

## ESTABILIDAD TÉRMICA DE HIDROXIAPATITAS DE CALCIO DOPADAS CON ZINC

José R. Guerra-López<sup>a</sup>, Jorge A Güida<sup>a,b</sup>, Marcelo A. Ramos<sup>a</sup>, Florencia Charpentier<sup>a</sup>, Ana E. Bianchi<sup>c,d</sup> y Graciela Punte<sup>d</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Básicas, Universidad Nacional de Luján, ruta 5 y 7, CC 6700, Luján, Argentina IFLP (CCT-La Plata.)

<sup>b</sup> CEQUINOR (CCT-La Plata), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, CC 962, 1900, La Plata, Argentina

<sup>c</sup> Facultad de Ingeniería, UNLP. La Plata. 1 y 47, (1900) La Plata, Argentina.

[bianchi@fisica.unlp.edu.ar](mailto:bianchi@fisica.unlp.edu.ar)

<sup>d</sup> IFLP, CCT-La Plata (CONICET) y Departamento de Física (FCE, UNLP). CC67- 1900 La Plata. Argentina

### INTRODUCCIÓN

Con el objetivo de intentar mejorar las propiedades osteointegradoras de las hidroxiapatitas de calcio se han sintetizado y caracterizado diversas apatitas con distintos grados de sustitución de Ca(II) por otros iones metálicos como Cd(II), Zn(II), Sr(II), Pb(II) y Mg(II) [1]. La sustitución de Ca(II) por Zn(II) resulta particularmente interesante dado que ambos cationes resultan ser esenciales y muy abundantes en los sistemas biológicos [2]. Para la obtención del biomaterial en forma de granulados o en bloques, se utiliza un proceso de sinterización de la hidroxiapatita de calcio a partir del tratamiento térmico de la misma [3]. En trabajos previos, se estudiaron, a partir de datos de difracción de rayos X de polvos (DRX) empleando el análisis de Rietveld, las estructuras de apatitas puras y sustituidas con Zn(II), sintetizadas por el método de Hayek y Newesely [4]. Los sólidos analizados mostraron una transformación de fase de monoclinica a hexagonal al agregar una pequeña proporción de Zn(II) al proceso de síntesis, cambio atribuible a la incorporación, simultánea con el Zn(II), de un elevado porcentaje de agua a la estructura, lo cual trajo como resultado una baja estabilidad térmica. Con el objetivo de sintetizar hidroxiapatitas de calcio (CaHap) dopadas con Zn(II) que tuvieran una mayor estabilidad térmica en este trabajo se utilizó un método similar al desarrollado por Gibson y Bonfield [5] para preparar hidroxiapatita de Ca pura (CaHap) e hidroxiapatitas con 3, 5, y 10% en masa de Zn. El material obtenido fue sometido a tratamientos térmicos a 600, 800 y 1000 °C y caracterizado por espectroscopía de infrarrojo (FTIR) y DRX.

### PARTE EXPERIMENTAL

#### Síntesis de la hidroxiapatita

La síntesis de CaHap se realizó siguiendo el método descrito por Gibson y Bonfield [5], basado en la reacción de neutralización entre  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  y  $\text{H}_3\text{PO}_4$ . En una suspensión formada por la solución de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  se adiciona el  $\text{H}_3\text{PO}_4$  a una velocidad de 0,30 ml/seg y a una temperatura ( $T$ ) de 98 °C. Para ajustar el pH a 9 se utilizó una disolución de  $\text{NH}_3$  al 25%. Al concluir la adición de ácido, la suspensión resultante se deja envejecer durante 18 horas en el balón con agitación y temperatura. El sólido sedimentado se filtra y se seca en estufa a 105(5) °C durante la noche.

