

ELABORAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCIMENTOS DE FOSFATOS DE CÁLCIO PARA USO NA REPARAÇÃO DO TECIDO ÓSSEO

P. F. Franczak^{*(1)}; N. H. A. Camargo ⁽¹⁾; D. F. Silva ⁽¹⁾; G. M. L. Dalmônico⁽¹⁾; M. S. Schneider ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais – PGCEM
Rua Paulo Malschitzki, s/n. Zona Industrial Norte – Joinville – SC.
^{*}priscila_jlle@yahoo.com.br

Resumo

Os biocimentos de fosfato de cálcio são biomateriais que apresentam características cristalográficas semelhantes as da estrutura do esqueleto humano, sendo usados para aplicações biomédicas, principalmente para uso na reparação de defeitos, reconstrução óssea e fixação de implantes. São promissores em aplicações biomédicas por apresentarem facilidade de moldagem, boa molhabilidade, hidratação e capacidade de endurecimento durante sua aplicação em meios biológicos. O interesse pelos biocimentos de fosfatos de cálcio está associado às características de bioatividade, biocompatibilidade e semelhança cristalográfica com a apatita óssea. Esse trabalho teve como objetivo a elaboração e caracterização de três biocimentos de fosfatos de cálcio, nas razões Ca/P = 1,5; 1,6 e 1,67 molar. As investigações foram realizadas através da difratometria de raios-X (DRX), o método teórico de análise quantitativa de composições de fosfatos de cálcio também foi utilizado, a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e por fim a espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Constatou-se nos resultados obtidos para as diferentes composições a coalescência dos cristais e a redução da transmitância das bandas vibracionais dos grupamentos PO_4^{3-} , características próprias dos biocimentos de fosfato de cálcio.

Palavras-chave: Biocimentos, Fosfatos de Cálcio, Caracterização.

1. INTRODUÇÃO

Os biocimentos de fosfato de cálcio pertencem a uma importante classe de biomateriais e podem ser usados como matrizes ósseas para preencher defeitos ósseos ⁽¹⁾, oriundos de doenças ou traumatismos. Estes podem também serem usados como veículos na liberação controlada de fármacos e como sistemas de carregamento de medicamentos ^(2, 3).

Esses biomateriais consistem de uma mistura de fosfato de cálcio e um líquido aquoso, formando uma pasta que endurece a temperatura corpórea, sendo altamente bioativos, biocompatíveis e osteocondutores, ou seja, são capazes de

interagir com os tecidos vivos circundantes, levando a uma progressiva solubilização, ocorrida pelo processo natural da neoformação óssea. Uma das vantagens dos biocimentos está associada a sua facilidade de manipulação, moldagem e aplicação ao defeito ou local desejado, isto faz deste um potencial promissor em aplicações na ortopedia na correção de defeitos ósseos ^(4, 5, 6).

O objetivo do presente trabalho foi elaborar 3 composições de biocimentos, a partir de fosfatos de cálcio hidratados obtidos pelo método de síntese via úmida nas razões Ca/P = 1,5; 1,6 e 1,67 molar, conforme descrito por ⁽⁷⁾. Os biocimentos foram obtidos através do tratamento térmico dos pós de fosfatos de cálcio hidratados à temperatura de 1300°C/2h. Os estudos de caracterização foram realizados com difratometria de raios X (DRX), a morfologia foi analisada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) e as bandas vibracionais dos grupamentos OH⁻ e PO₄³⁻ foram identificadas pela espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Os pós de fosfatos de cálcio hidratados nas razões molares de Ca/P 1,5; 1,6 e 1,67 foram tratados termicamente à temperatura de 1300°C por 2 horas, em seguida passaram pelo processo de moagem por almofariz/pistilo e peneiramento na malha 150µm, fornecendo os biocimentos na forma de pó aglomerado.

2.1. Caracterização Cristalográfica

A caracterização cristalográfica foi realizada com ajuda de um difratômetro de raios X (DRX) marca SHIMADZU, modelo X-RAY XRD-6000, com tubo de cobre. Para obtenção dos difratogramas de raios X utilizou-se uma tensão de 40 kV e intensidade de corrente de 30mA, sendo o intervalo angular de varredura de 5° a 80°, com deslocamento do goniômetro de 2°/min em função de 2θ.

