

# SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARCIALMENTE SUBSTITUÍDA POR SÍLICA BIOMINERALIZADA\*

Suzana Barreto Noronha Ribeiro<sup>1</sup>  
Iago José Vitral Rezende Lopes<sup>2</sup>  
Wendell Bruno Almeida Bezerra<sup>3</sup>  
Valdir Florencio da Veiga Junior<sup>4</sup>  
Marcelo Henrique Prado da Silva<sup>5</sup>

## Resumo

As hidroxiapatitas sintéticas possuem diversas aplicações em cirurgias de reparo ósseo. Esse trabalho propôs a adição de diferentes frações de sílica, proveniente de esponjas de água doce da região amazônica, à hidroxiapatita. As esponjas foram calcinadas e a sílica obtida foi adicionada à hidroxiapatita. Pastilhas de hidroxiapatita pura e hidroxiapatita reforçada com sílica foram conformadas por prensagem uniaxial, e sinterizadas a 1100°C durante 1h. Os corpos cerâmicos foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS) e difração de raios X (DRX). Os resultados indicaram a decomposição térmica da hidroxiapatita em fosfato tricálcico, para as amostras compósitas, enquanto que as amostras de hidroxiapatita pura apresentaram a hidroxiapatita como fase majoritária.

**Palavras-chave:** Caracterização; Hidroxiapatita; Sílica; Esponja de água doce.

## SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF PARTIALLY REPLACED HYDROXIAPATITA BY BIOMINERALIZED SILICON

### Abstract

Synthetic hydroxyapatites are currently a potential alternative for bone regeneration, reconstitution and reintegration. This work proposed the addition of two different percentages of silica from the freshwater sponge from the Amazon region to hydroxyapatite. The sponges were calcined and the silica powders obtained were added to the hydroxyapatite and were pressed to produce pellets. The pellets were sintered and characterized by scanning electron microscopy (SEM), X-ray diffraction (EDS) spectroscopy, X-ray diffraction (XRD). The results showed the occurrence of partial substitution and degradation in biologically more stable phases favoring the process of reabsorption and growth in biological medium.

**Keywords:** Characterization; Hydroxyapatite; Silica; Freshwater Sponge.

<sup>1</sup> Engenharia de Materiais, Doutoranda em Ciência dos Materiais, IME – Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>2</sup> Engenharia Mecânica, Mestrando em Ciência dos Materiais – IME – Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>3</sup> Engenharia de Materiais, Mestrando em Ciência dos Materiais, IME – Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>4</sup> D. Sc. Em Química, Programa de Pós Graduação em Química, IME – Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

<sup>5</sup> D. Sc em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Programa de Pós Graduação em Ciência dos Materiais, IME – Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio, 80, 22290-270, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

## 1 INTRODUÇÃO

Os biomateriais são compostos naturais ou sintéticos capazes de substituir parcial ou completamente órgãos ou funções do corpo humano. As pesquisas em materiais à base de hidroxiapatita vêm se destacando por apresentarem resultados promissores no reparo de defeitos ósseos e na utilização como recobrimentos de implantes metálicos, permitindo a ligação química da superfície do biomaterial com o osso. Dessa forma, os biomateriais cerâmicos, ou biocerâmicas, encontram aplicações em tratamentos traumatológicos na regeneração, cicatrização e reconstituição óssea. A composição química do material obtido influenciará diretamente sua capacidade de interação com o organismo hospedeiro [1]. Além disso também é válido analisar o processo de osteocondutividade, ou seja, a capacidade de condução do crescimento do novo osso sobre a superfície do biomaterial [2].

A hidroxiapatita,  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , é a biocerâmica mais utilizada como enxerto ósseo sintético por apresentar elevada bioatividade, ou seja, ser capaz de se ligar quimicamente ao osso. Adicionalmente, substituições iônicas alteram sua taxa de bio-reabsorção em meio biológico [3,4]. A adição de substituintes à hidroxiapatita provoca mudanças na sua morfologia, parâmetros de rede, tamanho de cristalito, densidade, além de provocar o surgimento de novas fases bioabsorvíveis, facilitando o processo de crescimento e regeneração óssea [5,6,7].

