# A INFLUÊNCIA DA PROPORÇÃO ÁCIDO CÍTRICO/ETILENO GLICOL NA PRODUÇÃO DE HIDROXIAPATITA PELO MÉTODO PECHINI

**Ycaro Breno Alves de Almeida[1], Geysivana Kessya Garcia Carvalho[1], Ketelly Estefane da Silva Alves[1], José Rosa de Souza Farias[1], Veruska do Nascimento Simões[2], Aluska do Nascimento Simões Braga[1]**

[1] *Universidade Federal do Piauí, Teresina-PI, Brasil (ycarobreno26@gmail.com)*
[2] *Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brasil*

*Resumo:* A hidroxiapatita é uma biocerâmica com importante aplicações biológicas. Assim, este trabalho teve como objetivo a obtenção da hidroxiapatita, avaliando a relação ácido cítrico/etilenoglicol na síntese. As amostras foram caracterizadas por difração de raios X, analise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram a formação de uma cerâmica bifásica de hidroxiapatita e beta fosfato tricálcico, para todas as amostras estudadas.

*Palavras-chave*: Hidroxiapatita; Síntese; Método Pechini

## INTRODUÇÃO

A hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) é um importante componente mineral dos ossos e dentes humanos, sendo o principal componente inorgânico (Armentano et al., 2010), constituindo até 69% da massa óssea natural, além de diferentes proporções dos tecidos dentários, isto é, 96% do esmalte, 45% da dentina na forma de apatita carbonatada nanocristalina e 65% do cemento (Bonan et al.,2014). Por ser termodinamicamente estável em seu estado cristalino no fluido corporal, pode integrar-se ao osso sem causar toxicidade local ou sistêmica, inflamação ou resposta de corpo estranho (Mohd Pu'ad et al., 2019). Por esses motivos, a hidroxiapatita (HAp) tem sido utilizado clinicamente como revestimentos bioativos em implantes dentários e ortopédicos, permitindo a adesão e proliferação de células osteoblásticas na superfície protética e resultando em fixação biológica entre os tecidos ósseos e o implante (Li et al., 2018 ). Podendo ser usada de várias formas como: pós, micro e nano-cristais, blocos, folhas, cerâmicas densas ou porosas, filmes finos e compósitos com vidros, metais e polímeros em aplicações biomédicas (Mazumder et al., 2019).

Com isso existe muito interesse acerca desse material, o que resulta em uma serie de técnicas que o reproduzem em laboratório. Assim, método de processamento, temperatura de processamento, tipo de solução, pH da solução, área superficial, composição, porosidade e solubilidade do precursor, são alguns fatores considerados na fabricação de HAp (Shafie et al., 2019).As abordagens sol-gel atraí muita atenção devido às suas vantagens, que incluem mistura molecular homogênea, baixa temperatura de processamento, capacidade de gerar partículas nanométricas e flexibilidade para gerar pós nanocristalinos, sólidos monolíticos amorfos volumosos e filmes finos (Kumar e Kalainathan, 2010).

O método Pechini ou método dos percursores poliméricos, como também é conhecido, é um rota sol-gel que possui um incrível potencial na produção da Hap sintética. É basicamente um processo de redução eletroquímica envolvendo nitratos metálicos (como oxidantes), ácido cítrico (como combustível) e etileno glicol (como agente de polimerização), que envolve a hidrólise de precursores moleculares constituintes e subsequentemente policondensação ao gel como (Pubby et al., 2018). O processo utiliza os agentes quelantes de carboxilato para formar uma mistura homogênea dos complexos de citrato de metal, suprimindo a formação de fases secundárias no composto. Os glicóis são utilizados para a formação da rede poliesterificada covalente dos íons metálicos. Os cátions presos no gel polimérico mantêm uma distribuição homogênea durante a mistura, calcinação, pirólise e cristalização (Kumar et al., 2019).Tal método apresenta alguns benefícios, como: excelente controle da estequiometria, tamanho de partícula, capacidade de preparar pós cerâmicos nanoestruturados multicomponentes,

boa homogeneidade através da mistura no nível molecular em solução e baixas temperaturas de calcinação são necessários para a decomposição do gel (Longman-Estarki et al., 2017).