Com interesse de melhor avaliar os resultados obtidos pela difratometria de raios X, o método teórico de análise quantitativa de composições de fosfatos de cálcio utilizado por ⁽⁸⁾ foi empregado. Este método permite determinar teoricamente as concentrações das fases presentes nas composições de fosfatos de cálcio. Para realização dos cálculos utilizou-se os difratogramas de raios X obtidos sobre as diferentes composições de biocimentos de fosfatos de cálcio. Os cálculos foram realizados através da equação 1, levando-se em consideração sempre o plano

principal de difração representado pelo pico de maior intensidade de cada fase (I). Este método de análise quantitativa permite obter resultados teóricos bastante próximos dos valores experimentais.

A equação 1 apresenta a relação entre as fases HA e TCP-β.

$$\text{TCP} = I_{\text{TCP}} / (I_{\text{TCP}} + I_{\text{HA}}) \quad (\text{Equação 1})$$

2.2. Caracterização Morfológica

Os estudos de caracterização morfológica dos biocimentos foram realizados com a ajuda de um microscópio eletrônico de varredura (MEV), marca ZEISS, modelo DSM 940A, através do sistema de elétrons retro-espalhados (BSE).

Os biocimentos foram depositados em um porta-amostras, sobre uma fita de carbono dupla face. Para evitar os efeitos de carga no interior da câmara do microscópio, os biocimentos foram submetidos ao processo de metalização por pulverização catódica, com a deposição de uma película de ouro da ordem de 30nm sobre a superfície das amostras. Esta deposição foi realizada através de um equipamento Bal-Tec SCD 050 modelo Sputter Coater. Os parâmetros de ion-deposição foram: temperatura de 25°C em câmara de metalização, corrente de 40mA, tensão de 2 kV e tempo de deposição de 120 segundos, proporcionando uma película de ouro na superfície das amostras da ordem de 30nm⁽⁹⁾.

2.3. Caracterização Química por FTIR

A técnica de espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) foi utilizada para identificar as bandas vibracionais dos grupamentos OH⁻ e PO₄³⁻ presentes nos biocimentos. Os estudos foram realizados em um equipamento Perkin Elmer Spectrum, com refletância atenuada, com resolução de 4,00 cm⁻¹.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Caracterização Cristalográfica

Os resultados obtidos pela difratometria de raios X – DRX sobre os biocimentos revelam em seus difratogramas a presença de fosfato tricálcico-β (TCP-β) e hidroxiapatita (HA), como mostrado nas figuras 1, 2 e 3. Para a razão Ca/P = 1,5 (Figura 1), constata-se em seu difratograma de raios X principalmente a fase TCP-β na

composição , com estrutura cristalina romboédrica e plano principal de difração [0 2 10].

