ASPECTOS CRISTALOGRÁFICOS RELACIONADOS À HIDROXIAPATITA DOPADA COM OS ÍONS Mg²⁺, Mn²⁺, Sr²⁺ E CO₃²⁻

L.M. da Silva⁽¹⁾; E.A. dos Santos⁽¹⁾; M.B. Correia⁽¹⁾

⁽¹⁾ Laboratório de Biomateriais, Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Sergipe.

Departamento de Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Sergipe, Av. Marechal Rondon, Rosa Elze, Sergipe, 49100-000, Brasil. leilamelosilva@gmail.com

Resumo: O objetivo deste trabalho foi estudar como os paramentos cristalográficos da hidroxiapatita (HA) são modificados após a sua dopagem com os íons Mg^{2+} , Mn^{2+} , $Sr^{2+} e CO_3^{2^-}$. A HA foi sintetizada pelo método de precipitação aquosa em presença de carbonato e os íons metálicos dopantes foram adicionados individualmente, em duplas e simultaneamente no momento da síntese. Parâmetros cristalográficos das amostras foram obtidos por difração de raios X (DRX). Como resultados gerais pode-se relatar que a entrada do Sr^{2+} favoreceu o aumento da cristalinidade das amostras verdes, enquanto que o comportamento inverso foi visto para o Mn^{2+} . Ao mesmo tempo, a inclusão simultânea dos íons promoveu um maior ordenamento estrutural, uma vez que as amostras contendo todos os íons apresentaram maiores índices de cristalinidade e parâmetros de rede próximos ao da hidroxiapatita pura.

Palavras-Chave: hidroxiapatita, dopagem, íons metálicos, parâmetros cristalográficos.

INTRODUÇÃO

A grande utilização de biocerâmicas de fosfato de cálcio, especialmente a hidroxiapatita (HA), deve-se as suas propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e pela similaridade com a fase mineral do tecido ósseo humano. Atualmente, o desenvolvimento e melhoria das propriedades biológicas da HA são associados a sua capacidade de acomodar os mais diferentes íons substituintes em todos os seus grupamentos iônicos^(1,2,3,4,5).

Cada um desses íons pode desempenhar uma função específica sobre o comportamento de células ósseas, permitindo a fabricação de uma HA que controle fenômenos celulares específicos de sinalização com o intuito de melhorar a sua aceitação pelo tecido hospedeiro após implantação. A fase inorgânica óssea é composta de uma HA carbonatada contendo vários substituintes iônicos⁽¹⁾, dos quais podemos citar os íons Mg²⁺, Sr²⁺ e Mn²⁺. O papel biológico destes íons está associado com melhorias no metabolismo ósseo, redução no processo de reabsorção óssea, e melhorias no processo de adesão celular^(1,2,6,7,8).

Além da melhoria das propriedades biológicas da HA, a introdução de íons substituintes nos seus sítios iônicos afeta sua cristalinidade, solubilidade, bioatividade e introduz defeitos na rede cristalina que podem levar a sua instabilidade térmica^(4,5). Se considerarmos que a maior parte dos enxertos e dispositivos disponíveis para implantação fabricados a partir de fosfatos de cálcio sofrem algum tipo de tratamento térmico durante a sua produção, é recomendado que possamos prever em quais condições pode-se inserir íons substituintes em sua estrutura sem levar a sua decomposição em fases menos biocompatíveis após tratamento térmico. Logo, o objetivo deste trabalho foi estudar como a acomodação dos íons Mg²⁺, Mn²⁺ e Sr²⁺ em presença de CO₃²⁻ nos sítios da rede cristalina da HA, afeta os seus parâmetros cristalográficos, antes e após tratamento térmico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Síntese de HA pura e contendo os íons Sr²⁺, Mg²⁺ e Mn²⁺

O efeito de cada íon individualmente e simultaneamente na rede cristalina da HA foi avaliado para as seguintes amostras: hidroxiapatita pura (HA); hidroxiapatita dopada com magnésio (HA-Mg); hidroxiapatita dopada com manganês (HA-Mn); hidroxiapatita dopada com estrôncio (HA-Sr); hidroxiapatita dopada com magnésio e manganês (HA-MgMn); hidroxiapatita dopada com magnésio e estrôncio (HA-MgSr); hidroxiapatita dopada com manganês e estrôncio (HA-MnSr) e hidroxiapatita dopada com magnésio, manganês e estrôncio (HA-MgMnSr).

