

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA A PARTIR DE ESPINAS DE ERIZO DE MAR

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIOINGENIERO

PRESENTA:

LUIS EDUARDO ACOSTA CARDONA

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, ABRIL DE 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA A PARTIR DE ESPINAS DE ERIZO DE MAR

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE

BIOINGENIERO

PRESENTA:

LUIS EDUARDO ACOSTA CARDONA

Aprobada por:

Dr. Priscy Alfredo Luque Morales

Director

(Presidente)

Dr. Rubén Cesar Villarreal Sánchez

Sinodal (Vocal)

Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez

Codirectora

(Secretario)

Dra. Zaira Itzel Bedolla Valdez Sinodal (Vocal)

RESUMEN

De la tesis de Luis Eduardo Acosta Cardona, presentada como requisito para la obtención del título de BIOINGENIERO. Ensenada, Baja California, Abril 2019.

SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE HIDROXIAPATITA OBTENIDA A PARTIR DE ESPINAS DE ERIZO DE MAR

Resumen aprobado por:

Dr. Priscy Alfredo Luque Morales

Director

Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez

Codirectora

El propósito de este trabajo fue sintetizar y caracterizar Hidroxiapatita partiendo de desechos marinos, como lo son las espinas de erizo de mar, estos materiales fueron utilizados para obtener carbonato de calcio (CaCO₃) como precursor en la síntesis de hidroxiapatita, esto se logró a partir de diferentes lavados y tratamientos térmicos a 800°C con el propósito de eliminar la presencia de toda materia orgánica como proteínas que puedan estar presentes en el mismo, una vez obtenido y caracterizado el CaCO₃, haciendo uso del método de síntesis de hidroxiapatita por precipitación, se agregó estequiométricamente el precursor de iones fosfatos del material, en este caso el precursor fue H3PO4, se agregó gota a gota, manteniendo en agitación constante, al término de la reacción el producto obtenido se filtró y lavó 4 veces con el propósito de obtener un pH lo más cercano a 7, al finalizar con este paso el producto obtenido se sometió a un tratamiento térmico a 600 °C por 1 hora, finalizando con la caracterización de la muestra mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Difracción de Rayos X (XRD), Microscopía Electrónica de Barrido-Espectroscopia de Energía Dispersiva de Rayos X (SEM-EDS); obteniendo de estas caracterizaciones los grupos funcionales (PO4-3, OH-1, CO3-2), picos cristalinos, estructura morfológica cristalina y presencia de elementos atómicos correspondientes a la hidroxiapatita.

Palabras clave. Erizo de mar, Carbonato de Calcio, Ácido Fosfórico, Hidroxiapatita, FTIR, XRD, SEM-EDS.

i

DEDICATORIA

A mis padres y amigos

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincera gratitud a mi asesor Dr. Priscy A. Luque Morales (UABC) por su valiosa e invaluable ayuda en la dirección de la realización de este proyecto de tesis, ya que sin su apoyo este trabajo no hubiera sido completado. De la misma forma quiero agradecer a la Dra. Claudia M. Gómez Gutiérrez (UABC) por la codirección del presente trabajo.

Agradezco al CONACYT por la beca brindada por el proyecto número 4940 de problemas nacionales durante la realización de este trabajo de tesis de licenciatura.

A los maestros de Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño (UABC) de Bioingeniería que participaron durante la formación de mis estudios de licenciatura.

Agradezco infinitamente a mis padres Daniel Arturo Acosta y Yolanda Araceli Cardona y mi hermano Daniel Mario, porque siempre me han brindado todo su apoyo y amor que me han impulsado para salir adelante. A todos mis amigos y compañeros de la universidad agradezco su amistad incondicional, especialmente a Zayra Ortiz, Isela Vidriales y Jesús Rosas por su amistad, apoyo y consejos que me brindaron dentro y fuera de la universidad.

•	RESUMEN	i
•	DEDICATORIA	ii
•	AGRADECIMIENTOS	iii
•	CONTENIDO	iv
•	LISTA DE FIGURAS	vi
•	LISTA DE TABLAS	viii

CONTENIDO

CAPÍTULO I

1.	Introducci	ón1
	1.1.Bioma	teriales 2
	1.2.Clasifi	icación de biomateriales 3
	1.2.1.	Biomateriales metálicos 3
	1.2.2.	Biomateriales poliméricos
	1.2.3.	Biomateriales cerámicos 4
	1.3.Tipos	de biocerámicas
	1.3.1.	Alúmina
	1.3.2.	Zirconia5
	1.3.3.	Biovidrio5
	1.3.4.	Hidroxiapatita5
	1.4. Carac	terísticas de hidroxiapatita6
	1.4.1.	Biodegradabilidad
	1.4.2.	Osteoconducción
	1.4.3.	Osteointegración6
	1.4.4.	Bioactividad 6
	1.5. Antec	redentes7
	1.5.1	Síntesis de hidroxiapatita7
	1.6.Métod	los de síntesis de hidroxiapatita7
	1.6.1.	Precipitación7
	1.6.2.	Estado sólido8
	1.6.3.	Mecano químico

1.6.4. Sol-Gel	9
1.6.5. Pirolisis	9
1.6.6. Combustión	10
1.6.7. Fuentes biológicas	10
1.7.Planteamiento del problema	11
1.8.Justificación	12
1.9.Objetivos	13
1.10.1 General	13
1.10.2 Específicos	13

CAPÍTULO II

2	Fundamentos de las técnicas de Caracterización14
	2.1. Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)15
	2.2. Difracción de Rayos X (XRD)16
	2.3. Microscopia Electrónica de Barrido-Espectroscopia de Energía Dispersiva de
	Rayos X (SEM-EDS)17
CAP	ÍTULO III
3	Sección experimental19
CAP	ÍTULO IV
4	Resultados y discusión26
CAP	ÍTULO V
5	Conclusión35
CAP	ÍTULO VI
6	Referencias

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de HAp por precipitación química
Figura 2. Síntesis de HAp por métodos en estado sólido
Figura 3. Síntesis de HAp por mecano química
Figura 4. Síntesis de HAp por SOL-GEL9
Figura 5. Síntesis de HAp por pirolisis
Figura 6. Síntesis de HAp por método de combustión10
Figura 7. Obtención de HAp mediante fuentes biológicas: (a) extracción de residuos biológicos; (b) síntesis de cascarón de huevo; (c) síntesis del exoesqueleto de organismos marinos
Figura 8. Funcionamiento del FTIR15
Figura 9. Equipo de FTIR.15Figura 10. Difracción de rayos X con respecto a la ley de Bragg.16
Figura 11. Equipo de XRD17
Figura 12. Partes y funcionamiento de SEM-EDS18
Figura 13. Equipo de SEM-EDS e imágenes ilustrativas obtenidas por el equipo18
Figura 14. Lavado de las espinas de Erizo de mar en agua destilada a 80°C20
Figura 15. Espinas de Erizo de mar después del lavado a 80°C20
Figura 16. Espinas secadas a 100°C en mufla21
Figura 17. Espinas molidas después de tratamiento térmico a 800°C21
Figura 18. Reacción de CaCO ₃ y H ₃ PO ₄ para obtención de HAp24
Figura 19. Proceso de filtrado del producto obtenido24
Figura 20. Producto obtenido de la filtración y posterior secado a 100°C24
Figura 21. Producto obtenido del tratamiento térmico a 600°C y moliendo del material25

