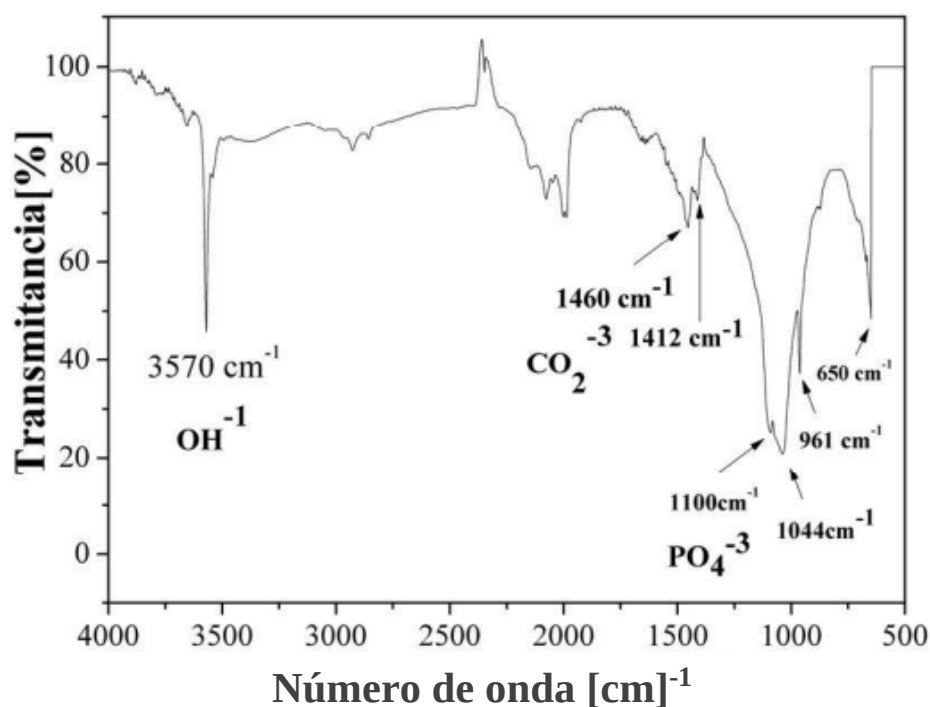


Figura 3.6. Espectro IR de la HAp carbonatada sintetizada por el método de precipitación y sintetizada a 800°C . [23]

3.4 Análisis termogravimétrico (TGA).

El análisis termogravimétrico tiene como finalidad dar a conocer el comportamiento térmico de las tres experimentaciones de la HAp y el polvo de la cáscara de huevo (figura 3.7). Este análisis se basa en la medición de la masa perdida de una muestra cuando ésta se somete a un aumento de temperatura.

