

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA APLICADA

FERNANDO PEROTTA DE OLIVEIRA

INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO NA OBTENÇÃO DE BIOCERÂMICAS À BASE DE
HIDROXIAPATITA

PONTA GROSSA
2008

FERNANDO PEROTTA DE OLIVEIRA

INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO NA OBTENÇÃO DE BIOCERÂMICAS À BASE DE
HIDROXIAPATITA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa para obtenção do título de Mestre em Química Aplicada.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Sandra Regina M. Antunes
Co-orientador: Prof. Dr. Augusto Celso Antunes

PONTA GROSSA
2008

Ficha Catalográfica Elaborada pelo Setor de Processos Técnicos BICEN/UEPG

O48i Oliveira, Fernando Perotta de
 Influência do processamento na obtenção de biocerâmicas à base de
 hidroxiapatita. / Fernando Perotta de Oliveira. Ponta Grossa, 2008
 117f

 Dissertação (Mestrado em Química Aplicada), Universidade
 Estadual de Ponta Grossa.

 Orientadora: Profa. Dra. Sandra Regina M. Antunes

 Co-orientador : Prof.Dr. Augusto Celso Antunes


 1.Biomaterial. 2. Hidroxiapatita. 3. Gelatina. 4. Propriedades
 mecânicas. I. Antunes, Sandra Regina M. Antunes. II. Antunes, Augusto
 Celso. III. T.


CDD : 610.28

TERMO DE APROVAÇÃO

FERNANDO PEROTTA DE OLIVEIRA

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química – Mestrado em Química Aplicada da Universidade Estadual de Ponta Grossa, pela seguinte banca examinadora.

Orientadora: 
Prof^a. Dr^a. Sandra Regina Masetto Antunes
Departamento de Química, UEPG/PR


Prof^a. Dr^a. Christiane Philippini Ferreira Borges
Departamento de Química, UEPG/PR


Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Leite Agostinho
Departamento de Química Fundamental/IQUSP/SP

Ponta Grossa, 22 de agosto de 2008.

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação
à minha mãe Neuza,
à minha esposa Patrícia e
aos meus filhos Fernando, Alexandre e Henrique,
catalisadores de todas as minhas realizações.

AGRADECIMENTOS

A Deus por mais esta oportunidade de realização profissional.

A Professora Dr.^a Sandra Regina Masetto Antunes pelas orientações, sugestões e compreensão durante a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-graduação em Química Aplicada e a UEPG pela oportunidade de realização deste estudo.

Agradeço a todos os professores do programa de Pós-Graduação em Química Aplicada pelo conhecimento adquirido e pelas palavras de incentivo, em especial aos professores Prof. Dr. Augusto Celso Antunes, Prof. Dr. André Vitor Chaves de Andrade, Prof.^a Dr.^a Jacqueline Aparecida Marques, Prof.^a Dr.^a Christiane Philippini Ferreira Borges, Prof.^a Dr.^a Maria Elena Payret Arrua pela colaboração com informações, na realização de análises ou pela cessão de equipamentos que viabilizaram a obtenção dos resultados.

Ao Prof. Dr. José Caetano Zurita (*in memoriam*) pela dedicação na implantação do Programa de Mestrado em Química Aplicada e pela confiança em mim depositada no início do curso.

Aos colegas de mestrado Fernando Ribeiro Ferreira, Rodrigo Sayka, Lucas Anedino e a aluna Fabiana do curso de Bacharelado em Química pelo companheirismo durante esta jornada, pelo interesse e por estarem sempre prontos para ajudar. Aos ex-colegas de graduação e agora doutores Christiane e Gilbert pelo auxílio na reta final.

Ao professor Dr. Élson Longo e a Madalena do LIEC pela realização das análises termogravimétricas. A Neide do Instituto de Química da Unesp de Araraquara pela realização das análises de área superficial específica e ao Prof. Dr. Oswaldo do Departamento de Engenharia de Materiais da UEPG pelo empréstimo do molde para a confecção dos corpos de prova.

Aos laboratoristas do DEQUIM/UEPG, especialmente para Sandra, José Luiz e Valdeci pela disposição em ajudar, recepção carinhosa, incentivo e amizade demonstrada e aos técnicos Milton e Douglas do LIMAC/UEPG pelo auxílio na realização dos ensaios mecânicos, de microscopia e de granulometria.

A todos que direta ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

**Para ser grande, sê inteiro: nada
Teu exagera ou exclui.
Sê todo em cada coisa. Põe quanto és
No mínimo que fazes.
Assim em cada lago a lua toda
Brilha, porque alto vive.**

Fernando Pessoa

RESUMO

Cerâmicas de fosfato de cálcio têm sido intensamente investigadas como material para implantes ósseos. Dentre elas destaca-se principalmente a hidroxiapatita (HAP), amplamente usada nas áreas médica e odontológica por apresentar excelente biocompatibilidade. Devido à similaridade química com a fase mineral do osso, estabelece ligações químicas com o tecido hospedeiro, favorece o crescimento ósseo e permite a proliferação de células. Entretanto, sua utilização é limitada, por apresentar baixa resistência mecânica. As alternativas para superar tal limitação consistem em modificar as rotas de síntese ou a preparação de materiais compósitos. Recentemente, a síntese de hidroxiapatita em presença de colágeno tem se destacado, porém, devido a problemas associados ao custo, disponibilidade e procedência comercial, substituiu-se neste trabalho o colágeno por gelatina comercial. Quatro rotas de processamento envolvendo o método de precipitação foram avaliadas: hidroxiapatita com, e sem gelatina, processo de secagem do pó em estufa e por liofilização. Os resultados de fluorescência de raios X indicam que a razão molar Ca/P dos materiais obtidos é menor que 1,67; as análises de IV sugerem a formação de uma apatita carbonatada deficiente em cálcio para as amostras sem tratamento térmico e para aquelas tratadas termicamente até 700°C. A análise de DRX confirma a formação de cerâmica bifásica, com presença de β -TCP como fase secundária, após sinterização a 1200°C. A razão entre as fases TCP/HAP das amostras após tratamento térmico a 1200°C aumentou com a diminuição da razão molar Ca/P do pó precursor. Os resultados do refinamento dos difratogramas pelo método de Rietveld indicaram que as amostras sintetizadas em presença de gelatina apresentaram após sinterização a 1200°C os menores percentuais de β -TCP. A análise de distribuição de tamanho de partícula indicou que a presença da gelatina induziu a formação de aglomerados de menor diâmetro médio. Acredita-se que sua presença esteja relacionada a mudanças nos processos de nucleação e crescimento dos grãos. Para avaliação mecânica, foram preparados corpos de prova por prensagem uniaxial seguida de isostática a frio com pressão de compactação de 200 MPa e sinterizados a 1200°C por 2h em atmosfera oxidante. Verificou-se que a presença de gelatina auxiliou a densificação e resultou em maior dureza para os compactos. A microestrutura da superfície de fratura revelou menor porosidade para as amostras sintetizadas na presença de gelatina em comparação à amostra convencional e para as amostras liofilizadas comparadas àquelas com secagem em estufa. No que se refere aos valores de resistência à flexão, os valores obtidos são comparáveis aos do osso cortical, sendo o maior valor obtido para a amostra de hidroxiapatita convencional liofilizada.

Palavras-chave: Biomaterial, hidroxiapatita, gelatina, propriedades mecânicas.

ABSTRACT

Calcium phosphate ceramics have been intensely investigated as bone implant material, amongst them hydroxyapatite (HAP) outstands, which has been widely used in medicine and dentistry for presenting excellent biocompatibility. Due to its chemical similarity to the bone mineral phase, it establishes chemical liaisons with the host tissue, helps in the bone growth and allows cell proliferation. However, its use is limited for presenting poor mechanical resistance. Alternatives to overcome such limitations consist of changing the synthesis route or the composite material preparation. Recently, the hydroxyapatite synthesis in the presence of collagen has been explored, however due to problems related to cost, availability and commercial origin; the collagen was substituted by commercial gelatin in this experiment. Four processing routes, involving the precipitation method were evaluated: hydroxyapatite, with, and without gelatin, powder drying process in oven and through liofilization. X-ray fluorescence results indicate that the Ca/P molar ratio of obtained materials is lower than 1,67; IR analyses suggest the formation of calcium deficient carbonated apatite from the samples without thermal treatment and for the ones thermally treated up to 700°C. DRX analysis confirms the biphasic ceramic formation, in the presence of β -TCP as a secondary phase, after sintering at 1200°C. The ratio between TCP/HAP phases of samples thermally treated at 1200°C increased with the decrease of precursor powder Ca/P molar ratio. Results of diffractograms refinement through the Rietveld Method indicated that samples synthesized in the presence of gelatin presented the lowest β -TCP percentage after sintering at 1200°C. Particle size distribution analysis indicated that the gelatin presence led to formation of clusters of smaller average diameter. It is believed that its presence be related to changes in the nucleation process and grain growth. For mechanical evaluation, samples were prepared through uniaxial pressing followed by cold isostatic with 200MPa compaction pressure and sintered at 1200°C for two hours in oxidant atmosphere. It was observed that the presence of gelatin enhanced densification and resulted in higher hardness for the compacts. The facture surface microstructure revealed lower porosity for samples synthesized in the presence of gelatin compared to conventional samples and for the liofilized samples compared to the ones dried in oven. Regarding resistance to bending, values obtained are comparable to the cortical bone, being the highest value obtained from the conventional liofilized hydroxyapatite sample.

Key-words: Biomaterial, hydroxyapatite, gelatin, mechanical properties.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Arranjo atômico da hidroxiapatita.....	30
Figura 2-	Cela unitária da HAP, íons cálcio no sítio I (Ca I).....	31
Figura 3-	Diagrama de fases do sistema CaO-P ₂ O ₅ em presença de 500mmHg de vapor de H ₂ O.....	45
Figura 4-	(a) Ensaio de flexão em três pontos e (b) Ensaio de flexão em quatro pontos.....	47
Figura 5-	Esquema representativo de aplicação do método Vickers.....	48
Figura 6-	Espectro de infravermelho com transformada de Fourier para uma amostra de HAP comercial marca Osteogen.....	51
Figura 7-	Liofilizador Liotop L202 com amostra de HAP.....	60
Figura 8-	Difratogramas de Raios X das amostras (a) HAPCON, (b) HAPCON700 e (c) HAPCON1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).....	66
Figura 9-	Difratogramas de Raios X das amostras (a) HAPCONLIO, (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).....	66
Figura 10-	Difratogramas de Raios X das amostras (a) HAPGEL, (b) HAPGEL700 e (c) HAPGEL1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).....	67
Figura 11-	Difratogramas de Raios X das amostras (a) HAPGELLIO, (b) HAPGELLIO700 e (c) HAPGELLIO1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).....	67
Figura 12-	Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPCON1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).....	71
Figura 13-	Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPCONLIO1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).....	72
Figura 14-	Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPGEL1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).....	72
Figura 15-	Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPGELLIO1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).....	73
Figura 16-	Espectros de IV das amostras das amostras (a) HAPCON, (b) HAPCON700 e (c) HAPCON1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.....	74
Figura 17-	Espectros de IV das amostras (a) HAPCONLIO, (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.....	75
Figura 18-	Espectros de IV das amostras (a) HAPGEL, (b) HAPGEL700 e (c) HAPGEL1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.....	75
Figura 19-	Espectros de IV das amostras (a) HAPGELLIO, (b) HAPGELLIO700 e (c) HAPGELLIO1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.....	76
Figura 20-	Espectro de Infravermelho das amostras de HAPGEL (a), HAPGELLIO (b) e do pó de gelatina comercial utilizado sem tratamento térmico preparadas	

	na forma de pastilhas de KBr.....	80
Figura 21-	Curva de TG para a amostra HAPCON (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N ₂).....	85
Figura 22-	Curva de TG para a amostra HAPGEL (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N ₂).....	85
Figura 23-	Curva de TG para a amostra HAPCONLIO (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N ₂).....	87
Figura 24-	Curva de TG para a amostra HAPGELLIO (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N ₂).....	87
Figura 25-	Espectros de EDS: a- (a) HAPCON; (b) HAPCON700.....	88
	b- (c) HAPCONLIO; (d) HAPCONLIO700.....	89
	c- (e) HAPGEL; (f) HAPGEL700.....	89
	d- (g) HAPGELLIO; (h)HAPGELLIO700.....	90
Figura 26-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCON.....	92
Figura 27-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCON700.....	92
Figura 28-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCONLIO.....	93
Figura 29-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCONLIO700.....	93
Figura 30-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGEL.....	94
Figura 31-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGEL700.....	94
Figura 32-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGELLIO.....	95
Figura 33-	Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGELLIO700.....	95
Figura 34-	Distribuição de tamanho de partícula das amostras sem tratamento térmico.....	97
Figura 35-	Fotomicrografia eletrônica das amostras de HAPCON e HAPCONLIO (2400X).....	98
Figura 36-	Fotomicrografia eletrônica das amostras: (a) HAPCONLIO; (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200.(aumento de 1000X).....	99
Figura 37-	Fotomicrografia eletrônica da superfície de fratura das amostras sinterizadas a 1200°C: (a) HAPCON1200; (b) HAPCONLIO1200; (c) HAPGEL1200; (d) HAPGELLIO1200. (aumento 2400X).....	104
Figura 38-	Impressão realizada no ensaio de dureza com um indentador Vickers.....	105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composição química do osso.....	20
Tabela 2-	Propriedades mecânicas dos tecidos ósseos.....	24
Tabela 3-	Ocorrência das cerâmicas de fosfato de cálcio em sistemas biológicos	29
Tabela 4-	Propriedades cristalográficas de fosfatos de cálcio sintéticos.....	32
Tabela 5-	Exigências Químicas da HAP usada como implante.....	36
Tabela 6-	Propriedades mecânicas de cerâmicas de hidroxiapatita densa.....	37
Tabela 7-	Propriedades mecânicas de diferentes compósitos de HAP.....	40
Tabela 8-	Bandas de absorção de IV para apatitas (AP).....	50
Tabela 9-	Indicadores de qualidade dos refinamentos de Rietveld para as amostras sinterizadas a 1200°C.....	71
Tabela 10-	Análise quantitativa de fases das amostras com tratamento térmico a 1200°C.....	73
Tabela 11-	Bandas de absorção de IV observadas nos pós de hidroxiapatita obtidos....	76
Tabela 12-	Resultados da análise quantitativa por fluorescência de raios X.....	81
Tabela 13-	Razão Ca/P dos pós de hidroxiapatita obtida pela análise de fluorescência de raios X.....	82
Tabela 14-	Composição química das fases das amostras sinterizadas.....	83
Tabela 15-	Resumo da distribuição de tamanho de partícula dos pós de HAP.....	96
Tabela 16-	Densidade obtida por picnometria de hélio para os pós de HAP.....	99
Tabela 17-	Retração linear, densidade aparente, densidade relativa e porosidade aparente dos compactos sinterizados a 1200°C.....	100
Tabela 18-	Resistência à flexão dos compactos sinterizados a 1200°C.....	102
Tabela 19-	Microdureza dos compactos sinterizados a 1200°C.....	106

