

MODELADO DE LA ESTRUCTURA DE HIDROXIAPATITAS DE CALCIO DOPADAS CON ZINC.

Ana E. Bianchi^{1,2}, José R. Guerra-López³, Jorge A. Güida^{2,3,4}, Verónica Ferraresi Curotto² y Gustavo A. Echeverría²,

1-IFLP, CCT-La Plata (CONICET) y Departamento de Física (FCE, UNLP). CC67- 1900 La Plata. Argentina.

2-Depto de Ciencias Básicas (FI, UNLP) 115 y 49. 115 y 49- 1900 La Plata. Argentina.

3-Departamento de Básicas, Universidad Nacional de Luján, rutas 5 y 7, CC 6700, Luján, Argentina.

4- CEQUINOR (CCT-La Plata), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, 1900, La Plata, Argentina.

1. Introducción

Entre los principales materiales desarrollados como sustitutos del tejido óseo se destacan los fosfatos de calcio. El estudio de estos compuestos, y en particular de la hidroxiapatita de calcio (CaHap), ha recibido especial atención debido a sus propiedades de bioactividad y biocompatibilidad tisular [1]. No obstante, la aplicación presenta algunas dificultades; entre ellas, su baja reabsorción en la zona de implante, hecho que limita su uso en ortopedia. Con el objetivo de mejorar las propiedades osteointegradoras de las hidroxiapatitas de calcio (CaHap) hemos sintetizado y caracterizado diversas apatitas sustituyendo Ca(II) por Zn(II). Dicho reemplazo resulta particularmente relevante dado que ambos cationes son muy abundantes en los sistemas biológicos y permite una más eficiente osteointegración [1]. Es conocido que la CaHap puede cristalizar en dos fases: hexagonal (grupo espacial $P63/m$) y monoclinica (grupo espacial $P21/b$). La fase más frecuente es la hexagonal, aunque la monoclinica es más estable termodinámicamente. 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 [2]. Los sólidos analizados mostraron una transformación de la fase monoclinica a hexagonal al incorporar una pequeña proporción de Zn a la estructura, cambio atribuible a la incorporación de un elevado porcentaje de agua a su estructura, lo cual traía como resultado una baja estabilidad térmica. Hemos encontrado que, sinterizando las muestras a 700 °C con un método similar al desarrollado por I. R. Gibson and W. Bonfield [3], es posible estabilizar la fase apatítica de CaHap dopados con pequeñas cantidades de Zn [(Zn,Ca)Hap]. Esta síntesis permite que la incorporación de agua sea inferior a lo reportado hasta el momento en la literatura [1, 2]. Sin embargo, se desconoce el efecto del Zn sobre la estructura cristalina, el tamaño de grano y porqué por encima de cierto porcentaje de Zn la fase apatítica se desestabiliza.

En el presente trabajo proponemos estudiar las propiedades microestructurales de (Zn,Ca)Hap empleando el análisis Rietveld a partir de datos de difracción de Rayos X en polvo. En particular nos interesa explorar la posible influencia del tamaño de grano y microesfuerzos (isotrópico o anisotrópico) en los patrones de difracción de rayos X de CaHap sustituidas con distintos porcentajes de Zn.

2. Parte experimental

2.1 Síntesis de la hidroxiapatita

La síntesis de CaHap se realizó siguiendo el método descrito por Gibson y Bonfield [3], basado en la reacción de neutralización entre $\text{Ca}(\text{OH})_2$ y H_3PO_4 . En una suspensión formada por la solución de $\text{Ca}(\text{OH})_2$ se adiciona el H_3PO_4 a una velocidad de 0,30 ml/seg y a una temperatura de 98 °C. Para ajustar el pH a 9 se utilizó una disolución de 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.

2.2 Síntesis de la hidroxiapatita dopada con Zn

Se siguió un procedimiento similar al descrito en el párrafo anterior. Para obtener una CaHap dopada con zinc, (Ca,Zn)Hap, se ajustó la composición de la solución en cada síntesis, regulando las cantidades relativas de calcio y zinc. La adición de la solución de $ZnCl_2$ se realizó gota a gota simultáneamente con el agregado del ácido fosfórico, 0,30 mol/L. Para regular el pH, en estos casos, se utilizó una solución de NaOH. Se sintetizaron muestras con 3, 5 y 10% en masa de Zn(II). Las muestras se nombraron teniendo en cuenta la relación $(Zn/(Ca+Zn)) \times 100$: CaHap, (Ca, Zn)Hap: Zn3, Zn5 y Zn 10.