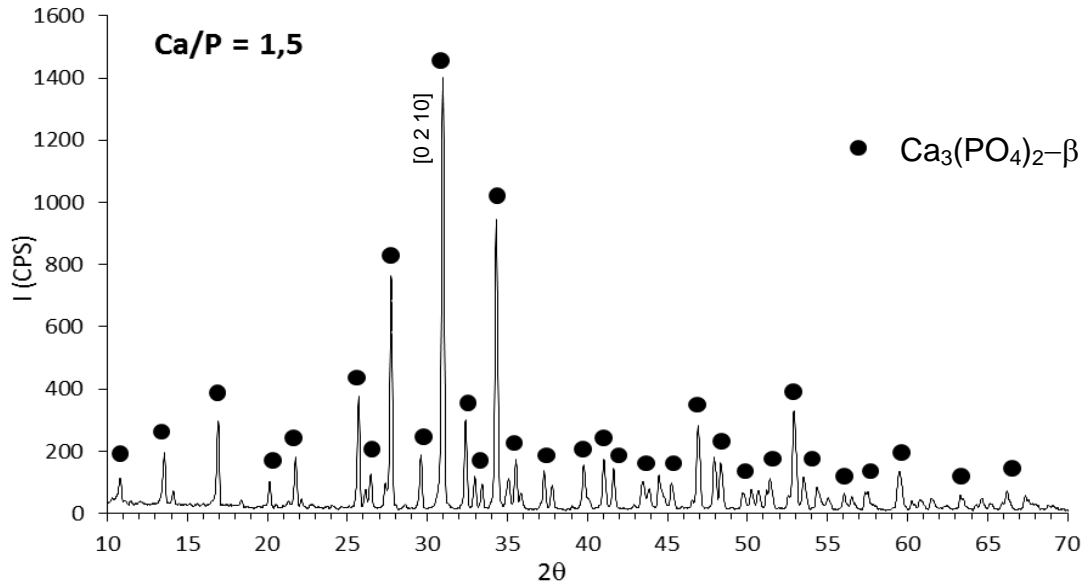


Figura 1. Difratograma de raios X obtido para o biocimento de fosfato de cálcio na razão Ca/P = 1,5 molar.

O resultado obtido sobre o biocimento de fosfato de cálcio na razão Ca/P = 1,6 apresentou em seu difratograma de raios X (Figura 2) as fases fosfato tricálcio- β na composição $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e hidroxiapatita na composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ com estrutura cristalina hexagonal e plano principal de difração [2 1 1]. Com o uso do método teórico de análise quantitativa de composições de fosfatos de cálcio descrito por ⁽⁸⁾, determinou-se as quantidades relativas das fases presentes para o caso do biocimento bifásico. Observou-se para a composição Ca/P = 1,6 molar uma relação TCP- β /HA da ordem de 28%TCP- β e 72%HA. A bibliografia mostra que as composições bifásicas vêm apresentando melhor desempenho de neoformação óssea quando aplicados *in vivo* ⁽¹⁰⁾.

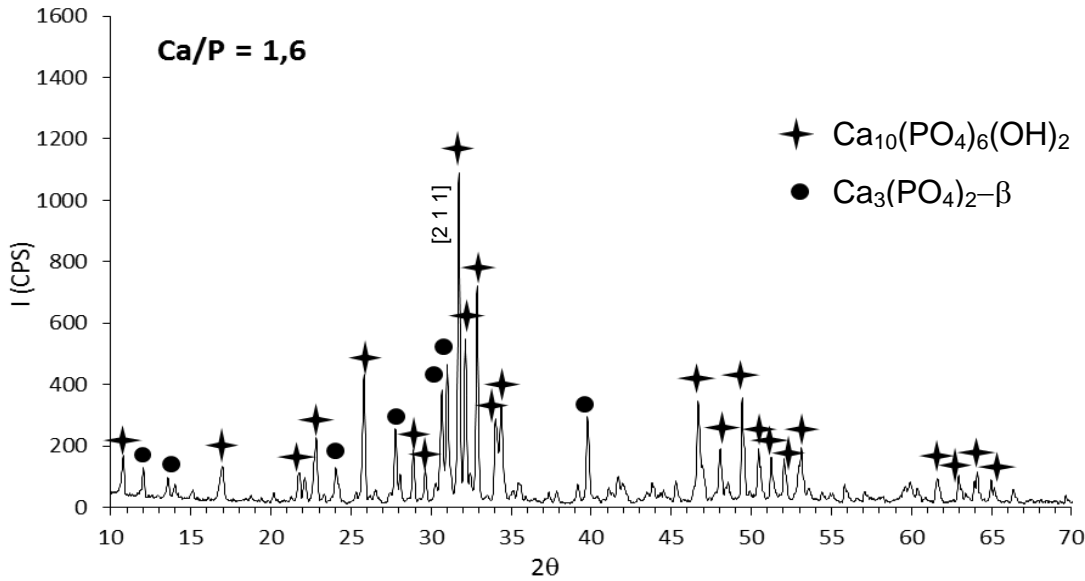


Figura 2. Difratograma de raios X obtido para o biocimento de fosfato de cálcio na razão Ca/P = 1,6 molar.

