UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

"Nanocompósitos de fosfato de cálcio com óxido de titânio –Síntese e caracterizações"

José Hundemberg Pereira Barbosa

João Pessoa - PB – Brasil

Maio/2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

"Nanocompósitos de fosfato de cálcio com óxido de titânio – Síntese e caracterizações"

José Hundemberg Pereira Barbosa

Esta obra corresponde à redação final da Dissertação de mestrado apresentada pelo aluno **José Hundemberg Pereira Barbosa** ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal da Paraíba.

Orientadora: Prof.ª Dr.ª Maria Gardênnia da Fonseca

* Bolsista CAPES

João Pessoa - PB – Brasil

Maio/2012

B238n Barbosa, José Hundemberg Pereira.
Nanocompósitos de fosfato de cálcio com óxido de titânio – síntese e caracterizações / José Hundemberg Pereira Barbosa.-- João Pessoa, 2012.
98f. : il.
Orientadora: Maria Gardênnia da Fonseca
Dissertação (Mestrado) – UFPB/CCEN
1. Química. 2. Fosfato de cálcio. 3. Monetita. 4. Dióxido de titânio. 5. Sol-gel.

UFPB/BC CDU: 54(043)

Nanocompósitos de fosfato de cálcio com óxido de titânio – Síntese e caracterizações.

Dissertação de mestrado de José Hundemberg Pereira Barbosa aprovada pela banca examinadora em 18 de maio de 2012:

Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca
Orientadora/Presidente

Profa. Dra. Ane Josana Dantas Fernandes
Examinadora

Prof. Dr. José Geraldo de Paiva Espínola
Examinador

Dedico este trabalho ao Criador, aquele que nos dá a sabedoria necessária para desvendar muitos dos mistérios a nós apresentados e que ao mesmo tempo é o maior de todos os mistérios.

Dedico ainda este trabalho a minha esposa, Laura, que caminhou ao meu lado em todos os momentos. E aos meus pais, Ramiro e Edlene, cujo trabalho e empenho me levaram a ser quem sou. E também aos meus irmãos e irmã a quem tanto amo.

"Os químicos são uma estranha classe de mortais, impelidos por um impulso quase insano a procurar seus prazeres em meio a fumaça e vapor, fuligem e chamas, venenos e pobreza, e no entanto, entre todos esses males, tenho a impressão de viver tão agradavelmente que preferiria morrer a trocar de lugar com o rei da Pérsia."

Physica Subterranea (1667 J. J. Becher)

Agradecimentos

✓ À Prof[a] Dr[a]. Maria Gardênia da Fonseca por sua orientação, pela confiança e oportunidade de realizar este e tantos outros trabalhos;

✓ Aos professores do LCCQS, Dr[a]. Luiza Nobuko Hirota Arakaki, Dr. José Geraldo de Paiva Espínola, Dr. Severino Francisco de Oliveira,Dr. Fernando Volpi de Oliveira, Dr[a]. Kaline Sousa,Dr. Ercules Epaminondas de Sousa Teotonio, Dr. Wagner Mendonça Faustino e Dr Júlio Santos Rebouças por toda colaboração e apoio;

✓ Ao amigo Dariston que muito me ajudou durante o trabalho e a todos os colegas do laboratório, que fazem ou fizeram parte da equipe durante o desenvolvimento deste trabalho:André, Ane, Edson, Evandro, Franklin, Francisco, Fernanda, Georgia, Graycy, Haryane, Handerson, Israel, Iran, Katharinne, Laura, Michele, Marcia, Mirela, Oberto, Raquel, Ramon, Saloana, Ulysses,Vera, Victor Hugo;

✓ Em especial a Ane e a Oberto por me ensinarem muito do que sei e me guiarem nos caminhos pedregosos dos fosfatos de cálcio;

✓ A CAPES pelo apoio financeiro;

✓ Ao Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho da UFPI pelas análises de DRX;

✓ Ao professor Severino Jackson Guedes de Lima da UFPB pelas análises de TG e MEV.

RESUMO

Título: Nanocompósitos de fosfato de cálcio com óxido de titânio - Síntese e caracterizações

Autor: José Hundemberg Pereira Barbosa

Orientadora: Profª. Drª. Maria Gardênnia da Fonseca

As cerâmicas de fosfato de cálcio têm sido investigadas devido as suas propriedades tais como biocompatibilidade e ausência de toxicidade, possibilitando sua utilização na área médica sendo aplicadas como substituto do tecido ósseo em implantes. No entanto, outras características são importantes tais como bioafinidade, resistência mecânica e química. Devido à dificuldade de se obter tais propriedades nos fosfatos puros, nanocompósitos foram propostos por combinarem as propriedades mecânicas e físicas dos materiais bioinertes com as propriedades biológicas das biocerâmicas. Assim neste trabalho, nanocompósitos do fosfato de cálcio monetita ($CaHPO_4$) com dióxido de titânio foram sintetizados pela hidrólise controlada de tetrabutóxido de titânio em composições variando de 1 a 10% em soluções aquosas de cloreto de cálcio e fosfato de amônio. Os sólidos foram caracterizados por difratometria de raios-X, espectroscopia na região do infravermelho, análise termogravimétrica e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados mostraram que houve uma incorporação do dióxido de titânio na superfície da monetita sem perda da cristalinidade e alteração morfológica. A avaliação da estabilidade química dos materiais mostrou que os nanocompósitos apresentaram resistência à dissolução em pH abaixo de 6,0. Os ensaios de bioatividade indicaram que o nanocompósito M2 apresentou melhor desempenho que os demais.

Palavras chave:Fosfato de cálcio, monetita, dióxido de titânio, sol-gel.

ABSTRACT

Title: Nanocomposites of calcium phosphate with titanium oxide – Synthesis and characterizations

Author: José Hundemberg Pereira Barbosa

Supervisor: Profª Drª Maria Gardênnia da Fonseca

Calcium phosphate ceramics have been investigated due their properties such as absence of toxicity and biocompatibility, enabling their use in medicine field being applied as a substitute for bone implants. However, other characteristics are required such as bioaffinity, mechanical and chemical resistances. Due to the difficulty of obtaining such properties in the pure phosphates, composites were proposed by combining the mechanical and physical properties of bio inert materials to the biological properties of bioceramics. In this work, nanocomposites of calcium phosphates and titanium oxide were synthesized, by the controlled hydrolysis of titanium tetrabutoxide in compositions between 1 and 10% in aqueous solutions of calcium chloride and ammonium phosphate. The solids were characterized by X-ray diffraction, infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis and scanning electron microscopy. The results showed the incorporation of titanium oxide onto phosphate surface without loss of crystallinity and morphological changes. Evaluation of chemical stability of the nanocomposites showed that they were resistant to dissolution at pH below 6.0. The bioactivity tests showed that the nanocomposite containing 2% of titanium oxide was performed better than others.

Key words: Calcium phosphate, monetite, titanium oxide, sol-gel.

Sumário

1 Introdução 2
1.1 Objetivos 4
1.1.1 Objetivo geral 4
1.1.2 Objetivos específicos 4
1.2 Revisão da literatura 5
1.2.1 Ortofosfatos de cálcio 5
1.2.2 Fosfato dicálcio anidro ou monetita 7
1.2.3 Síntese de fosfatos de cálcio 12
1.2.4 Biomateriais 15
1.2.5 Titânio 20
1.2.6 Fosfatos de cálcio com óxidos metálicos 21
2 Metodologia 25
2.1 Reagentes 25
2.2 Preparação das soluções 26
2.2.1 Solução de fluido corpóreo simulado (SBF) 26
2.2.2 Soluções para síntese dos fosfatos 26
2.3 Síntese do fosfato de cálcio monetita 27
2.4 Síntese dos nanocompósitos monetita/TiO_2 29
2.5 Teste de estabilidade química dos fosfatos 30
2.6 Ensaios de avaliação de bioatividade 31
2.7 Caracterizações 31
2.7.1 Difratometria de raios-X 31
2.7.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho 32

2.7.3 Termogravimetria 33
2.7.4 Microscopia eletrônica de varredura 33
3 Resultados e discussão 35
3.1 Caracterização morfológica e estrutural do fosfato de cálcio monetita e na forma de nanocompósitos 35
3.1.1 Difração de raios-X 35
3.1.2 Espectroscopia na região do infravermelho 38
3.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) 42
3.1.4 Análise termogravimétrica 47
3.2 Testes de estabilidade química 51
3.3 Avaliação da bioatividade 53
3.4 Estruturas sugeridas para os nanocompósitos 62
4 Conclusões 65
5 Referências Bibliográficas 68

Lista de figuras

Figura 1.1 Estrutura da célula unitária da monetita. Adaptado de (MATHEW e TAKAGI, 2001). 8

Figura 1.2 Estrutura tridimensional da célula unitária da monetita a) apresentando os átomos de cálcio, fósforo, oxigênio e hidrogênio e b) apresentando os tetraedros de fosfato e os poliedros contendo os íons cálcio nos interstícios. 9

Figura 1.3 Progressão da estrutura da monetita de baixa (*P*1) e alta (*P*1)temperatura, mostrando os tetraedros de PO_4 e as ligações de H, adaptado de (TORTET et al., 1997). 10

Figura 1.4 Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $Ca(OH)_2$-H_3PO_4-H_2O a 37ºC, isotermas de solubilidade mostrando log[Ca] e pH das soluções em equilíbrio com vários sais. 11

Figura 2.1 Sistema utilizado para a síntese do fosfato de cálcio puro. 28

Figura 2.2 Representação esquemática do procedimento de síntese para obtenção do fosfato de cálcio puro. 28

Figura 2.3 Representação esquemática do procedimento de síntese para obtenção dos nanocompósitos. 30

Figura 3.1 Difratograma de raios-X da monetita pura. 35

Figura 3.2 Difratogramas de raios-X da monetita e dos nanocompósitos **–** M1, **–**M2, **–**M5 e **–**M10. 36

Figura 3.3 Espectro de absorção na região do infravermelho para a monetita pura. 39

Figura 3.4 Espectros de absorção na região do infravermelho para a monetita (**–**) e os nanocompósitos M1(**–**), M2(**–**), M5(**–**) e M10(**–**). 41

Figura 3.5 Espectro de infravermelho para o dióxido de titânio. 42

Figura 3.6 Microscopia eletrônica de varredura para a monetita pura. 42

Figura 3.7 Microscopia eletrônica de varredura para o M1. ... 43
Figura 3.8 Microscopia eletrônica de varredura para o M2. ... 43
Figura 3.9 Microscopia eletrônica de varredura para o M5. ... 44
Figura 3.10 Microscopia eletrônica de varredura para o M10. 44
Figura 3.11 Análise de EDS para a monetita. 45
Figura 3.12 Análise de EDS para o nanocompósito M1. 45
Figura 3.13 Análise de EDS para o nanocompósito M2. 46
Figura 3.14 Análise de EDS para o nanocompósito M5. 46
Figura 3.15 Análise de EDS para o nanocompósito M10. 47
Figura 3.16 Curva termogravimétrica para a monetita pura (**—**) e sua derivada de primeira ordem (—). 48
Figura 3.17 Curvas Termogravimétricas da monetita e dos nanocompósitos monetita —1%, —2%, —5% e —10% de titânio. 49
Figura 3.18 Espectros de infravermelho para o M1 antes e após calcinação à 643K. 50
Figura 3.19 Massa de cálcio lixiviada (%) das amostras de monetita pura e com TiO_2 após 48 h em pH ácido. 52
Figura 3.20 Difratogramas de raios-X para a monetita antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1dia, (c) 3 dias, (d) 7 dias e (e) 15 dias. 54
Figura 3.21 Difratogramas de raios-X para oM2 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 3 dias, (c) 7 dias e (d) 15 dias. 56
Figura 3.22 Difratogramas de raios-X para o M1 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia, (c)3 dias (d) 7 dias e (e) 15 dias..... 58
Figura 3.23 Difratogramas de raios-X para o M5 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia,(c) 3 dias (d) 7 dias 58
Figura 3.24 Difratogramas de raios-X para o M10 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia,(c) 3 dias (d) 7 dias e (e) 15 dias..... 59

Figura 3.25 Estruturas propostas para a modificação da monetita com o dióxido de titânio. 63
Figura 3.26 Estruturas propostas para a modificação da monetita com o dióxido de titânio com ligações cruzadas. 63

Lista de tabelas

Tabela 1.1 Alguns ortofosfatos de cálcio 6

Tabela 1.2 Concentrações iônicas do plasma sanguíneo e do Fluido Corpóreo Simulado 19

Tabela 2.1 Quantidades de reagentes necessárias para a confecção do SBF 26

Tabela 3.1 Distâncias interplanares paras os planos (001), (002) e (003) para a monetita e os nanocompósitos. 37

Tabela 3.2 Parâmetros de rede calculados para os materiais. 38

Tabela 3.3 Volumes de célula unitária para a monetita pura e os nanocompósitos contendo dióxido de titânio. 38

Tabela 3.4 Principais regiões de absorção dos materiais e suas respectivas atribuições. 40

Tabela 3.5 Faixas de temperatura e porcentagens de perdas de massa da monetita pura e dos nanocompósitos 51

Tabela 3.6 Dados de quantidade de cálcio lixiviada (%) da monetita e dos nanocompósitos em pH de 1,0 a 6,0 durante 48 h. . 52

Tabela 3.7 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF. 55

Tabela 3.8 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M2 57

Tabela 3.9 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M1 60

Tabela 3.10 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M10 61

Tabela 3.11 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M10 62

LISTA DE ABREVIAÇÕES

α-TCP - Fosfato α -tricálcio

β-TCP - Fosfato β-tricálcio

ACP - Fosfato de cálcio amorfo

Ca/P - razão molar entre cálcio e fósforo

CCC – Simetria cúbica de corpo centrado

ClAp - Cloroapatita

DCPA - Fosfato dicálcio anidro

DCPD - Fosfato dicálcio dihidratado

DRX -Difratometria de raios-X

DTG – Primeira derivada da curva termogravimétrica

EDS - Espectroscopia de raios X por dispersão de energia

FAp - Flúor-apatita

HA - Hidroxiapatita

HC – Simetria hexagonal compacta

IUPAC- International Union of Pure and Applied Chemistry

IV- Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

MP- Monetita Pura

M1 - Monetita sintetizada na presença de 1% de TBT

M2 - Monetita sintetizada na presença de 2% de TBT

M5 - Monetita sintetizada na presença de 5% de TBT

M10 - Monetita sintetizada na presença de 10% de TBT

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

OCP - Fosfato octacálcio

SBF – Simulated Body Fluid (fluido corpóreo simulado)

TG - Análise termogravimétrica

TBT - Tetrabutóxido de titânio

terCP - Fosfato tetracálcio.

Capítulo I

Introdução

1 Introdução

A utilização de implantes temporários ou permanentes no corpo humano aumentou a necessidade não apenas do estudo dos materiais já existentes, mas também o desenvolvimento de novos materiais com propriedades superiores aos já conhecidos (BORGES 2000 apud DOMINGUES e ZACARIAS, 2006).

Esses materiais que permanecem em contato com os fluidos corpóreos, tanto interna quanto externamente, são conhecidos como biomateriais.

No que diz respeito aos materiais utilizados para biorreparação do tecido ósseo ou dentário, algumas cerâmicas, conhecidas como biocerâmicas, vem sendo vastamente empregadas (DOMINGUES e ZACARIAS, 2006).

Dentre essas biocerâmicas, estão os fosfatos de cálcio, que desde a década de 1920 (ALBEE e MORRISON, 1920 apud BOHNER 2000) vem despertando o interesse da comunidade científica, devido sua importância biológica, como principal constituinte ósseo. Além disso, destacam-se suas propriedades quando implantados, como ausência de toxicidade local e sistêmica (biocompatibilidade), ausência de respostas a corpo estranho ou inflamações e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro.

Essas propriedades podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que por serem formados basicamente de íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica (SANTOS et al., 2005). A fase mineral do osso é composta por uma grande quantidade de sais, de modo que não possui uma composição definida, no entanto, a hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6.(OH)_2$) é o principal componente cristalino (KAWACHI et al., 2000; PIETAK et al., 2007), constituindo cerca de 23% em massa dos ossos e 90% do esmalte dental. Além da hidroxiapatita, outros

fosfatos de cálcio como, por exemplo, o fosfato de octacálcio ($Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$), a monetita ($CaHPO_4$), a brushita ($CaHPO_4.2H_2O$) e fosfato de cálcio amorfo e pirofosfato de cálcio ($Ca_2P_2O_7$), também aparecem durante algumas etapas do desenvolvimento ósseo e em calcificações patológicas (SANTOS et al., 2005). Ultimamente, o estudo dos compósitos derivados dos fosfatos de cálcio tem se intensificado objetivando o seu emprego em implantes humanos.

Os biomateriais necessitam satisfazer simultaneamente vários requisitos, além de responder as expectativas da utilização, tais como: ter propriedades como não-toxicidade, resistência à corrosão, condutividade térmica e biocompatibilidade (PRADO, 2006).

Contudo, é difícil que uma única composição com uma estrutura uniforme satisfaça todos estes requisitos. Uma alternativa é a obtenção de materiais compósitos, combinando as propriedades mecânicas e físicas dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a propriedade biológica das biocerâmicas (APARECIDA et al., 2005).

Dessa maneira, o avanço na área dos biomateriais depende essencialmente do desenvolvimento técnico e científico de vários campos do conhecimento humano. Assim sendo, a contribuição de profissionais da área química pode representar um passo relevante não só para a caracterização química e morfológica dos biomateriais, mas também para o entendimento de o que ocorre na interface implante-tecido vivo.

Vale à pena ressaltar que o vasto número de composições derivadas do fosfato de cálcio faz desses materiais um grupo de grande interesse, não apenas em aplicações biológicas, mas em vários outros campos da ciência, servindo como hospedeiros para processos de intercalação originando um número extensamente grande de novos materiais para aplicações como trocadores iônicos (FERNANDES, 2007), catálise heterogênea, eletroquímica, entre outras.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

O objetivo geral deste trabalho foi sintetizar e caracterizar o fosfatos de cálcio monetita puro e na forma de nanocompósitos com dióxido de titânio, pela variação do teor de tetrabutóxido de titânio na síntese empregando o processo sol-gel. Foram feitas ainda a avaliação da estabilidade química destes nanocompósitos, bem como avaliação da sua bioatividade para serem utilizados como biomateriais com enfoque em implantes dentários.

1.1.2 Objetivos específicos

- ✓ Sintetizar o fosfato de cálcio monetita puro e na forma de nanocompósitos com dióxido de titânio pela hidrólise do tetrabutóxido de titânio, nas proporções de 1, 2, 5 e 10% da massa de fosfato.
- ✓ Caracterizar os materiais por espectroscopia de absorção na região do infravermelho, termogravimetria, difratometria de raios-X e microscopia eletrônica de varredura com energia dispersiva de raios-X.
- ✓ Avaliar a estabilidade química destes nanocompósitos em pH variando de 1,00 a 6,00.
- ✓ Avaliar a bioatividade dos materiais utilizando ensaio *in vitro* com fluido corpóreo simulado.

1.2 Revisão da literatura

1.2.1 Ortofosfatos de cálcio

A maioria dos fosfatos de cálcio, exceto pirofosfato de cálcio ($Ca_2P_2O_7$), estão presentes *in vivo* na forma de ortofosfatos de cálcio (BOHNER, 2000).

Os ortofosfatos de cálcio recebem o nome pela presença do grupo ortofosfato (PO_4^{3-}) e como são sais de ácido fosfórico tribásico (H_3PO_4), podem formar compostos que contêm os íons $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} ou PO_4^{3-} (ELLIOT, 1994). Os que contém íons HPO_4^{2-} e PO_4^{3-}, geralmente, constituem os fosfatos de cálcio biologicamente importantes, já os que contem o íon $H_2PO_4^-$ normalmente não são encontrados em condições fisiológicas, no entanto são comercialmente importantes como componentes em fertilizantes.

Devido a sua importância na medicina, e em áreas como agricultura (fertilizantes), farmácia (cremes dentais), colunas cromatográficas e na indústria de alimentos (elementos aditivos) (BOHNER, 2000), estes compostos tem sido intensamente estudados. ((WAZER, 1958; KANAZAWA, 1989; ELLIOT, 1994).

Alguns fosfatos são hidratados, e aqueles que pertencem aos ortofosfatos cálcicos com estrutura apatítica, ou simplesmente apatitas, têm a fórmula $Ca_{10}(PO_4)_6X_2$, em que X pode ser o íon fluoreto (originando a flúor-apatita, FAp), o íon hidroxila (hidroxiapatita, HA) ou o íon cloreto (cloroapatita, ClAp). As apatitas recebem esse nome da palavra grega apataw, que significa enganar, porque frequentemente eram confundidos com minerais pertencentes a outros grupos tais como água-marinha, olivina, ametista, etc (FREITAS et. al., 2000).

