

COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

PROGRAMA DE POSTGRADO EN EDAFOLOGÍA

SORCIÓN DE PLOMO EN NANOPARTÍCULAS DE
HIDROXIAPATITA EN LIXIVIADOS Y RESIDUOS
DE MINA

GIOVANNI ORTIZ CAZARES

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

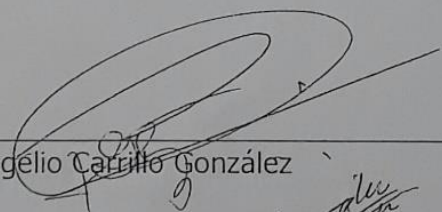
2017

La presente tesis titulada: **Sorción de plomo en nanopartículas de hidroxapatita en lixiviados y residuos de mina** realizada por el alumno: **Giovanni Ortiz Cazares** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
EDAFOLOGÍA

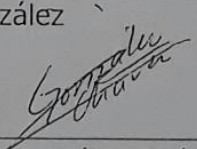
CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



Dr. Rogelio Carrillo González

ASESORA



Dra. Ma. del Carmen A. González Chávez

ASESOR



Dr. Jaime López Luna

Montecillo, Texcoco, Estado de México, junio de 2017

SORCIÓN DE PLOMO EN NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA EN LIXIVIADOS Y RESIDUOS DE MINA

Giovanni Ortiz Cazares, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2017

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de nanopartículas de hidroxiapatita (nHAP) en la inmovilización de plomo (Pb) y otros metales en lixiviados y residuos de mina. Se compararon dos procedimientos de síntesis de nHAP: biológico y de precipitación química. Se ajustaron los métodos de síntesis para obtener tamaño de partícula menor a 100 nm. Se analizaron algunas de las propiedades físico-químicas como tamaño, forma, estabilidad y espectro de difracción, y al final se determinó la toxicidad de los nanomateriales usando semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*) como planta indicadora. Posteriormente, las nHAP se usaron para disminuir la disponibilidad de metales en dos sistemas: en un sistema ideal (isoterma monoelemento de Pb) y en sistemas reales (residuos y lixiviados de mina recolectados de pasivos ambientales oxidados en Zimapán, Hgo). Se logró obtener nanopartículas menores a 100 nm mediante la ruta de precipitación química. Estas nHAP no presentaron efectos tóxicos en semillas de lechuga (*Lactuca sativa L.*). En un sistema monoelemento se obtuvieron altos valores de adsorción de Pb (1, 253 mg L⁻¹). En sistemas reales como residuos y lixiviados de mina, la sorción de Pb y otros elementos disminuyó, debido a las condiciones particulares de cada uno de ellos. Dependiendo de la concentración de los iones en el sistema se observaron procesos de solubilización o desorción de metales. Esto resalta la importancia de caracterizar completamente los sistemas a remediar, así como diseñar un sistema estándar de manejo para cada uno.

Palabras clave: Adsorción, estabilización, precipitación química, residuos de mina.

LEAD'S SORPTION ON HYDROXYAPATITE NANOPARTICLES FROM LEACHATES AND MINE WASTES

Giovanni Ortiz Cazares, M. en C.

Colegio de Postgraduados, 2017

ABSTRACT

The aim of this research was to analyze sequestration of lead and other metals from leachates and mine tailings by nanoparticles of hydroxyapatite (nHAP) under laboratory conditions. Two procedures for nHAP synthesis were tested: chemical precipitation and biological synthesis in order to obtain particles with size lower than 100 nm. Size, form and X ray diffraction were measured in these particles, a toxicity test was also performed in lettuce (*Lactuca sativa L.*). nHAP were used for lead sequestration from two kind of experiments: in an ideal mono-element solution and from mine leachates and tailing wastes sampled at Zimapan, Hgo. Nanoparticles smaller than 100 nm were synthesized using the chemical precipitation procedure. No toxicity in seeds of lettuce was observed up when exposed to 1000 mg kg⁻¹ of nHAP. In the ideal monoelement system, the maximum Pb adsorption rate was 1 253 mg L⁻¹. Metal salt solubilization and metal desorption may occur in the real system depending of ion composition of the mine wastes. It is important a proper waste characterization to be remediate and design a standard procedure for their management.

Keyword: Adsorption, stabilization, precipitation, mine tailings, leachates.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente apoyado con fondos del proyecto de investigación *Atlas de riesgo y vulnerabilidad por la dispersión de metales pesados por viento y lixiviados de residuos de mina*” con clave: PDCPN1023-01-215241, financiado por el CONACYT.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de Maestría.

Al Colegio de Postgraduados y al Programa de Edafología por brindarme la oportunidad de continuar mi desarrollo profesional.

A todo mi Consejo Particular, por su invaluable apoyo y asesoría para la realización de este proyecto, así como la oportunidad brindada para participar en distintos eventos académicos.

Al M. C. Jaime Cruz Díaz y al C. Bibiano Ramírez Vega por todo su apoyo dentro del laboratorio de química de suelos.

Al Dr. Antonio Vázquez Alarcón, por haber sido fuente de inspiración para iniciarme en este nuevo camino.

A todos mis amigos, por todos los años que han permanecido a mi lado apoyándome, aún en la distancia.

A toda mi familia, por ser lo mejor que tengo.

DEDICATORIAS

A la memoria de mi abuelito Guillermo Ortiz Barrera[†] por todo el amor que me diste hasta el último de tus días. Siempre estarás en mi corazón.

A la memoria de mi tío Rafael Téllez Zamora[†] tu pronta partida nos dejó con una profunda tristeza, sin embargo de ti nos queda el trabajo constante, luchando contra las adversidades, buscando un futuro mejor.

A mi niño Mario Barranco Ortiz, por tu amor incondicional. Por ser el motivo de seguir adelante cada día. Por tu alegría que ilumina mis días.

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
LISTA DE FIGURAS	ix
LISTA DE CUADROS	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.1. NANOTECNOLOGÍA COMO TECNOLOGÍA EMERGENTE	3
1.2. PROBLEMÁTICA AMBIENTAL	9
1.3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	14
1.4. OBJETIVO GENERAL	14
1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
1.6. HIPÓTESIS GENERAL	15
1.7. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS.....	15
1.8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
CAPÍTULO II. SÍNTESIS Y TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA EN PLANTAS DE LECHUGA ITALIANA	22
2.1. INTRODUCCIÓN	23
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
2.4. CONCLUSIONES.....	47
2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48

CAPÍTULO III. ADSORCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE METALES POR NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA.....	53
3.1. INTRODUCCIÓN	54
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	55
3.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS	60
3.4. CONCLUSIONES.....	75
3.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76
4. DISCUSIÓN GENERAL.....	80
4.1 CONCLUSIONES GENERALES	85
4.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	85

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 Forma y tamaño de partículas de hidroxiapatita obtenidas por síntesis biológica	30
Figura 2.2. Forma y tamaño de nHAP obtenidas por síntesis química..	32
Figura 2.3. Eficiencia del método químico de síntesis de nHAP..	35
Figura 2.4. Análisis elemental de partículas mediante microanálisis EDAX.....	37
Figura 2.5. Patrones de difracción de rayos X de las muestras sólidas de partículas sintetizadas mediante los métodos químico (nHAP) y biológico.	38
Figura 2.6. Patrón de referencia de apatita con sustituciones de grupo sílice.	40
Figura 2.7. Espectro de infrarrojo (FTIR) de partículas de hidroxiapatita.	42
Figura 2.8. Concentración total de P ₂ O ₅ de los distintos minerales utilizados.....	43
Figura 2.9. Solubilidad acumulada de fósforo (P ₂ O ₅) de los minerales utilizados.....	44
Figura 3.1. Isotermas de sorción de plomo.....	62
Figura 3.2. Sorción de hierro en lixiviados de mina usando nHAP.	68
Figura 3.3 Caracterización química de sustratos.....	69
Figura 3.4. Concentración inicial de metales extractables en sustratos.....	71
Figura 3.5. Estabilización de concentración de plomo en distintos sustratos mediante aplicación de soluciones fosforadas.	73
Figura 3.6. Variación natural de la concentración extractable de plomo en los sustratos debida a los ciclos de humedecimiento y secado.....	74
Figura 4.1. Reacciones posibles de las nanopartículas introducidas al agua o al suelo.	83

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.1. Iones contaminantes retenidos por materiales con tamaño nanométrico.....	6
Cuadro 1.2. Diversas substituciones en minerales de hidroxiapatita.	8
Cuadro 2.1. Variación de las propiedades físicas y químicas de la hidroxiapatita en solución durante el proceso de estandarización.	34
Cuadro 2.2. Parámetros cristalográficos de partículas de hidroxiapatita.	39
Cuadro 3.1. Descripción de tratamientos para sorción de metales contenidos en lixiviados de mina usando nHAP.....	57
Cuadro 3.2. Retención de humedad para los sustratos a punto de marchitez permanente (PMP) y capacidad de campo (CC).....	59
Cuadro 3.3. Concentración inicial de iones solubles en lixiviados de mina.....	64
Cuadro 3.4. Concentración inicial de metales solubles en las mezclas de cada tratamiento (expresada en mg L-1).....	65
Cuadro 3.5. Remoción de metal (expresada en porcentaje) por cada tratamiento.....	66

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los problemas sobre deterioro ambiental son cada vez más conspicuos tanto en la atmósfera, hidrosfera y geosfera, con las implicaciones respectivas en la biosfera. Entre estas dificultades que modifican la calidad ambiental se tiene el incremento de la concentración de metales, que por no ser degradables deben removerse del ambiente o transformarse a formas estables o no accesibles a los organismos. La actividad minera es una de las fuentes principales de contaminación por metales. Los residuos abandonados a la intemperie que son denominados pasivos ambientales, liberan en proporción variable distintos elementos. Esto afecta a ecosistemas y personas que se exponen en diferente grado a esos contaminantes. La búsqueda de soluciones prácticas ha ocupado la atención de diversos grupos de investigación. Entre las opciones emergentes que se han explorado en otros países, la aplicación de materiales en tamaño nanométrico parece ser una opción viable. Sin embargo, antes de recomendar su uso es necesario tener información científica sobre su efectividad y eficiencia; comportamiento en el ambiente y efectos directos e indirectos en los organismos. A la fecha se carece de mucha información básica, dado que las propiedades de estos materiales pueden cambiar dependiendo los métodos de obtención. A pesar de que los constituyentes químicos de los nanomateriales son en general muy bien conocidos y los mismos que en su forma a granel, sus propiedades a nivel nanométrico pueden ser completamente diferentes a las que presentan en tamaño macro. Esto implica el desarrollo e implementación de diversas metodologías para evaluar el riesgo asociado a la exposición el ambiente.

El vasto número de aplicaciones y la cantidad de variables que influyen en las propiedades de los nanomateriales dificultan la elaboración de protocolos para su manejo (Forloni,

2012). Una de esas aplicaciones es la remoción de contaminantes del ambiente, tanto de agua como de suelos, para reducir el riesgo de exposición aguda y crónica. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de nanopartículas de hidroxiapatita para disminuir la concentración de metales en residuos y lixiviados de mina, además de evaluar su toxicidad en lechuga.

En el Capítulo 1 se presenta una breve revisión de literatura acerca de la problemática ambiental derivada de las actividades mineras, el desarrollo histórico de la nanotecnología, ventajas, desventajas y aplicaciones a la remediación de sitios contaminados por metales provenientes de residuos de mina.

En el Capítulo 2 se presenta el procedimiento de la síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita por los métodos biológico y precipitación química; se incluye la caracterización físico-química y se analiza su toxicidad en semillas de lechuga.

En el Capítulo 3 se presenta una evaluación primigenia de las nanopartículas de hidroxiapatita, sintetizadas por el método de precipitación química (nHAP), para remover iones metálicos de lixiviados de residuos de mina y suelos contaminados, previa determinación del potencial máximo de adsorción en un sistema ideal a través de isotermas de adsorción monoelemento.

CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. NANOTECNOLOGÍA COMO TECNOLOGÍA EMERGENTE

1.1.1 Introducción

Históricamente, el nacimiento de la nanotecnología se le acredita al Prof. Richard Feynman. Ésta fue reconocida por primera vez como una tecnología con grandes oportunidades para solucionar problemas de áreas como la física, química o biología; en una conferencia impartida el 29 de diciembre de 1959; durante la reunión anual de la Sociedad Americana de Física. La ponencia de Feynman llevaba el nombre de *There's Plenty of Room at the Bottom. An invitation to enter a new field of physics*. Sin embargo, la física y química de coloides (que actualmente se sabe también funcionan de la misma forma con sistemas nanométricos) había tenido ya muchos aportes a esta línea de investigación.

Entre las contribuciones más importantes está el libro *The world of neglected dimensions* del químico Wolfgang Ostwald (Ostwald, 1917). Sin embargo, la importancia de Feynman en el nacimiento de la nanotecnología radica en la divulgación de su visión a futuro, para manipular átomos y moléculas de manera individual.

Posterior a esto, fue Norio Taniguchi quien usó por primera vez en 1974 el término nanotecnología, con la siguiente definición: Es el procesado, separación, consolidación y deformación de materiales átomo por átomo, molécula por molécula (Taniguchi, 1975).

Por último, tenemos la aportación de Eric Drexler quien en 1986 en su libro *Motores de la Creación: la próxima Era de la Nanotecnología* utilizó el término nanotecnología de manera independiente a la definición de Taniguchi. Él propuso la idea de moléculas con

propiedades de autoensamblado a escala nanométrica, capaces de replicarse a sí mismas y de producir otras moléculas con distintas complejidades.

Actualmente se acepta como definición de nanotecnología Aquella tecnología que trabaja en la nanoescala. La nanoescala corresponde a nanómetros: 1×10^{-9} metros. Así que se consideran nanopartículas a aquellas estructuras que al menos una de sus dimensiones posee tamaño menor a los 100 nm. A esta escala alguna de las propiedades de la materia cambian, lo que en teoría; las hace más reactivas.

1.1.2 La importancia de la nanotecnología

Existen muchas razones por las cuales en años recientes el trabajo a nanoescala ha tomado gran importancia:

- El efecto cuántico que ocurre en partículas con tamaño menor a 100 nm permite magnificar o cambiar las propiedades de un mismo material, sin necesidad de modificar su composición química. Estos cambios pueden ser en las propiedades térmicas, magnéticas, ópticas, eléctricas o mecánicas.
- Los materiales a nanoescala pueden autoensamblarse, ya sea con fines de réplica del mismo material o de producción de un material distinto.
- Los materiales en la nanoescala presentan una relación superficie/volumen muy grande. A menor tamaño, mayor es la superficie externa y, por tanto, mayor la reactividad (Mansoori, 2005).

La nanociencia y nanotecnología han dado un giro extraordinario a la ciencia de los materiales, la electrónica, la medicina, la industria de la energía y poco a poco su aplicación se extiende en ciencias de la vida, agricultura y ambiente (Carrillo-González *et al.*, 2014).

La nanotecnología es la primer iniciativa de investigación del siglo XXI (Mangematin y Walsh, 2012). Las repercusiones del uso de materiales a nivel nanométrico pueden ser directas e indirectas. Entre las directas está la reducción drástica del tamaño de los bienes y con ello disminución de la materia prima para su elaboración. Mientras, en las repercusiones indirectas está la disminución de residuos de la industria que usa materiales en tamaño nano. Ahora ya se habla de aplicaciones en tecnologías de combustibles y energía, filtros y materiales para el monitoreo, así como en la manufactura de materiales sensibles (Hannah y Thompson, 2008), y cada vez se exploran nuevas aplicaciones para prevenir o solucionar problemas ambientales.

Existen nanopartículas de forma natural en el ambiente, las cuales presentan las siguientes propiedades cuando se encuentran en el suelo:

- Superficie específica extensa
- Alta reactividad química
- Están dispersas en el solvente
- Comportamiento coloidal: movimiento browniano constante
- Alta capacidad de absorción de agua
- Alta habilidad de adsorción de compuestos orgánicos
- Semejanza a partículas más pequeñas (Braunschweig *et al.*, 2013), comportamiento cuántico.

En general, la alta reactividad y especificidad de reacción con ciertas moléculas o elementos son las principales ventajas del uso de las nanopartículas, además de la reducción de los costos en materia prima requerida. Su reactividad es una propiedad que se puede

aprovechar para hacerlas reaccionar con moléculas persistentes en el ambiente y tener uso útil en la resolución de problemas específicos.

Aún hay preguntas sin respuesta, respecto a la utilidad de la nanotecnología para limpiar el ambiente (Kuiken, 2010). Así algunas nanopartículas se han propuesto para atrapar moléculas xenobiótico como el tolueno (Golub *et al.*, 2003), remover iones metálicos del agua contaminada superficial (Cundy *et al.*, 2008) y agua subterránea (Hashim, Mukhopadhyay *et al.*, 2011). Ya se ha demostrado la funcionalidad de varios compuestos nanométricos, para la remoción de iones contaminantes (Cuadro 1.1), con una eficiencia variable.

Cuadro 1.2. Iones contaminantes retenidos por materiales con tamaño nanométrico.

Nanosorbentes	Ligante	Metal	Capacidad Adsorción	Referencia
Mesoestructura de Si	NH ₂	Cu	0.5 mmol g ⁻¹	Kim <i>et al.</i> , 2003
Magnetita		Cr	30 mg g ⁻¹	Wei <i>et al.</i> , 2009
Mortmotillonita	AlO, SO	Cr	15.3 mg g ⁻¹	Yuan <i>et al.</i> , 2009
Fe ₃ O ₄	NH ₂	Cr	83.3 mg/ g ⁻¹	Pang <i>et al.</i> , 2011
FeOOH		Cr	25.8 mg g ⁻¹	Hu <i>et al.</i> , 2007
Óxidos de Fe		As, Cr	5.3 mg g ⁻¹	Li y Zhang, 2006
Hidróxidos de Fe		As, Cr	8 mg g ⁻¹	Pradeep y Anshup, 2009
Fe ₃ O ₄	Si-OH	Pb	90% de Pb	Ambashta y Sillanpää, 2010
Amino-Fe ₃ O ₄	NH ₂	Cu	12.4 mg g ⁻¹	Huang y Chen, 2009
Hidroxiapatita/dióxido de manganeso		Pb	769 mg g ⁻¹	Dong <i>et al.</i> , 2010

1.1.3 Desventajas del uso de nanomateriales

Debido a su amplio uso, los nanomateriales han suscitado gran preocupación por los efectos adversos que puedan tener en el ser humano y en el ambiente. Debido a su pequeño tamaño, éstos pueden atravesar la piel o la barrera hematoencefálica. Se ha establecido la hipótesis que en contacto con el medio que les rodea lograrían tener infinidad de reacciones dependiendo del tipo de nanomaterial, del medio (agua, aire, suelo) y las condiciones atmosféricas (temperatura y humedad). Pero aún muchas de estas posibles desventajas no se han comprobado o refutado. Por esto es necesario hacer investigación de sus reacciones y estabilidad en el medio antes de recomendar su uso a escala mayor.

Dado esto, se encuentra necesario evaluar los riesgos que suponen la aplicación de las nuevas tecnologías sobre el ambiente y el ser humano, esto para manejar adecuadamente los riesgos involucrados (Frejo *et al.*, 2011). Uno de los materiales que presenta menores desventajas para su uso industrial es la hidroxiapatita. Este mineral presenta baja solubilidad en agua y alta estabilidad bajo condiciones reductoras y oxidantes, lo que disminuye los riesgos al ambiente provocados por su uso y disposición final (Krestou, 2004).

1.1.4 Hidroxiapatita como material nanométrico

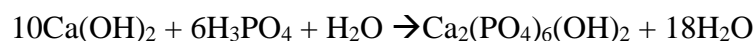
La hidroxiapatita se puede representar con la siguiente fórmula general $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ o $M_5(ZO_4)_3X$ en donde los elementos M, Z y X pueden ser algunos de los mostrados en el Cuadro 1.2. La hidroxiapatita tamaño nanométrico se puede sintetizar de varias formas. Se pueden usar métodos húmedos (entre los que está la precipitación química),

electroquímicos, de crecimiento de vapor, aspersión térmica, por precipitación química con (Cao *et al.*, 2015) y sin radiación de microondas (Rivera *et al.*, 2011).

Cuadro 1.3. Diversas sustituciones en minerales de hidroxiapatita.

M	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Mn ²⁺ , Fe ²⁺ , Zn ²⁺ , Cd ²⁺ , Pb ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Al ³⁺
ZO ₄	PO ₄ ³⁻ , AsO ₄ ³⁻ , VO ₄ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻ , SiO ₄ ⁴⁻ ,
X ₂	F ₂ ⁻ , Cl ⁻ , Br ₂ ⁻ , O ²⁻ , (OH) ₂ , CO ₃ ²⁻

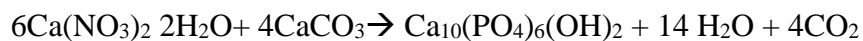
Por ejemplo: al reaccionar ácido fosfórico con sales de calcio, de acuerdo a la siguiente reacción:



Otro ejemplo es por la reacción con sales de amonio, con base en la siguiente forma:



En la síntesis biológica se podrían aprovechar los huesos de pescado o de res que se desechan (Boutinguiza *et al.*, 2012), logrando una síntesis verde. Por este procedimiento se puede obtener un material cuya fórmula general es (Ca, M)_{9.63}(PO₄)_{5.25}(CO₃)_{0.75}(OH)₂. Para fines de investigación es necesario elegir un procedimiento que permita obtener el material suficiente y en tiempo relativamente corto para cumplir con el objetivo. La reacción se puede representar como sigue:



También se puede sintetizar por combustión a partir de cáscara de huevo (Velez *et al.*, 2014). Para obtener tamaños uniformes y repetibles es necesario optimizar el procedimiento

de síntesis de nanopartículas (Sadat Shojai *et al.*, 2013). Además se pueden obtener especies químicas puras (Ferraz *et al.*, 2004); combinadas (Montazeri *et al.*, 2011) o dopadas para mejorar algunas de sus propiedades (Lee y Shofner, 2013). También en micellas (Wu y Bose, 2005) y para aplicaciones diversas (medicina principalmente). Pero, la aplicación a temas ambientales y agrícolas no se ha explorado suficientemente en México. Por ello es importante mencionar que el procedimiento de síntesis define la forma, algunas de propiedades (Lin *et al.*, 2013) y funciones (Lin *et al.*, 2008).