O dióxido de silício ou sílica, representada pela fórmula química  $\text{SiO}_2$ , tem sido bastante utilizado em sua forma amorfa em aplicações médicas e odontológicas, pois(,) a sua presença no meio biológico não apresenta toxicidade, inflamabilidade, irritabilidade, não provocando alergias e contribui para o seu bom desempenho, favorecendo a mineralização tecidual local. Isso está diretamente relacionado à facilidade da sílica formar pontes de OH em meios biológicos [8].

Por se tratar de fontes renováveis, a utilização de sílica proveniente de tais fontes contribui para a não escassez do material. A esponja de água doce, pode se reproduzir rapidamente em contato com redes pluviais, constituindo uma fonte de sílica inesgotável. As reações envolvendo grupos silicatos são muito rápidas, logo, em meio biológico, tende a favorecer o aumento da bioatividade dos materiais. Além disso, para que ocorra mineralização do tecido ósseo, é necessário que o meio biológico disponha de uma quantidade mínima de silício solúvel, fazendo-se necessário o estudo da utilização para aplicações em enxertos ósseos [9,10].

O objetivo desse trabalho concentrou-se na síntese e caracterização de pastilhas contendo pós de hidroxiapatita pura e hidroxiapatita reforçada com sílica biogênica, ou seja: sintetizada por organismos vivos. A sílica biogênica utilizada nesse estudo é proveniente de esponjas de água doce da espécie *Metania reticulata* da região Amazônica. Utilizou-se a concentração de 8 %pp.

As amostras foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS).

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a elaboração das pastilhas, obteve-se, primeiramente, o pó da hidroxiapatita a partir de três soluções. A primeira solução composta por 0,5M de hidróxido de cálcio ( $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ), a segunda de 1M de ácido láctico ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$ ) e a terceira de 0,3M de ácido fosfórico ( $\text{H}_2\text{PO}_4$ ), todas em água deionizada e preparadas sob agitação magnética, a uma rotação aproximada de 260rpm. As soluções foram deixadas sob agitação durante meia hora; a seguir, a segunda solução de ácido láctico foi adicionada à suspensão de hidróxido de cálcio, permanecendo a mistura sob agitação durante 1 hora. A solução de ácido fosfórico foi lentamente adicionada à mistura descrita anteriormente, por gotejamento, a uma taxa de 8ml por minuto, sob agitação.

A precipitação da HA a partir da solução precursora foi alcançada através da adição de 1M de hidróxido de sódio (NaOH) através do aumento do pH da solução para até o valor de  $\text{pH} = 12$ . A solução resultante foi deixada por 24 horas para envelhecimento dos precipitados. Após essa etapa, iniciou-se o processo de filtração, sob um sistema de vácuo. A filtração e re-suspensão dos precipitados foi realizada adicionando-se água deionizada em abundância, para retirada da base forte (NaOH), afim de se obter um valor de  $\text{pH} = 7,4$ . Após essa etapa, o material retido no filtro foi posto em estufa por 12 horas a  $60^\circ\text{C}$  e desagregação do pó foi realizada em almofariz e peneira, obtendo-se o pó de HA. Os pós da HA verde foram prensados em prensa hidráulica uniaxial. Utilizaram-se, 2g de pó em um molde de 12mm de diâmetro e carga de duas toneladas. As pastilhas foram sinterizadas em forno Jung à temperatura de  $1100^\circ\text{C}$  por 1h.

Para produção das pastilhas compósitas, as esponjas de água doce passaram por processo de lavagem, utilizando água deionizada, e após isso foram calcinadas a  $550^\circ\text{C}$  para eliminação de todo material orgânico. A pasta foi produzida, de acordo com a Tabela 1, onde os pós de HA verde e de sílica, proveniente da esponja de água doce, foram misturados em solução contendo água e polietilenoglicol (PEG) agindo como ligante, em agitação durante meia hora. Após isso a pasta foi colocada em estufa por 24 horas e passou por processo de cominuição, utilizando almofariz. Para a produção das pastilhas, utilizaram-se 2g do pó proveniente da pasta seca e desagregada, em um molde de 12mm de diâmetro e carga de duas toneladas. As pastilhas foram sinterizadas a  $1100^\circ\text{C}$  em forno Jung durante 1 hora.

