



UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE RIETVELD NA ANÁLISE QUANTITATIVA DE FASES OBTIDAS NA SÍNTESE DA HÁ COM ADIÇÃO DO Mg^{2+}

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 estrutura cristalina da HA permite substituições catiônicas que podem alterar a cristalinidade e o parâmetro de rede do material. O Mg^{2+} é um dos principais íons utilizados para substituir o íon Ca^{2+} em apatitas biológicas. O aumento da concentração de Mg^{2+} na HA favorece a diminuição na cristalinidade, o aumento na incorporação do HPO_4^{2-} e o aumento no grau de dissolução na estrutura. Neste trabalho, foram sintetizados pós de HA pelo método da neutralização, com velocidade de adição do H_3PO_4 de 8mL/min no $Ca(OH)_2$. Diferentes concentrações de Mg (0,0; 0,24; 0,36; 0,41 e 0,49% em massa) foram utilizadas. Os pós calcinados a 800°C/3h foram caracterizados por DRX, FTIR, IV, BET, MET. A quantificação das fases, parâmetro de rede e volume da célula unitária foram avaliados pelo método de Rietveld. Para adições acima de 0,36% em massa de Mg^{2+} , a fase whitlockite é observada.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, Mg^{2+} , Rietveld.

INTRODUÇÃO

A Hidroxiapatita é um biomaterial com excelente biotatividade e biocompatibilidade com os tecidos ósseos. Sua estrutura permite substituições catiônicas e aniônicas isomorfas com facilidade tendo em vista que o componente majoritário dos tecidos biológicos como dentes, ossos e alguns esqueletos de invertebrados contêm inúmeras substâncias inorgânicas⁽¹⁾: o Ca^{2+} , por exemplo, pode ser substituído por Mg^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , etc; os grupos PO_4^{3-} por carbonatos e vanadatos e as hidroxilas por carbonatos, flúor e cloro. Estas



substituições podem alterar a cristalinidade, a morfologia, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a estabilidade, a bioatividade, biocompatibilidade, solubilidade e propriedades de adsorção da estrutura da hidroxiapatita ^(2,3,4).

A adição do magnésio na fase apatita é de grande interesse devido a seu significativo impacto no processo de mineralização e também sua influência na formação e crescimento de cristais ⁽⁵⁾. Outro aspecto relevante é que pode-se obter materiais com características específicas mimetizando a apatita biológica, a qual não é estequiométrica e contém imperfeições estruturais e defeitos bem como íons hospedeiros ⁽⁴⁾. Em tecidos calcificados, a quantidade de Mg^{2+} associada à fase apatita é maior no início do processo de remodelação óssea e diminui à medida que a calcificação aumenta ^(1,6). Além disso, o magnésio inibe a cristalização da apatita em solução, desestabiliza a estrutura da HA e favorece sua conversão térmica dentro do β -TCP ^(5,7). A quantidade de Mg^{2+} pode variar de acordo com a aplicabilidade do material, sendo apenas necessário controlar o nível substitucional entre Ca^{2+} e Mg^{2+} durante a síntese ⁽⁸⁾. 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 ^(2,9). Entretanto, a incorporação de Mg^{2+} na HA é limitada (máximo de 0,4% em massa de Mg) a não ser que outros íons, como carbonatos ou fluoretos sejam simultaneamente incorporados como par de substituições ^(1,9). Por outro lado, estudos vêm mostrando que a substituição total do Mg na HA tem efeito tóxico ⁽⁸⁾.

Tendo em vista a necessidade de se obter pós nanométricos e com características similares ao osso, o objetivo deste trabalho foi sintetizar pós de HA com diferentes concentrações de Mg em massa pelo método de neutralização mantendo a razão molar $(Ca + Mg)/P = 1,67$.

EXPERIMENTAL

A síntese para a obtenção da hidroxiapatita foi realizada pelo método de neutralização utilizando 0,3M H_3PO_4 , 0,5M $Ca(OH)_2$ e 0,5M $Mg(OH)_2$ como precursores. As composições químicas foram fixadas $Ca_{(10-x)}Mg_x(PO_4)_6(OH)_2$ quando $x = 0,0, 0,1; 0,15; 0,17$ e $0,2$ o que corresponde a 0,0; 0,24; 0,36; 0,41 e 0,49% em massa de Mg^{2+} respectivamente mantendo a relação $(Ca+Mg)/P = 1,67$ (Tabela I).

