



EFEITO DA VELOCIDADE DE ADIÇÃO DO H_3PO_4 E DA INCORPORAÇÃO DO Mg^{2+} DURANTE A SÍNTESE DA HA

D.S.Gouveia, A.C.S.Coutinho, L.M.F.Guimarães, A.H.A.Bressiani, J.C.Bressiani
Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares
Av. Prof. Lineu Prestes, 2242 – CCTM – 05508-000 - São Paulo-SP, Brasil
e-mail: dsgouvei@ipen.br

RESUMO

A hidroxiapatita é um biomaterial que apresenta excelente biocompatibilidade e bioatividade. Sua estrutura permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com grande facilidade. Estudos recentes têm mostrado a incorporação do magnésio na HA como um fator importante na mudança de qualidade da matriz óssea. O objetivo deste trabalho é produzir pós nanométricos de HA pelo método de neutralização, avaliando a velocidade de adição do H_3PO_4 (8,0mL/min e rápida) durante a síntese e o efeito da incorporação do Mg na HA. Os precipitados obtidos foram calcinados a 800°C/3h e caracterizados por DRX (Rietveld), FTIR, BET e MET. Nos pós sintetizados a 8 mL/min, observou-se a formação apenas da fase HA. A rápida adição favoreceu a formação das fases HA e β -TCP. É possível incorporar 0,24% em massa de Mg na estrutura da hidroxiapatita sem que haja a formação de outras fases.

Palavras-chave: hidroxiapatita, síntese, Mg

INTRODUÇÃO

Hidroxiapatita é considerada uma das mais importantes biocerâmicas utilizadas em aplicações biomédicas devido a sua bioatividade, biocompatibilidade e afinidade química e biológica com os tecidos ósseos^(1,2,3). Sua forma sintética tem atraído muitos pesquisadores uma vez que este material não apresenta rejeição quando aplicado em sistemas biológicos. Dependendo da aplicação a que se destina, alguns parâmetros como velocidade de adição do ácido e controle do CO_3^{2-} podem ser alterados durante a síntese^(4,5).

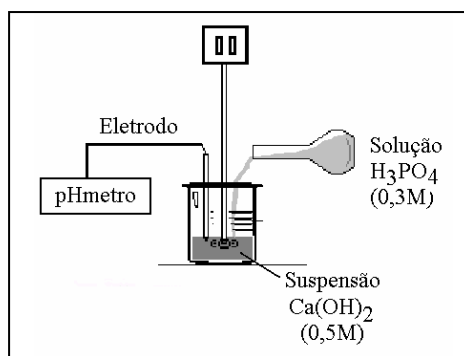


A estrutura da HA permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com facilidade ⁽⁶⁾. O Mg^{2+} é um dos mais importantes íons bivalentes associado à apatita biológica. Em tecidos calcificados, a quantidade de Mg na fase apatita é maior no início do processo de calcificação e diminui com o aumento da calcificação ^(3,6). O aumento da concentração de Mg na HA favorece a diminuição na cristalinidade, o aumento na incorporação do HPO_4^{2-} e o aumento no grau de dissolução ^(7,3). Entretanto, a incorporação de Mg^{2+} na HA é limitada (máximo de 0,4% em massa de Mg) a menos que outros íons, como carbonatos ou fluoretos sejam simultaneamente incorporados como par de substituições ^(6,8). Desta forma, a substituição do Mg na estrutura da HA pode ser feita mantendo-se a razão molar $(Ca + Mg)/P = 1,67$.

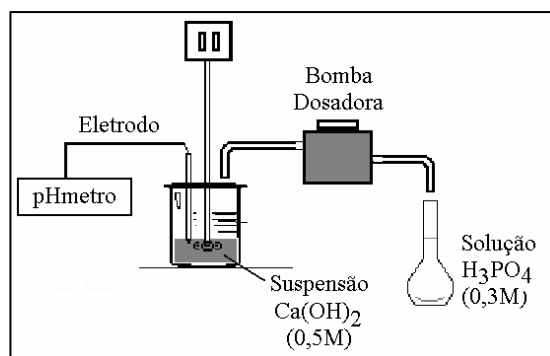
A HA pode ser obtida pelo método de neutralização que consiste em neutralizar uma suspensão de $Ca(OH)_2$ com H_3PO_4 e formar água como subproduto. O efeito do pH na síntese de fosfatos de cálcio está relacionado às propriedades das soluções que contém o fosfato. Devido ao equilíbrio poliprótico que existe com estes sistemas, variações no pH alteram as concentrações relativas dos polimorfos do ácido fosfórico e, desta forma, altera tanto a composição química como a relação Ca/P que é formada por precipitação direta ^(4,9). Neste trabalho foi avaliado o efeito da velocidade de adição do H_3PO_4 e da incorporação do magnésio durante a síntese de pós nanométricos.