A figura 3 mostra o difratograma de raios X obtido para o biocimento de razão Ca/P = 1,67, que revela a presença de picos bem definidos da fase HA estequiométrica, na composição $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, com estrutura cristalina hexagonal e plano principal de difração [2 1 1].

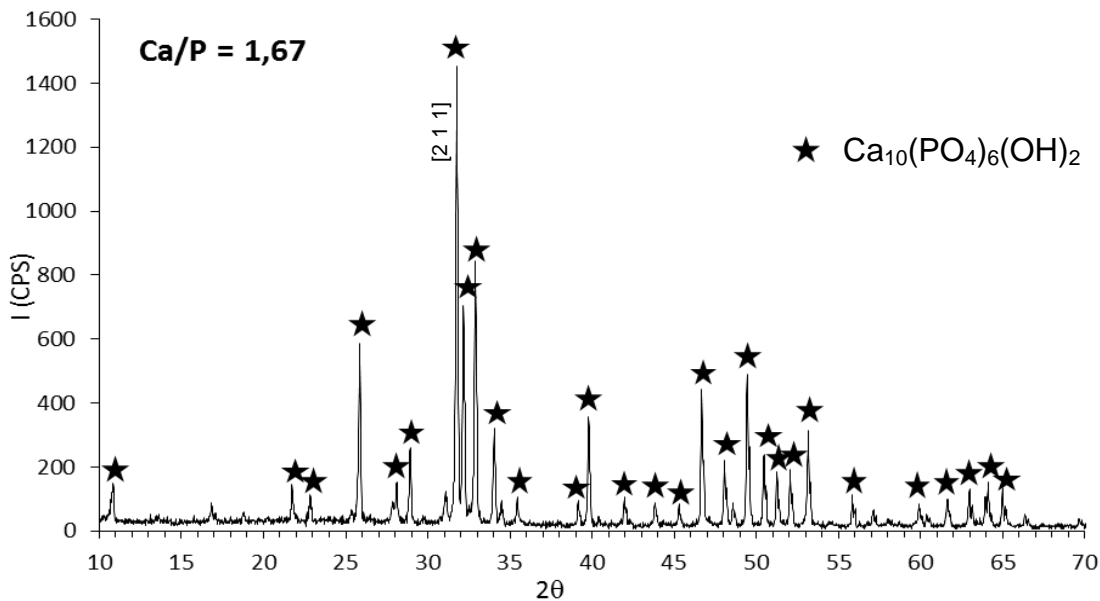


Figura 3. Difratograma de raios X obtido para o biocimento de fosfato de cálcio na razão Ca/P = 1,67 molar.

3.2. Caracterização Morfológica

Os resultados da caracterização morfológica obtida sobre os biocimentos revelou em suas micrografias uma morfologia formada por fragmentos de cristais de fosfato de cálcio aglomerados (Figura 4), típica dos biocimentos. A exposição dos

biocimentos ao ar livre conduziu a uma leve modificação da superfície dos fragmentos de cristais pela adsorção de umidade, ocorrendo uma leve hidratação dos biocimentos, conforme pode ser observado principalmente na figura 4a. Este resultado mostra que os biocimentos apresentam uma afinidade com a umidade, isto poderá ser um diferencial destes biocimentos quando aplicados *in vivo*, por apresentarem boa capacidade de adsorção de fluidos corpóreos.