Tabela I - Composição química utilizada na síntese da HA

Amostra	%Mg	Composição Química
HA8	-	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Mg0,24	0.24	$\text{Ca}_{9,9}\text{Mg}_{0,1}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Mg0,36	0.36	$\text{Ca}_{9,85}\text{Mg}_{0,15}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Mg0,41	0.41	$\text{Ca}_{9,83}\text{Mg}_{0,17}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Mg0,49	0.49	$\text{Ca}_{9,9}\text{Mg}_{0,2}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$

Para a preparação das suspensões e soluções foi utilizada água destilada previamente fervida. A suspensão de hidróxido de cálcio foi preparada em becker e submetida a agitação constante. A suspensão de $\text{Mg}(\text{OH})_2$ foi adicionada no mesmo becker e após um período de ~10 min iniciou-se a adição de H_3PO_4 a uma velocidade de adição de $8,0 \text{ mL/min}^{(10)}$. Durante todo o experimento o pH das suspensões foi monitorado por um pHmetro DM-20 DIGIMED (Figura 1).

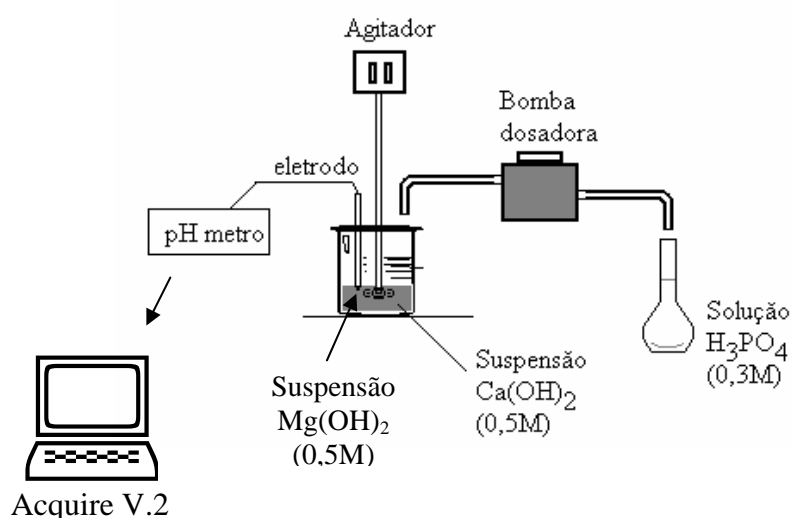


Figura 1 - Sistema utilizado durante a síntese da HA

Após a reação, obteve-se um precipitado o qual foi deixado em digestão por 24 horas à temperatura ambiente para que ocorresse o crescimento do cristal. O monitoramento do pH também foi verificado nesta etapa para observar o que ocorre durante o período de crescimento do cristal. Os precipitados foram filtrados em funil de buckner, lavados e secos a $60 \text{ }^\circ\text{C}/24\text{h}$ em estufa.



O material calcinado a 800°C/3h foi caracterizado por DRX (Rigaku, modelo Multiflex, $Cu\alpha$ ($\lambda=0,1542nm$)) e as fases obtidas quantificadas 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).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Análise de DRX para os pós precipitados sintetizados em diferentes composições indicou a presença da fase HA ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) quando comparada com os dados cristalográficos da ficha JCPDS 9-432 (Figura 2). Observa-se um alargamento dos picos de difração atribuídos à baixa cristalinidade do pó precipitado. Nenhuma modificação estrutural foi observada quando o magnésio foi incorporado ao material. As análise de DRX dos pós precipitados com e sem magnésio podem resultar em padrões de difração análogos ao da HA⁽⁵⁾.

