



PRODUÇÃO DE HIDROXIAPATITA DE CÁLCIO PARA USO EM VOLUMIZAÇÃO FACIAL E BIOESTIMULAÇÃO DE COLÁGENO

LUÍS G. F. MAGALHÃES^{1*}, JOSÉ R.D. FINZER¹, MAURO L. BEGNINI¹, ASSIS, L. CAMPOS¹

¹Universidade de Uberaba, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química Faculdade de Engenharia Química

*e-mail: luis.gustavo02@hotmail.com

RESUMO - A hidroxiapatita de cálcio (HAp), cuja fórmula química é representada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é um fosfato de cálcio com características estruturais e químicas semelhantes à estrutura mineral dos ossos e dentes humanos devido à sua grande biocompatibilidade e bioatividade. É comumente aplicada na produção e comercialização de produtos cosméticos, de higiene e também na engenharia de tecidos e na medicina regenerativa. Este componente é considerado o maior tecido duro humano, que é constituído por até 69% da massa óssea natural. A HAp é encontrada em fontes naturais como casca de ovo, ossos bovinos, conchas e corais. A obtenção pode ser feita através de um método reacional onde utiliza-se um reator ou através da técnica de sol-gel. O objetivo deste estudo foi sintetizar a HAp. Os finos foram avaliados usando ajuste da porcentagem cumulativa *undersize*, obtendo o diâmetro de Sauter do HAp sintetizado de 0,0874 mm. O rendimento do processo foi de 86,26%. Acredita-se que o estudo possa servir como uma contribuição para produção de HAp a ser utilizado em várias aplicações em engenharia e biomédica.

INTRODUÇÃO

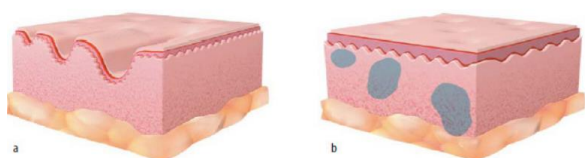
A hidroxiapatita (HAp), cuja fórmula química é representada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é um fosfato de cálcio com características estruturais e químicas semelhantes à estrutura mineral dos ossos e dentes humanos, devido à sua elevada biocompatibilidade e bioatividade (Farzadi *et al.*, 2011). É comumente aplicada na produção e comercialização de produtos de cosméticos, higiene, engenharia de tecidos e na medicina regenerativa (Dolez; Debia, 2015), (Oberbek *et al.*, 2018). Este componente é considerado o maior tecido duro humano, constituindo até 69% da massa óssea natural (Bonan *et al.*, 2014). A HAp é encontrada em fontes naturais como casca de ovo, ossos bovinos, conchas e corais. A mesma pode ser obtida por métodos químicos como reação em estado sólido e síntese por combustão, em via úmida e síntese sol-gel.

A HAp é encontrada em fontes naturais como casca de ovo, ossos bovinos, conchas e corais. A mesma pode ser obtida por métodos químicos como reação em estado sólido e síntese por combustão, em via úmida e síntese sol-gel. A substância é amplamente utilizada na substituição de tecido duro danificado como no reparo de tecido ósseo, reconstrução maxilo-facial e cirurgias ortopédicas, visto que apresenta propriedades de biocompatibilidade, fornecendo uma estrutura apropriada para infiltração celular, vascularização e formação de cartilagem (Lara-Rico *et al.*, 2020), (Bonan *et al.*, 2014).

A hidroxiapatita tem sido utilizada na medicina há muitos anos por proporcionar uma boa biocompatibilidade, baixa densidade, estabilidade química, elevada resistência ao desgaste e composição semelhante à fase mineral óssea. Os fosfatos de cálcio podem ser encontrados na forma compacta, porosa ou pó, sendo a HAp mais eficiente devido à sua estabilidade diante das mudanças de pH,

temperatura e composição de fluido fisiológico (Lara-Rico *et al.*, 2020).