Apesar de tais atrativos, tal método é pouco discutido na literatura para a síntese de nano HAp. Com isso, é produzido uma série de lacunas quanto a influência das variáveis e parâmetros de processo em sua produção. Onde, por se tratar de um processo sol-gel que é altamente sensível às condições, é necessário um bom controle dos parâmetros de síntese, para levar à otimização do processo a longo prazo (Mandic e Kurajica, 2015), dessa forma este estudo detém grande importância. Assim, este trabalho tem por objetivo a produção de hidroxiapatita nanométrica pelo método Pechini, estudando a influência da relação ácido cítrico /etileno glicol (AC/EG).

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os materiais utilizados para a produção dos pós de HAp foram: água destilada, ácido cítrico monohidratado, nitrato de cálcio, fosfato de amônio dibásico e etilenoglicol.

Para a síntese de nano HAp pelo método Pechini, foi adicionado 100ml de agua destilada em um becker, que foi colocado em uma placa de aquecimento com agitação constante com a temperatura mantida por volta do 70ºC, controlada com o auxílio de um termômetro. O ácido cítrico foi adicionado na solução de forma fracionada, logo após foram adicionados os percursores, nitrato de cálcio e fosfato de amônio. A relação entre o ácido cítrico /cátion metálico foi de 4:1. Após a total dissolução dos precursores, o etileno glicol foi colocado na solução. A razão entre o ácido cítrico e o etileno glicol (AC/EG) variou em 60/40 e 40/60. Após a disposição do etileno glicol a temperatura foi aumentada e mantida entre 100 a 120ºC para a realização das reações de poliesterificação e consequente formação do gel. Foi realizado uma pirólise no gel a 400ºC/1h, com uma taxa de aquecimento de 10ºC/min, para a eliminação de matéria orgânica. O material obtido foi desaglomerado, e logo em seguida passado em peneira ABNT n°200 (0,074mm), e calcinado na temperatura de 1000ºC, durante 1 hora, com taxa de aquecimento de 10°C/min, para obtenção da fase desejada. As amostras obtidas foram nomeadas de A44 e A64, quando a proporção AC/EG foi de 40/60 e 60/40, respectivamente.

As amostras sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), para identificação das fases formadas, quantificação das fases, cristalinidade e tamanho de cristalito. O equipamento utilizado para essa análise foi o difratômetro de raios X modelo XRD-6000 da Shimadzu com radiação kα do cobre e varredura de 10 a 60º.A quantificação das fases foi realizada por meio do programa HighScore Plus. O tamanho de cristalito foi calculado a partir da equação de Scherrer. A cristalinidade foi determinada a partir da razão entre a área integrada do pico referente à fase cristalina e a área referente à fração amorfa. A análise termogravimétrica (TG/DTG) foi realizada em um analisador térmico, modelo TA-60, da Shimadzu, com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de nitrogênio, usando um cadinho de alumina e faixa de temperatura da ambiente até a temperatura máxima de 1000ºC. Os aspectos morfológicos das amostras obtidas foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV), utilizando um microscópio eletrônico de varredura da Shimadzu, modelo SSX-550.

## RE SULTADOS E DISCUSSAO

A Figura 1 exibe os difratogramas de raios X das amostras A44 e A64 obtidas com razões AC/EG de 40/60 e 60/40, respectivamente.

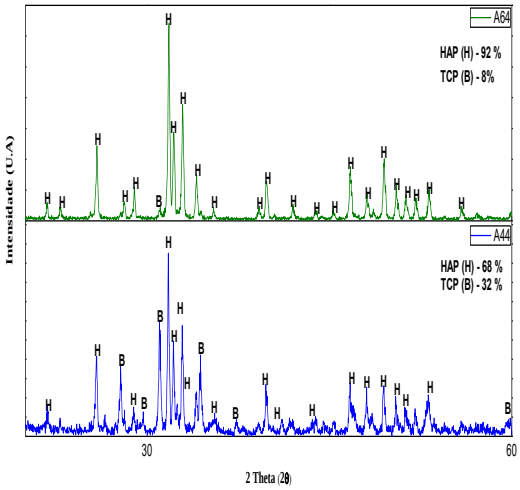



Figura 1: Difratogramas de raios X das amostras A44 e A64 nas proporções 40/60 e 60/40 de AC/EG, respectivamente.

