

## Influência dos íons $K^+$ e $Mg^{2+}$ na obtenção de apatitas biomiméticas

A. H. Aparecida, M. V. L. Fook, M. L. dos Santos, A. C. Guastaldi  
Instituto de Química, Unesp – Departamento de Físico-Química,  
Caixa Postal 355, 14801-970 Araraquara - SP

**Resumo:** O crescimento da hidroxiapatita - HA, tanto no meio biológico quanto em soluções aquosas como a Synthetic Body Fluid - SBF, ocorre em meio contendo, além dos elementos Ca e P, elementos-traços essenciais tais como:  $Mg^{2+}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ . Alguns destes elementos são conhecidos como inibidores do crescimento da HA, como  $Mg^{2+}$  e  $HCO_3^-$ . Neste trabalho, estudou-se a influência dos íons  $K^+$  e  $Mg^{2+}$  na formação de apatitas sobre substratos metálicos de Ti c.p. previamente tratados com NaOH 5M. Os efeitos destes íons no recobrimento obtidos, antes e após o tratamento térmico a  $800^\circ C$ , foram analisados por microscopia eletrônica de varredura - MEV, espectroscopia de energia dispersiva de raios-X - EDX, difratometria de raios-X - DRX e espectroscopia no infravermelho - IV e mostraram que o efeito inibitório do  $Mg^{2+}$  na formação da HA se manifesta após o tratamento térmico. Diferentemente, o crescimento cristalino da HA não foi afetado pela presença do íon  $K^+$ . Além disso, a formação de apatita carbonatada se deu também em soluções que não continham o íon  $CO_3^{2-}$  em sua composição.

*Palavras-chave:* apatitas biomiméticas; inibição da formação de HA; apatitas carbonatadas; magnésio; potássio.

### Introdução

Os biomateriais necessitam satisfazer simultaneamente vários requisitos, tais como: não-toxicidade, resistência à corrosão, condutividade térmica e biocompatibilidade. Contudo, uma única composição com uma estrutura uniforme não pode satisfazer todos estes requisitos [1]. Uma alternativa para o cumprimento simultâneo destes requisitos é a obtenção de materiais compósitos, combinando as propriedades mecânicas e físicas dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a propriedade biológica das biocerâmicas. A preparação e modificação de superfícies com recobrimentos, buscando a formação de compósitos de superfícies, tem despertado o interesse em explorar o potencial de métodos simples, que utilizam soluções aquosas e baixa temperatura ( $<100^\circ C$ ) [2].

Dentre as técnicas de recobrimento o método Biomimético vem se destacando entre os demais, pois mimetiza o processo biológico de formação de tecidos duros. Inicialmente proposto

por Kokubo et al. [3], utiliza uma solução denominada Synthetic Body Fluid - SBF de composição, temperatura e pH similares ao fluido corpóreo. Dentre as diversas vantagens apresentadas por este método, pode-se destacar a possibilidade de controle de espessura da camada, tamanho de grãos e diversidade de forma cristalina.

Além da hidroxiapatita - HA, que tem atraído a atenção de pesquisadores durante os últimos 30 anos devido à sua excelente biocompatibilidade e bioatividade [4], vários outros fosfatos de cálcio, tais como Fosfato octacálcico - OCP [ $Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$ ], Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado - DCPD [ $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$ ], Hidroxiapatita deficiente em cálcio, também denominado de Fosfato de Cálcio Amorfo - ACP [ $Ca_3(PO_4)_2 \cdot nH_2O$ ] e Fosfato tricálcico - TCP [ $Ca_3(PO_4)_2$ ], também ocorrem em tecidos calcificados, o que vem despertado interesse significativo nas possibilidades de utilização como biocerâmica [5].

Das fases de apatita citadas, a HA é a fase mais estável termodinamicamente no meio fisiológico. Lu et al., baseados na teoria clássica de cristalização e utilizando diferentes SBF, observaram que a velocidade de nucleação do OCP é substancialmente mais alta que da HA, porém a HA é termodinamicamente mais estável em SBF, e a velocidade de nucleação destas fases torna-se comparável em pH 10. Além disso, a precipitação da fase DCPD só é termodinamicamente possível com o aumento da concentração iônica de cálcio e fósforo na solução [6].