Abaixo são apresentados alguns ortofosfatos de cálcio bem como suas fórmulas químicas, razão Ca/P, parâmetros de rede e suas respectivas abreviações internacionais.

Tabela 1.1 Alguns ortofosfatos de cálcio

Nome	Fórmula	Ca/P	Símbolo	Estrutura cristalina	Parâmetros de rede	Grupo espacial
Hidroxiapatita	$Ca_4(PO_4)_6(OH)_2$	1,67	HA	hexagonal	a=b=0,9432 nm e c=0,688	*P63/m*
Cloroapatita	$Ca_4(PO_4)_6(Cl)_2$	1,67	Clap	hexagonal	a=b=0,9598 nm e c=0,6776 nm	*P63/m*
Fruoroapatita	$Ca_4(PO_4)_6(F)_2$	1,67	Fap	hexagonal	a=b=0,9367 nm e c=0,6884 nm	*P63/m*
Fosfato octacálcio	$Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_n.5H_2O$	1,33	OCP	triclínica	a=1,9692 nm, b=0,9523 nm, c=0,6835 nm e α=90,150°,β=92,540º, γ=108,650º	*P1-*
Fosfato tetracálcio	$Ca_4(PO_4)_2O$	2	terCP	monoclínica	a=0,7023 nm, b=1,1986 nm, c=0,9473 nm e β=90,900	*P21*
Fosfato de cálcio amorfo	$Ca_3(PO_4)2.nH_2O$	1,5	ACP			
Fosfato dicálcio dihidratado	$CaHPO_4.2H_2O$	1	DCPD	monoclínica	a=0,5812 nm, b=1,518 nm, c=0,6239 nm e β=116,420	*Ia*
Fosfato dicálcio anidro	$CaHPO_4$	1	DCPA	triclínica	a=0,691 nm, b=0,6627 nm, c=0,6998 nm e α=96,340,β=103,820, γ=88,330	*P1*
Fosfato α - tricálcio	α-$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	α-TCP	monoclínica	a=1,2887 nm, b=2,7280 nm, c=1,5219 nm e β=126,200	*P21/a*
Fosfato β-tricálcio	β-$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	β-TCP	romboedral	a=1,0439 nm e c=3,7375 nm	*R3c*

Fonte: Silva O.G. 2006

Os ortofosfatos de cálcio podem ser separados em duas categorias: (a) aqueles obtidos por precipitação em solução aquosa à temperatura ambiente (chamados de fosfatos de baixa temperatura) onde se encaixam o DCPA, DCPD, OCP, ACP e (b) aqueles obtidos à temperatura elevada (fosfatos de alta temperatura), onde se encontram o α-TCP, β-TCP, HA, TecCP (BOHNER, 2000).

A hidroxiapatita $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ é considerada a apatita mais cristalina produzida por organismos vivos, apesar de possuir baixo grau de cristalinidade, o que se deve à troca de íons OH^- por íons F^- ou Cl^-, o que resulta na formação de fluorapatita e cloroapatita. Pode ainda ocorrer, a troca de Ca^{2+} por outros íons divalentes com diâmetro maior que 97 pm e a troca do fosfato por carbonatos e sulfatos. Muitos fosfatos de cálcio são encontrados em processos de mineralização e em calcificações patológicas (ELLIOT, 1994; KAWACHI, 1997).

Devido à grande similaridade química e biocompatibilidade destes materiais com a fase mineral de ossos e dentes, os fosfatos de cálcio vem sendo utilizados como biomateriais para substituição óssea, enxerto ou recobrimento de próteses metálicas, (KAWACHI, 1997; ANDERSON et. al., 2005). Além desta importante aplicação, os fosfatos de cálcio também fornecem o suprimento de fosfatos que são extensamente utilizados na produção de fertilizantes, colunas cromatográficas, indústria de alimentos e na indústria farmacêutica, em cremes dentais, etc.

1.2.2 Fosfato dicálcio anidro ou monetita

Em 1882 o mineral monetita foi descrito pela primeira vez por Charles Upham Shepard, em depósitos de rochas fosfáticas na ilha de Moneta (de onde recebe o nome) e Mona no Oeste da Índia (ELLIOT, 1994).

A monetita possui formula estrutural $CaHPO_4$e é também conhecida como fosfato dicálcio anidro (DCPA do inglês Dicalcium phosphate anhydrous), fosfato dicálcio, ortofosfato de hidrogênio de cálcio e hidrogenofosfato de cálcio.

No que se refere à utilização em implantes e enxertos, a hidroxiapatita e o Fosfato β-tricálcio são mais utilizados, no entanto

alguns trabalhos vem utilizando o fosfato dicálcio com esta finalidade (TAMIMI et. al. 2008, 2009, 2010, 2011).

1.2.2.1 Estrutura cristalina e propriedades

A monetita, formada à temperatura ambiente apresenta estrutura triclínica, com grupo espacial P1 e parâmetros de rede *a*=691 pm, *b*=662,7 pm e *c*=699,8 pm, α=96,34º; β=103,82º e γ=88,33º. Existem quatro unidades de fórmula por cela unitária de DCPA. As cadeias duplas de $CaPO_4 \cdot CaPO_4 \cdot CaPO_4 \cdot CaPO_4$ estendendo ao longo do eixo *a* são mantidas juntas na direção do eixo *b* por ligação Ca-O, formando camadas distorcidas de átomos aproximadamente no plano (001). O centro de simetria produz outra camada abaixo dessa na direção do eixo *c*. Assim, a estrutura consiste de uma rede tridimensional de tetraedros de fosfato mantidos juntos pelos íons cálcio nos interstícios (ELLIOT, 1994; MATHEW e TAKAGI, 2001). A estrutura cristalina da monetita está apresentada na Figura 1.1 e a Figura 1.2 apresenta a estrutura tridimensional da célula unitária.

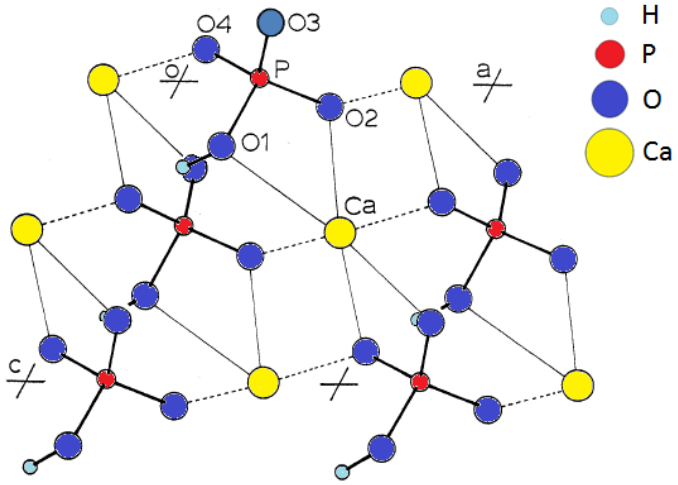

Figura 1.1 Estrutura da célula unitária da monetita. Adaptado de (MATHEW e TAKAGI, 2001).

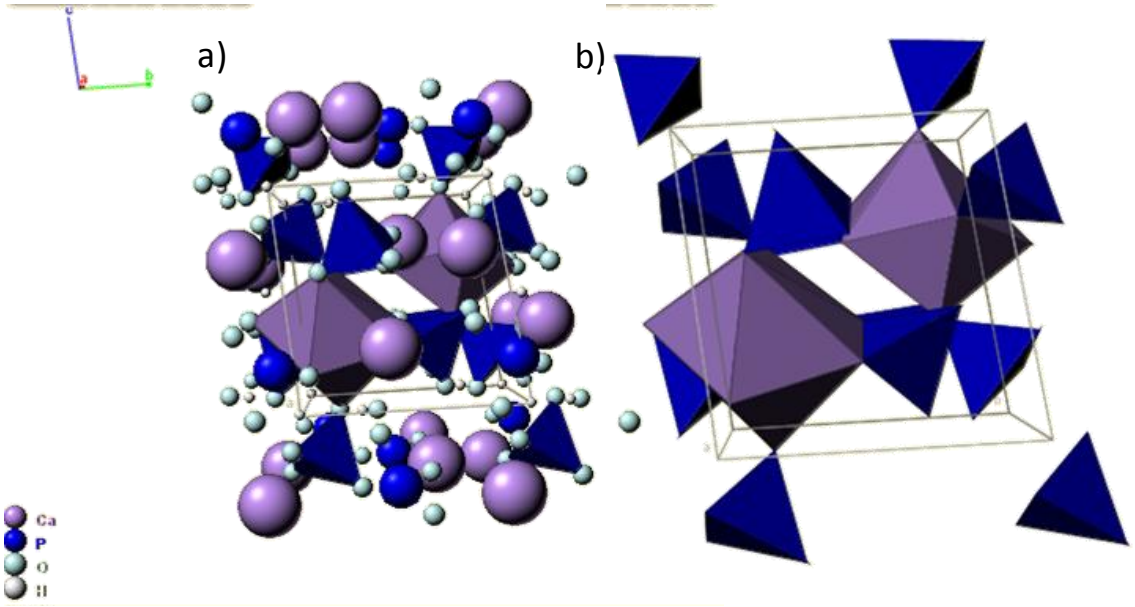

Figura 1.2 Estrutura tridimensional da célula unitária da monetita a) apresentando os átomos de cálcio, fósforo, oxigênio e hidrogênio e b) apresentando os tetraedros de fosfato e os poliedros contendo os íons cálcio nos interstícios.

Pelo refinamento da estrutura baseada em difração de raios-X de nêutron, é mostrado como a monetita pode sofrer uma transição de fase de ordem/desordem reversível que só envolve átomos de hidrogênio, na faixa de temperatura entre 270-290 K, dependendo da presença de impurezas. As fases de baixa e alta temperatura consistem no grupo espacial P1 e $P\bar{1}$, respectivamente. À temperatura ambiente, a monetita apresenta principalmente o grupo $P\bar{1}$, onde apresenta três tipos de H distintos pelo tipo de ligação de hidrogênio que fazem. Destes um próton H_a está no centro de uma ligação de hidrogênio simétrica onde a ligação O—H···O, é normal, no entanto, apresenta comprimento mais curto que o comum com O···O =256,5(1) pm e outros dois prótons H_c apresentam-se desordenados em posições centro-simetricamente relacionadas (H_c e H_c'),em uma ligação do tipo O···H···O com comprimento ainda mais curto onde O···O =245,8(2) pm de modo que o H se encontra no centro de

simetria da ligação de hidrogênio com O···H=H···O= 123 pm e o terceiro átomo de hidrogênio, o H_b da estrutura está em uma ligação de hidrogênio habitual com tamanho convencional de 266,9(1) pm (ELLIOT, 1994; MATHEW e TAKAGI, 2001). A Figura 1.3 a seguir apresenta graficamente esses hidrogênios.

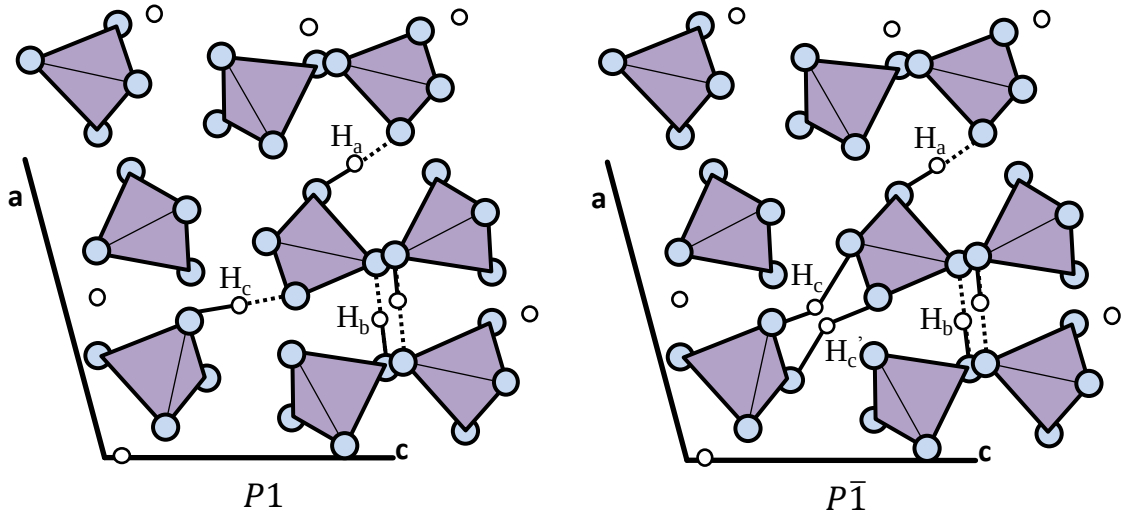

Figura 1.3 Progressão da estrutura da monetita de baixa (*P*1) e alta (*P*1)temperatura, mostrando os tetraedros de PO_4 e as ligações de H, adaptado de (TORTET et al., 1997).

1.2.2.2 Solubilidade da monetita

A solubilidade é uma das mais importantes propriedades dos compostos de fosfato de cálcio. Ela determina a direção de todas as reações químicas que ocorrem à temperatura ambiente. O parâmetro mais importante para a descrição das propriedades de solubilidade de um sal de fosfato de cálcio é a constante do produto de solubilidade termodinâmico, Kps. Para a monetita é expressa como $Kps=[Ca][HPO_4]$ (ELLIOT, 1994).

A isoterma de solubilidade de um sal de fosfato de cálcio com o pH pode ser calculada com base no conhecimento da constante do produto de solubilidade, nas constantes de dissociação do ácido fosfórico e do hidróxido de cálcio, nas constantes de estabilidade dos

pares iônicos e num modelo apropriado para calcular os coeficientes de atividade das espécies envolvidas. A Figura 1.4 apresenta isotermas calculadas a 37ºC de alguns sais de fosfato de cálcio: fosfato de dicálcio dihidratado (DCPD), fosfato dicálcio anidro (DCPA), fosfato octacálcio (OCP), β-fosfato tricálcio (β-TCP) e hidroxiapatita (HA) na forma de logaritmo da concentração total de cálcio, log[Ca], da solução saturada em função do pH (ELLIOT, 1994).

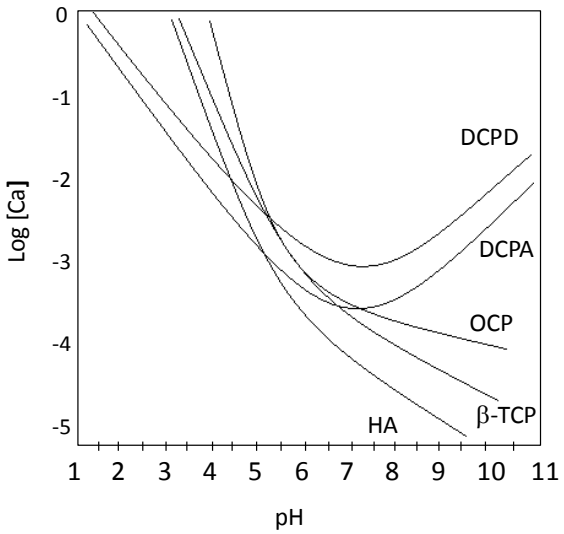

Figura 1.4 Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $Ca(OH)_2$-H_3PO_4-H_2O a 37ºC, isotermas de solubilidade mostrando log[Ca] e pH das soluções em equilíbrio com vários sais.

As isotermas da Figura 1.4 têm inclinação negativa nas regiões neutras e ácidas, ou seja, pH abaixo de sete, do diagrama de fase. Isto reflete o fato de que todos os compostos são solúveis conforme o pH diminui. A inclinação da isoterma é uma indicação do quão rapidamente a solubilidade dos sais aumenta com a diminuição do pH (ELLIOT, 1994).

O DCPA não parece ocorrer em cálculo dentário ou em outras calcificações patológicas, no entanto, tem sido encontrado em calcificações normais. A monetita ainda é pouco aplicada biologicamente, na maioria dos casos a sua maior utilização é na

obtenção de novas fases de fosfatos, principalmente a hidroxiapatita, partindo apenas dela, ou da reação desta com outros fosfatos (ELLIOT, 1994).

1.2.3 Síntese de fosfatos de cálcio

Na literatura encontram-se diversas formas de síntese de fosfatos de cálcio, variando-se temperatura, pressão, reagentes precursores etc.; A seguir são citados alguns dos principais métodos de obtenção desses materiais.

1.2.3.1 Precipitação em solução aquosa

Nessa forma de síntese utiliza-se a mistura de uma solução aquosa de sais de cálcio, geralmente cloretos, nitratos ou carbonatos, com os sais de fosfatos ou ácido fosfórico como nos exemplos a seguir.

$$10CaCl_2(aq) + 6Na_2PO_4(aq) + 2H_2O(l) \leftrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2(s) + 12NaCl(aq) + 8HCl(aq)$$

$$10Ca(NO_3)_2(aq) + 6(NH_4)_2HPO_4(aq) + 2H_2O(l) \leftrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2(s) + 12NH_4NO_3(aq) + 8HNO_3(aq)$$

A grande vantagem dessa metodologia é o uso de temperatura relativamente baixa, obtenção de partículas pequenas (<10μm) e cristalinidade similar aos tecidos naturais. Entretanto, alguns inconvenientes podem ser citados, tais como a baixa cristalinidade do material final e cinética de formação lenta.

1.2.3.2 Reação no estado sólido

Nesse procedimento um ortofosfato de cálcio é utilizado como fonte de material de partida, que é misturado com carbonato de cálcio e aquecido a altas temperaturas (>900ºC):

$$6CaHPO_4.2H_2O(s) + 4CaCO_3(s) \leftrightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2(s) + 4CO_2(g) + 14H_2O(g)$$

As principais vantagens desse método são a alta velocidade do processo de formação e a cristalinidade do fosfato final. No entanto, a grande quantidade de energia utilizada, devido à necessidade de altas temperaturas, normalmente é um fator a ser levado em conta (SARGIN et. al. 1997; GUOet. al., 2005).

.

1.2.3.3 Método hidrotérmico

Este método é bem parecido ao da precipitação em solução aquosa, no entanto são utilizadas nesta síntese pressões e temperaturas relativamente elevadas. As grandes vantagens dessa rota são a rápida velocidade do processo de formação, aliada à alta cristalinidade do fosfato com partículas de tamanho nanométrico ou milimétrico, sendo possível a obtenção de materiais porosos (COSTA *et al.,* 2009).

1.2.3.4 Processo sol – gel

O processo sol-gel é baseado na hidrólise e condensação de precursores moleculares. Ele consiste em um processo químico realizado a baixas temperaturas, onde sol é constituído por uma suspensão coloidal, com dimensões entre 1 e 100 nm, e o gel é

formado pela estrutura rígida de partículas coloidais ou por partículas poliméricas, formando um produto sólido após as etapas de envelhecimento e secagem sob condições apropriadas, (HWANG e LIM, 1999).

Dependendo do tipo de secagem podemos obter materiais porosos (chamados de xerogel), ultraporosos (aerogel) ou densos (cerâmicas ou vidros).

As reações químicas envolvidas num processo sol-gel convencional, baseado em derivados alcóxidos, são:

Hidrólise do precursor

$$M(OR)_n + H_2O \rightarrow M(OH)(OR)_{n-1} + ROH$$

onde M=Si, Sn, Ti, Al, Mo, etc. e R=radical alquil. O passo seguinte envolve reações de condensação que podem se processar por olação e oxolação (JOSE e PRADO, 2005):

Olação

$$M\text{-}OH + H_2O^+\text{-}M \rightarrow M\text{-}HO^+\text{-}M + H_2O$$

$$M\text{-}OH + R\text{-}HO^+\text{-}M \rightarrow M\text{-}HO^+\text{-}M + ROH$$

Oxolação

$$M\text{-}OH + HO\text{-}M \rightarrow M\text{-}O\text{-}M + H_2O$$

$$M\text{-}OH + RO\text{-}M \rightarrow M\text{-}O\text{-}M + ROH$$

Os precursores mais versáteis e utilizados neste tipo de síntese são os alcóxidos metálicos, M(OR)n (onde R pode ser metil, etil, propil, isopropil, butil, terc-butil, etc.).

A alta eletronegatividade do grupo alcóxido (OR) faz com que o átomo metálico seja susceptível a ataques nucleofílicos. A etapa de hidrólise de um alcóxido ocorre pela sua reação com água, gerando um hidróxido M-OH. Esta reação é oriunda de uma adição nucleofílica da molécula de água ao átomo do metal. A próxima etapa do processo sol-gel consiste na condensação das espécies M-OH, levando à formação de ligações -M-O-M-, que irá resultar, após várias etapas de condensação, em uma rede MOn . Dentre os óxidos mais sintetizados pelo processo sol-gel cita-se o SiO_2, TiO_2, SnO_2, V_2O_5, WO_3, etc.(BRINKER e SCHERRER, 1990).

Este processo facilita o controle estequiométrico da porosidade, da estrutura cristalina e do tamanho das partículas (LOPATIN et. al., 1998).