1.2. PROBLEMÁTICA AMBIENTAL

México cuenta con una superficie aproximada de 2 millones de kilómetros cuadrados, en la cual habitan 119 millones 530 mil 753 personas. A pesar de ser un país con una superficie *per capita* muy grande, éste se ha visto sometido a presiones importantes por el crecimiento poblacional. Lo cual se asocia a las limitantes intrínsecas, orografía y el clima. Entre los años de 1970 y 2000, la población mexicana prácticamente se duplicó.

En México se ejerce fuerte presión sobre los recursos naturales debido al excesivo crecimiento demográfico, las emisiones nocivas al ambiente (en aire, agua y suelos) en las áreas urbanas y la persistente depredación de los recursos naturales por parte de la población rural (Pérez Calderón, 2010).

Los principales recursos naturales que han tenido un incremento en la demanda son los mineros y los energéticos (Doménech, 1999), con el modelo actual de saqueo desde fuera del país, aquí sólo quedan los desechos. Éstos además sufren diversos procesos de transformación industrial que aumentan la demanda de otros recursos como el agua.

Derivado de los procesos de extracción y transformación para producir bienes de consumo, se liberan al ambiente gran número de sustancias que se convierten en contaminantes para la naturaleza, que además presentan una alta persistencia en el ambiente.

Dentro de los contaminantes que se consideran prioritarios en México debido a su alta toxicidad y a su persistencia en el ambiente tenemos a los: a) orgánicos (dioxinas, furanos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados, plaguicidas organoclorados e hidrocarburos poliaromáticos, principalmente) y b) inorgánicos (metales como mercurio, plomo, cadmio y cromo principalmente y los metaloides) (Volke Sepúlveda y Velasco Trejo, 2002).

1.2.1 Fuentes de contaminantes

Existen tanto fuentes naturales como antropogénicas, siendo éstas últimas las más importantes. Las principales fuentes antropogénicas y sus respectivos contaminantes se pueden resumir como sigue:

- Agricultura y ganadería: plaguicidas, CH₄, NH₃, SH₂, N₂O, NO₃, HPO₄, metales (en fertilizantes y plaguicidas), compuestos orgánicos volátiles (COV) y purines
- Generación de electricidad: CO, CO₂, NO_x, SO_x, hidrocarburos poliaromáticos (PAH), partículas suspendidas (PS) y metales
- Transporte: hidrocarburos, CO, CO₂, NO_x, SO_x, PAH, PS, COV, dioxinas, nitrato de peroxiacetilo (PAN), O₃ y metales (como el plomo de las gasolinas)
- Minería: metales, PS, SO_x, NO_x, CO, CO₂, CN y aguas ácidas
- Metalurgia: PS, metales, COV, aguas ácidas y disolventes
- Industria química y electrónica: COV, metales, CN, disolventes, CO, CO₂, NO_x, SO_x, clorofluorocarbonos, SH₂, NO₂, y SO₃

- Tratamiento de residuos: CO₂, CH₄, SO_x, NO_x, PS, dioxinas, metales, COV, bifenilos policlorados y PAH (Doménech, 1999)

1.2.2 Minería y residuos de mina

México es un país con abundantes recursos minerales, lo que ha marcado su tradición minera. Entre los principales tipos de yacimientos que se han explotado destacan los epitermales (en Taxco, Guanajuato, Pachuca, Zacatecas, Santa Bárbara, entre otros). Los de metasomatismo de contacto o skarn (Charcas, Zimapán, La Paz, San Martín, por mencionar algunos). Los sulfuros masivos vulcanogénicos (Tizapa, Rey de Plata, etc), y yacimientos del tipo pórfido cuprífero (La Caridad, Cananea, etc. Romero y Ruíz, 2010)

En la década de 1990, la industria minera global experimentó una expansión sin precedentes. Esta expansión fue resultado del aumento de precios de los minerales en respuesta a la creciente demanda promovida por las instituciones financieras internacionales, las cuales favorecieron la privatización y permitieron el ingreso de inversiones extranjeras en la explotación de recursos naturales, antes inaccesibles (Cohen, 2015).

Con mayor inversión, se avanzó en la tecnología en la industria minera mundial; lo que propició la introducción en México de procesos metalúrgicos como la flotación y la cianuración a inicios del siglo XX. Esto permitió explotar mayores volúmenes de minerales con valor comercial; sin embargo, también propició la generación de mayor cantidad de residuos, entre los que destacan los denominados jales (Romero y Ruíz, 2010), colas, relaves, entre otros nombres.

En las últimas décadas se ha aumentado la superficie nacional dada en concesión para la extracción de minerales, subiendo a la cifra oficial de 28% de la superficie del territorio nacional (Armendariz Villegas *et al.*, 2015). Por lo que la generación de residuos va en aumento, en contraste con la implementación de medidas de control que prácticamente continúan siendo las mismas.

Estos residuos se desechan en los suelos cercanos a la mina, lo cual conduce a diversos riesgos ambientales. El principal factor de riesgo es la presencia de sulfuros metálicos que se oxidan al ser expuestos al aire y al agua de lluvia. Los productos de lixiviación derivados de cambios en el ambiente (Jonathan *et al.*, 2010) afectan los suelos aledaños y los cuerpos de agua cercanos (Johnson y Halberg, 2005).

En el caso particular de Zimapán, existen residuos depositados hace 60 años; los cuales ya se encuentran oxidados y generan lixiviados que fluyen directamente al río Tolimán. Los residuos de mina más recientes (San Miguel Nuevo y San Miguel Viejo) aún no han sufrido procesos intensos de oxidación, sólo están parcialmente oxidados. Sin embargo, al no tener una cubierta protectora, las partículas se dispersan por el viento hacia suelos circundantes o hacia el mismo río y se humedecen en el periodo lluvioso con la paulatina oxidación. De esta forma, el suelo y el agua se contaminan por metales como cadmio, plomo o zinc (Espinosa *et al.*, 2009).

Los lixiviados procedentes de los residuos oxidados (también llamados drenaje ácido de mina) presentan sus efectos perjudiciales en tres áreas: a) Contaminación de agua potable, b) interrupción en el crecimiento y la reproducción de plantas y animales debido a su toxicidad y c) efectos de corrosión por acidez en infraestructuras como puentes (DeNicola y Stapleton, 2002).

Para resolver esta problemática, existen tecnologías con tratamientos pasivos y activos. Los primeros no requieren adición de energía o materia (utilizan procesos naturales derivados de actividad microbiana o especies vegetales). Mientras que los activos, requieren adición de energía y diversos compuestos. La tecnología a usar en la remediación depende de los siguientes factores: a) grado de contaminación, b) materiales químicos o biológicos necesarios para la remediación c) tamaño del sistema a remediar, d) los estándares de calidad que sean necesarios alcanzar y e) la factibilidad económica. Este último punto ha sido el argumento predominante entre los propietarios de las minas para no tratar los residuos. No es económicamente factible dar tratamiento a los residuos de mina, porque los grandes volúmenes que se manejan harían incosteable a la industria. Es por ello que casi siempre son abandonados a la intemperie, sin importar las consecuencias ambientales, ni de salud pública.

La inmovilización química como tratamiento pasivo para remediar sitios contaminados por metales es más barata que otras técnicas (entre ellas la excavación). Además provee una remediación a largo plazo a través de la formación de especies estables de minerales y/o de precipitados (Vangronsveld, 1988). Los minerales fosforados han sido de los materiales más investigados para resolver esta problemática, dado los excelentes resultados que se han obtenido desde hace más de 40 años para metales como el plomo (Nriagu, 1974), La aplicación de los minerales fosforados se consideran ahora como Mejores Prácticas de Manejo” de estos materiales (Chrysochoou *et al.*, 2007). Recientemente se ha investigado la posibilidad de potenciar los beneficios del uso de minerales fosforados modificando el tamaño de partícula de los minerales empleados (Zhao *et al.*, 2014).

Ante esta situación, la nanotecnología puede tener una función muy importante en la remoción o inmovilización de metales. Además, tiene valor agregado que es la recuperación secundaria de estos metales de los residuos, disminuyendo así el impacto ambiental de la minería (Mohapatra y Kirpalani, 2017).

Considerando esta información surge la pregunta si la hidroxiapatita en tamaño manométrico es mejor que la hidroxiapatita a granel para atrapar esos iones, una respuesta positiva justificaría explorar el balance económico de la inversión.

1.3. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto plantea responder a las siguientes preguntas:

- ▶ ¿Las nanopartículas de hidroxiapatita adsorben eficientemente metales como el plomo?
- ▶ ¿Qué tan solubles son estas nanopartículas?
- ▶ ¿Las nanopartículas de hidroxiapatita son tóxicas para las plantas?
- ▶ ¿Los metales adsorbidos sobre las nanopartículas de hidroxiapatita pueden estar biodisponibles?

1.4. OBJETIVO GENERAL

Disminuir la biodisponibilidad de plomo en residuos de mina mediante el uso de nanopartículas de hidroxiapatita.

1.5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar distintos modelos de isotermas de adsorción para elucidar el proceso de sorción de plomo en nanopartículas de hidroxiapatita.

- Determinar la reactividad de las nanopartículas de hidroxiapatita mediante la cuantificación de su solubilidad en solución de ácido cítrico a 2%.
- Evaluar la toxicidad de las nanopartículas de hidroxiapatita para evaluar el riesgo de su uso en el ambiente.
- Evaluar la capacidad hidroxiapatita nanométrica para inmovilizar plomo en residuos de mina.

1.6. HIPÓTESIS GENERAL

Las nanopartículas de hidroxiapatita disminuyen la concentración de plomo extractable.

1.7. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

- La sorción de metales en solución monoelemento (plomo) a través de nanopartículas de hidroxiapatita se ajusta a los modelos de monocapa.
- La solubilidad de fósforo en ácido cítrico a 2% de las nanopartículas de hidroxiapatita es mayor que la de micropartículas de hidroxiapatita.
- Las nanopartículas de hidroxiapatita no son tóxicas para las plantas de lechuga (*Lactuca sativa*).
- Las nanopartículas de hidroxiapatita disminuyen la concentración de plomo extractable en residuos de mina.

Para cumplir los objetivos y probar las hipótesis establecidas se siguió la metodología que se plantea en los dos capítulos siguientes.

1.8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ambashta R. D.; Sillanpää, M. 2010. Water purification using magnetic assistance: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 180(1-3), 38-49.

doi.org/10.1016/j.jhazmat.2010.04.105

Armendariz-Villegas E. J.; Covarrubias-García, M. de los A.; Troyo-Diéguez E.; Lagunes E.; Arreola-Lizárraga A.; Nieto-Garibay A.; Beltrán-Morales L. F.; Ortega-Rubio A. 2015. Metal mining and natural protected areas in Mexico: Geographic overlaps and environmental implications. *Environmental Science & Policy*, 48, 9-19. dx.doi.org/10.1016/j.envsci.2014.12.016

M. Boutinguiza; J. Pou; R. Comesaña; F. Lusquiños; A. de Carlos; B. León. 2012. Biological hydroxyapatite obtained from fish bones. *Materials Science and Engineering C*, 32, 478–486.

Braunschweig, J.; Bosch, J.; Meckenstock, R. U. 2013. Iron oxide nanoparticles in geomicrobiology : from biogeochemistry to bioremediation. *New Biotechnology*, 0(0), 1-10.

Carrillo-Gonzalez R.; González-Chávez M.C.; López-Luna J. 2013. David contra Goliat: La nanotecnología en la limpieza del ambiente. *Agroproductividad*, 6(4), 9-14

Chrysochoou M.; Dermatas D.; Grubb D. G. 2007. Phosphate application to firing range soils for Pb immobilization : The unclear role of phosphate. *Journal of Hazardous Materials*, 144, 1-14. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.02.008

Cohen M. A. 2015. Conflictos socio-ambientales: la minería en Wirikuta y Cananea. *El Cotidiano*, 191, 97-109.

Cundy A. B.; Hopkinson L.; Whitby R. L. D. 2008. Use of iron-based technologies in contaminated land and groundwater remediation: A review. *Science of the Total Environment*, 400(1-3), 42-51. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.07.002

- DeNicola D. M.; Stapleton M. G. 2002. Impact of acid mine drainage on benthic communities in streams: The relative roles of substratum vs. aqueous effects. *Environmental Pollution*, 119(3), 303-315. doi.org/10.1016/S0269-7491(02)00106-9
- Doménech X. 1999. Química de la Contaminación. Madrid, España. Miraguano, S. A.
- Espinosa E.; Armienta M. A.; Cruz O.; Aguayo A.; Cenicerros, N. 2009. Geochemical distribution of arsenic, cadmium, lead and zinc in river sediments affected by tailings in Zimapán, a historical polymetallic mining zone of México. *Environmental Geology*, 58(7), 1467-1477. doi.org/10.1007/s00254-008-1649-6
- Ferraz M. P.; Monteiro F. J. Manuel. 2004. C. M. Hydroxyapatite nanoparticles : A review of preparation methodologies. *Journal of Applied Biomaterials*, 2, 74-80.
- Frejo M.; Díaz M.; Lobo M.; García J.; Capó M. 2011. Nanotoxicología ambiental : retos actuales. *Medicina Balear*, 26(2), 36-46.
- Golub A.; Matyshevska S.; Prylutska S.; Sysoyev V.; Ped L. Kudrenko V.; Radchenko E.; Prylutsky Yu.; Scharff P.; Braun T. 2003. Fullerenes immobilized at silica surface: topology, structure and bioactivity. *Journal of Molecular Liquids*, 105(2-3), 141-147.
- Hannah W.; Thompson P. B. 2008. Nanotechnology, risk and the environment: a review. *Journal of Environmental Monitoring*, 10(3), 291-300. doi.org/10.1039/b718127m
- Hashim M. A.; Mukhopadhyay S.; Sahu J. N.; Sengupta B. 2011. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. *Journal of Environmental Management*, 92(10), 2355-2388. doi.org/10.1016/j.jenvman.2011.06.009
- Hu J.; Lo I. M. C.; Chen G. 2007. Performance and mechanism of chromate (VI)

- adsorption by -FeOOH-coated maghemite (-Fe₂O₃) nanoparticles. *Separation and Purification Technology*, 58(1), 76-82. doi.org/10.1016/j.seppur.2007.07.023
- Huang S. H.; Chen D. H. 2009. Rapid removal of heavy metal cations and anions from aqueous solutions by an amino-functionalized magnetic nano-adsorbent. *Journal of Hazardous Materials*, 163(1), 174-179. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.06.075
- Johnson D. Barrie; Hallberg Kevin B. 2005. Acid mine drainage remediation options: A review. *Science of the Total Environment*, 338(1-2), 3-14
- Jonathan M. P.; Jayaprakash M.; Srinivasalu S.; Roy P. D.; Thangadurai N.; Muthuraj S.; Stephen-Pitchaimani V. 2010. Evaluation of acid leachable trace metals in soils around a five centuries old mining district in Hidalgo, central Mexico. *Water, Air, and Soil Pollution*, 205(1-4), 227-236. doi.org/10.1007/s11270-009-0068-y
- Kim Y.; Lee B.; Yi J. 2003. Preparation of functionalized mesostructured silica containing magnetite (MSM) for the removal of copper ions in aqueous solutions and its magnetic separation. *Separation Science and Technology*, 38(11), 2533-2548. doi.org/10.1081/SS-120022286
- Krestou A.; Xenidis A.; Papias D. Mechanism of aqueous uranium (VI) uptake by Hydroxyapatite. 2004. *Minerals Engineering*, 17(3), 373-381.
- Kuiken T. 2010. Cleaning up contaminated waste sites: Is nanotechnology the answer? *Nano Today*, 5(1), 6-8. doi.org/10.1016/j.nantod.2009.11.001
- Li X. Q.; Zhang W. X. 2006. Iron nanoparticles: the core-shell structure and unique properties for Ni (II) sequestration. *Langmuir*, 22(10), 4638-4642. doi.org/10.1021/la060057k

- Mangematin V.; Walsh S. 2012. The future of nanotechnologies. *Technovation*, 32(3-4), 157-160. doi.org/10.1016/j.technovation.2012.01.003
- Mansoori G. A. 2005. Principles of nanotechnology. Molecular-based study of condensed matter in small systems. World Scientific Publishing Company. ISBN:978-9812562050 Vol. 1. Singapore. doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004
- Mohapatra D. P.; Kirpalani D. M. 2017. Process effluents and mine tailings: sources, effects and management and role of nanotechnology. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 2(1), 1-12. doi.org/10.1007/s41204-016-0011-6
- Montazeri L; Javadpour J; Shokrgozar M.A; Bonakdar S; Javadian S. 2011. Hydrothermal synthesis and characterization of hydroxyapatite and fluorhydroxyapatite nano-size powders. *Biomedical Materials*, 5(4), 045004. doi.org/10.1088/1748-6041/5/4/045004
- Nriagu J. O. 1974. Lead orthophosphates-IV Formation and stability in the environment. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 38(6), 887-898. doi.org/10.1016/0016-7037(74)90062-3
- Ostwald W. 1917. An introduction to theoretical and applied colloid chemistry. John Wiley & Sons, Incorporation. New York. 1st edition.
- Pérez Calderón, J. (2010). La política ambiental en México: Gestión e instrumentos económicos. *El cotidiano*, 162, 91-97.
- Pradeep T. Anshup. 2009. Noble metal nanoparticles for water purification: A critical review. *Thin Solid Films*, 517(24), 6441-6478. doi.org/10.1016/j.tsf.2009.03.195
- Rivera J. A.; Fetter G.; Bosch P. 2011. Efecto del pH en la síntesis de hidroxiapatita en

- presencia de microondas. *Revista Matéria*, 15(4), 506–515.
- Romero F. M.; Ruíz M. G. 2010. Estudio comparativo de la peligrosidad de jales en dos zonas mineras localizadas en el sur y centro de México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 62(1), 43-53.
- Sadat-Shojai M.; Mohammad-Taghi K.; Dinpanah-Khoshdargi E.; Jamshidi A. 2013. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. *Acta Biomaterialia*, 9, 7591–7621
- Taniguchi N. 1975. On the basic concept of ‘nanotechnology’. In: Proceedings of international conference on production engineering Tokyo Part II. Japan Society of Precision Engineering, (Japan Society of Precision Engineering).
- Vangronsveld J.; Cunningham S. D. 1988. Chapter 1. Introduction to the concepts. In: Metal contaminated soils: In situ inactivation and phytoremediation of metal contaminated soils. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg and R.G. Landes Company. Georgetown, Texas, USA. 265 pages.
- Volke Sepúlveda T.; Velasco Trejo, J. A. 2002. Tecnologías de remediación para suelos contaminados. Jiménez Editores. México, D.F. 60 p.
- Wei L.; Yang G.; Wang R.; Ma W. 2009. Selective adsorption and separation of chromium (VI) on the magnetic iron-nickel oxide from waste nickel liquid. *Journal of Hazardous Materials*, 164(2-3), 1159-1163. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.09.016
- Yuan P.; Fan M.; Yang D.; He H.; Liu D.; Yuan A.; Zhu J.; Chen T. 2009. Montmorillonite-supported magnetite nanoparticles for the removal of hexavalent chromium [Cr(VI)] from aqueous solutions. *Journal of Hazardous Materials*, 166(2-3),

821-829. doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.11.083

Zhao Z.; Jiang G.; Mao R. 2014. Effects of particle sizes of rock phosphate on immobilizing heavy metals in lead zinc mine soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(2), 258-266. doi.org/10.4067/S0718-95162014005000021

CAPÍTULO II. SÍNTESIS Y TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA EN PLANTAS DE LECHUGA ITALIANA

Ortiz C. G.^a, Carrillo-González. R.^a, González-Chávez. M. C. A.^a, López L. J.^b

^aColegio de Postgraduados, Orientación Edafología, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México

^bInstituto de Estudios Ambientales, Universidad de la Sierra Juárez, Ixtlán de Juárez 68725, Oaxaca, México

RESUMEN

Se sintetizó hidroxiapatita tamaño nanométrico mediante dos metodologías: biológica, a partir de huesos de pescado, y precipitación química, usando hidróxido de calcio y ácido fosfórico como reactivos iniciales. Los materiales sintetizados se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido, potencial zeta, conductividad eléctrica, tamaño hidrodinámico, pruebas de solubilidad y rayos X. El menor y más homogéneo tamaño de partícula se obtuvo con el método de precipitación química. Las partículas en solución tuvieron tamaño de 99 nm, fueron esféricas y estables. Por ambos métodos de síntesis se obtuvo la misma especie química apatítica, siendo ésta una β -hidroxiapatita. Las nanopartículas en polvo tuvieron solubilidad muy baja y se observó pérdida del material de menor tamaño en el proceso de secado. Las nanopartículas de hidroxiapatita en solución no tuvieron efectos tóxicos en semillas y plántulas de lechuga.

Palabras clave: Secado por aspersión, solubilidad

2.1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es el estudio y manipulación de la materia en la nanoescala de 1 hasta 100 nm (Ramsden, 2011). Las estructuras a tamaño nanométrico tienen propiedades y aplicaciones no observables en la materia a escala mayor (Corbett *et al.*, 2002). El tamaño de estos materiales permite que manifiesten propiedades físicas, químicas y biológicas diferentes a las del mismo material con tamaños de partícula mayores. Záyago *et al.* (2013) explicaron la diferencia en las propiedades de los materiales debido principalmente a dos razones. Primero, las nanopartículas poseen mayor superficie por unidad de volumen: a menor tamaño, mayor es la superficie externa y por tanto mayor la reactividad. Segundo, el efecto cuántico hace que la materia a menor tamaño experimente mayores cambios en las propiedades magnéticas, ópticas, eléctricas mecánicas y térmicas.

Cada método de síntesis de nanopartículas existente para un mismo material resulta en variaciones en sus propiedades fisicoquímicas. Refiriéndose únicamente a los métodos de síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita, se pueden mencionar que existen cinco grupos, a saber: a) métodos secos, b) métodos húmedos, c) procesos en alta temperatura, d) síntesis biológica, e) métodos combinados; cada uno con diversas subdivisiones (Sadat-Shojai *et al.*, 2013).

