Fosfato de Cálcio Bifásico obtido de Hidroxiapatita natural por rota química: Estudo das propriedades estruturais, espectroscópicas e bioatividade.

Danilo Keidi Kay Ando (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Henrique dos Santos (Coorientador), Francielle Sato (Orientadora). E-mail: fsato@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Exatas e da Terra /Física da Matéria Condensada.

Palavras-chave: Biocerâmica de Fosfato de Cálcio; *Scaffold*; Reação Úmida.

RESUMO

Este trabalho investigou a obtenção, caracterização e bioatividade de biocerâmicas de fosfato de cálcio preparadas por rota química em meio ácido a partir de ossos de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Os ossos calcinados a 900 °C, moídos e tratados com ácido fosfórico foram submetidos a tratamentos térmicos de 900 °C, 1100 °C e 1200 °C para confecção de *scaffolds*. Ensaios *in vitro* em Fluído Corpóreo Simulado (SBF) por até 28 dias revelaram sútil variação de pH e massa, com tendência de aumento em ambos os parâmetros. As análises difratometria de raios X (DRX) e espectroscopia Raman (μ-Raman) indicaram a presença majoritária e a estabilidade estrutural da fase cristalina β-tricálcio fosfato em todas as temperaturas e ao longo dos dias de imersão em SBF. Conclui-se que o método por rota úmida a partir da hidroxiapatita de origem biogênica foi eficaz na síntese de cerâmicas bifásicas, com integridade preservada pelo β-TCP.

INTRODUÇÃO

A Hidroxiapatita (HAp — $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) é o principal componente mineral do tecido ósseo humano, apresenta elevada atividade osteoblástica e excelente osteointegração. Contudo, sua reduzida solubilidade *in vivo* representa uma limitação, podendo desacelerar o processo de regeneração. Como estratégia para contornar essa desvantagem, é possível utilizar cerâmicas bifásicas formadas pela combinação da HAp com outros fosfatos de cálcio, como o Tricálcio Fosfato (TCP — $Ca_3(PO_4)_2$), material conhecido por uma maior taxa de dissolução e bioreabsorção ao comparado com HAp (Weinand et al., 2022). A obtenção do TCP pode ser realizada por diferentes rotas, incluindo reações no estado sólido, conversão térmica de precursores apatíticos e métodos de precipitação por via úmida (Neves, et al. 2021).

A fração entre as fases cristalinas Hap e β-TCP nas BCPs de origem biogênica dependem da idade dos peixes, sendo a maior fração de β-TCP encontrados em animais mais jovens (Weinand et al., 2022). Neste viés, a obtenção de matéria prima para produção de BCPs biogênicas depende do cultivo e abate de

animais jovens, preconizando um estudo com envolvimento de animais e alta demanda de mão de obra para manutenção dos experimentos. O método de conversão por rota úmida de HAp em β-TCP, a partir da do descarte de ossos de peixes em fase adultas, torna-se uma estratégia sustentável para produção de biomateriais.

MATERIAIS E MÉTODOS

A HAp foi produzida a partir de ossos de peixe tilápia da espécie *Oreochromis niloticus*, com aproximadamente 390 dias de vida, provenientes do Centro de Psicultura da UEM. A criação dos animais foi realizada em tanques-rede na Estação Rio do Corvo no Campus Regional Diamante do Norte. A limpeza dos peixes foi feita de forma manual, empregando água fervente e tensoativos para a remoção de tecidos e impurezas. Após essas etapas e a secagem dos ossos, houve a calcinação em forno mufla (Quimis, Q318M35T-Br) a 900ºC por 8 horas e então, a moagem por 4 horas a 300 rpm em um moinho (Restech, PM 100), utilizando um vaso e esferas de zircônia em uma razão 6/1 (massa das esferas/ massa da amostra em pó).

Foram sintetizados dois grupos de composto bifásico por rota química, ambos seguindo o processo da mistura de 5,07 ± 0,01g de HAp natural HAp, 100 ml de água ultrapura e 0,3 ml de ácido fosfórico ($H_3(PO)_4$) sob agitação constante. Após a estabilização da reação, as soluções foram completamente secas a 80ºC, após essa etapa, cada grupo foi separado em três porções iguais, e tratadas termicamente em a 900, 1100 e 1200ºC, com a taxa de aquecimento de 3ºC/min, 120 minutos a temperatura fixa e resfriamento até temperatura ambiente.