METODOLOGIA

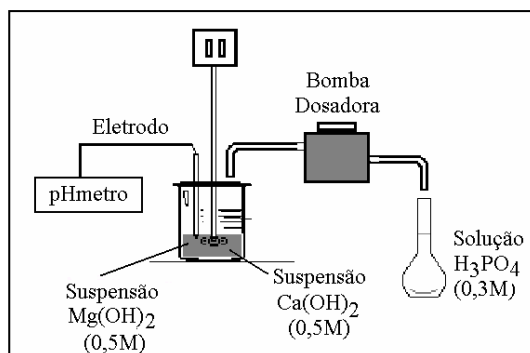
A síntese para a obtenção da HA foi realizada pelo método de neutralização tendo H_3PO_4 - 0,3M, $Ca(OH)_2$ - 0,5M e $Mg(OH)_2$ - 0,5M como precursores. Para avaliar o efeito da velocidade de adição do ácido fosfórico durante a síntese, o H_3PO_4 foi adicionado à suspensão de $Ca(OH)_2$ em diferentes taxas de adição: A1 (adição rápida) e A2 (8,0mL/min). Posteriormente, outra síntese (A3) foi realizada na condição A1 (8,0mL/min), e 0,24% em massa de $Mg(OH)_2$ foi adicionado à suspensão de $Ca(OH)_2$, antes da adição do ácido fosfórico, para avaliar o efeito da incorporação do Mg (Figura 1).



(a)



(b)



(c)

Figura 1 - Representação esquemática da síntese da HA realizada em diferentes condições: (a) A1, adição rápida, (b) A2, 8,0 mL/min, (c) A3, 8,0 mL/min e 0,24% Mg, em massa

Após a reação, as suspensões ficaram em digestão por 24 horas à temperatura ambiente para que ocorresse o envelhecimento do precipitado. Durante toda a reação o pH foi monitorado utilizando um pHmetro DM-20 DIGIMED com o auxílio do programa ACQUIRE V2.0, que possibilitou observar a variação do pH em função da rápida adição do ácido fosfórico e as etapas de estabilização da suspensão de HA, com ou sem adição de magnésio.

As suspensões foram filtradas em funil de buckner, lavadas e secas a 60°C/24h em estufa. O material seco foi desaglomerado em almofariz de ágata. A análise de difração de raios-X (DRX) foi realizada em difratômetro Rigaku, modelo Multiflex, com radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=0,1542\text{nm}$). O material calcinado a 800°C/3h foi caracterizado por DRX e quantificado pelo método de Rietveld. A razão (Ca+Mg)/P foi quantificada utilizando um Espectrômetro de Emissão Atômica com fonte de plasma induzido ICP-OES (M120 SPECTRO). Para análise de infravermelho, as amostras foram misturadas em KBr, prensadas na forma de pastilhas e analisadas por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)



(Thermo Nicolet 670 - FTIR – NEXUS). A área de superfície específica dos pós foi realizada adotando o método de adsorção gasosa (BET – Micrometric modelo ASAP 2000). A morfologia dos pós foi avaliada por microscopia de Transmissão (Philips CM 200) e Microscopia eletrônica de varredura (MEV – Philips-XL 30)

RESULTADOS

Os parâmetros avaliados na síntese da HA e os resultados obtidos de pH para as respectivas amostras estão descritos na Tabela I.