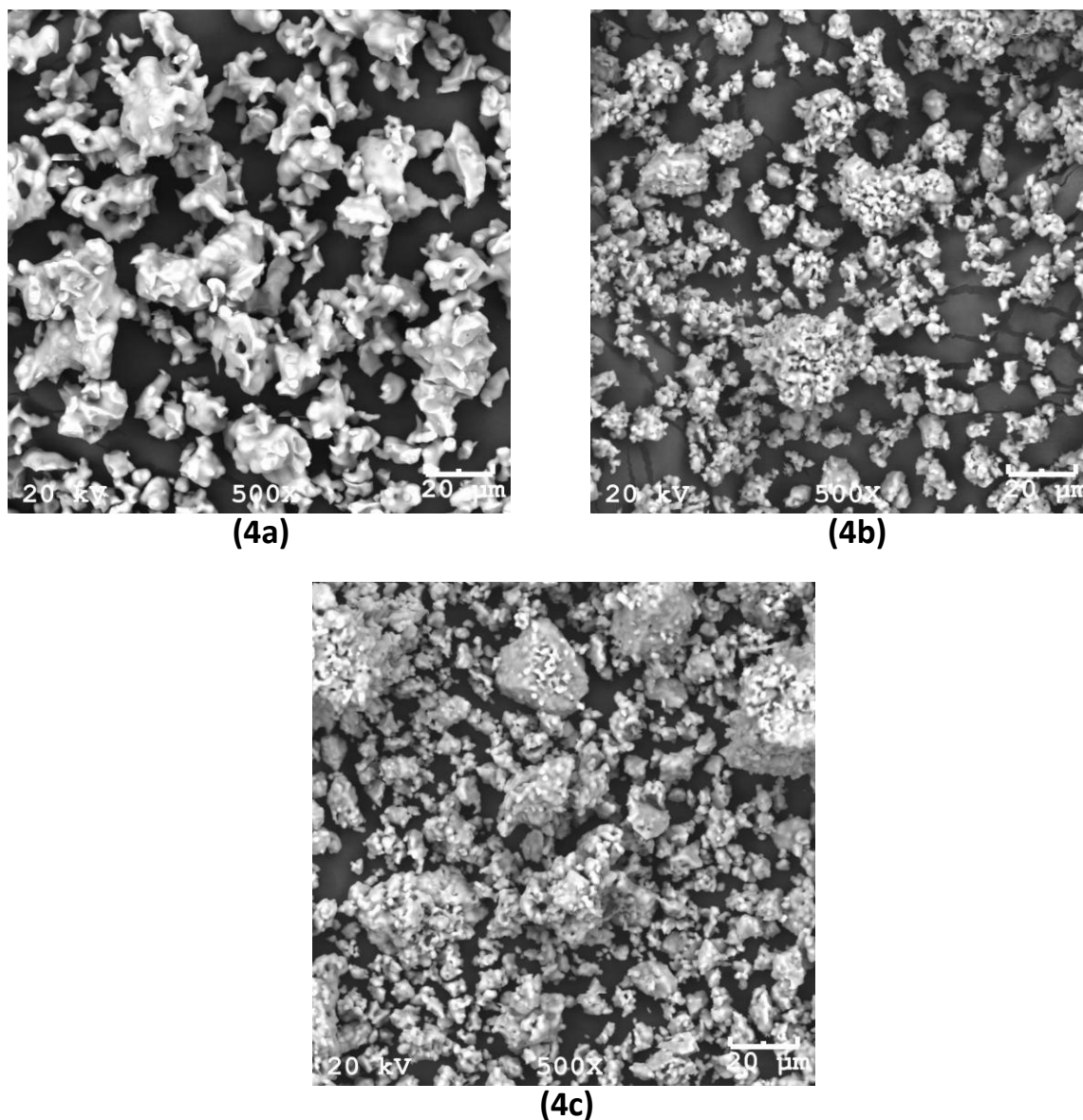


Figura 4. Morfologia dos biocimentos: **(4a)** Ca/P = 1,5molar; **(4b)** Ca/P = 1,6 molar e **(4c)** Ca/P = 1,67molar.

3.3. Caracterização Química por FTIR

A figura 5 apresenta o espectrograma de FT-IR obtido sobre o biocimento para a razão $\text{Ca/P} = 1,5$, constatando as bandas vibracionais do grupamento PO_4^{3-} em 1121, 1003, 975, 947, 602 e 568 cm^{-1} , caso já observado por outros autores ^(11, 12, 13). As bandas vibracionais em 975 e 947 cm^{-1} apresentam-se como típicas de TCP ⁽¹¹⁾. Não foi constatada a presença do grupamento OH^- , confirmando a fase TCP mostrada pelo difratograma de raios X (figura 1).