#### Síntesis de la hidroxiapatita dopada con Zn

Se siguió un procedimiento similar al descrito en parágrafo anterior. Para obtener una CaHap dopada con zinc, (Ca,Zn)Hap, la composición de la solución se fue cambiando en cada síntesis, regulando las cantidades relativas de calcio y zinc. La adición de la solución de  $\text{ZnCl}_2$  se realiza gota a gota simultáneamente con el agregado del ácido fosfórico, 0,30 mol/L. Se sintetizaron muestras con 3, 5 y 10% en masa de Zn(II). Al concluir la síntesis, en

este caso el pH se ajusta con una solución de NaOH. Las muestras se nombraron teniendo en cuenta la relación  $(Zn/(Ca+Zn)) \times 100$ : CaHap, (Ca, Zn)Hap: Zn3, Zn5, Zn10. Todas las muestras preparadas fueron sometidas a tratamientos térmicos de una hora de duración a temperaturas de 600, 800 y 1000 °C.

### 2.3 Técnicas de caracterización

La composición de los productos se controló por determinación del contenido de calcio, zinc, y fósforo en las muestras sintetizadas. El calcio y el zinc se determinaron por espectroscopía de absorción atómica y el fósforo espectrofotométricamente. Los sólidos obtenidos se caracterizaron mediante difracción de rayos-X (DRX) y espectroscopía infrarroja (FTIR).

Los patrones de DRX se obtuvieron con un difractómetro automático X'Pert Pro de PANalytical con detector de centelleo y un monocromador de salida de grafito empleando radiación  $CuK\alpha$  ( $\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$ ), barriéndose el rango:  $10 \leq 2\theta \leq 120^\circ$ , con un paso de  $0,02^\circ$  y un tiempo de conteo de 5s. Los patrones de difracción fueron analizados mediante el método de Rietveld utilizando el programa Fullprof [6]

Para obtener los espectros de infrarrojo, las muestras se prepararon moliendo en un mortero de ágata, hasta obtener un polvo muy fino, aproximadamente 1mg de compuesto con 30 mg de KBr (calidad espectroscópica). Se compactaron con una prensa hidráulica para formar una pastilla a la presión de 4 Tn. Los espectros se obtuvieron en un espectrofotómetro de transformada de Fourier Shimadzu IRPrestige-21 en el rango  $4000\text{--}400\text{cm}^{-1}$  con resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis del patrón de difracción y de la hidroxiapatita preparada por el método propuesto permitió determinar que la misma cristalizó en el sistema monoclinico, grupo espacial  $P2_1/b$  estudiado por primera vez por Elliot y Young [7], presentando un alto grado de cristalinidad. La Figura 1 muestra el análisis de Rietveld del patrón de DRX de la CaHap sintetizada.

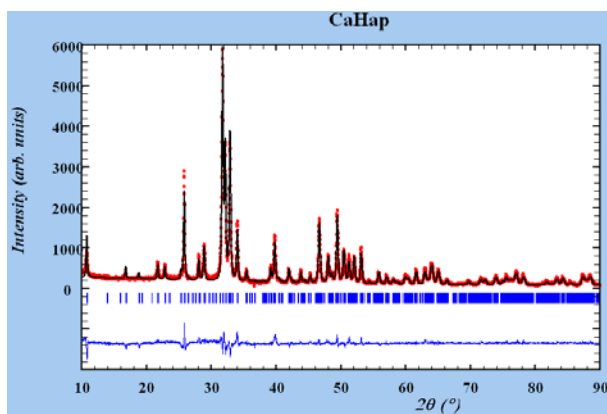


Figura 1. Análisis de Rietveld de la muestra CaHap.