2.3 Difracción de rayos X

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 $CuK\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), en el rango: $10 \leq 2\theta \leq 120^\circ$, con un paso de $0,02^\circ$ y un tiempo de conteo de 60s. Los patrones de difracción fueron analizados mediante el método de Rietveld utilizando el programa Fullprof [4]

3. Resultados y discusión

Los patrones de difracción de las muestras CaHap, Zn3, Zn5 y Zn 10 pueden verse en la Figura 1. En general, se reporta en la literatura una fase hexagonal para la CaHap a temperatura ambiente. Sin embargo, en el 2009, G Ma y X Y Lu [5] estudiando nanobelts de CaHap encontraron que también era posible que establezca una fase monoclinica. Por otro lado, en trabajos previos realizados en nuestro laboratorio, hemos encontrado que la CaHap preparada por el método propuesto con tratamiento térmico, cristaliza en el sistema monoclinico [6] mientras que sin tratamiento térmico en una superposición de la fase hexagonal y la monoclinica [7].

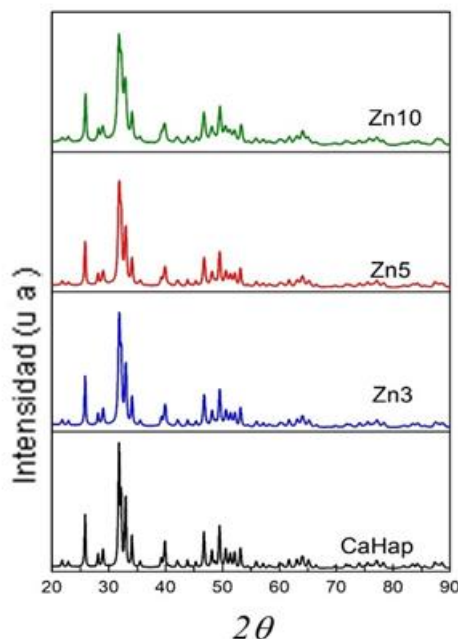


Figura 1. Patrones de difracción de rayos X en polvo para la muestra pura y dopadas con diferentes porcentajes de Zn.

En general se observa un ensanchamiento de los picos de difracción de rayos X, principalmente en el rango entre 25 y 35° en 2θ , cuando el % de Zn(II) incorporado en la estructura aumenta. Para comprender el origen de este ensanchamiento empleamos el método de análisis de Rietveld. Los refinamientos de Rietveld se realizaron usando el programa FULLPROF (Rodríguez - Carvajal 1990). Los modelos estructurales iniciales para la fase monoclinica y hexagonal fueron los propuestos por Elliot e Young [8] y Young [9] respectivamente. Inicialmente todas las muestras fueron analizadas partiendo de la fase monoclinica propuesta por Tanka [10] y empleando un refinamiento isotrópico, usando la función Pseudo Voigt y variando los parámetros correspondientes al background, escala, forma de pico, constantes de celda y posiciones atómicas. En todos los ajustes isotrópicos, los valores de los parámetros de acuerdos alcanzados (R_{wp} y R_{exp}) no fueron suficientemente aceptables debido principalmente a discrepancias en la intensidad de los picos ajustados con los medidos en el rango entre 25 y 35° en 2θ , como se muestra en la parte inferior de la Figura 3(a). Estas discrepancias podrían ocurrir como consecuencia que el ancho de pico (FWHM) en función del ángulo 2θ de difracción no varía de manera suave, sino que depende fuertemente de la dirección hkl de las reflexiones analizadas. Es sabido que el comportamiento “anómalo” en el FWHM con 2θ es consecuencia de efectos anisotrópicos relacionado con la microestructura de la muestra (tamaño de grano y esfuerzos). Comportamientos similares de las líneas del patrón de difracción de rayos X obtenido de CaHap ha sido reportado por Roome y Craig [11].

El análisis de líneas de difracción no superpuestas permite ver que el FWHM de los picos no varía de manera suave con el ángulo de difracción 2θ sino que depende fuertemente de la dirección hkl de las reflexiones analizadas. En particular este efecto es más evidente en aquellas reflexiones de índice de Miller (030), (022) y (031), como se muestra en la Figura 2.