Tabela I - Valores obtidos durante a síntese da HA

Amostra	Condições	pH inicial	pH após adição do ácido	pH após 24 horas
A1	Adição rápida	12,4	5,3	10,3
A2	8,0 mL/min	12,4	10,0	10,6
A3	8,0 mL/min / 0,24% Mg	12,6	8,0	9,2

As curvas de pH apresentaram comportamentos diferentes em função da velocidade de adição do ácido. Quando o ácido foi adicionado em uma única etapa (A1) (Figura 2), o pH inicial da suspensão caiu rapidamente para 5,3 (I). Esta queda de pH pode estar associada ao fato de que os íons hidroxilas originalmente presentes na suspensão da $\text{Ca}(\text{OH})_2$ foram facilmente consumidos pelo H_3PO_4 quando a razão de adição foi muito alta diminuindo desta forma o pH da suspensão⁽¹⁰⁾. Após total adição o pH da suspensão voltou a subir. O tempo para que a reação entrasse em equilíbrio ocorreu em etapas: observa-se um pequeno patamar com pH próximo a 10 (II) e, após um período (~7min), o pH atingiu seu valor máximo, 12 (III). O período de 24 horas foi necessário para que a reação entrasse em equilíbrio, com pH = 10,3 (IV). A dissociação do H_3PO_4 à medida que é adicionado na base ocorre em etapas. Este comportamento é confirmado através da curva de dissociação do ácido fosfórico⁽⁴⁾.

Quando a síntese foi realizada a 8,0 mL/min (A2), a reação manteve-se em equilíbrio por aproximadamente 50 min com pH ~12 (I). Devido a baixa solubilidade do $\text{Ca}(\text{OH})_2$, poucos íons OH^- estão dispersos na suspensão. Conseqüentemente à medida que mais íons H^+ , provenientes do ácido fosfórico, são adicionados na suspensão, há um desequilíbrio reacional devido a deficiência de OH^- , diminuindo o pH do meio para 10 (II). Durante a etapa de digestão (III) a reação entrou novamente em equilíbrio mantendo-se estável com pH = 10,6 (Figura 3).

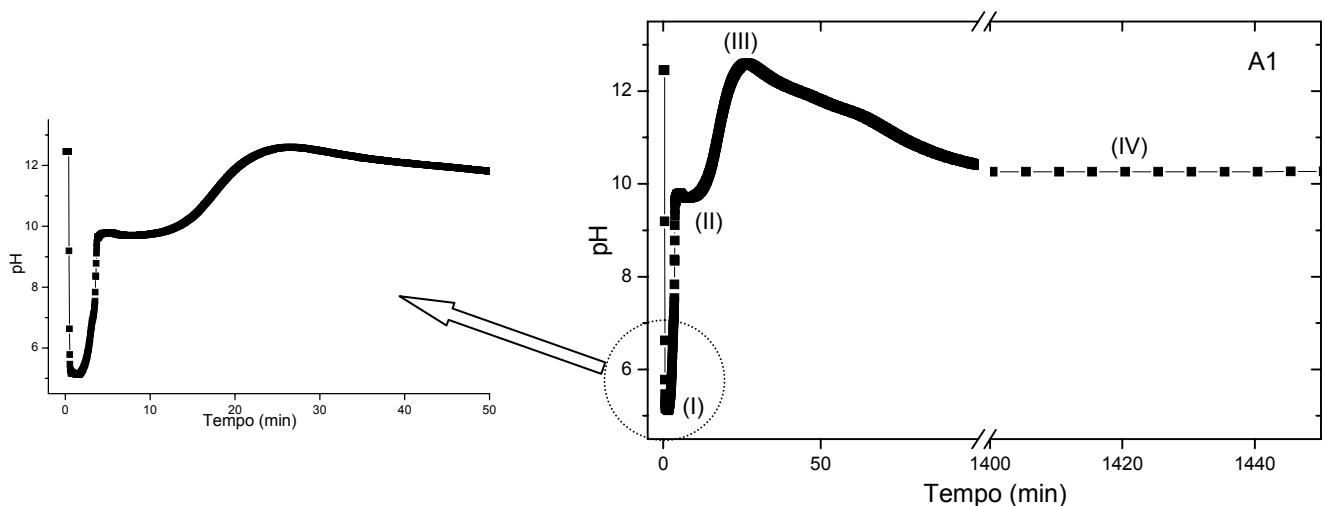


Figura 2 - Variação do pH em função do tempo de síntese quando o H_3PO_4 foi adicionado de uma única vez.