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

2θ	- Posição do pico de Bragg
Å	- Unidade de angstrom.
ACP	- Fosfato de cálcio amorfo
AP	- Apatita.
ASTM	- American Society for Testing and Materials
BET	- Método utilizado para determinação da área superficial específica
Ca/P	- Razão molar entre cálcio e fósforo
χ^2	- Índice de ajuste ou qualidade do refinamento
CIAP	- Cloroapatita
CO ₃ -AP	- Carbonato apatita
CPPD	- Pirofosfato de cálcio diidratado
d-CaHAP	- Apatita deficiente em cálcio
DCPD	- Monohidrogeno fosfato de cálcio diidratado
DRX	- Difração de raios X
DT	- Densidade teórica
EDS	- Espectroscopia por energia dispersiva
FAP	- Fluorapatita
HAP	- Hidroxiapatita
HAPCON	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso e secagem em estufa
HAPCON 1200	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso, secagem em estufa e posterior tratamento térmico a 1200°C por 2h
HAPCON 700	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso, secagem em estufa e posterior tratamento térmico a 700°C por 2h
HAPCONLIO	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso e secagem por liofilização
HAPCONLIO 1200	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso, secagem por liofilização e posterior tratamento térmico a 1200° por 2h
HAPCONLIO 700	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso, secagem por liofilização e posterior tratamento térmico a 700°C por 2h
HAPGEL	- Hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação em presença de gelatina e secagem em estufa
HAPGEL1200	- Hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação em presença de gelatina, secagem em estufa e posterior tratamento térmico a 1200°C por 2h
HAPGEL700	- Hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação em presença de gelatina, secagem em estufa e posterior tratamento térmico a 700°C por 2h
HAPGELLIO	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em presença de gelatina e com processo de secagem por liofilização
HAPGELLIO 1200	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em presença de gelatina, com processo de secagem por liofilização e posterior tratamento térmico a 1200°C por 2h
HAPGELLIO 700	- Hidroxiapatita sintetizada por precipitação em presença de gelatina, com processo de secagem por liofilização e posterior tratamento térmico a 700°C por 2h

ISO	- International Organization for Standardization
IV	- Espectoscopia no infravermelho
JCPDS	- Joint Committee on Powder Diffraction Standards
K_{IC}	- Tenacidade à fratura
LIMAC	- Laboratório Interdisciplinar de Materiais Cerâmicos
MEV	- Microscopia eletrônica de Varredura
OCP	- Fosfato octacálcico
Re	- Índice estatisticamente esperado para R_{WP}
RF^2	- Índice de qualidade do refinamento em função das intensidades dos picos de Bragg
R_{WP}	- Índice ponderado da qualidade do refinamento em função dos pontos do perfil de difração de raios X
S	- “goodness of fit”
TG	- Termogravimetria
TTCP	- Fosfato tetracálcico
β -TCP	- Fosfato tricálcico
δ	- bandas de deformação
ν	- bandas de estiramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1 TECIDO ÓSSEO.....	19
2.1.1 Composição Química e Funções do Tecido Ósseo.....	19
2.1.2 Histologia, Macro e Micro Estrutura do Tecido Ósseo.....	21
2.1.3 Formação do Tecido Ósseo.....	23
2.1.4 Propriedades Mecânicas do Tecido Ósseo.....	24
2.1.5 Classificação dos Enxertos Ósseos quanto à sua origem.....	25
2.2 BIOMATERIAIS E BIOCERÂMICAS.....	26
2.2.1 Definição e Classificação dos Biomateriais.....	26
2.2.2 Biomateriais Cerâmicos.....	27
2.3 HIDROXIAPATITA.....	29
2.3.1 Características Cristalográficas da Hidroxiapatita	30
2.3.2 Métodos de Síntese da Hidroxiapatita.....	33
2.3.3 Propriedades Mecânicas da Hidroxiapatita pura e na presença de aditivos.....	36
2.3.4 Hidroxiapatita / Gelatina.....	40
2.4 PROCESSAMENTO E TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS DE HIDROXIAPATITA.....	43
2.4.1 Prensagem do Pó.....	43
2.4.2 Sinterização.....	44
2.4.3 Ensaio Mecânicos	46
2.4.3.1 Ensaio de Flexão	46
2.4.3.2 Ensaio de Dureza.....	47
2.4.4 Difração de raios X (DRX).....	49
2.4.5 Espectroscopia no Infravermelho (IV).....	50
2.4.6 Análise Térmica	52
2.4.7 Microscopias óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV)	52
2.4.8 Densidade e Porosidade.....	53
2.4.9 Área Superficial Específica – Método BET.....	54
3 METODOLOGIA.....	57
3.1 OBTENÇÃO DOS PÓS DE HIDROXIAPATITA.....	57
3.1.1 Método de síntese.....	57
3.1.2 Reagentes e reação.....	58
3.1.2.1 Síntese das amostras de HAPCON.....	58
3.1.2.2 Síntese das amostras de HAPGEL.....	59
3.1.3 Secagem.....	59
3.1.4 Compactação e sinterização	60
3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS.....	61
3.2.1 Caracterização dos pós.....	61
3.2.2 Caracterização dos corpos de prova.....	62

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
4.1 ANÁLISE DOS PÓS	65
4.1.1 DRX.....	65
4.1.2 IV.....	74
4.1.3 Análise Química – Fluorescência de raios X.....	80
4.1.4 Análise Térmica.....	83
4.1.5 Análise Química – EDS.....	88
4.1.6 Área Superficial Específica - BET.....	90
4.1.7 Análise de distribuição de tamanho de partícula.....	91
4.2 ANÁLISE DOS CORPOS DE PROVA.....	100
4.2.1 Compactação e Sinterização.....	100
4.2.2 Propriedades Mecânicas.....	102
5 CONCLUSÕES.....	107
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	108
REFERÊNCIAS.....	109

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais representam uma parte importante dos cerca de 300.000 produtos para uso na área da saúde. Em 2000, o mercado mundial desses materiais foi estimado em 23 bilhões de dólares, com taxa de crescimento de 12% ao ano, o que pode significar uma projeção superior a US\$ 40 bilhões, apenas em 2005.¹

Em 2004, o Sistema Único de Saúde (SUS) gastou aproximadamente R\$ 540 milhões em cirurgias ortopédicas. Desse total, R\$ 17 milhões foram destinados ao tratamento de tumores ósseos que, em muitos casos, necessitavam de enxertos artificiais. As exportações e importações dos quatro principais grupos de biomateriais comerciais, cimentos para uso ósseo ou dentário, implantes e juntas artificiais, dentes e órgãos artificiais movimentam US\$ 4,5 bilhões e US\$ 4 bilhões, respectivamente.²

Além do ponto de vista econômico, o desenvolvimento dos biomateriais está associado à melhoria na qualidade de vida e recuperação de pessoas que necessitam de implantes, em consequência de acidentes ou devido a patologias. Somente no Brasil, segundo dados da Pesquisa Nacional por Amostra de Domicílios PNAD de 2005, realizada pelo IBGE, o número de pessoas com 60 anos ou mais é superior a 18 milhões, correspondendo a quase 10% da população, enquanto a projeção da população sinaliza um efetivo de 34,3 milhões de idosos em 2050 (13,2%).³

Dos diversos males que afetam a estrutura óssea, a perda de massa óssea associada à osteoporose tem sido intensamente estudada devido a seus efeitos devastadores na qualidade de vida das pessoas. Dentre os materiais biológicos utilizados na reparação do tecido danificado, encontram-se os auto-enxertos, que utilizam tecido ósseo do próprio indivíduo e os aloenxertos, os quais consistem em utilizar uma porção de tecido ósseo de um outro indivíduo para a

reconstituição da parte danificada. Desses materiais, os auto-enxertos são os mais utilizados devido à resposta imunológica. Entretanto, sua aplicação está limitada, a cada caso em particular, ao estado do paciente, à localização e tamanho do defeito ósseo.^{4,5,6}

Já entre os materiais sintéticos usados para biorreparação do tecido ósseo, as cerâmicas, também conhecidas como biocerâmicas, estão entre as mais empregadas. Estas se apresentam na forma de material particulado utilizado como revestimento e enxertia ou na forma de compactos usados como próteses para reparo, aumento ou substituição de tecidos doentes ou danificados, como ossos, juntas e dentes.⁶

Desde seu surgimento efetivo no mercado, no início dos anos 80, as cerâmicas de fosfato de cálcio, especialmente a hidroxiapatita, foram consideradas os materiais por excelência para a remodelação e reconstrução óssea. Essa preferência se deve principalmente a suas propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade, o que significa que, ao serem implantadas no sítio ósseo, não induzem resposta imunológica, são capazes de ligar-se diretamente ao tecido ósseo e permitem o crescimento do osso ao longo de sua superfície.⁷

As características positivas da hidroxiapatita como substituto ósseo podem ser explicadas pela natureza química desses materiais que, por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica.⁴

Dentre as aplicações da hidroxiapatita como biomaterial, cita-se o reparo de defeitos ósseos em aplicações odontológicas e ortopédicas, coadjuvante na colocação de implantes metálicos, regeneração guiada de tecidos ósseos, reconstrução buco-maxilo-facial, recobrimentos de implantes metálicos, sistemas de liberação de fármacos e uso como fontes porosas radioativas capazes de serem carregadas com uma ampla faixa de radionuclídeos para o tratamento do câncer.^{8,9,10,11,12}

A hidroxiapatita na forma de material particulado pode ser obtida por diversos métodos, como por exemplo, aquoso (precipitação), seco (tratamento térmico), hidrotermal e sol-gel.^{8,13}

Na síntese da hidroxiapatita pelo método da precipitação, parâmetros como variações de pH, temperatura de síntese, tempo de reação, velocidade do gotejamento e concentração dos componentes alteram as características da hidroxiapatita obtida, modificando a cristalinidade, morfologia do material e afetam sua solubilidade e reatividade, possibilitando a obtenção de hidroxiapatitas diferentes para satisfazer requisitos e aplicações clínicas específicas. Entretanto, com o controle da síntese e do processamento, obtém-se materiais com grande reprodutibilidade de propriedades físico-química e morfológica.¹⁴

Uma desvantagem no uso da hidroxiapatita como biomaterial está associada a suas propriedades mecânicas. As alternativas para esse problema consistem na modificação de parâmetros durante a síntese ou em combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a bioatividade dos materiais bioativos, para o qual existem duas possibilidades: o recobrimento de peças metálicas e a preparação de materiais compósitos.¹⁵

Recentemente, a síntese de hidroxiapatita em presença de colágeno tem se destacado devido à sua composição e semelhança estrutural com o osso natural. Porém, devido a problemas associados ao custo, disponibilidade e procedência comercial, em alguns trabalhos tem-se substituído o colágeno por gelatina.^{16,17}

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo geral analisar as modificações provocadas pelos diferentes processamentos nas características morfológicas, microestruturais e mecânicas da hidroxiapatita. Os objetivos específicos foram: averiguar a formação ou não de fases secundárias derivadas dos processos de obtenção e sinterização, comparar as características do material obtido na presença de gelatina com as do material convencional e as do material seco em estufa com as do material liofilizado, e verificar as modificações provocadas nas propriedades

mecânicas do material em função da adição de gelatina durante a síntese e do processo de secagem do pó.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TECIDO ÓSSEO

2.1.1 Composição Química e Funções do Tecido Ósseo

Apesar de uma aparência simples, o osso é um tecido vivo, complexo e dinâmico. O tecido ósseo participa de um contínuo processo de remodelamento dinâmico – produzindo osso novo e degradando osso velho. O osso é formado por vários tecidos diferentes que trabalham juntos: tecido ósseo, cartilagem, tecidos conjuntivos densos, epitélio, várias células formadoras de sangue, tecido adiposo e tecido nervoso.¹⁸

O osso é o esqueleto estrutural básico de sustentação e proteção dos órgãos do corpo, incluindo o encéfalo e medula espinhal, assim como as estruturas situadas dentro da cavidade torácica, os pulmões e o coração. Os ossos também servem como alavancas para os músculos presos a eles para chegar ao movimento e se constituem como um reservatório de vários minerais, por exemplo, armazenam em torno de 99% do cálcio do corpo. Eles contêm uma cavidade central que hospeda a medula óssea, um órgão hematopoético.¹⁹

Como os outros tecidos conjuntivos, o osso contém abundante matriz de material intercelular, que envolve células muito espaçadas. No osso, a matriz é composta por, aproximadamente, 25% de água, 25% de proteínas fibrilares e 50% de sais minerais cristalizados.¹⁸

Como observado na tabela 1, a parte inorgânica do osso, que constitui cerca de 60% de seu peso seco, é composta principalmente por cálcio e fósforo, juntamente com outros componentes, incluindo bicarbonato, citrato, magnésio, sódio e potássio. O cálcio e o fósforo

existem basicamente sob a forma de cristais de hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, mas o fosfato tricálcico também está presente na forma amorfa.^{16,19,20}

O componente orgânico da matriz óssea inclui fibras que são quase que exclusivamente colágeno. Além de colágeno, várias glicoproteínas estão presentes na matriz óssea, como a osteocalcina que está ligada a hidroxiapatita, razão pela qual é possível que tenha importância no processo de calcificação.¹⁹

Nos ossos, os componentes inorgânicos (HAP $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) são responsáveis pela rigidez e os componentes orgânicos são responsáveis pela elasticidade. O tamanho dos cristais de HAP informado na literatura varia de 30-50 nm de comprimento, 15-30 nm de largura e 2-10 nm de espessura. Recentemente, estudos com microscopia de força atômica determinaram que os cristais presentes nos ossos são maiores que as medidas normalmente mencionadas, observadas por microscopia eletrônica de transmissão, com larguras e comprimentos que variam de 30 a 200 nm.^{21,22,33}

As fibras colágenas do osso, como as dos tendões, têm grande força tênsil, enquanto os sais de cálcio exibem grande força compressiva. Essas propriedades combinadas, juntamente com o grau de coesão entre fibras colágenas e os cristais, resultam em uma estrutura óssea dotada de forças tênsil e compressiva extremas.^{20,21}