O crescimento da HA, tanto no meio biológico quanto em soluções aquosas, ocorre em meio contendo, além de íons cálcio e fósforo, elementos-traços essenciais tais como:  $Mg^{2+}$ ,  $HCO_3^-$ ,  $K^+$  e  $Na^+$ . Alguns destes elementos são conhecidos como inibidores do crescimento da HA, como  $Mg^{2+}$  e  $HCO_3^-$  [7-8]. Barrere et al., utilizando-

atmosférico. Para analisar o efeito dos íons  $K^+$  e  $Mg^{2+}$ , quatro diferentes SBF foram preparadas, com reagentes de grau analítico e água desmineralizada, como mostra a tabela 1.

As amostras foram mantidas em SBF a 37°C por 7 dias. Os recobrimentos obtidos foram analisados antes e após o tratamento térmico a 800°C utilizando-se as técnicas de microscopia eletrônica de varredura – MEV, realizada no microscópio JEOL-JSM, modelo T-330 A, acoplado a um EDX, difratometria de raios X – DRX, utilizando um difratômetro de raios X SIEMENS D5000 com varredura angular entre 10 e 70° com passo de 0,02 (2θ), sendo que o tempo de passo foi de 1,0 segundos para cada amostra, e espectroscopia no infravermelho – IV, com espectrômetro Perkin Elmer, FT-IR Spectrometer-Spectrum 2000 de reflectância difusa Drift Collector. As fases presentes foram comparadas com as fichas padrões do JCPDS [10].

	$Na^+$	$K^+$	$Mg^{2+}$	$Ca^{2+}$	$Cl^-$	$HPO_4^{2-}$	$SO_4^{2-}$	$HCO_3^-$
<b>SBF 0</b>	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	1.0	0.5	4.2
<b>SBF 1</b>	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	-	-
<b>SBF 2</b>	140.4	-	1.0	3.1	142.9	1.86	-	-
<b>SBF 3</b>	140.4	1.0	-	3.1	142.9	1.86	-	-

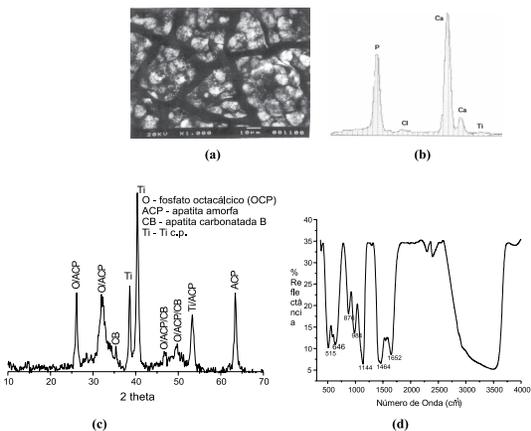
**Tabela 1:** Concentrações iônicas das soluções SBF utilizadas ( $mmol.dm^{-3}$ ).

se diferentes SBF, concluíram que  $Mg^{2+}$  possui efeito inibitório maior no crescimento da HA do que  $HCO_3^-$  [9].

O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito dos íons  $K^+$  e  $Mg^{2+}$  na formação de apatitas, particularmente da HA, em substratos metálicos de Ti c.p. previamente tratados com solução de NaOH 5M. Os recobrimentos obtidos foram submetidos a tratamento térmico à 800°C para analisar a evolução da cristalinidade e transformações das fases formadas.

## Materiais e métodos

Amostras de Ti c.p. foram lixadas com lixas d'água de granulometria 80 mesh, limpas em ultrassom por 15 minutos em mistura de acetona e álcool etílico e 15 minutos em água desmineralizada. Logo após, foram colocadas em solução de NaOH 5M por 24 horas em estufa a 60°C e, então, secas por 3 horas, também em estufa a 60°C, sem controle



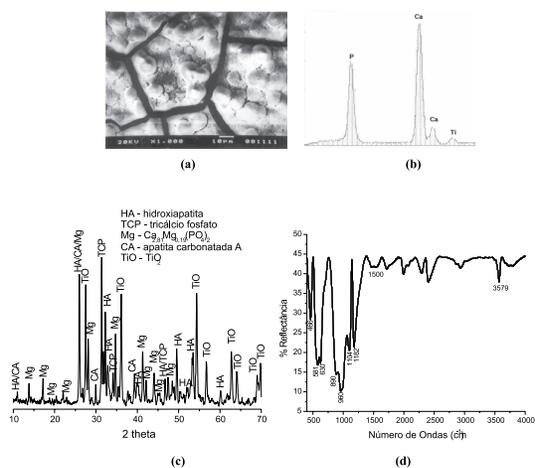
**Figura 1:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 0: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