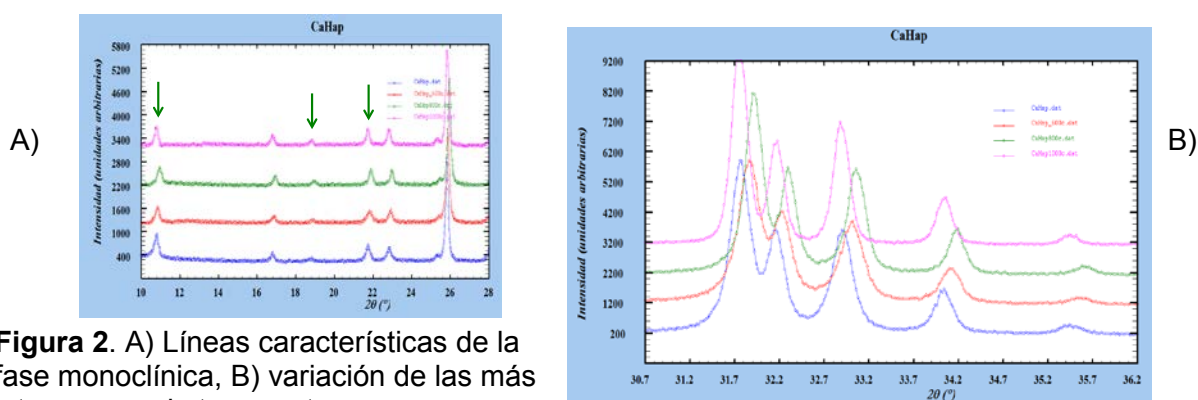
En la Tabla 1 se presentan las constantes de celda obtenidas de dicho análisis y los correspondientes a los análisis de los patrones de las muestras de CaHap tratadas térmicamente a

muestra	$T$ (° C)	$a$ (Å)	$b$ (Å)	$c$ (Å)	$\gamma$ (°)	$V$ (Å <sup>3</sup> )	$\langle D \rangle$ nm
CaHap	sintetizada	9.410	18.856	6.890	119.90	1059.8	509(1)
	600	9.405	18.780	6.884	119.96	1053.4	290(1)
	800	9.399	18.778	6.884	119.88	1053.5	394(2)
	1000	9.419	18.868	6.888	120.00	1060.0	695(3)

Tabla 1. Constantes de celda y diámetro promedio aparente,  $\langle D \rangle$ , de la hidroxiapatita sintetizada y sometida a sinterizados, incertidumbres en la última cifra.

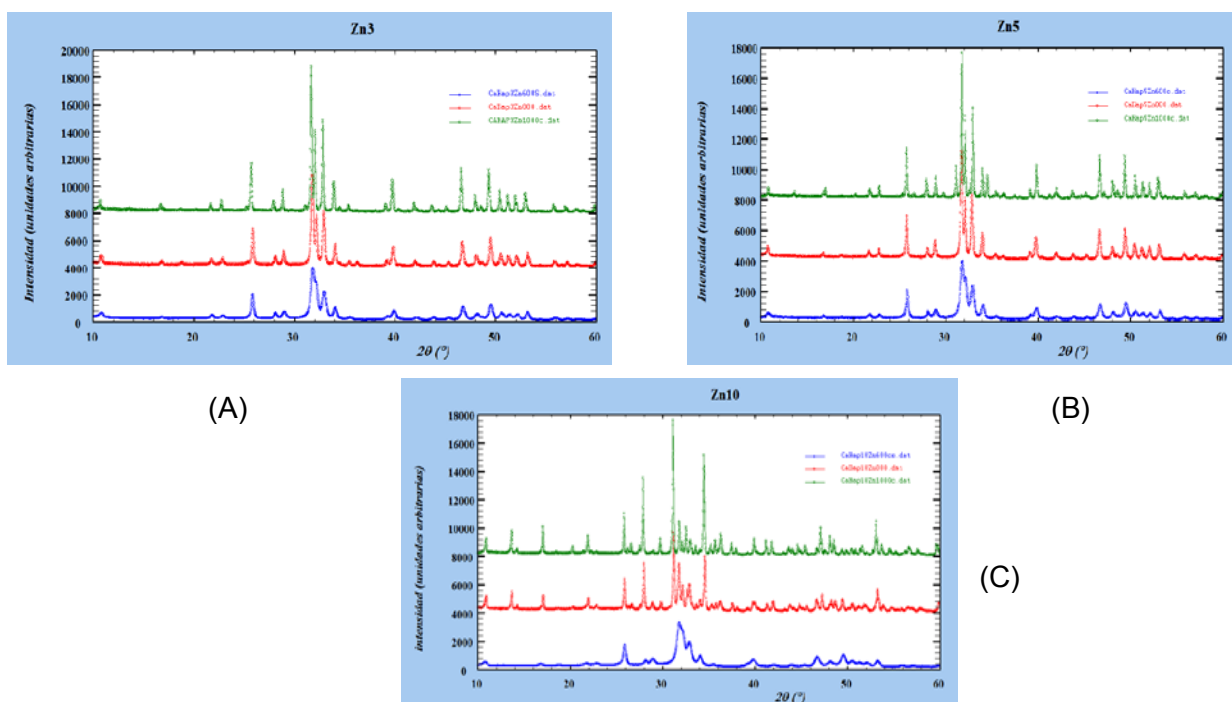
600, 800 y 1000 °C, tampoco en estos patrones existe indicio de la presencia de una segunda fase, ni modificación del grupo espacial por acción térmica hasta la mayor temperatura alcanzada. Los valores obtenidos permiten observar variaciones de las constantes de celda consistentes con las observadas en otros estudios de sinterizado existentes en la bibliografía [5]. La variación del tamaño aparente promedio de los cristalitas podría explicarse por un desorden introducido en el empaquetamiento por la pérdida de aguas reemplazando hidroxilos en los canales y posterior recomposición de la estructura con los procesos de sinterizado a distintas temperaturas.