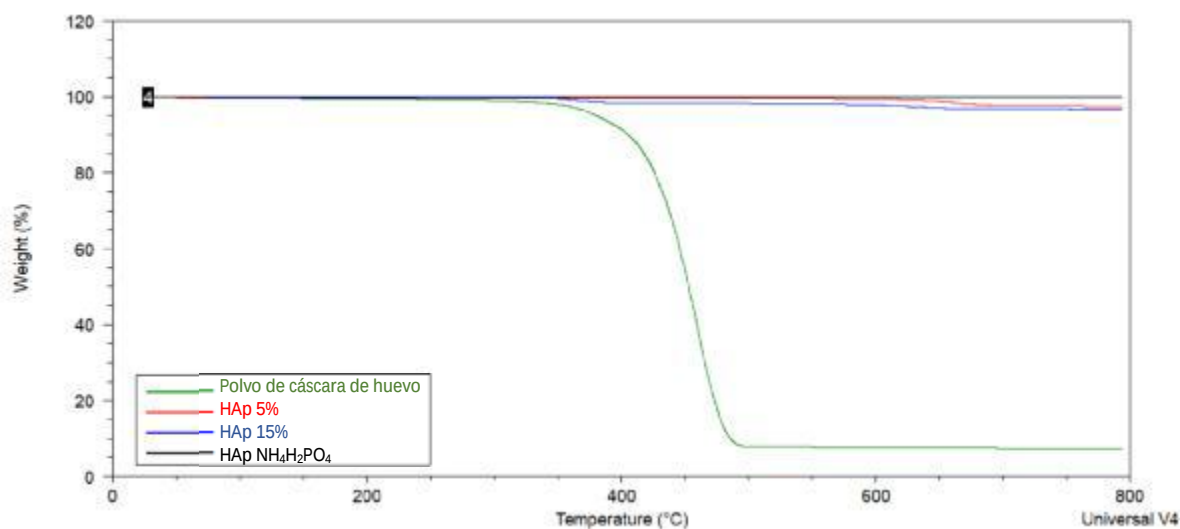


Figura 3.7. Termograma TGA de las tres experimentaciones de HAp y polvo de cáscara de huevo.

En la figura 3.8 se muestran los resultados obtenidos de la pérdida de peso proveniente de las tres experimentaciones:

- ácido nítrico 5%
- ácido nítrico 15%
- exceso NH₄H₂PO₄.

Al determinar la temperatura de inicio de degradación, la temperatura máxima de degradación y el residuo, estos datos son comparados con la curva termogravimétrica TG de la HAp (Figura 3.8).

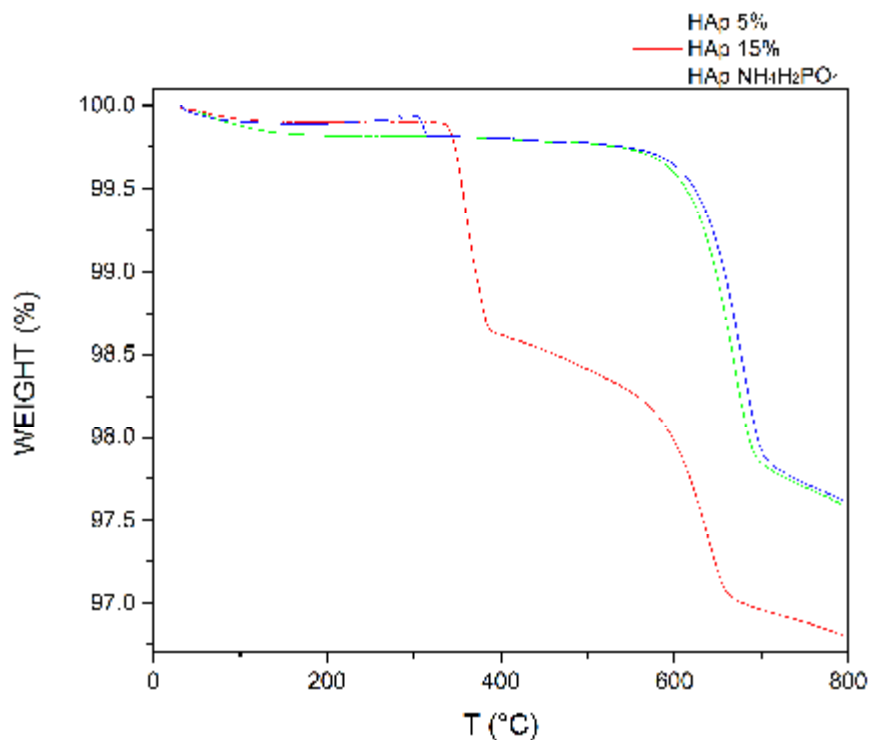


Figura 3.8. Termograma TGA de las tres experimentaciones de HAp.

Se observa en el termograma de TGA la presencia de una transición térmica en el intervalo de temperatura de 300°C a 480°C reporta Jillavenkatesca ^[24,25], esta transformación podría estar asociada con la formación de la HAp y el carbonato de calcio en forma de calcita (CaCO₃).

De igual forma, en los termogramas TGA ente los 600°C y 700°C se observa una transición térmica adicional, esto corresponde a la conversión del carbonato de calcio en óxido de calcio.