1.2.4 Biomateriais

O termo biomaterial foi definido na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982 (HELMUS e TWEDEN, 1995), como sendo:

"Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo".

A escolha do tipo de biomaterial é baseada principalmente na aplicação a que se destina. Por exemplo, para dispositivos que fiquem em contato com o sangue, esses materiais são:

- ✓ Componentes de dispositivos extracorpóreos que removem e retornam sangue do corpo;

- ✓ Dispositivos que são inseridos em um vaso sanguíneo;
- ✓ Dispositivos que ficam permanentemente implantados.

Para que um material posso ser utilizado como biomaterial é preciso que esse não produza qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja: o material deve ser não-tóxico, não-carcinogênico, não-antigênico e não-mutagênico. Em aplicações sanguíneas, eles devem também ser não-trombogênicos.

Com relação à resposta biológica existem várias classificações para os materiais. Quando se consideram os materiais de maneira genérica (não se restringindo aos biomateriais), os materiais podem ser classificados em tóxicos e não tóxicos. Quando se considerando apenas os biomateriais, estes podem ser classificados em materiais bioinertes, biorreativos e bioativos.

1.2.4.1 Materiais bioinertes

São materiais menos propensos a causar uma reação adversa no organismo devido a sua estabilidade química em comparação com outros materiais. Como exemplos, de materiais bioinertes utilizados se podem citar: o carbono, a alumina e a zircônia (DUCHEYNE e KOHN, 1992). A alumina e a zircônia são mais usadas em superfícies de juntas artificiais sujeitas à fricção por causa da sua boa resistência ao desgaste.

De maneira geral, as cerâmicas são quimicamente muito estáveis e, portanto, muito pouco prováveis de ter uma resposta biológica adversa.

1.2.4.2 Materiais biorreativos

No geral os metais utilizados em ortopedia e em implantodontia entram nessa classe de materiais. Entretanto, a maior parte dos

biomateriais metálicos não é biorreativo, apresentando propriedades mais próxima à classe dos materiais bioinertes.

A biocompatibilidade dos metais e ligas é baseada na formação de uma camada fina e aderente de óxido estável. Cada classe de metal deve ter sua composição química bem controlada a fim de que não haja degradação química da camada de óxido nem das propriedades mecânicas do metal ou liga metálica. Os principais metais utilizados como biomateriais são divididos em três classes: ligas ferrosas (aços inoxidáveis), ligas à base de cobalto e ligas à base de titânio. Os metais classificados como biorreativos ficam no limite entre os materiais bioinertes e os bioativos. Esses metais adquirem bioatividade após um tratamento de ativação de superfície do seu óxido. Exemplos desses metais são titânio, o nióbio e o tântalo.

1.2.4.3 Bioatividade

O sucesso da inserção de um material num organismo vivo depende em primeira instância de sua biocompatibilidade, ou seja, depende da habilidade que o material possui de desempenhar uma determinada função no organismo sem que venha a provocar efeitos tóxicos ou danosos aos sistemas biológicos. Um material biocompatível pode ser bioinerte ou bioativo, dependendo de sua resposta biológica na interface tecido/material. Se o material for bioativo, após a sua implantação, irá ocorrer a formação de uma camada de apatita em sua superfície e esta camada fornece uma forte ligação entre o material implantado e o tecido ósseo.

Vários fatores envolvem as interações entre os biomateriais e os componentes orgânicos e são de extrema importância para o entendimento das propriedades e do comportamento dos implantes *in vivo*. Estas características permanecem pouco conhecidas, uma vez que representam interações de grande complexidade.

Visando avaliar o comportamento de materiais que possam ser utilizados como biocerâmicas, sem a necessidade do sacrifício de inúmeras cobaias para a avaliação *in vivo*, vários procedimentos *in vitro* foram propostos para se testar a bioatividade de materiais sintéticos, principalmente para a avaliação da citotoxicidade e para o estudo do comportamento da superfície dos materiais na presença de fluidos corpóreos e/ou de substâncias orgânicas, como proteínas e enzimas. Estudos pioneiros deste tipo foram realizados por Pantano e colaboradores (PANTANO *et. al.,* 1974), onde esses demonstraram o crescimento de uma camada de hidroxiapatita, *in vitro*, em vidros que liberavam íons de cálcio e fósforo para o meio, quando imersos em uma solução de água destilada tamponada a um pH de 7,25 a 37°C com tris-hidroximetilamino-metano e HCl (conhecido como tampão tris).

No entanto, nem todos os materiais apresentaram essa característica. Quando outros tipos de vidros, que não continham cálcio e fósforo em sua composição original, mas que apresentavam bioatividade *in vivo*, eram imersos no tampão tris, não ocorria o crescimento da camada de HA.

Em um de seus trabalhos, Rogero e colaboradores (ROGERO et. al., 1999) avaliaram a citotoxicidade de biocerâmicas de fosfato de cálcio através de um método de contagem de células, usando cultura de células de ovário de Hamster em contato com extratos diluídos de biocerâmicas. O estudo foi realizado utilizando-se pirofosfato de cálcio, hidroxiapatita sintética e hidroxiapatita proveniente de osso de boi, onde apenas este último apresentou efeito citotóxico.

Em 1990, Kokubo propôs uma nova solução aquosa para testes de bioatividade contendo concentrações de íons semelhantes àquelas presentes no plasma humano e tamponamento com trishidroximetil-amino-metano (KOKUBO *et. al.,* 1990). Tal solução foi capaz de induzir mudanças estruturais na superfície de materiais bioativos semelhantes às apresentadas *in vivo*, ou seja, formava-se uma

camada de HA. Esta solução, chamada "Simulated Body Fluid" (SBF), é acelular, livre de proteínas e apresenta um pH de 7,40. Sua composição é comparada à composição iônica do plasma sanguíneo conforme a Tabela 1.2. O procedimento atualmente mais usado para teste de bioatividade *in vitro* consiste em imergir o material a ser testado em solução SBF por períodos de tempo que vão de 3 h até 15 dias e verificar se houve formação de HA na superfície do material. Materiais com diferentes graus de bioatividade são classificados de acordo com o tempo necessário para aparecimento da camada de HA.

Tabela 1.2 Concentrações iônicas do plasma sanguíneo e do Fluido Corpóreo Simulado

Íon	Concentração (mmol/dm^3)	
	Fluido Corpóreo Simulado (SBF)	Plasma Humano
Na^+	142,0	142,0
K^+	5,0	5,0
Mg^{2+}	1,5	1,5
Ca^{2+}	2,5	2,5
Cl^-	147,8	103,0
HCO^{3-}	4,2	27,0
HPO_4^{2-}	1,0	1,0
SO_4^{2-}	0,5	0,5

Fonte: KOKUBO 1990

Análises de absorção na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), difração de raios-X (DRX) e de microscopia eletrônica de varredura utilizando a técnica de dispersão de raios-X (EDS) são usadas para averiguar a formação de HA.

Para preceder à verificação da bioatividade do material, são realizados ensaios em SBF. Quanto maior a bioatividade, menor será o tempo para que ocorra a interação e adesão entre o implante e o tecido ósseo; maior será a força de adesão entre eles, bem como a espessura da zona de adesão, as forças mecânicas aumentam e melhor é o desempenho do biomaterial (OLIVEIRA, CORREIA e FERNANDES 1995).

Vale ressaltar que todas as soluções acima citadas simulam apenas a parte inorgânica do fluido corpóreo, mas não a parte orgânica, e não são adicionados componentes como proteínas, glicose e vitaminas. Algumas das eventuais diferenças nos resultados dos testes realizados *in vivo* e *in vitro* podem ser devido a este fato. Além disso, a concentração de alguns íons, como K^+, Ca^{2+}, Cl^- e HPO_4^{2-}, que compõem os fluidos corpóreos, geralmente variam de acordo com o gênero, a idade e a dieta dos indivíduos. Sabe-se também que cada um desses íons que compõem o SBF desempenha um papel importante durante o processo de formação óssea (FURLONG e OSBORN, 1991; JALOTA, BHADURI e TAS, 2008)

1.2.5 Titânio

O titânio foi descoberto por William Gregor em 1790 na Inglaterra enquanto analisava uma amostra de areia da região do vale de Manaccan na Cornualha. Ele pode ser encontrado sob mais de uma forma alotrópica (rutilo, ilmenita, titanita, anastásio, perovskita etc.). À temperatura ambiente, a sua estrutura cristalina mais estável é a hexagonal compacta (hc), a qual se constitui na fase α. Alguns elementos químicos estabilizam a fase β, a qual possui estrutura cúbica de corpo centrado (CCC) e que, no titânio puro, só é estável a temperaturas maiores que 883 ºC.

O titânio é um elemento de transição extremamente abundante, pertencente ao grupo 4 da tabela periódica e ao quarto período. Possui camada de valência incompleta, o que lhe fornece a sua alta reatividade, devido a qual, quando exposto, o titânio reage como oxigênio do ar formando espontaneamente um filme uniforme de óxido sobre a sua superfície (passivação espontânea). Geralmente, o óxido mais estável é o TiO_2 (LIU et al, 2004) forma na qual é encontrado na maioria de seus minerais.

Tanto o titânio quanto suas ligas têm sido amplamente utilizados para produzir componentes biomédicos, principalmente na área odontológica e ortopédica, devido ao fato de exibirem propriedades interessantes como resistência à tenacidade (40MPa.m1/2), biocompatibilidade, resistência à corrosão, estabilidade química em ambiente fisiológico (AOKI, 1994; YAN et al., 1997; FENG et al., 1999), que fazem com que ele seja o metal mais utilizado como biomaterial.Dentre as ligas de titânio, a liga Ti-6Al-4V é a mais utilizada em várias aplicações, incluindo aplicações biomédicas.

O que confere a biocompatibilidade e a resistência à corrosão do titânio e suas ligas é a existência de uma camada de óxido formada na sua superfície.

Apesar de apresentar tantas propriedades interessantes, o titânio passivado não apresenta uma importante característica dos biomateriais, a bioatividade, dificultando a ligação do implante com o osso, o que pode conduzir ao fracasso do mesmo a longo prazo. Essa característica limita o seu uso como biomaterial. Por essa razão, várias metodologias têm sido desenvolvidas com o intuito de promover a bioatividade da superfície do titânio e de suas ligas.

1.2.6 Fosfatos de cálcio com óxidos metálicos

Diversos estudos de modificação de fosfatos de cálcio vêm sendo desenvolvidos no sentido de agregar propriedades de outros materiais aos fosfatos de cálcio. Em geral esses estudos visam à dopagem do fosfato em questão com um metal, como o titânio (SUZUKI et al., 1991), o magnésio (DIAS et al., 2005) e o ferro (SILVA et al 2009), o recobrimento de biomateriais com os fosfatos de cálcio (FENG et al., 1999) e mais recentemente a formação de nanocompósitos de fosfatos de cálcio com outros materiais biologicamente aplicáveis (FERNANDES 2011). Fernandes e

colaboradores em 2011 obtiveram nanocompósitos de monetita com dióxido de silício por meio do processo sol-gel, que demonstraram bons resultados no que se refere à estabilidade química dos fosfatos indicando uma potencialidade da utilização desses materiais em implatodontia (FERNANDES et al., 2011).

Um dos principais objetivos na área de biomateriais, em especial dos fosfatos de cálcio, é o desenvolvimento de novos materiais para serem utilizados como substituintes ósseos em implantes e enxertos (UNGER et al., 2007). Os fosfatos de cálcio já são amplamente empregados na medicina e na odontologia, por conta de suas propriedades (JOOSTEN et al., 2005; DÍAZ et al., 2006) colaborando para a neoformação óssea entre a superfície do osso e o implante.

Devido a baixa resistência mecânica e química dos fosfatos de cálcio (ANMIN et al., 2007; ZHAO et al., 2008), quando os implantes ósseos têm por objetivo restaurar a função de uma parte do organismo sujeita a grandes esforços mecânicos, normalmente utilizam-se peças metálicas de ligas como o Ti-6Al-4V. Estes implantes geralmente são fixados com o auxílio de cimentos poliméricos como o PMMA (polimetilmetacrilato), no entanto esses materiais costumam induzir resposta inflamatória por parte do organismo. Para solucionar este problema, têm-se revestido os implantes com as biocerâmicas de fosfato de cálcio que são biocompatíveis e permitem a ligação química do implante ao tecido ósseo (SCHMIDT et al., 2006; RESENDE et al., 2008). Dessa forma, os implantes fixam-se mais eficientemente ao local, obtendo-se maior sucesso nas cirurgias (VILLACAMPA e GARCÍA-RUIZ, 2000).

Um outro estudo promissor é a modificação da superfície da HA com a sílica através da técnica de síntese sol-gel onde partindo de precursores alcóxidos são obtidos sólidos mais puros em composição SiO_2-CaO-P_2O_5(WIJENAYAKA et al., 2009). Este novo composto apresenta características químicas e físicas diferentes como maior

estabilidade coloidal, maior resistência à dissolução em meios ácidos e maior bioatividade, favorecendo a formação óssea na interface do material (ANDERSSON et al., 2005). Esta maior bioatividade é devida à alta densidade de grupos silanóis (Si-OH) na superfície da sílica amorfa que são bons sítios de nucleação para a HA (BORUM e WILSON Jr. 2003), um fator determinante para o aumento da bioatividade.

Capítulo II

Metodologia

2 Metodologia

2.1 Reagentes

Para o desenvolvimento deste trabalho foram utilizados os seguintes reagentes, sem prévia purificação:

- Monohidrogeno fosfato de amônio (QEEL, PA) $(NH_4)_2HPO_4$;
- Cloreto de cálcio dihidratado (CROSS, PA) $CaCl_2.2H_2O$;
- Tetrabutoxido de titanio (ALDRICH) $(C_4H_9O)_4Ti$;
- Álcool etílico (MERCK) CH_3CH_2OH;
- Cloreto de sódio (SIGMA-ALDRICH) NaCl;
- Bicarbonato de sódio (VETEC) $NaHCO_3$;
- Cloreto de potássio (ECIBRA) KCl;
- Hidrogeno fosfato de potássio (SYNTH) $K_2HPO_4.3H_2O$;
- Cloreto de magnésio (VETEC) $MgCl_2$;
- Ácido clorídrico (MERCK P.A.) HCl 37%;
- Sulfato de sódio (SIGMA-ALDRICH) $NaSO_4$;
- Tris-(hidrximetil)-aminometano(SIGMA-ALDRICH) $(CH_2OH)_3CNH_2$;
- Biftalato de potássio (MERCK) $C_8H_5O_4K$;
- Hidróxido de sódio (SIGMA-ALDRICH) NaOH;
- Ácido etilenodiaminotetraceticodissodico $(C_{10}H_{14}N_2O_8Na)$ $2.H_2O$, (QM P.A).

As soluções foram preparadas com água deionizada, obtida através de um deionizador Permution.

2.2 Preparação das soluções

2.2.1 Solução de fluido corpóreo simulado (SBF)

O fluido corpóreo simulado (SBF) foi preparado dissolvendo-se os reagentes em água deionizada na ordem em que são mostrados na Tabela 2.1, de acordo com a metodologia descrita na norma ISO FDIS 23317(MUNDSTOCK et al., 2010). Todos os reagentes foram misturados em um béquer contendo água sob agitação constante e o pH foi ajustado para 7,25 pela adição de HCl 0,10 mol L^{-1}.

Tabela 2.1 Quantidades de reagentes necessárias para a confecção do SBF

Ordem	Reagente	Quantidade
1	NaCl	7,996 g
2	$NaHCO_3$	0,350 g
3	KCl	0,224 g
4	$K_2HPO_4.3H_2O$	0,228 g
5	$MgCl_2.6H_2O$	0,305 g
6	HCl 1 $mol.L^{-1}$	40 mL
7	$CaCl_2$	0,278 g
8	Na_2SO_4	0,071 g
9	$(CH_2OH)_3CNH_2$	6,057 g
10	HCl	O necessário para o ajuste do pH.

2.2.2 Soluções para síntese dos fosfatos

As soluções de cloreto de cálcio dihidratado $CaCl_2.2H_2O$ 0,050 mol e monohidrogeno fosfato de amônio $(NH_4)_2HPO_4$ 0,05 mol, foram preparadas dissolvendo-se 7,3505 g e 6,603 g dos sais, respectivamente, em 250 mL de água deionizada.

Já as soluções de tetrabutóxido de titânio nas concentrações de 1, 2, 5, e 10 % de massa de monetita foram preparados dissolvendo-se 0,068; 0,137; 0,344; 0,687 mL de TBT em 100 mL de etanol absoluto

2.3 Síntese do fosfato de cálcio monetita

A síntese da monetita foi realizada partindo-se de uma razão molar Ca/P = 1,0 utilizando-se o método da precipitação, o qual utiliza reagentes existentes no laboratório de fácil manuseio e descarte e que adota temperatura de síntese relativamente baixa. O sólido obtido foi denominado de MP (representado Monetita Pura).

Para a obtenção da MP, utilizou-se um sistema constando de uma manta com aquecimento, agitador mecânico, condensador para refluxo, balão de três bocas de 1000mL e dois funis de adição de 500mL, aos quais foram adaptados reguladores de vazão com o objetivo de controlar a adição dos reagentes de forma lenta e regular. A Figura 2.1 apresenta o sistema utilizado para esta síntese.

Inicialmente, ao balão de três bocas foram adicionados 100 mL de água deionizada e ligado o aquecimento. Ao atingir a temperatura de 373±10 K, as soluções de 250 mL de cloreto de cálcio dihidratado ($CaCl_2.2H_2O$) 0,05 mol, e 250 cm^3 de monohidrogêno fosfato de amônio ($(NH_4)_2HPO_4$) 0,050 mol, foram adicionadas simultânea e lentamente numa vazão media de 1,7 mL min^{-1} através dos funis de adição. Após completa adição dos reagentes, um precipitado de coloração branca foi obtido, o precipitado formado permaneceu por 24 h no sistema de síntese para envelhecimento e a temperatura mantida constante a 373±10 K e sob agitação, durante todo o período. Um fluxograma representado esquematicamente essa síntese é apresentado na Figura 2.2.

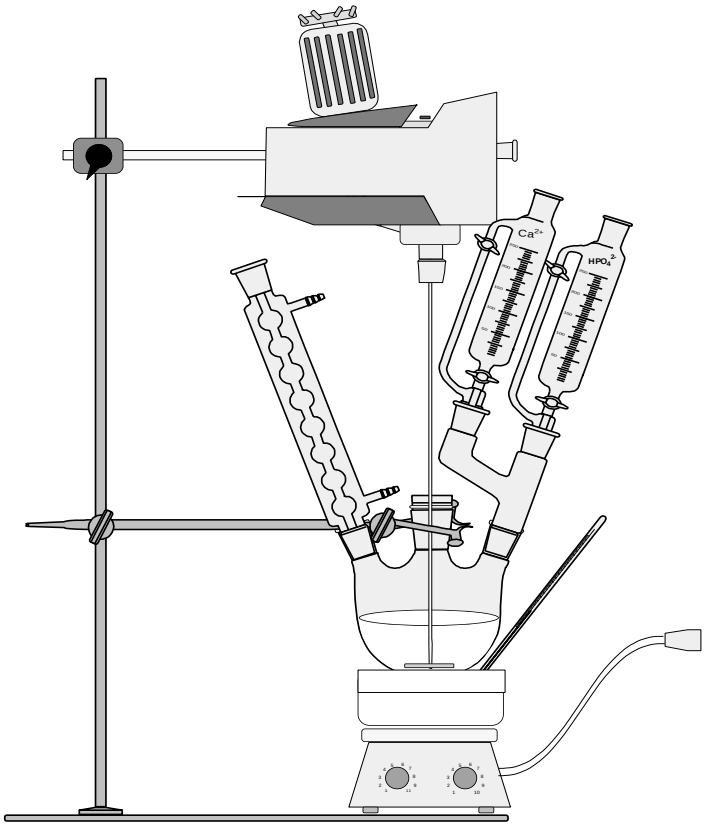

Figura 2.1 Sistema utilizado para a síntese do fosfato de cálcio puro.

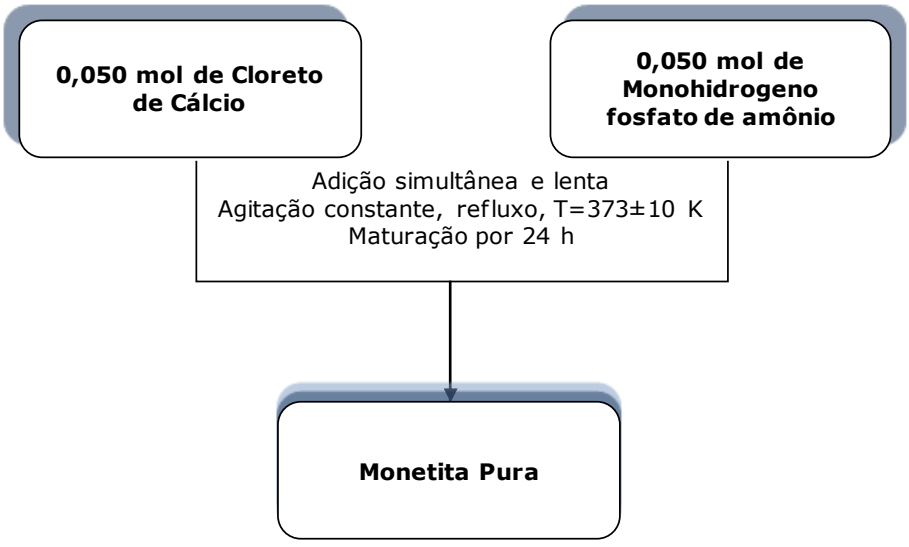

Figura 2.2 Representação esquemática do procedimento de síntese para obtenção do fosfato de cálcio puro.