**Tabela 1.** Composição das pastilhas cerâmicas

AMOSTRAS	HA	Si	PEG	ÁGUA
HA-Si 8%	19,166g	1,6672g	0,3237ml	25ml

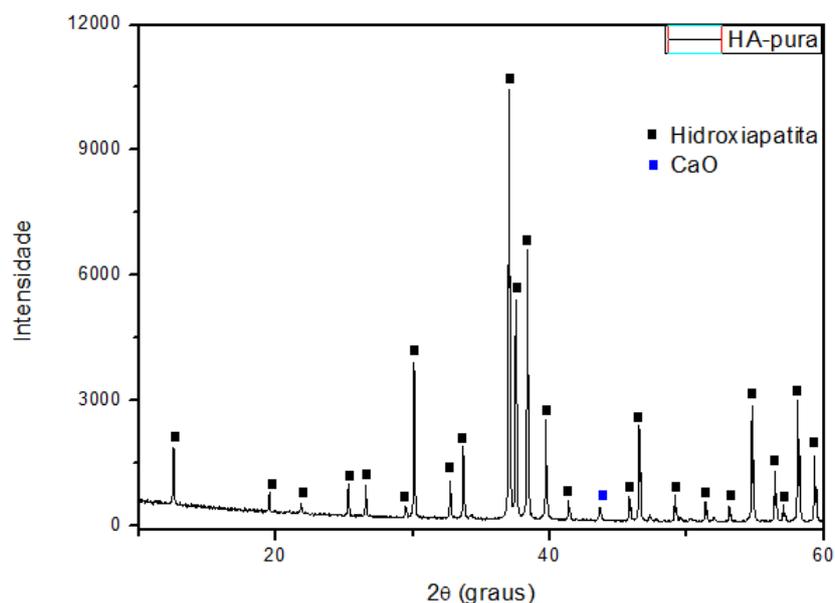
Fonte: autoria própria.

As fases presentes nas amostras foram identificadas pela técnica de difração de raios X (DRX). A morfologia das amostras foi analisada por microscopia

eletrônica de varredura (MEV), enquanto a composição química qualitativa foi avaliada por espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS).

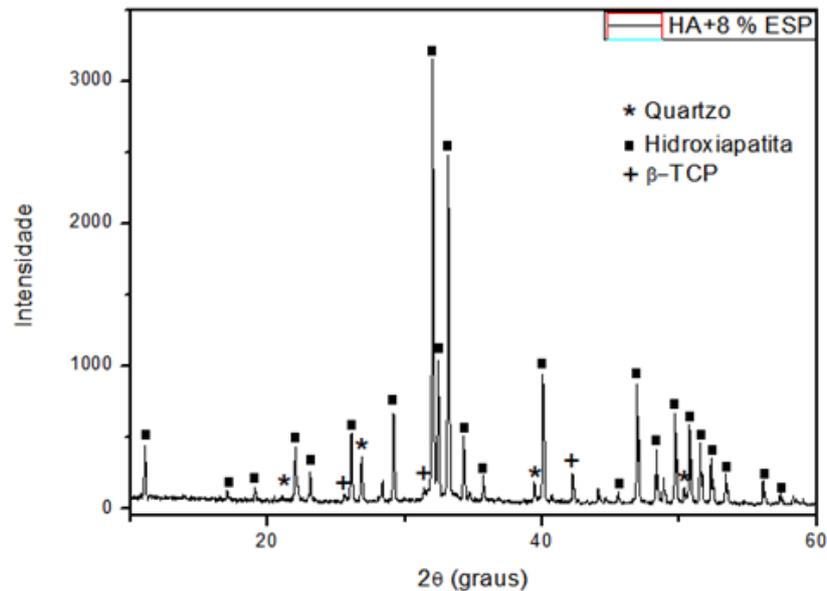
### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os difratogramas a seguir apresentam os padrões de difração das pastilhas de hidroxiapatita pura e dos compósitos contendo hidroxiapatita e sílica, proveniente da esponja de água doce. A Figura 1 corresponde à pastilha de HA pura, onde observou-se a presença de hidroxiapatita e uma pequena fração de óxido de cálcio, de acordo com o padrão difratométrico compatível com as fichas JCPDS 09-0432 e JCPDS 96-900-8606, respectivamente.