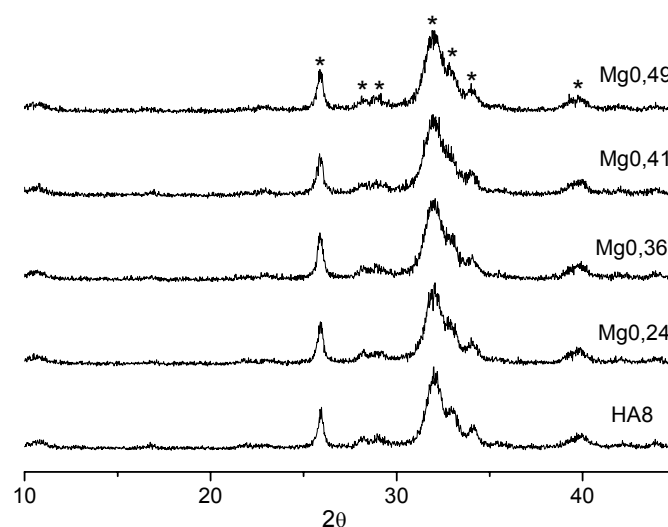


Figura 2 - Difração de raios X dos pós precipitados

O tratamento térmico destes precipitados a 800°C durante 3 horas levou ao aumento da cristalinidade da fase HA para as amostras em estudo. Uma segunda fase Whitlockite (JCPDS 9-169) foi observada quando 0,41% de Mg em massa foi adicionado à estrutura, ou seja, quando o limite de substituição do Mg^{2+} foi ultrapassado (Figura 3). Resultados similares foram obtidos por Bertoni et al (1998), Kim et al (2003) e Suchanek et al (2004) que sintetizaram pós de HA variando a quantidade de Mg^{2+} em 0,5 a 1,0% em massa, por diferentes rotas, e observaram a formação das fases HA e Whitlockite em todas as composições^(1,7,8).

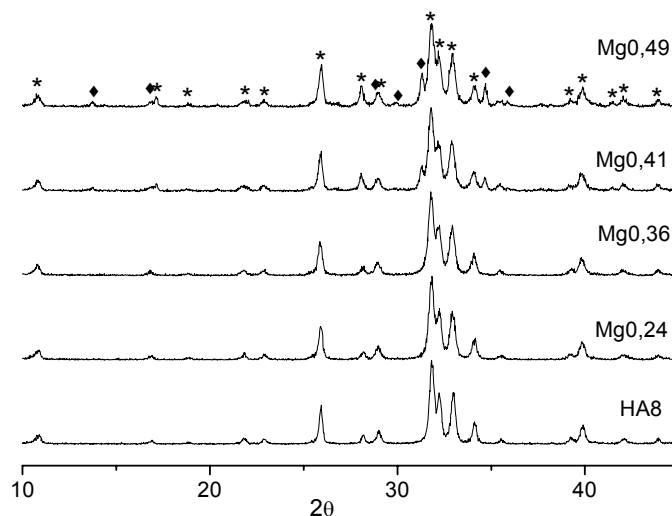


Figura 3 - Difração de raios X para os pós calcinados a 800°C/3h. (*) HA, (◆) fase whitlockite

Para quantificar as fases presentes nas diferentes composições, utilizou-se o refinamento pelo método de Rietveld (Tabela II). Os valores obtidos estão de acordo com os padrões de DRX. HA8 apresentou 100% da fase apatita hexagonal. A completa substituição do Mg^{2+} pelo Ca^{2+} foi observada nas composições Mg0,24 e Mg0,36 favorecendo a formação de 100% da fase HA. Os resultados obtidos indicam que houve a formação de uma solução sólida⁽¹¹⁾. Um aumento na concentração de Mg^{2+} ($\geq 0,41\%$ em massa) favoreceu a formação da fase whitlockite. À medida que a quantidade de magnésio foi adicionada na estrutura, a porcentagem da fase whitlockite aumentou. Este aumento pode estar relacionado ao limite máximo de substituição do Mg^{2+} dentro da rede da HA. Em todas as composições não se observou variações no parâmetro de rede e no volume da célula unitária.



Tabela II - Porcentagem de fase formada, parâmetro de rede e volume da célula para as diferentes composições calcinadas a 800°C/3h

Amostras	Fase	% de fase formada	Parâmetros de rede (Å)		Vol. da célula unitária (Å ³)
			a = b	c	
HA8	HA	100,0	9,4184±0,0004	6,8872±0,0003	529,1±0,1
Mg0,24	HA	100,0	9,4282±0,0002	6,8876±0,0001	530,2±0,1
Mg0,36	HA	100,0	9,4216±0,0003	6,8816±0,0002	529,9±0,1
Mg0,41	HA	86,0±0,5	9,4269±0,0004	6,8857±0,0002	529,9±0,1
	W	14,0±0,5	10,3497±0,0003	37,1259±0,0001	3444,0±0,1
Mg0,49	HA	82,7±0,4	9,4220±0,0002	6,8817±0,0001	529,1±0,1
	W	17,3±0,3	10,3554±0,0001	37,1486±0,0001	3449,9±0,1

A identificação das bandas correspondentes aos grupos funcionais foi avaliada por meio da técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Os resultados de IV para os pós calcinados a 800°C/3h apresentaram bandas características correspondentes aos fosfatos de cálcio (Figura 4)^(10,12).