Após o tratamento térmico as amostras foram moídas novamente em almofariz de ágata, e analisadas por μ-Raman e DRX. Os equipamentos utilizados foram o difratômetro de raios x (Shimadzu, XRD-700) e o espectrômetro Raman confocal (Bruker, SENTERRA). Para cada tratamento térmico foram produzidos 16 *scaffolds*, em pastilhas, utilizando como agente porogênico bicarbonato de amônia feitas com um molde a pressão de 35MPa e sinterizadas a 1070ºC. Cada amostra foi pesada em balança analítica (UW220D, Shimadzu), com precisão de 0,1mg.

O ensaio de bioatividade foi realizado com a produção de SBF (Kokubo e Takadama, 2006) e a imersão dos *scaffolds* tradados nas três temperaturas supracitas nos períodos (n=2) de: 8h e 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias. Após a imersão, as pastilhas foram novamente pesadas e o pH do meio de imersão foi aferido utilizando um pHmêtro (MS Tecnopon, MPA-210) com precisão de ± 0,1. Após cada período de imersão os *scaffolds* foram analisados pelas técnicas de DRX e μ-Raman. As configurações utilizadas para a técnica de DRX foram: radiação incidente CuKα, passo de 1,5º/min de 10 a 80º, já para a μ-Raman a configuração foi: laser de excitação em 532 nm focado na amostra com uma lente de ampliação de 20X, resolução de 3-5 cm^{-1} no intervalo de 1540 – 70 cm^{-1}.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1A) e B) mostram, respectivamente, os difratogramas e espectros Raman para as BCPs tratadas em 1100ºC, antes (t =0) e após a imersão em SBF. Na DRX foram indexadas as fases cristalinas β-TCP (JCPDS 09-0432) e $Ca_2P_7O_2$ – pirofosfato de cálcio (JCPDS 01-081-2257), sendo majoritária a fase β-TCP (~70%), o esperado seria um compósito de HAp e β-TCP, entretanto a formação da uma outra fase de fosfato de cálcio pode indicar excesso de $H_3(PO)_4$ com relação a massa utilizada de HAp. Na espectroscopia Raman também foi possível observar a formação da fase β-TCP com bandas de vibrações moleculares de P-O do grupo funcional PO_4^3 em 439 e 405 cm^{-1} do modo v_2; em 623 e 607 cm^{-1} associadas ao modo v_4; e em 1084, 1045 e 1013 cm_{-1} do modo v_3 e entre 990 – 930 cm^{-1} do modo v_1. Bandas referentes a outra fase de fosfato de cálcio, tais como em 1042 e 735 cm^{-1}, diferente da HAp, também podem ser observadas.