Este fosfato de cálcio age como um bioestimulador de colágeno injetável sintético, e quando injetado, o gel carreador se dissipa lentamente, de 2 a 3 meses após a aplicação, com uma correção imediata no local. Apenas as microesferas permanecem na região de aplicação, com uma indução de resposta fibroblástica e estimulação da formação do novo colágeno que irá atuar na sustentação de novos tecidos formados (Sherman; Yang; Meyers, 2015). Ver a Figura 1, representação esquemática mostrando tipos de falhas dérmicas e resultados após aplicação do preenchimento (Jones, 2008).



(JONES, 2008).

Figura1: Correção de Falhas Dérmicas.

O colágeno é o principal componente encontrado na pele, nos ossos e em outros tecidos humanos, como vasos sanguíneos e cartilagem. Sua boa adesão celular se deve ao fato dele ser facilmente degradado e reabsorvido pelo corpo, entretanto, suas propriedades mecânicas são relativamente baixas em comparação com o osso (Bonan *et al.*, 2014); (Sherman; Yang; Meyers, 2015).

As fibrilas de colágeno e suas redes agem como uma matriz extracelular para grande parte dos tecidos conjuntivos moles e duros (ossos, tendão, córnea, cartilagem), e devido à sua estrutura, promove deposição de minerais e favorece à adesão celular (Cen *et al.*, 2008).

Devido à estimulação que a hidroxiapatita possui na síntese do colágeno que age na reconstituição de tecidos, a importância se dá no tratamento de câncer de pele, queimaduras, e outras lesões, além do uso estético, ver a Figura 2.

Diante do exposto e da relevância que a HAp possui em diversos tratamentos, o objetivo deste trabalho é efetuar a produção sintética da hidroxiapatita de cálcio e efetuar caracterização das partículas usadas na bioestimulação de

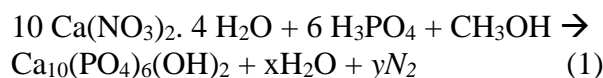
colágeno e volumização facial e espera-se que pode se tornar uma contribuição para obtenção de tão importante produto químico.



Figura 2: Rosto antes e após oito semanas de aplicação.

MATERIAL E MÉTODOS

Um dos métodos de obtenção de hidroxiapatita de cálcio consiste na síntese a partir da reação do nitrato de cálcio tetra-hidratado, com ácido fosfórico e metanol, levando a formação do produto esperado e água. Na Equação (1) está representada a reação de obtenção da hidroxiapatita de cálcio.



Os reagentes foram adicionados em proporção estequiométrica em béquer: 30,070 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ e 5,859 g de H_3PO_4 . Em seguida adicionou-se 120 mL de metanol (CH_3OH), o que possibilitou que a solução ficasse transparente. Essa metodologia foi descrita em Santos *et al.* (2005).

Após 30 minutos de reação à temperatura ambiente e sob agitação, o sistema evoluiu para uma solução límpida e transparente. A reação teve continuidade, com denominação envelhecimento, por 24 horas, disposta em temperatura ambiente, em média de 25°C. Em seguida, efetou-se a evaporação de parte do solvente em estufa mantida à temperatura de 80°C em um tempo de 2 horas, ocorrendo a obtenção de um líquido viscoso de cor branca.

O material obtido foi mantido em estufa na temperatura de 120°C por mais 12 horas,

evoluindo para um sólido branco conforme pode ser observado na Figura 3.



Figura 3: Aspecto do material sólido após 12 horas em estufa à 120°C.

O sólido foi moído com um pilão em almofariz, manualmente, até a obtenção de um pó fino que em seguida foi calcinado em mufla (Modelo 318.D 21 e Marca QUIMIS) mantida em uma temperatura de 700°C por 2 horas. Na Figura 4 é apresentado um fluxograma com as etapas da obtenção da hidroxiapatita de cálcio.