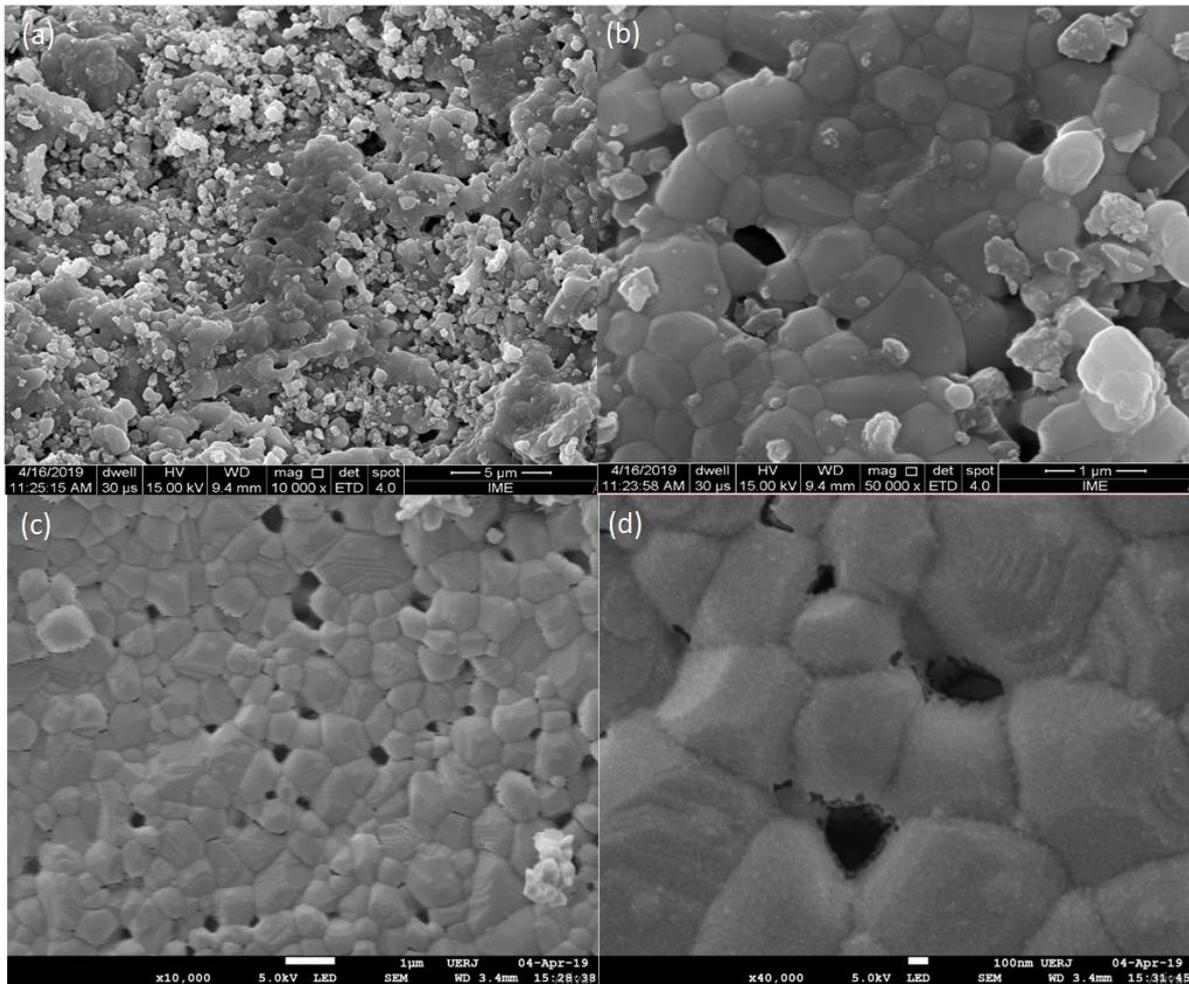
**Figura 1.** Difratograma da amostra de HA-pura, sinterizada a 1100°C.

