

SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA POR PRECIPITAÇÃO HOMOGÊNEA

Cunha, S. M.; Lazar, D.R.R.; Ussui, V.; Lima, N. B.; Bressiani, A. H. A.

Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Caixa Postal 11049 – CEP 05422-970 – Pinheiros – SP- São Paulo – Brasil

smcunha@ipen.br

RESUMO

Compostos à base de fosfatos de cálcio têm sido utilizados em diferentes aplicações biomédicas devido à excelente bioatividade e biocompatibilidade com os tecidos do corpo humano. Dentre esses, a hidroxiapatita (HAp), composto de fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, destaca-se pela grande similaridade química e cristalográfica com os constituintes minerais dos tecidos ósseos e dentários, apresentando aplicações na forma de recobrimento de substratos metálicos e preenchimento de cavidades ósseas. No entanto, para o aproveitamento das propriedades intrínsecas desse material é fundamental o controle das características físicas e químicas dos pós sintetizados. Neste sentido, este trabalho tem como objetivo o estudo da rota de precipitação química da HAp, em meio amoniacal, a partir de soluções aquosas de cloreto de cálcio e dihidrogeno fosfato de amônio. Fixando-se a relação atômica Ca/P em 1,67, foram realizados experimentos a 25 e 70 °C por 1 e 7 horas. Os precipitados obtidos foram submetidos a etapas de lavagem com água, tratamento dos precipitados com solventes orgânicos (etanol e butanol), secagem, calcinação e moagem. Os pós foram caracterizados por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, difração a laser (CILAS), adsorção gasosa (BET) e espectroscopia por infravermelho. O rendimento de precipitação de cálcio e fósforo foi determinado pela técnica de espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-AES), analisando-se as soluções resultantes da filtração do precipitado. Os resultados obtidos mostram que é possível maximizar o rendimento de precipitação, minimizando a formação de β -TCP que, por ser reabsorvível, contribui para a degradação das propriedades mecânicas da cerâmica resultante.

Palavras-Chave: biocerâmicas, hidroxiapatita, síntese, precipitação

INTRODUÇÃO

As biocerâmicas à base de fosfato de cálcio têm grande importância na medicina e odontologia. Na temperatura do corpo humano, são estáveis o dicálcio fosfato (C2P), $(\text{CaH}(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O})$ e a hidroxiapatita (HAp), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, enquanto em temperatura mais elevadas formam-se fases como o tricálcio fosfato (TCP), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e o tetracálcio fosfato (C4P), $\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$. A estabilidade desses compostos depende consideravelmente da temperatura e da presença de água, tanto durante sua preparação como em condições de uso. As fases existentes em altas temperaturas, interagem com a água ou fluidos do corpo humano a 37°C para formar HAp [Hench, 1998].

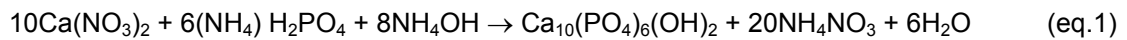
A HAp estequiométrica pertence ao sistema hexagonal, classificada no grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$, e é estruturalmente similar à apatita biológica, principal constituinte da fase mineral de ossos, dentina e esmalte no corpo humano. Devido à sua elevada biocompatibilidade, é largamente empregada como material de preenchimento em defeitos ósseos, na sua forma densa ou porosa e em revestimento de implantes. Por seu turno, o TCP pode ocorrer em duas estruturas cristalinas, α -TCP, monoclinica, e β -TCP, romboédrica. Esta última é a fase mais estável e apresenta elevada taxa de absorção, sendo benéfica em baixas concentrações por permitir uma rápida integração entre o material implantado e o osso. No entanto, em concentrações elevadas, o β -TCP deteriora as propriedades mecânicas e estabilidade química do enxerto, fazendo com que o preciso controle da concentração de β -TCP seja fundamental em aplicações médicas. As estruturas do tipo apatita permitem a substituição do Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^- , por grupos CO_3^{2-} , F^- , Cl^- e outros, sendo que a apatita biológica contém cerca de 8% em massa de íons carbonato [Barralet et al, 2002; Hench, 1998; Zhang et al, 2002].