La temperatura de descomposición de la experimentación 1 (HAp 5%) identificó en los 560°C a 690°C, en la experimentación 2 (HAp 15%) la temperatura de descomposición comenzó antes de la temperatura anterior, comprende de los 340°C a 670°C y finalmente en la experimentación 3 (HAp NH₄H₂PO₄), comenzó la temperatura de degradación a 310°C hasta 710°C.

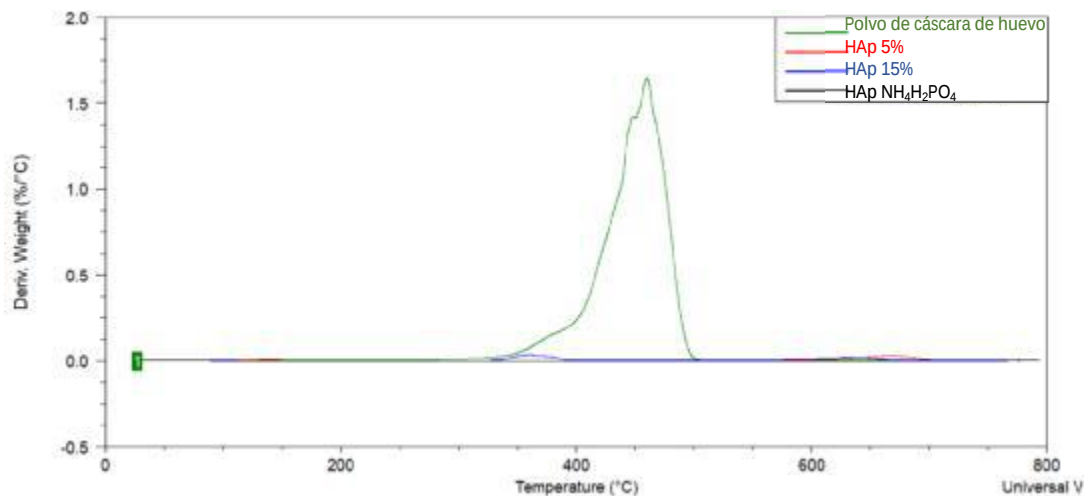


Figura 3.9. Termograma DTG de las tres experimentaciones de HAp y polvo de cáscara de huevo.

Debido a la Señal de derivada de peso con respecto a temperatura de la muestra polvo de cáscara de huevo en la figura 3.9. es de mayor escala en comparación con las demás muestras, se optó por realizar otro termograma DTG descartando al polvo de cáscara de huevo debido a que visualmente las señales de las experimentaciones de HAp no podían apreciarse.

En la figura 3.10. se muestra el termograma DTG de las tres experimentaciones de HAp para un mejor análisis de las señales

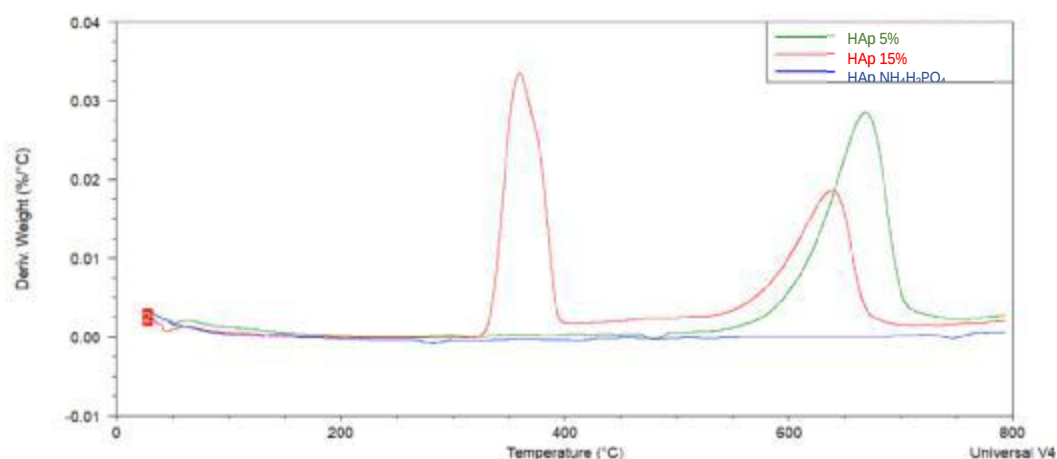


Figura 3.10 Termograma DTG de las tres experimentaciones de HAp.