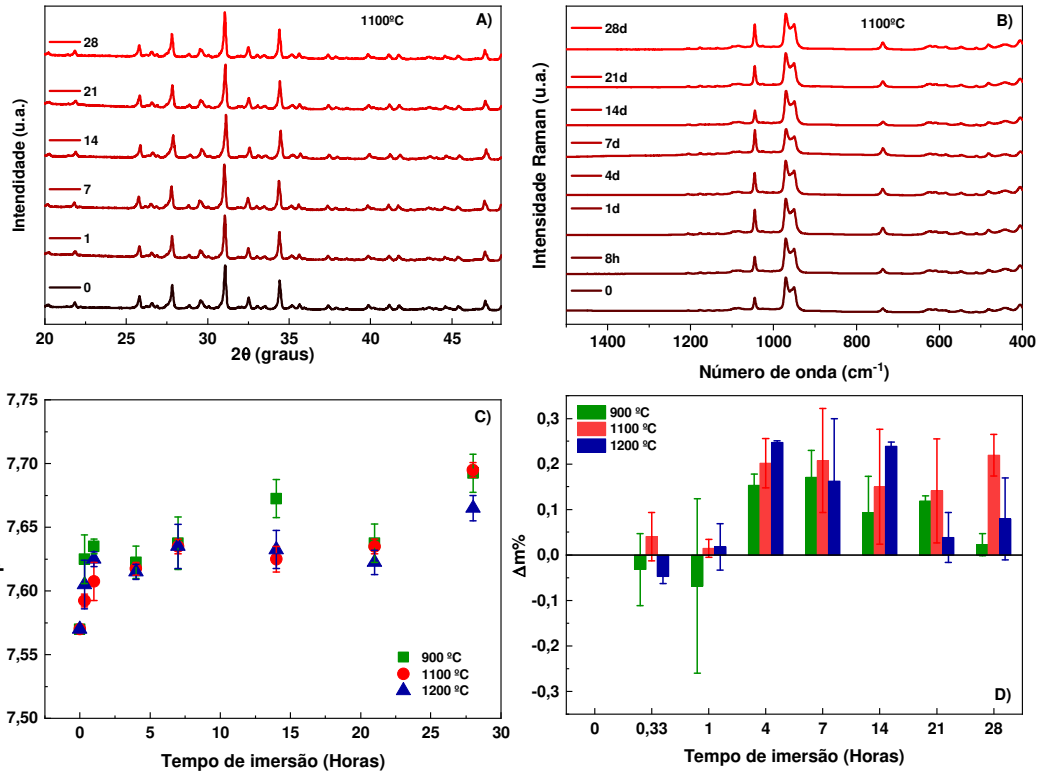


Figura 1 – BCPs tratadas em 900, 1100 e 1200ºC e submetidas a ensaio de bioatividade em SBF em diferentes períodos de imersão: A) difratogramas das BCPs, B) espectros Raman das BCPs, C) variação de pH do meio de imersão e D) variação de massa das BCPs.

Ao longo do tempo de imersão de 28 dias, não foram observadas alterações significativas nos difratogramas ou espectros Raman. Fatores como a espessura mais fina da camada apatítica formada sobre a superfície das BCPs e sua característica mais amorfa, podem ser limitantes para a observação da camada formada na imersão em SBF. Tanto a camada, quanto as BCPs são fosfatos de cálcio, no entanto, a camada é muito amorfa, quando comparada a cristalinidade da BCP, e se ainda for fina, comparada a espessura da BCP, torna-se uma limitação a

observação da formação da camada superficial pelas técnicas de DRX e Raman. O mesmo comportamento foi observado para as temperaturas de 900 e 1200ºC.

As Figuras 1 C) e D) apresentam a variação de pH do meio de imersão e a da massa das BCPs, respectivamente. Nota-se uma sútil variação de pH do meio de imersão ao longo dos 28 dias, com tendência de aumento, não sendo possível distinguir diferentes comportamentos entre as três temperaturas de tratamento térmico. A variação da massa da BCP, comparando antes e após a imersão em SBF, mostra após 4 dias de imersão uma tendência de aumento da massa ($\Delta m\% > 0$), indicando formação da camada apatítica superficial. As pequenas variações no pH e massa corroboram com a hipótese da formação de uma camada superficial apatítica fina, em comparação com a espessura da amostra.

CONCLUSÕES

O presente trabalho demonstrou a viabilidade da obtenção de biomateriais bifásicos à base de fosfato de cálcio por rota química em meio ácido, utilizando como matéria-prima ossos de peixe em fase adulta. As técnicas de DRX e espectroscopia Raman mostraram a presença majoritária da fase β-TCP para todas as temperaturas de tratamento térmico, demonstrando estabilidade estrutural ao longo de todo o período de imersão, sem degradação ou alteração de fase. Entretanto, observou-se a formação de uma fase de fosfato de cálcio, diferente da HAp, em decorrência de excesso de ácido fosfórico no processo de rota úmida. A formação da camada superficial apatítica não foi evidenciada, possivelmente por sua fina espessura e característica amorfa quando comparadas às BCPs, necessitando de técnicas de imagem com alta resolução para observação de sua presença.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, CNPq e Finep pelo apoio financeiro. Ao Comcap e a UEM pelo suporte técnico-científico.

REFERÊNCIAS

NEVES, J. G., et al. Effect of pH level and calcination on the production of calcium phosphates by acidic route of wet precipitation. **Cerâmica**, v. 67, n. 382, p. 236–243, 2021. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1590/0366-69132021673822965. Acesso em: 27 ago. 2026.

WEINAND, W. R. et al. Dynamics of the natural genesis of β-TCP/HAp phases in postnatal fishbones towards gold standard biocomposites for bone regeneration. **Spectrochim. Acta - A: Mol. and Biomol. Spectrosc**. v. 279, p.121407, 2022. Disponível em: http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2022.121407. Acesso em: 15 ago. 2026.

KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907–2915, 2006. Disponível em: http://dx.doi.org/ 10.1016/j.biomaterials.2006.01.017. Acesso em: 15 ago. 2026.