Uno de los efectos secundarios de la amplia utilización de los nanomateriales es su liberación al ambiente (Bystrzejewska-Piotrowska *et al.*, 2009). La toxicidad y degradación de estos nanomateriales no puede evaluarse con precisión ni de forma generalizada, ya que sus efectos en el ambiente dependen del tipo de nanopartícula, propiedades físicas y químicas y, además del medio en el que se liberan (Remédios *et al.*, 2012). Para el uso de nanomateriales en el sector agrícola y ambiental es necesario seleccionar procedimientos de

bajo costo, evaluar su eficiencia en comparación con los materiales a escala micrométrica, así como su toxicidad en el ambiente donde puedan ser liberados.

Considerando esta información, el presente estudio tuvo como objetivos: 1) Sintetizar nanopartículas de hidroxiapatita por métodos húmedos, particularmente el método convencional de precipitación química y el biológico por hidrólisis alcalina, 2) caracterizar las nanopartículas de hidroxiapatita sintetizadas y 3) analizar el riesgo de toxicidad aguda de estos nanomateriales en semillas y plántulas de lechuga.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Síntesis

Se compararon dos procedimientos de síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita a partir de modificaciones a diversos métodos reportados en la literatura. El criterio de selección del método fue el procedimiento para obtener el menor tamaño final de partícula.

2.2.1.1. Síntesis biológica

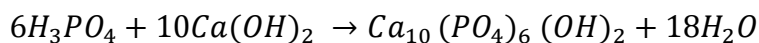
Se utilizó tejido óseo de salmón. Se calentó inmerso en agua en un horno a 200 °C durante 3 h para remover tejido no óseo y grasa. Después, se enjuagó con agua y se volvió a colocar en el horno por 4 h a 100 °C para eliminar el tejido remanente. Se colectaron los huesos y se hirvieron por 1 h con 500 mL de una solución 0.02% de acetona y NaOH a 2%. Posterior a esto, la parte sólida se enjuagó varias veces para eliminar las grasas y se secó en un horno a 100 °C por 3 h.

Del sedimento resultante se tomaron 10 g, los cuales se calentaron con 100 mL de una solución de NaOH 2M a 100 °C. Este paso se repitió varias veces hasta que todas las trazas de carne, grasa y colágeno se removieron. Por último, las partículas se mezclaron con agua,

se centrifugaron a 1000 rpm durante 5 min y se lavaron hasta alcanzar pH de 7, para finalmente ser secadas en un horno a 100 °C por 1 h (Venkatesan *et al.*, 2015).

2.2.1.2 Síntesis química

Se utilizó el método de precipitación química a partir de las siguientes soluciones: Ca(OH)₂ 0.1 M y H₃PO₄ 0.06 M. La ecuación de la reacción de síntesis es la siguiente:



El hidróxido se agitó por 1 h a 400 rpm. Después, la solución se calentó antes de la adición del ácido. La temperatura de reacción fue 80 °C con agitación constante a 400 rpm y en sistema abierto (Kumar *et al.*, 2004). Para iniciar la reacción de síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita se precisó del uso de una energía de activación correspondiente a 20% (50 °C) extra de la energía necesaria para alcanzar los 80 °C. Esta energía se aplicó durante cinco minutos para favorecer el proceso de nucleación de la hidroxiapatita. Posterior a esto, el ácido se adicionó con una bomba peristáltica gota a gota sobre el hidróxido a una velocidad de 3 mL min⁻¹.

El pH de reacción se mantuvo en 10 con solución de KOH 1 M. Al terminar la adición de H₃PO₄, la solución se dejó madurar por 1 h con la misma agitación y temperatura para permitir su cristalización. Posteriormente, la solución se agitó por 1.5 h sin adición de calor, para que bajara la temperatura. Por último, la solución se colocó en un baño de ultrasonido por 30 min para disgregar los conglomerados y disminuir el tamaño de las partículas.

2.2.2. Caracterización de nanopartículas

2.2.2.1. Forma y tamaño de nanopartículas

Se midió el tamaño de partículas en solución (diámetro hidrodinámico) con el equipo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments) mediante la técnica dispersión de luz dinámica (DLS) a temperatura ambiente. De manera simultánea se determinó el índice de polidispersidad (PDI): valores cercanos a 0 indican que la muestra es monodispersa; mientras valores cercanos a la unidad indican que la muestra presenta gran variedad de tamaños. En el equipo de microscopía electrónica de barrido (JEOL Japan Scanning Electron Microscopy 6390 SEM) se midió el tamaño y forma en partículas secas.

2.2.2.2. Potencial Zeta

Se obtuvo el potencial Zeta (indicador de la estabilidad) mediante electroforesis Doppler con el equipo Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments). También se midió la conductividad eléctrica.

2.2.2.3. Eficiencia de síntesis

La eficiencia de la síntesis de nanopartículas se determinó con la concentración de fósforo y calcio remanente en el sobrenadante, después de centrifugar las muestras por 10 minutos a 10,000 rpm. A menor concentración de fósforo y calcio en solución, mayor concentración de la hidroxiapatita formada. La concentración de calcio se determinó por absorción atómica y la concentración de fósforo total por colorimetría usando el reactivo Armstrong, formando un complejo color azul (Murphy y Riley, 1962).

2.2.2.4. Pureza de síntesis

Difracción de rayos X. Se utilizó un difractómetro de la marca Rigaku modelo Miniflex 600, con un tubo de rayos X, radiación de Cu K_{α} ($\lambda = 1.54 \text{ \AA}$), foco lineal, 40 kV y 15 mA. En el haz incidente se colocó una rendija Soller con filtro de Ni y rendija de 0.5 mm.

En la óptica difractada se utilizó un detector Dtex ultra de alta velocidad para obtener los patrones de difracción de alta calidad.

Se realizaron mediciones en geometría simétrica o de polvos (θ - 2θ), realizando el barrido de 2 a 100 grados con tamaño de paso de 0.01 a 3 grados min^{-1}

2.2.2.5. Contenido total de fósforo

La determinación de la concentración total de fósforo de nanopartículas en polvo se llevó a cabo mediante el método de digestión húmeda, con 4 mL de una mezcla diácida compuesta por cuatro partes de H_2SO_4 y una parte de HClO_4 . Para favorecer la rápida digestión del material se efectuó una predigestión con 2 mL de H_2O_2 (Batey *et al.*, 1974).

Con la finalidad de comparar el contenido total de fósforo en las nanopartículas secas sintetizadas vía precipitación química con el contenido en las roca fosfórica natural y obtener un material de referencia para los ensayos de toxicidad, se analizaron los siguientes minerales fosforados: 1) Fosfato di-cálcico anhidro (DCPA) grado analítico (CaHPO_4); 2) roca fosfórica de Baja California Sur (RFBCS); 3) roca fosfórica de San Luis Potosí (RFSLP); 4) roca fosfórica de Marruecos (RFM); 5) roca fosfórica de Zimapán, Hidalgo (RFZH); 6) nanopartículas de hidroxiapatita (nHAP).

2.2.2.6. Pruebas de solubilidad

La evaluación de la solubilidad de nHAP se realizó con 0.3 g de éstas disueltas en 30 mL de una solución de ácido cítrico 2%. También se evaluaron los cinco materiales mencionados anteriormente para tener un material de referencia para los ensayos de toxicidad.

2.2.3. Ensayos de toxicidad de nHAP

La fitotoxicidad de las nHAP se evaluó en pruebas de germinación (Bowers *et al.*, 1997). Se utilizaron semillas peletizadas de lechuga italiana var. Starfighter con 95% de germinación garantizada en la etiqueta. Esta especie se seleccionó por su amplio uso para evaluar los efectos tóxicos de materiales; tanto en matrices líquidas (Rodríguez *et al.*, 2014) como en matrices sólidas (Bowers *et al.*, 1997). También se usa para evaluar la toxicidad de distintos tipos de nanopartículas (Puentes-Cárdenas *et al.*, 2012) como de hidroxiapatita (Liu y Lal, 2014).

2.2.3.1. Pruebas de imbibición de semillas de lechuga

En esta prueba se evaluó el efecto de nHAP en solución mediante cuatro tratamientos: 1) Agua destilada como testigo; 2) RFM (8,000 mg L⁻¹) por tener el mismo contenido de fósforo; 3) nHAP (8,000 mg L⁻¹); 4) DCPA (8,000 mg L⁻¹) por tener la misma solubilidad de fósforo que nHAP.

100 semillas de lechuga se colocaron en frascos, conteniendo cada uno 40 mL de las soluciones a evaluar, durante una hora (periodo de imbibición). Las semillas fueron previamente seleccionadas con tamaño uniforme y sin daños físicos. Se pesaron en grupos de 10 unidades. Después de este periodo de imbibición, las semillas se retiraron de los frascos, se enjuagaron con agua destilada y se pesaron nuevamente en grupos de 10.

Sesenta de las 100 semillas tratadas con cada una de las soluciones se secaron en una estufa de aire forzado durante 72 h y se determinó la humedad y la concentración de fósforo absorbido. Las 40 semillas restantes se utilizaron para los experimentos de germinación.

2.2.3.2 Cinética de germinación de semillas de lechuga

Para las pruebas de germinación se usaron los cuatro tratamientos mencionados en el experimento anterior. Las semillas se separaron en diez grupos (cuatro semillas por repetición) y se colocaron en cajas de Petri con papel filtro humedecido con 4 mL de la solución correspondiente a cada tratamiento. Las cajas de Petri con las semillas se protegieron de la luz. La germinación de las semillas se registró cada 24 h hasta que el valor fue cero en cada tratamiento. El criterio que se siguió para considerar que la germinación ocurre es la emergencia de la radícula. Los índices de germinación que se emplearon se enumeran a continuación.

Porcentaje de germinación total o potencial germinativo (PGT): Éste considera al valor máximo de germinación alcanzado en la cinética, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$PGT = \frac{\text{Semillas germinadas}}{\text{Semillas totales}} * 100$$

Índice de germinación (IG): Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$IG = \frac{PRG * CRR}{100}$$

Dónde: PRG es el porcentaje de semillas germinadas en el tratamiento con respecto al testigo; CRR es el crecimiento relativo de la radícula

$$PRG = \frac{\text{Semillas germinadas en el tratamiento}}{\text{Semillas germinadas en el testigo}} * 100$$

$$CRR = \frac{\text{Elongación de radícula en semilla tratada}}{\text{Elongación de radícula en el tratamiento testigo}} * 100$$

2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.3.1 Caracterización de partículas

2.3.1.1 Forma y tamaño de partículas

Mediante el procedimiento de síntesis biológica se obtuvieron partículas de hidroxiapatita con tamaños superiores a los 100 nm. Éstas presentaron amplia variabilidad en tamaño y forma (Figuras 2.1a y 2.1b). Por tanto, las partículas de hidroxiapatita obtenidas por este método de síntesis no se utilizaron en las pruebas posteriores.

Dado que la reacción con NaOH mas acetona (responsable de eliminar impurezas) resultó exitosa, la explicación más probable a los mayores tamaños de partícula obtenidos en la síntesis biológica corresponde a la hidrólisis final con NaOH 2 M. En el presente estudio se utilizó una relación de 1:10 partículas de hidroxiapatita: solución alcalina, pero Venkatesan *et al.* (2011) utilizaron una relación 1:30. Esta mayor relación partículas:solución alcalina permite hidrólisis mucho más fuerte y más eficiente.

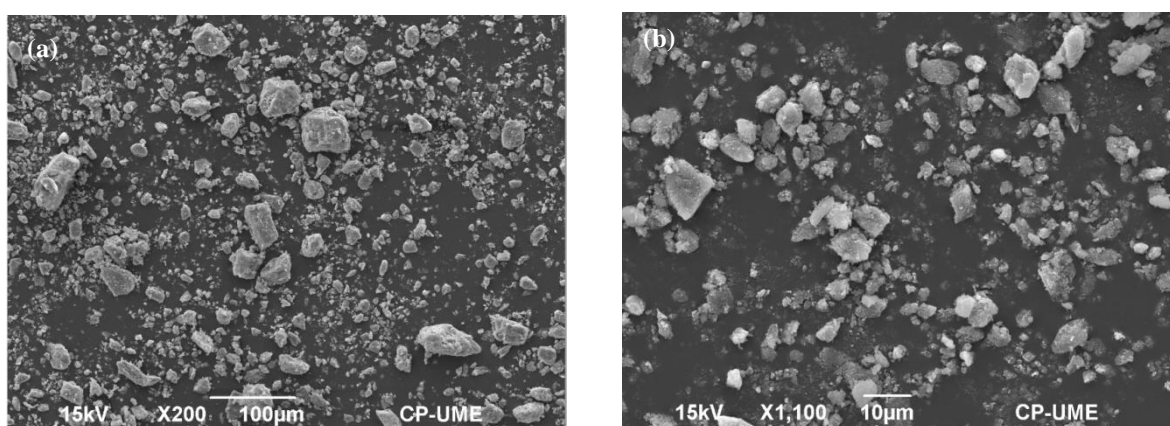


Figura 2.1. Forma y tamaño de partículas de hidroxiapatita obtenidas por síntesis biológica
a) Mayores tamaños, b) menores tamaños obtenidos por la síntesis biológica.

El método de precipitación química presentó nanopartículas con distribución homogénea de tamaños de partícula e inferior a 100 nm (Cuadro 2.1), pese a que las variaciones en la temperatura fueron de 4 °C. La temperatura es el factor más importante para controlar el tamaño de las partículas, debido a que variaciones pequeñas de temperatura afectan el radio hidrodinámico o la aglomeración de las moléculas. El pH es el segundo factor más importante, pues la síntesis debe hacerse en condiciones alcalinas; ya que de este factor depende la estabilidad de las estructuras que se forman. Otro factor que provoca variaciones es la concentración de los reactivos; pues en soluciones muy concentradas el tamaño de las partículas aumenta.

Las forma de las partículas que se obtuvieron fue del tipo esféricas o esferoidales, lo cual concuerda con lo reportado por Kumar *et al.* (2004) para este método de síntesis (Figura 2.2a y 2.2b). Según este autor, el tamaño y forma de las partículas es dependiente tanto de la concentración y tipo de los reactivos, como de la temperatura. Conforme la temperatura de síntesis aumenta, cambiamos de nanoagujas (25 nm de ancho y más de 200 nm de largo) a nanopartículas esféricas. Sin embargo, estos cambios se dan en orden inverso si se usan otros reactivos, como los mostrados en la siguiente ecuación:



Con los cuales a bajas temperatura se forman nanopartículas esféricas y al aumentar la temperatura se forman nanoagujas. La homogeneidad en la distribución de los tamaños de partícula (muestra monodispersa) se observa durante todo el proceso de estandarización del método. Esto se corrobora con los valores de PDI (Cuadro 2.1) muy por debajo del valor máximo 1 (Lancheros *et al.* ,2014).

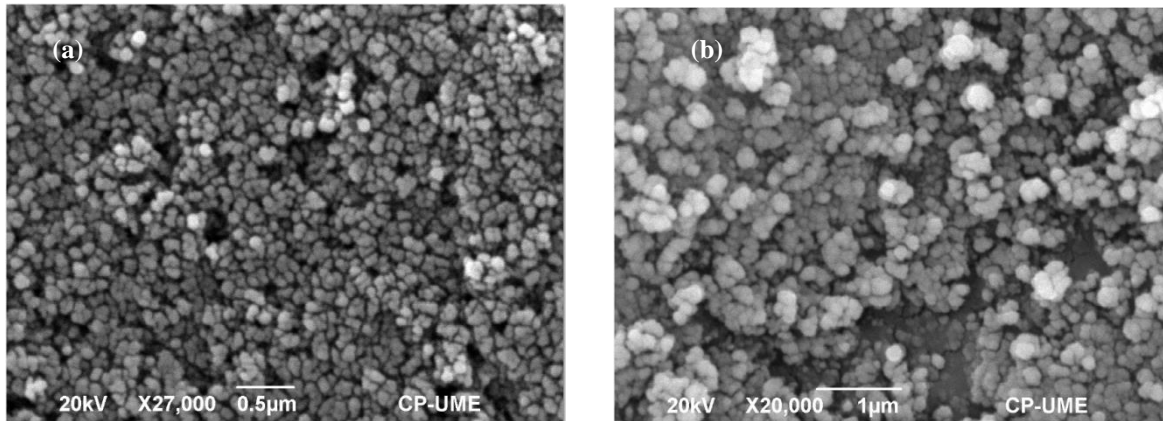


Figura 2.2. Forma y tamaño de nHAP obtenidas por síntesis química. a) Menor tamaño de partícula, b) mayor tamaño de partícula.

Los intervalos de tamaños de nHAP se deben a que existen variaciones en el tiempo de nucleación de las partículas con respecto a su tiempo de crecimiento. A mayor tiempo de nucleación y menor tiempo de crecimiento, se obtienen nanopartículas con menor tamaño (González *et al* 2015). Dado que se obtuvieron partículas menores a 100 nm se afirma que el tiempo de nucleación de las mismas fue mayor que el tiempo de crecimiento. La homogeneidad o monodispersión de tamaños de partícula depende de que ocurra nucleación homogénea, la cual se describe a partir del modelo de LaMer y Dinegar (1950). Esta nucleación homogénea precisa que durante la formación de nanopartículas la solución se encuentre supersaturada. Esto implica condiciones de inestabilidad termodinámica en ausencia de una interface sólida, lo cual podría explicar la dificultad para controlar las variaciones internas de temperatura en la solución. De acuerdo con González *et al.*, (2015) los procesos termodinámicos y los aspectos cinéticos a escala nanométrica resultan más complicados que en procesos a escala micrométrica; debido a los altos valores de relación superficie/volumen. A pesar de estas complicaciones, se logró estandarizar un método de

síntesis logrando una solución supersaturada en la cual la nucleación fuera homogénea; pues 99.5% de las nanopartículas presentaron el mismo tamaño.

2.3.2.2 *Potencial Zeta*

De acuerdo con Velasco *et al.* (2012) una suspensión se considera inestable si su potencial Zeta se encuentra fuera del intervalo de ± 30 mV. Dado que el potencial Zeta de la muestra estandarizada cumple esta condición (Cuadro 2.1), se afirma que se obtuvo una suspensión estable de nHAP.

Los valores negativos de carga del potencial Z podrían ser resultado de la presencia de grupos fosfato e hidroxilo en las nanopartículas (Maia *et al.*, 2016). Tang *et al.*, (2007) mencionaron que el potencial Zeta comienza a ser más negativo conforme el tamaño de partículas se incrementa. En este trabajo no se encontró esa relación, posiblemente se deba a que los autores controlaron la carga artificialmente con la adición de diversos compuestos orgánicos.

2.3.2.3 *Eficiencia de síntesis*

La Figura 2.3 muestra la cantidad de reactivo que no reaccionó para formar cualquiera de las distintas especies de apatita posibles. No existe relación lineal entre el consumo de KOH y la cantidad de cationes o aniones en solución. Sin embargo, se puede inferir que durante el proceso de ajuste del método de síntesis existieron condiciones para que carbonatos (CO_3^{2-}) provenientes del CO_2 de la atmósfera sustituyeran al ión fosfato (PO_4^{3-}) en diversas proporciones dentro de la estructura de la hidroxiapatita. A su vez, estas sustituciones provocan variaciones en la eficiencia de síntesis lo cual se refleja en la concentración de PO_4^{3-} remanente al no formar ningún mineral.

Cuadro 2.1. Variación de las propiedades físicas y químicas de la hidroxiapatita en solución durante el proceso de estandarización.

Muestra	Tamaño hidrodinámico (nm)	PDI	Potencial Zeta (mV)	Conductividad eléctrica (mS cm ⁻¹)	Eficiencia de síntesis (%)	Gasto KOH (mL)
Mínimo (nHAP-18 [†])	85.13 ± 3.50	0.15 ± 0.01	-49.97 ± 1.60	1.88 ± 0.02	96.25	18
Estándar (nHAP-8 ^{††})	99.62 ± 0.29	0.16 ± 0.02	-48.53 ± 1.27	2.34 ± 0.02	95.00	8
Máximo	8092.47 ± 10190.54	0.21 ± 0.07	-0.008 ± 0.001	4.34 ± 0.01	91.25	35

[†]nHAP-18: Muestra de nHAP con un consumo de 18 mL de KOH. ^{††}nHAP-8: Muestra de nHAP con un consumo de 8 mL de KOH. Se presentan media y desviación estándar, n=3.

Estas sustituciones se clasifican como tipo B y son predominantes en hidroxiapatita sintetizada por métodos de precipitación química (Barralet *et al.*, 2002). La conductividad eléctrica de la solución inicial de H₃PO₄ 0.06 M que se usó fue 10.54 mS cm⁻¹ a temperatura de 25 °C. Prakash *et al.*, (2006) reportaron conductividad de 7.31 mS cm⁻¹ a 22 °C y pH de 1.84 para esa misma solución. Bajo estas condiciones, los autores reportaron 24% de disociación de H₃PO₄ en iones H⁺/H₂PO₄⁻. Variaciones en la disociación de H₃PO₄ incrementa la eficiencia de síntesis, lo cual se refleja en una menor conductividad eléctrica en la solución final de nHAP.