Uma das principais restrições ao uso de biocerâmicas é a incerteza no tempo de vida útil quando submetidas aos estados de tensão, lento crescimento de trincas e a fadiga crítica resultante da maioria das aplicações clínicas. Duas maneiras de contornar estas limitações são o uso de cerâmica bioativa como revestimento de estruturas rígidas e como fase biologicamente ativa em compósitos, quando associada a metais, polímeros e outras cerâmicas. Como exemplo, as propriedades mecânicas de cerâmicas de HAp podem ser melhoradas, aproximando-se do desempenho de ossos humanos, quando utilizadas em um compósito HAp reforçado por colágeno em fibras. Um dos requisitos para estas aplicações é que a fase HAp contenha microporos para circulação sanguínea [Tanaka et al, 2003].

A preparação de cerâmicas com elevada resistência e com volume e tamanho de poros específicos requer pós precursores com propriedades físicas controladas (composição química, tamanho e forma das partículas), propriedades estas fortemente dependentes do processo de síntese empregado.

A síntese de hidroxiapatita pode ser realizada utilizando-se várias técnicas, como a síntese por mistura mecânica dos pós precursores e outras empregando a precipitação em soluções aquosas. Os métodos que utilizam a mistura mecânica apresentam como vantagem a simplicidade e baixo custo, e como desvantagem a baixa cristalinidade, heterogeneidade química e instabilidade

térmica. Os métodos baseados na precipitação podem ser classificados em duas rotas mais comumente utilizadas. Uma delas é baseada na mistura de dihidrogeno fosfato de amônio com nitrato de cálcio (eq.1).



A principal desvantagem deste método é a contaminação do produto pelo íon nitrato, requerendo lavagens intensivas para a sua remoção. Um segundo processo utiliza ácido ortofosfórico com uma suspensão de hidróxido de cálcio (eq.2). Este processo apresenta como único subproduto a água.

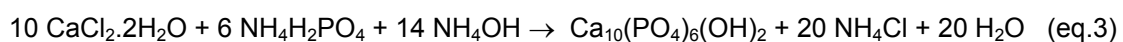


Estas técnicas de precipitação apresentam como característica a influência de parâmetros como temperatura de reação, concentração e natureza dos reagentes, taxa de mistura e tempo de residência nas características do produto. Produzem HAp não estequiométrica, isto é, deficientes em cálcio, e de baixa estabilidade térmica, que resulta na decomposição parcial da HAp em α - e β -TCP. [Riman et al, 2002, Kweh et al, 1999]. Esta desvantagem pode ser contornada alterando a relação Ca/P na proporção dos reagentes e os parâmetros do processo de síntese.

O presente trabalho apresenta estudos realizados para o desenvolvimento de um processo de síntese de HAp pelo método de precipitação homegênea, similar ao descrito na eq.1. A reação, realizada em meio amoniacal, diferencia-se do processo acima descrito pelo emprego de cloreto de cálcio, em substituição ao nitrato de cálcio. A vantagem da utilização deste reagente deve-se à maior facilidade de lavagem dos íons cloreto, quando comparado aos íons nitrato. Além disso, a rota de precipitação permite um rigoroso controle das propriedades dos pós.

PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Cloreto de cálcio ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ PA, CAAL, Brasil), dihidrogeno fosfato de amônio ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ PA, CAAL, Brasil) e hidróxido de amônio (UqB, Brasil) foram os reagentes empregados para síntese de pós de hidroxiapatita com composição nominal estequiométrica (Ca/P = 1,67), de acordo com a reação:



O procedimento de precipitação adotado consistiu na adição de solução aquosa de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,2 M em solução de CaCl_2 0,5 M, ajustando-se o pH da mistura em 10, com solução de hidróxido de amônio 5,5 M. As reações foram conduzidas a 25 e 70 °C por 1 e 7 horas, sendo o rendimento de precipitação de cálcio e fósforo avaliado pela análise das soluções sobrenadantes, empregando-se a técnica de espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma de argônio induzido (ICP-AES – Spectro Flame M 120 E, Spectro Analytical).