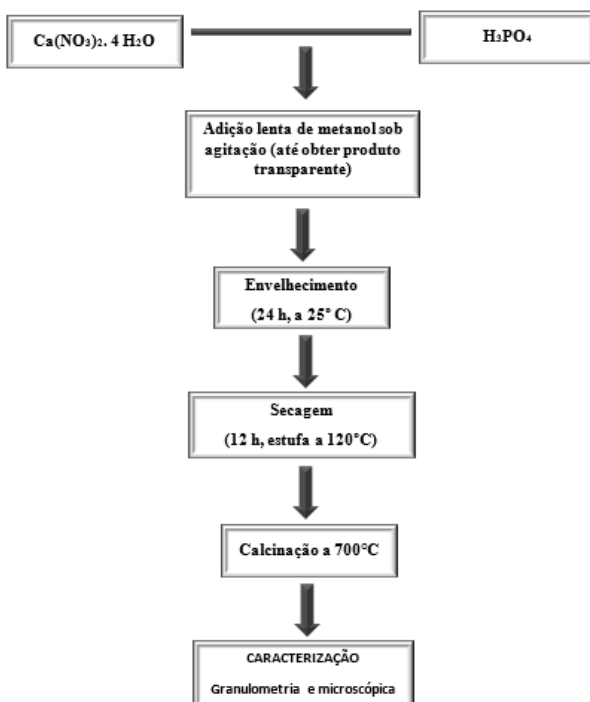


Figura 4: Fluxograma das etapas de formação de hidroxiapatita de cálcio.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização do Pó

O produto foi analisado em um microscópio (KEN-A VISION TT-1500-N), com ampliação de 4X e 10X e as imagens são mostradas na Figura 5. Não se evidencia uma uniformidade nas partículas, devendo a trituração ser efetuada em micronizador ou outro equipamento para se obter partículas com tamanhos requeridos para aplicações específicas em biomedicina, conforme mostrado na Figura 6 (Muñoz, 2011).

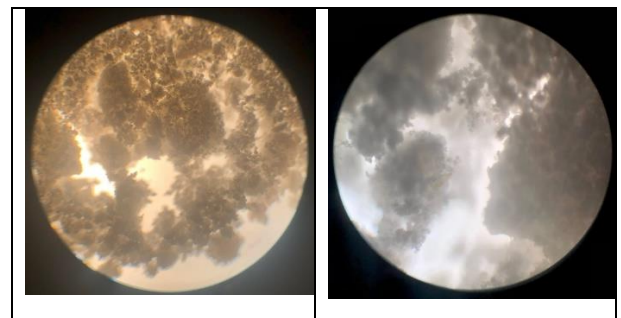


Figura 5. Material ampliado em 4X e 10X respectivamente.

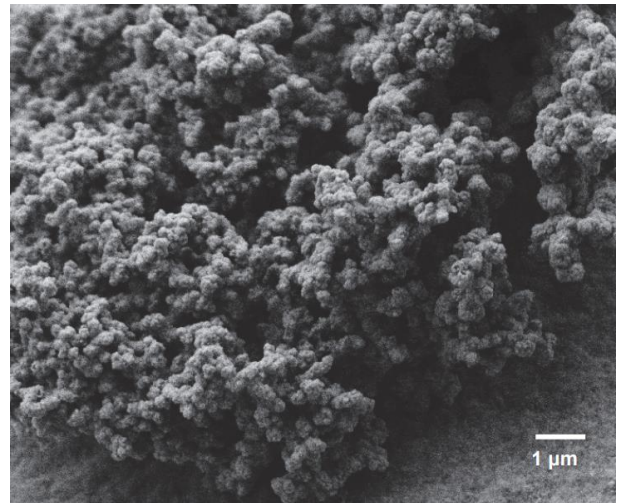


Figura 6: A imagem consiste em uma ampliação em que o tamanho de cada partícula é da ordem de 0,0003 mm.