Tabela 1- Composição química do osso.¹⁶

Fase Inorgânica	% em massa	Fase Orgânica	% em massa
hidroxiapatita	60	Colágeno	20
carbonato	4	água	9
citrate	0,9	proteínas não colágenas	3
sódio	0,7		
magnésio	0,5		
Outros traços: Cl^- , F^- , K^+ , Sr^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+}		Outros traços: polissacarídios, lipídios; Osso primário-células: osteoblastos, osteoclastos, osteócitos	

2.1.2 Histologia, Macro e Micro Estrutura do Tecido Ósseo

Em relação à histologia do tecido ósseo, pode-se dizer que há quatro tipos de células ósseas: as células osteogênicas ou osteoprogenitoras, osteoblastos, osteócitos e os osteoclastos.^{16,18}

As células osteogênicas localizam-se na camada celular interna do periósteo (bainha resistente de tecido conjuntivo que reveste a superfície do osso) e no endósteo (membrana que reveste a cavidade medular). Essas são as únicas células ósseas que passam por divisão celular; suas “células-filhas” se desenvolvem em osteoblastos, que são células formadoras de osso, isto é, sintetizam e secretam matriz óssea orgânica como fibras colágenas, proteoglicanas e osteocalcina e iniciam a calcificação.^{18,22}

Os osteócitos são células maduras e são as principais células do tecido ósseo, derivam dos osteoblastos, mas não têm a função de secretar componentes da matriz. Em vez disso, eles mantêm as atividades diárias do tecido ósseo, tais como a troca de nutrientes e metabólicos com o sangue.¹⁸

Os osteoclastos consistem em grandes células fagocíticas multinucleadas (até 50 núcleos), que ficam concentradas no endósteo, cuja função é absorver o tecido ósseo. Acredita-se que o mecanismo da absorção seja o seguinte: os osteoclastos emitem projeções semelhantes a vilosidades em direção ao osso, formando a denominada borda pregueada adjacente a ele. As vilosidades secretam enzimas proteolíticas e vários ácidos, incluindo o ácido cítrico e o ácido láctico. As enzimas digerem ou dissolvem a matriz orgânica do osso e os ácidos causam a dissolução dos sais. As células osteoclásticas também englobam, por fagocitose, diminutas partículas da matriz óssea e dos cristais, dissolvendo-os e finalmente liberando os produtos no sangue.²¹

O osso não é completamente sólido, pois tem muitos pequenos espaços entre seus componentes rígidos. Alguns espaços formam canais para os vasos sanguíneos que suprem as células ósseas com nutrientes. Outros espaços constituem áreas de armazenamento para a matriz óssea vermelha. Dependendo do tamanho e distribuição dos espaços, as regiões de um osso podem ser caracterizadas como compactas ou esponjosas.¹⁸

De maneira geral, aproximadamente 80% do esqueleto consiste em osso compacto e 20% em esponjoso. O tecido compacto contém poucos espaços entre seus componentes rígidos. Esse tecido forma a camada externa de todos os ossos longos, dando proteção e suporte, resistindo às forças produzidas pelo peso e movimento. O tecido ósseo compacto está organizado em unidades chamadas de ósteons, ou sistemas “Havers”.^{18,19}

Ao contrário do tecido ósseo compacto, o tecido ósseo esponjoso não contém ósteons. Ele consiste em lamelas, dispostas como trama irregular, de finas colunas ósseas, chamadas de trabéculas. O tecido ósseo esponjoso constitui a maior parte do tecido ósseo de ossos curtos, chatos e irregulares. O tecido ósseo esponjoso é diferente do tecido ósseo compacto, pois é leve, o que reduz o peso total do osso.¹⁹

O osso compacto possui uma porosidade baixa de 5 a 30%, sendo rígido e suportando um valor razoável de tensão antes de fraturar quando submetido a um carregamento. Já o osso esponjoso possui uma porosidade alta, 30 a 90% sendo capaz de suportar alongamentos e deformações antes de fraturar quando submetido a um carregamento.²⁰

A observação microscópica mostra dois tipos de osso: osso primário (imaturo ou osteóide) e osso secundário (maduro ou lamelar). O osso primário é imaturo, é o primeiro a se formar durante o desenvolvimento fetal e durante a reparação óssea. Ele é rico em osteócitos e em feixes de colágeno não modelados, que mais tarde, são substituídos como osso secundário, que é o osso maduro com uma matriz mais calcificada sendo, portanto, mais forte que o osso primário.¹⁹

2.1.3 Formação do Tecido Ósseo

O processo como o osso é formado é chamado de ossificação ou osteogênese, que se classifica em intramembranosa e endoconal. Na ossificação intramembranosa, o osso se desenvolve dentro da membrana, por exemplo, os ossos do crânio e da face. Na ossificação endoconal existe um modelo cartilaginoso. O tecido osteóide, semelhante à cartilagem, é formado, reabsorvido e substituído pelo osso.²⁴

A formação do osso ocorre de acordo com Glowacki e Spector, citados por Gimenes, de três maneiras distintas: osteogênese, osteocondução e osteoindução.²⁵

A osteogênese, macroscopicamente falando, é a formação do osso pela transferência ou recolocação de osteoblastos viáveis, que atuam sintetizando o osso em novos sítios. Os osteócitos, por exemplo, são osteoblastos que migraram para a matriz óssea, mantendo a viabilidade do tecido. Na osteocondução, inicialmente é formado um material como uma malha onde vão crescer vasos e osteoblastos que migram das regiões de osteotomia ou fratura óssea. A osteocondução é principalmente ativa em traumas ósseos. Já, na osteoindução, células não esqueléticas desmineralizadas são diferenciadas em células mineralizadas e estruturadas através de estímulos indutivos (hormônios). O osso desmineralizado ou imaturo, por exemplo, é um material osteoindutivo e, desde que haja estímulo, ocorre a mineralização.²⁵

Os processos que afetam o crescimento e a manutenção do osso dependem de ingestão adequada da dieta, de minerais e vitaminas, assim como de níveis suficientes de hormônios. Os ossos param de crescer, em comprimento, em torno dos 25 anos de idade.¹⁸

Já o envelhecimento do tecido ósseo ocorre por dois efeitos: a perda da massa óssea, que começa após os 30 anos na mulher; nos homens, a perda do cálcio geralmente começa aos 60 anos. A perda de cálcio dos ossos é um dos problemas da osteoporose. O segundo efeito, a

fragilidade, resulta da diminuição da síntese protéica, o que reduz a porção orgânica da matriz óssea, sobretudo de fibras colágenas, que dão ao osso sua força e tensão.¹⁸

2.1.4 Propriedades Mecânicas do Tecido Ósseo

O tecido ósseo é freqüentemente submetido a diversos tipos de solicitações mecânicas, que são as forças que atuam sobre ele. Tais forças podem ser de compressão, de tração, de flexão, de torção e de cisalhamento. A combinação dessas forças pode ocasionar diversos tipos de fraturas quando a carga ao qual o osso é submetido supera sua resistência²⁰. As propriedades mecânicas do tecido ósseo podem ser observadas na tabela 2.

Tabela 2 - Propriedades mecânicas dos tecidos ósseos (Hench e Wilson apud Ramalho)²⁶

Propriedade	Osso Cortical	Osso trabecular	Cartilagem articular	Tendão
Resistência à compressão (MPa)	100-230	2-12	-	-
Resistência à flexão (MPa)	50-150	10-20	10-40	80-120
Deformação até fratura	1-3	5-7	15-50%	10%
Módulo de elasticidade (GPa)	7-30	0,5- 0,05	0,001-00,1	1
Tenacidade à fratura (MPa m ^{1/2})	2-12	-	-	-

A fratura é um tipo de patologia óssea que provoca a formação do osso, a cura de fraturas ósseas é regenerativamente mais ativa que o reparo de outros tecidos vivos. Quando o osso é fraturado, inúmeros vasos sanguíneos são lesados, formando na região um coágulo, chamado hematoma de fratura.¹⁸ Logo após, fibroblastos e células osteogênicas próximas ao periósteo migram em direção à área lesada. Essas células são suportadas por uma malha de capilares e fibroblastos, constituindo a matriz de colágeno para a formação do calo ósseo. Os níveis de proliferação celular são sensivelmente aumentados na região da fratura.²⁶

Com o passar do tempo, a atividade de osteocondução é intensificada, o calo ósseo é substituído e reabsorvido pelos osteoclastos, de grande atividade lisossômica, formando osso esponjoso ou trabecular.²³

2.1.5 Classificação dos Enxertos Ósseos quanto à sua origem

Parte do osso perdida ou lesada pode ser substituída por outros tecidos, denominados enxertos, que são classificados em: enxertos ósseos autólogos ou auto-enxertos; aloenxerto ou homoenxerto; xenoenxertos ou heteroenxerto e os aloplastos.⁵

Nos enxertos ósseos autólogos ou auto-enxertos, o osso é transferido de um lugar a outro, no mesmo indivíduo; seu emprego, porém, traz alguns problemas como a limitação do material, lesão ou enfraquecimento de outras estruturas ósseas e riscos inerentes a esse tipo de intervenção.²⁷

Para os aloenxertos ou homoenxertos, utiliza-se osso liofilizado desmineralizado, de origem humana; nesse caso, a dificuldade encontra-se na esterilização e estocagem.^{5,14,28}

No caso dos xenoenxertos ou heteroenxerto, tem-se uma matriz mineral óssea purificada, de origem bovina, sendo semelhante ao osso humano no que concerne à sua superfície interna, porosidade, tamanho do cristal e relação cálcio-fósforo.⁵

Os aloplastos são materiais sintéticos, biologicamente inertes, usados para aumentar ou reconstruir partes do organismo⁵. O seu desenvolvimento surgiu em decorrência da ausência de um substituto biológico que atenda às necessidades. Dessa forma, esses materiais necessitam satisfazer simultaneamente a vários requisitos: não toxicidade, resistência mecânica, condutibilidade térmica e biocompatibilidade. Como exemplos desse tipo de enxerto temos a hidroxiapatita sintética e os vidros bioativos.^{27,29}

2.2 BIOMATERIAIS E BIOCERÂMICAS

2.2.1 Definição e Classificação dos Biomateriais

Biomateriais são materiais (sintéticos ou naturais, sólidos ou, às vezes, líquidos) utilizados em dispositivos médicos ou em contato com sistemas biológicos. Entretanto, na definição clássica, biomaterial é “parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo”.¹

Grande parte dos materiais de uso clínico é enquadrada como biomaterial: próteses, lentes, enxertos, stents, cateteres, tubos de circulação extracorpórea e arcabouços (scaffolds) empregados na engenharia de tecidos.¹

Os biomateriais devem apresentar propriedades físicas e biológicas compatíveis com tecidos vivos hospedeiros, de modo a estimular uma resposta imunológica adequada, isso caracteriza a biocompatibilidade. Os materiais sintéticos utilizados para esse fim podem ser metais, cerâmicas, polímeros, vidros e compósitos.^{4,16}

Dentre os biomateriais e suas aplicações, podemos citar: os polímeros utilizados em suturas, artérias, veias, cirurgias maxilofacial; os metais empregados na fixação ortopédica e implantes dentários; as cerâmicas aplicadas em ossos, juntas, dentes e os compósitos que aparecem em válvulas cardíacas artificiais e implantes de juntas de joelho.⁴

Para Hench e Wilson citados por Santos, os biomateriais podem ser classificados, de acordo com seu comportamento fisiológico em: biotoleráveis, bioinertes, bioativos e reabsorvíveis.³⁰

Biotoleráveis, materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por meio da formação de camada envoltória de tecido fibroso. Essa camada é induzida

por meio da liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Quanto maior a espessura da camada de tecido fibroso formado, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Os materiais biotoleráveis são praticamente todos os polímeros sintéticos, assim como a grande maioria dos metais.

Bioinerte, materiais também tolerados pelo organismo, mas em que a formação de envoltório fibroso é mínimo, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o que o faz em quantidades mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos, essa camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio e ligas de titânio e carbono.

Materiais reabsorvíveis são aqueles que, após certo período de tempo em contato com os tecidos, acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas, em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para a retirada do material do implante. Os principais exemplos desses materiais são fosfatos tricálcicos (α e β -TCP), ácido poliláctico e sulfato de cálcio.

Os bioativos são materiais que desenvolvem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo. Em função da similaridade química entre esses materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo a osteocondução por meio do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais dessa classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio e a hidroxiapatita.¹⁵

2.2.2 – Biomateriais Cerâmicos

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 1894, quando Dreesman relatou o uso de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$) como um possível substituto para ossos. Entretanto, a baixa resistência mecânica e o fato desse material ser reabsorvido pelo organismo, tornam seu uso inviável para implantes ósseos.³¹

A década de 1970 marcou o início do uso sistemático de materiais cerâmicos como biocerâmicos. A alumina densa ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) foi a primeira, com uso muito difundido nesse período, por se apresentar bioinerte e com elevada resistência mecânica. Outras cerâmicas, como a zircônia (ZrO_2), o dióxido de titânio (TiO_2), os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, têm uso bastante difundido.⁴

As biocerâmicas citadas acima podem ser usadas no corpo humano, aumentando ou substituindo várias partes danificadas ou doentes do sistema músculo esquelético. Elas são principalmente usadas como substituto ósseo devido à sua biocompatibilidade, baixa densidade, estabilidade química e para os fosfatos de cálcio, principalmente devido à sua semelhança com a fase mineral do osso.²⁸

Dos vários tipos de ossos, as biocerâmicas são mais aplicadas em dois: o osso trabecular ou esponjoso e o osso cortical. Porém, exceto alumina e zircônia, essas biocerâmicas são mecanicamente frágeis, podem apresentar probabilidades de trincas e baixa tenacidade à fratura. Por esses motivos ainda não são utilizadas para correção de defeitos ósseos de grandes proporções, sujeitas à alta solicitação mecânica. Enquanto o osso cortical apresenta uma resistência à fratura de $2\text{-}12 \text{ MPam}^{1/2}$, para a hidroxiapatita, por exemplo, o valor corresponde a $1,0 \text{ MPam}^{1/2}$.^{25,32}

Dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio, atenção especial é dada a HAP com razão Ca/P igual a 1,67, por ser o principal componente presente na fase mineral dos ossos, que é, sem

dúvida a mais estudada para as finalidades clínicas, por ser considerada a fase ideal dentro do corpo humano. Em 1920, Albee informou a primeira aplicação médica próspera em humanos e, em 1975, Nery et al. informaram a primeira aplicação odontológica dessas cerâmicas em animais.^{33,34,35}

A tabela 3 mostra a ocorrência das cerâmicas de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.