Os precipitados obtidos foram submetidos a etapas de lavagem com água até teste negativo da presença de cloretos no filtrado, indicado por reação com AgNO_3 . Em seguida foram submetidos à lavagem com etanol e destilação azeotrópica com butanol para a eliminação da água remanescente e, conseqüentemente, evitar a formação de aglomerados fortes. Os grânulos formados foram desagregados em almofariz de ágata, mantidos em estufa a $80\text{ }^\circ\text{C}$ por 24 horas e calcinados a $800\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora. Os produtos foram analisados por ICP-AES, para determinação da concentração de cálcio e fósforo, e por difração de raios X utilizando-se radiação $\text{Cu-K}\alpha$ (D8 Advance, Bruker-AXS), para verificação das fases cristalinas formadas. A relação dos experimentos realizados e amostras sintetizadas é descrita na Tabela 1.

Tabela 1: Codificação dos experimentos realizados e amostras sintetizadas.

Codificação	Temperatura de reação ($^\circ\text{C}$)	Tempo de reação (horas)
HAp 257	25	7
HAp 701	70	1
HAp701 DR	70	1
HAp 707	70	7
HAp 707 DR	70	7

DR = realizada dissolução com HCl 6N do produto de hidrólise formado durante a preparação da solução aquosa de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0,2 M.

Os pós obtidos nas condições de processo em que é possível obter máximo rendimento de precipitação de cálcio e fósforo, com formação de hidroxiapatita, foram caracterizados por difração de raios X para quantificação das fases cristalinas presentes, pelo emprego do método de Rietveld. Para esta finalidade os dados foram coletados na faixa de 2θ entre 20 e 80° , com passo de $0,02^\circ$ e tempo de contagem de 8 segundos por passo. A identificação dos grupos funcionais foi realizada por espectroscopia de infravermelho (670 FT – IR, Nexus).

Após calcinação e moagem em moinho de bolas por 15 horas, as amostras foram caracterizadas por difração a laser (granulometer 1064, Cilas) para determinação da distribuição de tamanho dos aglomerados, microscopia eletrônica de varredura (MEV) (XL30, Phillips) para observação da morfologia das partículas e aglomerados, absorção gasosa (Nova 1200, Quantachrome) para medidas da área superficial pelo método BET e picnometria de Hélio (Micromeritics, AccuPyc 1330) para medidas da densidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de rendimento de precipitação de cálcio e fósforo, apresentados na Tabela 2, indicam que, nas condições estudadas, a recuperação de cálcio no precipitado é função da temperatura, não sendo influenciada significativamente, em temperaturas elevadas (70°C), pelo tempo de reação e condicionamento dos reagentes. O fósforo, por sua vez, é totalmente recuperado no precipitado. No que se refere à relação Ca/P das amostras calcinadas, observa-se que este parâmetro situa-se na faixa de 1,47 a 1,75, indicando a formação de diferentes fosfatos de cálcio.

Tabela 2: Rendimento de precipitação e relação cálcio/fósforo nas amostras calcinadas, determinados pela técnica de espectrometria de emissão atômica com fonte de plasma acoplado indutivamente (ICP-AES).

Codificação	Rendimento de precipitação (%)		Composição das amostras calcinadas		
	Cálcio	Fósforo	[Cálcio] (mg.mL ⁻¹)	[Fósforo] (mg.mL ⁻¹)	(Ca/P)
HAp 257	75,2	100,0	3,83	2,02	1,47
HAp 701	93,7	100,0	3,51	1,60	1,70
HAp701 DR	94,9	100,0	3,67	1,62	1,75
HAp 707	91,1	99,7	3,60	1,66	1,68
HAp 707 DR	91,1	99,7	3,69	1,76	1,62

Os difratogramas de raios X, apresentados na figura 1, permitem uma análise qualitativa das fases formadas nas amostras sintetizadas. Nota-se que a reação à temperatura ambiente (25°C) favorece a formação do β -TCP, composto de estrutura romboédrica de fórmula $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (JCPDS 09-0169). A formação desta fase é confirmada na Tabela 2 pela relação Ca/P obtida no pó calcinado (1,47), cujo valor é muito próximo ao valor teórico (1,5). As reflexões referentes à hidroxiapatita (HAp), de estrutura cristalina hexagonal (JCPDS 09-0432), ocorrem no produto calcinado, somente quando a reação de precipitação é realizada à 70°C. Deve-se ainda ser ressaltado que, nesta temperatura, a ocorrência da fase β -TCP é minimizada quando o tempo de precipitação é fixado em 1 hora.