O precipitado formado foi filtrado em placa porosa Nº 02 lavado abundantemente com água deionizada e seco em estufa a uma temperatura de 373±10 K por 24 h. O material final foi desagregado em um almofariz ficando na forma de um pó branco muito fino.

2.4 Síntese dos nanocompósitos monetita/TiO_2

A síntese dos nanocompósitos de monetita com dióxido de titânio foi realizada utilizando-se o processo sol-gel, partindo-se de 250,0 mL de uma solução de monohidrogenofosfato de amônio $(NH_4)_2HPO_4$0,050 mol, 250,0mL de cloreto de cálcio dihidratado $CaCl_2.2H_2O$0,050 mol e 100,0 mL de solução de tetrabutóxido de titânio com concentrações variadas de 1 a 10% em massa em relação à massa da monetita.

O sistema utilizado constou de manta com aquecimento, agitador mecânico, condensador para refluxo, balão de três bocas de 1000 mL e dois funis de adição de 500 mL, aos quais foram adaptados reguladores de vazão com o objetivo de controlar a adição dos reagentes de forma lenta e regular.Inicialmente, ao balão de três bocas foi adicionada a solução de 250 mL de cloreto de cálcio 0,05 mol e ligado o aquecimento.

Ao atingir a temperatura de 373±10 K, as soluções de monohidrogenofosfato de amônio e TBT foram adicionadas simultânea e lentamente, numa vazão média de 1,70 $mL.min^{-1}$ com auxílio dos funis de adição, sob agitação mecânica. Após adição completa das soluções, o precipitado formado foi mantido em um período de envelhecimento, sob aquecimento a 373 ± 10K até a remoção de todo o solvente. O precipitado foi filtrado em placa porosa e lavado abundantemente com água deionizada. Finalmente os sólidos foram secos em uma estufa a uma temperatura de 373± 10K durante 24 h. A Figura 2.3 apresenta um fluxograma

representado esquematicamente essas sínteses. Os sólidos obtidos das sínteses com 1, 2, 5 e 10% de TBT foram denominados M1, M2, M5 e M10 respectivamente.

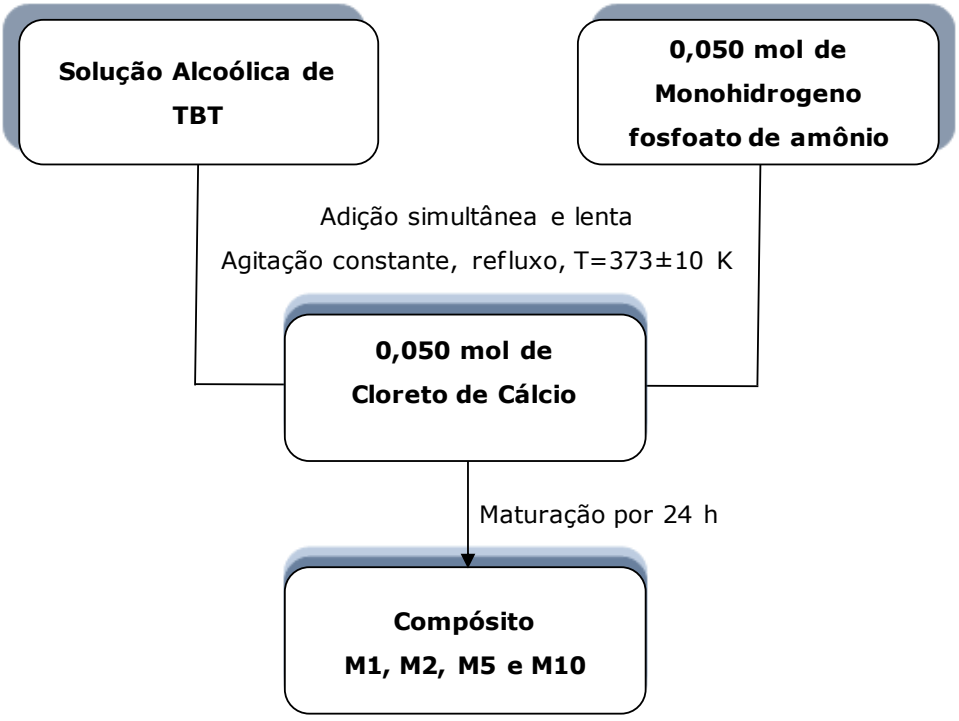

Figura 2.3 Representação esquemática do procedimento de síntese para obtenção dos nanocompósitos.

A fim de facilitar o estudo das modificações nos materiais, foi realizada a síntese do dióxido de titânio puro por meio do processo sol-gel, nas mesmas condições das sínteses dos nanocompósitos.

2.5 Teste de estabilidade química dos fosfatos

Os ensaios de estabilidade dos fosfatos foram realizados submetendo-se os sólidos a condições controladas de pH por um período de 48 horas. Nesses testes, amostras de 50 mg do sólido foram suspensas em 25,0 mL de solução tampão de pH de 1,0 a 6,0, sendo o sólido separado por filtração. O teor de cátion Ca^{2+} foi,

então, determinado nas soluções sobrenadantes por titulação complexometrica com EDTA e o indicador negro de eriocromo (em uma mistura sólida com NaCl) seguindo a metodologia recomendada na literatura (MORITA E ASSUMPÇÃO, 2007).

2.6 Ensaios de avaliação de bioatividade

Os testes de bioatividade da monetita e dos nanocompósitos foram realizados submetendo 75 mg dos materiais à imersão em fluido corpóreo simulado (SBF) a uma razão de 1 mg/ml, por períodos de 1, 3, 7 e 15 dias. Após esse procedimento os materiais foram filtrados e secos e a formação de apatita foi avaliada por meio da difração de raios-X observando-se o aparecimento dos picos de difração relativos à apatita e comparando-se a velocidade de formação na monetita pura e nos nanocompósitos.

2.7 Caracterizações

2.7.1 Difratometria de raios-X

Os difratogramas de raios-X foram obtidos em um difratômetro, modelo XD3A, marca Shimadzu, com velocidade de varredura de 0,03^{o}/s, utilizando como fonte de radiação o Cu*Kα* (λ=0,15406 nm e 2θ =1,5–70^{o}), voltagem de 40kV, à temperatura ambiente.

A análise de DRX foi de grande importância para a identificação da cristalinidade do material, o tipo de fosfato formado, bem como a observação de formação de apatita devido à mudança de fase do fosfato após contato com o fluido corpóreo simulado. Em sua forma mais simples, a técnica é usada para identificar o tipo de rede e a separação entre os planos da rede, e consequentemente, a distância entre os átomos e íons.

Com os dados de DRX para os planos (001), (002), (120), (122), (112), (201), (202) e (320) e os parâmetros de rede encontrados na literatura (ELLIOT, 1994) foram calculados os parâmetros de rede para o DCPA puro e com óxido de titânio utilizando o programa Rede 93 desenvolvido por Paiva e colaboradores fazendo uso do método dos mínimos quadrados. (PAIVA-SANTOS et. al., 1989)

2.7.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos através do espectrofotômetro de marca SHIMADZU modelo IRPrestige-21, com transformada de Fourier, utilizando pastilhas de KBr com 1% de amostra, na região de 4000 a 400 cm^{-1}, com resolução de 4 cm^{-1} e 32 acumulações.

A espectroscopia na região do infravermelho é uma técnica baseada nos modos vibracionais de grupos funcionais, presentes nas amostras. Estas vibrações ocorrem em frequências quantizadas e quando a radiação infravermelha de mesma frequência incide sobre a molécula, ocorre absorção da energia que é convertida em energia de vibração, aumentando a amplitude desses modos vibracionais. Assim, os espectros são obtidos medindo-se a intensidade relativa da luz transmitida (ou absorvida) em função do número de onda da radiação (SILVERSTEIN e WEBSTER, 2000).

A análise dos espectros na região do infravermelho é uma importante técnica de caracterização, pois fornece uma avaliação qualitativa da presença de grupos funcionais próprios dos fosfatos, bem como daqueles grupos funcionais estranhos, como a incorporação de CO_3^{2-}, que aparecem como defeitos em sua rede cristalina e que não são identificáveis pela técnica de DRX.

2.7.3 Termogravimetria

As curvas termogravimétricas foram obtidas em uma termobalança, marca DuPont, modelo 1090, em um intervalo de 300 a 1200 K, com razão de aquecimento de 10 $Kmin^{-1}$, em atmosfera de nitrogênio.

A termogravimetria é uma técnica basicamente quantitativa por natureza, em que variações de massa podem ser determinadas de forma precisa. Entretanto, faixas de temperatura em que tais variações de massa ocorrem são qualitativas e dependem das características da amostra e do aparelho (MOTHÉ e AZEVEDO, 2002). Esta técnica foi útil para a avaliação da perda de massa dos compostos com o aumento da temperatura, avaliando assim a estabilidade térmica dos fosfatos puros e nanocompósitos.

2.7.4 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura por detecção de elétrons secundários em um microscópio JEOL–300, onde as amostras foram recobertas com uma fina camada de ouro por metalização em um instrumento da Plasma Science. A microscopia permite obter dados sobre a morfologia e tamanho das partículas formadas.

A análise dos elementos constituintes nos sólidos foi feita por analise de energia dispersiva de raios-X, por meio de um detector EDS acoplado ao microscópio eletrônico.

Capítulo III

Resultados e Discussão

3 Resultados e discussão

3.1 Caracterização morfológica e estrutural do fosfato de cálcio monetita e na forma de nanocompósitos

3.1.1 Difração de raios-X

Pelo difratograma de raios-X obtido para o MP, apresentado na Figura 3.1 abaixo, observamos a formação de uma única fase de alta cristalinidade. O pico em 2θ=13,34º correspondeu à primeira reflexão indexada ao plano (001) do cristal de fosfato, com uma distância interlamelar de 0,66 nm. Este valor corresponde ao valor encontrado na literatura para a monetita de modo que o sólido obtido é o fosfato dicálcio anidro de fórmula $CaHPO_4$, (monetita) (MACLENNAN e BEEVERS, 1955; ELLIOT, 1994).

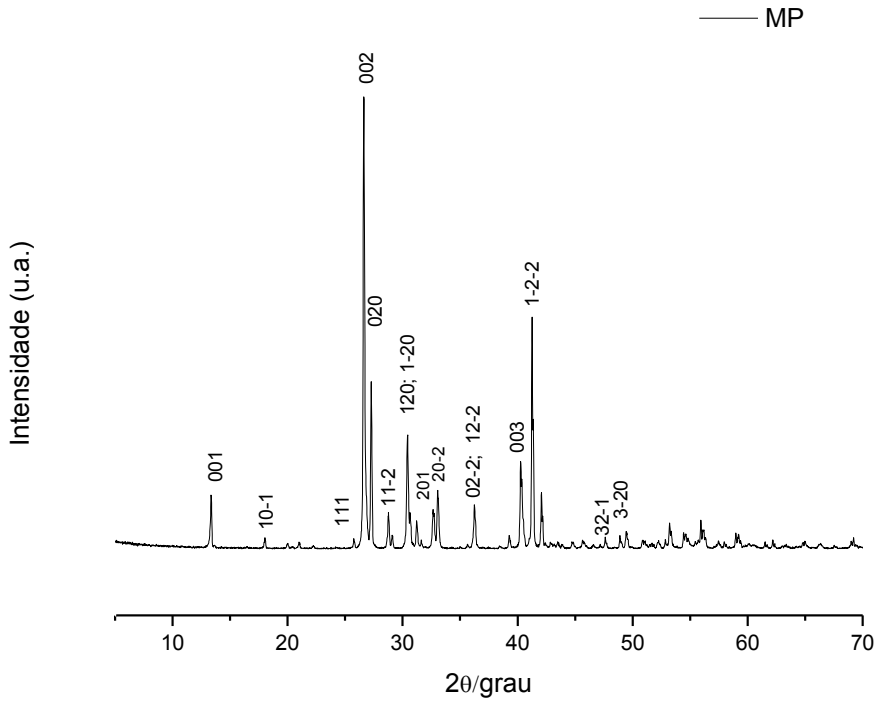

Figura 3.1 Difratograma de raios-X da monetita pura.

Para os nanocompósitos como podemos observar na Figura 3.2 houve pouca variação relativa ao plano (001) do fosfato original, sugerindo que não houve entrada de material na região interlamelar. Pela Tabela 3.1 podemos observar que as distâncias interplanares do pico lamelar (001) calculados pela lei de Bragg, praticamente não variaram.

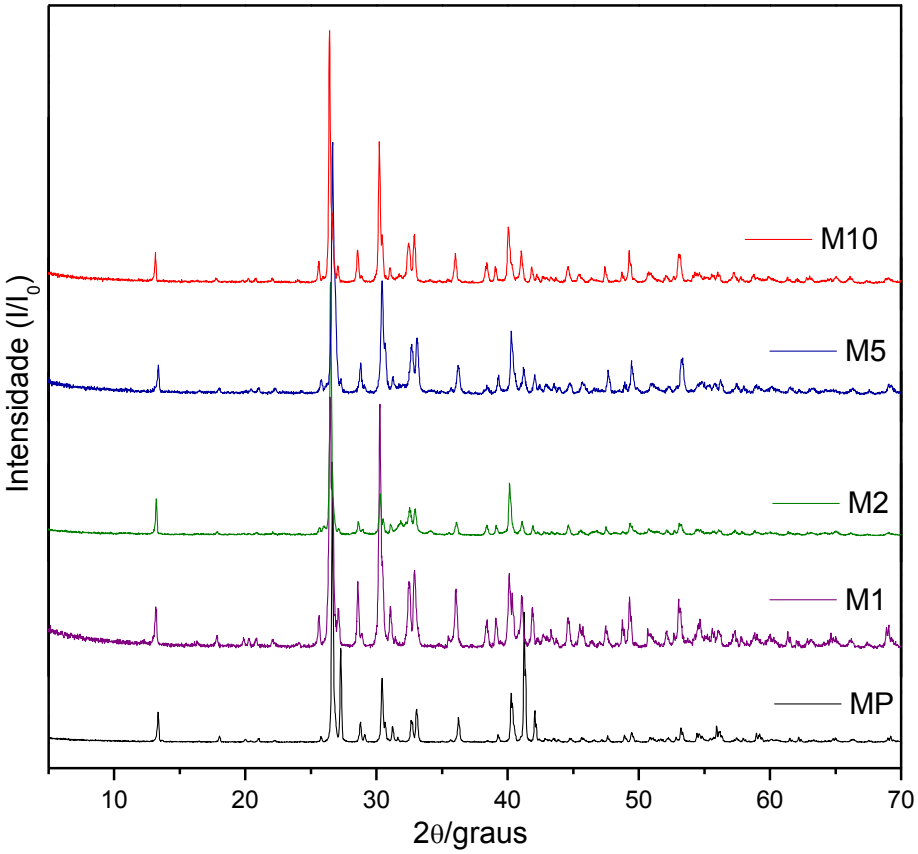

Figura 3.2 Difratogramas de raios-X da monetita e dos nanocompósitos –M1, –M2, –M5 e –M10.

Podemos observar que o material M2 (monetita com sintetizada na presença de 2% de TBT), foi o que aparentemente, apresentou maior alteração no padrão de difração, quando comparado com o MP (monetita pura), o que pode indicar uma presença mais efetiva do TiO_2 no nanocompósito e explicar o comportamento observado nos testes de estabilidade química.

A Tabela 3.1 a seguir apresenta as distâncias interplanares para os planos (001), (002) e (003) dos fosfatos.

Tabela 3.1 Distâncias interplanares paras os planos (001), (002) e (003) para a monetita e os nanocompósitos.

Fosfato	plano (hkl)	2θ (graus)	d (nm)
MP	(001)	13,34	0,663
	(002)	26,46	0,336
	(003)	40,26	0,224
M1	(001)	13,18	0,671
	(002)	26,46	0,336
	(003)	40,12	0,225
M2	(001)	13,2	0,670
	(002)	26,5	0,336
	(003)	40,14	0,224
M5	(001)	13,36	0,662
	(002)	26,66	0,334
	(003)	40,26	0,224
M10	(001)	13,14	0,673
	(002)	26,42	0,337
	(003)	40,04	0,225

Utilizando os picos relacionados aos planos (001), (002), (120), (122), (112), (201), (202) e (320) foram calculados os parâmetros de rede para as amostras de monetita sintetizada pura e em nanocompósitos com o dióxido de titânio, fazendo uso do aplicativo REDE93 desenvolvido por Paiva (PAIVA-SANTOS et al., 1989) o qual utiliza o método dos mínimos quadrados para calcular os parâmetros e os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.2.

De posse dos parâmetros de rede dos materiais foi possível calcular o volume da célula unitária para os mesmos, através da seguinte equação encontrada após o cálculo do produto misto entre os vetores $\vec{a}$, $\vec{b}$ e $\vec{c}$ (FOADI e EVANS 2011):

$$V = a.b.c\sqrt{1-(\cos\alpha)^2-(\cos\beta)^2-(\cos\gamma)^2+2\cos\alpha\cos\beta\cos\gamma}$$

Os resultados obtidos encontram-se na Tabela 3.3

Tabela 3.2 Parâmetros de rede calculados para os materiais.

Parâmetros de Rede						
	a(nm)	**b(nm)**	**c(nm)**	**α**	**β**	**γ**
Literatura	0,691	0,663	0,6998	96,34º	103,82º	88,33º
MP	0,689	0,658	0,693	96,84º	103,82º	88,50º
M1	0,691	0,661	0,697	96,75º	103,79º	88,36º
M2	0,690	0,660	0,696	96,76º	103,76º	88,32º
M5	0,688	0,659	0,691	96,95º	103,82º	88,57º
M10	0,692	0,662	0,698	96,76º	103,70º	88,36º

Tabela 3.3 Volumes de célula unitária para a monetita pura e os nanocompósitos contendo dióxido de titânio.

Volume de célula unitária calculado (nm^3)						
Material	**Literatura**	**Mp**	**M1**	**M2**	**M5**	**M10**
volume	30,928	30,225	30,694	30,582	30,189	30,813

Através dos resultados obtidos nos cálculos, podemos observar que não houve variação considerável nos valores dos parâmetros e do volume das células unitárias, o que nos dá indicação de que a modificação do material não foi suficiente para alterar significativamente a estrutura da monetita e a incorporação de TiO_2 provavelmente se dá na superfície e não no interior da rede cristalina.

3.1.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Na Figura 3.3, está sendo disposto o espectro de absorção na região do infravermelho para a monetita pura, e na Figura 3.4 encontram-se os espectros de absorção dos nanocompósitos M1, M2, M5 e M10.

No espectro da monetita pura, encontramos as bandas nas regiões de 3200, 2850 e 2400 cm^{-1}que são referentes às vibrações de estiramento das ligações O-H dos três diferentes tipos de hidrogênio

dos grupos POH encontrados na monetita devido às ligações de hidrogênio. (PETROV et. al., 1967; TORTET et. al., 1996, 1997).

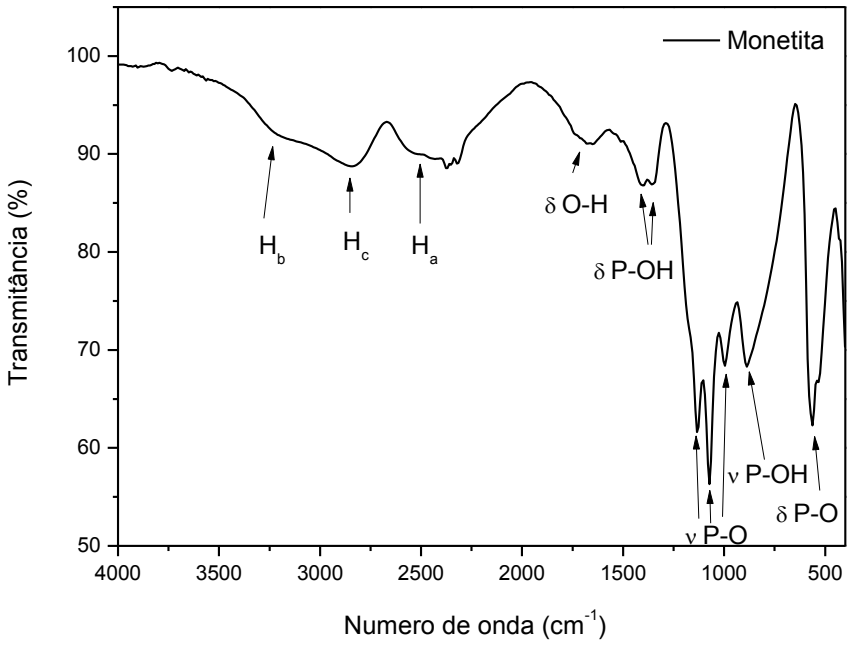

Figura 3.3 Espectro de absorção na região do infravermelho para a monetita pura.