La Figura 2 muestra las variaciones de las posiciones de las líneas de difracción características de la fase monoclinica, A), y las modificaciones con el tratamiento térmico de las líneas de mayor intensidad, B). Las últimas están relacionadas con variaciones de los parámetros de celda  $a$  y  $b$  como puede verse en la Tabla 1. Esta variación sin alteración del parámetro  $c$  es consistente con la salida de aguas de los canales de la estructura y posterior reordenamiento.



**Figura 2.** A) Líneas características de la fase monoclinica, B) variación de las más intensas con la temperatura.

El análisis de Rietveld de los patrones de difracción de las muestras Zn3, Zn5 y Zn10 evidencia que la incorporación de Zn(II) en el proceso de síntesis no da lugar a la formación de la fase hexagonal de la hidroxiapatita como se determinara en estudios anteriores [8]. Puede



**Figura 3.** Patrones de difracción de las muestras A) Z3, B) Z5 y C) Z10. Los colores indican las temperaturas de sinterizado: azul T= 600, rojo T= 800 verde T= 1000 °C, apreciarse en los tres casos la presencia de una segunda fase en las calcinadas a 1000 °C, Figura 3. Esta fase fue identificada como fosfato  $\beta$ -(Ca,Zn)<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>,  $\beta$ -T(Ca,Zn)P. La Tabla 2 permite observar que el porcentaje de esta fase determinado en las distintas muestras dopadas con zinc es función de la temperatura y cantidad porcentual de zinc empleado en el proceso de síntesis.

Muestra	T (°C)	(Ca,Zn)Hap (%)	$\beta$ -T(Ca,Zn)P (%)
Zn3	1000	82,04	17,96
Zn5	1000	81,35	18,65
Zn10	800	39,95	60,05
Zn10	1000	15,53	84,47

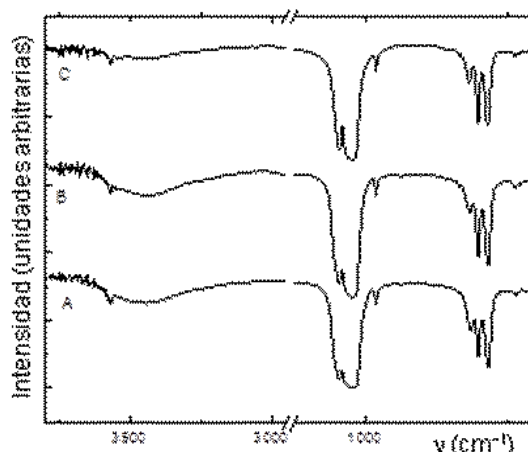
**Tabla 2.** Valor porcentual de cada fase para las muestras con dos fases.