Para a obtenção da HA pura, foi adotado o método de precipitação em solução aquosa, partindo-se de uma reação ácido-base entre o ácido fosfórico H₃PO₄ e o hidróxido de cálcio Ca(OH₂) sem controle da atmosfera (presença de CO₂). A solução ácida foi adicionada a uma velocidade constante de 1,0 mL/min à solução de Ca(OH₂), sob agitação constante, a uma temperatura de 60°C e pH=10. O pH foi mantido constante durante toda a síntese. Posteriormente, o precipitado foi envelhecido por 24h a 60°C sob agitação e, após este período, filtrado e lavado com água destilada. O material formado foi seco em estufa a 120°C por 24h, triturado, peneirado e armazenado em local seco.

A síntese das amostras modificadas com os íons metálicos seguiu os procedimentos citados acima. Os íons metálicos foram adicionados à reação da seguinte maneira: o Mg^{2+} e Sr^{2+} foram dissolvidos na solução de Ca(OH₂), enquanto o Mn^{2+} foi dissolvido numa solução de H₃PO₄, a fim de evitar a oxidação do Mn.

A percentagem molar dos íons adicionados em relação ao Ca^{2+} (M^{2+}/Ca^{2+}) foi de 4% para todos os dopantes.

Após a obtenção do pó de cada amostra, as mesmas foram calcinadas por 2h a 1000°C e 1200°C sob uma taxa de aquecimento de 2,8°C/min.

Caracterização

As amostras verdes e após calcinação foram submetidas a análises de DRX. Os espectros de DRX foram obtidos variando 20 de 10º a 60º, modo contínuo, velocidade de 1º/min e passo de 0,02º em um difratômetro SHIMADZU XRD 6000. Através dos difratogramas obtidos, calculou-se o índice de cristalinidade relativa, a esfericidade dos cristais, o tamanho do cristalito e os parâmetros de rede.

O índice de cristalinidade foi calculado, considerando os picos correspondentes aos planos (1 1 2) e (3 0 0) da HA, a partir da equação $(A)^{(6,9)}$:

IC =
$$\left(1 - \left[\frac{I_{d(112)(300)} - I_{b}}{I_{(300)}}\right]\right) X 100\%$$
 (A)

Onde $I_{d (112)(300)}$ corresponde a intensidade mais baixa entre os picos dos respectivos planos (1 1 2) e (3 0 0), I_{b} é a intensidade média da linha de base entre

os picos correspondentes as planos (1 1 2) e (3 0 0), e $I_{(300)}$ corresponde a intensidade máxima do pico correspondente ao plano (3 0 0).

A esfericidade dos cristais foi calculada através da razão entre a intensidade máxima dos picos correspondentes aos planos perpendiculares (0 0 2) e (3 0 0).

O tamanho do cristalito (L) foi calculado, segundo o método Scherrer, descrito pela equação (B)^(6,9):

$$L = \frac{0.89\lambda}{\beta_{hkl}\cos\theta} \quad (B)$$

Onde $\lambda = 1,54056$ Å, e corresponde ao comprimento de onda dos raios X usados; $\beta_{hkl} = B_{(hkl)} - \beta_{(LaB6)}$. Sendo que β_{hkl} corresponde a largura a meia altura do pico principal do padrão LaB₆ sob as mesmas condições da amostra, B_(hkl) corresponde a largura a meia altura (FWHW) do pico correspondente ao plano (0 0 2) da HA e θ é o ângulo relativo ao pico correspondente ao plano (0 0 2).