Figura 22. Resultados de caracterización por FTIR de las espinas de erizo de mar27
Figura 23. Resultados de FTIR de las espinas con tratamiento térmico a 800°C28
Figura 24. Resultado por FTIR de hidroxiapatita obtenida
Figura 25. Difractograma de Erizo molido sin tratamiento térmico
Figura 26. Difractograma de espinas de erizo con tratamiento térmico31
Figura 27. Difractograma de la muestra obtenido después de la adición del H ₃ PO ₄ y
tratamiento térmico
Figura 28. Micrografía de muestra de HAp en escala de 60 µm33
Figura 29. Micrografía de HAp en escala de 30 µm34
Figura 30. Análisis Espectral de la muestra de HAp34

Lista de Tablas

Tabla 1. Características generales de los biomateriales	rales de los biomateriales2
--	-----------------------------

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1. Introducción

1.1.Biomaterial

Actualmente existen diversas definiciones para los biomateriales, sin embargo, la más aceptada es la propuesta por Williams (1987), la cual define al biomaterial como una sustancia o combinación de ellas, las cuales pueden ser de origen natural o sintético, y pueden ser utilizados por un periodo de tiempo determinado, reemplazando todo un sistema, tejido, órgano o función corporal [1].

No cualquier material puede ser empleado como BIOMATERIAL, para poder ser utilizado este material debe ser BIOCOMPATIBLE. La biocompatibilidad se define como la capacidad que posee un material para ser aceptado por el cuerpo humano y que, además, no dañe tejidos aledaños, no desemboque respuesta inflamatoria, y que no genere reacciones alérgicas o carcinogénicas [2]. Los biomateriales se diferencian de otros materiales debido a sus propiedades físicas, mecánicas, químicas y biológicas, dichas características son diferentes para cada tipo de material, por lo que las aplicaciones de estos difieren uno del otro; estos materiales deben satisfacer algunas características como las que se muestran en la **Tabla 1.**

Características	Observaciones
Biocompatible	Biológicamente compatible, no causará inflamación o respuesta inmune del tejido.
No inmunogénico	No causará respuesta inmunogénica a los tejidos.
No corrosivo	No debe presentar corrosión a condiciones fisiológicas.
Elevada área superficial	Para organizar células de alta densidad.
Superficie modificable	Funcionalizar grupos químicos o biomolecular para mejorar la adherencia del tejido.
Resistencia mecánica	Resistir los estímulos in vivo.
Esterilizable	Para evitar contaminación tóxica.

 Tabla 1. Características generales de los biomateriales [2].

1.2. Clasificación de biomateriales

Existen diversas maneras de clasificar a los biomateriales de acuerdo a su estructura, propiedades físicas y químicas, y aplicaciones en el área biológica.

1.2.1. Biomateriales metálicos

Los primeros materiales utilizados en aplicaciones médicas son los metales, sin embargo existen algunas excepciones, como son los metales preciosos como el platino, oro y plata, que posteriormente llegaron a ser utilizados en ciertas condiciones, no obstante existen algunas limitaciones para este tipo de materiales, ya que por ejemplo, los metales rara vez se encuentran de forma pura, por lo que se han desarrollado métodos para obtenerlos puros, la importancia de la pureza del material radica ya que por ejemplo, los metales, en su estado natural, son relativamente blandos; es decir, muy fáciles de deformar, por ello se han utilizado algunos tratamientos con el fin de aumentar su dureza, por ejemplo, metales como el acero inoxidable, aleaciones de cobalto, titanio y sus aleaciones han sido utilizados, desde principios del siglo XX, como sustitutos de tejidos duros, sin embargo, el módulo de elasticidad del acero y de aleaciones cobalto-cromo es diez veces mayor que el del hueso, sin embargo se han presentado complicaciones como el stress shielding que de acuerdo a la ley de Wolff, el stress shielding o protección contra el estrés tiene lugar cuando un implante más rígido que el tejido es colocado dentro del mismo, teniendo como consecuencia la pérdida o resorción ósea como resultado de la disminución de la carga fisiológica del hueso causado por la mayor rigidez del implante [3].

1.2.2. Biomateriales poliméricos

Polímeros son definidos como una larga cadena de monómeros orgánicos enlazados de forma covalente. Generalmente se presentan dos categorías las cuales son clasificadas de acuerdo a su método de extracción: naturales o sintéticos y a su vez subdivididos de acuerdo a su actividad: biodegradables como el colágeno, gelatina, poli ácido láctico (PLA) y poli ácido láctico-co-glicólico (PLGA) y no biodegradables como el poli etileno (PE), poli etileno tereftalato (PET) y poli metil metacrilato (PMMA). Estos materiales presentan una gran aceptación en aplicaciones biomédicas debido a su biocompatibilidad, diseño flexible, superficie modificable, bajo peso y naturaleza dúctil. Sin embargo los polímeros tienen baja

resistencia mecánica comparada a los metales y cerámicas, lo que los hacen a menudo ideales para reconstrucción de tejidos blandos, tales como la piel. En ingeniería de tejidos, presenta aplicaciones como estructura sólida porosa, matriz o andamio como soporte celular, muchas veces se prefieren los polímeros biodegradables, ya sean naturales o sintéticos a los no biodegradables para evitar posibles afecciones a largo plazo provocado por el tiempo de estancia en el cuerpo, siempre supervisando previamente que los productos de la degradación no sean tóxicos y no produzcan reacciones de cuerpo extraño [4].

1.2.3. Biomateriales Cerámicos

Los biomateriales cerámicos son materiales de naturaleza inorgánica y no metálicos, que son térmica y químicamente estables que presenta diversas propiedades entre las que destacan, alta resistencia al desgaste, resistencia y durabilidad; además tienen la ventaja de ser biocompatibles, hemocompatibles, moldeables, esterilizables, no tóxico y no inmunogénico, recibiendo el nombre de biocerámicas, por su empleo en aplicaciones médicas. Las biocerámicas según la respuesta del tejido se clasifican en tres tipos; (I) bioinerte (alúmina y zirconio); (II) bioactivo (**hidroxiapatita** y biovidrio) y (III) bioabsorbible (TCP, Ca₃(PO₄)₂). Los materiales bioactivos como la Hidroxiapatita provocan una fuerte interacción interfacial con el tejido huésped, lo que se considera favorable como estímulo osteointegrativo para la generación del hueso, sin embargo posee baja tenacidad, es decir presenta una baja resistencia a rupturas ante una determinada presión y menor reabsorción [3].