## Resultados e discussão

### Recobrimento por SBF 0

Por imersão em SBF 0, obteve-se sobre a superfície do Ti c.p. um recobrimento compacto e de grãos esféricos com trincas de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . Por EDX nota-se que o recobrimento é composto somente pelos elementos Ca e P, numa razão Ca/P de 1,45. A caracterização por DRX mostrou que este recobrimento é composto por uma mistura de fases correspondentes a OCP e ACP. O espectro vibracional de IV mostrou bandas características de grupos  $\text{PO}_4$  em 387, 646, 984 e 1144  $\text{cm}^{-1}$  e P-OH em 515  $\text{cm}^{-1}$ . Além destas bandas, bandas características de apatita carbonatada do tipo B apareceram em 1464  $\text{cm}^{-1}$  além da banda em 876  $\text{cm}^{-1}$  que pode ser atribuída também ao grupo P-OH [9, 11-12], figura 1. Existem dois tipos de apatitas carbonatadas, as quais são sensíveis ao tipo de substituição do grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ : tipo A, que substitui os íons OH<sup>-</sup>, e tipo B que substitui os íons  $\text{PO}_4$  [13].

O tratamento térmico a 800°C não alterou significativamente a morfologia do recobrimento, contudo, a cristalização ocorrida levou à diminuição das trincas a aproximadamente 7  $\mu\text{m}$ . A presença dos elementos Ca e P passou a uma razão de 1,55. Por DRX observou-se que após o tratamento térmico o recobrimento passou a ser composto pela mistura de fases de HA, TCP e apatita carbonatada do tipo A. Além destas fases, foram identificados picos característicos do composto

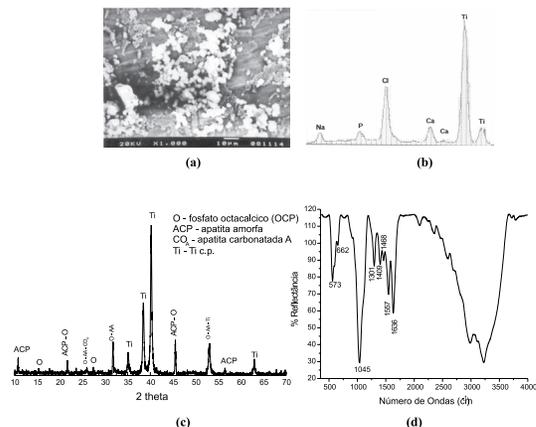


**Figura 2:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 0 e posterior tratamento térmico a 800°C: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

$\text{Ca}_{2,81}\text{Mg}_{0,19}(\text{PO}_4)_2$  e de  $\text{TiO}_2$ , este último devido à oxidação do Ti c.p. O espectro vibracional de IV mostrou além das bandas referentes aos grupos  $\text{PO}_4$  (em 466, 581, 960 e 1182  $\text{cm}^{-1}$ ) e P-OH (em 890 e 1104  $\text{cm}^{-1}$ ), bandas referentes à apatita carbonatada do tipo A [9, 11-12]. Contudo, o aparecimento das bandas característica do grupo OH<sup>-</sup> da HA em 630 e 3579  $\text{cm}^{-1}$ , mostra que a substituição deste íon pelo carbonato não foi completa, figura 2.