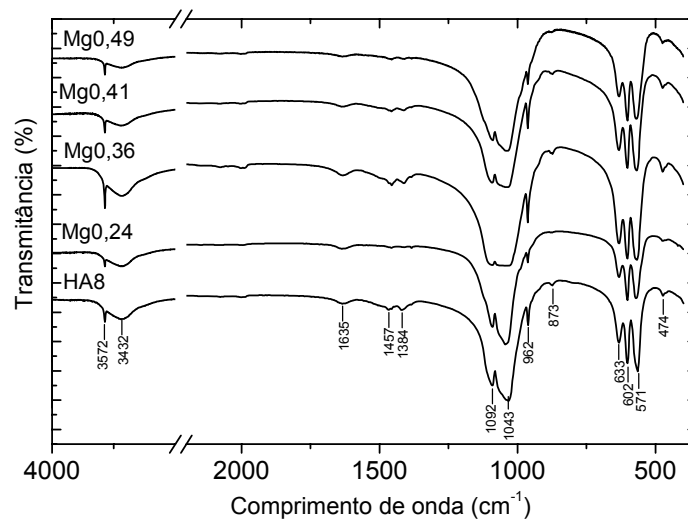


Figura 4 - Espectro de infravermelho das amostras calcinadas a 800°C/3h

As bandas em 474, 571, 602, 962, 1043 e 1092 cm⁻¹ foram atribuídas ao grupo PO₄³⁻. A 633 e 3572 cm⁻¹ correspondem ao estiramento do grupo OH⁻ e em 3572 e 1635 cm⁻¹ à água adsorvida ou estrutural. Observa-se ainda bandas em 873, 1384 e 1457 cm⁻¹ atribuídas ao íon carbonato (CO₃²⁻). Alguns autores atribuem a banda em



873 cm^{-1} ao íon hidrogenofosfato e não ao íon carbonato. Contudo, como foi observado na literatura, o aparecimento de bandas nas regiões de 1384 e 1457 cm^{-1} confirma que a banda em 873 cm^{-1} é característica do grupo CO_3^{2-} (8,12).

Análise química dos pós calcinados a 800°C/3h apresentou razão (Ca+Mg)/P superior a 1,67 referente a HA teórica para a amostra HA8 e, valores inferiores para as composições com Mg^{2+} . É importante ressaltar que o hidróxido de cálcio utilizado durante a síntese, contém uma pequena fração de $\text{Mg}(\text{OH})_2$. De acordo com os resultados da Tabela III, a amostra HÁ8 contém uma pequena fração de Mg^{2+} em mols. Um aumento no número de mols de Mg é observado quando a quantidade de Mg^{2+} é adicionada na estrutura. A razão (Ca+Mg)/P para as amostras variou de 1,78 a 1,58. Observa-se uma redução na razão (Ca+Mg)/P à medida que a concentração de Mg^{2+} aumenta favorecendo a formação de uma HA deficiente em cálcio⁽⁵⁾. Esta redução pode estar relacionada à formação da fase whitlockite (Tabela III).

Tabela III Razão molar (Ca+Mg)/P e área de superfície específicas para as diferentes composições calcinadas a 800°C/3h.