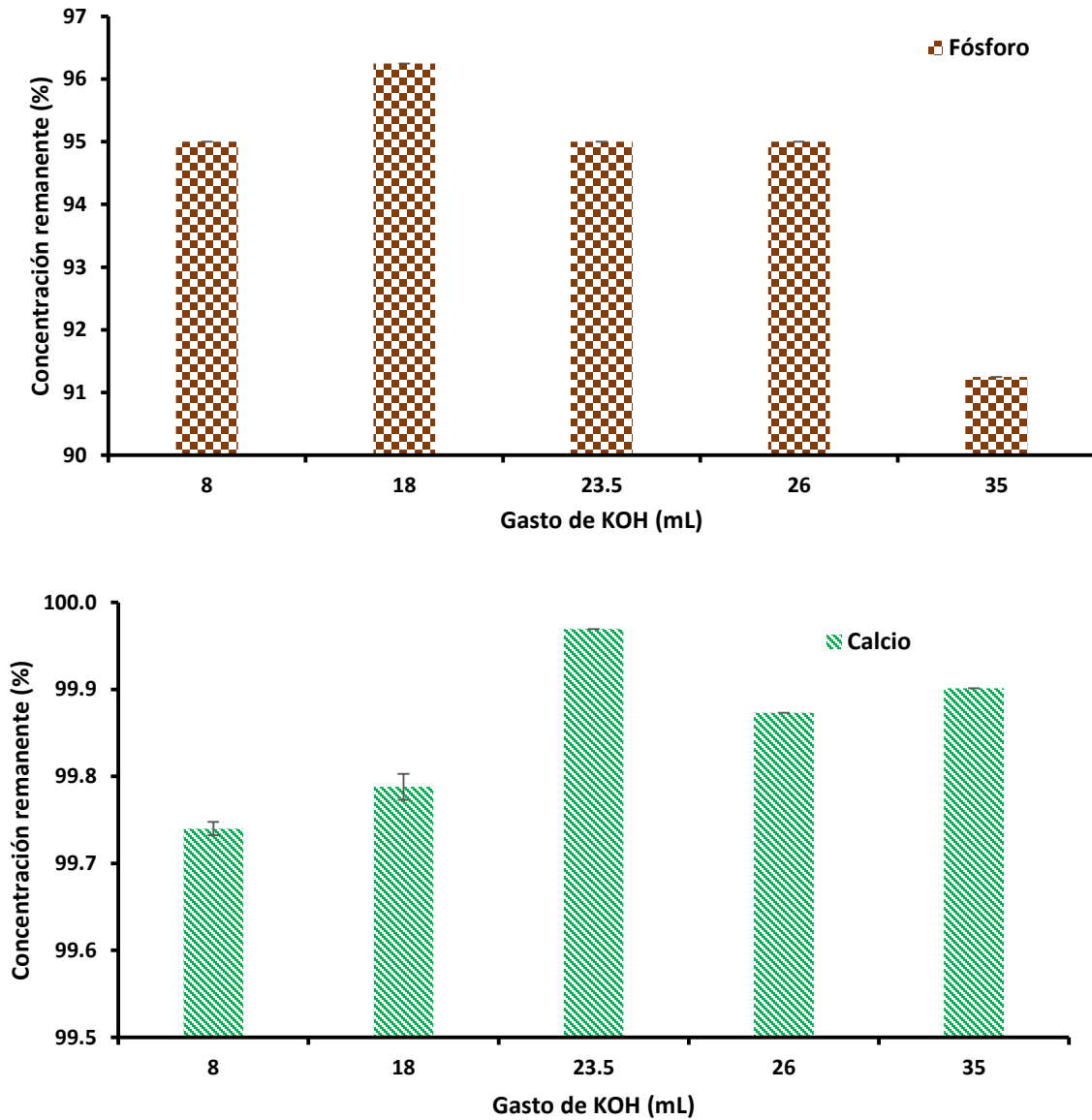


Figura 2.3. Eficiencia del método químico de síntesis de nHAP. Se presentan medias y desviación estándar, n=3.

El pH de las soluciones se ajustó siempre al valor de 10, pero el ajuste se realizó a temperatura promedio de 80 °C. Durante el ajuste del método se tuvieron variaciones en la temperatura interna de la solución (80 ± 10 °C al inicio de la estandarización hasta 80 ± 2 °C cuando se logró estandarizar el procedimiento).

Dadas estas condiciones no se puede calcular con exactitud el porcentaje de disociación en cada una de las especies químicas de fosfato, dado que la ecuación de van't Hoff (1884) dice que todas las constantes de equilibrio varían en función de la temperatura. Pequeñas variaciones internas en la temperatura del sistema resulta en especies químicas distintas y éstas a su vez cambian el valor de la conductividad presente. Gentile *et al.*, (2015) y Kumar *et al.*, (2004) mencionaron que para controlar la eficiencia en la síntesis de nHAP (pureza, estabilidad y tamaño) la temperatura dentro del reactor de síntesis no debe variar más de 2 °C.

Las variaciones en la disociación del H_3PO_4 resultan en distintas especies químicas de fósforo en solución dependiendo de la variación en el pH. Esto explica las variaciones en la eficiencia de síntesis, ya que no todas las especies químicas de fósforo son capaces de formar hidroxiapatita. De acuerdo con Murphey y Riley (1962) la concentración de fósforo en solución representa la concentración de fósforo total presente en el sistema. Sin embargo, ésta considera distintas especies (incluyendo polifosfatos o hidroxiapatita amorfa); ya que el método de análisis involucra la conversión a ortofosfatos de cualquier especie que esté presente.

2.3.2.4 Pureza del método de síntesis

Mediante el análisis elemental se obtuvo una relación molar Ca/P de 1.59 (Figura 2.4), muy cercana al valor teórico de una hidroxiapatita estequiométrica con fórmula general $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (Ca/P=1.667). Una relación Ca/P menor a 1.667 puede explicarse por la presencia de minerales secundarios como fosfato tricálcico (Best *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2003). Además, se observa en la Figura 2.4 cierta concentración de carbono que podría indicar sustitución de carbonatos por el ión fosfato en la estructura de la hidroxiapatita

(hidroxiapatita tipo B). Por tanto, se establece que las nHAP contienen impurezas a bajas concentraciones, las cuales se corroboran con los patrones de difracción de rayos X.

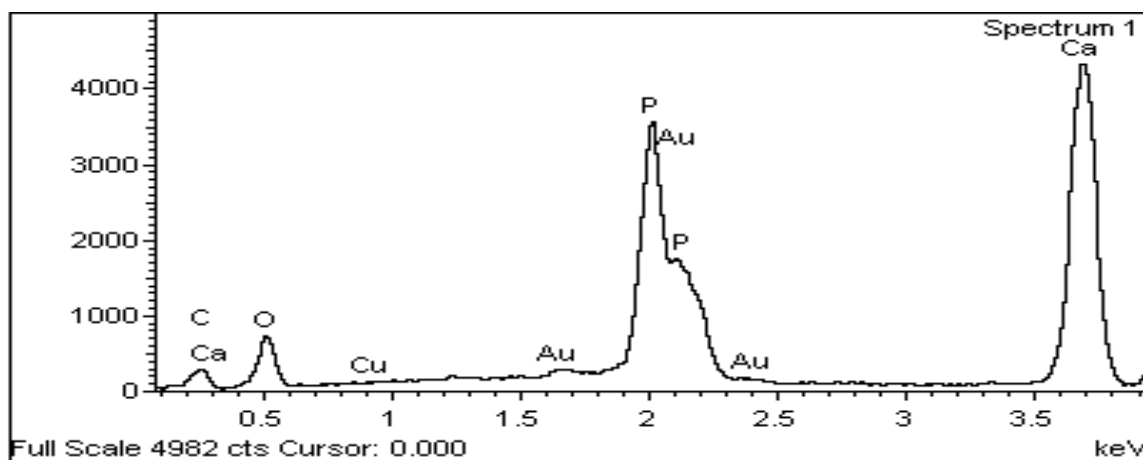


Figura 2.4. Análisis elemental de partículas mediante microanálisis EDAX.

Los patrones de difracción de rayos X de las muestras sólidas de partículas sintetizadas mediante los métodos químico y biológico se muestran en la Figura 2.5. Los cuatro espectros son muy parecidos entre sí, lo que demuestra que los dos métodos de síntesis producen partículas con los mismos parámetros cristalográficos.

El espectro de referencia del mineral que más se asemeja a estas partículas corresponde a una apatita con sustituciones de sílice, con fórmula química secundaria $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{4.92}(\text{SiO}_4)_{1.08}(\text{OH})_{0.664}$ (Figura 2.6). Sin embargo, las sustituciones pueden ser de cationes distintos, ya que éstos no alteran los parámetros de celda. Se observa el pico principal de la hidroxiapatita, con la mayor intensidad a $2\theta = 31.773$ correspondiente al plano 121 acompañado por dos picos con menor intensidad a $2\theta = 32.093$ y $2\theta = 32.943$; correspondientes a los planos 112 y 030 respectivamente.

Los picos de difracción al no ser angostos muestran tamaño muy grande de cristal (en polvo). Este aumento de tamaño, con respecto a las nanopartículas en solución, se debe al proceso de secado de las mismas. Durante este proceso, sea secado por aspersión o en estufa de aire forzado, las nanopartículas se van aglomerando debido a la evaporación del agua que provoca inestabilidad en la solución coloidal. El material en polvo aglomerado con menor tamaño se pierde debido a las corrientes de aire en ambos métodos de secado. Se observó que durante secado por aspersión la cantidad de nanopartículas recuperadas fue 2 g, en contraste con lo obtenido en secado en estufa que fue la mitad.

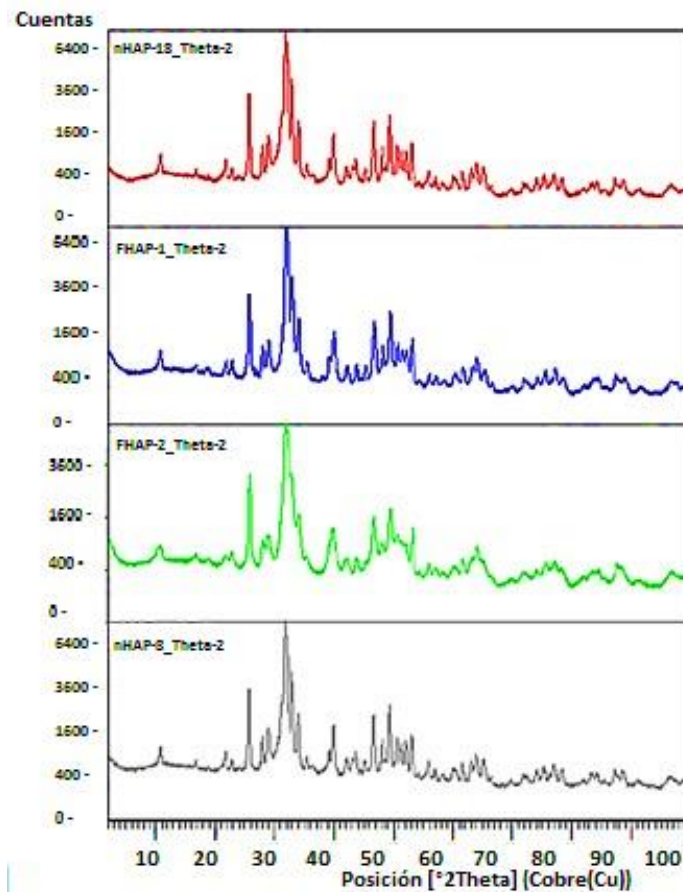


Figura 2.5. Patrones de difracción de rayos X de las muestras sólidas de partículas sintetizadas mediante los métodos químico (nHAP) y biológico.

Los valores de los parámetros de celda de una hidroxiapatita estequiométrica (JCPDS card, 9-432) son 9.418 Å para el eje a, y 6.884 Å para el eje b. En la síntesis biológica, las diferencias en los parámetros se explican debido a las sustituciones iónicas que presenta la hidroxiapatita en los huesos de cualquier animal.

En muestras de ganado bovino, Tamamura *et al.*, (2016) también encontraron diferencias en los parámetros de celda. En el caso de la síntesis química, las diferencias en los parámetros de celda (Cuadro 2.2) pueden deberse a iones potasio, provenientes de la solución de KOH para controlar el pH, que sustituyen al calcio dentro de la estructura de la hidroxiapatita. Esto es importante para definir el uso al que se destinen las nanopartículas.

Cuadro 2.2. Parámetros cristalográficos de partículas de hidroxiapatita.

Parámetro	Valor
Sistema cristalino	Hexagonal
Grupo espacial	P 63/m
Número de grupo espacial	176
a (Å):	9.4110
b (Å):	9.4110
c (Å):	6.9170
Alfa (°):	90.0000
Beta (°):	90.0000
Gamma (°):	120,0000
Densidad calculada (g·cm ⁻³):	3.12

Las micropartículas obtenidas por el método biológico se pueden usar en aplicaciones donde el tamaño, al contrario de la pureza, no es el factor principal en la reactividad del material. Por ejemplo, se pueden destinar para su uso como reservorios de agentes anticorrosivos (Ferreira y Montemor, 2010) o en biomedicina, introducidas vía intravenosa para diversas aplicaciones *in-vivo*. Una de estas aplicaciones es la mejora en los tratamientos de ultrasonido para la ablación de carcinoma hepatocelular (Maia *et al.*, 2016). La síntesis biológica mediante hidrólisis alcalina resulta más barata y amigable con el ambiente (Venkatesan *et al.*, 2011), pues se puede sintetizar a partir de residuos biológicos.

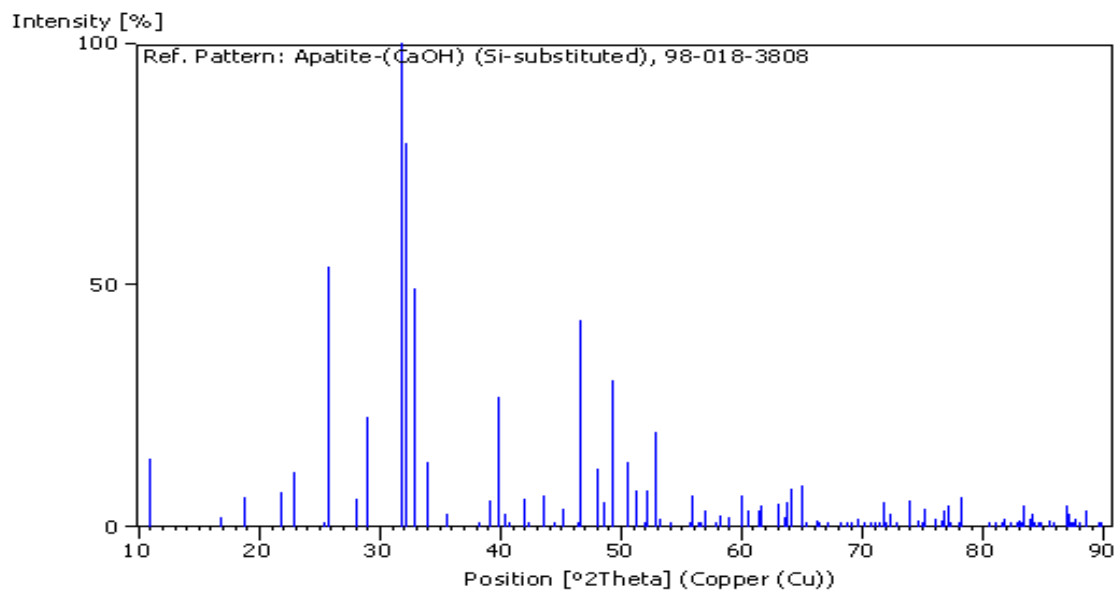


Figura 2.6. Patrón de referencia de apatita con sustituciones de grupo sílice.

Los patrones de espectroscopia infrarroja (FTIR) de las muestras sólidas de partículas sintetizadas mediante los métodos químico y biológico se muestran en la Figura 2.7. En los espectros del método químico (Figura 2.7a) se observan las bandas de absorción ubicadas a 564, 602 y 1027 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones asimétricas tipo flexión,

simétricas de tipo estiramiento y asimétricas de tipo estiramiento del grupo PO_4^{3-} , respectivamente. La banda ubicada en 962 cm^{-1} corresponde a vibraciones de estiramiento del grupo PO_4^{3-} ; aunque esta banda aparece en muestras tanto de hidroxiapatita pura, como de hidroxiapatita con sustituciones de grupo sílice. Además, se cuenta con bandas ubicadas en 876 y 1419 cm^{-1} ; correspondiente a la sustitución de CO_3^{2-} por PO_4^{3-} (sustitución tipo B) en los latices de la hidroxiapatita, las cuales son asociadas a vibraciones de flexión fuera del plano y vibraciones de estiramiento asimétrico, respectivamente. Esto concuerda con lo reportado por Gunduz (2014) para muestras de nanopartículas de hidroxiapatita. No se encuentran bandas de absorción para los grupos OH^- , lo cual indica sustituciones de grupos carbonato o silicato.

Las variaciones en la intensidad de esta sustitución en la muestra nHAP-8 con respecto a la muestra nHAP-18 corroboran la baja concentración de carbono que se observó en el microanálisis EDAX. A su vez, muestra que pequeñas variaciones en la sustituciones de CO_3^{2-} provocan variaciones en la eficiencia de síntesis, reflejada ésta como aumento/disminución en la intensidad de la vibración de enlaces PO_4^{3-} (picos 1027 , 602 y 564 cm^{-1}).

Para el caso de la síntesis biológica se presenta el espectro de absorción en la Figura 2.7b. Se observa el mismo patrón del espectro que en la síntesis química, únicamente presenta ligeras variaciones en las intensidades de los picos de absorción. Esto concuerda con los patrones de rayos X, los cuales también mostraron que no existen diferencias observables por estos métodos de caracterización en los minerales obtenidos por ambos métodos de síntesis.

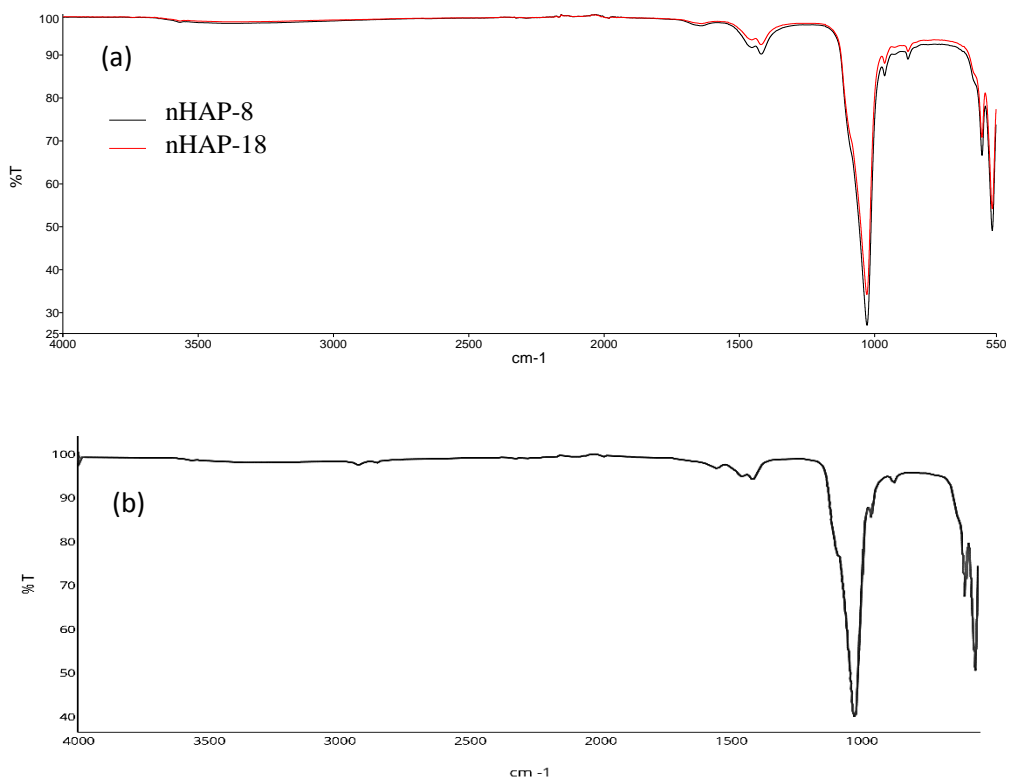


Figura 2.7. Espectro de infrarrojo (FTIR) de partículas de hidroxiapatita a) síntesis biológica, b) síntesis química.

2.3.2.5. Concentración total de fósforo

La Figura 2.8 muestra las diferencias en la concentración total de fósforo (expresado en la especie P_2O_5) de los minerales fosforados empleados (rocas fosfóricas y nanopartículas). Existen cuatro intervalos de concentración de fósforo. Estas variaciones en la concentración total de fósforo afectan directamente la solubilidad del material, mas no necesariamente existe una relación directa entre ambas variables. El contenido de fósforo (126.61 g kg^{-1}) de la RFM es estadísticamente similar al de las nanopartículas de hidroxiapatita (118.68 g kg^{-1}), razón por la cual se usó esta roca fosfórica como material de referencia para las pruebas de toxicidad.

Las RFSLP y RFZH tuvieron mayor concentración de fósforo, en contraste con la RFBCS. Estas diferencias se explican por el origen diverso de los minerales, así como cantidad de impurezas que presentan en el momento de su extracción en el suelo. En todos los casos se compararon fosforitas de tipo sedimentario.

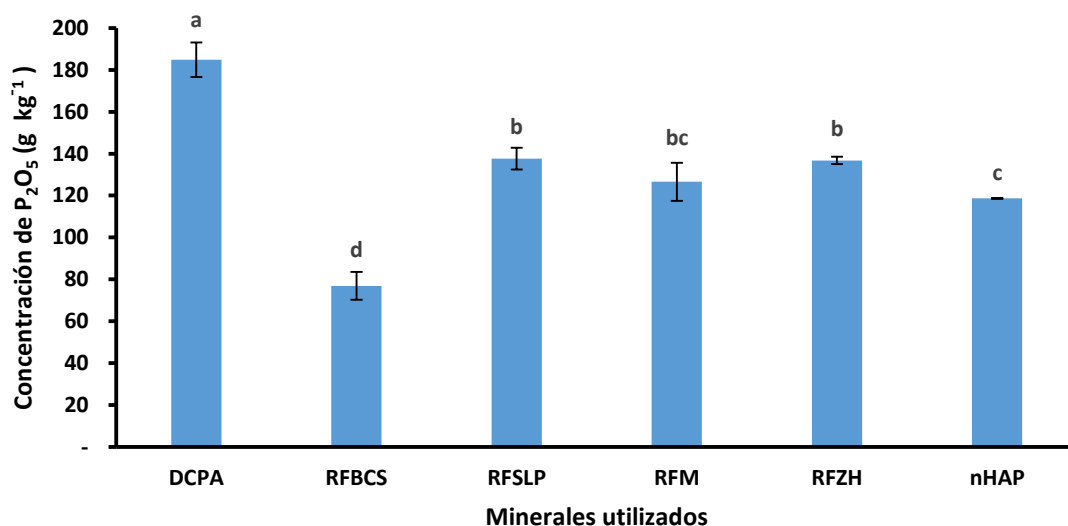


Figura 2.8. Concentración total de P₂O₅ de los distintos minerales utilizados. Letras distintas indican diferencias significativas entre los minerales ($p < 0.05$). Se presenta media y desviación estándar, $n=3$. DCPA= Fosfato dicálcico anhidro, RFBCS= Roca fosfórica de Baja California Sur, RFSLP= Roca Fosfórica de San Luis Potosí, RFM= Roca fosfórica de Marruecos, RFZH=Roca fosfórica de Zimapán Hidalgo, nHAP= nanopartículas de hidroxiapatita.