Tabela 3- Ocorrência das cerâmicas de fosfato de cálcio em sistemas biológicos.^{36,37}

Fosfato de cálcio	Fórmula Química	Ocorrências
Apatita	$(Ca,Z)_{10}(PO_4,Y)_6(OH,X)_2$, onde Z= Mg^{+2} , Sr^{+2} , Ba^{+2} ; Y= HPO_4^{-2} , CO_3^{-2} ; X= Cl^- , F^-	Esmalte, dentina, osso, cálculo dentário, pedras, cálculo urinário, calcificação de tecido mole.
Fosfato octacálcico-OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	Cálculos dentário e urinário.
Monohidrogeno fosfato de cálcio diidratado – DCPD Brushita	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	Cálculo dentário, ossos decompostos.
Fosfato tricálcico – β -TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	Cálculos dentário e urinário, pedras salivares, cáries dentárias, calcificação de tecido mole.
Fosfato de cálcio amorfo - ACP	$(Ca,Mg)_2(PO_4,Y')$ $Y' = P_2O_7, CO_3^{-2}$	Calcificação de tecido mole.
Pirofosfato de cálcio diidratado -CPPD	$Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	Depósitos de pseudo-gotas em fluidos.

2.3 HIDROXIAPATITA

Simplificadamente pode-se dizer que o corpo humano é constituído por três componentes básicos: água, colágeno e hidroxiapatita. Este último composto representa a fase mineral dos ossos e dos dentes, que é responsável por fornecer estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais como pulmões e coração e funcionando como um depósito regulador de íons. Tal fase representa aproximadamente 5% do peso total de um indivíduo adulto.⁴

2.3.1 Características Cristalográficas da Hidroxiapatita

Apatita é uma definição da estrutura e não da composição. Cristalograficamente, a estrutura da apatita pertence ao sistema hexagonal, grupo espacial $P6_3/m$, que é caracterizado por uma simetria perpendicular a três eixos “a” equivalentes, formando ângulos de 120° entre si. A célula unitária da hidroxiapatita contém 10 grupos Ca^{2+} , 6 grupos PO_4^{3-} e 2 grupos OH^- , que resultam no composto de fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.³⁶ O arranjo atômico da hidroxiapatita e a localização dos íons cálcio tipo I podem ser observados nas figuras 1 e 2 respectivamente.³⁸

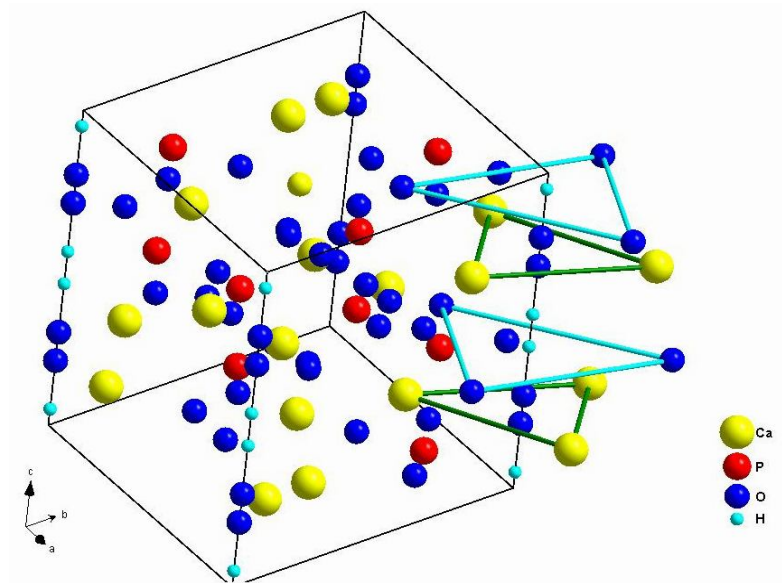


Figura 1 - Arranjo atômico da hidroxiapatita.

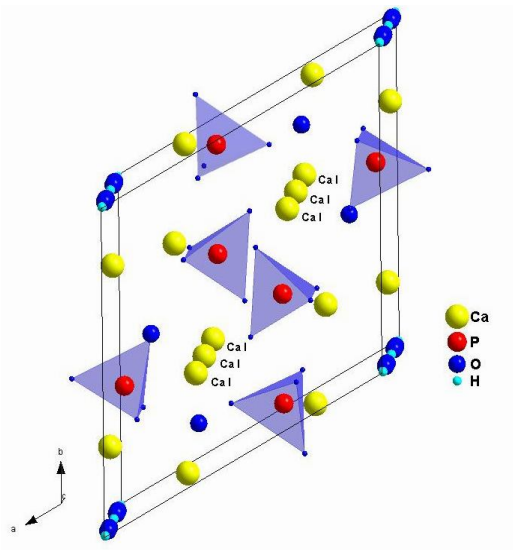


Figura 2- Cella unitária da HAP, íons cálcio no sítio I (Ca I)

Na hidroxiapatita, o arranjo tetraédrico de grupos PO_4^{3-} contém 2 átomos de oxigênio no plano basal e os dois outros alinhados com o eixo c. Os tetraedros do grupo PO_4^{3-} estão de tal forma arranjados que possibilitam a formação de dois tipos de canais perpendiculares ao plano basal:

- a) um canal com diâmetro de aproximadamente 2 Å tem paredes formadas por átomos de oxigênio e é ocupado pelo íon cálcio Ca (I). Esses íons estão localizados na posição relativa 0 e 1/2 do parâmetro cristalino;
- b) um canal com diâmetro de 3 a 3,5 Å, cujas paredes são constituídas por átomos de oxigênio ou íons Ca (II) e estão localizados a 1/4 e 3/4 do parâmetro cristalino.³⁹

Vários íons podem ainda se acomodar no interior desses canais, tais como F^- , Cl^- , OH^- , O^{2-} e CO_3^{2-} .³⁹ A tabela 4 mostra as propriedades cristalográficas quando da formação da fluorapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ e da cloroapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$, onde o fluoreto (F) e o cloreto (Cl), respectivamente, substituem o grupo (OH).³⁶

Tabela 4- Propriedades cristalográficas de fosfatos de cálcio sintéticos.³⁶

Fosfato de cálcio	Fórmula molecular	Hábito cristalino	Grupo espacial	Razão Ca/P
Hidroxiapatita HAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	Hexagonal a=9,422 Å c=6,880 Å	$\text{P6}_3/\text{m}$	1,67
Fluorapatita FAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	Hexagonal a=9,377 Å c=6,880 Å	$\text{P6}_3/\text{m}$	1,67
Cloroapatita CIAP	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$	Monoclínico a=9,632 Å c=7,000 Å	$\text{C2}/\text{c}$	1,67

De Jong foi o primeiro a observar a semelhança entre os padrões de difração de raios X da fase mineral dos ossos e da hidroxiapatita, em 1926.⁴ Devido à similaridade química com a fase mineral do tecido ósseo, é considerada um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos, favorecendo o crescimento ósseo nos locais em que ela se encontra (osteocondutor), estabelecendo ligações de natureza química entre o material e o tecido ósseo (bioativo), permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo que as células não distinguem entre a hidroxiapatita e a superfície óssea, o que indica a grande similaridade química superficial. Porém, apesar das semelhanças químicas, o desempenho mecânico da HAP sintética é muito pobre se comparado ao osso cortical. Além disso, o osso mineral apresenta bioatividade mais alta quando comparada a HAP sintética.^{8,33} Segundo Olszta et al.²³, a fase mineral de osso é uma apatita deficiente em cálcio, com uma relação Ca/P menor que 1,67 que é o valor teórico para hidroxiapatita estequiométrica ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). O tecido ósseo é um tecido vivo que se remodela continuamente; o pequeno tamanho dos cristais e a não estequiometria, presumivelmente dão à fase mineral a solubilidade necessária para a reabsorção do osso pelos osteoclastos. A HAP estequiométrica, embora bioativa, é lentamente reabsorvida devido à baixa solubilidade em condições fisiológicas.

2.3.2 Métodos de Síntese da Hidroxiapatita

A hidroxiapatita pode ser obtida a partir de ossos humanos e de outra espécie de animal, por transformações de materiais naturais, como nos esqueletos minerais dos corais e equinodermos, e também pode ser sintetizada artificialmente.²⁸

A solubilidade da HAP sintética é extremamente baixa, sendo que para o composto sinterizado a taxa de solubilidade em tecido subcutâneo é de cerca de 0,1 mg/ano.⁸ Estudos efetuados por longos períodos de tempo têm mostrado que a hidroxiapatita começa a ser reabsorvida gradualmente após 4 ou 5 anos de implante. A reabsorção é uma característica desejada para um biomaterial, como em implantes temporários, nos quais o processo de degradação é concomitante com a reposição do osso em formação.⁴

Entretanto, a hidroxiapatita pode apresentar-se em diferentes formas, porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade e defeitos cristalinos que interferem na solubilidade e capacidade de reabsorção do material pelo organismo. Assim, é possível obtê-la em diferentes taxas de degradação em função dos diferentes métodos e condições de obtenção.⁸

O método de síntese adotado e/ou o seu tratamento térmico posterior podem levar ao aparecimento, ou não, de outras fases de compostos de fosfatos de cálcio, podendo comprometer algumas de suas características como a osteocondução, ou comprometer a integridade e eficiência mecânica do material em função de sua solubilização. Os principais métodos de obtenção da hidroxiapatita são: precipitação, hidrotermal, térmico e sol-gel.⁸

Os métodos baseados na precipitação consistem, basicamente, em misturar fontes de íons cálcio e fosfato em meio aquoso conveniente. As fontes de cálcio podem ser soluções aquosas de CaCl_2 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, CaCO_3 ou $\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2$. Como fontes de fosfato podem ser usadas soluções de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 . Também aparece reação

entre $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 considerada vantajosa em relação a utilização de outros precursores, pois, além da simplicidade e baixo custo apresenta água como subproduto.^{39,40,41,42}

O pH é controlado durante a síntese mediante fluxo de NH_3 gasoso, ou adicionando soluções aquosas de NH_4OH , NaOH e KOH . Para valores de pH maiores que 7, a primeira fase a se cristalizar é o fosfato de cálcio amorfo ACP, que se converte lentamente em hidroxiapatita. Para controlar a substituição de CO_2 na estrutura cristalina, o ideal é utilizar atmosfera controlada durante o processo de precipitação. Para valores de pH entre 5 e 7, pode ocorrer a formação de precursores como o OCP e fosfato dicálcico.^{9,14,20,40}

Tempo de envelhecimento prolongado e alta temperatura de síntese, próximas a 100°C , geralmente, favorecem razões Ca/P próximas a da hidroxiapatita estequiométrica (1,67) e alta cristalinidade. Assim, quando o objetivo é obter material estequiométrico, é preferível adicionar lentamente a fonte de fosfato sobre uma solução de cálcio, mantendo o pH entre 8 e 9 a uma temperatura de 85°C . Se a velocidade dos reagentes for suficientemente lenta, pode-se evitar a formação de ACP e formar diretamente a HAP com boa cristalinidade.⁴³

O material produzido por precipitação se apresenta como agregados (aproximadamente de 1 a $100\ \mu\text{m}$) de cristais primários pequenos ($< 1\ \mu\text{m}$). O hábito cristalino desses cristais primários varia com as condições de síntese, sendo freqüentemente acicular ou tabular e, em geral, com faces bem definidas.¹⁴

Outro método consiste na síntese hidrotérmica que promove a formação de HAP a partir de soluções aquosas a temperaturas elevadas, em torno de 140 a 500°C . Para alcançar tais temperaturas, sem permitir a evaporação do solvente, utiliza-se pressão também elevada. Geralmente esse processo ocorre em autoclaves, dessa forma a pressão resultante é simplesmente a pressão de vapor do solvente na temperatura desejada. Como materiais de partida, tem-se usado

$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, H_3PO_4 e os fosfatos de cálcio $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CaHPO_4 , $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. O pH inicial se ajusta com NH_3 gasoso, NH_4OH e NaOH .¹⁴

A via térmica de obtenção de hidroxiapatita ocorre em reações no estado sólido em temperatura elevada, de maneira que a mistura dos componentes de cálcio e fosfato ocorra na razão Ca/P correspondente ao valor teórico de 1,67. As reações no estado sólido geralmente são controladas por processo de difusão sólido-sólido. À temperatura ambiente, a velocidade de tais processos, é quase nula, assim, em temperaturas elevadas ocorre aumento da mobilidade iônica. O processo de obtenção de HAP por via térmica é composto das seguintes etapas: moagem conjunta dos sólidos reagentes, peletização e sinterização geralmente em temperaturas superiores a 900°C. Assim se produz uma HAP de alta cristalinidade, estequiometria controlada e baixa solubilidade.¹⁴

O método mecanoquímico consiste em uma síntese no estado sólido que tira proveito da perturbação nas ligações superficiais das espécies, tendo como principal vantagem a simplicidade e o baixo custo. Estes fazem do método uma boa alternativa para produção industrial do pó da HAP, pois utiliza como equipamentos apenas um moinho, como moinho de bolas e moinhos vibratórios. No método mecanoquímico hidrotermal uma fase aquosa se incorpora ao sistema, acelerando processos que comumente limitam o processo convencional. A ativação mecanoquímica pode gerar altas temperaturas e pressões devido a efeitos de fricção e aquecimento adiabático, sem necessitar de nenhum recipiente que promova aumentos de pressão e temperatura externa.⁴⁴

Outra forma de obtenção de HAP é o método sol-gel, que consiste em um método químico via úmida, que dispensa a utilização de alto vácuo e temperaturas elevadas. Por esse método se obtém um pó altamente puro devido à possibilidade de um controle cuidadoso dos parâmetros do processo, favorecido por uma mistura em nível molecular dos íons cálcio e fósforo

que é capaz de melhorar a homogeneidade química e física, resultando em uma microestrutura de granulação fina que contém uma mistura de cristais de tamanho de sub-mícron a nano, sendo muito importante para melhorar a reação de contato e a estabilidade da interface osso artificial/natural.¹³

Para que se possa considerar o material obtido através dos diversos métodos de síntese como hidroxiapatita para implante cirúrgico, deve-se considerar as exigências químicas preconizadas na norma ASTM F 1185/88⁴⁵, principalmente no que se refere à composição mínima, que deve ser de 95% de HAP e a presença de elementos traços. A tabela 5 mostra a concentração limite de elementos traços que podem estar presentes no biomaterial.

Tabela 5 – Exigências Químicas da HAP usada como implante.⁴⁰

Elementos	ppm, máximo
As	3
Cd	5
Hg	5
Pb	30
Total de metais pesados	50

2.3.3 Propriedades Mecânicas da Hidroxiapatita pura e na presença de aditivos

Como comentado anteriormente, a desvantagem do uso da hidroxiapatita como biomaterial está relacionada à baixa resistência mecânica e isso tem limitado sua aplicação como implantes em locais que sofrem tensões mecânicas baixas.¹⁵ A tabela 6 indica as principais propriedades mecânicas da HAP.