As bandas em 1411 e 1350 cm^{-1} são atribuídas às vibrações no plano das ligações P-O-H. Já as bandas que ocorrem nas regiões de 1130, 1170 e 990 cm^{-1} foram indexadas às deformações assimétricas das ligações P-O, a banda em 880 cm^{-1} à vibração P-O dos grupos POH e a banda em 560 cm^{-1} é atribuída a deformação assimétrica da ligação P-O(H) do grupo HPO_4^{2-} (PETROV et. al., 1967; TORTET et. al., 1996, 1997)

A Tabela 3.4 a seguir apresenta detalhadamente os modos de vibração e deformação dos fosfatos e as regiões do espectro em que ocorrem.

Tabela 3.4 Principais regiões de absorção dos materiais e suas respectivas atribuições.

Região de absorção (cm^{-1})	Atribuição
3500	ν O-H de água adsorvida e grupos hidroxila
2900	ν assimétrico do C-H de grupos metilênicos
2800	ν simétrico do C-H de grupos metilênicos
3200 2850 2400	ν (P)O-H dos diferentes H "b", "c" e "a"
1600-1700	δ O-H de água adsorvida
1411 1350	δ P-O-H no plano
1170 1130 990	ν P-O, Ti-O e Ti-OH
880	ν P-O(H)
560	δ P-O(H)
400-600	δ O-Ti-O

Em relação aos espectros dos nanocompósitos, as mesmas bandas acima citadas permanecem presentes apresentando apenas pequenos desvios, as principais diferenças encontradas são a presença de pequenas bandas em 2900 a 2800 cm^{-1}, as quais são características dos estiramentos assimétricos e simétricos de C-H dos grupos metilênicos (CH_2), respectivamente (SILVERSTEIN, 2000).

A presença de grupos orgânicos remanescentes das sínteses com o alcóxido de titânio ancorados no material pode ser constatado pelo espectro de infravermelho do dióxido de titânio na Figura 3.5. Outra particularidade é uma presença mais efetiva da banda em 3500 cm^{-1}, relativa à água eventualmente adsorvida. Além disso, para os materiais sintetizados na presença de 2%, 5% e 10% de TBT, as bandas na região de 900-1100 cm^{-1} encontram-se sobrepostas devido

à interferência das bandas de vibração das ligações O-Ti-O e Ti-OH que ocorrem nessa região. (ZHU, 2008; COSTA, 2009).

Segundo a literatura as bandas de vibração das ligações O-Ti-O ocorrem também entre 400 e 600 cm^{-1} que não são observáveis devido à presença da banda larga de absorção da deformação dos grupos PO(H) que ocorrem na mesma região.

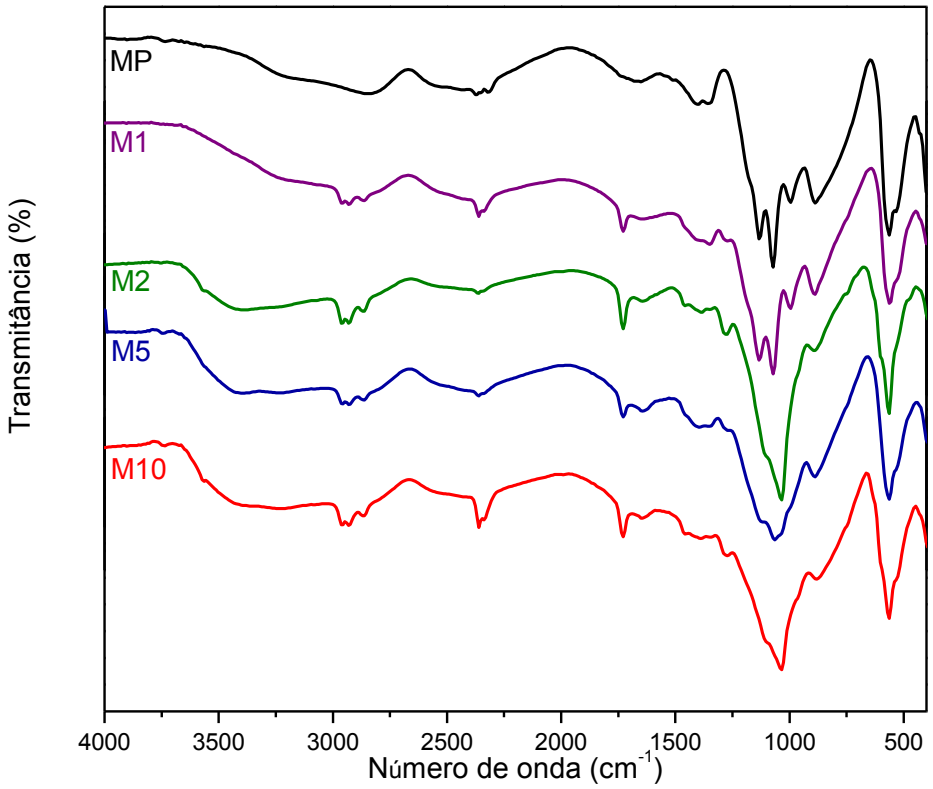

Figura 3.4 Espectros de absorção na região do infravermelho para a monetita (—) e os nanocompósitos M1(—), M2(—), M5(—) e M10(—).

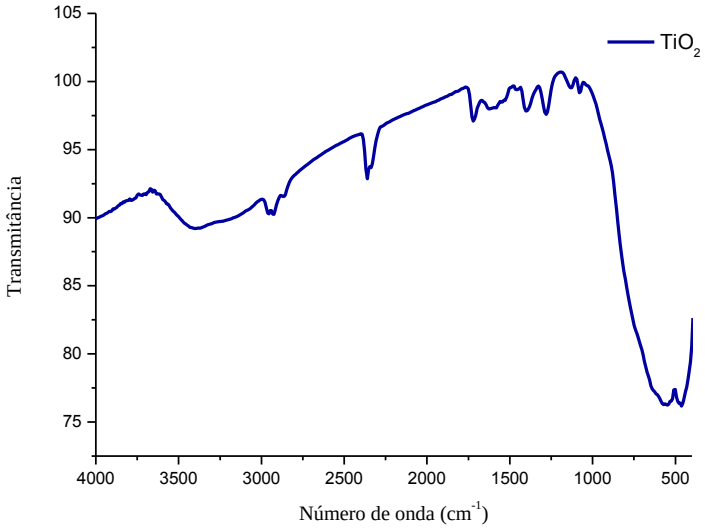

Figura 3.5 Espectro de infravermelho para o dióxido de titânio.

3.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Pelas imagens da microscopia eletrônica de varredura (Figura 3.6), podemos observar a formação de partículas de monetita com formato irregular e de tamanhos variados.

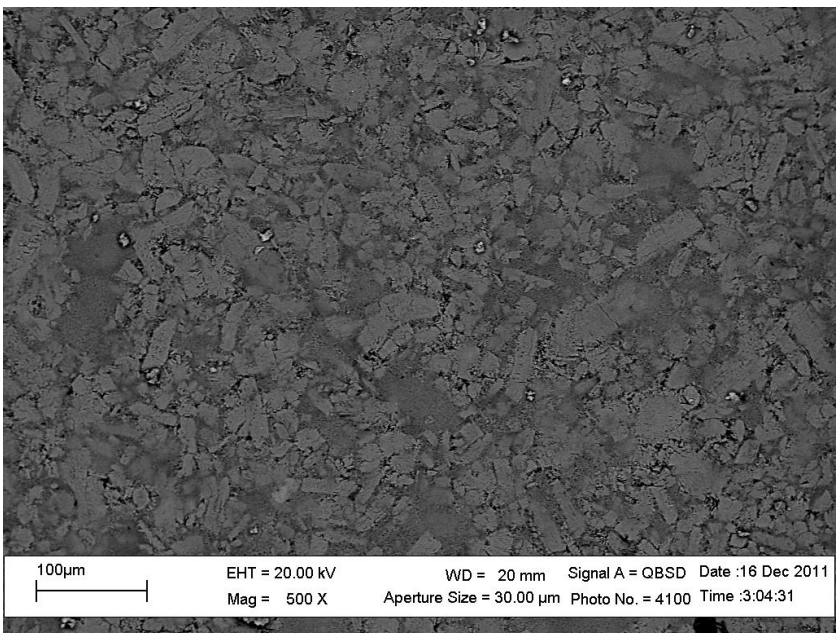

Figura 3.6 Microscopia eletrônica de varredura para a monetita pura.

Verifica-se ainda que a morfologia não foi alterada nos nanocompósitos, conforme Figuras 3.7 à 3.10. Podemos ainda observar que de maneira geral não há alteração significativa no tamanho das partículas decorrente da modificação.

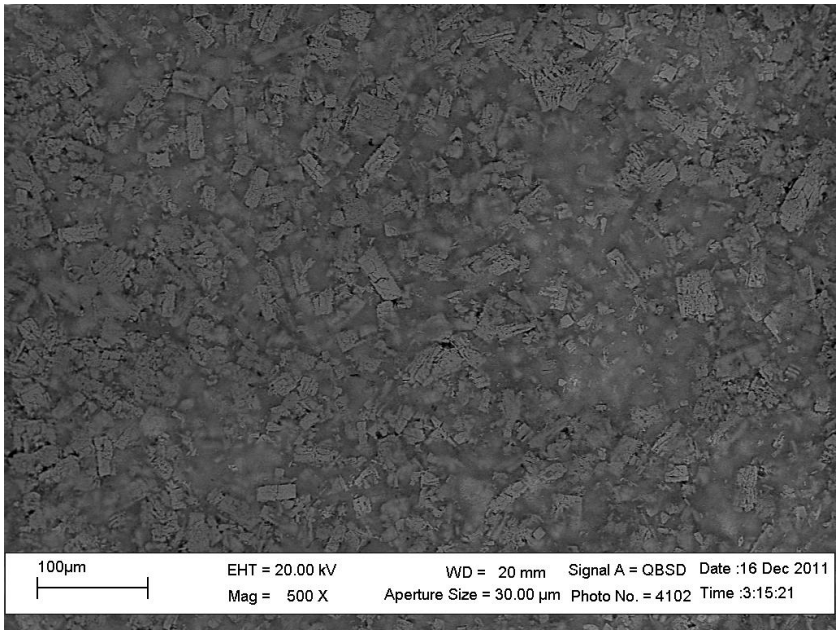

Figura 3.7 Microscopia eletrônica de varredura para o M1.

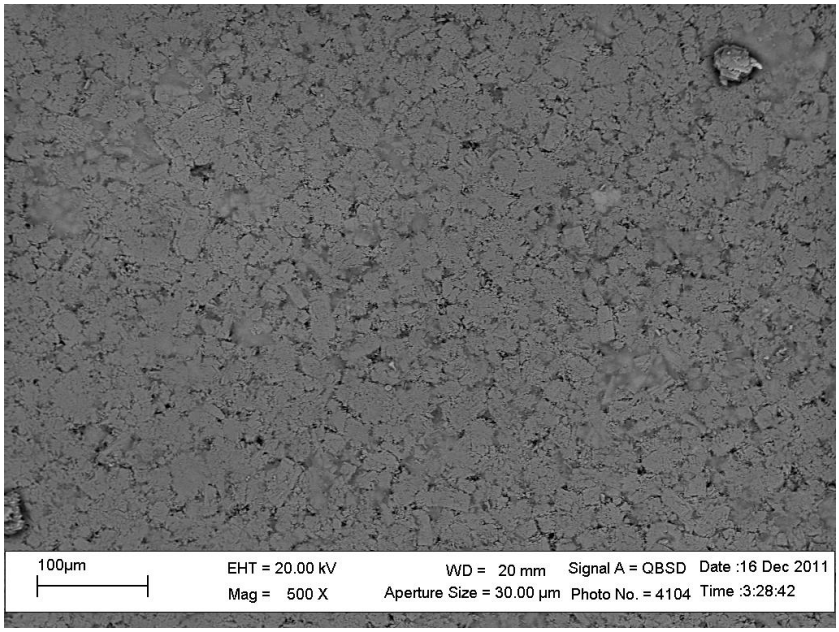

Figura 3.8 Microscopia eletrônica de varredura para o M2.

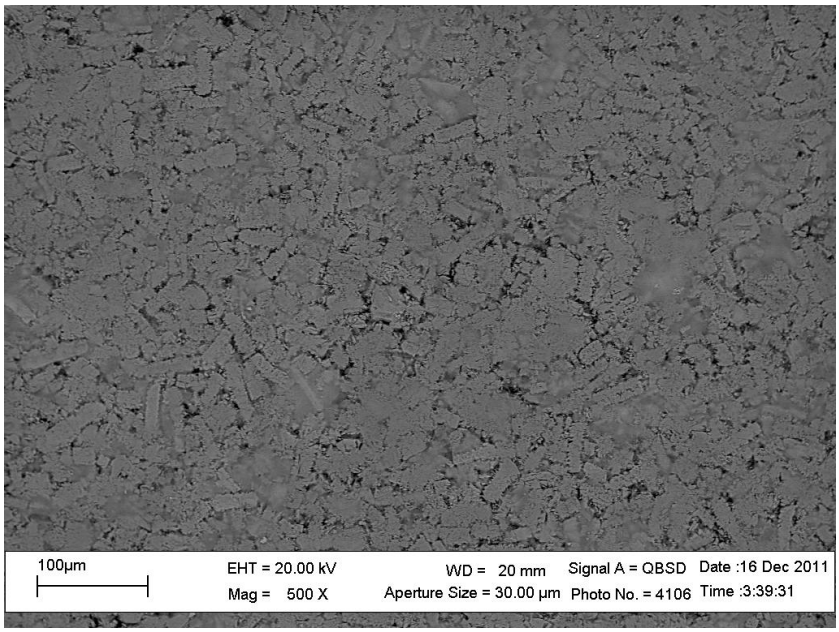

Figura 3.9 Microscopia eletrônica de varredura para o M5.

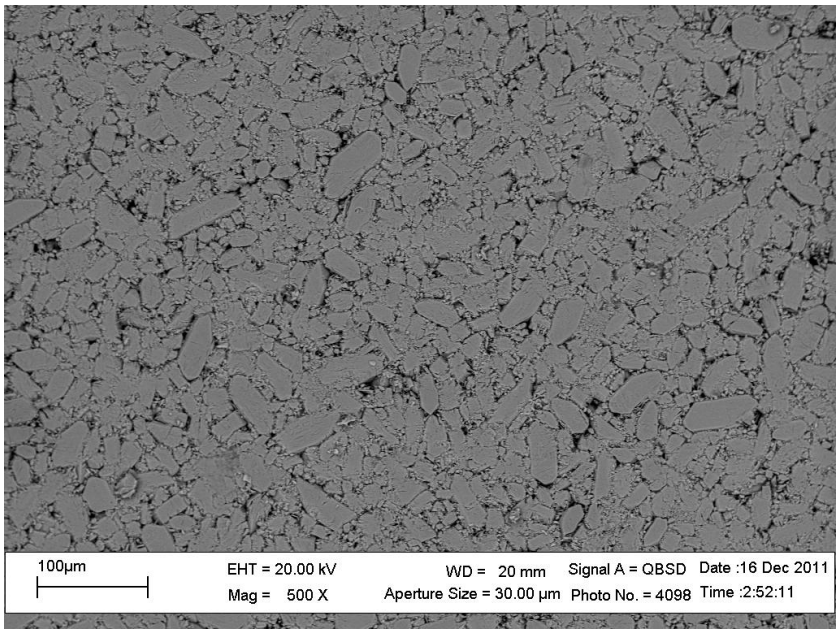

Figura 3.10 Microscopia eletrônica de varredura para o M10.

3.1.3.1 Energia dispersiva de raios-X (EDS)

Juntamente com a microscopia eletrônica de varredura com um detector de energia dispersiva de raios-X acoplado, foram realizadas análises de EDS para todos os biomateriais,as quais demonstraram a

presença do pico relacionado ao fósforo em 2 keV bem como os do cálcio em 0,15 e em 3,8 keV e do oxigênio em 0,27 keV.

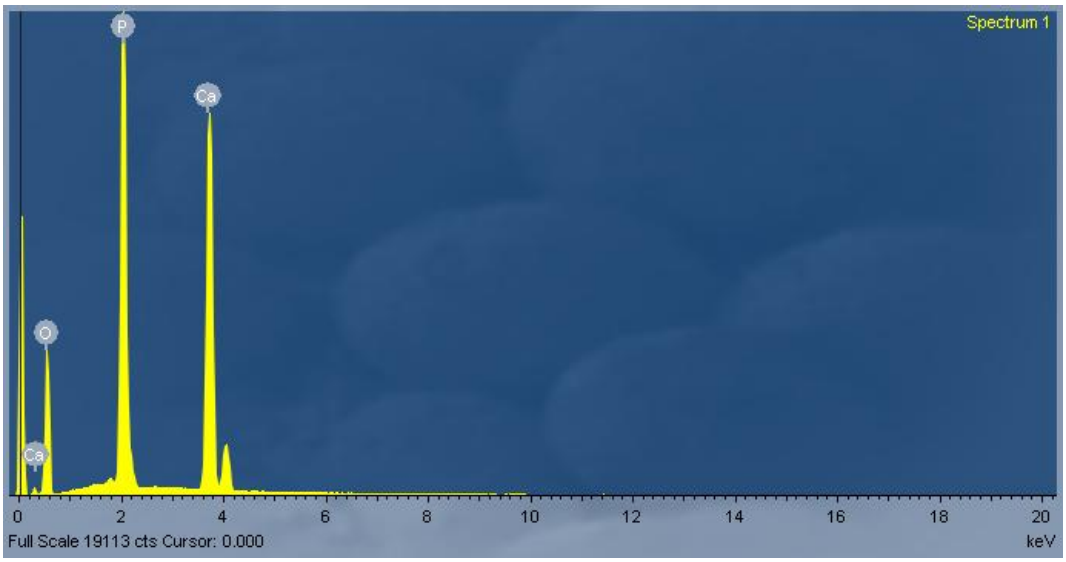

Figura 3.11 Análise de EDS para a monetita.

Além disso, nos dados obtidos para os nanocompósitos dispostos nas figuras 3.12 à 3.15, observamos os picos relacionados à dispersão de energia gerada pelo titânio em 0,27; 4,25 e 4,5 keV, indicando o sucesso da incorporação do titânio ao material através da síntese pelo processo sol-gel.

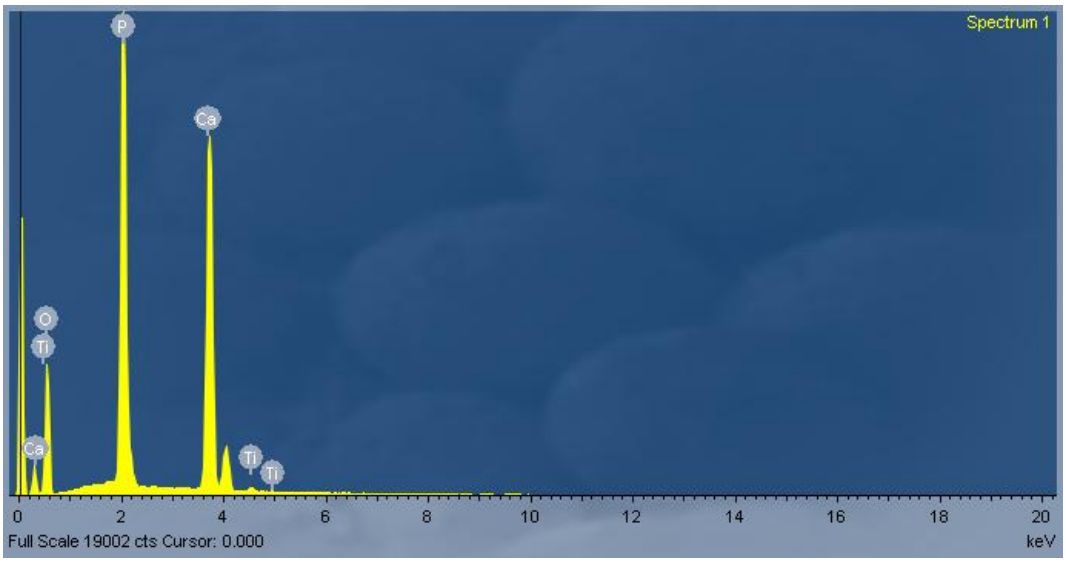

Figura 3.12 Análise de EDS para o nanocompósito M1.