Considerando-se os resultados da Tabela 2 e Figura 1, selecionou-se a condição de 70°C por 1 hora para a síntese de pós de hidroxiapatita por precipitação homogênea.

O resultado de quantificação de fase, obtido pelo refinamento de Rietveld dos dados de difração de raios X (Figura 2) revela que a amostra HAp701 é constituída por cerca de 81% de HAp e 19% de β -TCP (concentração em massa). De acordo com os indicadores estatísticos do refinamento, os dados experimentais foram considerados satisfatoriamente ajustados ao modelo estrutural empregado para o cálculo teórico do perfil de difração ($R_{wp} = 12,66\%$; $R_{exp} = 6,21\%$ e $S = 2,03$).

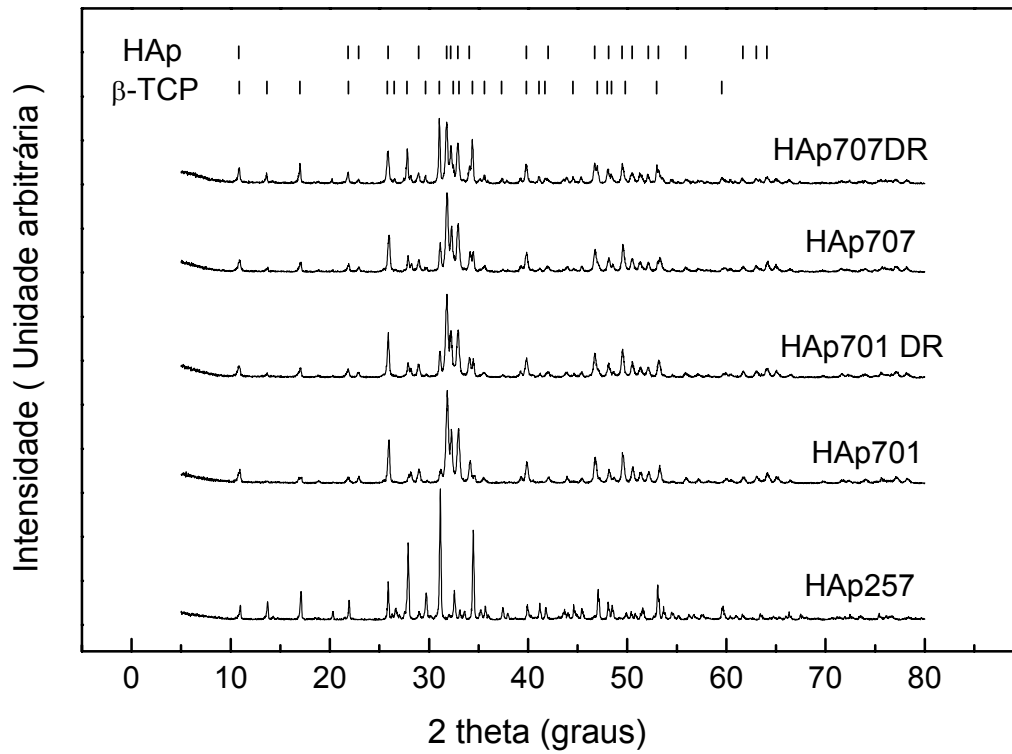


Figura 1: Difratomogramas de raios X, de amostras de fosfatos de cálcio, preparadas em diferentes condições de temperatura e tempo de precipitação, e calcinadas a 800°C por 1 hora.