Tabela 6- Propriedades mecânicas de cerâmicas de hidroxiapatita densa.³⁷

Densidade teórica	3,156 g/cm ³
Dureza	500-800 HV, 2000-3500 Knoop
Resistência à tração	40-100 MPa
Resistência à flexão	20-80 MPa
Resistência à compressão	100-900 MPa
Módulo de elasticidade	70-120GPa
Tenacidade à fratura	Aproximadamente 1 MPam ^{1/2}

Os valores da tabela 4 apresentam algumas diferenças com os apresentados por Kokubo; Kim e Kawashita, que fornecem, por exemplo, para a resistência a compressão valores de 500 a 1000 MPa e para resistência à flexão 115 a 200 MPa.³²

De acordo com a literatura, as propriedades mecânicas das cerâmicas de HAP podem ser melhoradas, modificando as técnicas de processamento do pó, composição e condições experimentais com o objetivo de obter partículas de morfologia bem definidas. Um dos fatores mais importantes é a seleção do processo de conformação do pó e o método de sinterização para se obter um corpo de alta densidade e com uma microestrutura fina.^{46,47}

Ramesh et al. avaliaram o efeito da temperatura de sinterização da HAP nanocristalina, os corpos de prova foram compactados por prensagem uniaxial seguida de prensagem isostática a frio de 200 MPa. A faixa de temperaturas utilizada foi de 900 a 1300°C, obtendo densificação de 98% da densidade teórica (DT), dureza de 7,21 GPa e K_{IC} de 1,77 MPam^{1/2} para temperaturas próximas a 1050°C. Observou-se também um aumento significativo do tamanho do grão de 0,88µm a 1150°C para 7,13µm a 1300°C e concluiu-se que esse fator foi predominante para a diminuição da dureza Hv e tenacidade à fratura K_{IC} para as amostras com tratamento térmico a 1300°C.⁴⁶

Em outro artigo, Ramesh et al. analisaram o efeito da sinterização rápida por microondas nas propriedades da HAP nanocristalina, sintetizada por método de precipitação via úmida,

usando Ca(OH)_2 e H_3PO_4 , os corpos de prova foram compactados por prensagem uniaxial seguida de isostática a frio de 200 MPa, variando a temperatura de sinterização entre 1000 e 1300°C durante 30 minutos. Os resultados indicaram que as microondas não afetaram a estabilidade da fase de HAP. Neste estudo, a maior densificação obtida foi de aproximadamente 98% a 1300°C, que revelou que o aquecimento por microondas foi benéfico na prevenção do crescimento do grão. O tamanho do grão aumentou de 0,86µm para 2,08 µm quando a temperatura foi de 100°C para 1200°C e favoreceu uma melhoria nas propriedades mecânicas, quando comparada aos valores geralmente encontrados na literatura para a HAP, resultando num $K_{IC} = 1,45 \text{ MPam}^{1/2}$ e dureza de 6,38 GPa para os compactos a 1050 e 1150°C respectivamente.⁴⁷

Rodrigues, Vale e Ferreira prepararam HAP através da reação de $\text{Ca(NO}_3)_2$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, utilizando prensagem uniaxial com pressão de compactação de 125 MPa por 1 min, e temperaturas de sinterização de 600 a 1300°C. Observaram que a máxima densificação ocorreu a 1200°C (96% DT) e a maior resistência à compressão foi de 600 MPa a 1100°C, porém a 1300°C ocorreu a decomposição da HAP evidenciada pelo aparecimento de uma segunda fase, identificada como β -TCP.⁴⁸

Prokopiev e Sevostianov avaliaram o efeito da microestrutura nas propriedades mecânicas com a temperatura de sinterização da HAP produzida pela reação de Ca(OH)_2 e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, pelo método de precipitação aquosa. Observaram que, para uma pressão de compactação de 20 MPa, a temperatura mais baixa de sinterização foi de 1140°C. A temperatura 1280 °C é um tipo de “temperatura de limite” depois da qual a microestrutura e as propriedades mecânicas sofrem mudanças significativas. A partir dessa temperatura, as propriedades mecânicas dos compactos estão mais relacionadas à variação na morfologia dos poros do que ao crescimento do grão.⁴⁹

Mostafa comparou as propriedades do pó de HAP preparado pelos métodos mecanoquímico e via úmido. O método mecanoquímico aquoso produz nanocristais de HAP com

uma homogênea distribuição de tamanho de partícula, o que altera as características de sinterização dos compactos, atingindo alta densidade a uma temperatura de sinterização mais baixa quando comparado aos preparados em solução aquosa a 100°C. Assim, a densificação final (1200°C) foi de 93,4% DT para m-HAP (mecanoquímico), 89,4% s-HAP (estequiométrica) e 76,8% d-HAP (deficiente de Ca). Notou-se, também, que um aumento na porosidade é acompanhado pelo decréscimo da resistência à compressão. Comparando-se as três amostras, m-HAP apresentou resistência à compressão de 1080 MPa e a menor porosidade 6,5%, s-HAP teve a menor resistência à compressão 578 MPa e mais alta porosidade 23,2%.⁴⁴

Deville, Saiz e Tomsia utilizaram a técnica conhecida como "freeze casting" para obter compactos porosos com maior resistência mecânica. Nessa técnica, os compactos são congelados e secos a vácuo. A maior resistência à compressão obtida foi de 145 MPa para uma porosidade de 47%, destacando que este valor está próximo daquele encontrado para o osso cortical.⁵⁰

Outra alternativa para melhorar as características mecânicas da HAP consiste em combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a bioatividade de outros materiais bioativos. Para tal procedimento existem duas possibilidades: a primeira consiste em recobrir o material bioinerte ou biotolerável de boa resistência mecânica com uma camada bioativa por meio de deposição de um material bioativo, a segunda é a preparação de materiais compósitos, nos quais o material bioativo está homogeneamente disperso em uma matriz resistente de material bioinerte ou biotolerável.^{10,15}

Propriedades mecânicas de materiais compósitos têm sido amplamente estudadas, vários resultados têm sido publicados. Verifica-se que as propriedades dependem do processamento, temperatura e tempo de sinterização. Porém, a presença e quantidade de aditivo desempenham papel principal dentro do comportamento mecânico dos compósitos⁵¹. A tabela 7 compila o

trabalho de vários pesquisadores que utilizam aditivos inorgânicos para a síntese de materiais compósitos.

Tabela 7- Propriedades mecânicas de diferentes compósitos de HAP.

Composição / [Referência]	Dureza (GPa)	Resist. à compressão (MPa)	Resist. à flexão (MPa)	K _{IC} (MPam ^{1/2})
Prensagem Uniaxial HA comercial + 2,5% massa de aditivos sinterizados a 1300°C 30% CaO + 30% P ₂ O ₅ +40% Na ₂ O 100% CaO [52]	4,6 -	- 220,5± 50	- -	- -
Prensagem à quente 25 MPa HA + 20% ZrO ₂ [53]	7,6	-	130	1,1-1,5
Prensagem Uniaxial HA (método sol-gel) + 1% MgO, sinterizados a 1250°C HA(método sol-gel) + 1% ZnO, sinterizados a 1250°C [51]	-	281,3±15,6 223,0±12,4	-	-
Prensagem Uniaxial HA (osso bovino) + 5% TiO ₂ , sinterizados a 1250°C [54]	-	105,0±3,6	-	-
Prensagem à quente 60 MPa HA + 40% m-ZrO ₂ [55]	6,5	-	-	2,23
Prensagem à quente 50 MPa, 1000°C HA + 1,5% t-ZrO ₂ [56]	-	766	243	-
Prensagem isostática a frio 200MPa HA+ 0,05% MnO ₂ [57]	7,58	-	-	1,65
Prensagem à quente HA (contendo 5% ZrF ₄) + 25% ZrO ₂ [58]	6,9	-	-	2,1

2.3.4 Hidroxiapatita / Gelatina

Biopolímeros, tais como colágeno, cola de fibrila, gelatina, quitosana e o alginato, têm sido empregados junto a HAP a fim de melhorar suas características como biomaterial. Dentre eles, o colágeno é a proteína mais freqüentemente usada, o tipo mais comum, o colágeno tipo I,

tem intensa aplicação na área biológica devido às suas propriedades naturais de ação hemostática, biodegradabilidade e alta biocompatibilidade, comparada com outros polímeros naturais. A sua estrutura e interação com o tecido o torna uma eficiente matriz na fabricação de variadas formas de biomateriais e para uso na engenharia de tecidos, lembrando que o colágeno é a matriz onde os sais de fosfato de cálcio se depositam para dar origem ao tecido ósseo.^{59,60,61}

Segundo Murungan e Ramakrishna, a combinação de hidroxiapatita e colágeno têm se destacado dentre os enxertos ósseos devido à sua composição e semelhança estrutural com osso natural. Adicionalmente, o osso natural é um nanocompósito de cristais de HAP na matriz orgânica rica em colágeno. A característica especial dessa combinação é a orientação espacial da HAP nas macromoléculas de colágeno, o que parece ser a fonte da força mecânica da combinação. Porém, o desempenho dessa combinação depende da fonte de processamento do colágeno. Ativando a nucleação da apatita sobre a matriz orgânica, consegue-se diminuir o tamanho de grão e, como consequência, melhorar a osteointegração e a força mecânica do material.¹⁶

Os problemas práticos com a utilização do colágeno são o seu custo, disponibilidade e procedência comercial, fatores que dificultam a viabilidade do processo. Por esses motivos, em diferentes trabalhos o colágeno é substituído por gelatina, que é comercialmente disponível e que também mostra boa biocompatibilidade e osteocondutividade.¹⁷

A gelatina é um polímero biocompatível, reabsorvível “in vivo”, obtido através da desnaturação térmica ou pela degradação física e química do colágeno, a proteína principal do tecido ósseo. Sua presença, em conjunto com a HAP, forma um biomaterial com as fases orgânicas e inorgânicas semelhantes àsquelas do osso. A presença de algumas macromoléculas naturais como lipídeos, proteoglicanas, polieletrólitos sintéticos como poliacrilato de sódio e poliaspartato influem no controle da nucleação e crescimento de fases inorgânicas em sistemas de

gelatina, assemelhando-se ao processo biológico “in vivo”. Dessa forma, é esperado biodegradação e osteocondutividade aumentados, conjuntamente com melhoria na resistência mecânica, propriedades necessárias para uso ortopédico.^{62,63}

Gelatina é uma mistura de múltiplos polipeptídios, uma cadeia de gelatina contém grupos aniônicos e catiônicos que são capazes de adsorver íons. A adsorção pode ser dirigida por interações eletrostáticas e/ou hidrofóbicas, dependendo da natureza da superfície e do meio. Além disso, cadeias de gelatina podem interagir fortemente através de ligações de hidrogênio. No preparo de HAP em presença de gelatina com pH alcalino ocorre dissociação das ligações iônicas, pois a maior parte dos grupos carboxila da gelatina está na forma protonada que resulta em interações entre os íons Ca^{2+} da solução e íons R-COO^- da gelatina.⁶⁴ Liu et al. relataram que enquanto baixos valores de pH não são benéficos para a produção de cristais de HAP, valores altos conduzem a uma dissolução parcial da gelatina, resultando numa pequena incorporação desta. Destacaram ainda que o pH ótimo para o preparo de HAP em presença de gelatina deve ser 8.⁶²

Durante a precipitação de HAP em uma solução de gelatina, a concentração de gelatina é um fator decisivo na nucleação dos cristais do biomaterial. Quando HAP é sintetizada na ausência de gelatina, pode ocorrer uma reação homogênea entre os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} . Em uma solução de gelatina, os íons Ca^{2+} da solução reagem primeiro com grupos R-COO^- da gelatina e a nucleação de cristais de uma nova fase é induzida por sítios ativos da gelatina por um mecanismo de reação heterogênea. Os íons fosfatos interagem com os complexos de cálcio e formam núcleos de tamanhos críticos para o crescimento de cristais nanométricos de HAP. Quando é aumentada a quantidade de ânions de gelatina dissociados, R-COO^- , os sítios de interação das macromoléculas de gelatina aumentam. Assim, um complexo Ca-gelatina formado rapidamente em solução aquosa pode inibir a reação dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} para formar HAP cristalina. Esse mecanismo

não só suprime a formação de HAP cristalina, como também retarda o crescimento dos cristais.^{64,65,66}

Chang et al. verificaram que uma concentração mais alta de gelatina induziu a formação de minúsculos cristalitos, enquanto, uma mais baixa concentração contribuiu para o desenvolvimento de cristalitos maiores. Fases de HAP, pobremente cristalinas, formam-se com o aumento da quantidade de gelatina. A intensidade dos dois principais picos da HAP, relativas à reflexão dos planos (2 1 1) e (0 0 2), diminuíram com o aumento da quantidade de gelatina.¹⁷

2.4 PROCESSAMENTO E TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS DE HIDROXIAPATITA

2.4.1 Prensagem do Pó

No processo de prensagem, uma massa pulverizada, contendo geralmente uma pequena quantidade de água ou de outro elemento aglutinante, é compactada na forma desejada, mediante pressão. Segundo Callister Jr., existem três tipos básicos de prensagem de pós: uniaxial, isostático (ou hidrostático) e prensagem à quente. Na prensagem uniaxial, o pó é compactado em um molde metálico através de uma pressão que é aplicada ao longo de uma única direção. A peça conformada assume a configuração do molde e do cursor da prensa através do qual a pressão é aplicada. Esse método é restrito a formas relativamente simples, contudo, o processo é barato e relativamente rápido, quando comparado a outras formas de prensagem.⁶⁷

Na prensagem isostática, o material está contido em um envelope de borracha e a pressão é aplicada por um fluido, isostaticamente (isto é, ele possui a mesma magnitude em todas as direções). São possíveis formas mais complexas de que em uma situação de prensagem uniaxial, entretanto, a técnica isostática consome mais tempo e é de execução mais cara.⁶⁷

Tanto para o procedimento uniaxial como para o isostático, é exigida uma operação de tratamento térmico após a prensagem. Com a prensagem à quente, a prensagem do pó e o tratamento térmico são realizados simultaneamente, o agregado pulverizado é compactado a uma temperatura elevada. Esse procedimento é utilizado quando são desejadas densidades elevadas, sem que haja crescimento pronunciado no tamanho do grão. Essa é uma técnica de fabricação cara e demorada, além do molde possuir vida útil curta.⁶⁷

2.4.2 Sinterização

Sinterização é o tratamento térmico que é dado às amostras de cerâmica. As condições em que a sinterização ocorre, no caso da hidroxiapatita, envolvem temperaturas superiores a 1000°C. A figura 3 mostra as fases de fosfato de cálcio que podem ser formadas em altas temperaturas.

