

## SÍNTESIS DE HIDROXIAPATITA POR SOL-GEL USANDO ÁCIDO CÍTRICO COMO SOLVENTE Y CITRATO DE CALCIO COMO PRECURSOR

Adriana Esguerra Arce<sup>1\*</sup>, Yesid Aguilar Castro<sup>1</sup>, Luisa F. Suarez<sup>1</sup>, William A. Aperador<sup>2</sup>

1: TPMR, Ingeniería de Materiales, Universidad del Valle. Cali, Colombia

2: Universidad Militar Nueva Granada. Bogotá, Colombia

\* Contacto: adriana.esguerra.arce@gmail.com

### RESUMEN

La hidroxiapatita en polvo se sintetizó por medio precipitación química a temperatura ambiente, a partir de citrato de calcio disuelto en ácido cítrico e hidrógeno-fosfato de amonio, a temperatura ambiente, variando la relación ácido cítrico a iones de calcio, la dilución de las soluciones y la relación molar Ca/P de los precursores. La identificación de fases y grupos funcionales se llevó a cabo por medio de DRX y FTIR, respectivamente; la relación Ca/P por EDS y la morfología resultante por medio de SEM. Se encontró que mientras más alta es la relación Ácido cítrico/[Ca<sup>+2</sup>] o mientras más diluidas son las soluciones, más alta es la relación Ca/P de las muestras resultantes y menos rugosidad presenta la superficie de las partículas.

**Palabras Clave:** *Hidroxiapatita, precipitación química, citrato de calcio.*

### ABSTRACT

HA was synthesized by a chemical precipitation method. Calcium citrate and ammonium phosphate were used as precursors under an acid citric water-based solution. The solutions employed to prepare the HA differ in molarity, citric acid/calcium source ratio and Ca/P ratio. Using scanning electron microscopy and elemental analysis, the surface characteristics and Ca/P ratio of the powder were investigated. Phases and functional groups were identified by DRX and FTIR, respectively. It was found that more diluted solutions and higher citric acid/[Ca<sup>+2</sup>] ratio causes higher Ca/P ratios in synthesized HA and smooth surfaces.

**Keywords:** *Hydroxyapatite, chemical precipitation, calcium citrate.*

### 1 INTRODUCCIÓN

Debido a que el hueso contiene 0.9% en peso de citrato [1], a que se ha observado que éste promueve la formación de la apatita e inhibe su crecimiento [2] –los cristales nanoscópicos de hidroxiapatita facilitan más la diferenciación de las células que los cristales microscópicos [3]-, a que el ácido cítrico posee una fuerte habilidad como quelante e influencia la osteoconductividad y mejora la biocompatibilidad [1, 2, 4], se propone sintetizar hidroxiapatita utilizando citrato de calcio e hidrógeno-fosfato de amonio como precursores de calcio y fósforo, respectivamente, usando como disolvente ácido cítrico, por medio del método de precipitación química, evaluando el efecto de la cantidad de disolventes en la microestructura, composición química y morfología.

## 2 MATERIALES Y MÉTODOS

Las soluciones empleadas para la preparación del polvo difieren en la concentración, la relación ácido cítrico:  $[Ca^{+2}]$ , así como en la relación Ca/P, como se muestra en la Tabla 1. Para la preparación, se procede a preparar la solución de ácido cítrico. Posteriormente, se agrega el citrato de calcio y se homogeniza. Después de 1 hora de homogenización se adiciona la solución de hidrógeno-fosfato de amonio con pH = 10 por adición de amoníaco. Esta solución se homogeniza por otra hora y, por último, se le adiciona una solución acuosa de NaOH 2M hasta alcanzar un pH de 11. Los precipitados obtenidos se enjuagan repetidamente con agua destilada hasta obtenerse un pH neutro.