Considerando que a temperatura ambiente a HA apresenta uma estrutura cristalina hexagonal⁽¹⁾, os parâmetros de rede foram calculados utilizando a relação entre as distâncias entre os planos (0 0 2) e (0 0 3), conforme a equação $(C)^{(10)}$:

$$\frac{1}{d^2} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2} \quad (C)$$

Sendo que d é a distância entre os planos adjacentes que definem os índices de Miller (*h k l*). Para o cálculo do volume das células unitárias, considerou-se os parâmetros de rede *a* e *c*, conforme a equação (D):

$$V = 0,866a^2c$$
 (D)

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A estrutura dos cristais das amostras verdes e calcinadas foi avaliada em termos dos seus parâmetros cristalográficos, como o índice de cristalinidade, esfericidade dos cristais, tamanho do cristalito e parâmetros de rede. Na Figura 1 pode observar como o índice de cristalinidade varia em função da dopagem e dos tratamentos térmicos utilizados. Considerando-se apenas as amostras verdes, pode-se verificar que a entrada individual do Mn²⁺ levou a uma desordem acentuada da

estrutura da HA enquanto que as entradas individuais do Sr²⁺ e Mg²⁺ teve um papel menos importante nesse aumento da desordem. Ao mesmo tempo, fica claro que a associação dos íons Sr²⁺ e Mg²⁺ (HA-MgSr e HA-MgMnSr) leva a uma condição de cristalinidade equiparável aquela observada para a HA pura. Se levarmos em conta a diminuição de cristalinidade apresentada pela entrada simultânea dos íons Mg²⁺ e Mn²⁺ indica que o Sr²⁺ parece ser o íon controlador responsável por reestabelecer o ordenamento da rede em suas entradas. Uma das hipóteses para explicar esse fato pode estar relacionada ao raio iônico desses elementos. Uma vez que os raios iônicos do Mg²⁺ e Mn²⁺ são menos que o do Ca²⁺, a associação deles leva a uma condição onde não existe qualquer compensação das forças trativas geradas pela sua entrada nos sítios do cálcio, levando a uma desordem maior da estrutura. Ao passo que a entrada do Sr²⁺ (sendo maior que os outros íons) pode gerar uma condição de compensação das zonas trativas pela introdução de zonas compressivas na estrutura⁽⁵⁾.

Após tratamento térmico, a fase cristalina de HA formada foi similar, independentemente do dopante usado.





Assim como o índice de cristalinidade, a inserção de íons metálicos na rede da HA também afeta a esfericidade do cristal, o que é facilmente observado pela

57º Congresso Brasileiro de Cerâmica 5º Congresso Iberoamericano de Cerâmica 19 a 22 de maio de 2013, Natal, RN, Brasil

elongação do cristal ao logo de um dos seus eixos cristalográficos (*a* ou *c*). Se levarmos em conta uma HA padrão e isenta de dopagem, a razão entre as intensidades medidas para os picos relativos aos planos (0 0 2) e (3 0 0) é de 0,67. Portanto, podemos assumir que valores maiores que 0,67 indicam uma elongação dos cristais ao longo da direção *c*. Em contrapartida, valores menores que 0,67, indicam uma elongação dos cristais ao longo da direção $a^{(11)}$. A Figura 2 mostra os resultados obtidos para a esfericidade obtida para todas as amostras em estudo.



Figura 2. Esfericidade do cristal para as amostras verde e calcinadas a 1000°C e 1200°C.

Analisando os resultados, pode-se afirmar que as amostras verdes apresentam cristais alongados ao longo do eixo *c*, uma vez que os valores das razões de aspecto para estas amostras foram maiores que 0,67. No entanto, de forma geral, a entrada de um único dopante não afetou significantemente a esfericidade do cristal, ao passo que as entradas duplas e triplas levaram sempre a uma tendência de aumento do caráter esférico dos cristais. Isso também foi observado após a calcinação das amostras.

Outro parâmetro que pode ser diretamente afetado pela entrada dos dopantes é o tamanho do cristalito, sendo relatado na literatura que os íons $Mg^{2+(4,6)} e Sr^{2+(7,12)}$ tem uma tendência de inibir o crescimento do cristal de HA. A Figura 3 mostra os resultados obtidos para o tamanho do cristalito de todas as amostras estudadas.