Amostras	Nº mols calculado			Nº mols após calcinação (800°C/3h)			(Ca+Mg)/P 800°C/3h	BET (m^2/g) 800°C/3h
	Ca	P	Mg	Ca	P	Mg		
HA8	10	6	0	9,86	5,57	0,05	1,77±0,03	31,64±0,14
HAMg0,24	9,9	6	0,1	9,78	6,12	0,16	1,62±0,04	20,57±0,11
HAMg0,36	9,85	6	0,15	9,89	6,23	0,20	1,62±0,07	22,46±0,14
HAMg0,41	9,83	6	0,17	9,82	6,23	0,23	1,61±0,08	18,71±0,13
HAMg0,49	9,8	6	0,2	10,03	6,50	0,26	1,58±0,05	19,25±0,07

A morfologia dos pós calcinados a 800°C durante 3 horas foi avaliada por microscopia eletrônica de transmissão (MET). Pós nanométricos são observados em todas as micrografias. Observa-se que as partículas encontram-se aglomeradas. A adição do Mg^{2+} na estrutura aumentou o estado de aglomeração dos pós. Estes resultados estão coerentes com os resultados de BET onde foi observada uma redução na área de superfície específica com a adição do Mg quando comparado com HA8 (Tabela III). Pela microscopia eletrônica de transmissão não foi possível identificar a fase whitlockite.