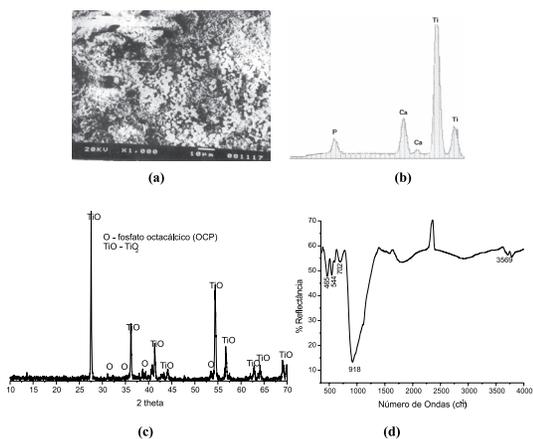
### Recobrimento por SBF 1

O recobrimento obtido por imersão em SBF 1 apresentou morfologia característica de fase amorfa de fosfato de cálcio, composta por grãos esféricos [13]. A presença dos elementos Ca e P se deu numa razão de 1,4. Por DRX observou-se que além da fase amorfa do fosfato de cálcio, a fase OCP também estava presente no recobrimento. O espectro vibracional de IV confirmou os resultados obtidos por DRX, pois apresentou bandas características dos grupos  $\text{PO}_4$  (em 662 e 1301  $\text{cm}^{-1}$ ) e P-OH (em 1045  $\text{cm}^{-1}$ ) e da fase amorfa de fosfato de cálcio (em 573  $\text{cm}^{-1}$ ). Além destas bandas, o recobrimento apresentou bandas referentes à apatita carbonatada tanto do tipo A (em 1557  $\text{cm}^{-1}$ ) quanto do tipo B (em 1409 e 1468  $\text{cm}^{-1}$ ) [9, 11-12], caracterizando então uma apatita carbonatada do tipo AB [14]. Mesmo a solução SBF 1 não contendo estes íons em sua composição, a presença de apatita carbonatada no recobrimento é possível pela reação entre os íons OH<sup>-</sup> da apatita com  $\text{CO}_2$  do ar, durante o período de imersão, figura 3.



**Figura 3:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 1: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

A morfologia do recobrimento após o tratamento térmico a 800°C apresentou significativa mudança. A razão Ca/P foi de 2,14. Por análise de DRX observou-se que o recobrimento é composto majoritariamente da fase OCP, explicando a alteração da morfologia, pois nesta temperatura a fase amorfa de fosfato de cálcio sofre transformação. O espectro vibracional de IV confirmou a presença somente desta fase no recobrimento, pois apresentou picos referentes somente aos grupos  $\text{PO}_4$  e P-OH, respectivamente em 465 e 544  $\text{cm}^{-1}$  e 918-1104  $\text{cm}^{-1}$  [9, 11-12], figura 4.

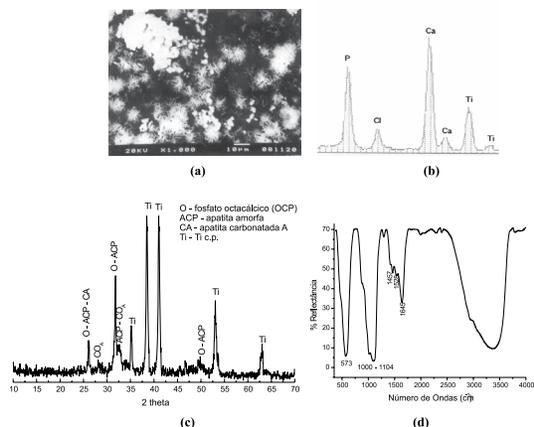


**Figura 4:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 1 e posterior tratamento térmico a 800°C: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

### Recobrimento por SBF 2

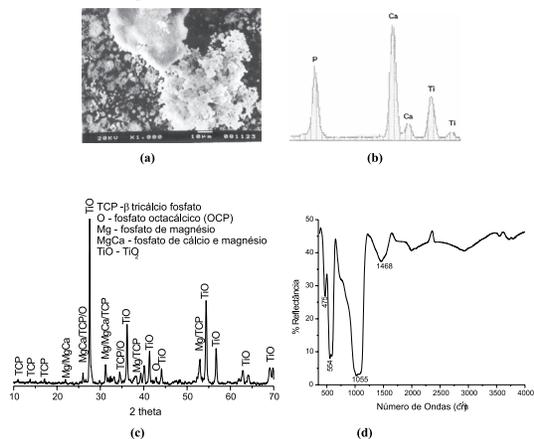
Por imersão em SBF 2, obteve-se um recobrimento com morfologia característica das fases amorfa de fosfato de cálcio e OCP, resultado este confirmado por DRX que mostrou a presença de somente estas fases. A razão Ca/P foi de 1,35. O espectro vibracional de IV apresentou bandas características dos grupos P-OH no intervalo de 1000-1104  $\text{cm}^{-1}$  e  $\text{PO}_4$  em 573  $\text{cm}^{-1}$ , que pode ser também atribuída à fase amorfa de fosfato de cálcio, confirmando os resultados obtidos por DRX [9, 11-12]. Bandas de apatita carbonatada do tipo A apareceram em 1457 e 1528  $\text{cm}^{-1}$ , figura 5.