2.3.2.6. Pruebas de solubilidad

Existen diferencias en la solubilidad de las rocas fosfóricas con respecto a las nHAP, así como entre las distintas rocas fosfóricas de acuerdo a su lugar de procedencia (Figura 2.9).

La prueba de solubilidad es una extracción sucesiva, lo que significa diferencias en la tasa de liberación. La RFSLP, RFM y RFZH liberaron fósforo durante las cuatro extracciones, mientras que la RFBCS liberó fósforo únicamente durante tres extracciones. A pesar de

esto, el porcentaje acumulado de fósforo soluble fue mayor que el de los tres minerales anteriores. Esto nos demuestra que en la RFBCS el fósforo soluble se libera de forma más rápida que los demás materiales, los cuales solubilizan fósforo de forma lenta pero constante a través del tiempo.

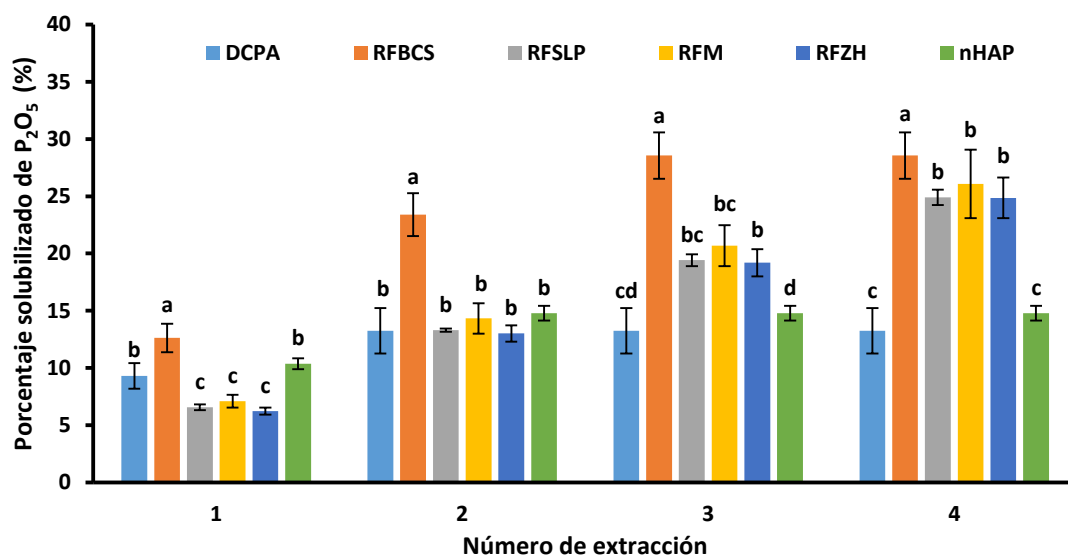


Figura 2.9. Solubilidad acumulada de fósforo (P_2O_5) de los minerales utilizados. Letras distintas indican diferencias significativas entre los minerales ($p < 0.05$). Se presenta media y desviación estándar, $n=3$. DCPA= Fosfato dicálcico anhidro, RFBCS= Roca fosfórica de Baja California Sur, RFSLP= Roca Fosfórica de San Luis Potosí, RFM= Roca fosfórica de Marruecos, RFZH=Roca fosfórica de Zimapán Hidalgo, nHAP= nanopartículas de hidroxiapatita.

El DCPA y nHAP solubilizaron únicamente fósforo durante dos extracciones, siendo el porcentaje acumulado estadísticamente igual entre ambos, y el menor de todos los minerales. Debido a este patrón de similitud, se utilizó también el DCPA en las pruebas de toxicidad.

La solubilidad de fósforo usando agentes extractantes puede variar en función de la cantidad total de fósforo presente en las muestras (Braithwaite *et al.*, 1989). La RFBCS

que tuvo la menor concentración de fósforo total, presentó la mayor solubilidad de fósforo. Caso contrario, el DCPA con mayor contenido de fósforo total presentó la menor solubilidad de fósforo. Las variaciones en la solubilidad de las demás muestras pueden ser explicadas por las impurezas presentes en los distintos materiales (como calcita, dolomita o yeso). Esto concuerda con lo presentado por Hedley *et al.*, (1988).

Estas impurezas provienen de las características químicas y mineralógicas de las distintas apatitas. La solubilidad de fósforo ayuda a inferir sobre esas características. Además, esas impurezas provocan interferencias en las mediciones de la solubilidad; dado que los minerales reaccionan con el ácido cítrico y afectan la tasa de disolución del fósforo (Axelrod y Greidinger, 1979). Las interferencias debidas a impurezas de calcita pueden disminuir con el aumento de la fuerza de las soluciones extractantes (Gholizadeh *et al.*, 2009).

De acuerdo a su baja solubilidad, no se recomienda el uso de nHAP en polvo como nanofertilizante. Para obtener nHAP en polvo se necesita de un proceso de secado por aspersión y éste presenta varios inconvenientes. Primero, un gasto energético extra al proceso de síntesis. El segundo y más importante, la pérdida de las partículas en polvo de menor tamaño debida a las corrientes de aire en ambos métodos de secado, ocasionando que en el material obtenido se pierda la escala nanométrica. Esta podría ser la principal explicación de la baja solubilidad que se observó en las nHAP.

Debido a la baja solubilidad de nHAP en polvo se espera que su efecto en los cultivos por la aplicación al suelo, sea el mismo que el de un fertilizante común (fosfato dicálcico anhidro), e inclusive menor que el de algunas rocas fosfóricas. Por tanto, se recomienda

aplicar las nanopartículas directamente en solución, ya que presentan menor tamaño y mayor reactividad, propiedades que se pierden durante el proceso de secado.

2.3.3. Ensayos de toxicidad de nanopartículas de hidroxiapatita

2.3.3.1. Pruebas de imbibición de semillas

No se observaron diferencias en el porcentaje de absorción de agua de las semillas establecidas en los tratamientos, ni en la concentración de fósforo total después de la imbibición (Anexo B). Esto demuestra que las nHAP en solución no son absorbidas por las semillas.

2.3.3.2. Porcentaje de germinación total

Las semillas de todos los tratamientos germinaron al día siguiente. El promedio del porcentaje de germinación de semillas de lechuga fue 100% en agua destilada (testigo) y no hubo diferencias con la aplicación de nHAP, DCAP o RFM. Esto significa que la nHAP no tiene efectos tóxicos en el proceso germinativo. La concentración de fósforo disponible en los minerales no es suficiente para ser absorbida por las semillas. Por último, el tamaño de las nHAP no facilitó la absorción de fósforo dentro de la semilla, teniendo en cuenta que la concentración de fósforo es la misma con respecto al material tamaño granel

Las nHAP no inhibieron la germinación de plantas de lechuga a concentraciones de 8,000 mg L⁻¹. Esta concentración equivale a 247 mg L⁻¹ de fósforo, 11 veces superior a la concentración de fósforo reportada para preparar soluciones nutritivas en algunos cultivos hortícolas. Sin embargo, el fósforo no se encuentra soluble en su totalidad, razón por la cual se necesitan concentraciones mayores de nanopartículas para presentar efectos tóxicos.

No existe información disponible en la literatura que mencione a partir de qué concentración se presentan efectos tóxicos de nHAP. Éstas tienen el mismo efecto que cualquier solución libre de partículas suspendidas o coloides, a pesar de que la solución de nanopartículas tuvo pH alcalino (10) muy superior al pH neutro que necesitan las plantas para desarrollarse de forma óptima. Con base en las normas de la USEPA (USEPA, 1996), estas nanopartículas se clasifican en la categoría de mínima toxicidad.

2.4. CONCLUSIONES

Se sintetizaron partículas de hidroxiapatita mediante dos procedimientos, el más eficiente fue el método de precipitación química; ya que se obtuvieron tamaños menores a 100 nm. El método biológico produjo partículas con tamaño superior a los 100 nm. Sin embargo en ambos casos la especie química obtenida fue la misma. La morfología de las nHAP fue esférica, con distribución de tamaños homogénea debido al tipo de nucleación. Al secarse, las nanopartículas presentaron baja solubilidad; debido principalmente a la pérdida de partículas de menor tamaño. Las nHAP en solución no son tóxicas para semillas de lechuga. De acuerdo a la normatividad de la USEPA se reportan como nanopartículas con mínima toxicidad.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para el desarrollo de la presente investigación. A la extinta Línea Prioritaria de Investigación (LPI 16) “Innovación Tecnológica” del Colegio de Postgraduados por su apoyo en la Unidad de Microscopía Electrónica y las facilidades para el uso del equipo Zeta Sizer Nano.

2.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Axelrod S.; Greidinger D. 1979. Phosphate solubility tests - interference of some accessory minerals. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 30(2), 153-157.

doi.org/10.1002/jsfa.2740300209

Barralet J.; Knowles J. C.; Best S.; Bonfield W. 2002. Thermal decomposition of synthesised carbonate hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13(6), 529-533. doi.org/10.1023/A:1015175108668

Batey T.; Cresser M. S.; Willett I. R. 1974. Sulphuric-perchloric acid digestion of plant material for nitrogen determination. *Analytica Chimica Acta*, 69(2), 484-487.

[doi.org/10.1016/S0003-2670\(01\)80919-3](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(01)80919-3)

Best S. M.; Porter A. E.; Thian E. S.; Huang J. 2008. Bioceramics: Past, present and for the future. *Journal of the European Ceramic Society*, 28(7), 1319-1327.

doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2007.12.001

Bowers N.; Pratt J. R.; Beeson D.; Lewis M. 1997. Comparative evaluation of soil toxicity using lettuce seeds and soil ciliates. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 16(2),

207-213. doi.org/10.1002/etc.5620160216

Braithwaite A. C.; Eaton A. C.; Groom P. S. 1989. Some factors associated with the use of the extractants 2 % citric acid and 2 % formic acid as estimators of available phosphorus in fertiliser products. *Fertilizer Research*, 19, 175-181.

Bystrzejewska-Piotrowska G.; Golimowski J.; Urban P. L. 2009. Nanoparticles: Their potential toxicity, waste and environmental management. *Waste Management*, 29(9),

2587-2595. doi.org/10.1016/j.wasman.2009.04.001

- Chen S. B.; Ma Y. B.; Chen L.; Xian K. 2010. Adsorption of aqueous Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} ions by nano-hydroxyapatite: Single- and multi-metal competitive adsorption study. *Geochemical Journal*, 44, 233-239. doi.org/10.2343/geochemj.1.0065
- Corbett J.; McKeown P. A.; Peggs G. N.; Whatmore R. 2002. Nanotechnology: International developments and emerging products. *CIRP Annals - Manufacturing Technology*, 47(8), 1324-1328. doi.org/10.1016/S0007-8506(07)63454-4
- Ferreira M. G. S.; Montemor M. F. 2010. Hydroxyapatite Microparticles as Feedback-Active Reservoirs of Corrosion. *ACS Applied materials & interfaces*, 2(11), 3011-3022. doi.org/10.1021/am1005942
- Forloni G. 2012. Responsible nanotechnology development. *Journal of Nanoparticle Research*, 14(8), doi.org/10.1007/s11051-012-1007-1
- Gentile P.; Wilcock C.; Miller C.; Moorehead R.; Hatton P. 2015. Process optimisation to control the physico-chemical characteristics of biomimetic nanoscale hydroxyapatites prepared using wet chemical precipitation. *Materials*, 8(5), 2297-2310. doi.org/10.3390/ma8052297
- Gholizadeh A.; Ardalan M.; Tehrani M. M.; Hosseini H. M.; Karimian N. 2009. Solubility test in some phosphate rocks and their potential for direct application in soil. *World Applied Sciences Journal*, 6(2), 182-190.
- Gunduz O. 2014. A simple method of producing hydroxyapatite and tri calcium phosphate from coral (*Pocillopora verrucosa*). *Journal of the Australian Ceramic Society*, 50(2), 52-58.
- Hedley M. J.; Bolan N. S.; Braithwaite A. C. 1988. Single superphosphate-reactive

phosphate rock mixtures. The effect of phosphate rock type and denning time on the amounts of acidulated and extractable phosphate. *Fertilizer Research*, 16(2), 179-194. doi.org/10.1007/BF01049773

Kumar R.; Prakash K. H.; Cheang P.; Khor K. A. 2004. Temperature driven morphological changes of chemically precipitated hydroxyapatite nanoparticles. *Langmuir*, 20(13), 5196-5200. doi.org/10.1021/la049304f

Liu R.; Lal R. 2014. Synthetic apatite nanoparticles as a phosphorus fertilizer for soybean (*Glycine max*). *Scientific Reports*, 4, 5686. doi.org/10.1038/srep05686

Maia A. L. C.; Cavalcante C. H.; de Souza M. G. F. ; Ferreira C. de A.; Rubello D.; Chondrogiannis S.; Cardoso V. N.; Ramaldes G. A.; de Barros A. L. B.; Soares D. C. F. 2016. Hydroxyapatite nanoparticles., 37(7), 775-782. doi.org/10.1097/MNM.0000000000000510

Murphy J.; Riley J. P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta*, 27, 31-36.

Prakash K. H.; Kumar R.; Ooi C. P.; Cheang P.; Khor K. A. 2006. Conductometric study of precursor compound formation during wet-chemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite. *Journal of Physical Chemistry B*, 110(48), 24457-24462. doi.org/10.1021/jp065200x

Puentes-Cárdenas J.; Florido-Cuellar A.; Cardona-Bedoya J.; Bohorquez-Echeverry P.; Campos-Pinilla C.; Gutiérrez-Romero V.; Pedroza-Rodríguez A. 2012. Simultaneous decolorization and detoxification of black reactive 5 using TiO₂ deposited over borosilicate glass. *Universitas Scientiarum*, 17(1), 53-63.

doi.org/10.11144/Javeriana.SC17-1.sdad

- Ramsden J. J. 2011. The Impact of Nanotechnology. Chapter 12. En Nanotechnology: An introduction. William Andrew. Elsevier. Waltham, Massachusetts, USA. pp. 227-246. doi.org/10.1016/B978-0-08-096447-8.00012-0
- Remédios C.; Rosário F.; Bastos V. 2012. Environmental nanoparticles interactions with plants: Morphological, physiological, and genotoxic aspects. *Journal of Botany*, 2012, 1-8. doi.org/10.1155/2012/751686
- Rodríguez Romero A. J.; Robles Salazar C. A.; Ruíz Picos R. A.; López López E.; Sedeño Díaz J. E.; Rodríguez Dorantes A. 2014. Índices de germinación y elongación radical de *Lactuca sativa* en el biomonitorio de la calidad del agua del río Chalma. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(3), 307-316.
- Tamamura R.; Kono T.; Okada H.; Kuwada-kusunose T.; Suzuki K.; Gotouda H.; Sakae T. 2016. Crystallographic study of the immature bovine incisor enamel and dentin. *Journal of Hard Tissue Biology*, 25(4), 421-426. doi.org/10.2485/jhtb.25.421
- Tang Y. J.; Ashcroft J. M.; Chen D.; Min G.; Kim C. H.; Murkhejee B.; Chen F. F. 2007. Charge-associated effects of fullerene derivatives on microbial structural integrity and central metabolism. *Nano Letters*, 7(3), 754-760. doi.org/10.1021/nl063020t
- USEPA. 1996. Ecological effects test guidelines. Seed germination/root elongation toxicity tes. U.S. Environmental Protection Agency, 712-NaN-96-1.
- Velasco-Rodríguez V.; Cornejo-Mazon M.; Flores-Flores J. O.; Gutierrez-Lopez G. F.; Hernandez-Sanchez H. 2012. Preparation and properties of alpha-lipoic acid-loaded chitosan nanoparticles. *Revista Mexicana de Ingenieria Quimica*, 11(1), 155-161.

- Venkatesan J.; Lowe B.; Manivasagan P.; Kang K. H.; Chalisserry E. P.; Anil S.; Kim D. G.; Kim S. K. 2015. Isolation and characterization of nano-hydroxyapatite from salmon fish bone. *Materials*, 8(8), 5426-5439. doi.org/10.3390/ma8085253
- Venkatesan J.; Qian Z. J.; Ryu B.; Thomas N. V.; Kim S. K. 2011. A comparative study of thermal calcination and an alkaline hydrolysis method in the isolation of hydroxyapatite from *Thunnus obesus* bone. *Biomedical Materials*, 6(3), 35003. doi.org/10.1088/1748-6041/6/3/035003
- Wang H.; Lee J.-K.; Moursi A.; Lannutti J. J. 2003. Ca/P ratio effects on the degradation of hydroxyapatite in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 67(2), 599-608. doi.org/10.1002/jbm.a.10538
- Záyago E.; Foladori G.; Appelbaum R.; Arteaga E. 2013. Empresas nanotecnológicas en México: Hacia un primer inventario. *Estudios Sociales*, 42, 9-25.

CAPÍTULO III. ADSORCIÓN Y ESTABILIZACIÓN DE METALES POR NANOPARTÍCULAS DE HIDROXIAPATITA

Ortiz C. G.^a, Carrillo-González R.^a, González-Chávez M. C. A.^a, López L. J.^b

^aColegio de Postgraduados, Orientación Edafología, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Texcoco 56230, Estado de México, México

^bInstituto de Estudios Ambientales, Universidad de la Sierra Juárez, Ixtlán de Juárez 68725, Oaxaca, México

Resumen

Se estudió la remoción de metales como plomo (Pb) y hierro (Fe); tanto en sistemas idealizados (solución monoelemento) como en sistemas reales (lixiviados y residuos de mina) utilizando nanopartículas de hidroxiapatita. En condiciones ideales, las nanopartículas de hidroxiapatita tuvieron un potencial máximo de sorción de 1,250 mg de Pb g⁻¹. La isoterma de adsorción se ajustó de mejor manera al modelo de Langmuir. En el lixiviado de mina donde existe sorción competitiva por los sitios de sorción entre los diversos metales, los valores de sorción son menores con respecto al sistema ideal. Dependiendo de la concentración inicial de cationes y aniones presentes en el sistema, se pueden encontrar procesos de sorción o desorción de algunos metales, como el Fe. Lo anterior remarca la importancia de caracterizar completamente el sistema, así como de diseñar una propuesta de remediación única. En el residuo de mina, las nanopartículas de hidroxiapatita disminuyeron la concentración extractable de Pb. La aplicación de materia orgánica, así como los ciclos de humedecimiento y secado pueden aumentar la concentración de metales extractables en el residuo de mina.

Palabras clave: Sorción, Precipitación, Lixiviados y residuos de mina

3.1. INTRODUCCIÓN

El suelo tiene una función muy importante para mantener la vida en el planeta. Dentro de sus muchas funciones, es un medio atenuante de contaminantes (Schoonover & Crim, 2015). Muchos metales se encuentran en el suelo de forma natural y en concentraciones muy bajas. Sin embargo, cuando estas concentraciones exceden ciertos límites debido a agentes externos, se transforman en contaminantes (Arao *et al.*, 2010). Estos contaminantes deterioran la calidad del suelo y provocan daño a los seres humanos a través de su transferencia a la red alimentaria. Es a partir de las últimas décadas cuando las concentraciones de metales se han incrementado más en el ambiente, principalmente por la acción del hombre. Las principales actividades que propician estos aumentos son la agricultura, la minería, la fundición, la galvanoplastia y el refinado del oro (Rodríguez-Ortíz *et al.*, 2006). La contaminación por metales en el suelo es una preocupación ambiental muy importante, especialmente los suelos afectados por el drenaje ácido de minas (Qu *et al.*, 2016). Razón por la cual, se han hecho numerosos esfuerzos para la remediación de sitios contaminados por metales. En el año de 1974, Nriagu fue el primero en sugerir a los fosfatos para remover Pb soluble de la fase acuosa, mediante la formación de especies insolubles de fosfato de Pb. En general, los minerales del grupo de la apatita tienen estructura cristalina con características especiales que los hace materiales ambientalmente benignos y adecuados para la remoción de metales. En particular la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) es un excelente mineral para remover metales mediante adsorción (Dong *et al.*, 2010). El objetivo y la importancia del presente estudio radica en la aplicación de hidroxiapatita en polvo y en solución a lixiviados y residuos de mina con

altas concentraciones metales como plomo (Pb) y hierro (Fe). Para determinar el verdadero potencial de este material se analizaron sistemas reales y para el potencial máximo se utilizó un sistema ideal (solución monoelemento de Pb).

Dado que el tamaño de partícula de los fosfatos afecta la inmovilización de metales (Zhao *et al.*, 2014) se utilizaron nanopartículas de hidroxiapatita (nHAP) con tamaño menor a 100 nanómetros para aumentar la eficiencia en los procesos de remoción de metales.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Isotermas de adsorción monoelemento

Todas las isotermas se obtuvieron usando la técnica de equilibrio en sistema cerrado. Se preparó solución concentrada de Pb a $15,000 \text{ mg L}^{-1}$ a partir de $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ grado reactivo en agua destilada. 100 mg de nHAP en solución (nHAP como adsorbente) se mezclaron en forma independiente con concentraciones crecientes de Pb (adsorbtivo): 0, 213.07, 426.14, 852.27, 1704.55, 3409.09, 6818.18 y $13636.36 \text{ mg L}^{-1}$. Para mantener la fuerza iónica se usó CaCl_2 10 mM como solución electrolítica base. Las muestras se agitaron durante 12 h. Después de este tiempo se centrifugaron durante 10 min a 8,944 g para separar las nHAP. La concentración de Pb en el sobrenadante se determinó mediante absorción atómica (AASF). La curva de calibración se preparó a partir de solución estándar certificada (Puris). El equilibrio se hizo a $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Todo el material usado se lavó con jabón libre de fosfatos; se remojó en HCl a 2% y se lavó tres veces con agua desionizada ($\text{CE} < 2 \text{ } \mu\text{S cm}^{-1}$).