1.3. Tipos de biocerámicas

1.3.1. Alúmina

La alúmina (Al_2O_3) es un material cerámico muy versátil color blanco tiza, consistencia similar a la arena, y propiedades que la hacen apta para aplicaciones en donde la temperatura es un factor determinante [5].

La alúmina es uno de los materiales más utilizados en aplicaciones de temperaturas de operación altas, alrededor de los 1650°C. Un factor importante es el precio por kilogramo siendo aproximadamente 1/3 en comparación de la zirconia [6].

1.3.2. Zirconia

La zirconia se usa ampliamente como biomaterial de implantes ortopédicos y dentales debido a sus propiedades biológicas, mecánicas y ópticas, pero a pesar de esto posee una gran desventaja la cual es que presenta una conexión débil con el hueso natural, por lo que se han utilizados varios métodos para mejorar su rendimiento, tales como: grabado con ácido, arenado, pulido, tratamiento con láser, entre otros [7].

1.3.3. Biovidrio

El biovidrio es un material compuesto de 45% SiO₂, 24.5% de CaO, 24.5% de Na₂O y 6% de P₂O₅ que presenta propiedades osteoconductoras y osteoproductoras con una alta tasa de producción de hidroxiapatita, es decir, presenta mineralización, la cual es una propiedad esencial para la aplicación de ingeniería de tejidos, sin embargo, aún existe una gran cantidad de investigaciones llevadas a cabo sobre el biovidrio como aditivo para otros biomateriales como los andamios compuestos bioactivos y restauradores dentales [8].

1.3.4. Hidroxiapatita

Estas biocerámicas están presentes en nuestros huesos, son apatitas de tamaño monomérico, deficiente de calcio y carbonatada [9], estos biomateriales son utilizadas en el área biomédica, ya que son materiales biocompatibles que presentan propiedades como la de ser más rígidos y resistentes a la corrosión y calor. Estos materiales son utilizados en estas áreas ya que la estructura ósea tiene una porosidad jerarquizada que va desde la micra hasta los cientos de ellas y estos materiales pueden ser elaborados con el grado de porosidad más conveniente, con el tratamiento adecuado puede tener una porosidad similar al hueso [10].

Entre estos biomateriales se encuentran las biocerámicas bioactivas como son: fosfato de calcio y provenientes de éste como la hidroxiapatita, así también compuestos de titanio/hidroxiapatita, biovidrios y fosfato tetracálcico. Las cerámicas de fosfato de calcio ocupan un lugar importante, ya que poseen propiedades químicas y biológicas similares al componente mineral del hueso por lo que son capaces de unirse químicamente al mismo, además de que poseen una excelente biocompatibilidad ya que no presenta toxicidad local o sistemática, respuesta inflamatoria ni reacción a cuerpo extraño [11].

1.4. Características de Hidroxiapatita

1.4.1. Biodegradabilidad

Los materiales biodegradables son un tipo de biomaterial utilizados para una aplicación específica dentro del cuerpo y posteriormente degradarse en un tiempo determinado; para que un material biodegradable pueda ser utilizado como un implante adecuado, la degradación debe ocurrir una vez que se haya logrado el propósito de la aplicación. Esta acción es influenciada por diferentes variables, desde el tipo de material, composición y el proceso de fabricación [12]. Se han utilizado numerosos tipos de materiales para este propósito, incluyendo polímeros y cerámicas como los más utilizados, resaltando en este la hidroxiapatita por sus características similares al tejido óseo [13].

1.4.2. Osteoconducción

Es el proceso por el cual se realiza el crecimiento de tejido óseo por interacción material tejido, a partir de una fracción de hueso existente [14], por lo tanto, es un mecanismo por el cual un material provee un ambiente y estructura favorables para la formación del hueso nuevo; en este proceso se desencadena un crecimiento de capilares, tejido vascular y células madres mesenquimales, las cuales realizan una interacción desde el tejido huésped al injerto, esta interacción permite la formación del nuevo hueso el cual estará determinado por las características del injerto [15].

1.4.3. Osteointegración

Es el mecanismo por el cual se realiza una interacción estructural y funcional entre el tejido vivo y la superficie de un andamiaje, produciendo una unión mecánica directa y estable, sin interposición de tejido conectivo [16].

1.4.4. Bioactividad

Los materiales bioactivos son aquellos que tiene la capacidad de reaccionar químicamente con los fluidos corporales formando un fuerte enlace interfacial implante-tejido esto debido a la similitud del biomaterial y el tejido, esta capacidad se puede determinar mediante la formación de una capa rica en calcio y fósforo sobre la superficie del material [17].

1.5.Antecedentes

1.5.1 Síntesis de hidroxiapatita

El método de síntesis de hidroxiapatita (HAp) para aplicaciones ortopédicas y odontológicas debe ofrecer HAp de alto grado de pureza, rendimiento, facilidad de síntesis a bajo costo; así como también contar con sus propiedades como son bioactividad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, osteoconductividad y unión directa al hueso [18]. Existen diversos métodos de obtención de hidroxiapatita las cuales se abordarán a continuación.

1.6.Métodos de síntesis de hidroxiapatita 1.6.1. Precipitación

En los métodos de síntesis de hidroxiapatita por métodos húmedos existe el proceso de precipitación química, la cual es la ruta química más sencilla para la obtención de HAp nanométrica. Este método se realiza a temperatura ambiente y pH 7.2, debido a que en estas condiciones la HAp es menos soluble y por lo general la fase de calcio-fosforo (Ca/P) es más estable en una solución acuosa, posteriormente se lleva a una temperatura cercana al punto de ebullición del agua, con el propósito de obtener cristales de HAp, la precipitación se logra usando distintos reactivos precursores de calcio y fosfato, por ejemplo, hidróxido de calcio como fuente de iones de Ca²⁺, carbonato de calcio; ácido fosfórico e hidrogeno-fosfato diamonio como fuente de PO4³⁻, este procedimiento se logra mediante la adición gota a gota de un reactivo a otro bajo agitación continua manteniendo la relación estequiométrica (Ca/P), como último paso, la suspensión resultante es lavada y filtrada, para posteriormente secarse y llevarse a tratamiento térmico como se observa en la Figura 1, en la cual se obtiene la cristalinidad y porosidad del material [19].



Figura 1. Síntesis de HAp por precipitación química [18].

1.6.2. Estado sólido

Una reacción en estado sólido es un proceso que puede ser empleado para la obtención de polvos en masa, los precursores primero deben ser molidos y posteriormente calcinados a temperaturas altas, como se muestra en la Figura 2, los reactivos precursores pueden ser simplemente una sal de calcio-fósforo (Ca/P), los cuales son llevados a una temperatura de calcinación. La temperatura de calcinación (tratamiento térmico) conduce a la formación de la estructura cristalina del material sintetizado en este caso HAp, una desventaja de esta técnica es que un polvo obtenido por una reacción en estado sólido presenta heterogeneidad en su composición de fase, debido a los pequeños coeficientes de difusión de iones [20-21].