En la tabla 3.2 se muestran los resultados de este análisis de la HAp al respecto de la temperatura de descomposición máxima correspondiente a cada experimentación.

Tabla 3.2. Resultados: temperaturas de descomposición máxima.

	Ácido nítrico 5%	Ácido nítrico 15%	Exceso $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$
Temperatura de descomposición máxima.	792°C	793°C	792°C

3.5 Dispersión de luz dinámica (DLS).

Este análisis fue de gran ayuda ya que se verificó el tamaño de partícula de la cáscara de huevo, experimentación 1, experimentación 2 y experimentación 3.

Los resultados obtenidos en la tabla 3.3 verifican que el tamaño de las muestras se encuentra dentro de la escala nanométrica.

Tabla 3.3 Resultados de prueba DLS para las HAp sintetizadas.

Resumen de resultados Prueba DLS					
Muestra	Diámetro Hidrodinámico (nm)	Polidespercidad (%)	Pico 1 (nm)	Pico 2 (nm)	Pico 3 (nm)
Cáscara de huevo	17653.2	26.6	3761.9	854.5	-----
HAp 5%	368.7	27.5	2166.9	573.0	150.1
HAp 15%	954.9	32.2	946.7	123.1	----
HAp $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	885.7	29.5	5509.5	864.6	148.0

Los valores obtenidos en las muestras de las experimentaciones 1-3, muestran tamaños de partículas entre 368 y 954 nm, la HAp que se obtuvo si está dentro de la escala nanométrica, Guillen ^[26] obtuvo HAp con un tamaño entre 40 y 1967 nm, por medio del método de precipitación en medio húmedo con H_3PO_4 , obteniendo una suspensión ligeramente inestable y con tendencia a agregación.

Hernández ^[27] realizó una síntesis hidrotérmica a partir de $Ca(OH)_2$ y H_3PO_4 para obtener HAp y al analizar el tamaño de partícula observó que todas las muestras presentaban una distribución bimodal, donde el pico de mayor tamaño significaba la mayor presencia de aglomeraciones. Su material midió 61 a 273 nm.

Por lo tanto, los resultados de esta investigación son favorablemente más pequeños, con la diferencia del método, como lo es el tratamiento térmico.

En las figuras 3.11-3.14 se muestran los histogramas obtenidos de cada una de las muestras de HAp y polvo de cáscara de huevo en esta técnica DLS.