Se calculó la concentración de Pb adsorbido en las nHAP y se evaluó el ajuste de datos a los modelos de isotermas de adsorción Freundlich (ecuación 1) y Langmuir para monocapa

(ecuación 2). La adsorción de metal q_e (mg g^{-1} de nHAP) se determinó con las siguientes ecuaciones:

$$Q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (1)$$

$$Q_e = \frac{Q_0 B C_e}{1 + B C_e} \quad (2)$$

Dónde:

Q_e = Concentración experimental de adsorbato en el adsorbente cuando se llega al equilibrio ($\text{mg metal g nHAP}^{-1}$)

K_f = Constante empírica del modelo de Freundlich (mg g^{-1})

C_e = Concentración del metal en la solución en equilibrio (mg L^{-1})

$1/n$ = Coeficiente de afinidad del enlace para la ecuación de Freundlich (adimensional)

Q_0 = Capacidad máxima de adsorción en monocapa (mg g^{-1}) inversamente proporcional a la distancia de la superficie del adsorbente

B = Constante de isoterma Langmuir (L mg^{-1})

Para resolver las ecuaciones se utilizaron las formas lineales de las mismas recopiladas por Foo y Hameed (2010). Dado que estas transformaciones conllevan a un sinnúmero de errores, se emplearon dos funciones matemáticas (coeficiente de correlación de Pearson y sumatoria de mínimos cuadrados) para determinar el error en la predicción de la concentración adsorbida por ambos modelos, para así escoger el más aproximado a los datos experimentales.

3.2.2. Adsorción de metales en lixiviados

Dos lixiviados de mina se colectaron de las pilas de residuos Pal y Preisser, ubicados en la zona industrial de Zimapán. Los lixiviados se obtuvieron durante una lluvia en el mes de septiembre. Se caracterizaron para conocer la concentración de metales solubles presentes, pH y sulfatos. Los lixiviados se filtraron en papel Whatman No 42. Los lixiviados por separado se mezclaron con nHAP a distintas proporciones para dar lugar a cinco tratamientos por tipo de lixiviado (Cuadro 3.1). Se agregó solución de CaCl₂ 100 mM como solución electrolítica para una concentración final de 10 mM.

Cuadro 3.1. Descripción de tratamientos para sorción de metales contenidos en lixiviados de mina usando nHAP.

Tratamiento	Lixiviado	mg de nHAP aplicados	Volumen de lixiviado (mL)
1	Pal	22.8	15
1	Preisser	22.8	15
2	Pal	45.6	12
2	Preisser	45.6	12
3	Pal	68.4	9
3	Preisser	68.4	9
4	Pal	91.2	6
4	Preisser	91.2	6
5	Pal	114	3
5	Preisser	114	3

Se determinó la concentración de iones presentes en los lixiviados de mina para cada uno de los tratamientos resultantes de las mezclas. El volumen final fue 20 mL por muestra. Las muestras se equilibraron por 12 h en un agitador rotatorio a 60 opm y se centrifugaron durante 10 min a 8,944 g para separar la nHAP; el sobrenadante se filtró en papel Whatman 42. Se determinó la concentración de metales en el sobrenadante, mediante absorción atómica. Se calculó el porcentaje de adsorción de cada metal en la nHAP con la siguiente fórmula:

$$[(C_i - C_f)/C_i] 100 \quad (3)$$

El valor de Q experimental se expresa como miligramos sorbidos de metal por gramo de nanopartículas: $Q_{exp} = (C_i - C_f) / mg_{nHAP}$

3.2.3. Cinética de equilibrio de metales en mezclas de suelo: residuo

3.2.3.1. Diseño experimental

Se utilizó un diseño balanceado completamente aleatorio con tres factores: Factor sustrato con cuatro niveles (Suelo orgánico, residuo de mina, mezcla suelo: residuo 3:1 y mezcla suelo: residuo 1:1), factor solución con dos niveles (solución de nHAP y solución de roca fosfórica de Marruecos) y factor aplicación con siete niveles (0 a 6 aplicaciones de soluciones). En total se tuvieron 56 tratamientos.

3.2.3.2. Incubación de sustratos

Los cuatro tipos de sustrato se incubaron con soluciones de roca fosfórica de Marruecos (RFM) y nHAP. En el caso de la aplicación 0, ésta fue regada con agua destilada. Para las aplicaciones 1, 2, 3, 4, y 5 también se completaron los riegos con agua destilada hasta

sumar seis aplicaciones de RFM o nHAP. El volumen de solución aplicada, sea agua destilada, suspensión de nHAP o RFM se calculó con base al agua necesaria para llevar a 80% la humedad a capacidad de campo de cada uno de los sustratos (Cuadro 3.2). Con esto se mantiene la superficie de reacción entre adsorbente y adsorbato. Entre cada aplicación de las soluciones se dejó que el agua se evaporara, para evitar lixiviación de la unidad experimental y pérdida de materiales. Teniendo así, seis ciclos de humedecimiento y secado.

Cuadro 3.2. Retención de humedad para los sustratos a punto de marchitez permanente (PMP) y capacidad de campo (CC).

Sustrato	Humedad PMP (%)	Humedad CC (%)	Humedad 80% CC (%)
Suelo orgánico	29.91	35.31	28.25 (2,260 mg nHAP*)
Residuo de mina	0.97	1.61	1.29 (103 mg nHAP*)
Mezcla 75:25	23.05	26.16	20.93 (1674 mg nHAP*)
Mezcla 50:50	15.61	19.21	15.37 (1230 mg nHAP*)

*Se presenta la concentración de nHAP que se adicionó por kg de sustrato

3.2.3.3. Caracterización química de sustratos

Para caracterizar a los residuos de mina, al suelo orgánico y las mezclas de ambos, se hicieron los siguientes análisis: 1) pH como se describe en Jackson (1964) y Goijberg y Aguilar (1987); 2) conductividad eléctrica (Richards, 1973); 3) extracción de Fe, Cu, Mn, Zn, Pb, Ni, y Cd con DTPA-TEA-CaCl₂ (Lindsay y Norvell, 1978); 4) nitrógeno total (Bremmer, 1965); 5) fósforo extractable (Olsen y Dean, 1965); 6) materia orgánica (Walkley, 1947), y 7) capacidad de intercambio catiónico (Rhoades *et al.*, 1989).

3.2.3.4. Solución incubadora

Los cuatro tipos de sustrato se incubaron con nHAP sintetizadas por el método de precipitación química (Capítulo 2 de la presente tesis). Éstas tuvieron las siguientes características: 99.62 nm de tamaño hidrodinámico; índice de polidispersidad 0.16; potencial Z -48.53 mV; conductividad eléctrica 2.34 mS cm⁻¹; eficiencia de síntesis 95%, forma esferoidal, β-hidroxiapatita, con baja solubilidad en polvo mediante secado por aspersión y concentración de fósforo igual al de RFM. Se utilizó esta roca fosfórica a granel como material de referencia para una hidroxiapatita con tamaño de partícula mayor.

3.2.3.5. Pruebas de biodisponibilidad de metales

Después de la aplicación de las soluciones correspondientes a cada tratamiento, se esperó a que los sustratos se secaran completamente en condiciones de invernadero. En el sustrato seco se determinó la concentración de metales extractables mediante el método del DTPA-TEA-CaCl₂ en relación 1:4 (Lindsay y Norvell, 1978), lo cual ocurrió en aproximadamente 7 días.

3.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

3.3.1. Isotermas de adsorción monoelemento

Se observa que mediante el modelo de Freundlich los datos experimentales no se pudieron ajustar a una línea recta (Figura 3.1a) por lo cual, los datos de adsorción calculada (Q_c) tuvieron un error (cuadrado medio del error) muy grande con respecto a la adsorción experimental (Q_e) (Figura 3.1b). La diferencia entre la curva experimental y la calculada es muy grande, ya que la curva calculada tuvo un valor de $(1/n)$ que varía gradualmente en función de la concentración, en contraste con el valor experimental; cuyo cambio no es

gradual. Esto se observa en la curva logarítmica, lo que significa que el modelo de Freundlich sobreestima la capacidad de adsorción de Pb por parte de las nHAP.

Al contrario, con el modelo Langmuir, los datos experimentales si se pudieron ajustar a la línea recta (Figura 3.1c) con un error de predicción mucho menor, por lo cual, los supuestos teóricos de este modelo se aplican a la adsorción de Pb en nHAP. La curva experimental es del tipo logarítmica, con adsorción máxima experimental de $1,253 \text{ mg g}^{-1}$. Se observó un desfase entre los datos experimentales y simulados en el intervalo de concentración en equilibrio menor a los $1,200 \text{ mg L}^{-1}$. Las altas concentraciones de Pb usadas corresponden a concentraciones reales de Pb en la naturaleza. Lo que implica la utilidad potencial de este mineral como adsorbente. Con la ecuación de la recta se obtuvieron los parámetros Q_0 y B , los cuales son $1,250$ y 0.0304 respectivamente. El error de predicción entre datos calculados y experimentales es debido a que el modelo de Langmuir subestima la concentración de Pb que puede ser adsorbida cuando existen bajas concentraciones del metal.

Teóricamente, en la sorción de Pb mediante nHAP se producen enlaces químicos de naturaleza irreversible (quimiosorción), sin interacción entre estas moléculas adsorbidas. La probabilidad de que cada sitio de adsorción sea ocupado es la misma, formando una monocapa de moléculas adsorbidas sobre la nHAP (Langmuir, 1918). Este último supuesto se pone en duda, ya que en procesos multicapa es más probable que se adsorba mayor concentración de Pb, comparado con procesos en monocapa. Por lo que se recomienda continuar la investigación de los procesos de adsorción utilizando modelos no lineales y así mejorar los supuestos teóricos.

Chen *et al.* (2010) en un estudio de adsorción competitiva de Cd, Pb y Cu en medio acuoso, obtuvieron adsorción máxima seis veces menor que la presentada en este estudio. El método de síntesis de nanopartículas que usaron los autores mencionados, podría ayudar a explicar parcialmente la diferencia en la capacidad de adsorción. Sin embargo, las nanopartículas que usaron son de tipo comercial, sin descripción de sus propiedades físicas y químicas, por lo que no es posible describir algún efecto derivado de su proceso de síntesis.

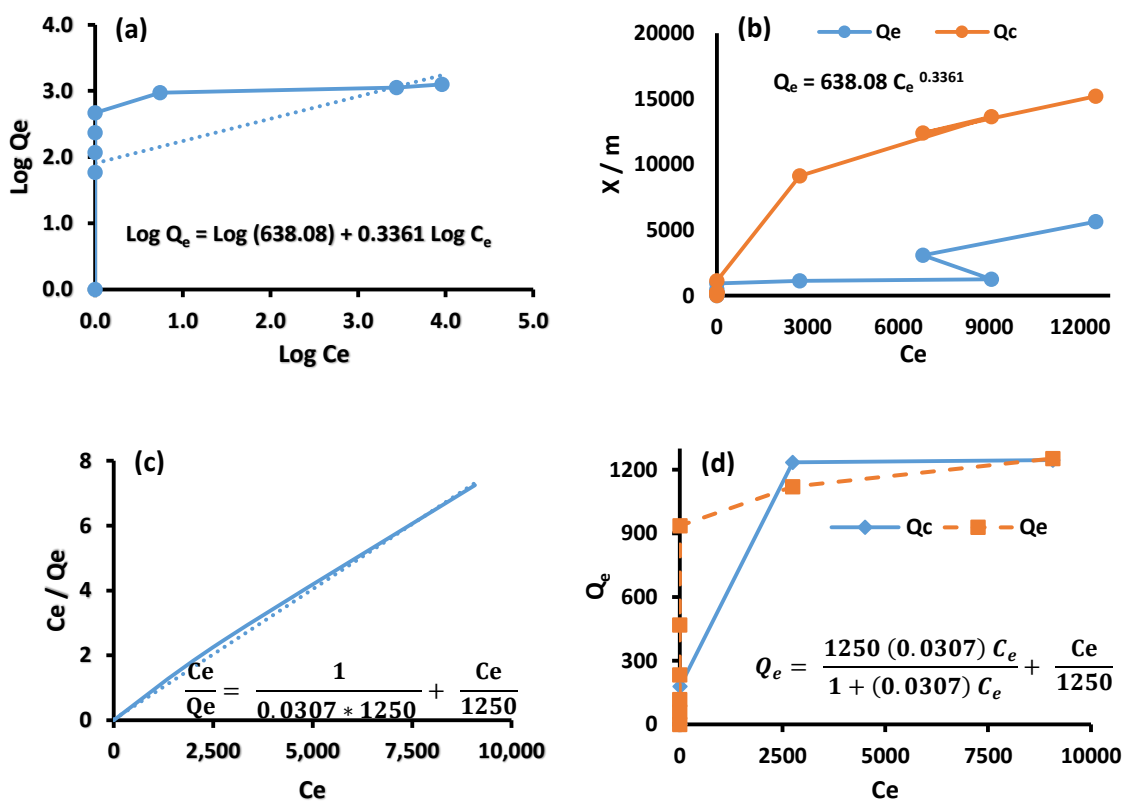


Figura 10. Isothermas de sorción de plomo. a) Forma lineal de la isoterma de Freundlich, b) forma exponencial de la isoterma de Freundlich, c) forma lineal de la isoterma de Langmuir, d) forma exponencial de la isoterma de Langmuir.

Utilizando nHAP de menor tamaño (30 nm) y sintetizadas por el método combinado de ultrasonido y microondas, Brundavanam *et al.* (2015) observaron bajas tasas de adsorción

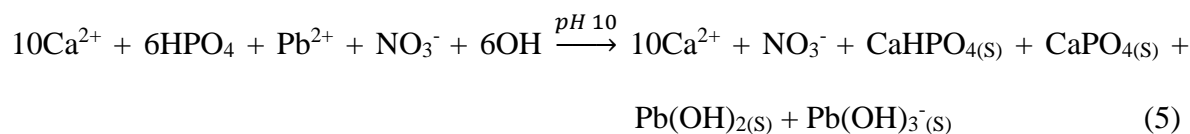
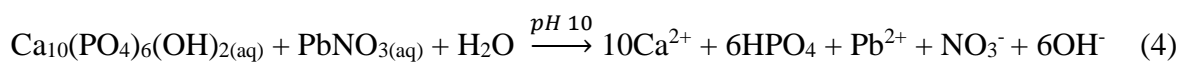
de metales (Fe^{2+} , Cu^{2+} y Zn^{2+}) en solución acuosa. Lo que implicaría que el tamaño de nanopartículas tiene función secundaria en los procesos de adsorción. Por lo que se recomienda continuar la investigación respecto a la distribución del tamaño de partículas y su reactividad, para tener una conclusión específica a este nanomaterial. Otros parámetros como pureza de nanopartículas podrían ser la clave para los valores más altos de adsorción. También es posible que la incorporación de un mecanismo extra de sorción (quimiosorción) pudiera contribuir a explicar la variación observada, en este caso correspondería a precipitación de Pb. Para detallar estos procesos se recomienda modelar la especiación química del sistema. De acuerdo con Radojevic y Bashkin (2006), el estado físico en la solución se evalúa estableciendo la relación entre el producto de actividad iónica (IAP) y la constante del producto de solubilidad (K_{sp}) de acuerdo a lo siguiente:

$IAP > K_{sp}$ La solución es supersaturada y las sales precipitan

$IAP = K_{sp}$ La solución se encuentra en equilibrio con las sales

$IAP < K_{sp}$ La solución no se encuentra saturada y todas las sales están solubles

Para la isoterma de adsorción, el equilibrio puede ser descrito de la siguiente forma:



Dadas las altas concentraciones tanto de nHAP como de Pb, la solución se encuentra saturada, por lo que existirá precipitación de Pb en forma de hidróxidos, lo cual disminuye

la biodisponibilidad de éste en el sistema y por ello el cambio repentino de la pendiente en la isoterma de adsorción.

3.3.2 Adsorción de metales en lixiviados

El lixiviado Pal presentó en su mayoría, menor concentración de metales solubles con respecto a las del lixiviado Preisser. La concentración de manganeso soluble fue igual para ambos lixiviados. Ambos lixiviados tuvieron el mismo patrón de concentración de metales solubles, el cual es el siguiente: Fe>Zn>Cu>Mn>Cd>Ni>Pb (Cuadro 3.3). La concentración inicial de metales solubles en las distintas mezclas correspondiente a los cinco tratamientos se presenta en el Cuadro 3.4.

Cuadro 3.3. Concentración inicial de iones solubles en lixiviados de mina.

Variable	Lixiviado Pal	Lixiviado Preisser
Hierro	4450.00 ± 125.30 ^a	5286.00 ± 107.86 ^b
Zinc	720.00 ± 26.46 ^a	1003.33 ± 101.16 ^b
Cobre	58.00 ± 1.73 ^a	76.33 ± 3.21 ^b
Manganeso	41.00 ± 3.60 ^a	41.67 ± 3.21 ^a
Cadmio	5.70 ± 0.10 ^a	9.33 ± 0.35 ^b
Níquel	0.95 ± 0.02 ^a	0.81 ± 0.05 ^b
Plomo	0.13 ± 0.05 ^a	0.81 ± 0.05 ^b
Sulfatos	514.93 ± 5.28 ^a	222.01 ± 7.92 ^b
pH	2.23 ± 0.06 ^a	2.00 ± 0.03 ^b

Letras distintas indican diferencias significativas entre los lixiviados ($p < 0.05$). Se presenta media y desviación estándar, $n=3$.

Los porcentajes de remoción de metal por cada tratamiento variaron para cada lixiviado (Cuadro 3.5). Existe relación directa entre la concentración de adsorbente aplicado (expresado como mg de nHAP) y el porcentaje de remoción de metales. Sin embargo, dado que las concentraciones de metales en los tratamientos son variables, alto porcentaje de remoción de metal no corresponde a mayor concentración de metal removido (expresado como mg de metal por gramo de nHAP).

Cuadro 3.4. Concentración inicial de metales solubles en las mezclas de cada tratamiento (expresada en mg L⁻¹).

Tratamiento	Lixiviado	Metal						
		Fe	Cu	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb
1	Pal	3337.50	43.50	30.75	540.00	4.28	0.71	0.10
1	Preisser	3965.00	57.25	31.25	752.50	7.00	0.61	0.61
2	Pal	2670.00	34.80	24.60	432.00	3.42	0.57	0.08
2	Preisser	3172.00	45.80	25.00	602.00	5.60	0.48	0.48
3	Pal	2002.50	26.10	18.45	324.00	2.57	0.43	0.06
3	Preisser	2379.00	34.35	18.75	451.50	4.20	0.36	0.36
4	Pal	1335.00	17.40	12.30	216.00	1.71	0.29	0.04
4	Preisser	1586.00	22.90	12.50	301.00	2.80	0.24	0.24
5	Pal	667.50	8.70	6.15	108.00	0.86	0.14	0.02
5	Preisser	793.00	11.45	6.25	150.50	1.40	0.12	0.12

Ver referencia de cada tratamiento en el Cuadro 3.1.

También se observa que cada uno de los metales analizados presenta diferencias en la disminución de su concentración soluble. Estas diferencias pueden deberse a la afinidad de las nHAP por ciertos metales dependiendo de su concentración inicial o radio iónico

hidratado. Lo cual implica competencia entre ellos por la superficie de reacción del adsorbente (nHAP).

Cuadro 3.5. Remoción de metal (expresada en porcentaje) por cada tratamiento.

Tratamiento	Lixiviado	Metal						
		Fe	Cu	Mn	Zn	Cd	Ni	Pb
1	Pal	11.41	-5.21	-20.33	2.47	5.65	12.98	75.55
1	Preisser	-11.73	-21.69	-13.07	-12.07	-7.14	1.93	62.09
2	Pal	16.60	-6.99	-8.13	7.41	-7.21	23.39	100.00
2	Preisser	-4.14	-8.44	-32.00	-17.94	-18.45	10.47	100.00
3	Pal	66.21	-5.36	-6.41	16.67	-11.76	35.28	100.00
3	Preisser	15.23	-4.80	-38.67	-16.65	-13.49	-40.50	100.00
4	Pal	87.19	10.34	-7.32	42.90	-3.31	29.82	100.00
4	Preisser	26.65	-6.26	-46.67	-2.99	-7.14	-23.97	100.00
5	Pal	98.13	94.41	-4.61	54.01	66.86	64.91	100.00
5	Preisser	64.44	49.05	-9.87	37.98	4.76	28.38	100.00

La concentración inicial de los distintos metales en los lixiviados de cada tratamiento es un factor muy importante que afecta sus patrones de adsorción (Farghali *et al.*, 2013). Para el caso de Fe, en cada uno de los lixiviados se observaron patrones de sorción distintos. El lixiviado Pal, que en su mayoría presentó la menor concentración de metales solubles con respecto al lixiviado Preisser, tuvo procesos de sorción que son independientes de la concentración de nHAP aplicada. Al adicionar mayor cantidad de nHAP no aumentó la concentración de Fe adsorbido. Esto se explica por los sitios activos del material sorbente:

Una concentración de nHAP superior a la óptima conduce a la reducción en los sitios activos por unidad de masa, debido a la posible aglomeración. En este caso, el tercer tratamiento fue el óptimo para la sorción de metales (Figura 3.2) puesto que presenta valores de adsorción (Q_{ads}) de 19.38 mg de Fe adsorbido por gramo de nHAP. Mientras tanto, el tratamiento 5 con la mayor concentración de nHAP presentó únicamente 5.75 mg de Fe adsorbido por gramo de nHAP.