Uma vez obtido o formato desejado, o compacto, é submetido a altas temperaturas (porém inferiores à temperatura de fusão do material), com o intuito de estabelecer ligações mais fortes entre as partículas, e, assim, densificar e conferir resistência mecânica ao corpo conformado. Tais ligações são originadas através dos diversos mecanismos de transporte de massa em nível atômico que caracterizam o processo de sinterização.⁶⁸

Nesse processo ocorre a progressiva transição do estado inicial de aglomeração, partículas em simples justaposição, para uma unidade na qual as partículas fundem-se umas com as outras. As operações de sinterização trazem alterações bastante significativas ao produto cerâmico como: diminuição da área de superfície específica, diminuição do volume da amostra, aumento da fase cristalina e aumento das propriedades mecânicas. Embora algumas operações de sinterização não produzam mudanças de fases, é comum encontrar alterações drásticas, tais como formação de fase líquida.^{69,70}

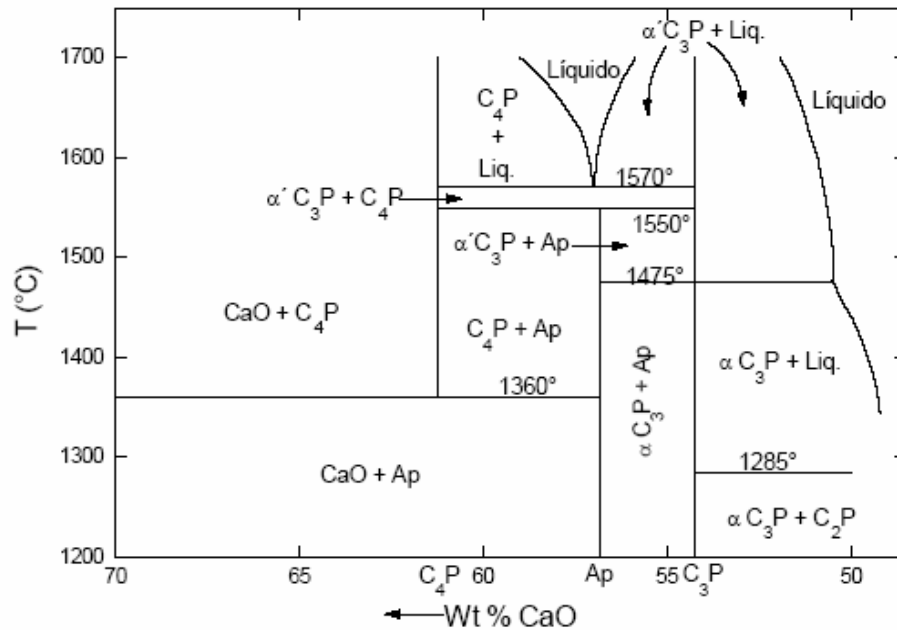


Figura 3- Diagrama de fases do sistema CaO-P₂O₅ em presença de 500mmHg de vapor de H₂O. (C₂P = Ca₂P₂O₇, C₃P = Ca₃(PO₄)₂, C₄P = Ca₄O(PO₄)₂, Ap = hidroxiapatita)¹⁴

Durante o estágio inicial da sinterização, ocorre formação de empescoçamento ao longo das regiões de contato entre as partículas adjacentes; além disso, forma-se um contorno de grão dentro de cada pescoço e, cada interstício entre as partículas se torna um poro. À medida que o processo de sinterização progride, os poros se tornam menores e adquirem formas mais esféricas.⁶⁷

O objetivo da sinterização é desenvolver microestruturas adequadas como, por exemplo, a resistência mecânica de um material que se relaciona inversamente com sua porosidade e seu tamanho de grão. Com uma sinterização prolongada se reduz a porosidade, mas se aumenta o tamanho de grão. É desejável limitar, tanto quanto possível, a porosidade do material através do controle dos tamanhos das partículas.⁶⁰

As técnicas de sinterização podem ser divididas em três grupos principais: sinterização convencional em fornos, sinterização por microondas e método “spark”(centelha) plasma.⁴⁸

2.4.3 Ensaio Mecânicos

Segundo Garcia, Spim e Santos, os ensaios mecânicos permitem a determinação de propriedades mecânicas que se referem ao comportamento do material sob a ação de esforços e que são expressas em função de tensões e/ou deformações. A finalidade em se realizar esses ensaios é desenvolver novas informações sobre os materiais que tiveram mudanças no processamento.⁷¹

2.4.3.1 Ensaio de Flexão

O ensaio de flexão consiste na aplicação de uma carga crescente em determinados pontos de uma barra de geometria padronizada. Mede-se o valor da carga versus a deformação máxima. É um ensaio muito utilizado na indústria de cerâmicas e metais duros, como ferro fundido, aço ferramenta e aço rápido, pois fornece dados quantitativos da deformação destes materiais, quando sujeitos à carga de flexão.⁷¹

O corpo de prova na forma de uma barra, com seção reta circular ou retangular, é flexionado até sua fratura, utilizando uma técnica de carregamento em três ou quatro pontos, conforme mostram as figuras 4 a e b. A tensão no momento da fratura, quando se emprega o ensaio de flexão, é conhecida por resistência à flexão, módulo de ruptura ou resistência à fratura.⁶⁷ Para uma seção reta retangular, a resistência à flexão, σ_{rf} , é dada pela equação 1.⁷¹

$$\sigma_{rf} = \frac{3.P.L}{2.w.h^2} \quad (\text{eq.1})$$

na qual, P representa a carga aplicada no momento da fratura (N, Kgf), L é a distância entre os apoios (mm), w é a largura do corpo de prova (mm) e h é a altura do corpo de prova (mm).

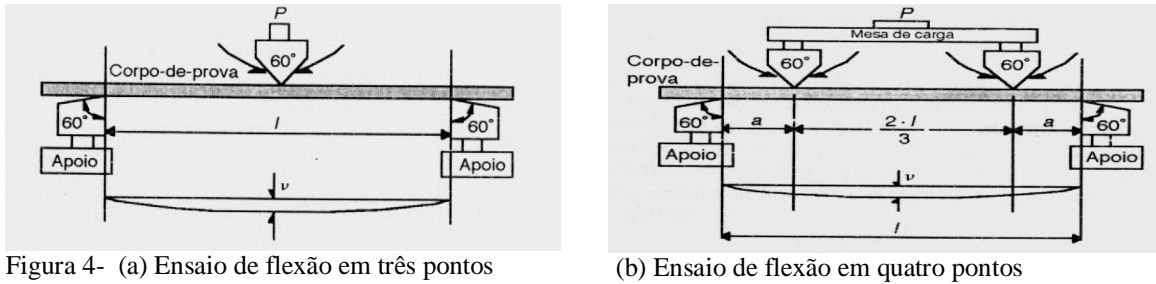


Figura 4- (a) Ensaio de flexão em três pontos

(b) Ensaio de flexão em quatro pontos

Os resultados fornecidos pelo ensaio de flexão podem variar com a velocidade de aplicação da carga, os defeitos superficiais e, principalmente, com a geometria da seção transversal da amostra.⁶²

2.4.3.2 Ensaio de Dureza

Consiste na impressão de uma pequena marca feita na superfície da peça pela aplicação de pressão com uma ponta de penetração. A medida da dureza do material ou da dureza superficial é dada como função das características da marca de impressão e da carga aplicada em cada tipo de ensaio de dureza realizado. Nos ensaios de dureza Rockwell e Brinell, são utilizados penetradores esféricos de aço. Para os ensaios de microdureza Knoop e Vickers, o penetrador é uma pirâmide de diamante.⁷¹

No ensaio de microdureza Vickers, um penetrador de diamante muito pequeno é forçado contra a superfície do corpo de prova. A impressão resultante é observada em um microscópio e medida. Pode ser necessária uma preparação cuidadosa da superfície do corpo de prova

(lixamento e polimento), a fim de assegurar uma impressão bem definida, que possa ser medida com precisão. O método é conhecido como ensaio de microdureza com base na carga e no tamanho do penetrador.⁷¹

A forma da impressão é a de um losango regular, cujas diagonais devem ser medidas. A média dessas duas medidas é utilizada para determinação da dureza Vickers (HV), de acordo com a equação 2⁷¹

$$HV = \frac{0,102.2.P.\text{sen}(\theta / 2)}{d^2} = 0,189. \frac{P}{d^2} \quad (\text{eq.2})$$

onde, P = carga (N) e d= comprimento da diagonal da impressão (mm) e $\theta = 136^\circ$.

A figura 5 mostra um esquema de aplicação do método Vickers.

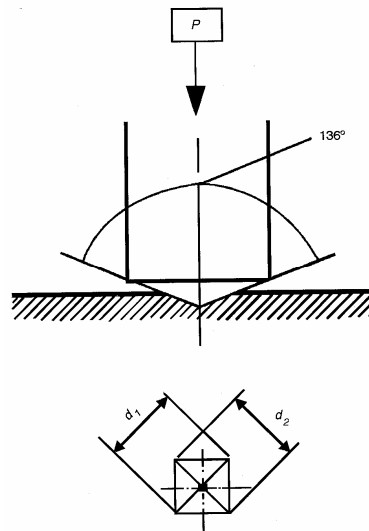


Figura 5- Esquema representativo de aplicação do método Vickers.⁷¹

2.4.4 Difração de raios X (DRX)

Os raios X constituem uma radiação eletromagnética de curto comprimento de onda produzida pela aceleração ou desaceleração de elétrons de alta energia ou pelas transições de elétrons dos orbitais internos dos átomos. O intervalo de comprimentos de onda dos raios X vai de cerca de 10^{-5} Å até 100 Å. As condições necessárias para a difração de raios X são: o espaçamento entre as camadas de átomos deve ser aproximadamente o mesmo que o comprimento de onda da radiação e os centros espalhadores devem estar espacialmente distribuídos em um arranjo altamente regular.⁷²

Em 1912, W.L.Bragg deduziu a chamada equação de Bragg onde os raios X devem ser refletidos somente se o ângulo de incidência satisfaz à condição de que:

$$\text{sen } \theta = \frac{n\lambda}{2d} \quad (\text{eq.3})$$

onde n é um número inteiro e d é a distância interplanar para o conjunto de planos $h k l$ (índice de Miller) da estrutura cristalina e θ é o ângulo de incidência dos raios X. Em todos os outros ângulos, ocorre interferência destrutiva.⁷⁰

Para detectar e analisar pequenas variações e distorções que não podem ser tangíveis por uma simples inspeção de DRX do pó, pode-se realizar o refinamento de estruturas cristalinas através do método desenvolvido a partir dos trabalhos de Rietveld (1967, 1969). Esse método considera todo o difratograma, gerando um novo, calculado a partir de informações das estruturas cristalinas das fases presentes e as suas proporções relativas.^{73,74,75}

O refinamento dos difratogramas de raios X pelo método de Rietveld nos dá as seguintes informações: identificação e quantificação de fases presentes num sistema policristalino multifases, análises de tamanho de cristalito, ocupação de sítios cristalográficos por dopantes adicionados aos materiais, posições atômicas, distâncias interatômicas, ângulos de ligação e determinação da estrutura. Para se realizar o refinamento, faz-se necessária a utilização de programas de computador, como por exemplo, o GSAS.^{75,76}

2.4.5 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

A absorção de radiação infravermelha causa transições de níveis vibratórios de energia das moléculas. A utilização dessa técnica reside no fato de que somente comprimentos de onda muito específicos de luz infravermelha podem ser absorvidos quando um determinado tipo de molécula está no caminho da radiação. A absorbância versus o comprimento de onda fornece uma “impressão digital” da molécula.³⁶

A análise por Espectroscopia no Infravermelho da HAP sintetizada fornece as seguintes informações: identidade, pureza, presença de grupos funcionais (por exemplo, HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} , PO_4^{2-} , etc.), efeito da incorporação de um elemento sobre a frequência de vibração de outro grupo funcional, cristalinidade, deduzida da resolução ou perda da resolução das bandas de vibração, tipo e soma de constituintes.³⁶ A tabela 8 mostra as bandas de absorção em cm^{-1} para amostras de HAP.

Tabela 8- Bandas de absorção de IV para apatitas (AP)³⁶

(continua)

Frequência IV, cm^{-1}	Grupos funcionais
3700-3000	H-O-H, H_2O de cristalização adsorvida (AP)
3580	O-H, do grupo hidroxila (AP)

Tabela 8- Bandas de absorção de IV para apatitas (AP)³⁶

(conclusão)

Frequência IV, cm ⁻¹	Grupos funcionais
1615	H-O-H, H ₂ O de cristalização adsorvida (AP)
1454, 1414	C-O do CO ₃ , da CO ₃ -AP
1119, 1098 (F-AP) 1114 (CO ₃ -AP) 1080,1030	P-O e P-OH, dos grupos HPO ₄ e PO ₄
965 (F-AP) 961 (CO ₃ -AP)	P-O do grupo PO ₄
865 (AP)	P-OH modo estiramento do grupo HPO ₄
873 (CO ₃ -AP)	C-O
630	O-H do grupo OH hidroxila
620,600,564 (F-AP) 600,563 (CO ₃ -AP)	P-O do grupo PO ₄
471 368 (F-AP) 365 (CO ₃ - AP)	P-O do grupo PO ₄

Um espectro de IV de um HAP comercial da marca Osteogen é apresentado na figura 6, nele são encontradas bandas de estiramento: O-H a 3570 cm⁻¹ e de P-O (de grupos PO₄) a 1091-1031 cm⁻¹, bem como de água adsorvida a 3410 cm⁻¹ e bandas de deformação: P-O (de grupos PO₄) a 603 e 563 cm⁻¹ e a presença de O-H (de grupos OH) a 643 cm⁻¹.⁸