Figura 2. Síntesis de HAp por métodos en estado sólido [18].

1.6.3. Mecano químico

El procesos de síntesis por métodos mecano químicos o aleación mecánica, es un proceso de obtención de diversos materiales en un estado seco, entre estos materiales se encuentran aleaciones cristalinas y cerámicas, en estos métodos se obtienen materiales con estructuras bien definidas debido a la perturbación ocasionada en las superficies de las especies químicas, obteniendo ventajas como facilidad y reproducibilidad en la síntesis, para esto los reactivos precursores son molidos en un molino planetario manteniendo la relación molar entre los reactivos [22-23], como se muestra en la Figura 3.



Figura 3. Síntesis de HAp por mecano química [18].

1.6.4. Sol-Gel

El método de síntesis por sol-gel involucra la evolución de redes inorgánicas a través de una suspensión coloidal (sol) y gelación de esta suspensión para formar una red en una fase líquida continua (gel), los precursores químicos para sintetizar estos coloides provienen de un elemento metálico o metaloide rodeado de varios ligandos reactivos, entre los más conocidos se encuentran los alcoxisilanos, como tetrametilortosilano (TMOS) o tetraetilortosilicato (TEOS); en el procesos de síntesis los grupos funcionales se utilizan en tres reacciones para el proceso de sol-gel las cuales son: hidrólisis, condensación de alcohol, y condensación de agua, sin embargo, las características y propiedades de una red inorgánica de sol-gel están relacionadas a factores que afectan la tasa de reacción del proceso, tales como, pH, temperatura, tiempo de reacción, concentración de reactantes, naturaleza y concentración del catalizador [24].



Figura 4. Síntesis de HAp por SOL-GEL [24].

1.6.5. Pirolisis

El método de síntesis de pirolisis, también conocido como spray pirolisis, implica una pulverización de los reactivos precursores en una llama de un horno eléctrico utilizando un generador de ultrasonidos, seguido por una reacción de los vapores y gases generados a altas temperaturas para producir un polvo final formando aglomerados, al elevar la temperatura permite la evaporación completa del precursor además de la nucleación y crecimiento de las partículas [25].



Figura 5. Síntesis de HAp por pirolisis [18].

1.6.6. Combustión

Es un procesos para sintetizar diversas cerámicas, como nanocristales de HAp, el punto principal de esta técnica es sus capacidad para producir polvos de alta pureza de forma rápida, además, este método utiliza materiales de bajo costo y es relativamente de fácil operación, obteniendo una gran homogeneidad del polvo sintetizado, esta síntesis implica una reacción redox exotérmica rápida en una fase acuosa, estas son soluciones de Ca(NO₃)₂ y (NH₄)₂HPO₄ que son mezcladas seguido de una adición de HNO₃ para disolver el precipitado blanco resultante, la reacción resultante es iniciada por el calentamiento de la mezcla en un horno a una temperatura de 300°C, para después llevarlo a un tratamiento térmico de 800°C, como se observa en la Figura 6 [26].



Figura 6. Síntesis de HAp por método de combustión [24].

1.6.7. Fuentes biológicas

Las partículas de HAp generadas, parcial o totalmente a partir de fuentes biológicas, es una de las grandes opciones de síntesis de este material debido a su similitud con la apatita humana, además de presentar costos relativamente bajos, ya que suele ser extraído de residuos biológicos, estos suelen ser: hueso bovino, porcino, de pescado, corales y cascara de huevo [26].

Para la obtención de HAp a partir de fuentes biológicas, se realizan lavados a la materia prima para la eliminación de algunas impurezas que presenten, posteriormente a ello se realiza un secado del material obtenido, y en caso de ser necesario realizar un condicionamiento de calcio o fosfato, terminando con un tratamiento al material obtenido para la formación de las fases cristalinas y eliminación de fases secundarias.



Figura 7. Obtención de HAp mediante fuentes biológicas: (a) extracción de residuos biológicos; (b) síntesis de cascarón de huevo; (c) síntesis del exoesqueleto de organismos marinos [24].

1.7.Planteamiento del problema

Actualmente la hidroxiapatita es una biocerámica con un alto grado de aceptación en el área ortopédica y odontológica, esto por sus propiedades físicas, químicas y biológicas, además de su alto grado de biocompatibilidad, sin embargo, existe una gran diversidad de métodos para la obtención de hidroxiapatita como se mencionó anteriormente, no obstante estas técnicas presentan un alto costo de producción, influyendo directamente en su valor comercial, por ello en los últimos años se ha optado por la obtención de este material a partir de fuentes o residuos biológicos como son los huesos, cascaras o espinas de diferentes organismos, como son las espínulas del erizo de mar, el cual es una especie de gran abundancia en la región ya que es el quinto lugar de producción pesquera en la república mexicana aportando el 8.17 % de la producción en México, lo que representa más de 5

millones de toneladas al año en Baja California, representando Ensenada más del 75% de la producción pesquera en la región [27], por lo que la cantidad de residuos obtenidos de estos es muy alto causando un alto grado de contaminación por residuos biológicos los cuales a su vez pueden ser causas de diversas infecciones en los organismos que habitan en los ecosistemas en los cuales son liberados estos desechos.

1.8. Justificación

La hidroxiapatita es un material de gran importancia en la industria biomédica, la cual tiene una gran cantidad de aplicaciones debido a sus excelentes características, pero presentan precios muy altos de alrededor de los 8,000-8,500 pesos por kilogramo del material, sin embargo con la utilización de residuos biológicos como son huesos o las mismas espinas del erizo de mar para la obtención de este material permite disminuir los costos de producción y en consecuencia disminuir su valor comercial, como también ayudando a disminuir la contaminación provocada por los desechos biológicos de los organismos marinos.

1.9.Objetivos

1.10.1 General

Sintetizar y caracterizar hidroxiapatita obtenida a partir de las espinas de erizo de mar de la región de Baja California como precursor de iones de calcio.

1.10.2 Específicos

- Obtener espinas del erizo de mar, *Strongylocentratus purpuratus*, de la región de Ensenada Baja California.
- Proporcionar precursores de iones PO₄-³ a partir de ácido fosfórico.
- Sintetizar hidroxiapatita con el uso de las espinas del erizo de mar.
- Caracterizar el material por FTIR, XRD, y SEM-EDS para el estudio de los grupos funcionales, estructura cristalina y análisis elemental y morfológico, respectivamente.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

CAPÍTULO II

2. Fundamentos de las técnicas de caracterización

2.1.Espectroscopia Infrarroja por transformada de Fourier FTIR

La espectroscopia por infrarrojo (IR) es una técnica de análisis químico rápida y simple, basada en la interacción de la radiación electromagnética (luz infrarroja) con las moléculas de la materia, como se muestra en la Figura 8.