En el caso del lixiviado Preisser, la sorción de Fe depende directamente de la concentración de nHAP en el sistema: Bajas concentraciones de nHAP aplicadas derivan en desorción de Fe, conforme la dosis de nHAP aumenta, la desorción disminuye hasta convertirse en adsorción. Otro factor necesario de evaluar es el efecto de los aniones acompañantes presentes en el sistema. Los porcentajes de diferencia en la concentración de metales solubles entre ambos lixiviados son muy pequeños. Por ejemplo, para el Fe, el porcentaje de diferencia es de 18.79%. Sin embargo, para el anión sulfato, que tiene su mayor concentración en el lixiviado Pal, la diferencia es mucho más contrastante, siendo ésta del 131.93%. Dada esta situación, también se le atribuye al ión sulfato las diferencias en los patrones de sorción.

De acuerdo a los diagramas de formación de complejos calculados por Lindsay (1980), es posible que en el lixiviado Pal se formen principalmente los complejos $FeH_2PO_4^{2+}$, $FeSO_4^+$ y $Fe(SO_4)_2^-$ los cuales no contribuyen significativamente a la concentración de Fe en solución. En el caso del lixiviado Preisser se formaría principalmente la especie $FeHPO_4^+$ que en condiciones ácidas incrementa la concentración total de Fe en solución. De esta forma se explica porque bajo las mismas condiciones experimentales en un lixiviado disminuyó la concentración de metales, mientras que en otro aumentó.

En el caso del Zn, también se observó el mismo patrón de sorción que presentó el Fe en el lixiviado Pal y el lixiviado Preisser. Probablemente debido a que el Zn es el segundo metal más abundante en ambos lixiviados, después del Fe. Además, el Zn pertenece al mismo grupo de la tabla periódica que el Fe. Ayalew (2015) reportó una tendencia similar en la sorción de Zn y Fe en la solución de varios suelos. Balintova *et al.* (2012) reportó que estas similitudes están en función del pH.

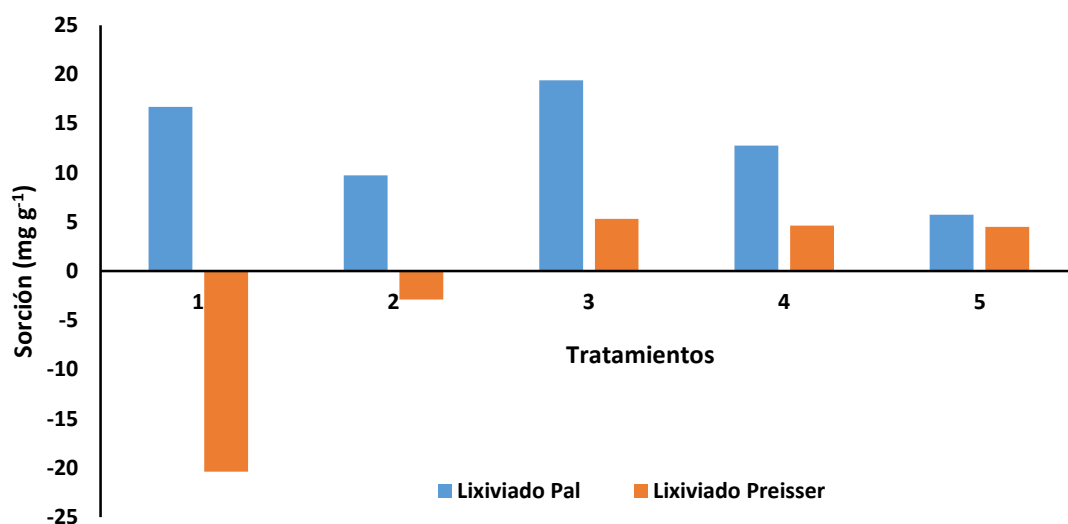


Figura 11. Sorción de hierro en lixiviados de mina usando nHAP.

3.3 Cinética de equilibrio de metales en mezclas de suelo orgánico - residuo de mina

3.3.1 Caracterización de sustratos

En la Figura 3.3 se observa que los cuatro sustratos (Residuo de mina, mezcla 50-50, mezcla 25-75 y suelo orgánico) tuvieron pH ligeramente alcalino, razón por la cual la concentración de metales extractables (o biodisponibles) es baja, con respecto a su concentración total.

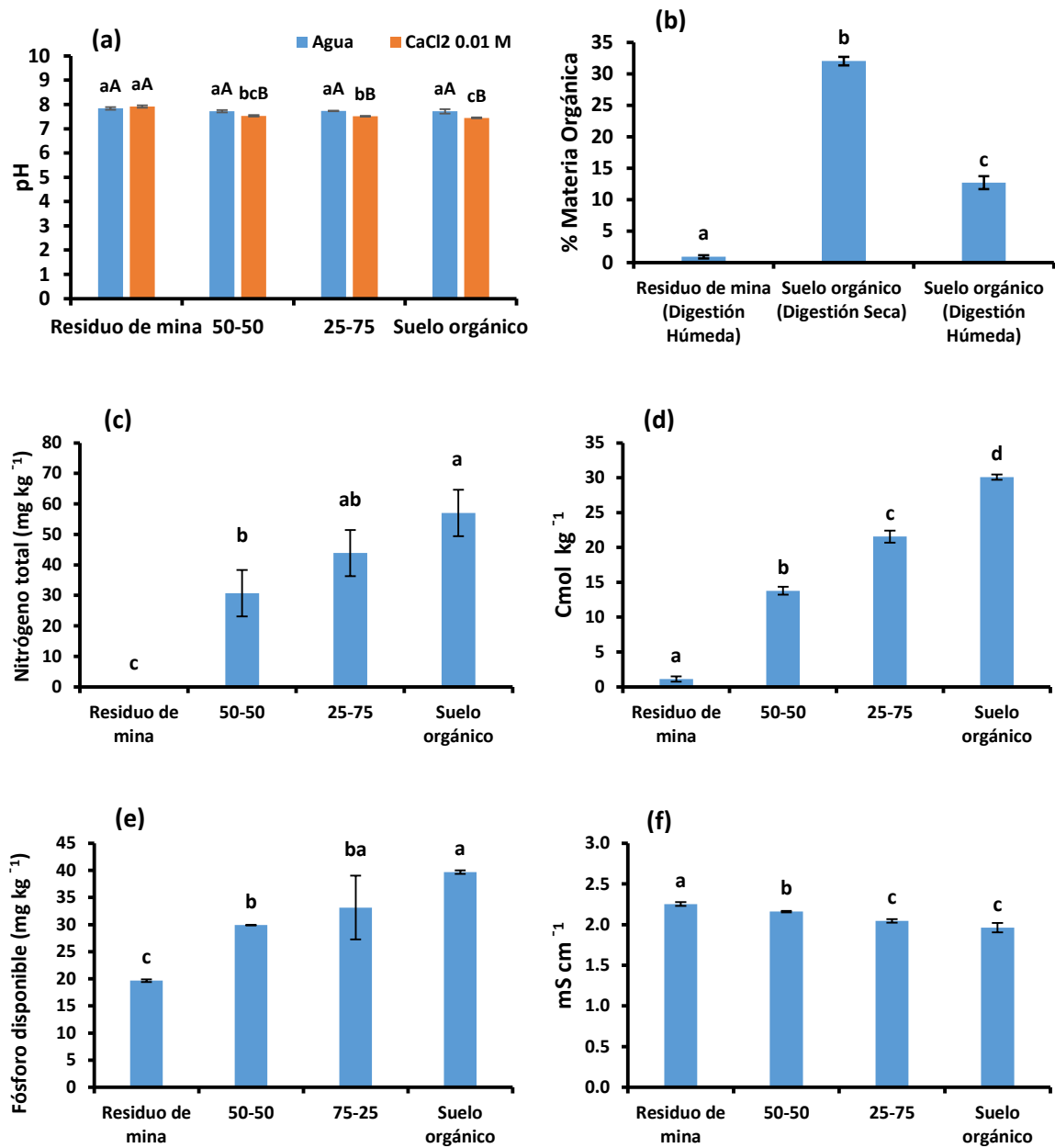


Figura 12. Caracterización química de sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre los sustratos ($p < 0.05$). Se presenta media y desviación estándar, $n=3$. a) pH, b) porcentaje de materia orgánica, c) concentración de nitrógeno total, d) capacidad de intercambio catiónico, e) concentración de fósforo disponible, f) conductividad eléctrica.

De acuerdo a la NOM-021-SEMARNAT-2000 el contenido de materia orgánica en el suelo orgánico se clasifica como muy alto (32.04%), mientras que el residuo de mina como bajo

(0.90%). Las mezclas 25-75 y 50-50 tuvieron contenido de materia orgánica proporcional al porcentaje de suelo orgánico que se utilizó para prepararlas. El suelo orgánico disminuyó la concentración de metales extractables en el residuo de mina mediante las mezclas 25-75 y 50-50 a través de dos mecanismos: 1) dilución de los metales y 2) formación de complejos organometálicos dado el alto contenido de materia orgánica. También pudo haber adsorción de metales a materia orgánica. Sin embargo, dependiendo el tipo de compuestos orgánicos presentes en la materia orgánica, la concentración extractable de metales podría aumentar o disminuir debido a la solubilización (ácidos húmicos) o inmovilización (ácidos fúlvicos) de los mismos (Boechat *et al.*, 2016).

El contenido de nitrógeno en los sustratos es alto para el suelo orgánico (5.703%), medio (3.07%) y alto (4.39%) para las mezclas 25-75 y 50-50, y muy bajo para el residuo de mina (0%). De acuerdo al Instituto de la Potasa y el Fósforo (INPOFOS, 1997), el contenido de nitrógeno representa el 5% aproximado del total de materia orgánica. Esto resulta correcto para este suelo, en donde la relación nitrógeno – materia orgánica es del 5.68%.

La CIC es alta para el suelo orgánico (30.08 Cmol kg⁻¹), media para la mezclas 25-75 (21.56 Cmol kg⁻¹), baja para la mezcla 50-50 (13.79 Cmol kg⁻¹) y muy baja para el residuo de mina (1.13 Cmol kg⁻¹). La CIC es un indicador de la movilidad de los metales a través del suelo, ya que mide la cantidad de sitios disponibles (cargas negativas) de sorción. La alta CIC del suelo orgánico disminuye la movilidad de los metales del residuo de mina a través de las mezclas.

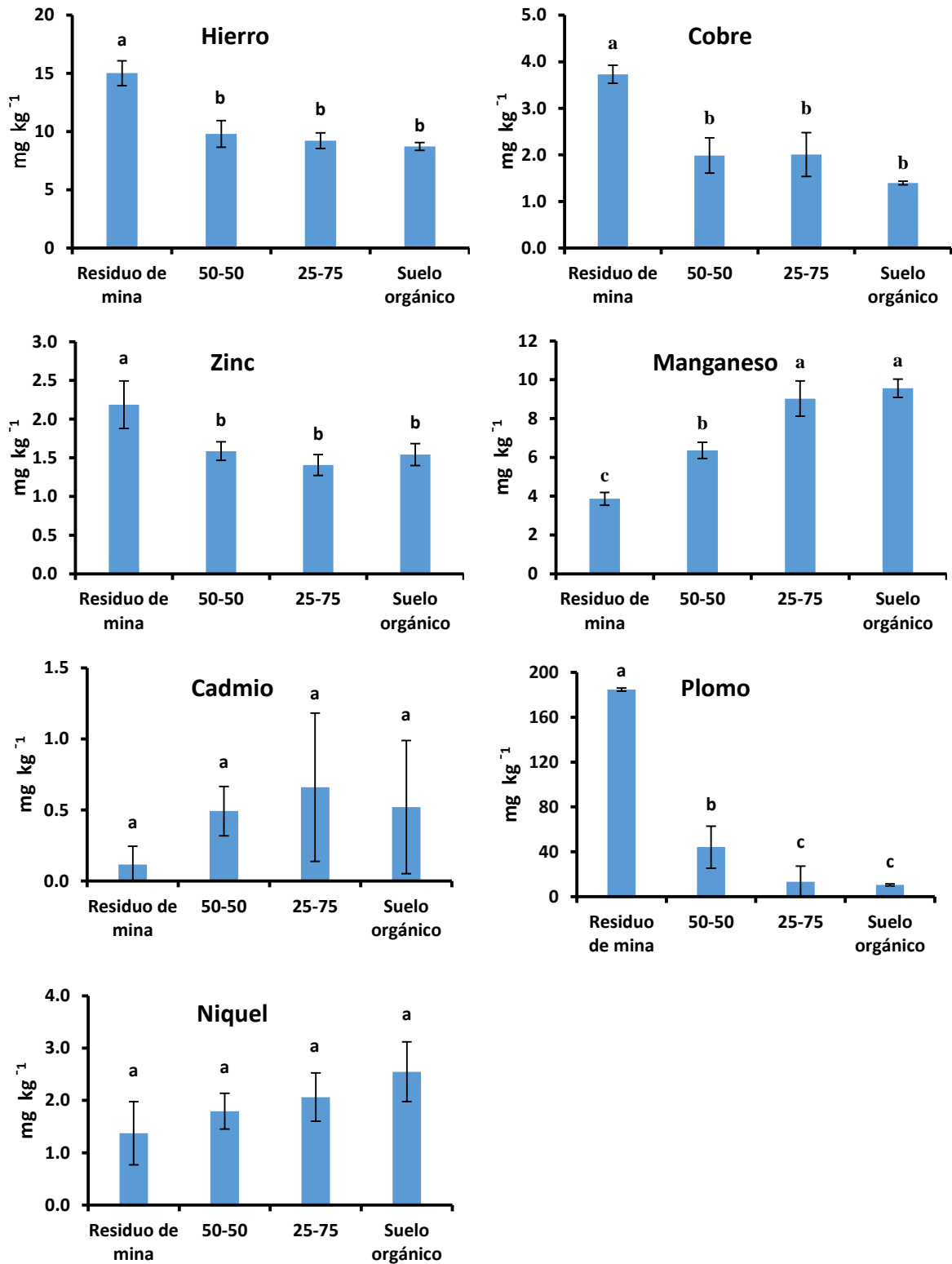


Figura 13. Concentración inicial de metales extractables en sustratos. Letras distintas indican diferencias significativas entre los minerales ($p < 0.05$). Se presenta media y desviación estándar, $n=3$.

De acuerdo a la SEMARNAT (2000) NOM-021-RECNAT-2000, solo el Pb en el residuo de mina se encuentra en concentraciones extractables peligrosas ($184.58 \text{ mg kg}^{-1}$). Esta norma presenta un intervalo de 100 a 300 mg kg^{-1} de acuerdo a la tolerancia promedio de los cultivos. Cadmio y níquel se encuentran en concentraciones extractables normales (0.12 y 1.37 mg kg^{-1} respectivamente) dado que la norma marca 3 a 5 mg kg^{-1} y 100 mg kg^{-1} respectivamente. En el suelo orgánico y mezclas 50-50 y 25-75, las concentraciones extractables de Pb (10.57 , 44.25 y 13.28 mg kg^{-1} respectivamente), cadmio (0.52 , 0.49 y 0.66 mg kg^{-1} respectivamente) y níquel (2.55 , 1.79 y 2.06 mg kg^{-1} respectivamente) se encuentran en concentraciones normales. Fe, Cu, Zn y Mn se encuentran en concentraciones adecuadas en el residuo de mina, mezcla 50-50, mezcla 25-75 y suelo orgánico (Figura 3.4). Sin embargo, la norma no considera intervalos de concentraciones extractables peligrosas para estos metales.

3.3.2 Efecto de nHAP y RFM en la estabilización de metales extractables.

La aplicación repetida de concentraciones de RFM y nHAP disminuyó significativamente la concentración de Pb extractable en las mezclas 50-50 y el residuo de mina, respectivamente (Figura 3.5). Sin embargo, al ser un sistema real, la disminución en la concentración de Pb será mucho menor que en un sistema ideal. Principalmente, la capacidad de amortiguamiento de los sistemas (que está en función de sus propiedades físicas y químicas) neutralizan parcialmente el potencial de sorción y alcalino de las nHAP.

La menor concentración de Pb extractable en el residuo de mina ($100.15 \text{ mg kg}^{-1}$) se obtuvo con la quinta aplicación. La sexta aplicación no presentó cambios en la concentración de Pb extractable. Calcular la concentración óptima de nHAP promueve la rentabilidad de esta tecnología, lo que facilitaría su adopción. Por otro lado, se evita aplicar concentraciones en

exceso de nHAP, evitando así la eutrofización de cuerpos de agua debido a altas concentraciones de fósforo (Yang, 2008). Para la mezcla 50:50 y 25-75 fue la tercera aplicación de RFM la que presentó menor concentración de Pb extractable (55.75 mg kg⁻¹ y 17.33 mg kg⁻¹ respectivamente).

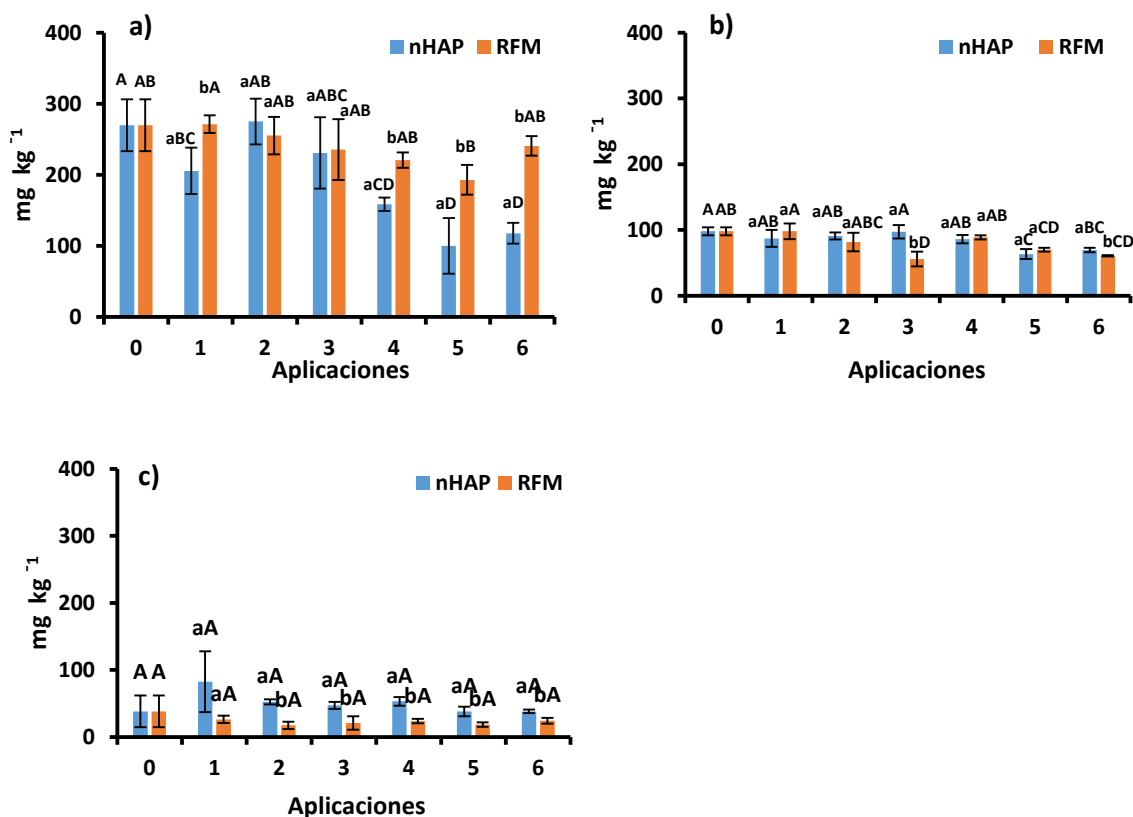


Figura 14. Estabilización de concentración de plomo en distintos sustratos mediante aplicación de soluciones fosforadas. nHAP= Nanopartículas de hidroxapatita. RFM= Roca fosfórica de Marruecos. a) Residuo de mina, b) mezcla 50-50 y c) mezcla 25-75. Letras distintas indican diferencias significativas (mayúsculas entre las aplicaciones y minúsculas entre las soluciones, p<0.05). Se presenta media y desviación estándar, n=3.

Las variaciones en la disminución de la concentración de Pb extractable entre el residuo de mina y las mezclas 50-50 y 25-75 se explica dada la interacción de los compuestos orgánicos del suelo orgánico con las soluciones fosforadas. La RFM presenta la misma concentración de fósforo que las nHAP, sin embargo la RFM tiene solubilidad mayor. Por

esto, la RFM reacciona de forma más rápida con la materia orgánica y el Pb que las nHAP, formando compuestos estables que disminuyen la concentración de Pb extractable. Boechat *et al.* (2016) encontraron que los ácidos fúlvicos son los responsables de la disminución de la concentración de metales extractables al interactuar con los distintos componentes del suelo, entre ellos los minerales fosforados.

Los ciclos de humedecimiento y secado en el residuo de mina y las dos mezclas aumentan la concentración de metales, lo cual se observa al comparar la concentración inicial y final de Pb extractable en el testigo, el cual fue regado únicamente con agua destilada. Esto podría deberse a que se reactivan todos los procesos fisicoquímicos que se presentan en la solución del suelo, que a la vez quedan latentes cuando el suelo pierde mucha humedad.

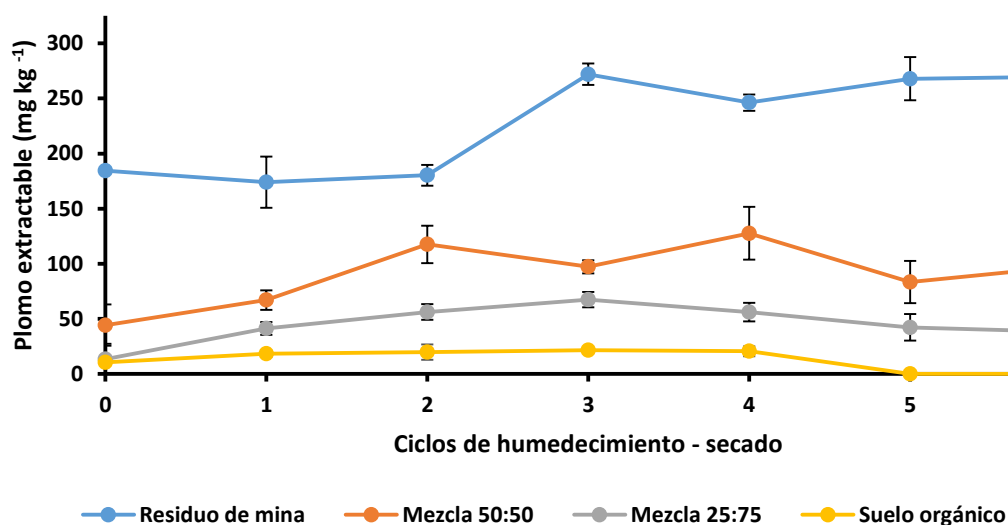


Figura 3.6 . Variación natural de la concentración extractable de plomo en los sustratos debida a los ciclos de humedecimiento y secado. Se presenta media y desviación estándar, n=3.