Por meio dos difratogramas é possível observar a formação de uma cerâmica bifásica, com picos característicos das fases hidroxiapatita (HAp) e da fase beta fosfato tricálcico (β-TCP). A fase referente a hidroxiapatita foi identificada através da ficha padrão JCPDF 9 – 432 e a fase β-TCP por meio da ficha padrão JCPDF 9 – 169. Observa-se que quando a proporção de AC/EG foi aumentada de 40/60 para 60/40, ou seja, diminuiu o teor de etileno glicol, resultou num aumento na formação da fase de Hap. Provavelmente, isso ocorreu pela presença de mais ácido cítrico, e consequentemente, mais grupos carboxílicos estiveram disponíveis para quelar os cátions metálicos e levaram à maior uniformidade dos elementos metálicos no éster (Zhao, et al., 2006).

A presença da segunda fase de β-TCP pode ter ocorrido por um má complexação do grupo $PO_4^{3-}$, o que causou uma homogeneidade insuficiente na

distribuição de íons do complexo com consequente segregação e formação de fases de fosfatos (Peña e Regi, 2003). Porém, a presença de β-TCP na Hap pode ser benéfico, a apatita deficiente em Ca apresenta melhores propriedades biorreabsorvíveis do que a HA estequiométrica, porque o composto promove uma ligação forte e rápida aos ossos naturais por reabsorção rápida. Dado que o HA é considerado não solúvel no ambiente fisiológico. Portanto, acreditasse que a presença de uma baixa intensidade de β-TCP poderia otimizar a reabsorção do Hap (Ramesh et al., 2015). A Tabela 1 apresenta a quantificação das fases e a Tabela 2 apresenta a cristalinidade e tamanho de cristalito das amostras A44 e A64, sintetizadas nas proporções 40/60 e 60/40 de AC/EG, respectivamente.

Tabela 1 – Quantificação das fases das amostras A44 e A64 com proporções AC/EG de 40/60 e 60/40, respectivamente.

| AMOSTRA | QUANTIFICAÇÃO DAS FASES (%) | |
|---|---|---|
| | FASE HIDROXIAPATITA | FASE BETA |
| A44 | 68 | 32 |
| A64 | 92 | 8 |

Tabela 2 – Tamanho de cristalitos e grau de cristalinidade das amostras A44 e A64 com proporções AC/EG de 40/60 e 60/40, respectivamente.

| AMOSTRA | TAMANHO DOS CRISTALITOS (nm) | GRAU DE CRISTALINIDADE (%) |
|---|---|---|
| A44 | 92 | 94,0 |
| A64 | 55 | 97,0 |

Com a variação da proporção AC/EG de 40/60 para 60/40, aumentou-se a quantidade de ácido cítrico na reação, proporcionando também o aumento da rede polimérica, provocando um aumento da distância entre os cluters, e assim diminuindo o tamanho dos cristalitos, que variaram de 92 para 55nm (Hassanzadeh-Tabrizi, 2012). Ambas as amostras exibiram elevados graus de cristalinidade, entretanto o maior grau foi observado sob maior teor de ácido cítrico, provavelmente devido a maior concentração de agente quelante em solução, houve uma distribuição mais uniforme dos cátions em solução e na resina (Mariappan et al., 2006).

De acordo com os resultados dos difratogramas de raios X, a amostra A64 com proporção AC/EG de 60/40, foi a que resultou na maior percentagem de Hap com maior cristalinidade. Desta forma, apenas essa amostra deu prosseguimento as demais caracterizações.

A Figura 2 exibe os resultados da análise termogravimétrica (TG/DTG) da amostra A64 pirolisada.