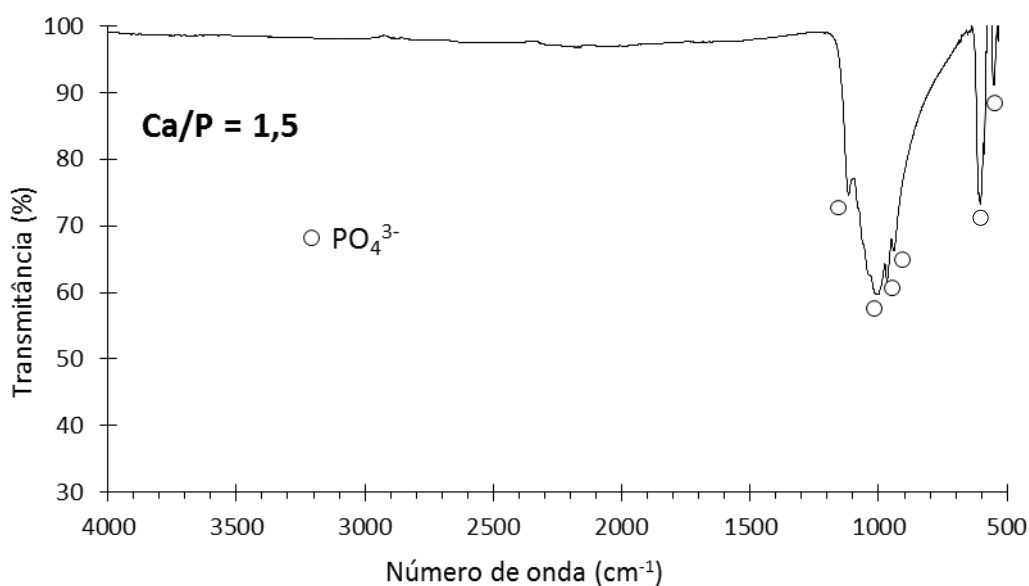


Figura 5: Espectrograma de FT-IR obtido sobre o biocimento na razão $\text{Ca/P} = 1,5$ molar.

Para o biocimento na razão $\text{Ca/P} = 1,6$, as bandas vibracionais do grupamento PO_4^{3-} foram identificadas em 1087, 1020, 960, 572 e 600 cm^{-1} , caso observado por outros autores ^(12, 13, 14), conforme mostrado na figura 6. Constatou-se ainda as bandas vibracionais em 630 e 3700 cm^{-1} , correspondentes ao grupamento OH^- , o que indica a presença da fase hidroxiapatita na composição, conforme já observado sobre o difratograma de raios X (Figura 2).

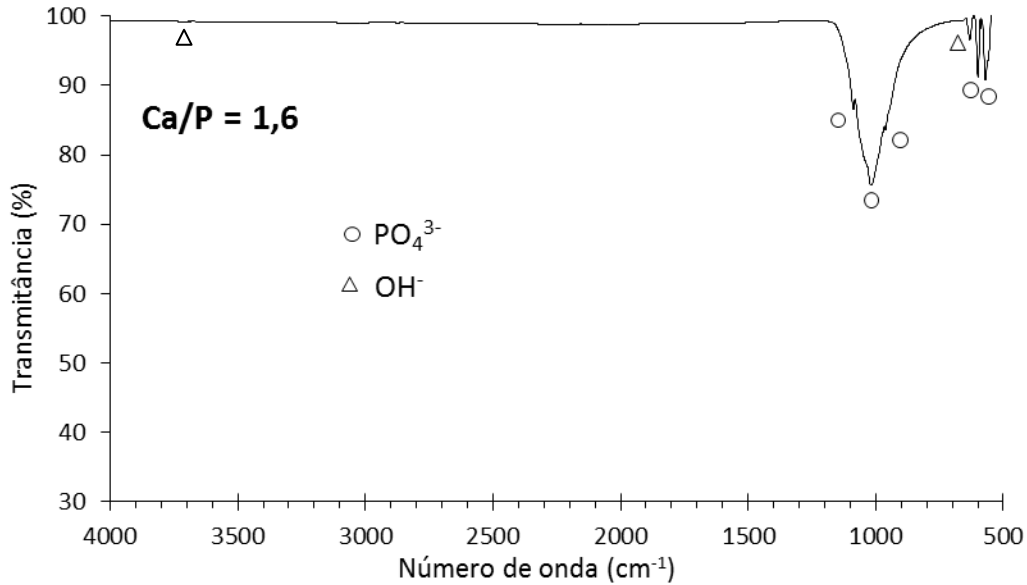


Figura 6: Espectrograma de FT-IR obtido sobre o biocimento na razão Ca/P = 1,6 molar.