Figura 8. Funcionamiento del FTIR.

Esta técnica de caracterización es sensible a la presencia de grupos funcionales presentes en la muestra, por lo tanto permite la identificación de los fragmentos estructurales de las moléculas [28].

La Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) proporciona un espectro de reflexión de los grupos funcionales de las sustancias orgánicas e inorgánicas presentes en la muestra de análisis, por lo que es posibles identificar ciertos materiales de acuerdo a su composición química; algunos equipos de FTIR están dotados de una sonda con fibra óptica permite el análisis directo de la superficie del objeto de estudio, con resolución de 10 cm⁻¹ en el intervalo espectral de 900-5000 cm⁻¹ [29].



Figura 9. Equipo de FTIR.

2.2.Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de rayos X (DRX), es la dispersión de los fotones de rayos X monocromáticos en una red periódica, los rayos X dispersos que están en fase, generan una interferencia constructiva, como se muestra en la Figura 10, en donde se ilustra la difracción de rayos X de los planos del cristal utilizando la ley de Bragg [30].



Figura 10. Difracción de rayos X con respecto a la ley de Bragg [30].

La ley de Bragg explica que un haz de rayos X monocromáticos incidirá sobre un cristal que posea una familia de planos atómicos paralelos, separados por una distancia d, el haz de luz incidente formara un ángulo Θ sobre la familia de planos, por lo tanto solo se obtendrán haces difractados cuando las reflexiones en los sucesivos planos paralelos interfieran aditivamente, estos sucede cuando la diferencia de trayectoria entre los rayos reflejados por dos planos adyacentes sea un múltiplo entero de su longitud de onda λ , es decir:

$n\lambda = 2dsen \Theta$

Siendo la longitud de onda de los electrones muy pequeña esta ley se satisface para ángulos Θ muy pequeños, es decir rayos casi paralelos a los planos cristalinos [31], como se mostró en la figura anterior.

La difracción de rayos X, corresponde a una técnica de análisis no destructiva que emplea la intensidad difractada de un haz monocromático de rayos-X como función del ángulo incidente y de salida. Esta técnica es utilizada para identificar la y fase/composición que distinguen los compuestos presentes en una muestra. La información puede ser derivada de la estructura cristalográfica, composición química, y propiedades físicas de los materiales.

Los resultados de estas lecturas comúnmente incluyen el nombre común de la sustancia, formula química, sistema cristalino, y número de patrón de referencia de la base de datos ICDD [32].



Figura 11. Equipo de XRD.

2.3. Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)-EDS

El Microscopio Electrónico de Barrido (SEM) es una técnica de caracterización que permite hacer estudios de morfología y análisis elemental por espectroscopia de energía dispersiva (EDS) a superficies de muestras sólidas, así como determinación de espesores de recubrimientos, identificación de contaminantes en dispositivos electrónicos, metales, cerámicos [33].

El SEM-EDS se basa en un haz de electrones incidentes en lugar de una haz luz, los cuales son producidos por un cañón de electrones acelerados y focalizados sobre la superficie del material a partir de una serie de lentes electromagnéticos, el cual escanea la superficie de la muestra por medio de una serie de bobinas de barrido sincronizadas con un tubo de rayos catódicos (CRT), las señales producidas como resultado de la interacción del haz con la superficie de la muestra son colectadas y amplificadas por un detector, mostrando el resultados sobre el tubo de rayos catódico [34], como se muestra en la Figura 12, en donde se ilustran los componentes de este equipo.



Figura 12. Partes y funcionamiento de SEM-EDS [34].

Cuando el haz de electrones incide sobre la muestra, algunos de los electrones interactúan con el núcleo de los átomos, causando que los electrones cargados negativamente sean atraídos por el núcleo positivo; algunos de los electrones no son capturados por la electrostática del núcleo, sino que lo envuelven causando que vuelvan a ser diseminados manteniendo una velocidad constante similar a su velocidad inicial; como todos los elementos tienen diferentes tamaño de núcleo, el número de estos electrones retrodispersos (BSEs) cambia con el número atómico; y como consecuencia se obtiene una imagen como se observa en la Figura 13 con la información de los componentes que presenta la muestra a analizar [35].



Figura 13. Equipo de SEM-EDS e imágenes ilustrativas obtenidas por el equipo [33].

CAPÍTULO III

SECCIÓN EXPERIMENTAL

CAPÍTULO III

3. Sección experimental

La síntesis de hidroxiapatita fue realizada a partir de la metodología modificada de Mancillas-Sánchez et al. [36], utilizando como precursor de carbonato de calcio (CaCO₃) las espinas de erizo de mar, para la obtención de este componente fue necesario obtener las espinas del erizo de mar, para posteriormente realizar un proceso de lavado en agua destilada a 80°C durante 2 horas, como se observa en la Figura 14, con el propósito de eliminar cualquier contaminante que esté presente en las espinas, obteniendo un resultado como el que se observa en la Figura 15.



Figura 14. Lavado de las espinas de Erizo de mar en agua destilada a 80°C.



Figura 15. Espinas de Erizo de mar después del lavado a 80°C.

Al finalizar el lavado de las espinas, estas se secaron en un horno BINDER a 100°C durante 1 hora, al salir del desecador se pesaron 2.3 gramos de las espinas, las cuales se secaron en una mufla Furnace 4800 a 100°C durante 20 minutos, con el propósito de secar completamente las espinas, obteniendo el resultado como se observa en la Figura 16.



Figura 16. Espinas secadas a 100°C en mufla.

Una vez secadas las espinas se trituraron en un mortero de ágata con el fin de evitar contaminación de la muestra por partículas que pudieran ser liberadas por un mortero de cerámica, el proceso de molienda se realizó hasta obtener un polvo fino, para posteriormente llevar el producto obtenido de la molienda a tratamiento térmico a 800°C durante 20 minutos con el propósito de eliminar cualquier presencia de materia orgánica en las espinas como pueden ser algunas proteínas, obteniendo un resultado como el que se observa en la Figura 17.



Figura 17. Espinas molidas después de tratamiento térmico a 800°C.