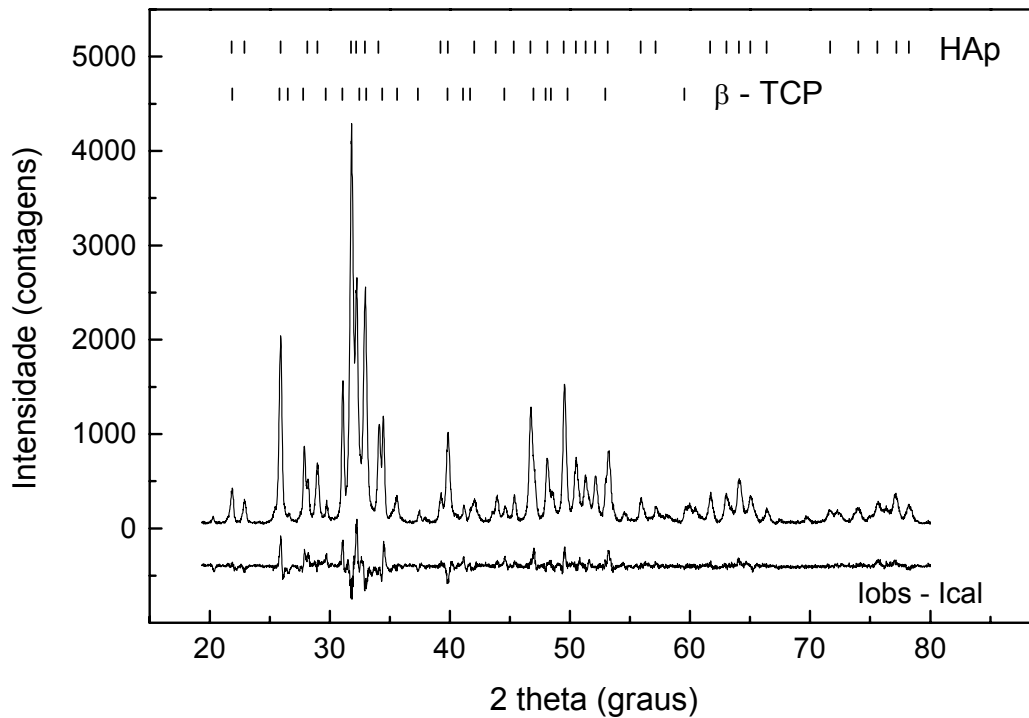


Figura 2: Difrátograma de raios X obtido experimentalmente para a amostra calcinada HAp701 e diferença entre as intensidades observadas e calculadas pelo refinamento de Rietveld (lobs – lcal).

A caracterização por espectroscopia de infravermelho (Figura 3 e Tabela 3) mostra que os principais picos de reflexão identificados são atribuídos aos grupos funcionais de ortofosfatos (PO_4^{3-}) e hidroxilas (OH^-). Também foram observadas bandas correspondentes à água e carbonatos (CO_3^{2-}) [Tas et al., 2000; Anee et al., 2003; Greene et al., 2004]. Deve-se ressaltar que íons carbonato geralmente são incorporados aos precipitados em substituição de hidroxilas ou fosfatos, quando a síntese é realizada ao ar, em meio fortemente alcalino. Em apatitas biológicas íons carbonatos também estão presentes, conduzindo à maior solubilidade deste composto e à distorção estrutural [Elliott, 1994]. Picos referentes a íons cloreto (Cl^-) não foram observados, indicando a eficiência do procedimento de lavagem do precipitado.