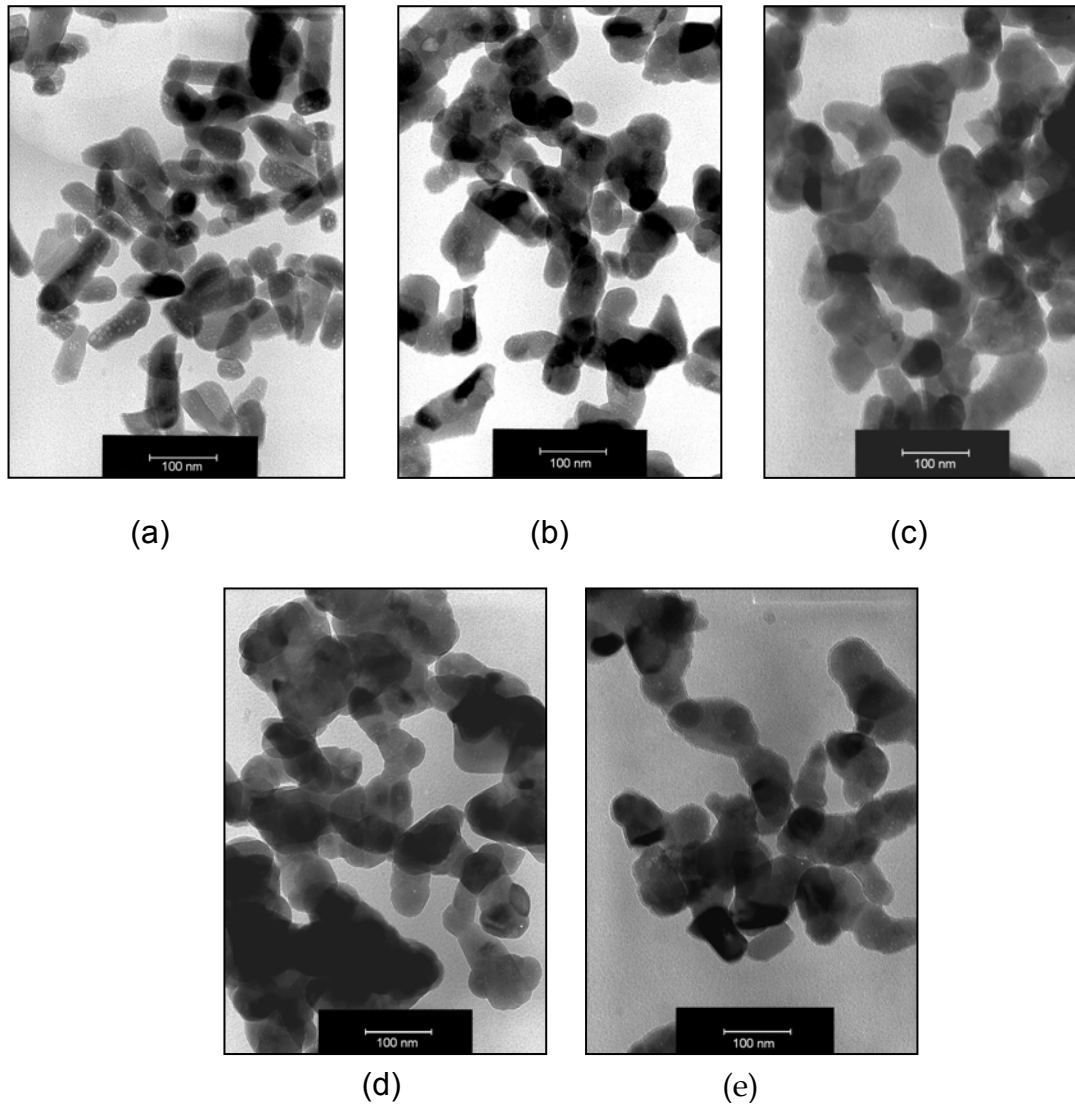


Figura 5 Micrografia das amostras calcinadas a 800°C/3h. Sendo (a) HA8, (b) Mg0,24, (c) Mg0,36, (d) Mg0,41 e (e) Mg0,49

CONCLUSÕES

Pós nanométricos de HA foram obtidos pelo método de neutralização. A adição do Mg^{2+} refletiu na quantidade de fases obtidas. O método de Rietveld foi efetivo para comprovar o limite de incorporação do magnésio na estrutura da HA. É possível incorporar 0,36% em massa de Mg^{2+} HA sem que haja formação de outras fases. Há uma diminuição na área de superfície e da razão $(Ca+Mg)/P$ dos pós, em comparação a HA8, quando o magnésio é adicionado. Com adição de 0,41% em massa de Mg^{2+} a fase whitlockite foi observada. Este resultado comprova o limite de incorporação de até 0,4 % em massa de Mg^{2+} , como observado na literatura.



AGRADECIMENTOS

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

REFERENCIA

1. 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.
2. L.L. Hench, J. Wilson, *Introduction to Bioceramics*. World Scientific Publishing Co., 1ed, 1993.
3. E. Mavropoulos, *A Hidroxiapatita como Absorvedor de Metais*. Dissertação de Mestrado, Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 1999. 105 p.
4. L. Bertinetti, A. Tampieri, E. Landi, G. Martra, S. Coluccia, *Journal of European Ceramic Society* 26 (2006) 987-991.
5. S. Kannan, I.A.F. Lemos, J.H.G. Rocha, J.M.F. Ferreira, *Journal of Solid State Chemistry* 178 (2005) 3190-3196
6. A. Bandyopadhyay, S. Bernard, W. Xue, S. Bose, *J. Amer. Ceram. Society* 89, (9) (2006) 2675-2688.
7. E. Bertoni, A. Bigi, G. Cojazzi, M. Gandolfi, S. Panzavolta, N. Roveri, *Journal of Inorganic Biochemistry* 72 (1998) 29-35.
8. W.L. Suchanek, K. Byrappa, P. Shuk, R.E. Riman, V.F. Janas, K.S. Ten-Huisen, *Biomaterials* 25 (2004) 4647–4657.
9. 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.
10. D.S. Gouveia, A.H.A. Bressiani, J.C. Bressiani, *Materials Science Forum*, 530-531 (2006) 593-598.
11. W. D. Callister, *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução* 5^o edição, Edit. LTC. Rio de Janeiro 2000.
12. A. Slosarczyk, C. Paluszkiewicz, M. Gawlicki, Z. Paszkiewicz, *Ceramics International* 23 (1997) 297-304.



PHASE CHARACTERIZATION USING THE RIETVELD METHOD IN HA AND Mg²⁺- HA CERAMICS PRODUCED BY NEUTRALIZATION SYNTHESIS

ABSTRACT

Hydroxyapatite is the structural model for the inorganic bone tissue and its lattice can accommodate cationic substituents inducing modifications of the crystallinity and lattice parameters. Among substituting cations, Mg²⁺ is widely used as substitute of Ca²⁺ on biological apatite. Incorporation of Mg²⁺ into hydroxyapatite structure inhibits apatite crystallization in solution and destabilizes the structure of hydroxyapatite. In this work, hydroxyapatite powders were synthesis by neutralization method. The addition rate of H₃PO₄ into Ca(OH)₂ was 8mL/min. During synthesis, different amounts of Mg (0,0; 0,24; 0,36; 0,41 and 0,49 wt %) was added. Calcined powders at 800°C/3h were characterized by XRD, FTIR, IR, BET and TEM. Quantitative analyses were performed using Rietveld method. For additions higher than 0,36wt% of Mg²⁺, the whitlockite phase was observed.

Key-words: Hydroxyapatite, Mg², Rietveld