Para realizar la adición del precursor de iones fosfato se utilizó ácido fosfórico (H₃PO₄) Jalmek 85% v/v; se realizaron cálculos estequiométricos para obtener el volumen necesario de H₃PO₄ para obtener la relación Ca/PO₄adecuada, partiendo de la siguiente reacción:

$$CaCO_3 + H_3PO_4 \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + CO_2 + H_2O(1)_6(OH)_2 + H_2$$

Balanceando la ecuación 1 obtenemos lo siguiente:

 $10CaCO_3 + 6H_3PO_4 \longrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 10CO_2 + 8H_2O$

Sabiendo que 1 mol de $CaCO_3$ tiene 100 g/mol, podemos obtener los gramos de $CaCO_3$ presentes en 10 moles, esto a partir de la siguiente ecuación:

$$n = \frac{m}{mm}(2)$$

En donde

n = moles

$$m = masa \ del \ compuesto$$

mm = masa molar del compuesto

Despejando (2) para encontrar el valor de la masa del compuesto a analizar.

$$m = (mm)(n)$$
$$m = \left(100 \frac{g}{m}\right)(10 \text{ mol})$$

$$m = (100 \text{ mol})(10 \text{ mol})$$

$m = 1000 \ gramos \ de \ carbonato \ de \ calcio$

Realizando el mismo procedimiento para encontrar los gramos de HAp presentes en 1 mol, para ello partimos de la siguiente información:

$$m = (mm)(n)$$
$$m = \left(1003.82 \frac{g}{mol}\right)(1 \ mol)$$
$$m = 1003.82 \ gramos \ de \ HAp$$

Una vez obtenida la cantidad de gramos de CaCO₃ presentes en 10 moles, es posible realizar una relación estequiométrica para obtener la cantidad de HAp obtenida a partir de una cantidad conocida de CaCO₃ siendo esta 1.2 gramos, obteniendo el siguiente resultado:

$$\begin{bmatrix} \frac{1003.82 \ g \ de \ HAp}{1000 g CaCO_3} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{1.2 \ g CaCO_3}{HAp} \end{bmatrix}$$
$$HAp = 1.20458 \ gr \ de \ HAp$$

Repitiendo lo realizado en los pasos anteriores se obtuvo la cantidad necesaria de H₃PO₄ para la obtención de HAp.

$$m = (mm)(n)$$
$$m = \left(98 \frac{g}{mol}\right)(6 mol)$$
$$m = 588 \ gramos \ de \ H_3PO_4$$

Como la cantidad obtenida esta expresada en gramos es necesario hacer una conversión a unidades de volumen, esto se logró utilizando la densidad del H_3PO_4 la cual es 1.685 g/ml, por lo que utilizando la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{m}{v} \quad (3)$$

Donde

$$ho = densidad \ en rac{g}{ml}$$

 $m = masa \ en \ g$
 $v = volumen \ en \ ml$

Despejando 3 para encontrar volumen se obtuvo lo siguiente.

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

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

$$v = \frac{588g}{1.685\frac{g}{l}}$$

$$v = 348.96ml \ de \ H_3 PO_4$$

Realizando una relación a partir de los datos obtenido anteriormente se obtuvo lo siguiente.

$$\begin{bmatrix} \frac{1003.82 \ g \ de \ HAp}{348.96 \ ml \ H_3PO_4} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} H_3PO_4\\ \hline 1.20485 \ g \ HAp \end{bmatrix}$$
$$H_3PO_4 = 0.4187ml$$

Al finalizar el tratamiento térmico a 800°C el producto resultante fue diluido en 20ml de agua destilada, manteniéndolo en agitación constante a 600 RPM a una temperatura entre 35-40°C, para posteriormente agregar los 0.4187 ml de H₃PO₄ obtenidos anteriormente, dejándolo en reacción durante 18 horas, como se observa en la Figura 18.



Figura 18. Reacción de CaCO₃ y H₃PO₄ para obtención de HAp.

Al finalizar la reacción se realizó un filtraje con papel filtro Whatman tipo 3, realizando 3 lavados con agua destilada con el fin de obtener un pH cercano a 7, como se muestra en la Figura 19, una vez obtenido el pH adecuado se realizó un secado a 100°C por 30 minutos como se muestra en Figura 20.



Figura 19. Proceso de filtrado del producto obtenido.



Figura 20. Producto obtenido de la filtración y posterior secado a 100°C.

Al terminar el secado la muestra fue recuperada del papel filtro cuidadosamente, para evitar romper este papel y llevarse partes del mismo, ya que esto podría contaminar el producto obtenido, al terminar con la recolección de la muestra, esta fue llevada a tratamiento térmico a 600°C durante 1 hora, finalizando con una molienda en mortero de ágata para evitar contaminación cruzada, obteniendo un producto como se muestra en la Figura 21.



Figura 21. Producto obtenido del tratamiento térmico a 600°C y moliendo del material.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. Resultados y Discusión

Resultados de caracterización por FTIR

Según los estudios realizados a la muestra de erizo de mar sin tratamiento térmico como se observa en la Figura 22, se aprecia la presencia de algunos grupos funcionales correspondientes a la hidroxiapatita como son los grupos hidroxilos (OH⁻¹) con una banda ancha entre los 3200 y 3400 cm⁻¹ con un tipo de vibración de tensión, además se observa la presencia del grupo carbonato (CO₃⁻²) con una banda entre los 1400 y 1500 cm⁻¹ pero esta banda no alcanza a definirse de una manera más notoria.



Figura 22. Resultados de caracterización por FTIR de las espinas de erizo de mar.

Al haber realizado el tratamiento térmico a 800°C a la muestra de las espinas de erizo de mar se realizó un análisis por FTIR para comprobar la aparición del grupo funcional CO_3^{-2} para deducir de esta manera la presencia del carbonato de calcio en la muestra y por tanto que

podrá ser utilizado como precursor del ion calcio en la síntesis de hidroxiapatita, el espectro obtenido por FTIR de esta muestra se observa en la Figura 23, en donde se puede apreciar como la señal correspondiente al grupo OH⁻¹ se hace más pequeña, pero la banda entre los 1400 y 1500 cm⁻¹ correspondiente al carbonato se hace presente, de manera en que se delinea más este espectro.



Figura 23. Resultados de FTIR de las espinas con tratamiento térmico a 800°C.

Al obtener el producto final del tratamiento térmico a las espinas del erizo de mar se agregó ácido fosfórico de forma estequiométrica para propiciar la síntesis de hidroxiapatita, al obtener el producto final de esta síntesis se realizó un estudio por FTIR con el fin de determinar si el material obtenido era el esperado, esto de acuerdo por la presencia de los grupos funcionales correspondientes a la hidroxiapatita como son los grupos hidroxilo (OH⁻¹), carbonato (CO₃⁻²), y f(PO₄⁻³); los cuales se pueden presentar en un intervalo de frecuencias de acuerdo al tipo de vibración que posee, para poder hacer el análisis correspondiente fue

realizado la caracterización por el equipo antes mencionado, obteniendo los resultados que se muestran en la Figura 24, en donde se observa la presencia de grupos hidroxilo en una banda de frecuencia de 3400 cm⁻¹, como también grupos carbonilo los cuales se presentan en las frecuencias que van desde los 1400 y 1500 cm⁻¹, con una banda pequeña expresándose principalmente en los 1414 cm⁻¹, terminando con la presencia de los grupos fosfatos característicos de la hidroxiapatita, el cual se presenta en frecuencias que van desde 800 a 1100 cm⁻¹ en una banda pequeña, en este caso la banda se presentó en una frecuencia de 1033 cm⁻¹, aunque también se presenta una banda entre los 900 cm⁻¹, el cual también se le puede asignar a grupos fosfatos presentes en la muestra.