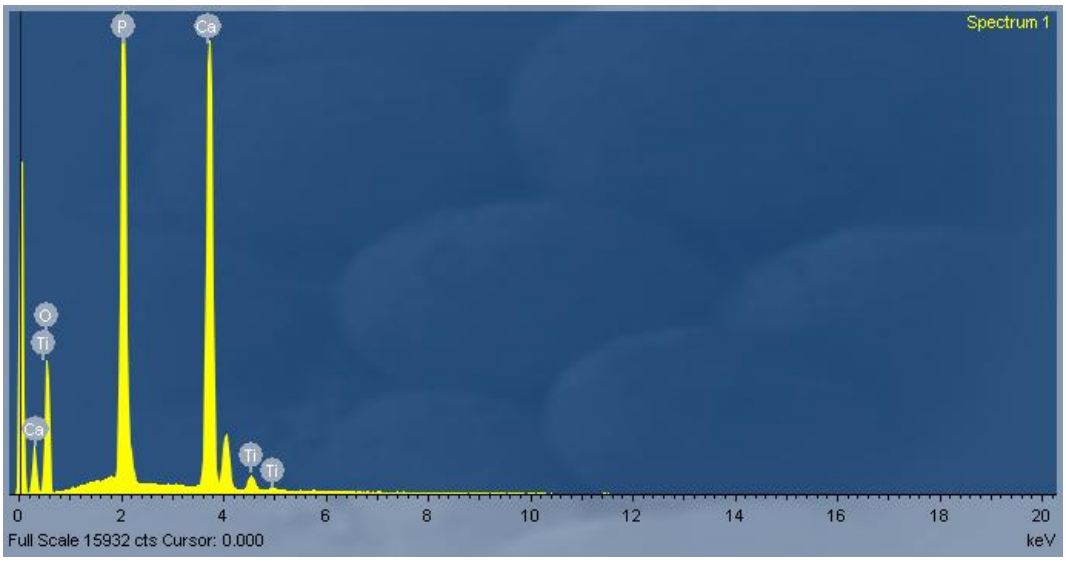

Figura 3.13 Análise de EDS para o nanocompósito M2.

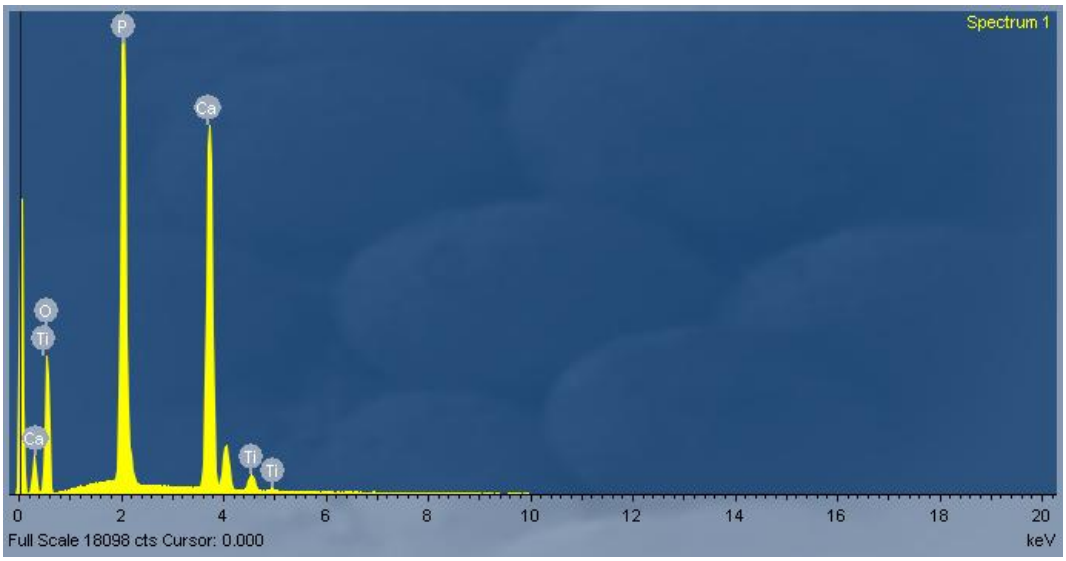

Figura 3.14 Análise de EDS para o nanocompósito M5.

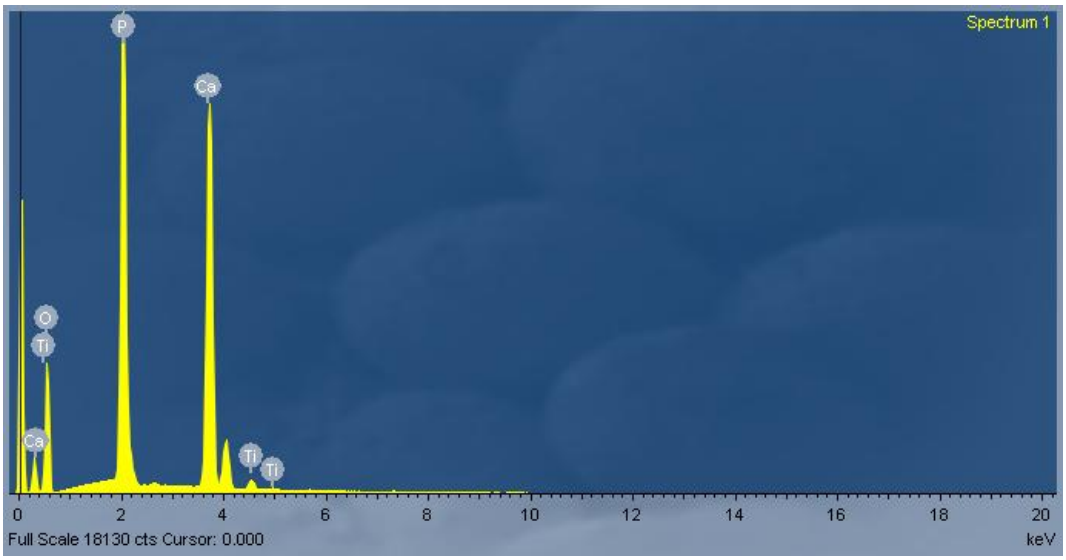

Figura 3.15 Análise de EDS para o nanocompósito M10.

3.1.4 Análise termogravimétrica

As curvas termogravimétricas foram utilizadas para investigar o comportamento térmico do fosfato de cálcio e como esse comportamento varia com o teor de dióxido de titânio nos nanocompósitos. Os dados obtidos foram comparados com os valores disponíveis para a monetita, $CaHPO_4$, uma vez que os nanocompósitos são à base deste fosfato.

Observando a Figura 3.16 podemos constatar que a amostra da monetita pura apresentou apenas uma etapa de perda de massa de 680 a 790 K representando 6,62% de massa, onde a monetita transforma-se em γ-$Ca_2P_2O_7$, devido a condensação do grupo HPO_4^{2-}, conforme a Equação 3.1:

$$2CaHPO_4 \rightarrow \gamma\text{-}Ca_2P_2O_7 + H_2O \qquad \text{Equação 3.1}$$

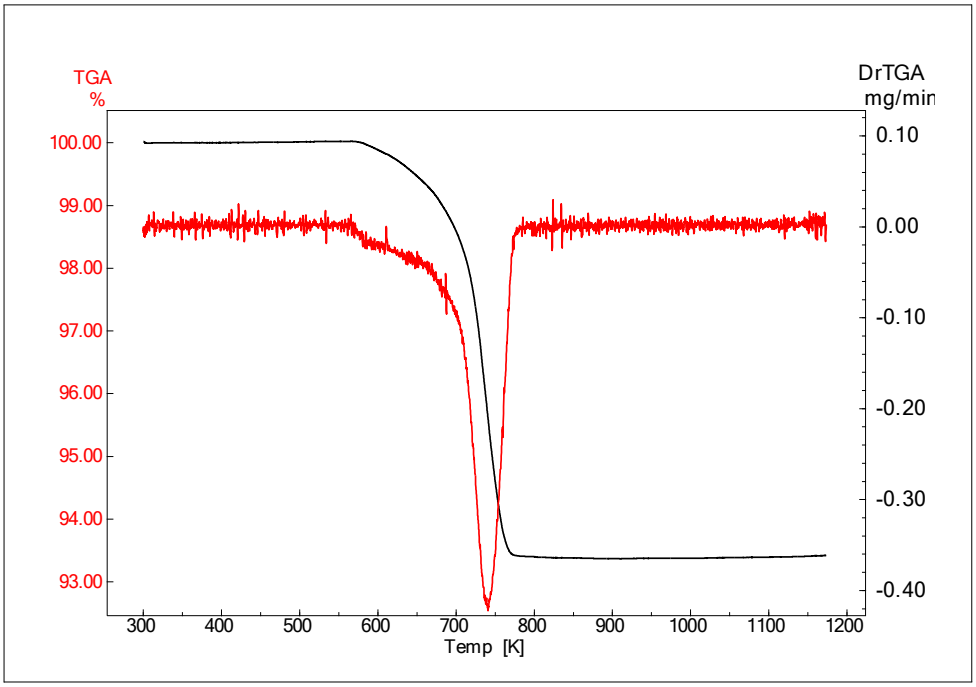

Figura 3.16 Curva termogravimétrica para a monetita pura (**—**) e sua derivada de primeira ordem (**—**).

Pelas curvas da análise termogravimétrica dos nanocompósitos (Figura 3.17) podemos observar uma etapa contínua de diminuição da massa até a temperatura de 400 K que foi atribuída à saída de água adsorvida no material, seguida de uma etapa que ocorre na região de 420 K a 540 K devido à saída de grupos orgânicos remanescentes da síntese representando uma perda média de 2,8% para os sólidos M1, M5 e M10 e de 6,8% para o M2, a presença desses grupos orgânicos pode ser comprovada pelo espectro de infravermelho dos nanocompósitos.

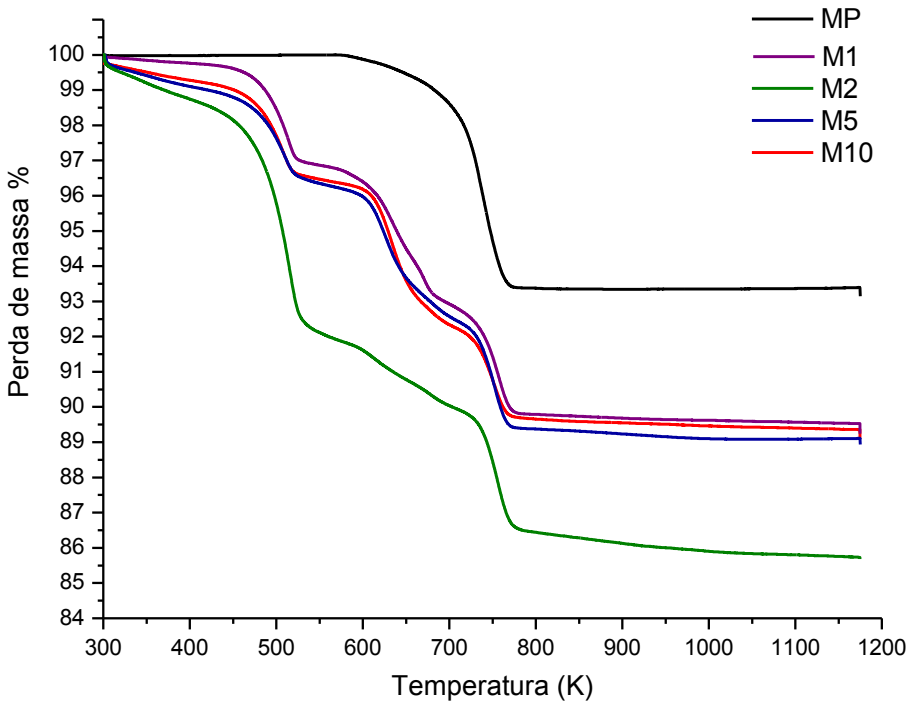

Figura 3.17 Curvas Termogravimétricas da monetita e dos nanocompósitos monetita –1%, –2%, –5% e –10% de titânio.

Para confirmar a temperatura de saída desses resíduos, um dos nanocompósitos foi calcinado de maneira a simular a análise termogravimétrica, com uma rampa te aquecimento de 10 $Kmin^{-1}$ até a temperatura de 643 K a qual corresponde à temperatura em que a perda de massa é mais acentuada para essa etapa, essa temperatura foi mantida durante 10 min. Com o auxílio do espectro de infravermelho, foi possível verificar a remoção das bandas relativas a vibração do CH de grupos metilênicos antes presente no nanocompósito, como pode ser verificado na Figura 3.18.

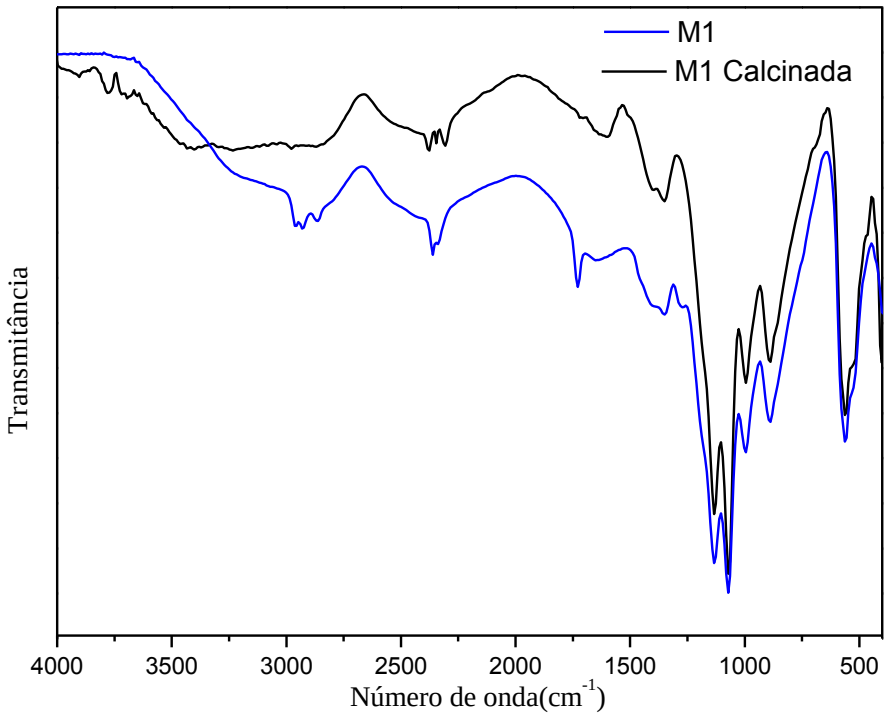

Figura 3.18 Espectros de infravermelho para o M1 antes e após calcinação à 643K.

Na faixa de 600 a 750K temos duas etapas de perda de massa contínua de aproximadamente 4% para os nanocompósitos, relativos à saída de grupos orgânicos remanescentes seguida da condensação dos grupos TiOH.

E por fim, houve a última etapa de perda de massa entre 710 e 760 K relativa à condensação dos grupos POH dos cristais de monetita formando pirofosfato de cálcio de maneira análoga ao fosfato puro.

A Tabela 3.5 resume as perdas de massa dos fosfatos e as respectivas faixas de temperatura em que ocorrem, os dados foram extraídos através da primeira derivada das curvas termogravimétricas (DTG) dos materiais.

Tabela 3.5 Faixas de temperatura e porcentagens de perdas de massa da monetita pura e dos nanocompósitos

Material	Faixa de Temperatura (K)	Quantidade de massa perdida (%)
MP	570 - 790	6,61
M1	300 - 430	0,21
	430 - 550	2,84
	550 - 657	2,65
	657 - 701	1,29
	701 - 790	3,10
M2	300 - 411	0,86
	411 - 580	6,80
	580 - 656	1,14
	656 - 707	0,73
	707 - 795	3,74
M5	300 - 420	0,61
	420 - 559	2,68
	559 - 711	3,88
	711 - 790	3,03
M10	300 - 420	0,54
	420 - 560	2,76
	560 - 707	4,17
	707 - 790	2,58

3.2 Testes de estabilidade química

Levando-se em consideração o fato de que os fosfatos de cálcio possuem uma baixa estabilidade química (são dissolvidos) quando expostos a sistemas com pH em faixa ácida (pH < 4,0), foi analisada a resistência à corrosão dos nanocompósitos quando comparados com a monetita pura.

Os resultados desses testes estão na Figura 3.19 e na Tabela 3.6.

Tabela 3.6 Dados de quantidade de cálcio lixiviada (%) da monetita e dos nanocompósitos em pH de 1,0 a 6,0 durante 48 h.

pH	1	3	4	5	6
Material	% Ca				
MP	93,9%	90,6%	52,7%	33,5%	11,8%
M1	83,9%	75,3%	45,0%	33,7%	11,9%
M2	72,7%	69,5%	44,3%	29,4%	12,9%
M5	80,5%	71,1%	50,2%	37,8%	15,1%
M10	74,0%	72,1%	48,7%	38,1%	13,0%

Conforme foi verificado, a monetita pura teve quase que a quantidade total de cálcio lixiviada em pH 1,0 e 3,0. Observando-se para os nanocompósitos formados com o óxido de titânio uma melhoria na estabilidade nessa mesma faixa de pH. Por exemplo, para o nanocompósito com 2% de TiO_2 observa-se que na faixa de pH entre 1,0 e 3,0 a taxa de lixiviação foi de 72,7% a 69,5%, respectivamente. Enquanto que para a monetita pura os valores de cálcio lixiviados foram 93,8% a 90,6% nesses mesmos pH.

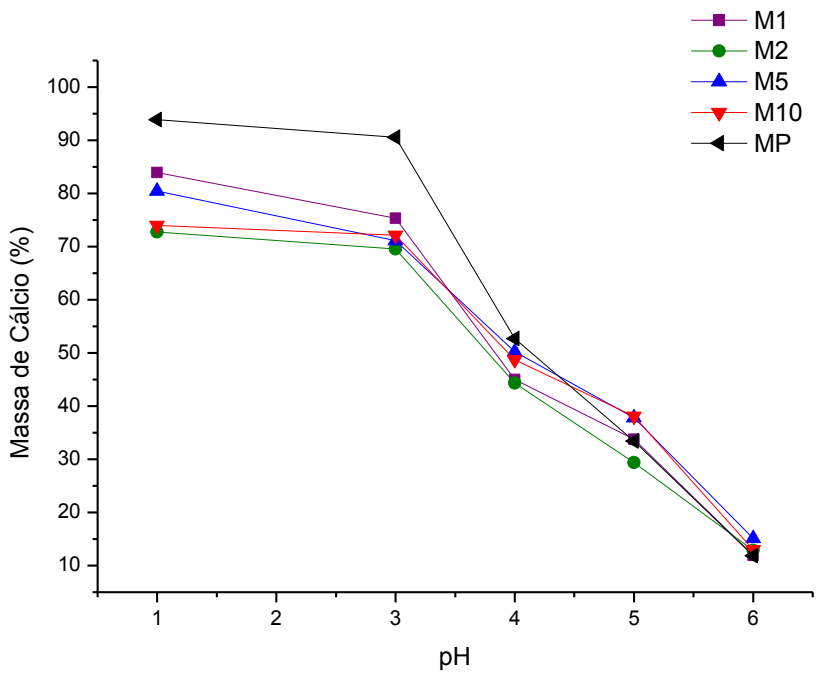

Figura 3.19 Massa de cálcio lixiviada (%) das amostras de monetita pura e com TiO_2 após 48 h em pH ácido.

Assim observou-se que após a adição do TiO_2, a estabilidade do material tem um considerável aumento, sendo mais efetivo para o nanocompósito M2. Podemos perceber que em pH < 3,0, a amostra MP teve o cálcio praticamente todo lixiviado.

Para os nanocompósitos com dióxido de titânio na composição, o material apresenta uma maior resistência à lixiviação. No entanto, a quantidade de cálcio lixiviada nos nanocompósitos com 1-10% de titânio não aumentou gradualmente de modo que os materiais M5 e M10 tiveram mais cálcio lixiviado que a M2, o que pode ser indicativo que em concentrações superiores a 2% de dióxido de titânio não há um ancoramento significativo do TiO_2 à matriz do fosfato. Isto pode ter sido causado pela condensação e polimerização do dióxido de titânio ao entrar em contato com o solvente, sem que fossem incorporados na formação da biocerâmica ou ainda a uma limitação da quantidade de sítios OH presentes na monetita para a ligação com o TiO_2.

3.3 Avaliação da bioatividade

Para a avaliação da bioatividade dos nanocompósitos após proceder aos ensaios em SBF, avaliamos a presença da hidroxiapatita pelos difratogramas dos materiais por meio do cálculo de intensidade relativa dos picos.

Em relação à monetita pura, a Figura 3.20 apresenta os difratogramas do material antes e após o contato com o fluido corpóreo simulado durante um dia, três dias, uma semana e duas semanas.