De acordo com Seckler et al⁽¹¹⁾ a baixa razão de adição do ácido evita uma excessiva diminuição do pH e a possível substituição do grupo fosfato pelo hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}). Uma vez que o ânion precipitado (PO_4^{-3}) é formado lentamente em soluções contendo o íon metálico (Ca^{2+}), a síntese para a obtenção de HA requer a adição da solução de fosfato em razões mais lentas na suspensão contendo o íon cálcio⁽¹²⁾.

Com a incorporação do Mg^{2+} na HA sintetizada a 8,0 ml/min (A3), variações nos valores da curva de pH foram observadas em comparação com a amostra A2. O pH após adição do ácido fosfórico (II) e após 24 horas (III) apresentou-se mais alcalino (Figura 3). Contudo, estes valores não ficaram abaixo do valor de pH para a estabilidade da HA⁽¹³⁾.

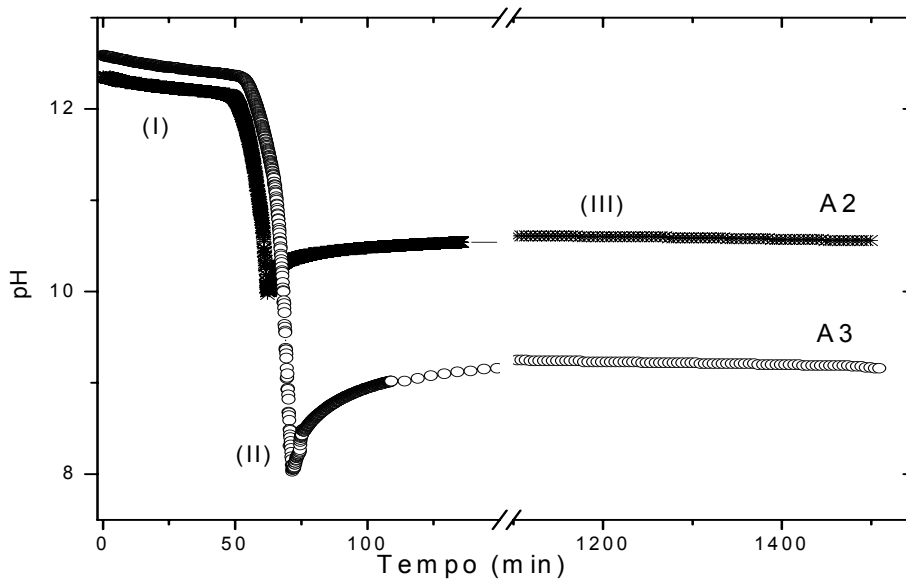


Figura 3 - Variação do pH em função do tempo para as amostras A2, 8,0 mL/min e A3, 8,0 mL/min + Mg

A formação das fases cristalinas dos precipitados e dos pós calcinados a 800°C/3h foram analisadas por difração de raios-X (Tabela II e Figura 5) e quantificadas pelo método de Rietveld. Todas as amostras apresentaram picos característicos da fase HA (JCPDS 9-342). A rápida velocidade de adição resultou numa mistura de fases: HA e de uma fase não identificada.

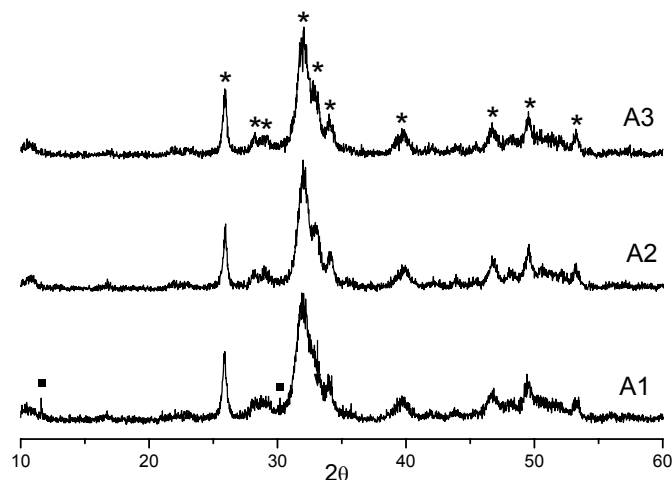


Figura 4 - Difração de raios-x para os pós precipitados, sendo A1, adição rápida; A2, 8,0 mL/min e A3, 8,0 mL/min + 0,24% de Mg. (*) HA e (■) fase não identificada.