Figura 24. Resultado por FTIR de hidroxiapatita obtenida.

Resultados de caracterización por XRD

A continuación, se muestran los resultados obtenidos después de la caracterización de las muestras por Difracción de Rayos X, en donde en la Figura 25 se observa el difractograma obtenido de la muestra de las espinas de erizo de mar molidas sin haber recibido tratamientos térmicos, observando que la muestra posee una estructura cristalina, sin embargo no presenta ninguno de los picos característicos de la hidroxiapatita, por lo que de acuerdo a su estructura cristalográfica se asume la presencia de algunos minerales que no han sido eliminados, debido a que no ha recibido ningún tipo de tratamiento.



Figura 25. Difractograma de erizo molido sin tratamiento térmico.

En la Figura 26 se observa el difractograma obtenido de las espinas de erizo de mar molidas después de haber recibido un tratamiento térmico de 800°C, en el cual se aprecia un cambio muy notorio en comparación de la figura anterior, en esta se observa su estructura cristalina, y además comienza a hacerse notar algunos de los picos correspondientes a la hidroxiapatita como son los ubicados 25.87°, 34.04°, 39.34°, 49.46°, y 53.14°, los cuales corresponden a

los planos cristalinos (201), (300), (230), (211) y (220), respectivamente. Estos picos son los correspondientes al carbonato de calcio (CaCO₃), debido a que este es el objetivo del tratamiento térmico eliminar cualquier rastro de proteínas presentes en las espinas para obtener solo el CaCO₃ presente en las mismas.



Figura 26. Difractograma de espinas de erizo con tratamiento térmico.

Después de la adición de ácido fosfórico a la muestra obtenida dejando 18 horas en agitación constante, finalizando con la filtración, amortiguación del pH y tratamiento térmico a la muestra, al material obtenido se le realizo una caracterización por Difracción de Rayos X obteniendo el difractograma que se observa en la figura 27, según lo confirmado por el espectro de XRD los picos característicos de HAp fueron identificados (tarjeta JCPDS No. 9-432) 19 en 2 = 10.80 °,16.84 °, 18.76 °, 25.87 °, 28.29 °, 31.76 °, 34.04 °, 39.81 °,46.71 °, 49.47 ° y 53.15 °, que corresponden a la planos cristalinos (172), (124), (142), (421), (141), (184), (362), (184), (234), (263) y (138) respectivamente.



Figura 27. Difractograma de la muestra obtenido después de la adición del H₃PO₄ y tratamiento térmico.

Resultados de caracterización por SEM-EDS

De acuerdo a los estudios morfológicos realizados por SEM-EDS a la muestra de HAp sintetizada a partir de erizo se obtuvieron los resultados como se muestra en las micrografías de las Figuras 28 y 29 en donde se muestra su morfología cristalina así como el tamaño de cristal del material sintetizado, en el cual se observa como la muestra de HAp tiene formas irregulares y de forma variable, obteniendo tamaños que van desde 30 a 60 μ m, en el análisis espectral de energía dispersiva el análisis mostro que los elementos presentes en la muestra son calcio, fosforo, oxígeno y carbono como se muestra en la Figura 30.



Figura 28. Micrografía de muestra de HAp en escala de 60 µm.



Figura 29. Micrografía de HAp en escala de 30 µm.



Figura 30. Análisis Espectral de la muestra de HAp.

CAPÍTULO V CONCLUSIÓN

5. Conclusión

Con base en las actividades realizadas en el presente trabajo en el cual se sintetizó y caracterizo hidroxiapatita a partir de las espinas de erizo de mar como precursor de iones de calcio del material, este proceso fue llevado a cabo con el método de precipitación, en cual se le añadió el precursor de iones fosfatos utilizando ácido fosfórico, este fue agregado gota a gota a la solución realizada con las espinas molidas después del tratamiento, dejando en agitación constante por 18 horas con el fin de propiciar la formación del material de interés.

De acuerdo con los resultados obtenidos de este proceso se puede concluir, que es posible sintetizar hidroxiapatita utilizando las espinas de erizo de mar como precursor de iones de calcio obteniendo carbonato de calcio, el calcio es uno de los elementos más importantes de este material, ya que es uno de los que se encuentran en mayor presencia dentro del mismo.

La síntesis de hidroxiapatita a partir de compuestos precursores se realizó a partir del método de precipitación química, en la cual se le es añadido el precursor de iones fosfatos (ácido fosfórico) gota a gota de forma estequiométrica, es decir, realizando los cálculos estequiométricos correspondientes para la obtención de la cantidad específica necesaria de ácido fosfórico para obtener la relación Ca/P de la hidroxiapatita.

Los métodos en los que se realiza la síntesis del material son muy importantes, debido a que de ello depende la pureza del material, ya que si no se realiza de forma cuidadosa en la filtración del producto es posible realizar una contaminación de la muestra provocado por el papel filtro, además, la molienda de los productos es un paso importante ya que si no se realiza de la manera adecuada y en el mortero adecuado es posible contaminar por partículas liberadas por el mortero utilizado.

La estabilización del pH del material es otro factor importante durante la síntesis del material, ya que si no se obtiene un pH neutro se forman otras fases de fosfato de calcio, como lo es el fosfato tetracálcico el cual se obtiene a pH menores de 7, y la hidroxiapatita en pH entre 7 y 8.

Los tiempos de reacción así como las temperaturas de síntesis del material también son primordiales para la síntesis de estas cerámicas, debido a que en las temperaturas de calcinación se elimina cualquier tipo de compuestos orgánicos que puedan estar presentes en nuestros materiales, gracias a ello se forma la estructura cristalina de estos materiales; en los tiempos de agitación en la cual se deja la reacción es la parte principal en la cual se da la formación de los picos característicos en XRD de la hidroxiapatita.

Perspectivas futuras

La aplicaciones del presente trabajo son variados y se pueden mejorar con diversos tratamientos como puede ser el recubrimiento de este material con dióxido de silicio (SiO₂) para que este obtenga una mayor resistencia al desgaste provocado por la fricción del movimiento óseo, pudiendo realizar además futuras funcionalizaciones con aminoácidos para hacerlos mas a fin a células oseas y de esta manera promover la regeneración ósea de forma más efectiva y rápida siendo utilizado como un andamio para las células osteoclasticas.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS

6. Referencias

[1] D. F. Williams, (1987), Definitions in biomaterials, Elsevier, Amsterdam, p.p. 72-79.

[2] **G. Duffo**, (2011), *Materiales y materias primas, guía didáctica de biomateriales*, p.p. 19-45.

[3] **S. Johanna, M. Duarte Chávez**, (2012), *Síntesis y Caracterización de Fosfatos de Calcio por el método SOL-GEL*, Universidad Nacional de Asunción, p.p. 1-97.