Podemos observar que após apenas um dia é visivelmente notável o aumento na intensidade de alguns picos referentes à hidroxiapatita, evidenciando a formação desta sobre o material, o que confere ao biomaterial uma maior aderência ao tecido hospedeiro, tornando o implante mais eficiente.

Outra indicação da formação de HA é a perda gradual de linha de base o que pode representar a formação de hidroxiapatita biológica que possui características de material amorfo.

Para facilitar a observação das alterações nos padrões de difração do material todos os difratogramas foram normalizados e os picos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita tiveram suas intensidades calculadas em relação ao pico de maior intensidade que corresponde ao plano (002) da monetita, para $2\theta=26,5^{o}$, tanto para a monetita pura quanto para os nanocompósitos.

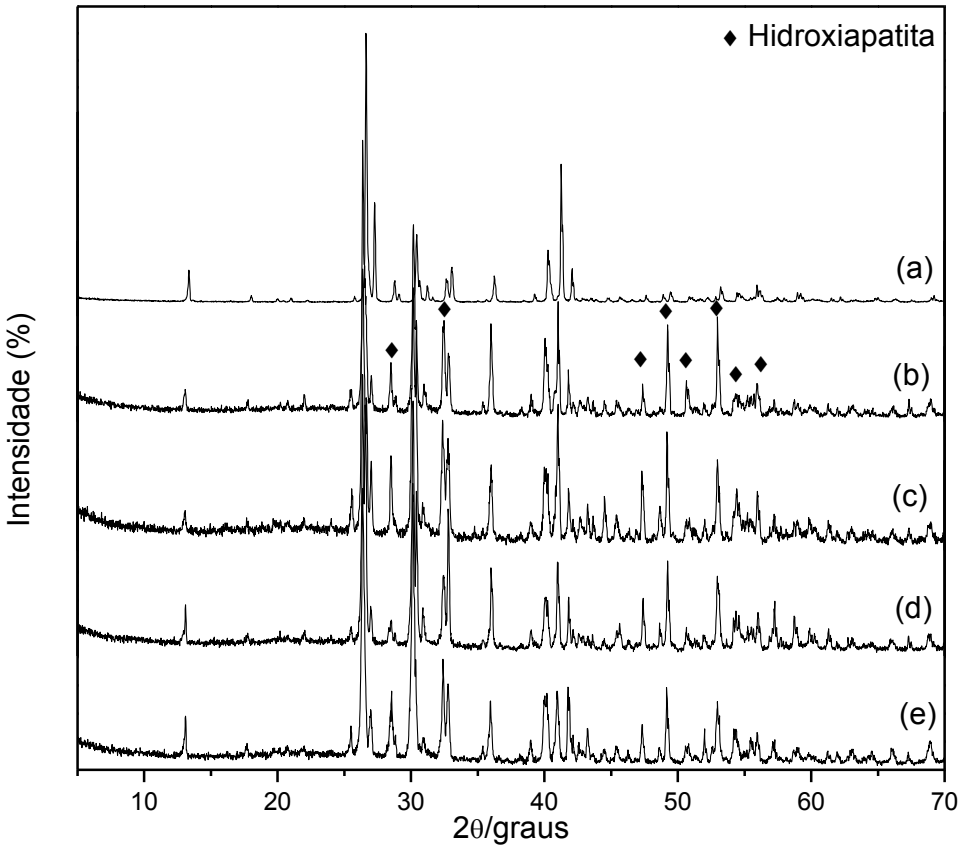

Figura 3.20 Difratogramas de raios-X para a monetita antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1dia, (c) 3 dias, (d) 7 dias e (e) 15 dias.

A Tabela 3.7 apresenta o cálculo das intensidades relativas dos picos referentes aos planos da monetita que coincidem com posições

de picos para planos da hidroxiapatita, nela são mostrados os planos da monetita analisados bem como seus correspondentes na hidroxiapatita e também o tempo de contato com fluido corpóreo simulado em que a alteração ocorreu.

Tabela 3.7 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF.

MP				
Plano analisado (hkl)	Tempo de contato	2θ (graus)	Intensidade relativa	Plano correspondente na HA (hkl)
(320)	sem contato	49,44	4,020	(213)
	1 dia	49,22	34,407	
	3 dias	49,18	42,133	
	1 semana	49,24	33,716	
	2semanas	49,16	29,239	
(322)	sem contato	53,2	5,940	(001)
	1 dia	52,98	37,169	
	3 dias	52,98	32,188	
	1 semana	52,96	28,352	
	2semanas	52,98	24,165	
(120)	sem contato	30,44	25,355	(211)
	1 dia	30,18	69,965	
	3 dias	30,18	93,309	
	1 semana	30,16	90,549	
	2semanas	30,16	97,597	
(111)	sem contato	28,78	8,171	(210)
	1 dia	28,48	21,059	
	3 dias	28,5	33,635	
	1 semana	28,52	12,771	
	2semanas	28,54	27,903	

Para os nanocompósitos os resultados apresentaram algumas variações do perfil evidenciado para a monetita pura, características decorrentes da modificação do material com o dióxido de titânio.

No que diz respeito ao M2, o perfil de bioatividade foi semelhante ao da monetita pura apresentando apenas picos com

intensidade um pouco menores que para o material de partida como podemos verificar na Figura 3.21.

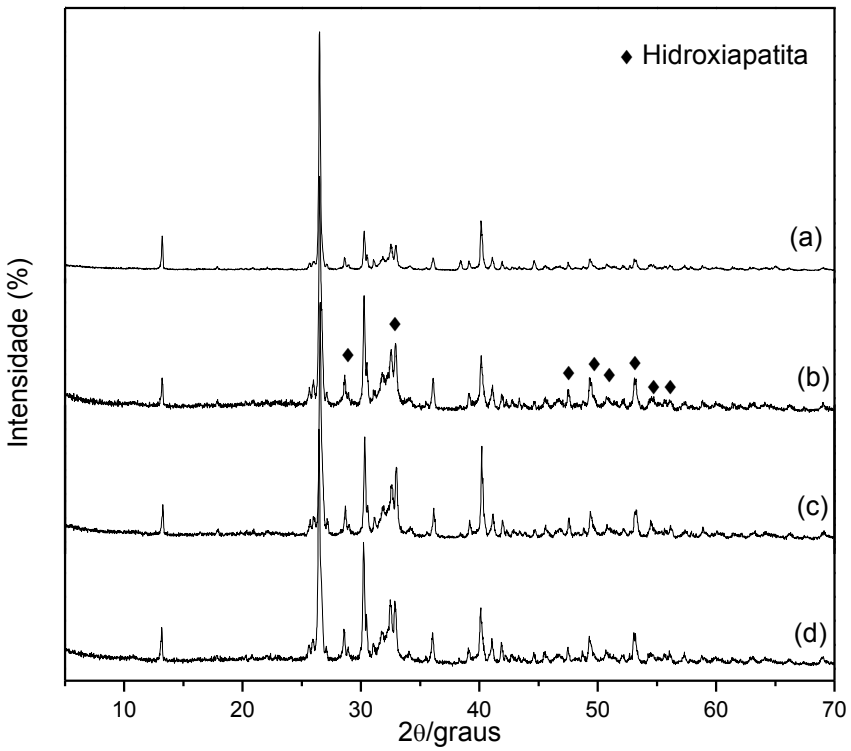

Figura 3.21 Difratogramas de raios-X para oM2 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 3 dias, (c) 7 dias e (d) 15 dias.

A Tabela 3.8 a seguir apresenta os dados de intensidade relativa dos picos correspondentes aos planos da monetita cuja distância coincide com planos da hidroxiapatita, de forma análoga à realizada para a monetita pura.

Comparando os dados das Tabelas 3.7 e 3.8, podemos verificar que o perfil de formação de HA na monetita foi mantido na M2, diferenciado apenas no fato das intensidades dos picos terem sido menos alteradas. De modo geral todos os nanocompósitos apresentaram variações de intensidades não lineares em relação ao tempo de imersão em SBF como acontece com a MP.

A formação de hidroxiapatita na superfície se deu através da troca de íons entre a monetita e o fluido corpóreo, num processo de descalcificação e reclacificação semelhante ao que ocorre nos dentes. A M2 tem um aumento da intensidade em três dias seguido da diminuição das intensidades em uma semana e em duas semanas ela volta a aumentar. Mas, como pode-se observar, em todos os casos as intensidades são maiores que para o material antes de ser imerso em SBF, o que indica que a apatita não se solubiliza por completo, permanecendo na superfície do material.

Tabela 3.8 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M2

M2				
Plano analisado (hkl)	Tempo de contato	2θ (graus)	Intensidade relativa	Plano correspondente na HA (hkl)
3 -2 0	Sem contato	49,36	5,30	2 1 3
	3 dias	49,32	16,01	
	1semana	49,38	12,79	
	2semanas	49,3	13,60	
3 -2 -2	Sem contato	53,08	5,3	0 0 1
	3 dias	53,1	15,90	
	1semana	53,14	12,60	
	2semanas	53,06	15,01	
1 2 0	Sem contato	30,26	16,80	2 1 1
	3 dias	30,26	50,17	
	1semana	30,32	43,93	
	2semanas	30,22	52,81	
1 1 1	Sem contato	28,6	5,93	2 1 0
	3 dias	28,62	17,02	
	1semana	28,68	15,11	
	2semanas	28,56	16,57	

As figuras 3.22, 3.23 e 3.24 a seguir apresentam os difratogramas relativos aos testes realizados com os materiais M1, M5 e M10 respectivamente.

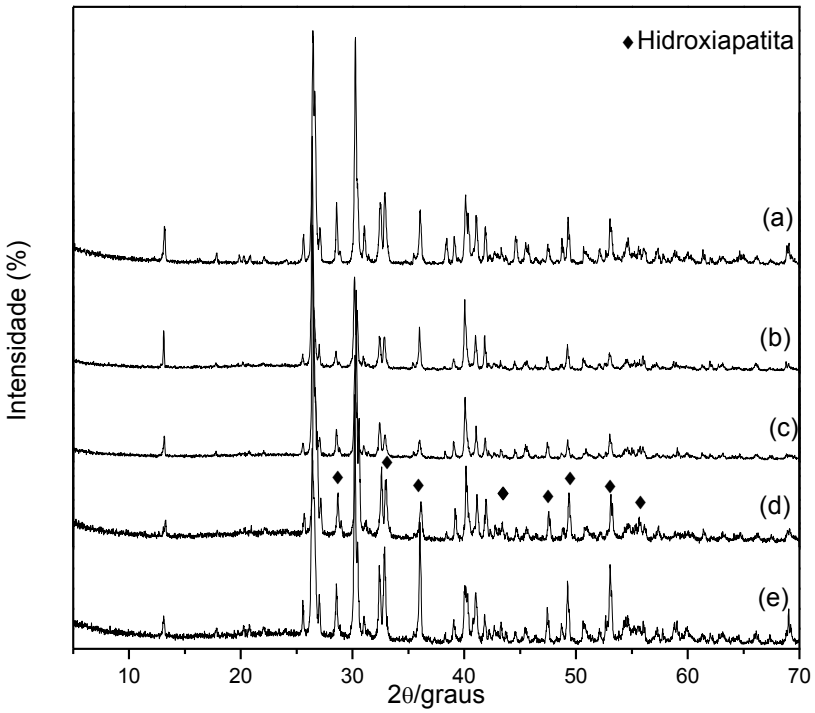

Figura 3.22 Difratogramas de raios-X para o M1 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia, (c)3 dias (d) 7 dias e (e) 15 dias.

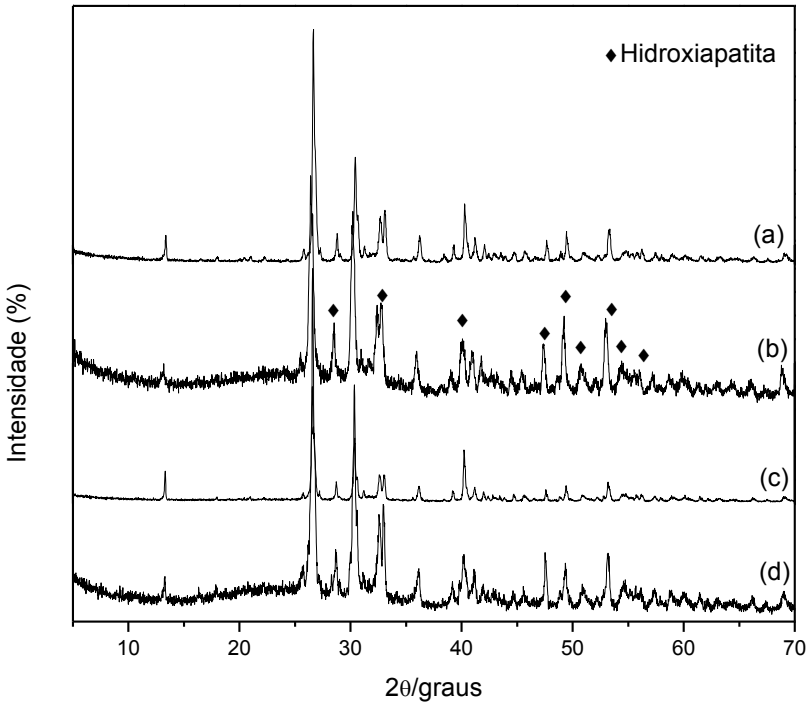

Figura 3.23 Difratogramas de raios-X para o M5 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia,(c) 3 dias (d) 7 dias

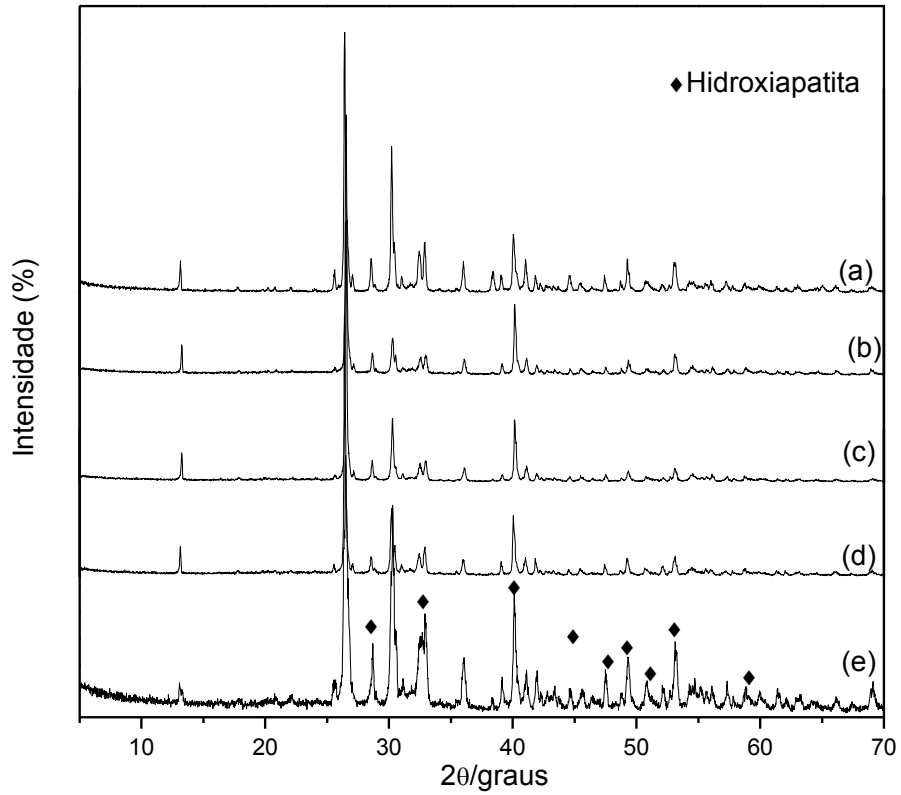

Figura 3.24 Difratogramas de raios-X para o M10 antes (a) e após o ensaio de bioatividade durante (b) 1 dia,(c) 3 dias (d) 7 dias e (e) 15 dias.

Os materiais M1 e M10 apresentam uma diminuição da intensidade dos picos analisados nas duas primeiras etapas do teste, e a partir da terceira etapa as intensidades começam a aumentar acompanhadas da perda de resolução da linha de base, o que provavelmente se dá pelo fato da monetita estar sendo descalcificada, mas, a modificação na superfície do material pode ter dificultado a recalcificação na forma de hidroxiapatita.

Tabela 3.9 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M1

M1				
Plano analisado (hkl)	Tempo de contato	2θ (graus)	Intensidade relativa	Plano correspondente na HA (hkl)
(3200	sem contato	49,3	21,31	(213)
	1 dia	49,24	12,09	
	3 dias	49,26	9,46	
	1 semana	49,38	22,90	
	2semanas	49,24	33,79	
(322)	sem contato	53,04	20,55	(001)
	1 dia	53,02	7,71	
	3 dias	53,02	11,80	
	1 semana	53,12	22,22	
	2semanas	58,04	41,94	
(120)	sem contato	30,26	97,16	(211)
	1 dia	30,18	40,52	
	3 dias	30,24	45,07	
	1 semana	30,32	108,50	
	2semanas	30,16	121,84	
(1110	sem contato	28,58	27,43	(210)
	1 dia	28,52	9,28	
	3 dias	28,56	13,80	
	1 semana	28,7	22,90	
	2semanas	28,56	32,40	

De maneira semelhante podemos verificar a formação de apatita no M5, onde os picos têm sua intensidade aumentada acompanhada da perda da resolução na linha de base após um dia de contato, seguido pela descalcificação dessa camada de apatita observada após uma semana, e após duas semanas, o material volta a ser recoberto pela hidroxiapatita.

Essas observações podem ser mais facilmente verificadas analisando os dados das Tabelas 3.9 à 3.11, onde estão os cálculos de intensidade relativa dos picos dos materiais em relação ao pico do plano (002) da monetita.

Tabela 3.10 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M10

M10				
Plano analisado (hkl)	Tempo de contato	2θ (graus)	Intensidade relativa	Plano correspondente na HA (hkl)
(3-20)	sem contato	49,26	13,44	(213)
	1 dia	49,34	6,29	
	3 dias	49,34	4,69	
	1 semana	49,26	7,39	
	2semanas	49,32	23,03	
(3-2-2)	sem contato	53,02	11,31	(001)
	1 dia	53,1	8,69	
	3 dias	53,08	5,57	
	1 semana	53,12	8,03	
	2semanas	53,14	28,907	
(120)	sem contato	30,22	56,33	(211)
	1 dia	30,26	14,23	
	3 dias	30,3	24,72	
	1 semana	30,2	26,56	
	2semanas	30,3	81,01	
(111)	sem contato	28,56	13,49	(210)
	1 dia	28,66	8,97	
	3 dias	28,66	8,73	
	1 semana	28,45	7,86	
	2semanas	28,68	28,24	

As diferenças no comportamento dos materiais podem ser devido à presença do titânio e dos grupos orgânicos nos nanocompósitos. De acordo com os dados de termogravimetria, o perfil de perda de massa foi diferenciado para os materiais. De modo que o M2 apresenta uma termodecomposição particular, enquanto que M1, M5 e M10 apresentam perfis semelhantes entre si, o que pode estar relacionado com a forma do recobrimento das partículas, de modo que dependendo da maneira com que esses materiais se apresentam nos nanocompósitos, podem interferir no contato do fluido corpóreo com o biomaterial.

Tabela 3.11 Intensidades relativas dos picos correspondentes aos planos da monetita coincidentes com os da hidroxiapatita durante os períodos de contato com SBF para o M10

M5				
Plano analisado (hkl)	Tempo de contato	2θ (graus)	Intensidade relativa	Plano correspondente na HA (hkl)
3 -2 0	sem contato	49,44	14,089	2 1 3
	1 dia	49,22	40,189	
	3 dias	40,42	7,639	
	1 semana	49,34	24,810	
3 -2 -2	sem contato	53,25	14,638	0 0 1
	1 dia	52,98	39,252	
	3 dias	53,22	7,932	
	1 semana	53,18	29,114	
1 2 0	sem contato	30,42	45,379	2 1 1
	1 dia	30,22	84,735	
	3 dias	30,4	25,645	
	1 semana	30,34	100,759	
1 1 1	sem contato	28,8	13,174	2 1 0
	1 dia	28,52	37,383	
	3 dias	28,72	9,246	
	1 semana	28,66	30,633	

Esse caráter não foi tão influente para o M2, de modo que esse se comportou de maneira semelhante a monetita pura.

3.4 Estruturas sugeridas para os nanocompósitos

Sem uma técnica de análise específica para a avaliação da estrutura dos nanocompósitos, torna-se um tanto difícil propor uma estrutura única e definida para os mesmos de modo que iremos apenas propor as possíveis estruturas com base nas análises avaliadas.

A hidrólise do tetrabutóxido de titânio pode ser completa, onde podemos ter a condensação das cadeias de TiO_2 ligadas por meio de

três oxigênios à monetita, ou ainda a hidrólise parcial onde o dióxido de titânio ligado à monetita teria resíduos de butóxido remanescentes da síntese como mostramos na Figura 3.25.