Os resultados obtidos por DRX do recobrimento após o tratamento térmico mostram uma mistura de fases de b- TCP, OCP, fosfato de magnésio  $[\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2]$  e  $\beta\text{-Ca}_{2,59}\text{Mg}_{0,41}(\text{PO}_4)_2$ . O aparecimento dos dois últimos componentes após o



**Figura 5:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 2: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

tratamento térmico acarreta a ausência de HA, pois o fosfato de magnésio, que possui temperatura de cristalização a partir de 600°C [15], representa um papel de inibidor da conversão de fosfatos de cálcio a HA, atuando como inibidor da hidrólise do OCP [10]. A razão Ca/P foi de 1,50. O espectro vibracional de IV apresentou bandas referentes aos grupos  $\text{PO}_4$  em 475  $\text{cm}^{-1}$ , P-OH em 1055  $\text{cm}^{-1}$ , fase amorfa em 554  $\text{cm}^{-1}$  e apatita carbonatada do tipo B em 1468  $\text{cm}^{-1}$  [9, 11-12], figura 6.



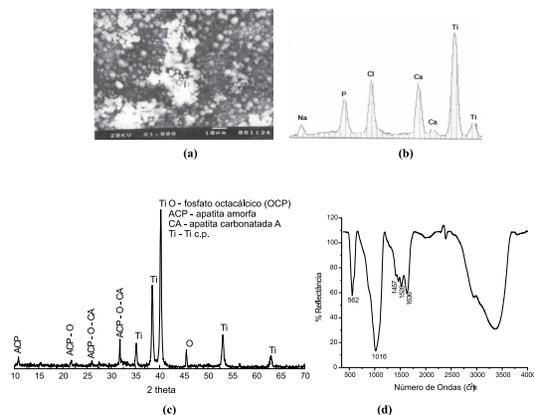
**Figura 6:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 2 e posterior tratamento térmico a 800°C: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

### Recobrimento por SBF 3

O recobrimento obtido por imersão em SBF 3 apresentou morfologia predominante de fosfato de cálcio amorfo, resultado este confirmado por

DRX. A razão Ca/P foi de 1,42. O espectro vibracional de IV apresentou bandas características dos grupos P-OH em 944-1119  $\text{cm}^{-1}$ ,  $\text{PO}_4$  em 573  $\text{cm}^{-1}$  [9, 11-12], que pode ser atribuída também à fase amorfa de fosfato de cálcio, e apatita carbonatada do tipo A em 1457 e 1528  $\text{cm}^{-1}$ , figura 7.

A morfologia do recobrimento após

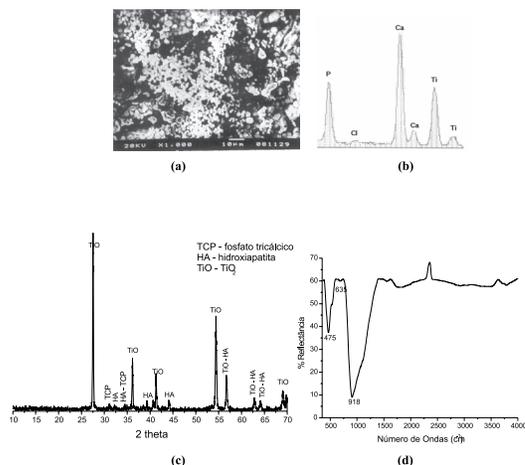


**Figura 7:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 3: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

## Conclusões

Os recobrimentos obtidos sem o tratamento térmico em todas as soluções SBF tiveram a mesma composição de apatita, variando somente quanto ao tipo de substituição dos íons carbonato. Contudo, após o tratamento térmico, o crescimento cristalino da HA foi inibido pela ausência dos elementos traços e pela cristalização de  $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ .

tratamento térmico apresentou significativa alteração, indicando a ocorrência de transformação de fases. A razão Ca/P obtida foi de 1,68. Os resultados de DRX mostraram a presença de HA e  $\beta$ -TCP. O espectro vibracional de IV apresentou bandas características dos grupos  $\text{PO}_4$  em 475  $\text{cm}^{-1}$  e OH da HA em 635  $\text{cm}^{-1}$  [9, 11-12], figura 8.



**Figura 8:** Recobrimento de apatita por imersão em SBF 2 e posterior tratamento térmico a 800°C: a) MEV 1000X, b) EDX, c) DRX e d) espectro vibracional de IV.