La Tabla 3 muestra las variaciones de las constantes de celda de la fase (Ca,Zn)Hap correspondiente a las muestras obtenidas para Zn3, Zn5 y Zn10 tratadas a las distintas temperaturas. La muestra Zn10 sinterizada a 600 °C evidencia menor cristalinidad como puede apreciarse en la Figura 3 C.

muestra	T (° C)	a (Å)	b (Å)	c (Å)	$\gamma$ (°)	V (Å <sup>3</sup> )
Zn3	600	9,382	18,788	6,883	119,79	1052,7
	800	9,407	18,836	6,882	119,89	1057,1
	1000	9,415	18,832	6,898	120,02	1059,0
Zn5	600	9,389	18,814	6,879	119,86	1054,0
	800	9,403	18,826	6,883	119,85	1056,8
	1000	9,409	18,821	6,904	120,00	1058,7
Zn10	600	9,387	18,887	6,871	119,93	1055,7
	800	9,413	18,862	6,887	120,02	1058,8
	1000	9,407	18,833	6,906	120,02	1059,4

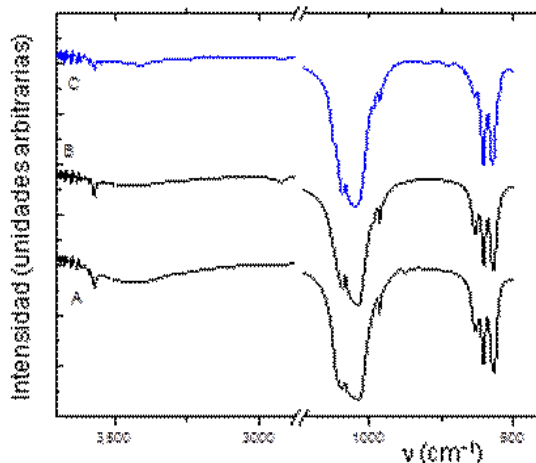
**Tabla 3.** Constante de celda de las muestras con distintos contenidos de Zn (II) sinterizadas a distintas temperaturas.

La Figura 4 presenta los espectros infrarrojos de las muestras CaHap sometidas a tratamientos térmicos a 600, 800 y 1000 °C. Estos espectros exhiben las bandas características de los grupos PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> y OH<sup>-</sup>, presentes en el cristal. En el caso del fosfato, las más intensas son las asociadas al modo de estiramiento antisimétrico del fosfato ( $\nu_3$ ) que aparecen en la región de 1100-1000 cm<sup>-1</sup> y los movimientos de deformación ( $\nu_4$ ) que aparecen en 600-560



**Figura 4.** Espectros infrarrojos correspondientes a las muestras de CaHap sinterizadas: A) 600 °C, B) 800 °C y C) 1000 °C para la muestra Zn3.

$\text{cm}^{-1}$ ; mientras que el  $\text{OH}^-$  se caracteriza por las vibraciones de estiramiento del grupo  $\text{OH}^-$  que aparecen en  $3572 \text{ cm}^{-1}$  y de libración que se observa, aproximadamente, en  $630 \text{ cm}^{-1}$ . También puede observarse en esta figura que al incrementarse la temperatura, se produce una leve disminución de la intensidad relativa de la banda de agua ( $\nu(\text{H}_2\text{O})$ ) a aproximadamente  $3500 \text{ cm}^{-1}$  hecho que sugiere la pérdida de contenido de esta molécula en la estructura. En consecuencia, en el espectro se advierte un aumento de la intensidad relativa de las bandas correspondientes a los grupos  $\text{OH}^-$ . Por otro lado, los modos de vibración del fosfato aparecen mejor resueltos, tanto en la región de mayores frecuencias:  $1090\text{-}1030$  y  $962 \text{ cm}^{-1}$  (estiramiento simétrico y antisimétrico) como en las de menores frecuencias:  $604$ ,  $564$  y  $477 \text{ cm}^{-1}$  (deformaciones simétrica y antisimétrica). Cabe señalar también que estos espectros sugieren que no existe cambio que sugiera una transformación de fase a un polimorfo de mayor simetría o una fase diferente a la estructura apatítica original.