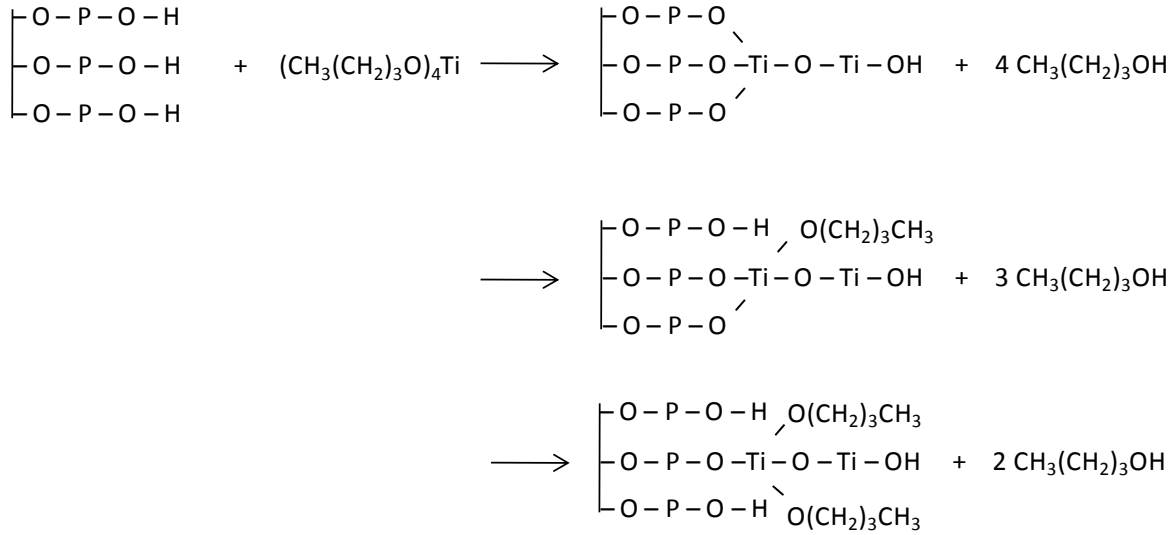

Figura 3.25 Estruturas propostas para a modificação da monetita com o dióxido de titânio.

Além disso, podemos ainda ter ligações cruzadas nas cadeias de TiO_2 com ou sem resíduos de butóxido.

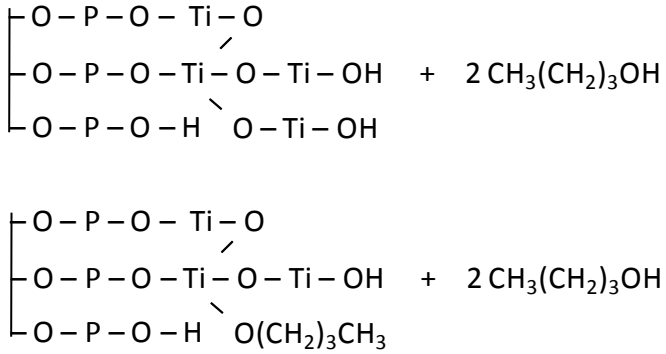

Figura 3.26 Estruturas propostas para a modificação da monetita com o dióxido de titânio com ligações cruzadas.

Capítulo IV

Conclusões

4 Conclusões

- ✓ O processo sol-gel se mostrou um eficiente método para a síntese dos nanocompósitos de monetita e dióxido de titânio.
- ✓ A partir dos dados obtidos na análise de difração de raios-X foi possível constatar que a fase formada realmente foi o fosfato de cálcio conhecido como monetita, e que os nanocompósitos foram formados pela interação na superfície das partículas de fosfato com o dióxido de titânio.
- ✓ As análises de espectroscopia na região do infravermelho, mostraram que o material sintetizado apresenta as principais características vibracionais associadas à monetita, o que nos fornece mais uma indicação do sucesso da síntese sem grande modificações após a entrada de TiO_2.
- ✓ A microscopia eletrônica de varredura mostra uma uniformidade das partículas do fosfato de cálcio sem alteração após a incorporação do óxido.
- ✓ A análise de espectroscopia de raios-X por dispersão de energia comprovou a presença do titânio nos nanocompósitos, certificando mais uma vez o sucesso da síntese.
- ✓ Os testes de estabilidade química mostraram que a adição de dióxido de titânio em pequenas concentrações é capaz de alterar significativamente a resistência à corrosão do fosfato, mostrando que o material com 2% de titânio teve um aumento efetivo de mais de 21% na resistência à lixiviação comparando-o à monetita pura.
- ✓ Os testes de bioatividade evidenciam o fato de a monetita ser um fosfato de cálcio bioativo favorecendo sua utilização em implantes ósseos e dentários. O nanocompósito M2 apresentou bioatividade próxima à da monetita pura, sendo assim um material promissor para utilização em implantes dentários.

- ✓ Com base em todos os resultados obtidos foi possível constatar, que a hidrólise controlada de tetrabutóxido de titânio em solução contendo íons de cálcio e fosfato origina nanocompósitos de fosfato de cálcio e dióxido de titânio. Neste caso, o óxido de titânio se ancora a matriz de fosfato de cálcio havendo, portanto, a formação de nanocompósitos. Os ensaios de estabilidade química sugeriram que a adição do precursor de titânio (TBT) ao fosfato de cálcio resulta na formação de composto híbrido, que apresenta uma maior estabilidade química, sem perda de suas principais características a longo e curto alcance.

Capítulo V

Referências

5 Referências Bibliográficas

ANDERSSON, J.; AREVA, S.; SPLIETHOFF, B.; LINDÉNA, M.; **Sol-gel synthesis of a multifunctional, hierarchically porous silica/apatite composite**; *Biomaterials*, vol. 26, 2005 p. 6827 – 6835.

ANMIN, H.; MING, L.; CHENGKANG, C.; DALI, M**.; Preparation and characterization of a titanium-substituted hydroxyapatite photocatalyst**. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, vol. 267, 2007, p. 79-85.

AOKI, H.;**Medical Applications of Hydroxyapatite**.Tokyo, St. Louis, Ishiyaku Euroamerica1994.

APARECIDA, A. H.; FOOK, M. V. L.; SANTOS, M. L. dos; GUSTALDI, A. C. **Influência dos íons K^+ e Mg^{2+}na obtenção de apatitas biomiméticas**. *Eclética Química* vol. 30, no 4, 2005p.13-18.

ARAÚJO, T. L.; COUTO, A. A.; **Estudo do aço inoxidável aplicado como implante ortopédico**. Revista online, São Paulo, 2004. Disponível em: http://www.mackenzie.br/fileadmin/Graduacao/EE/Revista_on_line/aco_inoxidavel.pdf,acessado em 04 de 01 de 2012

BOHNER, M. ***Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements****;International Journal oftheCareof theInjured*, vol. 31, no 4 2000, p. 37-47.

Borges, A. P. D.; Rezende, C. M. F.; Ribeiro, M. F. B.; Melo, E. G.; Nobrega Neto, P. I.; **Sinthetic hydroxyapatite as bone substitute in the experimentally caused defect on the dog tibia proximal third: electronic transmission microscopy aspects;***Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. vol. 52,2000,p. 616.

BORUM, L.; WILSON Jr., O.C. **Surface modification of hydroxyapatite. Part II. Silica**. *Biomaterials*, vol. 24, 2003, p. 3681-3688.

BRINKER, C. J. and Scherrer, G. W.; **Sol-Gel Science The Physics and Chemistry of Sol-Gel Processing**; Acdemic Press, INC 1990

COSTA, L. L., **Aplicação de nanotubos de Titânia na fotodegradação de corantes**; Tese de Doutorado UNB Brasília, 2009

COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C.V.; LIRA, H. L.; **Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações**; *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, vol.4.3 2009p. 29-38.

DIAS, A.G. ; SKAKLE, J.M.S.; GIBSON, I.R.; LOPES, M.A.; SANTOS, J.D.; **In situ thermal and structural characterization of bioactive calcium phosphate glass ceramics containing TiO2 and MgO oxides: High temperature – XRD studies**, *Journal of Non-Crystalline Solids*, Vol. 351, Issues 10–11, 2005 P. 810-817.

DÍAZ, A.; LÓPEZ, T.; MANJARREZ, J.; BASALDELLA, E.; MARTÍNEZ-BLANES, J. M.; ODRIOZOLA, J. A.;**Growth of hydroxyapatite in a biocompatible mesoporous ordered silica**. *Acta Biomaterialia*, vol. 2, 2006, p. 173-179.

DUCHEYNE, P., KOHN, D.H.; **Materials for Bone and Joint Replacement**;*Materials Science and Technology-A Comprehensive Treatment*, vol. 14, 1992 p. 29-109.

ELLIOT, J.C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates**. Amsterdam: Elsevier, 1994.

FERNANDES, ANE JOSANA DANTAS, **Fosfato de cálcio mesoporosos e como nanocompósitos com sílica: Síntese caracterização e ensaios de liberação controlada de fármaco**; Tese de Doutorado UFPB, Setembro/2011

Fernandes, A. J. D.; Barbosa, J. H. P.; Silva, O. G.; Fonseca, M. G.; Arakaki, L. H. N. and Espínola J. G. P.; **Correlations between data of ^{29}Si NMR and thermogravimetry for silica/monetite nanocomposites**; *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*; Vol. 106, 2011, p. 463-467

FENG, Q.L., WANG, H., CUI, F.Z.; **Controlled crystal growth of calcium phosphate on titanium surface by NaOH-treatment;** *Journal of Crystal Growth*, vol.200, n. 3-4, 1999p. 550-557.

FOADI, J. and EVANS, B.; **On the allowed values for the triclinic unit-cell angles**; *Acta Crystallographica Section A Foundations of Crystallography*; A67, 2011 p. 93–95

FREITAS, J.S.; SALOMÃO, G.C.; GOMES, M.F.T.;**Remoção de íons metálicos de soluções aquosas, por apatitas sintéticas, usando o método de troca iônica em coluna**; *Eclética Química*. vol. 25, 2000 p. 19-29

FURLONG, R. J.; and OSBORN, J. F.**Fixation of hip prostheses by hydroxyapatite ceramic coatings;***The Journal of Bone & Joint Surgery* vol. 73-B 1991, p.741-745.

HWANG, K.; LIM, Y.; **Chemical and structural changes of hydroxyapatite filmsby using a sol–gel method**; *Surface and Coatings Technology*,vol. 115,1999 p.172–175.

JALOTA, S.; BHADURI, S. B. and TAS, A. C.; **Using a Synthetic Body Fluid (SBF) Solution of 27 mM HCO3- to Make Bone Substitutes more Osteointegrative**;*Materials Science and Engineering C:Materials for Biological Applications*, vol. 28(1), 2008 p.129-140.

JOOSTEN, U.; JOIST, A.; GOSHEGER, G.; LILJENQVIST, U.; BRANDT, B.; EIFF, C.V. **Effectiveness of hydroxyapatite-vancomycin bone cement in the treatment of *Staphylococcus aureus* induced chonic osteomyelitis**;*Biomaterials*, vol. 26, 2005, p. 5251-5258.

KANAZAWA, T.**Inorganic phosphate materials, Materials science monographs**. Tokyo: Kodansha, 52, 1989.

KAWACHI, E.Y. ***Fosfatos de cálcio: porosidade, potencial de interface e comportamento in vivo***. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Química, UNICAMP,Campinas, 1997.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R. dos e ALVES O. L.**Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar**; *QuímicaNova* vol. 23 no. 4, 2000 p. 518-522.

KOKUBO, T.; KUSHITANI, H.; SAKKA, S.; KITSUGI, T. and YAMAMURO, T.; **Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramics A-W**;*Journal of Biomedical Material Research*, 24, 1990 p. 721–734.

LIU, X.Y., CHU, P.K., DING, C.X.; **Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications**;*Materials Science & Engineering Reports*, v. 47, n. 3-4, 2004 p. 49-121.

LOPATIN, C.M.; PIZZICONI, V.; ALFORD, T.L.; LAURSEN, T.;**Hydroxyapatite powders and thin films prepared by a sol-gel technique**;*Thin Solid Films*; Vol. 326, Issues 1–2, 1998 P. 227–232.

MACLENNAN, G. AND BEEVERS, C. A.;**The crystal structure of dicalcium phosphate, $CaHPO_4$**; *Acta Crystallographica* Vol. 8 1955 p. 579-583

MATHEW. M. AND TAKAGI, S.; **Structures of Biological Minerals in Dental Research**; *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology.*Vol. 106, 2001, p. 1035–1044.

MORITA, T E ASSUMPÇÃO, R. M. V.; **Manual de Soluções, Reagentes e Solventes** - 2ª Edição Revista, editora Blucher, 2007

MOTHÉ, C.G.; AZEVEDO, A.D. ***Análise térmica de materiais***. São Paulo: Iεditora, 2002.

MUNDSTOCK, K. B.; MORAES, E. G.; SILIGARDI, C.; ROGERO, S. O.; HOTZA, D.; OLIVEIRA, A. P. N.;**Processamento e caracterização de espumas vitrocerâmicas do sistema sncp (Sio_2-Na_2o-Cao-P_2O_5)**;*Química Nova*, vol. 33, 2010, p.598.

OLIVEIRA, J.M.; CORREIA, R.N. AND FERNANDES, M.H.; **Surface modifications of a glass and a glass-ceramic of the MgO-3CaO · P2O5-SiO2 system in a simulated body fluid**; *Biomaterials*vol.16 1995,p.649-654.

PEREIRA, M. M.; CLARK, A. E.; HENCH, L. L.; **Calcium phosphate formation on sol-gel-derived bioactive glassesin vitro**. *Journal of Biomedical Materials Research*. Vol. 28 1994, p. 693.

PAIVA-SANTOS, C. O.; GARCIA, D.; MASCARENHAS, Y. P.; EIRAS, J. A.; **Influencia da Adição de La e Sr Nos Parâmetros Estruturais do $PbTiO_3$**; *Cerâmica*vol.35 1989, p.153-157.

PANTANO JR, C. G.;CLARK JR, A. E.; HENCH, L. L.; **Multilayer Corrosion Films on Bioglass Surfaces**; *Journal of the American Ceramic Society*, Vol. 57, Issue 9, 1974, p. 412–413.

PETROV, I., SOPTRAJANOV, B., FUSON, N., LAWSON, J. R.; **Infra-red investigation of dicalcium phosphates**; *Spectrochimica Acta*, Vol. 23A 1967, p. 2687-2646.

PIETAK, A. M.; REID, A. W.; STOTT, M. J.; SAYER, M.; **Silicon Substituition in the Calcium Phosphate Bioceramics**;*Biomaterials*vol. 28, 2007 p. 4023-4032.

PRADO DA SILVA, M. H.; **Apostila de Biomateriais**. 2006. (Desenvolvimento de material didático ou instrucional - Apostila)

RESENDE, C.X.; DILLE, J.; PLATT, G.M.; BASTOS, I.N.; SOARES, G.A. **Characterization of coating produced on titanium surface by a designed solution containing calcium and phosphate ions;***Materials Chemistry and Physics*, 105, 2008, p. 429-435.

ROGERO, S. O. ; BRAGA, F. J. C.; HIGA, O. Z.; **Cytotoxicity Test for Bioceramics of Calcium Phosphate**; *Materials Science Forum* Vol. 299 – 300, 1999, p.44-47

SALINAS, A. J.; ROMÁN, J.; VALLET-REGI, M.;OLIVEIRA, J. M.; CORREIA, R. N. AND FERNANDES, M. H.; **In vitro bioactivity of glass and glass-ceramics of the $3CaO.P_2O_5$-$CaO.SiO_2$-CaO-$MgO.2SiO_2$system**; *Biomaterials* Vol. 21, Issue 3, 2000, P. 251–257

SANTOS, M. L.; FLORENTINO, A. O.; SAEKI, M. J.; LIA FOOK, A. H.; GUASTALDI, A. C.; **Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: Nitrato de cálcio e ácido fosfórico**;*Eclética Química*, vol.30, no.3, 2005, p. 29-35.

SCHMIDT, S.M.; McDONALD, J.; PINEDA, E.T.; VERWISLST, A.M.; CHEN, Y.; JOSEPHS, R.; OSTAFIN, A.E. **Surfactant based assembly of mesoporous patterned calcium phosphate**

micron-sized rods. *Microporous and Mesoporous Materials*, 94, 2006, p. 330-338.

SILVA O. G., **Síntese E Caracterização De Híbridos Inorgânico-Orgânico Formados A Partir De Reações De Silanização Da Hidroxiapatita E Monetita**; *Dissertação de mestrado UFPB* Junho/ 2006

SILVA, C. C.; VASCONCELOS, I. F.; SOMBRA, A. S. B. AND VALENTE, M. A.; **Magnetic properties study on Fe-doped calcium phosphate** ; *Physica Scripta* Vol. 80 N. 5 2009

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.**Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2000.

SUZUKI, T; TORIYAMA, M.; HOSONO,H.; ABE, Y.; **Application of a microporous glass-ceramics with a skeleton of CaTi4(PO4)6 to carriers for immobilization of enzymes**; *Journal of Fermentation and Bioengineering* Vol. 72, Issue 5, 1991P. 384–391.

TAMIMI F., TORRES, J., GBURECK, U., LOPEZ-CABARCOS, E., BASSETT D. C, ALKHRAISAT, M. H., BARRALET J. E.; **Craniofacial vertical bone augmentation: A comparison between 3D printed monolithic monetite blocks and autologous onlay grafts in the rabbit**; *Biomaterials*, vol. 30, 2009p. 6318–6326

TAMIMI F., TORRES, J., LOPEZ-CABARCOS, E., BASSETT D. C, BARRALET J. E.; **Resorption of monetite granules in alveolar bone defects in human patients**; *Biomaterials*, vol. 31 2010,p.2762–2769

TAMIMI, F., SHEIKH, Z., BARRALET, J.;**Dicalcium phosphate cements: Brushite and monetite**; *Acta Biomaterialia* 2011 Article in press.

TAMIMI, F., TORRES, J., KATHAN, C., BACA, R.,CLEMENTE, C., BLANCO, L., LOPEZ-CABARCOS, E.; **Bone regeneration in rabbit calvaria with novel monetite granules**; *Journal of Biomedical Materials Research Part A* vol.872008, p. 980–985

TIAN, J.; ZHANG, Y.; GUO, X. and DONG L.; **Preparation and Characterization of Hidroxiapatite Suspensions for Solid Freeform Fabrication;***Ceramics International* vol 28, 2002, p 299-302.

TORTET, L., GAVARRI, J. R., NIHOUL, G.; **Electrochemical properties of polymer/phosphate composites**; *Solid State Ionics, X9, 1996,*p.99-107.

TORTET, L., GAVARRI, J. R., NIHOUL, G. AND DIANOUX, A. J.; **Study of Protonic Mobility in CaHPO4 · 2H2O (Brushite) and CaHPO4 (Monetite) by Infrared Spectroscopy and Neutron Scattering**; J*ournal of Solid State Chemistry*vol. 132, 1997, 6Ð16

UNGER, R.E.; SARTORIS, A.; PETERS, K.; MOTTA, A.; MIGLIARESI, C.; KUNKEL, M.; BULNHEIM, U.; RYCHLY, J.; KIRKPATRICK, C. J.;**Tissue-like self-assembly in cocultures of endothelial cells and osteoblasts and the formation of microcapillary-like structures on three-dimensional porous biomaterials**. *Biomaterials*, 28, 2007, p. 3965-3976.

VILLACAMPA, A.I.; GARCÍA-RUIZ, J.M.G.;**Synthesis of a new hydroxyapatite-silica composite material**. *Journal of Crystal Growth*, 211, 2000, p. 111- 115.

WAZER, J.VAN, **Phosphorus and its compounds**, *New York: Wiley*, 1958.

WIJENAYAKA, A.K.R.; COLBY, C.B.; ATKINS, G.J.; MAJEWSKI, P. **Biomimetic hydroxyapatite coating on glass coverslips for the assay of osteoclast activity in vitro**. *Journal Material Science: Materials in Medicine*, vol. 20, 2009, p. 1467-1473.

YAN, W.Q., NAKAMURA, T., KAWANABE, K. Nishigochi S, Oka M, Kokubo T.; **Apatite layer-coated titanium for use as bone bonding implants**;*Biomaterials,* vol. 18, n. 17,1997,p. 1185-1190.

ZHAO, J.; LU, X.; WENG, J. **Macroporous Ti-based composite scaffold prepared by polymer impregnating method with calcium phosphate coatings**. *Materials Letters*, 62, 2008, p. 2921-2924.

Zhu, J.; Yang, D.; Geng, J.; Chen, D.; Jiang, Z.; **Synthesis and characterization of bamboo-like CdS/TiO2 nanotubes composites with enhanced visible-light photocatalytic activity**; *Journal of Nanoparticle Research*,2008, 10 p.729–736