La identificación de grupos funcionales se llevó a cabo por medio de Infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR, SHIMADZU FTIR-8400), llevando a cabo un barrido en longitud de onda de 400 a 4000  $cm^{-1}$ , y por medio de difracción de rayos X (DRX, X'pert HighScore Plus diffractometer) con radiación Cu-K $\alpha$  ( $\alpha = 1.5406\text{\AA}$ ) en el modo Bragg-Brentano. La morfología del polvo se analizó por medio de microscopía electrónica de barrido (SEM, JEOL JSM-649 OLV) y el contenido de Ca y P se determinó por medio de espectroscopía dispersiva de rayos X (EDS, JEOL JSM-649 OLV) sobre las muestras recubiertas con oro.

**Tabla 1.** Nomenclatura y composición de las soluciones precursoras

	Concentración sol. ácido cítrico [M]	Relación molar ácido cítrico: $Ca^{+2}$	Concentración sol. H-fosfato de amonio [M]	Relación Ca/P
<b>HA-0</b>	3.47	1.63	2.05	0.91
<b>HA-1</b>	2.23	2.10	1.53	0.68
<b>HA-2</b>	1.30	2.44	1.02	0.60

## 3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 Análisis microestructural

Los picos observados en los espectros de FTIR (Figura 1) muestran que las muestras consisten de hidroxiapatita carbonatada [2, 5]. Llevando a cabo el análisis de los espectros, puede observarse que al parecer hay un mayor ordenamiento [6] en las muestras a medida que la síntesis se lleva a cabo con soluciones menos diluidas, lo cual puede deberse a un mayor contacto químico entre las especies reactantes. Esto se infiere debido a que las muestras sintetizadas con soluciones menos diluidas muestran picos más intensos y claros.

La apatita biológica presente en el hueso natural contiene 7.4% en peso de carbonato. Las apatitas carbonatadas sintéticas se clasifican en A o B dependiendo del modo de sustitución del carbonato: tipo A si el grupo  $CO_3^{-2}$  sustituye al  $OH^-$ , o tipo B si el grupo  $CO_3^{-2}$  sustituye al  $PO_4^{-3}$ . Las apatitas biológicas son principalmente del tipo B. Por medio de los estudios de FTIR puede inferirse qué tipo de hidroxiapatita carbonatada se tiene: en las apatitas tipo B se observan bandas originarias de las vibraciones de estiramiento de los iones  $CO_3^{-2}$  a 1415 y 1450  $cm^{-1}$ ; cuando se

muestra la banda adicional a  $1515\text{ cm}^{-1}$  es del tipo AB (el grupo  $\text{CO}_3^{2-}$  reemplaza a ambos iones en HA sintéticas); y la banda a  $1550$  es característica de ambas, tipo B y tipo A [6].

Integrando las áreas de las bandas relacionadas con los grupos carbonato (HA-0,  $1357.6\text{-}1525.4\text{ cm}^{-1}$ ; HA-1,  $1364.4\text{-}1352.2\text{ cm}^{-1}$ ; HA-2,  $1364.4\text{-}1530.2\text{ cm}^{-1}$ ) y fosfato (HA-0,  $900.6\text{-}1300.8\text{ cm}^{-1}$ ; HA-1,  $906.4\text{-}1300.8\text{ cm}^{-1}$ ; HA-2,  $914.1\text{-}1300.8\text{ cm}^{-1}$ ) y calculando la relación entre ambas áreas puede tenerse una idea de la cantidad de grupos carbonato en la HA. La muestra 1 presenta una relación de 0.30. Posteriormente, llevando a cabo la síntesis con soluciones de hidrógeno-fosfato de amonio y citrato de calcio más diluidas, esta relación baja hasta 0.20. Sin embargo, llevando a cabo la síntesis con soluciones más diluidas, este valor sube hasta 0.40.

En la figura 2 se muestra el difractograma de la muestra HA-0, donde se observa que todos los picos de difracción coinciden con la hidroxiapatita. Además se observa presencia de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ .

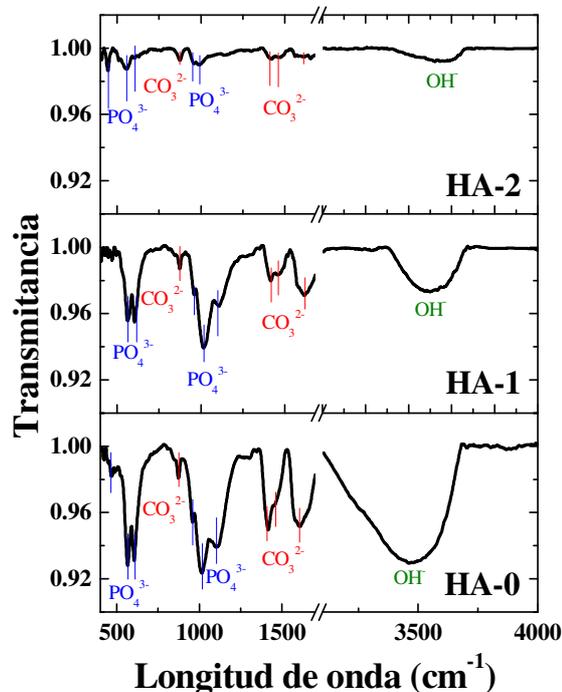


Figura 1. Espectros FTIR de las muestras

### 3.2 Análisis de la relación Ca/P

A partir de los espectros EDS, se observa que las muestras están compuestas de calcio, fósforo, oxígeno y sodio (el hidrógeno no es captado por la sonda EDS debido a que es un elemento muy ligero). La presencia del sodio se debe a la utilización del NaOH en el último paso de la preparación de las muestras. El contenido de sodio es de 2.47, 2.93 y 1.61% en peso para las muestras HA-0, HA-1 y HA-2, respectivamente, observándose una relación directa de la relación Ca/P con el contenido de sodio. En la Figura 3 se observa el comportamiento de la relación Ca/P resultante en las muestras de hidroxiapatita con respecto a la relación Ca/P en la mezcla

precursora y la relación ácido cítrico a iones de calcio. Puede verse que la relación Ca/P en la mezcla precursora no es la misma que en la hidroxiapatita sintetizada, y que no hay relación directa de ésta con la relación Ca/P resultante. Sin embargo, sí puede observarse una relación directa entre la relación de ácido cítrico a iones de calcio y la relación Ca/P resultante, ya que mientras más alta es la relación de ácido cítrico a iones de calcio, más alta es la relación Ca/P resultante. También se observa una relación directa de la relación Ca/P resultante con la acidez, lo cual es coherente con lo reportado por Vijayalakshmi y Rajeswari [7], quienes reportan que las soluciones más ácidas disminuyen la relación Ca/P. Cualquier sustitución de los iones fosfato por iones carbonato tiende a incrementar la relación Ca/P. Sin embargo, no se observa una relación directa de la relación iones carbonato a fosfato con la relación Ca/P. Esto puede deberse a la presencia de otras fases, como la  $\text{Ca(OH)}_2$  que se observa en la figura 2.