O tratamento térmico dos precipitados, 800°C/3h, favoreceu o aumento da cristalinidade da fase HA para as amostras em estudo (Figura 5). A fase não

identificada em A1 transformou-se em β -TCP (JCPDS 9-169). De acordo com a literatura a fase não identificada é HA deficiente em cálcio ($\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $0 \leq x \leq 1$), embora o padrão de difração desta fase não tenha sido identificado⁽¹³⁾. Geralmente, as apatitas deficientes em cálcio (d-HA), com razão Ca/P variando entre 1,67 e 1,5, quando calcinados a temperatura acima de 650°C, formam misturas bifásicas de HA e β -TCP^(4,5).

A velocidade de adição é um fator limitante para a obtenção da HA estequiométrica (Tabela I). Observa-se que para valores de pH > 6,5 após a adição total do ácido fosfórico, é possível obter HA pura (A2, pH=10). Abaixo deste valor (A1, pH=5,3), outras fases, como β -TCP, são observadas no pó calcinado a 800°C/3h.

A adição de 0,24% em massa de Mg^{2+} na estrutura da HA não interferiu nos resultados de DRX o que significa que a com a quantidade de Mg^{2+} adicionada há a formação de solução sólida substitucional^(14,15). Com a análise quantitativa das fases presentes tem-se que para a amostra A1 apresentou 90,3% da fase HA e 9,7% da fase β -TCP, já as amostras A2 e A3 o refinamento indicou 100% da fase HA formada (Tabela II).

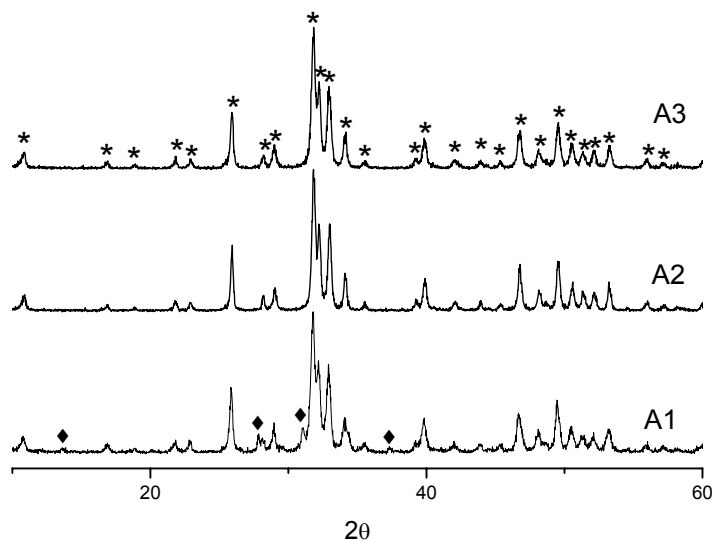


Figura 5 - Difração de raios-x para os pós calcinados a 800 °C/3h. Sendo A1, adição rápida; A2, 8,0 mL/min e A3, 0,24% em massa de Mg. (*) HA e (♦) β -TCP.



Tabela II - Porcentagem de fase formada, área de superfície específica e razão molar (Ca+Mg)/P para as diferentes composições calcinadas a 800°C/3h.

Amostra	Condições	% de fase formada		BET	(Ca+Mg)/P
		HA	β -TCP		
A1	Adição rápida	90,3±0,4	9,7±0,4	14,93±0,21	1,88±0,01
A2	8 mL/min	100	-	31,64±0,14	1,78±0,03
A3	0,24% Mg	100	-	20,57±0,11	1,62±0,04

Os pós calcinados a 800 °C foram misturados a KBr, prensados na forma de pastilhas e analisados pela técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier adotando intervalo de 4000-500 cm^{-1} (Figura 6). Os espectros obtidos apresentaram bandas características da HA atribuídas aos grupos funcionais de ortofosfatos (PO_4^{3-}), hidroxilas (OH^-) e água, confirmando a obtenção da fase desejada ⁽¹⁶⁾. Nenhuma alteração foi observada em função dos parâmetros utilizados: razão de adição do ácido e adição do Mg^{2+} .