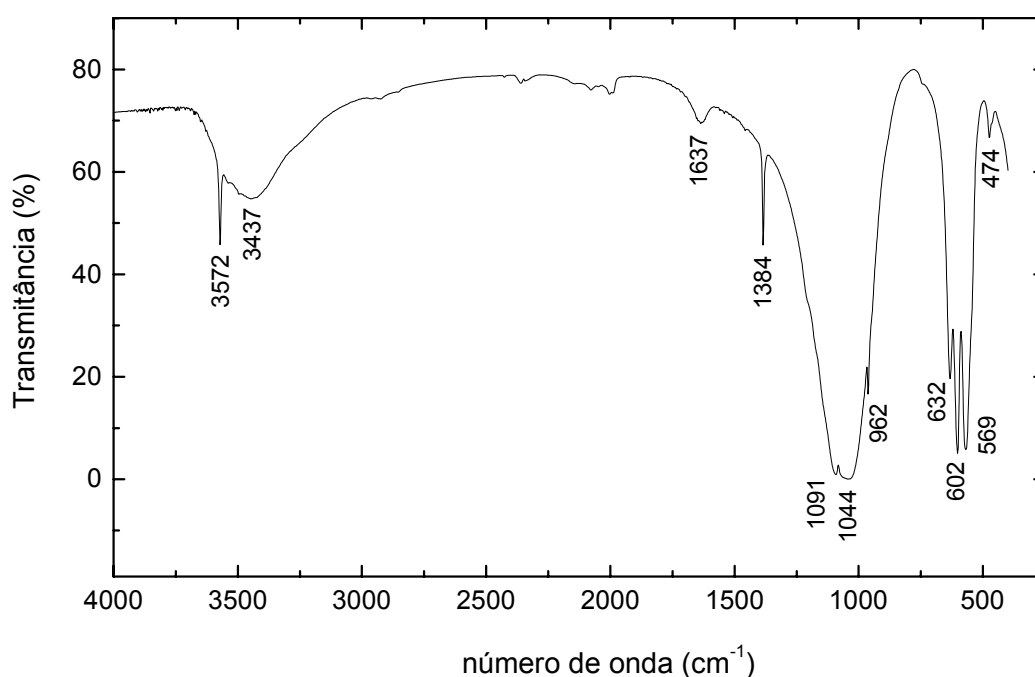


Figura 3: Espectro da amostra calcinada HAP 701, obtido por espectroscopia de infravermelho.

Tabela 3: Grupos funcionais identificados na amostra calcinada HAP 701, por espectroscopia de infravermelho.

Frequências (cm^{-1})	Grupos funcionais
3572 / 632	OH^-
3437 e 1637	H_2O
1384	CO_3^{2-}
1091 / 1044 / 962 / 602 / 569 / 474	PO_4^{3-}

As curvas de distribuição granulométrica da Figura 4 mostram que os pós obtidos após calcinação apresentam-se na forma de aglomerados, cujo tamanho pode ser reduzido na etapa de moagem. Por sua vez, as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (Figura 5) apontam que esses aglomerados são constituídos por partículas submicrométricas.

Os valores de área de superfície específica e de densidade indicam que a moagem não altera significativamente esses parâmetros, pois o reduzido tamanho de partículas é consequência do processo de síntese adotado. Esses resultados são apresentados na Tabela 3, onde também se encontra um resumo das demais caracterizações da amostra HAp701.