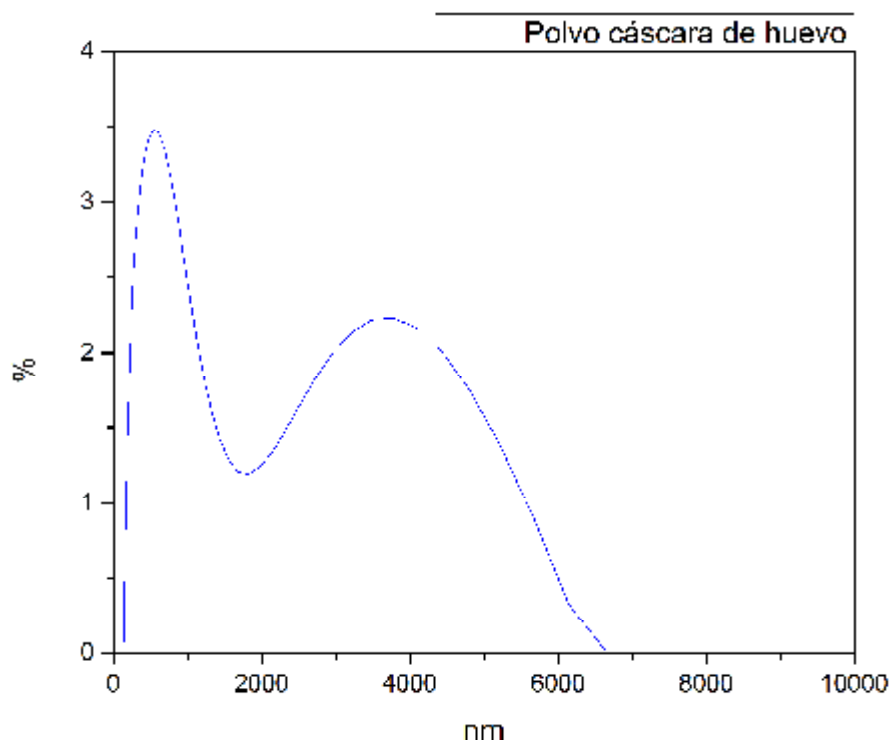


Figura 3.11. Histograma DLS del polvo cáscara de huevo.

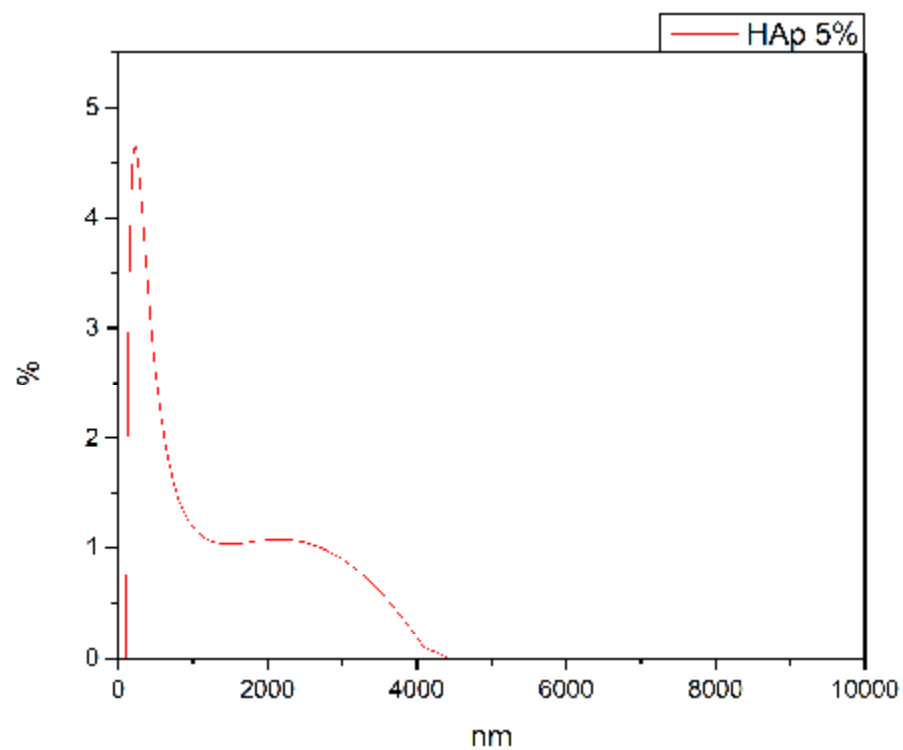


Figura 3.12. Histograma DLS para muestra HAp con ácido nítrico 5%.