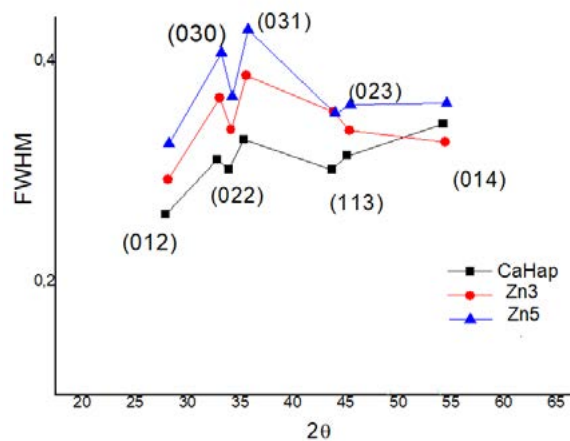


Figura 2. Ancho a mitad de altura (FWHM) versus el ángulo de difracción para las muestras CaHa, Zn3 y Zn5.

Para determinar el origen de las contribuciones anisotrópicas al ensanchamiento del FWHM, consideramos tres situaciones posibles. Partiendo de la fase monoclinica, inicialmente, modelamos los micro-esfuerzos empleando el modelo fenomenológico propuesto por Stephens [12] basado en el desarrollo de armónicos esféricos, con los coeficientes U, V, W y X igual a cero y el parámetro Y (tamaño de grano) refinado isotrópicamente. En segundo lugar, refinamos anisotrópicamente el tamaño de grano utilizando un modelo fenomenológico que simula una cristalita de forma arbitraria a partir de un desarrollo en armónicos esféricos (SPH) (Rodríguez-Carvajal, 2001), con V, W, Y e I_0 igual a cero y los parámetros U y X refinados isotrópicamente. Finalmente modelamos ambas contribuciones a la vez (micro-esfuerzos y tamaño de grano), manteniendo en cero los valores de los coeficientes U, V, W, X, e Y. De estos estudios preliminares pudimos concluir que la principal causa de la variación “anóma-

la” de FWHM provenía de la anisotropía en el tamaño de grano. En la parte superior de la Figura 3 (a) se muestra la mejora observada en el ajuste para el caso de la muestra Zn3 empleando la fase monoclinica y considerando la contribución anisotrópica del tamaño de grano en el rango $25 \leq 2\theta \leq 35$ y en la la Figura 3 (b) se muestran los ajustes en todo el rango estudiado para la fase monoclinica y hexagonal de la muestra Zn3. Se puede observar que el ajuste genera mejores residuos y esencialmente la diferencia entre el patrón de difracción y el ajuste es más plana.