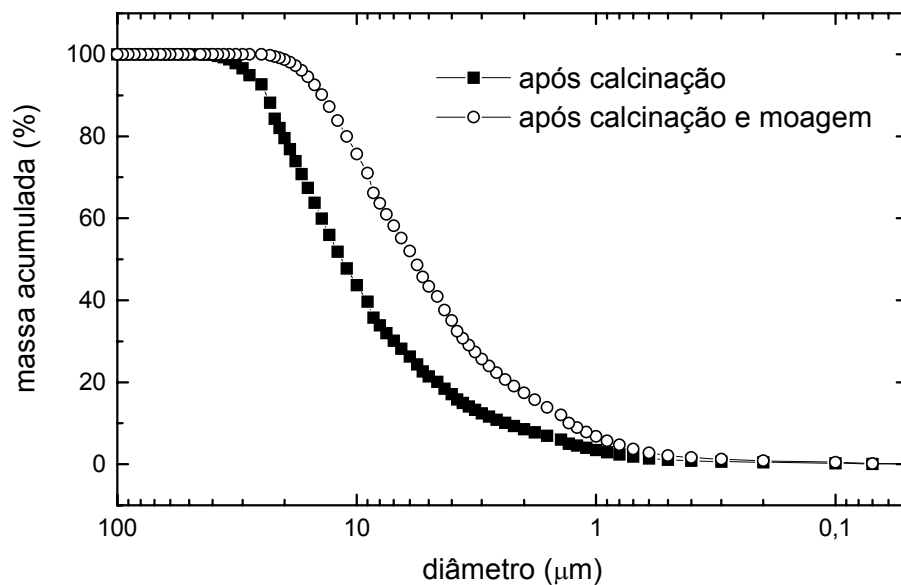
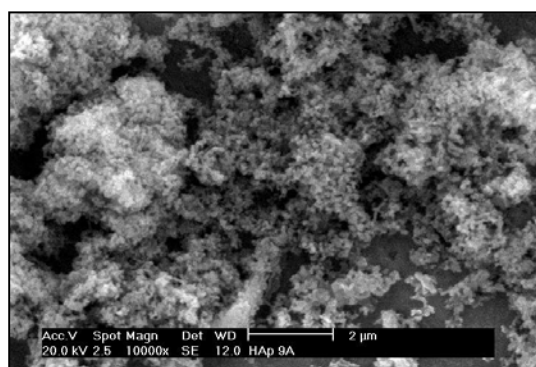
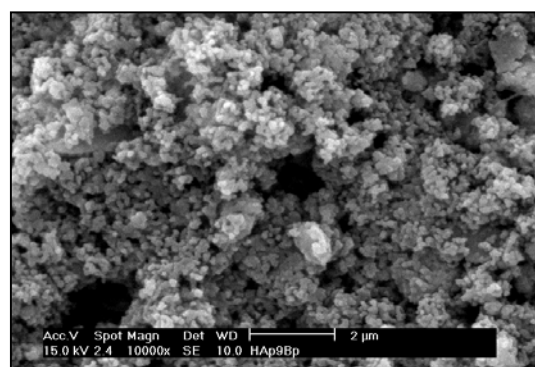


Figura 4: Curvas de distribuição granulométrica da amostra calcinada HAp701, antes e após moagem em moinho de bolas por 15 horas.



(a)



(b)

Figura 5: Micrografias obtidas por MEV da amostra calcinada HAp701, antes (a) e após moagem em moinho de bolas (b).

Tabela 3: Resultados de caracterização química e física da amostra HAp 701.

Parâmetro	Amostra HAp701	
	após calcinação	após calcinação e moagem
% de fases (em massa):		
HAp		81
β - TCP		19
(Ca/P) nominal		1,64*
(Ca/P) experimental		1,70
Diâmetro médio de aglomerado (μm)	13,6	7,4
Área de superfície específica ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$)	10,9	10,0
Densidade ($\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$):		
teórica		3,14*
experimental	3,04 (96,8% ρ_t)	3,10 (98,7% ρ_t)

*Valores calculados pela regra da mistura de fases, considerando:

$(\text{Ca/P})_{\text{HAp}} = 1,67$; $(\text{Ca/P})_{\beta\text{-TCP}} = 1,5$ [Hench&Wilson, 1993]

$\rho_{\text{teórica (HAp)}} = 3,156 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ e $\rho_{\text{teórica } (\beta\text{-TCP)}} = 3,07 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ [Elliott, 1994].