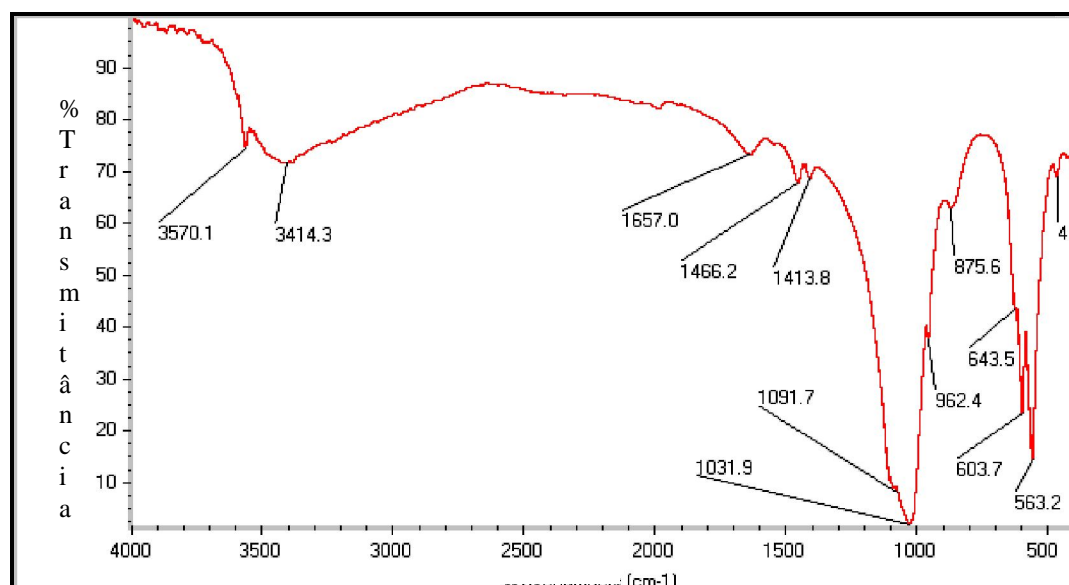


Figura 6 – Espectro de infravermelho com transformada de Fourier para uma amostra de HAP comercial marca Osteogen.⁸

2.4.6 Análise Térmica

É um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou de seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a uma variação de temperatura controlada e programada. Os principais métodos de análise térmica são termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (DTA) e calorimetria diferencial de varredura (DSC).⁷²

Em uma análise termogravimétrica, a massa de uma amostra em uma atmosfera controlada é registrada continuamente como uma função da temperatura ou do tempo à medida que a temperatura da amostra aumenta (em geral, linearmente com o tempo).⁷⁶

2.4.7 Microscopias óptica (MO) e eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia óptica permite a análise de grandes áreas em curto espaço de tempo, além de ser de utilização simples, rápida e pouco dispendiosa. Para materiais opacos à luz visível, apenas a superfície do material está sujeita à observação e o microscópio óptico deve ser usado em uma modalidade de reflexão. Os contrastes na imagem produzida resultam das diferenças na refletividade das várias regiões da microestrutura, que é revelada mediante aplicação de um tratamento químico na superfície.⁶⁷

O MEV é geralmente utilizado para observações de amostras espessas, ou seja, basicamente não transparentes a elétrons. A razão principal de sua aplicação está associada à alta resolução que pode ser atingida, na ordem de 3,0 nm, e à grande profundidade de foco, que é 300 vezes melhor que a do microscópio óptico, resultando em imagens com aparência tridimensional. No que se refere à preparação das amostras, deve-se considerar que materiais não

condutores necessitam de uma camada condutora sobre a superfície para aterrar os elétrons que as atingem e, portanto, evitar efeitos de carregamento, que impedem a obtenção de imagens satisfatórias formadas por elétrons secundários. Outra razão para o recobrimento de amostras não condutoras é que as camadas depositadas podem melhorar o nível de emissão de elétrons, uma vez que os emite muito mais do que o material da amostra.⁷⁸

2.4.8 Densidade e Porosidade

A densidade aparente pode ser determinada por imersão dos corpos de prova em um líquido de densidade conhecida (ρ_l), geralmente água (Princípio de Arquimedes), no qual os corpos de prova são imersos por 24 horas, sendo medidos posteriormente sua massa imersa (P_i) e o peso úmido (P_u). Em seguida os corpos de prova são secos em estufa, também por 24 horas, à temperatura constante de 105°C e medido seu peso seco (P_s).⁷⁹

Baseia-se na determinação da massa do volume do líquido deslocado pelo corpo de prova. Pode ser usado qualquer tipo de peça, sempre que o sólido seja impermeável ao líquido e não tenha nenhuma interação com ele. A vantagem é de ser sensível, rápido, não destrutivo e de precisão.⁷⁹

A densidade aparente é calculada pela equação 4:

$$DA = \frac{P_s}{(P_u - P_i)\rho_l} \quad (\text{eq.4})$$

onde: DA = densidade aparente; P_s = peso seco; P_u = peso úmido; P_i = peso imerso; ρ_l = densidade conhecida.

A densidade relativa pode ser calculada pela equação 5.²⁶

$$D_R = \frac{D}{D_T} \times 100 \quad (\text{eq.5})$$

onde: D = densidade calculada pelo método de Arquimedes; D_T = densidade teórica do material;

D_R = densidade relativa (%).

Para calcular-se a porosidade usando também o método de Arquimedes, é utilizada a seguinte equação.⁷⁹

$$PA = \left[\frac{(Pu - Ps)}{(Pu - Pi)} \right] \times 100 \quad (\text{eq.6})$$

onde: PA = porosidade aparente; Pu = peso úmido; Pi = peso imerso; Ps = peso seco.

2.4.9 Área Superficial Específica – Método BET

Um dos métodos mais comuns de determinação da área específica de um sólido se baseia na determinação da quantidade necessária de um adsorvato (normalmente gases) para recobrir com uma monocamada a superfície de um adsorvente.⁸⁰

Quando um sólido é exposto a um gás ou vapor em um sistema fechado à temperatura constante, o sólido passa a adsorver o gás, ocorrendo assim um aumento da massa do sólido e um decréscimo da pressão do gás. Após um determinado tempo, a massa do sólido e a pressão do gás assumem um valor constante. A quantidade de gás adsorvida pode ser calculada pela diminuição da pressão por meio da aplicação das leis dos gases ou pela massa de gás adsorvida pelo sólido.⁸¹

Processos de adsorção de gás podem ser classificados como físico ou químico, dependendo da natureza de forças atômicas envolvidas. Adsorção química é causada por uma reação química na superfície, já a adsorção física é causada por forças de interação moleculares e só é importante a uma temperatura abaixo da temperatura crítica do gás.⁴³

A primeira teoria que relaciona a quantidade de gás adsorvida com a pressão de equilíbrio do gás foi proposta por Langmuir em 1918. Na década de 30, Brunauer, Emmett e Teller derivaram uma equação para a adsorção de gases em multicamadas na superfície de sólidos. A equação, denominada BET (em homenagem aos autores), baseia-se na hipótese de que as forças responsáveis pela condensação do gás são também responsáveis pela atração de várias moléculas para a formação de multicamadas.⁸¹

A equação de BET é escrita freqüentemente como:

$$\frac{p}{V(p_0 - p)} = \frac{1}{V_m c} + \frac{c-1}{V_m c} \frac{p}{p_0} \quad (\text{eq.7})$$

onde: V = volume de gás adsorvido à pressão p; (p₀ - p) = pressão de vapor saturada do adsorbato à temperatura de adsorção; V_m = capacidade da monocamada; c - 1 = constante relativa às energias de adsorção e liquefação do gás. De acordo com essa equação, o gráfico de p/[V(p₀-p)] contra p/p₀ deve ser uma reta com coeficiente angular (c - 1)/(V_mC) e coeficiente linear 1/(V_mC) dos quais V_m e c podem ser facilmente determinadas. E a área superficial específica pode ser determinada pela equação 8:

$$S = \frac{N_{AV} \cdot \sigma \cdot V_m}{V} \quad (\text{eq. 8})$$

onde: N_{AV} é o número de Avogadro; V_m o volume molar = $22,410 \text{ cm}^3/\text{mol}$ a 1 atm e 0°C ; σ a área ocupada por uma molécula do gás. O nitrogênio com uma área de $16,2 \text{ \AA}^2$ até seu ponto de ebulição, 77K , é o gás normalmente escolhido para análise da área superficial porque apresenta um valor de c alto.⁸⁰

3 METODOLOGIA

3.1 OBTENÇÃO DOS PÓS DE HIDROXIAPATITA

Quatro rotas de processamento foram realizadas:

- hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso e secagem em estufa (HAPCON), posterior tratamento térmico a 700°C (HAPCON700) e a 1200°C (HAPCON1200);

- hidroxiapatita sintetizada por precipitação em presença de gelatina e secagem em estufa (HAPGEL), posterior tratamento térmico a 700°C (HAPGEL700) e a 1200°C (HAPGEL1200);

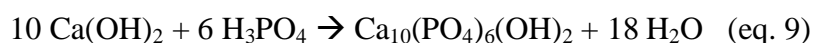
- hidroxiapatita sintetizada por precipitação em meio aquoso e com processo de secagem por liofilização (HAPCONLIO), posterior tratamento térmico a 700°C (HAPCONLIO700) e a 1200°C (HAPCONLIO1200);

- hidroxiapatita sintetizada por precipitação em presença de gelatina e com processo de secagem por liofilização (HAPGELLIO), posterior tratamento térmico a 700°C (HAPGELLIO700) e a 1200°C (HAPGELLIO1200).

3.1.1 Método de síntese

O processo escolhido para a obtenção da hidroxiapatita foi o método de reação via úmida. Com esse método, a precipitação ocorreu devido à reação do ácido fosfórico H_3PO_4 e uma suspensão contendo $Ca(OH)_2$, em meio aquoso e em solução aquosa de gelatina. Dentre os métodos de síntese disponíveis, a técnica de precipitação via úmida, que envolve soluções aquosas, foi escolhida por apresentar as seguintes vantagens: o subproduto é a água e a possibilidade de contaminação durante o processamento é muito baixa, além da simplicidade e do

baixo custo para a realização da reação, uma vez que os equipamentos utilizados são normalmente encontrados em laboratórios de química.⁴⁶ Porém, necessita de parâmetros controlados como natureza e composição dos materiais de partida, pH, razão Ca/P e temperatura das soluções preparadas para obter monofase de HAP.^{40,61} A síntese ocorreu de acordo com a equação química abaixo:⁴²



3.1.2 Reagentes e reação

3.1.2.1 Síntese das amostras de HAPCON

Para a síntese das amostras de HAPCON, realizada em duplicata, os reagentes utilizados foram o Ca(OH)_2 (Vetec, P.A. 95%) e H_3PO_4 (Nuclear, P.A. 85%). Prepararam-se 250mL de uma suspensão de Ca(OH)_2 2 mol/L, que foi colocada em um béquer, mantido sob agitação constante com um agitador magnético a temperatura de 40°C. Essa temperatura foi escolhida para aumentar a cinética de reação de formação de HAP e facilitar a dissolução do Ca(OH)_2 . A seguir, 250mL de solução de H_3PO_4 1,2 mol/L foram adicionados lentamente à suspensão, controlando-se o gotejamento para o valor de aproximadamente 1gota/s. Ao término da adição da solução de ácido fosfórico, com um papel indicador de pH, mediu-se o pH, o qual foi ajustado para 10, utilizando-se NH_4OH (Reatech, P.A. 28%). A mistura foi mantida sob agitação por mais 1h, medindo-se periodicamente o pH e ajustando quando necessário. Manteve-se o precipitado em envelhecimento por 24h.

3.1.2.2 Síntese das amostras de HAPGEL

Para síntese das amostras de HAPGEL, também realizada em duplicata, foi inicialmente acrescentada gelatina comercial incolor (da marca Dr. Otker) em 250 mL de água deionizada, a uma concentração de 3g/L, à temperatura de 40°C, até sua completa dissolução. A essa solução acrescentou-se o Ca(OH)_2 e efetuou-se o gotejamento da solução de H_3PO_4 , como descrito anteriormente. O tempo de envelhecimento foi o mesmo que para as amostras de HAPCON.

Como o objetivo era obter HAP estequiométrica, tendo em vista sua importância como biomaterial, as proporções dos reagentes nas reações executadas foram ajustadas para o valor da razão molar Ca/P igual a 1,67, sendo o pH final ajustado para 10, pois, segundo a literatura, a faixa de pH de estabilização da HAP em soluções aquosas está entre 9,5 a 12.⁵¹

3.1.3 Secagem

Ao término do período de envelhecimento, retirou-se o excesso de líquido sobrenadante das amostras por filtração a vácuo. Parte do precipitado de cada amostra foi seca em estufa à temperatura de 110°C por 24 horas, as amostras foram identificadas como HAPCON e HAPGEL. Outra parte passou por secagem pelo processo de liofilização, as amostras foram identificadas como HAPCONLIO e HAPGELLIO. A figura 7 mostra o equipamento Liotop modelo L202 utilizado para secagem das amostras durante um tempo de liofilização de 48h, após prévio congelamento à temperatura de -40°C. Após a secagem, os materiais obtidos foram moídos em almofariz, peneirados em malha 200 mesh e calcinados a 700°C por 2h, com taxa de aquecimento de 5°C/min. As amostras tratadas termicamente a 700°C foram identificadas como HAPCON700, HAPCONLIO700, HAPGEL700 e HAPGELLIO700.



Figura 7- Liofilizador Liotop L202 com amostra da HAP.

3.1.4 Compactação e sinterização

Foram confeccionados corpos de prova nos formatos retangular e cilíndrico, utilizando-se moldes de aço com dimensões de 40 x 7 x 14mm para as peças retangulares e uma matriz com diâmetro de 13mm para os corpos cilíndricos. A compactação ocorreu inicialmente por prensagem uniaxial com carga de 500 Kgf, em prensa hidráulica SCHULZ PHS 15T, seguida de prensagem isostática a frio, em prensa hidráulica SCHULZ 30T, aplicando uma pressão de compactação de 200 MPa. O processo de conformação inicial foi realizado sem aglomerante, sendo necessário uma lubrificação nos moldes com solução de ácido esteárico ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$, Isofar 95%) em acetona (Vetec, P.A. 99,5%). Os compactos obtidos foram sinterizados em um forno tipo caixa, marca JUNG, modelo 0914, à temperatura de 1200°C

mantida por 2h, com taxa de aquecimento de 5°C/min. As amostras sinterizadas foram identificadas como: HAPCON1200, HAPCONLIO1200, HAPGEL1200 e HAPGELLIO1200.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

3.2.1. Caracterização dos pós

As análises por DRX para identificar e quantificar as fases presentes no biomaterial foram realizadas em um difratômetro SHIMADZU, modelo XRD-6000, utilizando radiação de alvo de cobre cujo comprimento de onda é de 1,54060 Å ($k\alpha_1$) com diferença de potencial de 40 kV e corrente de 30 mA. Para análise qualitativa das fases de todas as amostras, a varredura foi realizada de 5 a 90° com passo de 2°/min. Os resultados obtidos foram comparados com dados encontrados pelo banco de dados JCPDS - “Joint Committee on Powder Diffraction Standards”. A análise quantitativa das fases cristalinas nos pós sinterizados a 1200°C foi realizada pelo método de refinamento de Rietveld, a partir dos dados obtidos por DRX, utilizando-se o programa GSAS.⁷⁶ Os dados foram coletados no intervalo de 2θ entre 5 e 130° com passo de 0,02°/min e tempo por passo de 6s.