As bandas em 470, 571, 960, 1041 e 1093 cm^{-1} foram atribuídas ao grupo PO_4^{3-} . A 633 e 3580 cm^{-1} são atribuídos os estiramento do OH^- e em 1640 cm^{-1} a água adsorvida ou estrutural ^(4,10). Todas as amostras apresentaram bandas fracas nas regiões de 1411-1421 e 1453-1467 cm^{-1} que são atribuídas ao íon CO_3^{2-} . Observa-se ainda uma banda em 877 cm^{-1} . De acordo com a literatura, o aparecimento de bandas nas regiões de 1411 e 1467 cm^{-1} confirma que a banda em 877 cm^{-1} é característica do grupo CO_3^{2-} ^(10,17).

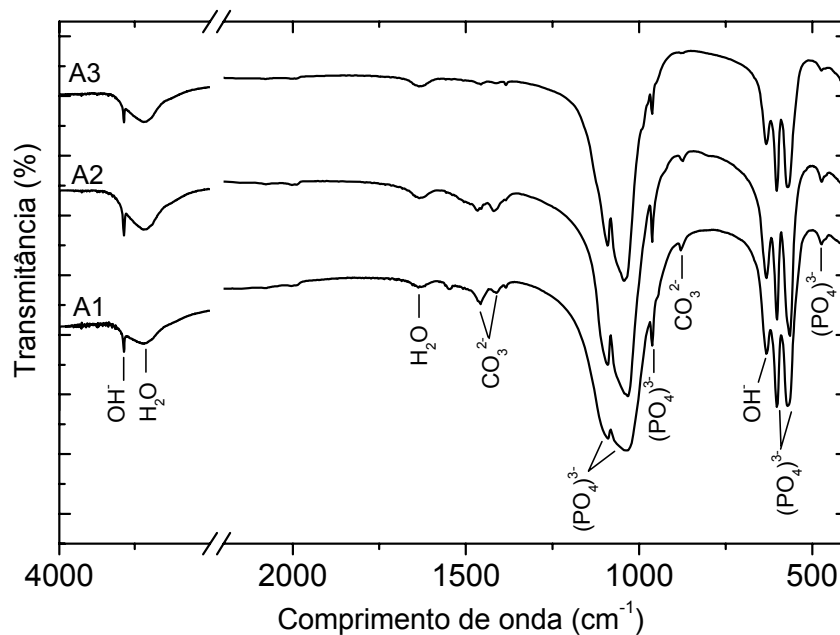
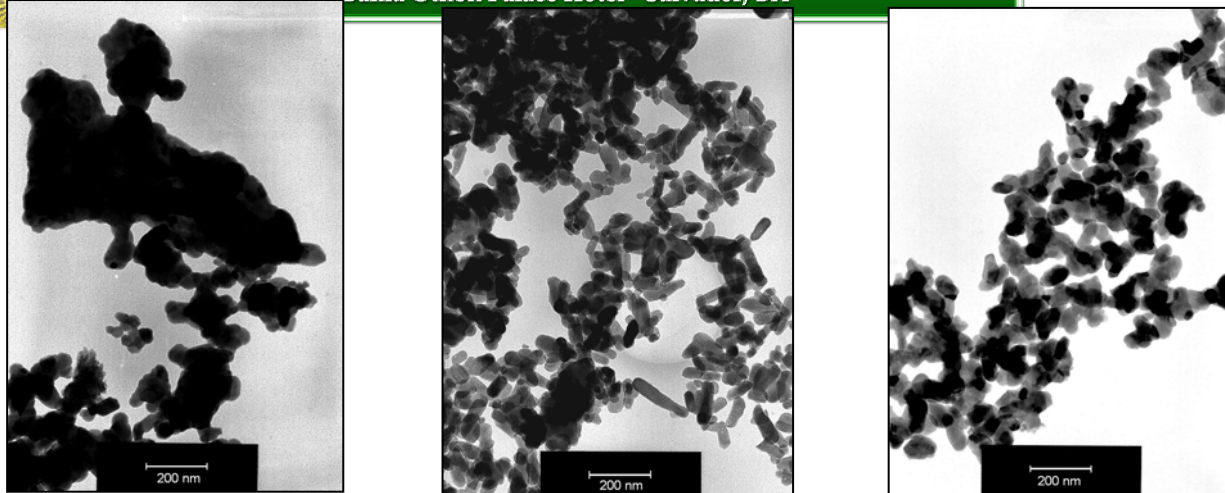