Figura 3. Tamanho de cristalito para as amostras verde e calcinadas a 1000°C e 1200°C.

Analisando somente as amostras verdes, podemos perceber uma diminuição significativa dos cristais apenas para as amostras contendo Mn²⁺ (HA-Mn e HA-MgMn). A entrada simultânea do Sr²⁺ (HA-MgMnSr), como observado para o índice de cristalinidade, pareceu restaurar o crescimento do cristal ao nível de uma HA pura. A parte esse comportamento específico do Mn²⁺, as demais amostras apresentaram um tamanho de cristalito com valores próximos àquele da amostra de HA pura, sugerindo que, nas condições desse experimento, a presença dos íons dopantes teve pouco efeito no crescimento dos cristais. Talvez o tempo de envelhecimento de 24h seja suficientemente alto para que todas as amostras atinjam o seu limite máximo de crescimento em função das condições estabelecidas. A parte isso, o tamanho dos cristais foi extremamente influenciado pela calcinação das amostras. Na mesma direção do índice de cristalinidade, após calcinação todos os cristais apresentaram tamanhos equiparáveis, sendo que as temperaturas de 1000°C e 1200°C levaram a aumentos médios de tamanho de cerca de 40% e 60%, respectivamente.

As análises de DRX permitiram calcular os parâmetros da célula unitária dos cristalitos de HA para todas as amostras, como dispostos na Tabela 1. As amostras

HA-Mg e HA-Mn, verdes, apresentaram uma redução nos parâmetros de rede e uma leve contração no volume da célula unitária, em comparação com a amostra de HA pura. Uma vez que o raio dos íons Mg²⁺ e do Mn²⁺ (0,72Å e 0,83Å, respectivamente) são menores que o raio do Ca²⁺ (1,00Å), esta redução nos parâmetros já era esperada, inclusive pelos dados iniciais calculados para tamanho de cristalito e índice de cristalinidade.

Amostras		Parâmetros de rede (Å)			Unidade de
		а	b	C	volume da célula (ų)
	HA	9,4207	9,4207	6,9021	530,5
Antes da calcinação	HA-Mg	9,4059	9,4059	6,8869	527,6
	HA-Mn	9,4119	9,4119	6,8849	528,2
	HA-Sr	9,4371	9,4371	6,9187	533,6
	HA-Mg-Sr	9,4247	9,4247	6,9055	531,2
	HA-Mg-Mn	9,4248	9,4248	6,8911	530,1
	HA-Sr-Mn	9,4278	9,4278	6,8994	531,1
	HA-Mg-Sr-Mn	9,4313	9,4313	6,9052	531,9
Calcinadas (1000°C)	HA	9,3999	9,3999	6,8653	525,3
	HA-Mg	9,4327	9,4327	6,8955	531,3
	HA-Mn	9,4296	9,4296	6,8917	530,7
	HA-Sr	9,4558	9,4558	6,9186	535,7
	HA-Mg-Sr	9,4372	9,4372	6,9021	532,3
	HA-Mg-Mn	9,4337	9,4337	6,8943	531,3
	HA-Sr-Mn	9,4503	9,4503	6,9149	534,8
	HA-Mg-Sr-Mn	9,4449	9,4449	6,9085	533,7
Calcinadas (1200°C)	HA	9,4300	9,4300	6,8930	530,8
	HA-Mg	9,4148	9,4148	6,8794	528,1
	HA-Mn	9,4130	9,4130	6,8777	527,7
	HA-Sr	9,4316	9,4316	6,8969	531,3
	HA-Mg-Sr	9,4467	9,4467	6,9096	534,0
	HA-Mg-Mn	9,4350	9,4350	6,8959	531,6
	HA-Sr-Mn	9,4464	9,4464	6,9105	534,0
	HA-Mg-Sr-Mn	9,4325	9,4325	6,8955	531,3

Tabela 1. Parâmetros de rede das amostras antes e após a calcinação.