A formação de HA não foi influenciada pelo íon  $\text{K}^+$ . A composição das fases de apatitas formadas, aliada às condições experimentais, possibilitou a formação de apatita carbonatada do tipo A mesmo nas soluções onde o íon  $\text{HCO}_3^-$  não estava presente. O tratamento térmico das amostras também favoreceu a formação de  $\text{TiO}_2$  devido à oxidação do Ti c.p.

Recebido em: 06/07/2005

Aceito em 05/10/2005

A.H. Aparecida, M. V. L. Fook, M. L. dos Santos, A. C. Guastaldi. Influence of ions  $\text{K}^+$  and  $\text{Mg}^{2+}$  in the attainment of biomimetic apatites.

**Abstract:** The growth of the hydroxyapatite - HA, as much in the biological agent as in watery solutions as the Synthetic Body Fluid - SBF, occurs agent containing, beyond calcium and phosphate elements, essential element-traces such as:  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{K}^+$  and  $\text{Na}^+$ . Some of these elements are known as inhibiting of the growth of the HA, as  $\text{Mg}^{2+}$  and  $\text{HCO}_3^-$ . In this work, it was studied the influence of ions  $\text{K}^+$  and  $\text{Mg}^{2+}$  in the formation of apatites, mainly of the HA, on metallic substrate of Ti c.p. previously treated with NaOH 5M. The effects of these ions in the obtained covering, before and after the thermal treatment at 800°C, were analyzed by scanning electron microscopy - SEM, energy dispersive X-rays - EDX, X-ray diffractometer - XRD and Fourier transformation infrared - FT-IR, and they showed that the

inhibitory effect of the  $Mg^{2+}$  in the formation of the HA happens after the thermal treatment. Differently, the crystalline growth of the HA was not affected by the presence of the  $K^+$  ion. Moreover, the carbonated apatite formation also happened in solutions that did not contain the  $CO_3^{2-}$  ion in its composition.

**Key-words:** biomimetic apatites; inhibition of HA formation; carbonated apatites; magnesium; potassium.

### Referências

- [1] F. Watari, A. Yikoyama, F. Saso, M. Uo, T. Kawasaki, Composites 28(B) (1997) 5.
- [2] Q.L. Feng, F.Z. Cui, H. Wang, T. N. Kim, J. O. Kim, J. Of Crystal Growth 210 (2000) 735.
- [3] T. Kokubo, Acta Mater. 46 (7) (1998) 2519.
- [4] A.A. Campbell, Materials Today (2003) 26.
- [5] E.Y. Kawachi, C.A. Bertran, R.R. dos Reis, O.L. Alves, Quim. Nova 23 (4) (2000) 518.
- [6] X. Lu, Y. Leng, Biomaterials 26 (2005) 1097.
- [7] N.Kanzaki, K. Onuma, G. Treboux, S. Tsutsumi, A. Ito, J. Phys. Chem. 104 (2000) 4189.
- [8] I. Mayer, R. Schlam, F.D.B. Featherstone, J. of Inorg. Bioch.. 66 (1997) 1.
- [9] F. Barrere, C.A.V. Blitterswijk, K. de Groot, P. Layrolle, Biomaterials 23 (2002) 2211.
- [10] JCPDS – Diffraction Data Base. Newton Square: International for Diffraction Data, 2003. (CD-ROM).
- [11] A. Stoch, W. Jastrzebski, A. Brazek, J. Stoch, J. Szaraniec, B. Trybaeska, G. Kmita, J. of Molec. Struct. 555 (2000) 375.
- [12] L.C. de O. Vercik, Estudo do recobrimento de hidroxiapatita sobre superfícies de Ti cp e liga Ti-6 Al-4V, sem e com deposição de  $TiO_2$  por plasma-spray. Tese (doutorado em Química). Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004. 148 f.
- [13] T. Kanazawa, Inorganic Phosphate Materials, Elsevier, Tóquio, 1989, chap. 4-5.
- [14] G. Xu, I.A. Aksay, J.T. Groves, J. of Am. Chem. Soc. 123 (10) (2001) 2196.
- [15] L.C.de O. Vercik, C.M. de Assis, M.V.L. Fook, M.L. dos Santos, A. C. Guastaldi, Eclet. Quim. 28 (1) (2003) 25.