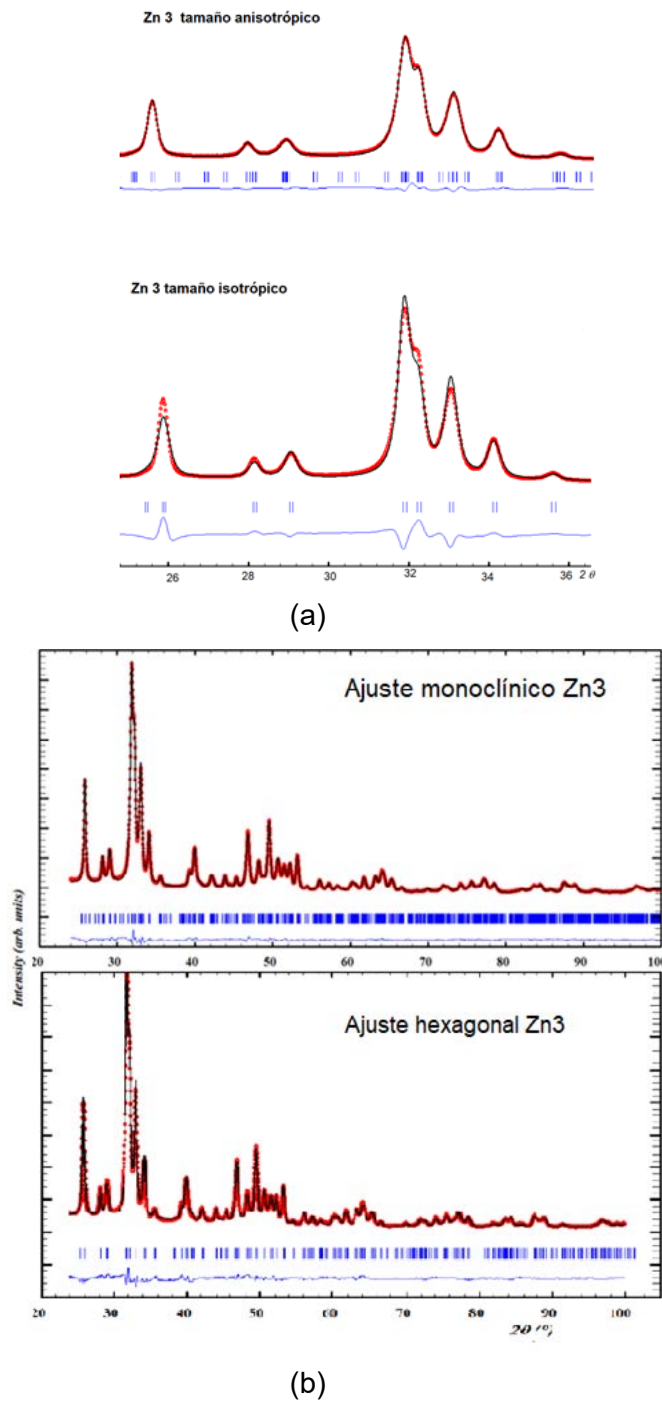


Figura 3. (a) Detalle del ajuste del patrón de difracción: comparación anisótropico-isotrópico, en el rango $25 \leq 2\theta \leq 35$, fase monoclinica, muestra Zn3. (b) Análisis de Rietveld con tamaño anisótropico para la fase monoclinica y hexagonal de la muestra Zn3.

Un resumen de los parámetros de acuerdo junto con la información estructural y morfológica de los ajustes con tamaño anisotrópico para la fase monoclinica se muestra en la Tabla 1.

Muestra	Monoclinica anisotrópica									
	a(Å)	b(Å)	c(Å)	γ	Vol (Å ³)	<D> (Å)	σ_{max}	R _{wp}	R _{exp}	χ^2
CaHap	9.4088	18.8364	6.8926	119.92	1058.70	296(75)	11.41(5)	7.20	4.06	3.14
Zn3	9.3743	18.7865	6.8843	119.83	1051.71	240(100)	19.40(6)	7.03	3.70	3.61
Zn5	9.3702	18.8016	6.8864	119.99	1052.29	188(51)	20.62(10)	7.01	3.58	3.84
Zn10	9.3985	18.8701	6.8661	120.08	1054.10	146(41)	24.26(10)	6.03	3.72	2.63

Tabla 1. Parámetros de celdas, bondad del ajuste, tamaño medio de la cristalita anisotrópica y micro-esfuerzo isotrópico correspondientes a la fase monoclinica.

El análisis de los parámetros de celda en función del % del catión Zn(II) incorporado en la estructura apatítica permite concluir que inicialmente para concentraciones de 3% y 5% de Zn(II) se observa una reducción de los parámetros de celda *a* y *b* mientras que *c* y γ se mantienen aproximadamente constantes. Estas variaciones resultan en una reducción pequeña del volumen de la celda unidad, aproximadamente de 7 Å³, respecto del de la celda sin dopar compatible con la incorporación del catión Zn(II) (en el sitio 2) de radio iónico más pequeño (0.74 Å) sustituyendo al Ca(II) (0.99 Å) próximo a los canales de los OH. Para concentraciones entre 3 y 5 % de Zn(II) en la estructura apatítica se observa un cambio de tendencia en el comportamiento de los parámetros de celda. Finalmente para la concentración de 10% de Zn(II) los parámetros *a* y *b* aumentan mientras que *c* se reduce (γ permanece sin cambios), observándose un pequeño incremento en el volumen de la celda. Comportamientos similares han sido observados por nosotros en otras muestras dopadas con Zn en el que además se incluyeron estudios de análisis químico, térmico e IR [7] donde se encontró que el aumento en los parámetros *a* y *b*, y el volumen de la celda era consecuencia de que la sustitución de los cationes Ca(II) por Zn(II) no es 1:1 sino que en la estructura se crean vacancias que promueve el ingreso de agua en los canales de los OH. Por otro lado, la reducción en el parámetro *c* podría ser consecuencia de que a estas concentraciones parte de los cationes Zn(II), sustituyen al Ca(II) en el sitio 1.

En la columna 7 y 8 de la Tabla 1 se lista el valor promedio del tamaño aparente (<D>) y del máximo de los micro-esfuerzos (σ_{max}) junto con las desviaciones estándar de las distribuciones entre paréntesis. Allí se puede observar que para % de Zn(II) en aumento el tamaño de grano se reduce al mismo tiempo que aumentan los micro-esfuerzos. El incremento de los micro-esfuerzos es consistente con la idea que a mayor % de Zn aumentan las vacancias de cationes Ca(II) presentes en la estructura y por ende aumenta el desorden estructural promoviendo el ingreso de agua en los canales OH.