[4] **M. Beltran, A. Marcilla**, (sa), *Estructura y Propiedades de los polímeros*, Tecnología de Polímeros, p.p. 1-54.

[5] C. Miriam Marín, (sa), Proceso de refinado de alúmina de la bauxita, p.p. 1-53.

[6] A. M. Herrera, Álvarez, O. Escobar, J. Moreno, V. Oliveira Jr. A. A. M. Hotza, D. (2012), *Fabrication and characterization of alumina foams for application in radiant porous burners*, Revista Materia, pp. 973-978.

[7] **M. Buciumeanu**, et al., (2018), *Tribological characterization of bioactive zirconia composite layers on zirconia structures*, Ceramics International 44, p.p. 18663–18671.

[8] **A. Zandi Karimia**, et al., (2018), *Crystallization behavior of combeite in 45S5 Bioglass*® *via controlled heat treatment*, Journal of Non-Crystalline Solids, Journal of Non-Crystalline Solids 502 p.p. 176-183.

[9] **M. Vallet-Regi**, (2010), *Biocerámicas: evolución y aplicaciones*, Investigación Química, Real sociedad Española de Química, p.p. 28-31.

[10] G. Muratore Moreno, J. S. Ojeda Castellano, P. ErdociaEguia, L. Carrasco Martínez, A. Chirino Cabrera, J. P. Rodríguez Alvarez, (2008), *Biomateriales Cerámicos*, Departamento Hospital Universitario Insular, XVII Jornadas Canarias de Traumatología y Cirugía Ortopédica, p.p.306-309.

[11] **T. Ramírez Ornelas, D. N. Urzúa Reyes, I. Zacarías Cabello,** (2011) "*materiales biocompatibles*", Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), pág. 6, recuperado de: <u>http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/exp_mat_biocompatibles_25781.pdf</u>

[12] **C. Godavitarne, J. Robertson,** (2017), *Biodegradable materials*, Journal Orthopaedics and Trauma, 31(5), p.p. 316-320.

[13] Z. Sheikh, S. Najeeb, Z. Khurshid, (2015), *Biodegradable materials for bone repair and tissue engineering applications*, Materials. MDPI AG., p.p. 5744-5794.

[14] **A. L. Sesman-Bernal y Cols,** (2007), *Actualidades en regeneración y remodelación ósea craneal*, Acta Pediátrica de México 183 Volumen 28, Núm. 5, p.p. 183-192.

[15] P. Tortolini, S. Rubio, (2012), Diferentes alternativas de rellenos óseos, Av Periodon Implant; 24, p.p. 133-138.

[16] **Y. González Beriau**, et al., (2016), *Osseointegration of Immediate Trans alveolar Implants*, Medisur volumen 14, p.p. 26-33.

[17] **H. Castro, O.E. Ledea**, (2011), *Determinación de la Bioactividad in vitro de la Polipapatita*, Bioingeniería y Física Médica Cubana, volumen 12, p.p. 30-34.

[18] L. Gonzalo Sequeda, et al., (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), p.p. 50-66.

[19] **R. Ruiz Santos**, (2016), *Desarrollo y Caracterización de Nanocompuesto PVA/HAp por Electrohilado y su Respuesta Biológica*, Centro de Investigación de Materiales Avanzados, p.p 1-120.

[20] S. Pramanik, A. K. Agarwal, et al., (2007), *Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process*, Ceramics International, 33(3), p.p. 419-426.

[21] H. G. Zhang, Q. Zhu, (2006), *Preparation of fluoride-substituted hydroxyapatite by a molten salt synthesis route*, Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 17(8), p.p. 691-695.

[22] C. Mochales, R. M. Wilson, S. E. Dowker, M. P. Ginebra, (2011), *Dry mechanosynthesis of nanocrystalline calcium deficient hydroxyapatite: Structural characterisation*, Journal of Alloys and Compounds, 509(27), p.p. 7389-7394.

[23] **B. Yeong, X. Junmin, J. Wang,** (2001), *Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite from calcium oxide and brushite*, Journal of the American Ceramic Society, 84(2), p.p. 465-467.

[24] **J. Pérez Gonzales**, (2012), *Síntesis de Biovidrios por la Técnica SOL-GEL con Incorporación de Metales y Estudio de sus Propiedades Antibacteriales*, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas, p.p. 1-63.

[25] **M. Sadat Shojai,** et al., (2013), *Synthesis Methods for Nanosized Hidroxyapatite with Diverse Structure*, Acta Biomaterial, 9(8), p.p. 7591-7621.

[26] **Y. Cocoletzi Mata**, (2016), *Caracterización Estructural, Microestructural y Química Durante el Proceso para Obtener Hidroxiapatita a partir de Hueso de Bovino*, p.p. 1-83.

[27] **Global Biotech Consulting Group**, (SA), *La Industria Pesquera en México*, Recuperado de: http://www.gbcbiotech.com/genomicaypesca/pesca_en_mexico.html

[28] **B. León**, Et al., (2009), *Thin Calcium Phosphate Coatings for Medical Implants*, Springer Science + Business Media, LLC, p.p. 26.

[29] Análisis No Destructivo para el Estudio In situ del Arte la Arqueología y la Historia,

(2015), *Técnicas Analíticas y equipos (Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier*), Universidad Nacional Autónoma de México, Recuperado de: <u>http://www.fisica.unam.mx/andreah/tecnicas_equipos/ftir.html</u>

[30] **A. K. Chatterjee**, (2001), *Learn more about X-Ray Diffraction*, Handbook of Analytical Techniques in Concrete Science and Technology, p.p. 275-332.

[31] **R. Moreno Esparza**, (2007), *Difracción de Rayos X y Densidad Electrónica*, Facultad de Química (UNAM), Recuperado de: <u>http://depa.fquim.unam.mx/jesusht/02-rayosX-difrac-SA.pdf</u>

[32] **J. Rigaku**, (2019), *Análisis XRD general para de identificación de fase/composición*, Recuperado: https://www.rigaku.com/es/products/xrd/miniflex/app005

[33] **N. Pineda Aguilar**, (2017), *Microscopia Electrónica de Barrido*, Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C, Recuperado de: <u>http://mty.cimav.edu.mx/sem/</u>

[34] A. Naik, (sa), Fundamentos del Microscopio Electrónico y su Aplicación en laInvestigaciónTextil,Recuperadode:https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099/6074/Article03.pdf

[35] **A. Fernández**, (2012), *Últimos avances en microscopía electrónica de transmisión y su contribución al estudio de los nanomateriales*, Universidad de Sevilla (Instituto de Ciencia de Materiales de Sevilla), p.p. 1-39.

[36] E. Mancilla-Sanchez, C.M. Gómez-Gutiérrez, G. Guerra-Rivas, et al., (2018), *Obtaining hydroxyapatite from the exoskeleton and spines of the purple sea urchin Strongylocentrotus purpuratus*. Int J Appl Ceram Technol, p.p. 1-6.