Figura 6 - Espectro de infravermelho para os pós calcinados a 800°C/3h. Sendo A1, adição rápida; A2, 8,0 mL/min e A3, 0,24% em massa de Mg.

A análise química para as amostras A1, A2 e A3 apresentou razão (Ca+Mg)/P próxima a HA estequiométrica (1,67). Pequenas variações encontram-se dentro do erro esperado. A área de superfície específica dos pós calcinados variou entre $14,93 \pm 0,21 \text{ m}^2/\text{g}$ para A1 e $31,64 \pm 0,14 \text{ m}^2/\text{g}$ para A2. Com a adição do magnésio a área de superfície específica teve uma redução em relação a A2 (Tabela II).

Os resultados de microscopia eletrônica de transmissão apresentados na Figura 7 estão de acordo com os resultados de BET (Tabela II). A baixa área de superfície observada na amostra A1 é devido à formação de placas em sua estrutura⁽⁴⁾. Comparando as amostras A2 e A3 pouca variação na morfologia dos pós foi observada. Pós nanométricos foram obtidos nas três composições estudadas.

As micrografias de MEV das amostras A1 e A2, confirmam os resultados obtidos por MET. A rápida velocidade de adição, para a amostra a A1, favoreceu a formação de placas (Figura 8-a).

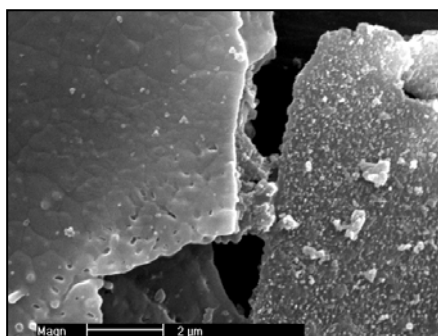


(a)

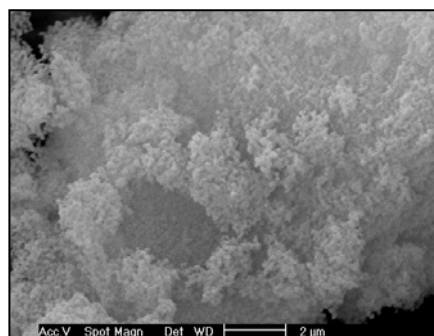
(b)

(c)

Figura 7 MET dos calcinados a 800°C/3h. Sendo A1, adição rápida; A2, 8,0 mL/min e A3, 0,24% em massa de Mg.



(a)



(b)

Figura 8 Microscopia eletrônica de varredura para as amostras (a) A1 e (b) A2 calcinadas a 800°C/3h.

CONCLUSÃO

A obtenção de pós estequiométricos de HA depende da velocidade de adição do ácido fosfórico durante a síntese. A rápida adição do ácido fosfórico interfere na formação das fases uma vez que o pH do meio reacional é alterado. As fases HA e β -TCP foram obtidas nesta condição. Quando o ácido foi adicionado a 8,0 mL/min, obteve-se a fase HA. Diferentes morfologias são observadas em função da velocidade de adição. A formação de solução de solução sólida de HÁ ocorre quando a síntese é realizada a 8,0 mL/min e adicionando 0,24% em massa de Mg^{2+} . Todos os pós sintetizados são nanométricos, o que deve permitir a sinterização desse material a baixas temperaturas..