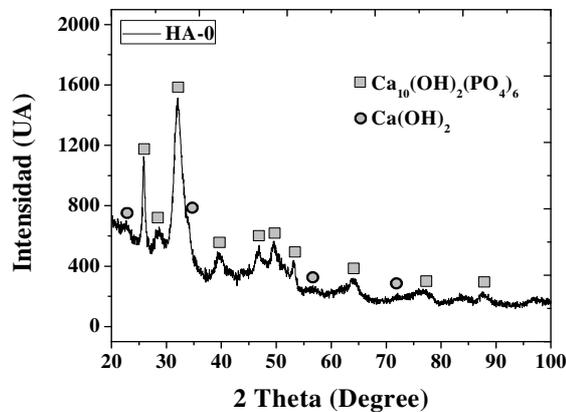


Figura 2. Difractograma de la muestra HA-0

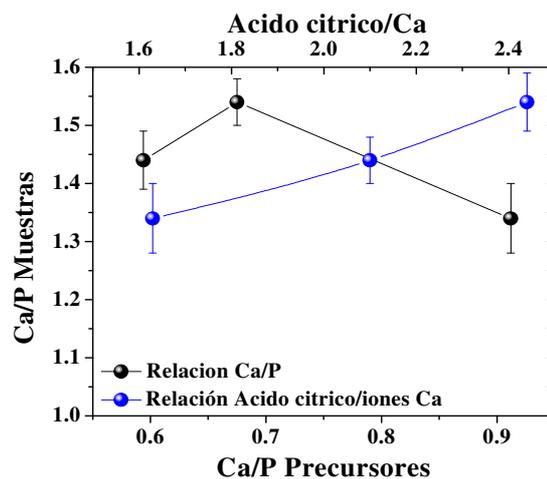
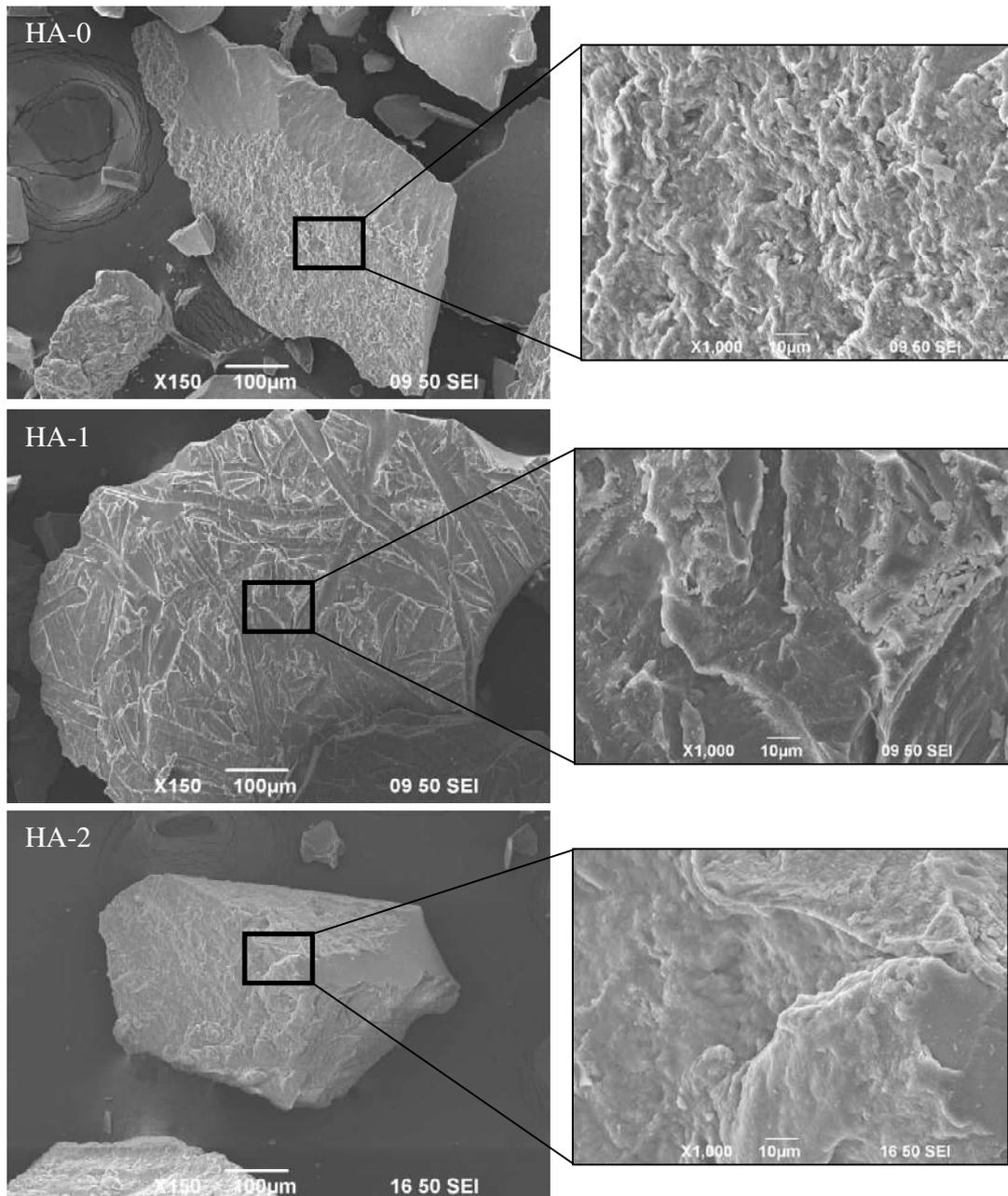