Analisando ainda as amostras HA-Mg e HA-Mn percebe-se que o mesmo resultado citado anteriormente, foi verificado quando as mesmas foram calcinadas a 1200°C. No entanto, a calcinação a 1000°C, levou a um aumento nos parâmetros de rede e uma expansão no volume da célula unitária. Acredita-se que o aumento dos parâmetros de rede deva-se à dinâmica dos processos de transformação e liberação de $CO_3^{2^-}$ incorporado à estrutura durante o aquecimento, que devem migrar da

situação mais estável (ocupação dos sítios do PO₄³⁻)^(5,13,14) para os sítios da hidroxila, elevando os parâmentos de rede medidos. No nosso caso, as sínteses foram feitas sem controle de atmosfera e isso se reflete na incorporação de pequenas quantidades de carbonato à estrutura. Grande parte do carbonato é eliminado durante a calcinação, sendo que uma das vias aceitas para a saída desse grupamento é através dos canais de hidroxila da HA.

A inserção do Sr²⁺ na rede da HA provocou um aumento nos parâmetros de rede e uma expansão no volume da célula unitária, comparado a HA pura, sugerindo a entrada do Sr²⁺ no sítio do Ca²⁺, uma vez que o Sr²⁺ (1,18Å) é maior que o Ca²⁺. Estes resultados mantiveram-se mesmo após a calcinação.

A amostra HA-MgSrMn apresentou parâmetros de rede e volume da célula unitária próxima ao da HA pura, levando a uma forte indicação de que, de fato, a introdução simultânea destes íons cria uma situação que favorece o ordenamento estrutural, como justificado anteriormente. Ainda, calculando o raio médio entre os íons Mg²⁺, Sr²⁺ e Mn²⁺ e levando-se em conta a sua quantidade obtemos o valor de 0,98Å. Esse valor é muito próximo ao raio do Ca²⁺ (1,00 Å), o que justificaria o volume da célula unitária medido para a HA-MgSrMn ser muito próximo ao da HA pura.

CONCLUSÕES

De forma geral, pode-se concluir que a introdução dos íons Mg²⁺ e Mn²⁺ levou a diminuição do índice de cristalinidade e dos parâmetros de rede da célula unitária. Efeito contrário foi observado para o íon Sr²⁺. As amostras HA-MgMn e HA-SrMn, apresentaram um menor índice de cristalinidade, podendo ser justificado pela tendência do Mn²⁺ em inibir a cristalização da HA. A introdução dos três íons simultaneamente na célula hexagonal da HA favoreceu o seu ordenamento estrutural, de forma que a amostra HA-MgSrMn foi a que apresentou índice de cristalinidade e parâmetros de rede mais próximos ao da HA pura.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao apoio das agências de fomento FAPITEC, CAPES e CNPq.

REFERÊNCIAS

[1] BOANINI, E.; GAZZANO, M.; BIGI, A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature. Acta Biomaterialia, v. 6, p. 1882-1894, 2010.

[2] PALUSZKIEWICZ, C.; SLÓSARCZYK, A.; PIJOCHA, D.; SITARZ, M.; BUCKO, M.; ZIMA, A.; CHRÓSCICKA, A.; LEWANDOWSKA-SZUMIEL, M. Synthesis, structural properties and thermal stability of Mn-doped hydroxyapatite. Journal of Molecular Structure, v. 976, p. 301-309, 2010.

[3] KOLMAS, J.; JAKLEWICZ, A.; ZIMA, A.; BUCKO, M.; PASZKIEWICZ, Z.; LIS, J.; SLÓSARCZYK, A.; KOLODZIEJSKI, W. Incorporation of carbonate and magnesium ions into synthetic hydroxyapatite: The effect on physicochemical properties. Journal of Molecular Structure, v.987, p.40-50, 2011.

[4] TÕNSUAADU, K.; GROSS, K.A.; PLUDUMA, L.; VEIDERMA, M. A review on the thermal stability of calcium apatites. J. Therm. Anal Calorim. , 2011.