AGRADECIMENTOS

CNPq, FAPESP, Laboratório de Microscopia do IFUS, em especial à Simone, Centro de química e Meio Ambiente - CQMA

REFERÊNCIA

1. A. Banerjee, A. Bandyopadhyay, S. Bose. *Materials Science and Engineering C* 27 (2007) 729–735.
2. M. Campos, F.A. Muller, A.H.A. Bressiani, J.C. Bressiani,, *Key Engineering Materials*, 254-256 (2004) 923-926.
3. A. Bandyopadhyay, S. Bernard, W. Xue, S. Bose, *J. Amer. Ceram. Society* 89, (9) (2006) 2675-2688.
4. D.S. Gouveia, A.H.A. Bressiani, J.C. Bressiani, *Materials Science Forum*, 530-531 (2006) 593-598.
5. J.S.V. Albuquerque, R.E.F.Q. Nogueira, J.V.F. Neto, J.I.L.A. Junior, D.O. Lima, T.D. Pinheiro, M.H., Prado da Silva, *Anais do 47^o Congresso Brasileiro de Cerâmica*, (2003) 2205-2215.
6. S.R. Kim, J.H. Lee, Y.T. Kim, D.H. Riu, S.J. Jung, Y.J. Lee, S.C. Chung, Y.H. Kim, *Biomaterials* 24 (2003) 1389–1398.
7. L.L. Hench, J. Wilson, *Introduction to Bioceramics*. World Scientific Publishing Co., 1ed, 1993.
8. W.L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R.E. Riman, V.F. Janas, K.S. Ten-Huisen, *Journal of Solid State Chemistry* 177 (2004) 793-799.
9. A.K. Lynn, and W. Bonfield, *Acc. Chem. Res*, 38 (2005) 202-207.
10. A. Osaka, Y. Miura, K. Takeuchi, M. Asada, K. Takahashi, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2 (1991) 51-55
11. M.M. Seckler, M. Denese, S. Derenzo, J.V. Valarelli, M. Giuliatti, R. Rodriguez-Clemente, *Materials Research* 2 (2) (1999) 59-62.
12. A. Afshar, M. Ghorbani, N. Ehsani, M.R. Saeri, C.C. Sorell, *Materials and Design* 24 (2003) 197-202
13. N.I. Bastos, M.C. Andrade, R.R. Silva, G.A. Soares, T. Ogasawara, *Educ. Technol. Belo Horizonte*, 6, (1/2) (jan./dez. 2001) 14-17.



14. W.D. Callister, *Ciencia e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*. 5º edição, Edit. LTC. Rio de Janeiro 2000.
15. Y.M Chiang, W.D. Kingery, D.P. Birnie, III. *Physical Ceramics – Principle for Ceramic Science and Engineering*. USA: John Wiley & Sons, 1997. p. 110-111.
16. M. Campos, A.H.A. Bressiani, J.C. Bressiani,, *Key engineering Materials* 218-220 (2002) 171-174.
17. A. Stoch , W. Jastrzebski, A. Brozek, B. Trybalska, M. Cichocinska, E. Szarawa, *Journal of molecular Structure* 511-512 (1999) 287-294.

EFFECT OF ADDITION RATE OF H₃PO₄ DURING SYNTHESIS OF HYDROXYAPATITE AND MG SUBSTITUTED HYDROXYAPATITE

ABSTRACT

Hydroxyapatite is a biomaterial that has excellent biocompatibility and bioactivity. Its lattice allows, easily, both cationic and anionic substitution. Some recent studies show that the incorporation of Mg into lattice of HA has an important effect on quality of the bone tissue. The purpose of this work is synthesize nanopowders of HA using the neutralization method and evaluate the velocity of H₃PO₄ (rate of 8mL/min and fast) addition during synthesis and the effect of Mg incorporation into HA lattice. The precipitated were calcined at 800°C/3h and characterized by XRD (Rietveld), FTIR, BET and TEM. The HA was the only phase identified after synthesis with rate of 8mL/min. When H₃PO₃ was fast added, it was identified two phases: HA and β-TCP. During synthesis, 0,24wt% of Mg was incorporated into hydroxyapatite lattice without the formation of other phases.

Key-words: hydroxyapatite, synthesis, Mg²⁺, TEM, Rietveld