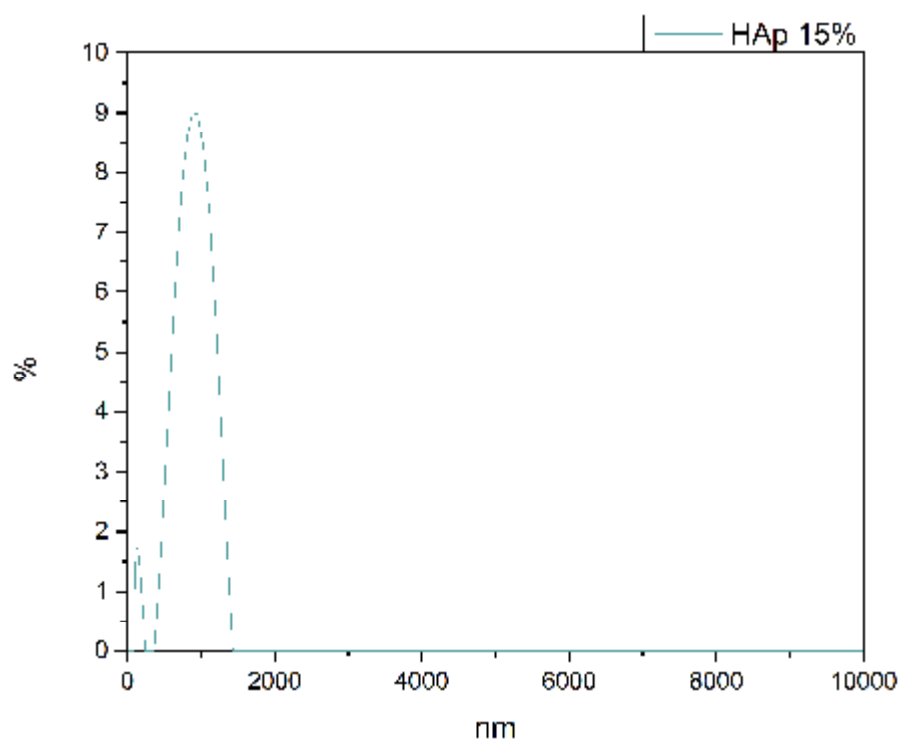


Figura 3.13. Histograma DLS para muestra HAp con ácido nítrico 15%.

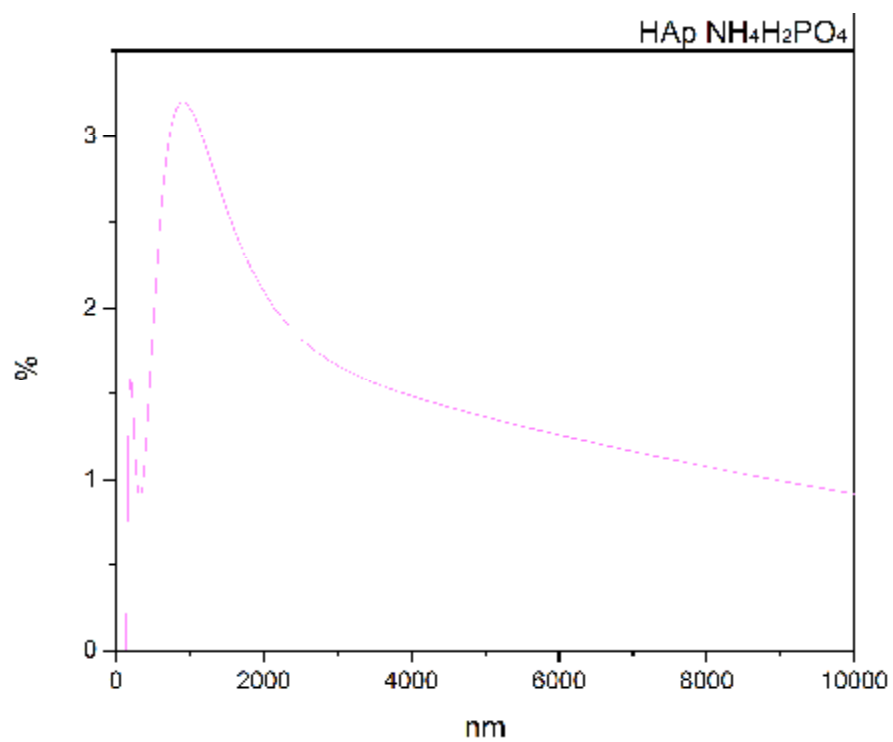


Figura 3.14. Histograma DLS para muestra HAp con exceso NH₄H₂PO₄.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

4. Conclusiones.

Con base a los resultados obtenidos, el objetivo de esta investigación se cumplió, ya que, si es posible sintetizar la HAp a partir de la cáscara de huevo, esto de acuerdo con los resultados de las caracterizaciones realizadas.