A Figura 2 corresponde à amostra HA-Si 8%. O difratograma apresentou a presença das fases hidroxiapatita (JCPDS 09-0432), quartzo (JCPDS 46-1045), e  $\beta$ -TCP (JCPDS 09-0169). A hidroxiapatita foi a fase majoritária, entretanto, a adição da sílica à HA provocou a decomposição de parte dessa HA em uma nova fase mais reabsorvível e solúvel, que é a fase  $\beta$ -TCP (JCPDS 09-0169). De acordo com a literatura [14-17], algumas substituições iônicas causam deformações na rede da hidroxiapatita, e isso se reflete em menor estabilidade térmica em relação à hidroxiapatita pura e estequiométrica e cristalina, sendo, portanto, indício que houve substituição na estrutura da hidroxiapatita. A presença da fase quartzo indica que houve excesso de sílica adicionada.



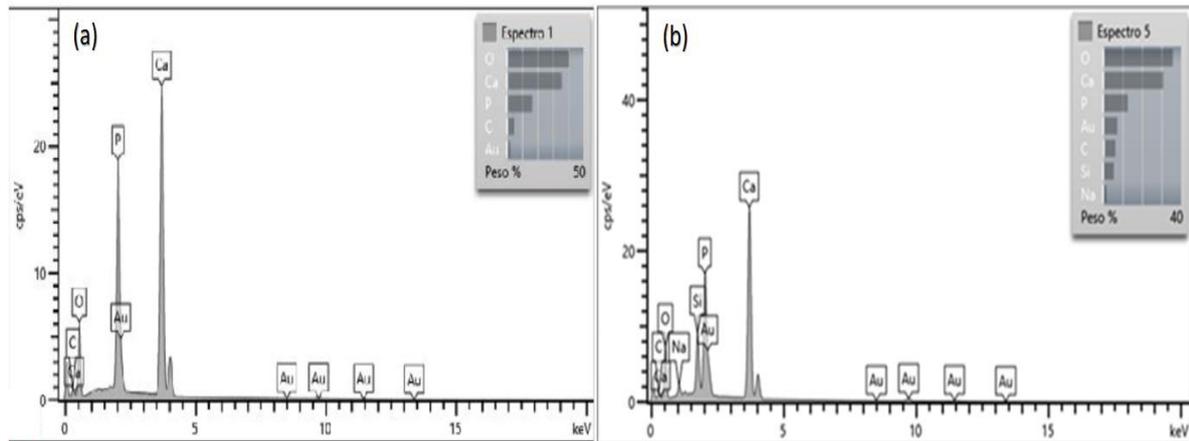
**Figura 2.** Difratoograma da amostra HA-Si 8%, sinterizada a 1100°C.

Na Figura 3 são apresentadas as micrografias das amostras de HA-pura e HA-Si 8% com aumentos diferentes, correspondentes a (a) e (c) 10.000x e (b) 50.000x e (d) 40.000x. Em relação à densificação, não foi constatada uma variação considerável relacionada à adição da sílica à HA. Observou-se a presença de uma fase nos contornos dos grãos Figuras 3 (c) e (d), corroborando os resultados de difração de raios X, que indicaram a presença de β-TCP e quartzo.



**Figura 3.** Micrografia eletrônica de varredura das pastilhas de HA-pura em um aumento de (a) 10.000x e (b) 50.000x e de HA-Si 8% em um aumento de (c) 10.000x e (d) 40.000x.

A espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS) permitiu uma análise semi-quantitativa dos elementos presentes nas pastilhas das amostras analisadas. Na Figura 4(a), observa-se a presença de elementos componentes da hidroxiapatita: cálcio (Ca), fósforo (P) e oxigênio (O). A presença do ouro (Au) é proveniente do recobrimento. A análise por EDS da amostra 8%Si-HA representada pelo espectro mostrado na Figura 4(b), indicou a presença do elemento silício (Si) além dos outros elementos já observados na Figura 4(a). A presença da fase quartzo na amostra 8%Si-HA foi, portanto, corroborada pela análise de EDS, acusando a presença de silício nas amostras.