La proporción del incremento en la concentración de Pb debida únicamente a los ciclos de humedecimiento y secado fue la siguiente: 1.46 para el residuo de mina, 2.21 para la mezcla 50:50 y 2.88 veces para la mezcla 25:75 (Figura 3.6). En el caso de residuo de mina, las nHAP son más eficientes que la RFM para disminuir la concentración de Pb extractable; sin embargo tienen un beneficio secundario: no aportan metales al suelo. Al sustituir el uso de RFM por nHAP, se elimina el incremento paulatino en la concentración de ciertos cationes metálicos (como cromo, cadmio, zinc, sodio o potasio); los cuales se encuentran como impurezas frecuentes en las rocas fosfóricas. La RFM tiene altas concentraciones de estos cationes (291, 30, 345, 5362 y 580 mg g⁻¹ respectivamente) de acuerdo con Baysal *et al.* (2002), situándose entre las cinco rocas fosfóricas que aportan más metales al suelo dependiendo el catión. La RFM aporta metales al suelo en el orden siguiente: Cr>Cd>Zn=Na=K. Dado que no existen medios comerciales que remuevan estos cationes durante la manufactura de fertilizantes fosforados (Aydin *et al.*, 2010), las nHAP podrían sustituir a las rocas fosfóricas en sus diversas aplicaciones ambientales; como estabilizar las concentraciones de Pb extractable en los residuos de mina.

3.4. CONCLUSIONES

En un sistema ideal las nHAP presentan adsorción de Pb de 1,250 mg g⁻¹. La isoterma de adsorción corresponde al modelo de Langmuir, aunque por los altos valores de sorción se pone en duda el supuesto de adsorción en monocapas de este modelo. En sistemas reales como lixiviados o residuos de mina, la sorción disminuye con respecto a sistemas ideales (como lo es una solución monoelemento) e incluso se presenta desorción de metales. Esto depende de las concentraciones iniciales tanto del adsorbente (nHAP) como del adsorativo (cationes y aniones) debido a la sorción competitiva, interferencia en los sitios de sorción y

formación de complejos solubles con sulfatos. Las nHAP disminuyen la concentración de Pb extractable en residuos de mina. Mientras que la RFM lo hace en las mezclas de residuo de mina con suelo orgánico. La materia orgánica favorece a la RFM en la disminución de la concentración de Pb extractable. Debido probablemente a la interacción de los ácidos fúlvicos. Los ciclos naturales de humedecimiento y secado aumentan la concentración de Pb extractable.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para el desarrollo de la presente investigación. A la extinta Línea Prioritaria de Investigación (LPI 16) “Innovación Tecnológica” del Colegio de Postgraduados por su apoyo en la Unidad de Microscopía Electrónica.

3.5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arao T.; Ishikawa S.; Murakami M.; Abe K.; Maejima Y.; Makino T. 2010. Heavy metal contamination of agricultural soil and countermeasures in Japan. *Paddy and Water Environment*, 8(3), 247-257. doi.org/10.1007/s10333-010-0205-7
- Ayalew A.; Beyene S.; Walley F. 2015. Sorption of zinc and iron in soils of selected areas in southern Ethiopia. *Chemistry and Materials Research*, 7(11), 24-34. ISSN 2225-0956 (Online).
- Aydin I.; Aydin F.; Saydut A.; Bakirdere E. G.; Hamamci C. 2010. Hazardous metal geochemistry of sedimentary phosphate rock used for fertilizer (Mazidag, SE Anatolia, Turkey). *Microchemical Journal*, 96(2), 247-251. doi.org/10.1016/j.microc.2010.03.006

- Balintova M.; Holub M.; Singovszka E. 2012. Study of iron, copper and zinc removal from acidic solutions by sorption. *Chemical Engineering Transactions*, 28, 175-180.
doi.org/10.3303/CET1228030
- Baysal A.; Akba O.; Merdivan M.; Hamamci C.; Gumgum B. 2002. Comparison of microwave digestion procedures for the determination of some elements in asphaltite ash using ICP-AES. *Annali di Chimica*, 92, 1127-1133.
- Boechat C. L.; Pistóia V. C.; Ludtke A. C.; Gianello C.; Camargo F. A. de O. 2016. Solubility of heavy metals/metalloid on multi-metal contaminated soil samples from a gold ore processing area: Effects of humic substances. *Revista Brasileira de Ciencia do Solo*, 40, 1-10. doi.org/10.1590/18069657rbcs20150383
- Chen S. B.; Ma Y. B.; Chen L.; Xian K. 2010. Adsorption of aqueous Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} ions by nano-hydroxyapatite: Single- and multi-metal competitive adsorption study. *Geochemical Journal*, 44, 233-239. doi.org/10.2343/geochemj.1.0065
- Dong L.; Zhu Z.; Qiu Y.; Zhao J. (2010). Removal of lead from aqueous solution by hydroxyapatite/magnetite composite adsorbent. *Chemical Engineering Journal*, 165(3), 827-834. doi.org/10.1016/j.cej.2010.10.027
- Farghali A. A.; Bahgat M.; Enaiet Allah A.; Khedr M. H. 2013. Adsorption of Pb (II) ions from aqueous solutions using copper oxide nanostructures. Beni-Suef University. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 2(2), 61-71.
doi.org/10.1016/j.bjbas.2013.01.001
- Ferreira M. G. S.; Montemor M. F. 2010. Hydroxyapatite Microparticles as feedback-active reservoirs of corrosion. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2(11), 3011-3022.

doi.org/10.1021/am1005942

Foo K. Y.; Hameed B. H. 2010. Insights into the modeling of adsorption isotherm systems.

Chemical Engineering Journal, 156(1), 2-10. doi.org/10.1016/j.cej.2009.09.013

Forloni G. 2012. Responsible nanotechnology development. *Journal of Nanoparticle*

Research, 14(8), doi.org/10.1007/s11051-012-1007-1

Instituto de la Potasa y el Fosforo (INPOFOS). 1997. Manual internacional de fertilidad de suelos. Potash and Phosphate Institute. USA. Georgia, USA. 72 pp.

Langmuir I. 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum.

Journal of the American Chemical Society, 40(9), 1361-1403. doi.org/doi:

10.1021/ja02242a004

Lindsay W. L. 1980. Chemical equilibria in soils. *Clays and Clay Minerals*. 28 (4). 449 p.

New York, USA. doi.org/10.1346/CCMN.1980.0280411

Nriagu J. O. 1974. Lead orthophosphates-IV Formation and stability in the environment.

Geochimica et Cosmochimica Acta, 38(6), 887-898. doi.org/10.1016/0016-

7037(74)90062-3

Qu L.; Xie Y.; Lu G.; Yang C.; Zhou J.; Yi X.; Dang Z. 2017. Distribution, fractionation, and contamination assessment of heavy metals in paddy soil related to acid mine

drainage. *Paddy and Water Environment*, 15(3), doi.org/10.1007/s10333-016-0572-9

Radojevic M.; Bashkin V. N. 2006. Practical Environmental Analysis. Royal Society of Chemistry. Ed. 2nd Revise. Cambridge, UK. 450 p.

Rhoades J. D.; Manteghi N. A.; Shouse P. J.; Alves W. J. 1989. Estimating soil salinity

from saturated soil-paste electrical conductivity. *Soil Science Society of America Journal*, 53(2), 428-433. doi.org/10.2136/sssaj1989.03615995005300020067x

Rodríguez-Ortíz J. C.; Valdez-Cepeda R. D.; Lara-Mireles J. L.; Rodríguez-Fuentes H.; Vázquez-Alvarado R. E.; Magallanes-Quintanar R.; García-Hernández J. L. 2006. Soil nitrogen fertilization effects on phytoextraction of cadmium and lead by tobacco (*Nicotiana tabacum L.*). *Bioremediation Journal*, 10(3), 105-114. doi.org/10.1080/10889860600939815

Schoonover J. E.; Crim J. F. 2015. An introduction to soil concepts and the role of soils in watershed management. *Journal of Contemporary Water Research & Education*, 154(1), 21-47. doi.org/10.1111/j.1936-704X.2015.03186.x

SEMARNAT. 2000. Norma Oficial Mexicana NOM-021-Semarnat-2000 Que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos, estudio, muestreo y análisis. Diario Oficial de la Federación. 85.

Yang X.; Wu X.; Hao H.; He Z. 2008. Mechanisms and assessment of water eutrophication. *Journal of Zhejiang University Science B*, 9(3), 197-209. doi.org/10.1631/jzus.B0710626

Zhao Z.; Jiang G.; Mao R. 2014. Effects of particle sizes of rock phosphate on immobilizing heavy metals in lead zinc mine soils. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(2), 258-266. doi.org/10.4067/S0718-95162014005000021

4. DISCUSIÓN GENERAL

Síntesis y caracterización de nanopartículas. Durante el proceso de estandarización de síntesis de hidroxiapatita en tamaño nanométrico, usando el procedimiento de precipitación química, se generaron partículas de amplio intervalo de tamaño: desde 60 hasta más de 1000 nm. Aunque generalmente se reportan dimensiones variables de 25 a 200 nm (Maisara y Arsad, 2011). Según lo observado, el tamaño de las partículas varía dependiendo del control de variables durante el experimento como son:

- a) El pH final de las soluciones
- b) La temperatura del reactor: a mayor temperatura menor tamaño. Las variaciones de temperatura dentro del reactor de síntesis, durante el proceso, afectan la distribución del tamaño de partículas (homogénea o heterogénea). Además, la relación inversamente proporcional entre temperatura y tamaño de partícula es dependiente de la especie química de fósforo o de calcio usada en la síntesis. Ya que especies distintas presentan una relación directamente proporcional entre temperatura y tamaño de partícula.
- c) La velocidad de ajuste del pH para precipitar las partículas: elevar el pH rápidamente aumenta el tamaño de las partículas. La formación de las partículas está acompañada de cambio en el pH de la solución. La velocidad con la que cambia el pH es frecuentemente usada como un indicador de la cristalización de las partículas. El pH cambia en general en pasos, disminución de 10 a 7 por la adición del ácido fosfórico por la formación de complejos Ca-P, lo cual consume los iones PO_4^{3-} y HPO_4^{2-} libres (Ding *et al.*, 2014). Después, un incremento paulatino durante la adición del hidróxido. En esta fase la adición rápida puede provocar inducción de aglomerados grandes y fases amorfas.

En este escrito sólo se incluyeron los resultados de las pruebas con las que se produjeron partículas con tamaño menor a 100 nm. El método de precipitación química que se usó está incluido dentro de los procedimientos considerados económicos, con base a lo sugerido por Gupta y Nayak (2012). La variación en los parámetros cristalográficos de la nHAP con respecto a una hidroxiapatita estequiométrica (JCPDS card, 9-432) está determinada principalmente por su composición y por los modos de coordinación de los iones fosfato (Haverty *et al.*, 2005) que son derivados del método de síntesis. Estas variaciones se presentan como pequeños cambios en las intensidades de los picos en los difractogramas de rayos X (Figura 2.5). Además, son también reflejadas como variaciones en las distintas vibraciones de los grupos funcionales en los espectros FTIR.

La síntesis biológica de nHAP puede ser un medio para el uso de residuos como los huesos de reses y pescado (Boutinguiza *et al.*, 2012, Barakat, 2008). Sin embargo, es necesario optimizar el procedimiento de eliminación de tejido suave y grasa de la superficie de los huesos, para reducir el tiempo y esfuerzo; y con ello hacer más económico el proceso.

De acuerdo a los espectros de rayos X y FTIR, no existen diferencias entre la estructura cristalina y los enlaces en la hidroxiapatita obtenida por síntesis biológica con respecto a la obtenida por síntesis química. Sin embargo, de acuerdo al análisis EDAX, las partículas de hidroxiapatita obtenidas con hueso de pescado presentan impurezas por carbonatos. Estos carbonatos modifican la composición de la hidroxiapatita obtenida (Sobczak *et al.*, 2009). En este trabajo no se evaluó la síntesis por incineración por lo que se recomienda evaluar el procedimiento y hacer una relación de costos y rendimientos, ya que este método de síntesis disminuye la concentración de carbonatos presentes en las partículas de hidroxiapatita.

Toxicidad de nanopartículas. La concentración de nHAP que se usó en las pruebas de toxicidad fue alta ($8,000 \text{ mg L}^{-1}$) y muy probablemente irreal, dado que se busca usar cantidades bajas de nanopartículas por su eficiencia y reactividad. Sin embargo, esta concentración se calculó considerando su solubilidad mediante la tasa de liberación de fosfatos en ácido cítrico, simulando así una baja concentración de fósforo disponible. La nHAP presentó baja inhibición en la germinación de la semilla y nula toxicidad. Esto demuestra que este material se puede usar con bajo riesgo, al menos para las plantas.

Sorción de metales en nHAP. Cuando las nanopartículas entran en contacto con el ambiente (Braunschweig *et al.*, 2013) como por ejemplo con agua contaminada, residuos o con el suelo reaccionan hasta llegar al equilibrio químico. Dentro de estas reacciones posibles tenemos: agregación entre partículas por interacción con iones vinculantes; adsorción de solutos presentes en el medio; crecimiento de los cristales de nanopartículas por aglomeración; recubrimiento de materiales o bien que las nanopartículas recubran coloides o solutos; disolución de la hidroxiapatita o coprecipitación de las nanopartículas con solutos o sólidos suspendidos en el medio (Figura 4.1). Esta última ocurre principalmente si el pH disminuye, pues la partícula se desestabiliza y se disocia en sus componentes.

Para el presente trabajo, el mecanismo de reacción de adsorción de solutos es la propiedad más importante en las nanopartículas sintetizadas. Sin embargo, dadas las condiciones de los sistemas ambientales que se manejaron (residuos y lixiviados de mina), en algunos casos se obtuvo el mecanismo de reacción contrario: desorción. Debido a esto es necesario considerar la solubilidad teórica y la experimental para definir el tamaño de adsorbentes requeridos considerando la ecuación de Kevin (Gilbert *et al.*, 2005, Echigo *et al.*, 2012).

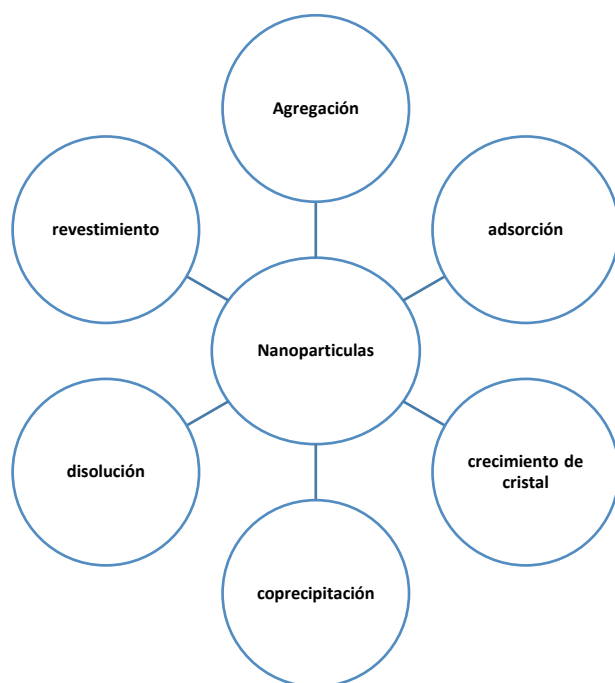


Figura 15. Reacciones posibles de las nanopartículas introducidas al agua o al suelo.

Donde:

$$S/S_0 = e^{(2r \gamma / RTv)}$$

S= Solubilidad mol kg⁻¹

S₀= Solubilidad del material a granel mol kg⁻¹

r= radio iónico

γ = Energía libre superficial mJ m⁻²

v= volumen molecular m³ mol⁻¹

R= Constante de gases ideales mJ mol⁻¹ K⁻¹

T= Temperatura absoluta K

La variación en las tasas de adsorción de los elementos analizados (Fe, Cu, Mn, Zn, Pb, Ni y Cd) requiere entender qué sucede en la interacción nanopartículas y lixiviados. Debido a esto, es necesario explicar la interacción sulfatos-hidroxiapatita y su relación con la liberación de algunos elementos, hasta ahora no se tiene información al respecto.

La sorción de metales en solución monoelemento (Pb) a través de nanopartículas de hidroxiapatita se ajusta a los modelos monocapa. Esta hipótesis se acepta, ya que los datos experimentales se ajustan a la isoterma Langmuir.

La solubilidad de fósforo en ácido cítrico a 2% de las nanopartículas de hidroxiapatita es mayor que la de micropartículas de hidroxiapatita. Esta hipótesis se rechaza, pues existen micropartículas de hidroxiapatita (RFBCS, RFSLP, RFM y RFZH) con mayor porcentaje de solubilidad acumulada.

Las nanopartículas de hidroxiapatita no son tóxicas para las plantas de lechuga (*Lactuca sativa*). Esta hipótesis se acepta, debido a que durante el corto periodo de germinación, las nHAP no presentaron ningún mecanismo de reacción que alterara los ciclos fisiológicos de las semillas.

Las nanopartículas de hidroxiapatita disminuyen la concentración de plomo extractable en residuos de mina. Esta hipótesis se acepta, puesto que la concentración disminuyó desde la primer aplicación de nHAP. Sin embargo, la concentración más baja se obtuvo con la quinta aplicación.

4.1 CONCLUSIONES GENERALES

Las nHAP sintetizadas no presentaron efectos tóxicos en semillas de lechuga. El potencial máximo de sorción de Pb de las nHAP en un sistema ideal fue $1,253 \text{ mg g}^{-1}$, ajustándose a la isoterma de adsorción tipo Langmuir. En sistemas reales como son los residuos y lixiviados de mina, el potencial de sorción depende no solo de la concentración inicial de metales y nanopartículas, sino también de las propiedades físicas y químicas de la matriz ambiental que se pretende evaluar (sea un residuo o un lixiviado de mina). Entre estas propiedades están la concentración de aniones o el contenido de materia orgánica inicial en el sistema.

4.2 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barakat N. A. M.; Khalil K. A.; Sheikh F. A.; Omran A. M.; Gaihre B.; Khil M. S.; Kim H. Y. 2008. Physicochemical characterizations of hydroxyapatite extracted from bovine bones by three different methods: extraction of biologically desirable Hap. *Materials Science Engineering C*, 28(8), 1381-1387. doi.org/10.1016/j.msec.2008.03.003
- Boutinguiza M.; Pou J.; Comesaña R.; Lusquiños F.; Carlos A.; León B. 2012. Biological hydroxyapatite obtained from fish bones. *Materials Science Engineering C*, 32(3), 478–486. doi.org/10.1016/j.msec.2011.11.021
- Braunschweig J.; Bosch J.; Meckenstock R. U. 2013. Iron oxide nanoparticles in geomicrobiology: from biogeochemistry to bioremediation. *New Biotechnology*, 30(6), 1-10. doi.org/10.1016/j.nbt.2013.03.008
- Ding H.; Pan H.; Xu Xurong; Tang R. 2014. Toward a detailed understanding of magnesium ions on hydroxyapatite crystallization inhibition. *Crystal Growth and*

Design, 14(2), 763-769. doi.org/10.1021/cg401619s

Echigo T; Aruguete D. M.; Murayama M; Hochella Jr. M.F. 2012. Influence of size, morphology, surface structure, and aggregation state on reductive dissolution of hematite nanoparticles with ascorbic acid. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 90, 149–62. doi.org/10.1016/j.gca.2012.05.008

Gilbert B.; Banfield J. F.; 2005. Molecular-scale processes involving nanoparticulate minerals in biogeochemical systems. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 59, 109-55. doi.org/10.2138/rmg.2005.59.6

Haverty D; Tofail S. A. M.; Stanton K. T.; McMonagle J. B. 2005. Structure and stability of hydroxyapatite: density functional calculation and Rietveld analysis. *Physical Review B*, 71(9), 094103-094103.9 doi.org/10.1103/PhysRevB.71.094103

Maisara S. M. Arsad; Pat M. Lee; Lee Kong Hung. 2011. Morphology and particle size analysis of hydroxyapatite micro- and nano-particles. Science and Social Research (CSSR), 2010 International Conference. Kuala Lumpur, Malaysia, Malaysia. doi.org/10.1109/CSSR.2010.5773682

Gupta V. K.; Nayak A. 2012. Cadmium removal and recovery from aqueous solutions by novel adsorbents prepared from orange peel and Fe₂O₃ nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 180, 81–90

Sobczak A.; Kowalski Z.; Wzorek Z. 2009. Preparation of hydroxyapatite from animal bones. *Acta of Bioengineering and Biomechanics*, 11(4), 23-8.

ANEXOS

ANEXO A. PRODUCTOS DERIVADOS DE LA TESIS

- Síntesis de nanopartículas de hidroxiapatita con aplicaciones ambientales. Ponencia. Sexta Escuela Nanoandes. Nanomateriales: Síntesis y Toxicología. Cali, Colombia. 07 al 12 de Noviembre del 2016.
- Interacción de nanopartículas de hidroxiapatita y bacterias solubilizadoras de fósforo. Cartel. Primer Seminario de Nanotecnología y Aplicaciones. Universidad Politécnica del Valle de México. División de Ingeniería en Nanotecnología. Tultitlán de Mariano Escobedo. Estado de México. 11 de noviembre de 2016.
- Participación en el Nanoforum Colombia 2015. Universidad Tecnológica de Bolívar. Cartagena de Indias, Colombia. 4 al 6 de Agosto de 2015.