CONCLUSÕES

A técnica de precipitação homogênea, sob aquecimento (70 °C), a partir de cloreto de cálcio e hidrogeno fosfato de amônio mostrou-se adequada para obtenção de fosfato de cálcio com elevada concentração de hidroxiapatita (cerca de 80% em massa). Os subprodutos da reação, constituídos basicamente por íons cloreto e água, foram eliminados de forma eficiente nas etapas de lavagem, secagem e calcinação. Os pós obtidos, embora aglomerados, apresentaram tamanho de partícula submicrométrico, característica esta importante para processamento de materiais cerâmicos. Em trabalhos futuros, estudos de sinterabilidade desses pós e de biocompatibilidade serão realizados para comprovar a viabilidade de emprego desta técnica de síntese na preparação de biocerâmicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à colega Joana D. Andrade pelo apoio nas etapas de síntese dos pós e aos colegas Maricel E. B. Cotrim, Elisabeth Fancio, José Roberto Martinelli, Rene R. de Oliveira e Jorge C. Santos pelas análises de caracterização química e física dos pós.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANEE, T.K.; ASHOK, M.; PALANICHAMY, M.; NARAYANA KALKURA, S. A novel technique to synthesize hydroxyapatite at low temperature. *Mater. Chem. Phys.*, v.80, p.725-730, 2003.
2. BARRALET, J.; KNOWLES, J.C.; BEST, S.; BONFIELD, W. Thermal decomposition of synthesized carbonate hydroxyapatite. *J. Mater. Sci: Mats. Med.*, v.13, p. 529-533, 2002.
3. ELLIOTT, J.C. *Structure and chemistry of the apatites and others calcium phosphates*. Elsevier Science B. V., 1994.
4. HENCH, L.L.; WILSON, J. *Introduction to Bioceramics*. World Scientific Publishing Co., 1st ed, 1993.
5. HENCH, L.L. Bioceramics, *J. Am. Ceram. Soc.* v.81, n.7, p. 1705-1728, 1998.
6. GREENE, E.F.; TAUCH, S.; WEBB, E.; AMARASIRIWARDENA, D. Application of diffuse reflectance infrared Fourier transform spectroscopy (DRIFTS) for the identification of potential diagenesis and crystallinity changes in teeth. *Microchem. J.*, v. 76, p. 141-149, 2004.
7. KWEH, S.W.K.; KHOR, K.A.; CHEANG, P. The production and characterization of hydroxyapatite (HA) powders. *J.Mater.Process.Tech.*, v. 89-90, p. 373-377, 1999.
8. RIMAN, R.E.; SUCHANEK, W.L.; BYRAPPA, K.; CHEN, C-W.; SHUK, P.; OAKES, C.S. Solution synthesis of hidroxyapatite designer particles. *Solid State Ionics*, v.151, p. 393-402, 2002.
9. SUNG, Y-M.; LEE, J-C.; YANG, J-W. Crystallization and sintering characteristics of chemically precipitated hydroxyapatite nanopowder. *J.Crystal Growth*, in press.
10. TANAKA, Y.; HIRATA, Y.; YOSHINAKA, R. Synthesis and characterisitics of ultrafine hydroxyapatite particles. *Ceram. Process. Res.* V.4, n.4, p.197-201, 2003.
11. TAS, A. C. Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders 34°C in synthetic body fluids. *Biomaterials*, v.21, p.1429-1438, 2000.
12. ZHANG, H.; WANG, Y.; YAN, Y.; LI, S. Precipitation of biocompatible hydroxyapatite whisker from moderately acid solution. *Ceram. Int.*, v.29, p. 413-418, 2003.

HYDROXYAPATITE SYNTHESIS BY HOMOGENEOUS PRECIPITATION

ABSTRACT

Phosphates compounds have been used in different biomedical applications due to its excellent bioactivity and biocompatibility with the human body tissues. Among then, hydroxyapatite (HAp), $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, has a remarkable chemical and crystallographic similarity with the mineral constituents of bone and dental tissues, and can be applied as metallic substrate coating and filler for bones cavities. However, to take advantage of the intrinsic properties of this material, the control of

physic and chemical characteristics of synthesized powders is important. In this context, it was studied in this work the synthesis of hydroxyapatite by chemical precipitation route in ammonium medium from aqueous solution, of calcium chloride and ammonium hydrogenphosphate. Fixing the Ca/P atomic relation as 1.67, experiments were performed at 25 and 70°C for 1 and 7 hours. The precipitates obtained were submitted to water washing, treatment with organic solvents (ethanol and butanol), drying, calcination and milling. The powders were characterized by X-ray diffraction, scanning electronic microscopy (SEM), laser diffraction (CILAS), gaseous adsorption (BET) and infrared spectrometry. The precipitation yield of calcium and phosphorus was determined by inductively coupled plasma with atomic emission spectrometry (ICP-AES), analyzing the mother liquor. The results obtained reveal that it is possible to maximize the precipitation yield, minimizing the formation of β -TCP, which contributes to degradation of the mechanical properties of the ceramic product, since it is bioresorbable.

Keywords: bioceramics, hydroxyapatite, synthesis, precipitation.