O biocimento na razão Ca/P = 1,67 molar apresentou em seu espectrograma (Figura 7) picos semelhantes à razão Ca/P = 1,6, porém mais acentuados, destacando a presença das bandas vibracionais do grupamento OH⁻ em 630 e 3540 cm⁻¹ (11, 12, 13), indicando a presença da fase HA no biocimento, conforme já constatado no difratograma de raios X (Figura 3).

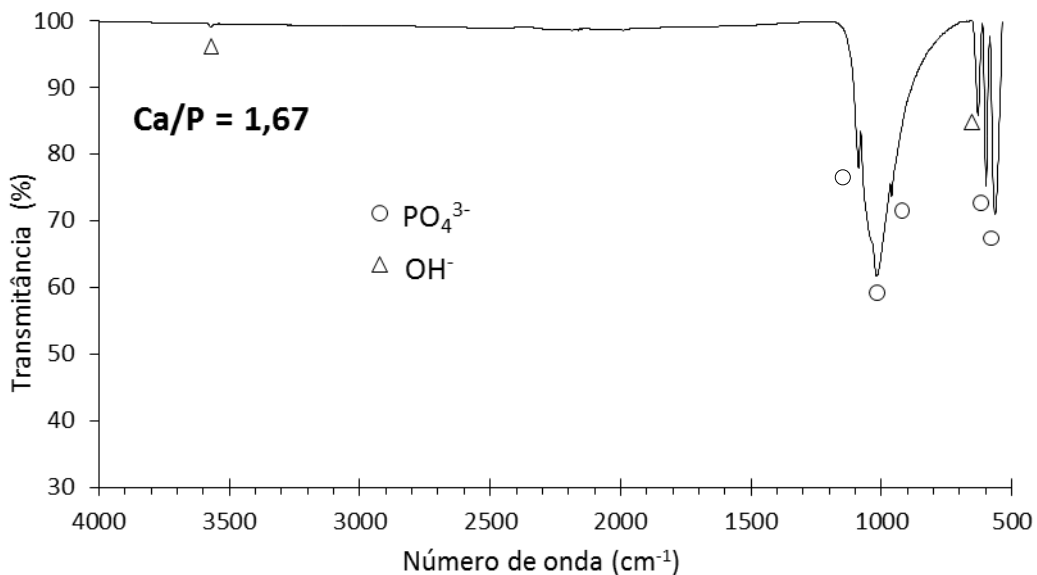


Figura 7: Espectrograma de FT-IR obtido sobre o biocimento na razão Ca/P = 1,67 molar.

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos através da difratometria de raios X mostraram a presença das fases de fosfato tricálcico- β e hidroxiapatita e os resultados obtidos por FT-IR revelaram as bandas vibracionais do grupamento OH⁻ para a hidroxiapatita.

O estudo da morfologia mostrou a influência do meio ambiente na modificação da superfície dos fragmentos de cristais dos biocimentos, devido à presença de umidade na atmosfera, mostrando o potencial de hidratação do biocimento.