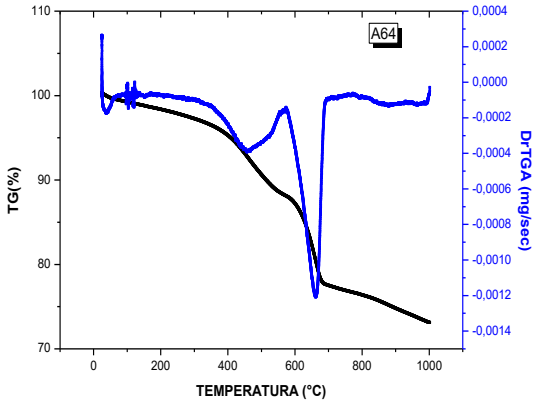



Figura 2 – Análise térmica da amostra A64 pirolisada

Analisando a Figura 2 é possível observar três eventos de perda de massa. O primeiro evento ocorreu até aproximadamente 80ºC e está relacionado à perda de água fisicamente adsorvida. O segundo evento ocorreu de 300ºC até 580ºC ocorrendo devido a decomposição dos compostos orgânicos residuais de carbonatos. O terceiro e último evento ocorreu de 480 à 700°C atribuído a descarbonização e início dos processos de desidroxilação (Souza et al., 2019; Sofronia et al., 2014).

As Figuras 3A e 3B exibem a morfologia obtida por microscopia eletrônica de varredura da amostra A64. As micrografias ilustradas na Figura 3 apresentam suas respectivas imagens amplificadas em A)100 X e B) 4.00K X.

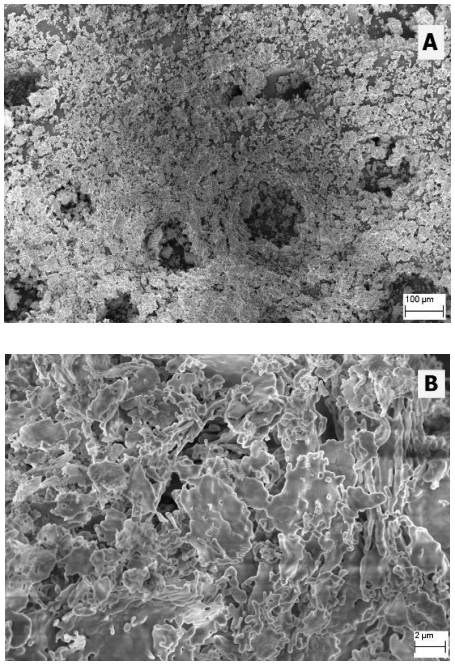



Figura 3 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra AN46 nas magnitudes de A)100 X e B) 4.00KX.

Analisando as micrografias da amostra percebe-se que as partículas estão agrupadas formando aglomerados de formato irregular. O pó produzido é altamente reativo, sendo isto comprovado pela formação desses agregados. Nota-se que a morfologia obtida é porosa, o que é característico do método de síntese que utiliza muita matéria orgânica, resultando em tal porosidade quando esta é eliminada na etapa de sinterização A formação de poros é benéfica, pois permite a circulação de fluido fisiológico quando utilizado como biomaterial (Santos et al., 2005).

## CONCLUSÃO

O método Pechini foi eficiente para a produção de nanopartículas de hidroxiapatita. A proporção de ácido cítrico/etilenoglicol (AC/EG) influenciou na formação das fases, onde para ambas as razões de ácido cítrico/etileno glicol estudadas foi obtida uma cerâmica bifásica composta por HAp e β-TCP, porém com porcentagem de fases diferentes. A razão 60/40 de AC/EG foi o parâmetro com melhores resultados, obtendo uma cerâmica com elevada cristalinidade (97%) e com menor porcentagem de segunda fase (8 %). A perda de massa ocorreu em três eventos, inerentes das perdas de água adsorvida, além dos processos de decomposição de compostos orgânicos, descarbonização e desidroxilação. A amostra obtida apresentou alta reatividade, formando uma estrutura porosa e com agregados.