Utilizando as peneiras da série Tyler com agitação vibratória na intensidade 4 por 5 minutos (Vibrador BERTEL) tem-se a quantidade do material retido em cada peneira como está representado na Tabela 1. O ensaio indicou que ocorreu a formação de material

muito fino menor que 0,248 mm que consiste na abertura da peneira de 60 malhas.

Tabela 1: Material retido nas peneiras da série Tyler.

Malha	Quantidade retida (g)
14	0,125
24	0,897
35	1,667
60	1,470
Fundo	4,003

Finos obtidos por moagem tendem a seguir uma linha reta em escala duplo logarítmica da porcentagem cumulativa em massa (*undersize*), em função da malha da peneira em que as partículas ficaram retidas (MULLIN, 2001). A técnica possibilita obter a análise granulométrica dos finos ao ajustar dados experimentais à Equação (2).

$$P = b \cdot a^m \quad (2)$$

sendo: P a porcentagem cumulativa “*undersize*”; a o tamanho das partículas, b e m parâmetros do modelo.

Os resultados da análise granulométrica foram locados em escala duplo logarítmica, ver a Figura 7 e obteve-se os parâmetros de ajuste da Equação (1): b = 90 e m = 0,349. A equação foi usada para obter resultados extrapolados para os finos, ver a Tabela 2.

O diâmetro médio de Sauter das partículas foi estimado usando a Equação (3), obtendo o diâmetro de Sauter igual a 0,0874 mm.

$$D_s = \frac{1}{\sum \frac{x_i}{D_i}} \quad (3)$$

Os cálculos referentes à síntese da obtenção de hidroxiapatita de cálcio foram realizados conforme a estequiometria da reação, conforme a Equação (1).

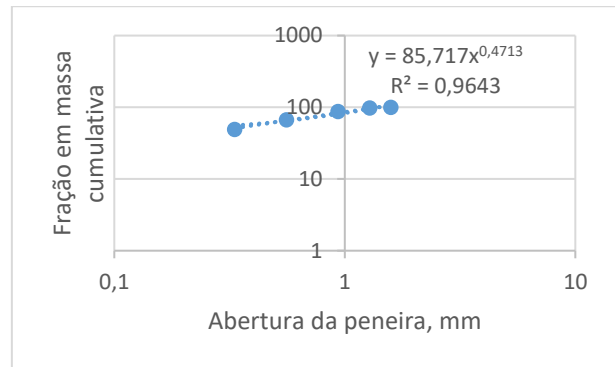


Figura 7: Ajuste dados experimentais.

Tabela 2: Tabela 2. Interpretação dos resultados experimentais com extrapolação dos finos.

Malhas	d _i médio (mm)	x _i fração mássica HAP)	% cumulativa (<i>undersize</i>)	x _i /d _i (mm ⁻¹)
10		0		
12	1,583	0	100	0
14	1,283	0,0153	98,47	0,119
24	0,935	0,110	87,47	0,117
35	0,559	0,204	67,07	0,365
60	0,333	0,180	49,07	0,540
100	0,198	0,0292	46,15	0,147
200	0,111	0,0941	36,74	0,847
400	0,056	0,080	28,74	1,428
-	0,019	0,1497	1,00	7,879
			∑ = 1,000	∑ = 11,442

Balanco Estequiométrico na Obtenção de Hidroxiapatita de Cálcio

$$\text{Massa de HAP} = \frac{30,070 \text{ g} \cdot 1004 \text{ g/mol}}{10 \cdot 236 \text{ g/mol}} =$$

12,792 g, o que consiste na massa teórica de hidroxiapatita de cálcio.

Foi feita a proporção considerando o resíduo retido no reator antes de transferir para o cadinho de porcelana, onde foi efetuada a calcinação, obtendo a massa de produto de 11,034 g, com isso o rendimento na produção de HAp foi 86,26%. O rendimento encontrado na literatura foi de 94,3% (VALENTE, 1999).