Con respecto al análisis de Microscopía Óptica, presentó una limitante en el momento de realizar la evaluación, debido a que no se observa una morfología definida, por lo que solamente se establece la apreciación de partículas de morfología irregular. Lo que concluye un posterior análisis por la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).

En la caracterización de DRX, se comprobó la presencia de la HAp de acuerdo al patrón de difracción identificado en las señales 26, 33, 34, 40, 48, 50, respectivamente.

El análisis de FTIR, permitió identificar la existencia de HAp, esto debido que se apreciaron los grupos funcionales, así como los picos característicos. Este análisis corroboró la señal atribuida con respecto a la bibliografía, por lo tanto, la experimentación fue realizada exitosamente.

Los resultados de TGA permitieron observar el comportamiento de la HAp durante la transición térmica a medida que ésta aumenta. De este análisis se obtuvo información acerca de la temperatura máxima de degradación y la temperatura de degradación. Con base a los resultados, el material “exceso $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ” comenzó a degradarse a una temperatura de 310°C , mientras que el material “ácido nítrico 15%” comenzó su degradación a los 340°C , por último, el material “ácido nítrico 5%” inició su degradación a los 540°C . En conclusión, dicha degradación corresponde a la información obtenida de otros experimentos.

Mediante la Dispersión de luz dinámica fue posible determinar el tamaño de partícula de la HAp por medio de diámetro hidrodinámico, los resultados obtenidos están dentro de la escala nanométrica, la muestra “ácido nítrico 5%” tiene el tamaño de partícula más pequeño de 368.7 nm, mientras que la muestra “ácido nítrico 15%” mide 954.9 nm, por último, la muestra “exceso de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ” tiene un tamaño de 885.7 nm. En conclusión, este análisis verificó el tamaño de partícula obtenido con respecto a las referencias bibliográficas.

Los resultados obtenidos de los análisis de la HAp permitirán la elaboración de compuestos SBS con partículas de HAp para una investigación que se va a trabajar en conjunto.

Bibliografía.

- [1] Chai, YC., Carlier, A., Bolander, J., Roberts, SJ., Geris, L & Schrooten, J. (2012). Current views on calcium phosphate osteogenicity and the translation into effective bone regeneration strategies. *Acta Biomater.* 3876-3887.
- [2] Barrère, F., Van, Blitterswijk CA & De Groot, K. (2006). Bone regeneration: molecular and cellular interactions with calcium phosphate ceramics. *Int J Nanomedicine.* 17-32.
- [3] Sequeda1, L., Díaz, J., Gutiérrez, S., Perdomo, S. & Gómez, O. (2012). Obtención de hidroxiapatita sintética por tres métodos diferentes y su caracterización para ser utilizada como sustituto óseo; *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, Vol. 41 (1), 50-66.
- [4] Carvajal, G., (2017). Usos y beneficios de la Hidroxiapatita como biomaterial en lesiones óseas de pequeñas especies. 12-20.
- [5] Petit, R., (1999). The use of hydroxyapatite in orthopaedic surgery: a ten-year review. *European Journal of Orthopaedics Surgery and Traumatology.* 9:71-74.
- [6] Smith Deanne, K. (1995). Calcium phosphate apatites in nature. In *Hydroxyapatite and related materials*. Eds. Browns, P.W. . & Constantz, B. (CRC Press, London, 2000). 46-52
- [7] Tresguerres, J.A.F. (2003). *Fisiología humana* (McGrawHill Interamericana) 2ª ed. 983-1020.
- [8] Rivera, E., Curiel, R. & Rodríguez, R. (2003) Selectivity in the hydroxyapatite synthesis from eggshell using different thermal treatments. *Materials Research Innovations.* 7:85-90.
- [9] Acevedo, J., López, J.; Vargas, G., Rendón, J. & Méndez, J. (2007). Chemical synthesis of bone-like carbonate hydroxyapatite from hen eggshells and its characterization. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámicas y Vidrio.* 46:225-231.
- [10] Prabakaran, K., Balamurugan, A. & Rajeswari, S. (2005). Development of calcium

phosphate based apatite from hen's eggshells. Bulletin of Materials Science. 28:115-119.