[5] SURESH KUMAR, G.; THAMIZHAVEL, A.; YOKOGAWA, Y.; NARAYANA KALKURA, S.; GIRIJA, E.K. Synthesis, characterization and in vitro studies of zinc and carbonate co-substituted nano-hydroxyapatite for biomedical applications. Materials Chemistry and Physics, v. 134, p.1127-1135, 2012.

[6] HANIFI, A.; FATHI, M.H.; MIR MOHAMMAD SADEGHI, H.; VARSHOSAZ, J. Mg²⁺ substituted calcium phosphate nano particles synthesis for non viral gene delivery application. J Mater Sci: Mater Med, v.21, p. 2393–2401, 2010.

[7] HANIFI, A.; FATHI, M.H.; MIR MOHAMMAD SADEGHI, H. Effect of strontium ions substitution on gene delivery related properties of calcium phosphate nanoparticles. J Mater Sci: Mater Med, v. 21, p. 2601–2609, 2010.

[8] MAYER, I.; PETŐ, G.; KARACS, A.; MOLNÁR, G.; POPOV, I. Divalent Mn in calcium hydroxyapatite by pulse laser deposition. Journal of Inorganic Biochemistry, v.104, p.1107–1111, 2010.

[9] CACCIOTI, I.; BIANCO, A. High thermally stable Mg-substituted tricalcium phosphate via precipitation. Ceramics International, v. 37, p.127–137, 2011.

[10] WEBSTER, T. J.; MASSA-SCHLUETER, E. A.; SMITH, J. L; SLAMOVICH, E. B. Osteoblast response to hydroxyapatite doped with divalent and trivalent cations. Biomaterials, v. 25, n.11, p. 2111-2121, 2004.

[11] DOS SANTOS, E.A., MOLDOVAN, M.S., JACOMINE, L.; MATEESCU, M.; WERCKMANN, J.J., ANSELME, K., MILLE, P., PELLETIER, H. Oriented hydroxyapatite single crystals produced by the electrodeposition method. Materials Science and Engineering: B, v. 169, n 1-3, p. 138-144, 2010.

[12] BOANINI, E.; TORRICELLI, P.; FINI, M.; BIGI, A. Osteopenic bone cell response to strontium-substituted hydroxyapatite. J Mater Sci: Mater Med, v. 22, p.2079–2088, 2011.

[13] FRANK-KAMENETSKAYA, O.; KOL'TSOV, A.; KUZ'MINA, M.; ZORINA, M.; PORITSKAYA, L. Ion substitutions and non-stoichiometry of carbonated apatite-(CaOH) synthesised by precipitation and hydrothermal methods. Journal of Molecular Structure, v. 992, p. 9–18, 2011.

[14] ZIMA, A.; PASZKIEWICZ, Z.; SIEK, D.; CZECHOWSKA, J.; SLÓSARCZYK, A. Study on the new bone cement based on calcium sulfate and Mg, CO₃ doped hydroxyapatite. Ceramics International, v. 38, p. 4935–4942, 2012.

CRYSTALLOGRAPHIC ASPECTS OF A HYDROXYAPATITE DOPED WITH Mg^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} AND CO_3^{2-}

ABSTRACT

The main objective of this work was to study how the insertion of the Mg^{2+} , Mn^{2+} , Sr^{2+} and CO_3^{2-} ions in the HA lattice affects its crystallinity. Accordingly, HA was synthesized by aqueous precipitation method in the presence of carbonate and dopants. Crystallographic parameters of the samples were obtained by XRD. It was observed that the insertion of Sr^{2+} increased the crystallinity index for the tested samples. At the same time, the opposite behavior was verified for the insertion of Mn^{2+} in the structure. In general, the simultaneous inclusion of the three ions lead to a better structural arrangement, since the sample HA-MgSrMn presented a higher crystallinity index and lattice parameters close to that of the pure hydroxyapatite (HA).

Key-words: hydroxyapatite, doping, metal ions, crystallographic parameters.