Figura 3. Comportamiento de la relación Ca/P resultante con respecto a la relación Ca/P en la mezcla precursora y la relación ácido cítrico a iones de calcio.

### 3.3 Análisis morfológico

En la Figura 4 se muestra la morfología de las partículas de HA, las cuales son angulosas y cuyos tamaños varían en el rango de los milímetros y los micrómetros. Puede observarse que a medida que la relación  $\text{Ácido cítrico}/[\text{Ca}^{+2}]$  se hace mayor, o a medida que las soluciones precursoras son más diluidas, la superficie de las partículas se hace menos rugosa.



**Figura 4** Morfología de las partículas por SEM

#### **4 CONCLUSIONES**

Con este trabajo se encontró que es posible llevar a cabo síntesis de HA a partir de citrato de calcio, que es uno de los componentes naturales del hueso, utilizando ácido cítrico como disolvente y agente quelante, que también es un compuesto natural, siendo producto normal del metabolismo de prácticamente todos los organismos aerobios. De igual manera la síntesis de la HA se puede llevar a cabo a temperatura ambiente, sin necesidad de utilizar hornos en el proceso de envejecimiento, lo cual disminuye el costo del proceso.

Aunque en algunos trabajos se establece que la relación Ca/P de la solución precursora es la misma que en la HA resultante, en este trabajo no se encontró una relación directa. Al contrario, se encontró que la relación Ca/P se incrementa con la relación Ácido cítrico a iones de calcio o mientras más diluidas son las soluciones.

Por último, se encontró que mientras más alta es la relación ácido cítrico a iones de calcio o mientras más diluidas son las soluciones, menos rugosidad presenta la superficie de las partículas, lo cual no es bueno en el caso de la adhesión celular, ya que, por lo general y dependiendo del rango, superficies más rugosas permiten mayor adhesión celular y promueven la diferenciación de los osteoblastos más efectivamente que superficies menos rugosas.

#### **5 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Khaled R. M., “In vitro properties of nano-hydroxyapatite/chitosan biocomposites”, *Ceramics International*, Vol. 37, N° 8, 3265–3271, 2011.
2. Peña J., “Room temperature synthesis of chitosan/apatite powders and coatings”, *Journal of the European Ceramic Society*, Vol. 26, N° 16, 3631–3638, 2006.
3. LI J., “Surface characterization and biocompatibility of micro- and nano-hydroxyapatite/chitosan-gelatin network films”, *Materials Science and Engineering C*, Vol. 29, N° 4, 1207–1215, 2009.
4. Yokoyama A., “Development of calcium phosphate cement using chitosan and citric acid for bone substitute materials”, *Biomaterials*, Vol. 23 N° 4, 1091–1101, 2002.
5. Rapacz-Kmita A., “FTIR and XRD investigations on the thermal stability of hydroxyapatite during hot pressing and pressureless sintering processes”, *Journal of Molecular Structure* Vol. 744–747, 653–656, 2005.
6. Slosarczyk A., “FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods”, *Journal of Molecular Structure* Vol. 744–747, 657–661, 2005.
7. U. Vijayalakshmi Natarajan, S. Rajeswari, Influence of calcium precursors on the morphology and crystallinity of sol-gel derived hydroxyapatite nanoparticles, *Journal of Crystal Growth*, Vol. 310, 4601–4611, 2008.