REFERÊNCIAS

- (1) CAMARGO, N.H.A, DELIMA, S. A., GEMELLI, E. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite/TiO₂n Nanocomposites for Bone Tissue Regeneration. **American Journal of Biomedical Engineering**, vol.2, n.2, (2012) p. 41-47.
- (2) LILLEY, K. J.; GBURECK, U.; WRIGHT, A. J.; FARRAR, D. F.; BARRALET, J. E. Cement from nanocrystalline hydroxyapatite: Effect of calcium phosphate ratio. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 16 (2005) p. 1185 – 1190.
- (3) VERRON, E.; BOULER, J.M.; GUICHEUX, J. Controlling the biological function of calcium phosphate bone substitutes with drugs. **Acta Biomaterialia**, v. 8 (2012) p. 3541 – 3551.
- (4) GINEBRA, Maria-Pau; TRAYKOVA, Tania; PLANELL, Josep A. Calcium phosphate cements: Competitive drug carriers for the musculoskeletal system. **Biomaterials**, v. 27 (2006) p. 2171 – 2177.
- (5) DOROZHKIN, Sergey V. Calcium orthophosphate cements for biomedical application. **Journal of Materials Science**. 9, vol. 43 (2008).
- (6) NEIRA, I. S. *et. al.* Rational synthesis of a nanocrystalline calcium phosphate cement exhibiting rapid conversion to hydroxyapatite. **Materials Science and Engineering C**. 29 (2009) p. 2124–2132.
- (7) FRANCAZAK, P. F., CAMARGO, N. H. A., CORREA, P., GEMELLI, E. Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio hidratados: precursores para obtenção de biocimentos In: **57º Congresso Brasileiro de Cerâmica e 5º**

Congresso Iberoamericano de Cerâmica, Natal, RN, 2013. Anais... São Paulo, ABC, 2013, p.2887- 2895.

(8) BEHNAMGHADER, A; BAGHERI, N; RAISSI, B; MOZTARZADEH, F. Phase development and sintering behaviour of biphasic HA-TCP calcium phosphate materials prepared from hydroxyapatite and bioactive glass. **Journal of Material Science: Material Medic.** v. 19, p.197–201. 2008.

(9) SILVA, R.F. Estudo de Caracterização de Pós Nanoestruturados de Fosfato de Cálcio e Nanocompósitos Fosfato de cálcio/SiO₂n para Aplicações Biomédicas. **Dissertação de Mestrado** - UDESC/Joinville (2007), 96 p.

(10) SUNG, Y. M. et al. Crystallization and sintering characteristics of chemically precipitated hydroxyapatite nanopowder. **Journal of Crystal Growth**, 262 (2004) 467–472.

(11) CIMDINA, L. B.; BORODAJENKO, N. Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Infrared Spectroscopy - **Materials Science, Engineering and Technology**. Prof. Theophanides Theophile (2012). (Ed.), ISBN: 978-953-51-0537-4, InTech. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/infrared-spectroscopy-materials-science-engineering-andtechnology/research-of-calcium-phosphates-using-fourier-transformation-infrared-spectroscopy>.

(12) RAYNAUD, S.; CHAMPION, E., BERNACHE-ASSOLLANT, D., THOMAS, P. “Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, Characterization and thermal stability of powders.” **Biomaterials**, vol. 23 (2002) p. 1005-1072.

(13) DESTAINVILLE A., CHAMPION E., BERNACHE-ASSOLLANTE D., et al. Synthesis, characterization and thermal behavior of apatite tricalcium phosphate. **Materials Chemistry and Physics**, n. 80 (2003) p. 269 – 277.

(14) MOBASHERPOUR, I.; HESHAJIN, M. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. **Journal of Alloys and Compounds**, n. 430 (2007) p. 330 – 333.

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF CALCIUM PHOSPHATE BIOCEMENTS FOR BONE TISSUE REPAIR

Abstract.

The calcium phosphate biocements are biomaterials that have crystallographic structure similar to human skeleton and they are used for biomedical applications, particularly for repairing bone defects, in bone reconstruction and attachment of implants. They are promising in biomedical applications for their easy molding, good wettability, hydration and hardening ability during its application in biological means. The interest in calcium phosphate biocements is associated with their properties of bioactivity, biocompatibility and crystallographic structure, similarly to bone apatite. This study aimed at the preparation and characterization of three calcium phosphate biocements at ratios Ca/P = 1.5, 1.6 and 1.67 molar. The investigations were performed using X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscopy (SEM) and Fourier Transformed Infrared Spectroscopy (FTIR). Crystal coalescence and vibrational bands transmittance reduction in PO_4^{3-} grouping, characteristics of calcium phosphate biocements, were found in the results obtained for the different compositions.

Key-words: biocements, calcium phosphates, characterization.