Por otro lado, si bien los valores R_{wp}, R_{exp} y χ^2 listados en la Tabla 1, para las muestras analizadas, indican que alcanzamos ajustes suficientemente confiables, considerando solamente la fase monoclinica y una distribución anisotrópica del tamaño de grano, es sabido que la distribución de los picos de intensidad del patrón de difracción de rayos X asociado a la fase hexagonal difiere muy poco de la correspondiente a la fase monoclinica. Por tal motivo nos propusimos evaluar, si con los datos disponibles, era posible discernir alguna contribución de la fase hexagonal al patrón de difracción de rayos X. En la Tabla 2 se listan los resultados de los ajustes considerando el tamaño anisotrópico y los micro-esfuerzos isotrópicos para la fase hexagonal.

Muestra	Hexagonal anisotrópica								
	a(Å)	b(Å)	c(Å)	Vol(Å ³)	<D>(Å)	σ_{max}	R _{wp}	R _{exp}	χ^2
CaHap	9.4159	9.4159	6.8927	529.23	266(38)	13.96(2)	7.65	4.17	3.36
Zn3	9.3875	9.3875	6.8849	525.45	224(50)	21.46(4)	7.07	3.73	3.55
Zn5	9.3861	9.3861	6.8866	525.43	179(39)	23.44(1)	7.19	3.64	3.9
Zn10	9.4162	9.4162	6.8699	527.51	141(30)	25.07(5)	6.33	3.84	2.71

Tabla 2. Parámetros de celdas, bondad del ajuste, tamaño medio de la cristalita anisotrópica y micro-esfuerzo isotrópico correspondientes a la fase hexagonal.

De la comparación de las Tablas 1 y 2 se desprende que para ambas fases los factores de acuerdo alcanzados son de calidad comparable, no pudiendo al presente, con los datos de rayos X disponibles, decidir si las muestras analizadas en el presente estudio corresponden a una fase monoclinica, una hexagonal o una mezcla de ambas. El análisis de Rietveld con tamaño asimétrico se exhibe en la Figura 3(b). Por otro lado, para ambos casos, se observan comportamientos similares tanto en los parámetros de celda, como en las variaciones del tamaño de grano promedio <D> y los micro-esfuerzos σ_{max} . Por lo que podemos concluir que independientemente de la fase de las muestras analizadas la incorporación del catión Zn(II) en la estructura origina una reducción en el tamaño de grano y un aumento de los micro-esfuerzos compatible con el aumento de las vacancias de Ca(II) y por ende del desorden y el ingreso de agua en los canales OH de la estructura.

Conclusiones

El análisis de los resultados anteriores indica que el ensanchamiento de las líneas de difracción de rayos X tiene dos contribuciones, reducción del tamaño de cristalita y aumento de los micro-esfuerzos con el aumento del % del catión Zn(II) incorporado en la estructura apatítica. El modelo que describe mejor a las muestras estudiadas es tamaño anisotrópico. La morfología de la muestra no depende del modelo elegido para el análisis, ambas fases monoclinica y hexagonal contribuyen de la misma manera. Debido a que los factores de bondad de la fase monoclinica y hexagonales son similares, no podemos afirmar que las muestras estudiadas hayan cristalizado en una de las dos fases o en una mezcla de ambas. Otras técnicas como XANES, que nos permiten ver la geometría de coordinación, o medidas de difracción en sincrotrón que posibilita obtener mayor intensidad de radiación de rayos X sobre la muestra, podrían a dilucidar esta cuestión.

Referencias

- [1] Dorozhkin S V. Biomaterials, 2010; 31: 1465–1485
- [2] Guerra-López J.R., Echeverría G.A., Güida J.A. et al. J Phys Chem Solids. 2015; 81: 57-65.
- [3] I. R Gibson, W. Bonfield. J. of Materials Science: Materials in medicine. 2002, 13: 685-693.
- [4] Rodríguez-Carvajal J., Physica B. 192 (1993) 55-69
- [5] Guobin Ma and Xiang Yang Liu,
- [6] <https://www.ing.unlp.edu.ar/sitio/investigacion/archivos/jornadas2017/trabajos-completos-4tas-Jornadas.pdf pag229 -235>.
- [7] José R. Guerra-Lopez et al enviado a Solid State Sciences
- [8] Suetsugu Y., Ikoma T., Tanaka, J., Key Engineering Materials. 2001; 192: 287-290
- [9] Young, R. et al., Acta Cryst B. 1968; 24, 38.
- [10] Tanaka Tanaka M, Kayama A, Ito Y, Kato R (1998) J Mater Sci 33:3351. doi:10.1023/A:1013241531412
- [11] Christopher M. Roome and Craig D. Adam Biomaterials 1995; 16: 691-696
- [12] P.Stephen J.Appl. Cryst. 1999,32: 281-289.