## REFERENCIAS

Armentano, I; Dottori, M; Fortunati, E. et al. Biodegradable polymer matrix nanocomposites for tissue engineering: a review. Polymer Degradation and Stability, 95(11), 2126-2146, 2010.

Bonan, R. F; Bonan, P. R. F; Batista, A. U. D. et al. Methods of microstructural strengthening of hydroxyapatite. Cerâmica, 60(355), São Paulo, 2014.

Hassanzadeh-Tabrizi, S. A. Synthesis and luminescence properties of YAG:Ce nanopowder prepared by the Pechini method. Advanced Powder Technology, 23(3), 324-327, 2012.

Kumar, A. R; Kalainathan, S. Sol–gel synthesis of nanostructured hydroxyapatite powder in presence of polyethylene glycol. Physica B: Condensed Matter, 405(13), 2799-2802, 2010.

Kumar, V; Sharma, R; Kumar, S. et al. Enhancement in the photocatalytic activity of $Bi_2Ti_2O_7$ nanopowders synthesised via Pechini vs Co-Precipitation method. Ceramics International, 45(16), 20386-20395, 2019.

Li, M; Xiong, P; Yan, F. et al. An overview of graphene-based hydroxyapatite composites for orthopedic applications. Bioactive Materials, 3(1), 1-18, 2018.

Longman-Estarki, M. R; Torkian, S; Rastabi, R. A. et al. Effect of annealing temperature and copper mole ratio on the morphology, structure and magnetic properties of $Mg_{0.5-x}Cu_xZn_{0.5}Fe_2O_4$ nanoparticles prepared by the modified Pechini method. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 442, 163-175, 2017.

Mandic, V; Kurajica, S. The influence of solvents on sol–gel derived calcium aluminate. Materials Science in Semiconductor Processing, 38, 306-313, 2015.

Mariappan, C. R; Galven, C; Crosnier-Lopez, M-P. et al. Synthesis of nanostructured $LiTi_2(PO_4)_3$ powder by a Pechini-type polymerizable complex method. Journal of Solid State Chemistry, 179(2), 450-456, 2006.

Mazumder, S; Nayak, A. K; Ara, T. J. et al. Hydroxyapatite composites for dentistry. Applications of Nanocomposite Materials in Dentistry, 123-143, 2019

Mohd Pu'ad, N. A. S; Koshy, P; Abdullah, H. Z. et al. Syntheses of hydroxyapatite from natural sources. Heliyon, 5(5), e01588, 2019.

Peña, J; Regi, M. Hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by a liquid mix technique. Journal of the European Ceramic Society, 23(10), 1687–1696, 2003

Pubby, K; Meena, S. S; Yusuf, S. M. et al. Cobalt substituted nickel ferrites via Pechini's sol–gel citrate route: X-band electromagnetic characterization. Journal of Magnetism and Magnetic Materials, 466, 430-445, 2018.

Ramesh, S; Natasha, A. N; Tan, C. Y. et al. Characteristics and properties of hydroxyapatite derived by sol–gel and wet chemical precipitation methods. Ceramics International, 41(9) A, 10434-10441, 2015.

Santos, M; Florentino, A. O; Saeki, M. J. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. Eclet. Quím, 30(3), São Paulo, 2005

Shafie, E. R. M; Ahmad, Z. A; Ahmad, N. Synthesis of hydroxyapatite via phase transformation of calcium hydrogen phosphate dihydrate: Effects of temperature variation on phase and morphology. Ceramics International, 45(17) A, 21168-21174, 2019.

Sofronia, A, M; Baies, R; Anghel, E. M. et al. Thermal and structural characterization of synthetic and natural nanocrystalline hydroxyapatite. Materials Science and Engineering: C, 43, 153 – 163, 2014.

Souza, T. S; Rangel, F, C; Tokumoto, M. S. et al. Síntese, caracterização e modificação da hidroxiapatita com zinco para aplicação na reação de esterificação. Matéria (Rio J.), 24(1), Epub May 20, 2019

Zhao, J-P. Quan, M-H, Zhang, L. Preparation of potassium lithium niobate powders with low Li

content via the Pechini method. Ceramics International, 32(7), 843-846, 2006.