**Figura 4.** EDS das amostras de (a) HA-pura e (b) HA-Si 8%, sinterizada a 1100°C.

### 3 CONCLUSÃO

As pastilhas de HA pura e HA com adição de sílica proveniente das esponjas de água doce foram comparadas. Após sinterização a 1100°C, observou-se a presença das fases  $\beta$ -TCP e quartzo nas amostras 8%Si-HA. A presença da fase  $\beta$ -TCP é extremamente desejável, uma vez que esta é mais solúvel em relação a hidroxiapatita em meio biológico.

As amostras compósitas são um material potencial para a produção de arcabouços para reparo ósseo.

### Agradecimentos

Os autores agradecem à Dra. Cecília Volkmer Ribeiro, pela identificação da espécie da esponja, ao IME, CEPTEL e UERJ pelos recursos utilizados para a realização deste trabalho, bem como ao financiamento pelo CNPq, CAPES e FAPERJ.

### REFERÊNCIAS

- 1 WILLIAMS, D.F.; The Williams Dictionary of biomaterials. Liverpool University Press, 1999. p.42
- 2 DOROZHUKIN S.V. A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950. Mater Sci Eng (2013a) C 33:3085–3110
- 3 PALARD, M.; CHAMPION, E.; FOUCAUD, S., 2008, Synthesis of silicated hydroxyapatite  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6-x(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$ , Journal of Solid State Chemistry, v. 181, n. 1950-1960.
- 4 LEGEROS, R.Z.; Calcium phosphate-based osteoinductive materials. Chem. Rev 2008;108: 4742–4753.
- 5 THIAN, E.S., HUANG, J., BEST, S.M., BARBER, Z.H., BONFIELD, W. Novel silicon-doped hydroxyapatite (Si-HA) for biomedical coatings: an in vitro study. Biomed Mater Res, 76B (2006), p. 326.
- 6 PRADO DA SILVA, M.H.; MOURA RAMIREZ, C.; GRANJEIRO, J. M.; ROSSI, A. M.; In Vitro assessment of new niobium phosphate glasses and glass ceramics; key Engineering Materials 2008, 361-363, 229.

- 7 THIAN, E.S., HUANG, J., BEST, S.M., BARBER, Z.H., BONFIELD, W. A new way of incorporating silicon of hydroxyapatite (Si-HA) as thin films. *Biomater*, 26 (2005), p. 2947.
  - 8 BELLINI, O.J. "Síntese e caracterização de uma matriz óssea de fosfato de cálcio e nanocompósitos de fosfato de cálcio/SiO<sub>2</sub>n par substituição e regeneração óssea." Dissertação de mestrado CCT/UEDESC, p.101, 2007.
  - 9 THIAN, 2005 e 2006; Estrutura de referência de artigo em meio eletrônico: Autor(es).
  - 10 HIJON, N., CABANAS M.V., PENA, J., VALLET-REGI, M. Nanocrystalline bioactive apatite coatings. *Acta Biomater*, 2 (2006), p. 567.
  - 11 REHMAN, I; SMITH, R; HENCH, L L; BONFIELD, W. Structural evaluation of human and sheep bone and comparison with synthetic hydroxyapatite by FT-Raman spectroscopy *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 29, n. 10, p.1287-94, 2005.
  - 12 POINERN, E.; BRUNDAVANAM, R. K.; LE, X. T.; FAWCETT, D., Thermal and effect of dilute gelatine on the ultrasonic of nanohydroxyapatite; *ultrason sonochem*, PMID: 21168355, 2012
- CHANDRASEKARAN, A.; SURESH S.; DAKSHANAMOORTHY A.. Synthesis and
- 13 characterization of nano-hydroxyapatite (n-HAP) using the wet chemical technique. *International Journal Of Physical Sciences*, 2013, 8(30), 1639-1645.
  - 14 HENCH, L. L.; WILSON, J.; Introduction to bioceramics. Word Scientific Publishing: Singapore, 1993, p.1-15.
  - 15 Wopenka B., Pasteris J.D.; A mineralogical perspective on the apatite in boné. *Mat Sci Eng C-Bio S*. 2005;25(2):131-143.
  - 16 LeGeros R.Z.; Biodegradation and vioreabsorption of calcium phosphate ceramics. *Clin Mater*. 1993; 14(1):65-88.
  - 17 Bohner M.; Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *Injury*. 2000;31 Suppl 4:37-47.