[11] Thapon, J. & Bourgeois, C. (1994) L'oeuf et les ovoproduits. Lavoiser Tee Doc, Paris. pp. 344.

[12] Nayak, A. (2010). Hydroxyapatite synthesis methodologies: an overview. International Journal of ChemTech Research, 903-907.

[13] Tadic, D., Beckmann, F., Schwarz, K. & Epple, M. (2004). A novel method to produce hydroxyapatite objects with interconnecting porosity that avoids sintering. Biomaterials. 25:3335-3340.

[14] Camacho, I., Vela, M., Villanueva, L., Borja, A., Montalvo, F., Quispe, J., (2018). Hidroxiapatita sintetizada a partir de la cáscara de huevo como potencial sustituto óseo en defectos periodontales y periimplantarios. Odontol. Sanmarquina. 21(4): 296-301.

[15] Marin, N., Escobar, D., Ossa, C. & Echavarría, A. (2007). Síntesis y caracterización de hidroxiapatita microporosa, comparación con un producto comercial. 67-76.

[16] García, K., Quiñones, I., Gutiérrez, J., Camargo, R. & Basante, M. (2022). Bioactividad de hidroxiapatita obtenida a partir de la cáscara de huevo para uso potencial como cemento óseo. 03-12.

[17] Vélez, J., Cardona, N., Gómez, J. & López, E. (2014). Síntesis de hidroxiapatita por combustión a partir del carbonato de calcio obtenido de cáscaras de huevo de gallina. 97-102.

[18] Kirschenbaum, J., Crowe, C. & Narvaja, M. (2011). Materiales y materias primas: Biomateriales. 9-12.

[19] Koutsopoulos, S. (2002). Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods. 600-612.

[20] Rodríguez, V., Salado, D., Ortiz, S., Mendoza, D., Villaseñor, L., & Reyes, M. (2020). Revisión de la Hidroxiapatita Nanoestructurada como Alternativa para

Tratamiento de Cáncer. Pádi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías Del ICBI. 115-127.

[21] Willmann, G. (1993). Selectivity in the hydroxyapatite synthesis from eggshell using different thermal treatments. *Interceram*. 206-208.

[22] Spadavecchia U. & González, G. (2007). Obtención de hidroxiapatita nanométrica para aplicaciones médicas. 17-19.

[23] Moreno, K., Hernández, C. & García, S. (2016). Síntesis y caracterización de nanopartículas de hidroxiapatita carbonatada. 1-5

[24] Jillavenkatesa & R.A. Condrate. (1998). Sol-Gel Processing of Hydroxyapatite, *Journal of Materials Science*. 4111-4119

[25] Jillavenkatesa & R. A. Condrate. (1999). An Electron Microscopy Study of the Formation of Hydroxyapatite Through Sol–Gel Processing, *J. Mater. Sci*. 4821–4830.

[26] Guillen, T. (2022). Elaboración y caracterización de un nanofertilizante urea-hidroxiapatita para reducir aplicaciones de nitrógeno en cultivos agrícolas. 36-39.

[27] Hernandez, G. (2020). Biocerámicos porosos compuestos de hidroxiapatita y dióxido de titanio. 46-132.

[28] Peralta, J. (2011). Estudio comparativo de la síntesis de hidroxiapatita por medio de dos rutas sol-gel. 22-26.

[29] Zaki, M., Knözinger, H. & Tesche, B. (2006). Structural and morphological consequences of hightemperature treatments of hydroxyapatite in the absence or presence of HCl vapor. *Langmuir*, v. 22, pp. 749-755.

[30] García, C., Paucar, C. & Gaviria, J. (2006). Estudio de algunos parámetros que determinan la síntesis de hidroxiapatita por la ruta de precipitación. *Revista Dyna*. Vol. 148. pp. 9–15.

[31] Orozco, J., Zuluaga, I., Forero, P., Arango, P. & Restrepo, E. (2014). Síntesis y

caracterización de la hidroxiapatita natural obtenida del hueso de cerdo. Revista Colombiana De Materiales, (5), 165–171.