CONCLUSÃO

A hidroxiapatita foi sintetizada por meio do processo sol-gel, utilizando-se na síntese, os reagentes: ácido fosfórico e o nitrato de cálcio tetra-hidratado em meio de metanol. As amostras de HAp sintetizadas foram tratadas termicamente.

Os finos de hidroxiapatita foram avaliados usando ajuste da porcentagem cumulativa *undersize*, obtendo o diâmetro de Sauter da HAp sintetizada de 0,0874 μm .

O resultado obtido em comparação com os valores teóricos, foi quantificado um rendimento de 86,26% na produção de hidroxiapatita de cálcio pelo método do sol-gel. Esse rendimento foi ligeiramente menor do que o obtido por (Valente, 1999).

Acredita-se que o estudo possa servir como uma contribuição para produção de HAp a ser utilizada em várias aplicações das engenharias e áreas biomédicas.

REFERÊNCIAS

- BONAN, R.F.; BONAN, P.R.F.; BATISTA, A.U.D.; OLIVEIRA, J.E.; MENEZES, R.R.; MEDEIROS, E.S. (2014), Methods of microstructural strengthening of hydroxy Apatite, *Cerâmica*, Vol 60, p. 402–410.
- CEN, L.; LIU, W.; CUI, L.; ZHANG, W.; CAO, Y. (2008), Collagen tissue engineering: Development of novel biomaterials and applications. *Pediatric Research*, Vol 63, n. 5, p.492–496. doi:10.1203/PDR.0b013e31816c5bc3.
- DOLEZ, P. I.; DEBIA, M. (2015), Overview of Workplace Exposure to Nanomaterials. *Nanoengineering*, Elsevier, Amsterdam, p.427–484. doi:10.1016/b978-0-444-62747-6.00014-2.
- FARZADI, A.; SOLATI-HASHJIN, M.; BAKHSHI, F.; AMINIAN, A. (2011), Synthesis and characterization of hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate nanocomposites using microwave irradiation, *Ceramics International*, Vol 37, n. 1, p.65–71. doi:10.1016/j.ceramint.2010.08.021.
- JONES, D. (2008), Preenchedores dérmicos. In: GOLDBERG, D. J. Rejuvenescimento Facial, Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 218p.
- LARA-RICO, R.; CLAUDIO-RIZO, J. A.; MÚZQUIZ-RAMOS, E. M.; LOPEZ-BADILLO, C. M. (2020), Hidrogeles de colágeno acoplados con hidroxiapatita para aplicaciones en ingeniería tisular. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, Vol 23, p. 1–12, doi:10.22201/fesz.23958723e.2020.0.224.
- MULLIN, J. W. (2001), *Crystallization*. 4th. Butterworth Heinemann, Oxford. 594p.
- MUÑOZ, E.M.R. (2011), Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization. In: *Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges*. Universidad Nacional Autónoma de México. 2011.
- OBERBEK, P.; BOLEK, T.; CHLANDA, A.; HIRANO, S.; KUSNIERUK, S.; ROGOWSKA-TYLMAN, J. (2018), Characterization and influence of hydroxyapatite nanopowders on living cells, *Beilstein Journal of Nanotechnology*, Vol 9, n. 1, p.3079–3094. doi:10.3762/bjnano.9.286.
- SANTOS, M. L., FLORENTINO, A. O., SAEKI, M. J., APARECIDA, A. H., FOOK, M. V. L., GUASTALDI, A. C. (2005), Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. *Eclética Química*, Vol 30, n. 3, p.29–35, doi:10.1590/s0100-46702005000300004.
- SHERMAN, V. R.; YANG, W.; MEYERS, M. A. (2015), The materials science of collagen. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, Vol 52, p.22–50.
- VALENTE, M.C. (1999), Síntese de hidroxiapatita e sua aplicação como biomaterial. Tese Doutorado - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares - IPEN/CNEN-SP, São Paulo. 120 p.