**Figura 5.** Espectros infrarrojos de las muestras de Zn5 sinterizadas: A) 600 °C, B) 800 °C y C) 1000 °C

En la Figura 5 se presentan los espectros infrarrojos de la muestra Zn5 sometida a los distintos sinterizados. En esta muestra se puede observar (más claramente que en la Zn3) la aparición de la segunda fase al comparar los resultados de las muestras sinterizadas a las distintas temperaturas (600, 800 y 1000 °C). Los espectros de las muestras calentadas hasta 800 °C, exhiben un comportamiento similar al descrito para las CaHap, una leve disminución de la intensidad relativa de la banda de agua ( $\nu(\text{H}_2\text{O})$ ) a aproximadamente  $3500 \text{ cm}^{-1}$ , hecho que sugiere la pérdida de contenido de esta molécula en la estructura y en consecuencia, un aumento de la intensidad relativa de las bandas correspondientes a los grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  y  $\text{OH}^-$ . En el espectro de la muestra calentada a 1000 °C, se advierte la presencia de dos nuevas bandas en  $981$  y  $1123 \text{ cm}^{-1}$ , que corresponden a una fase  $\beta$ - $(\text{Ca,Zn})_3(\text{PO}_4)_2$ . Por otra parte la ausencia de bandas en  $1055$ ,  $1039$  y  $950 \text{ cm}^{-1}$  correspondientes a los modos de estiramiento del  $\text{PO}_4^{3-}$  evidencian que la fase tricálcica no es el componente mayoritario de la mezcla [8], en acuerdo con los resultados de DRX. El análisis de todos los resultados indica que el método de síntesis seleccionado, basado en el de Gibson y Bonfield [5], ha resultado efectivo para la obtención de una hidroxiapatita pura monoclinica y más estable que las obtenidas en estudios anteriores realizados sobre apatitas sintetizadas por métodos de precipitación, las que comienzan el proceso de descomposición a 800 °C [8]. A diferencia de los resultados obtenidos con el empleo del método de Hayek y Newesely [4], con el que se sintetizó  $(\text{Ca,Zn})\text{Hap}$  en la fase hexagonal aún para muy bajos porcentajes de Zn [8], las presentes muestras dopadas con zinc

cristalizan en el grupo espacial monoclinico. Para profundizar en los resultados obtenidos se está investigando el sitio/sitios en los que el Zn(II) reemplaza al Ca(II).

## CONCLUSIONES

Los resultados DRX y FTIR de todas las muestras sintetizadas permitió determinar que a partir del empleo del método de síntesis seleccionado se logró producir hidroxiapatitas de Ca(II) puras y dopadas con Zn(II) con mayor estabilidad térmica que las obtenidas previamente por el método de precipitación.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Šupová M., Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. *Ceramics International*. 2015; 41: 9203–9231.
2. Dorozhkin S V., Bioceramics of calcium orthophosphates *Biomaterials*. 2010; 31: 1465–1485.
3. Swetha M., Sahithi K., Moorthi A., Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activity of Nano-Hydroxyapatite-Zinc for Bone Tissue Engineering Applications *J Nanosci Nanotechnol*. 2012; 12: 167-172.
4. Hayek E., Newesely H., *Inorg. Syn.* 1963; 7: 63-66.
5. Gibson I.R., Bonfield. W., Preparation and characterization of magnesium/carbonate co-substituted hydroxyapatites. *J. of Materials Science: Materials in medicine*. 2002; 13: 685-693.
6. Rodríguez-Carvajal J., Recent advances in magnetic structure determination by neutron powder diffraction. *Physica B*. 1993; 192: 55-69.
7. Elliot J. C., Young R. A., *Nature*. 1967; 214: 904-906.
8. Guerra-López J.R., Echeverría G.A., Güida J.A. et al., Synthetic hydroxiapatites doped with Zn(II) studied by X-ray diffraction, infrared, Raman and thermal analysis *J Phys Chem Solids*. 2015; 81: 57-65.