Para identificar a presença de impurezas nas amostras e determinar a razão molar Ca/P, foi realizada uma análise química quantitativa por espectrometria de fluorescência de raios X em um equipamento Panalytical modelo Axios Advanced, do Laboratório de Caracterização Tecnológica – LCT da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.

As análises por Espectroscopia de Infravermelho dos pós, antes e após o tratamento térmico foram realizadas em uma faixa de 400 cm^{-1} a 4000 cm^{-1} , com um equipamento

SHIMADZU FTIR-8400, com o objetivo de identificar os grupos funcionais característicos da HAP, avaliar o efeito da incorporação de gelatina sobre a frequência de vibração dos grupos funcionais e indicar possíveis substituições. Para confecção das amostras, utilizou-se KBr (previamente seco em estufa à temperatura de 110°C por 24h e mantido em dessecador) na forma de pastilhas.

A distribuição de tamanho de partícula dos pós de hidroxiapatita foi analisada em um granulômetro, por difração a laser CILAS 920N.314, utilizando álcool isopropílico como dispersante. A densidade dos pós foi avaliada por picnometria de hélio em um equipamento Quantachrom, e a área superficial específica foi determinada pelo método BET, através do equipamento ASAP 2010 do Instituto de Química da Unesp de Araraquara.

A análise microestrutural dos pós, previamente metalizados com ouro, e a microanálise por espectroscopia de energia dispersiva foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio da marca SHIMADZU, modelo SS 550, acoplado a um EDS.

Para avaliação da estabilidade térmica e das transformações de fases dos pós sintetizados, foi realizada uma análise termogravimétrica em um termoanalisador NETZSCH STA 49C do LIEC do Instituto de Química de São Carlos, com taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de nitrogênio.

3.2.2 Caracterização dos corpos de prova

A microscopia óptica foi realizada em um microscópio OLYMPUS BX51 para verificar a homogeneidade superficial e a presença de trincas que poderiam influenciar os resultados dos ensaios mecânicos.

A microestrutura das amostras foi verificada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), pela análise da superfície de fratura dos corpos de prova submetidos ao ensaio de flexão em três pontos, em um microscópio SHIMADZU, modelo SS550. Para realização das fotomicrografias, os corpos fraturados foram inicialmente metalizados com ouro.

Para os compactos sinterizados, foram executados ensaios de flexão em três pontos em um equipamento SHIMADZU, modelo AG-I. O ensaio ocorreu com velocidade de 0,5 mm/min e distância entre os apoios de 12 mm, de acordo com as recomendações da norma ISO 6872.⁸² Esse ensaio teve o objetivo de verificar as variações na resistência mecânica decorrentes dos diferentes processamentos. A microdureza Vickers (Hv) dos compactos sinterizados foi determinada pelo método da indentação, com a utilização de um microdurômetro SHIMADZU. Foram realizadas cinco indentações em diferentes pontos da superfície da amostra, utilizando duas amostras cilíndricas de cada composição. A carga aplicada foi de 1,96 N mantida por 10s.

Medidas de densidade e porosidade aparente e densidade relativa dos corpos cerâmicos foram determinadas pelo método de Arquimedes, usando água como líquido de imersão. As equações utilizadas para os cálculos foram descritas no item 2.4.8. Realizaram-se também medidas de densidade geométrica, utilizando um paquímetro como instrumento para aferir as dimensões das peças. A retração linear ocorrida durante o tratamento térmico foi medida pela diferença de comprimento do corpo de prova antes e após a queima, sendo calculada pela equação 10.⁷¹

$$\Delta L = \frac{L_s - L_q}{L_s} \quad (\text{eq.10})$$

Onde: ΔL = retração; L_s = comprimento antes da queima; e L_q = comprimento após a queima. O objetivo dessas medidas foi verificar as mudanças, em termos de densificação, decorrentes da presença de gelatina, como também pelo tipo de processamento utilizado.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 ANÁLISE DOS PÓS

Para avaliar as características do material obtido pelos diferentes processamentos, fez-se necessário o conhecimento detalhado da composição química elementar, determinação e quantificação de fases presentes, distribuição de tamanho médio de partículas e análise microestrutural. Assim, após a síntese, os pós foram tratados termicamente e caracterizados por DRX, IV, fluorescência de raios X, TG, distribuição de tamanho de partícula, MEV, picnometria de hélio e BET. Os resultados estão apresentados na seqüência.

4.1.1 DRX

O perfil de difração característico da HAP é identificado em: 25,9°, 31,6°, 32,9° e 33,9° em 2θ , correspondentes, respectivamente, às reflexões dos planos (002), (211), (112) e (300), que pode ser observado nos difratogramas de raios X, apresentados nas figuras 8 a 11. Todos os picos referentes às amostras emparelharam perfeitamente com o padrão JCPDS 9-0432, sugerindo que estão associados à monofase de HAP, não havendo a formação de fases secundárias baseadas no sistema Ca-P, exceto para as amostras convencional (HAPCON1200), convencional liofilizada (HAPCONLIO1200) e hidroxiapatita gelatina (HAPGEL1200) após o tratamento térmico a 1200°C, nas quais se observou a formação de segunda fase, caracterizada como fosfato tricálcico (β -TCP).

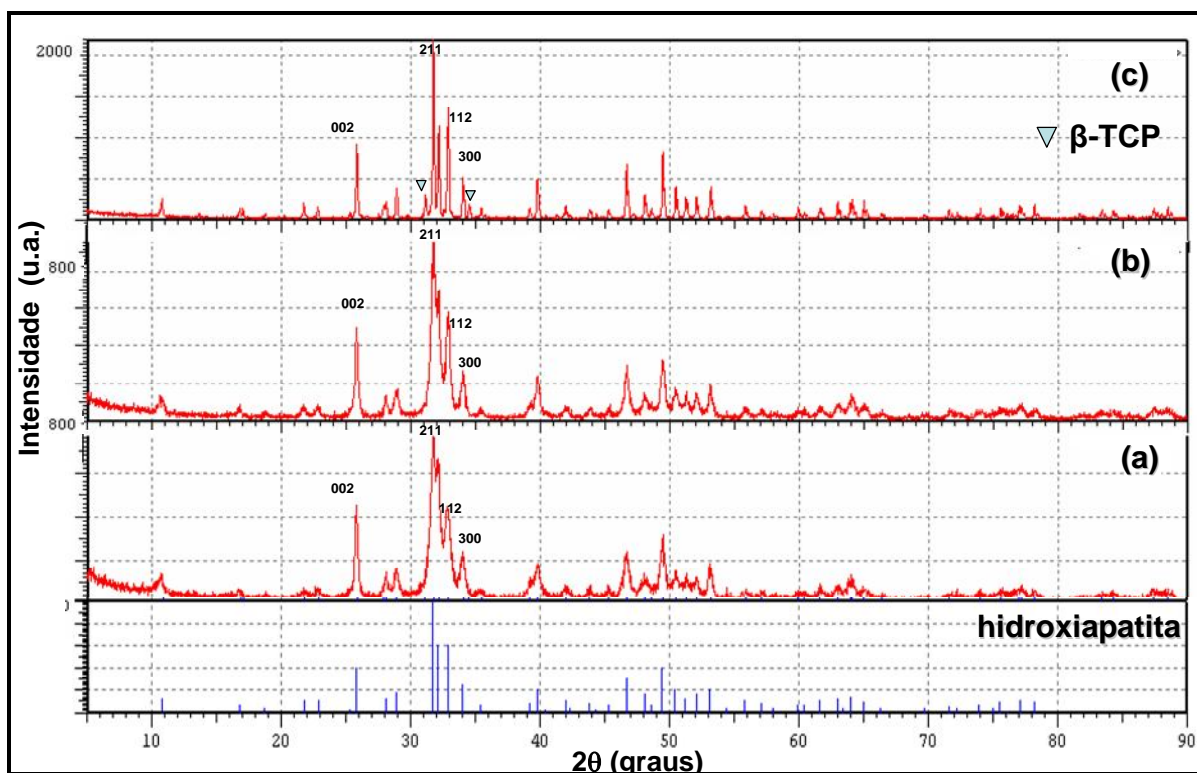


Figura 8 – Difratomogramas de Raios X das amostras (a) HAPCON, (b) HAPCON700 e (c) HAPCON1200 (varredura de 5 a 90° com passo de $2^\circ/\text{min}$).

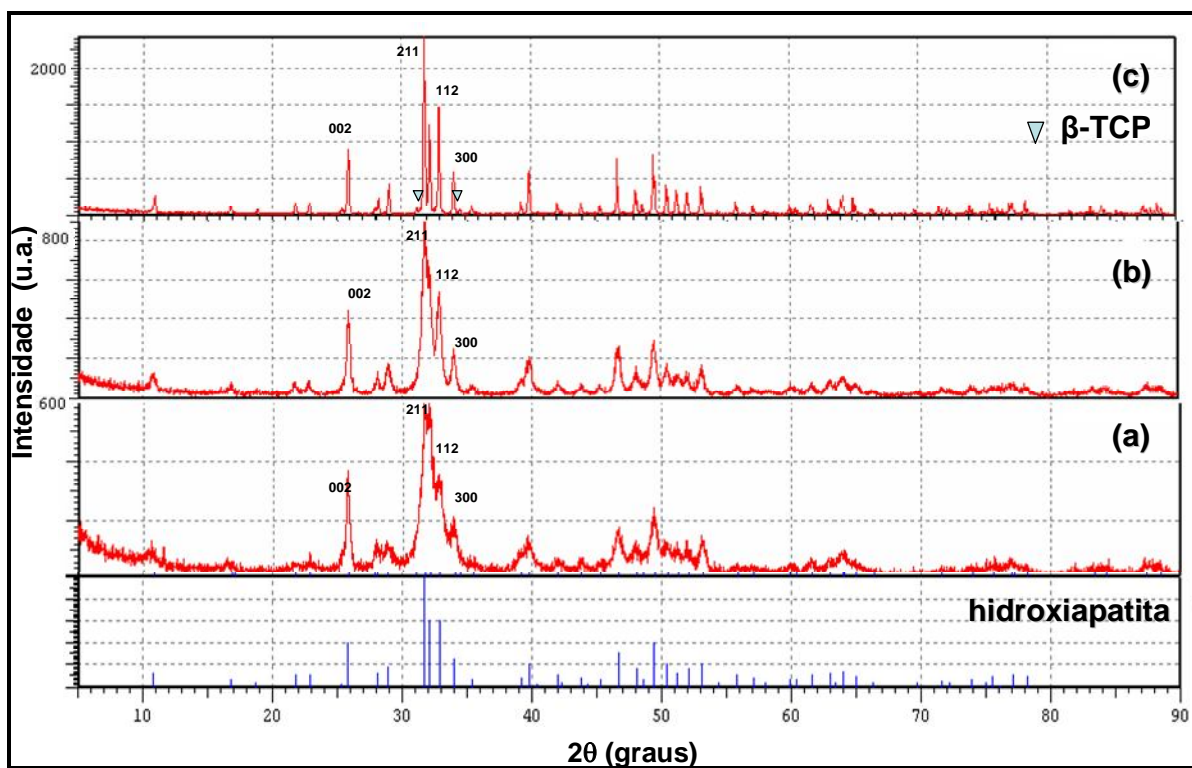


Figura 9 – Difratomogramas de Raios X das amostras (a) HAPCONLIO, (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200 (varredura de 5 a 90° com passo de $2^\circ/\text{min}$).

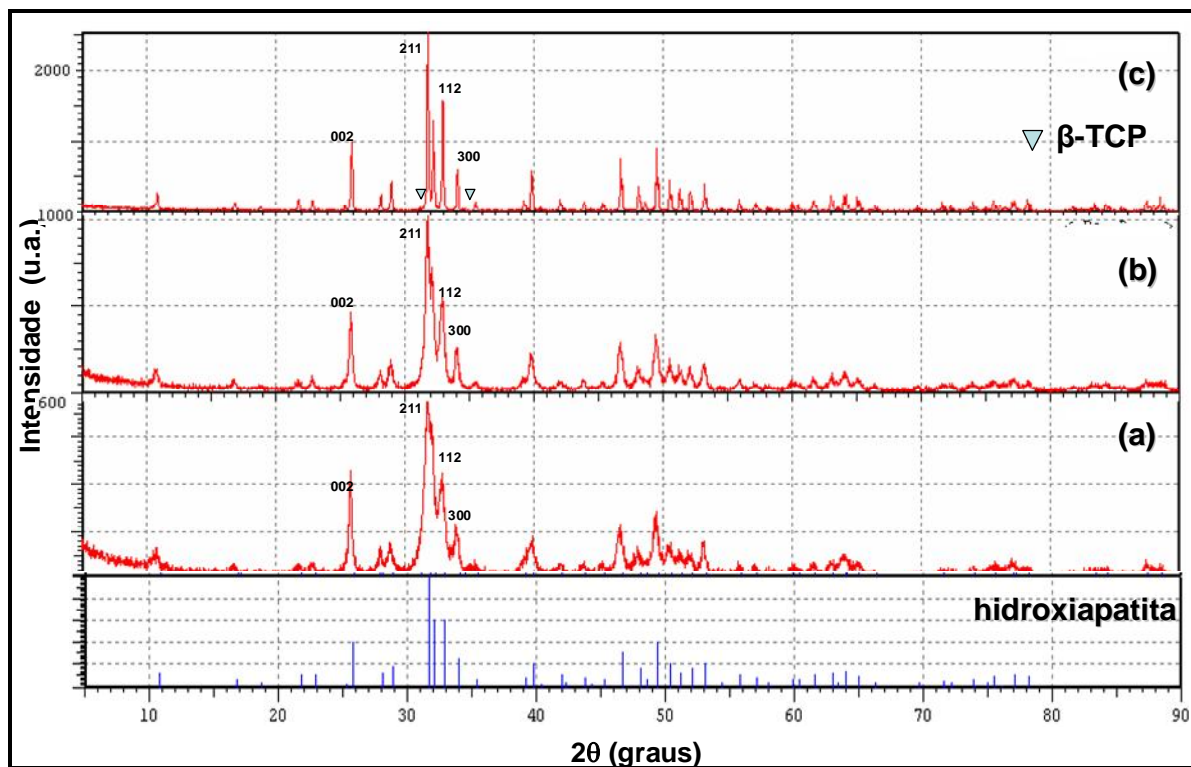


Figura 10 – Difratoogramas de Raios X das amostras (a) HAPGEL, (b) HAPGEL700 e (c) HAPGEL1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).

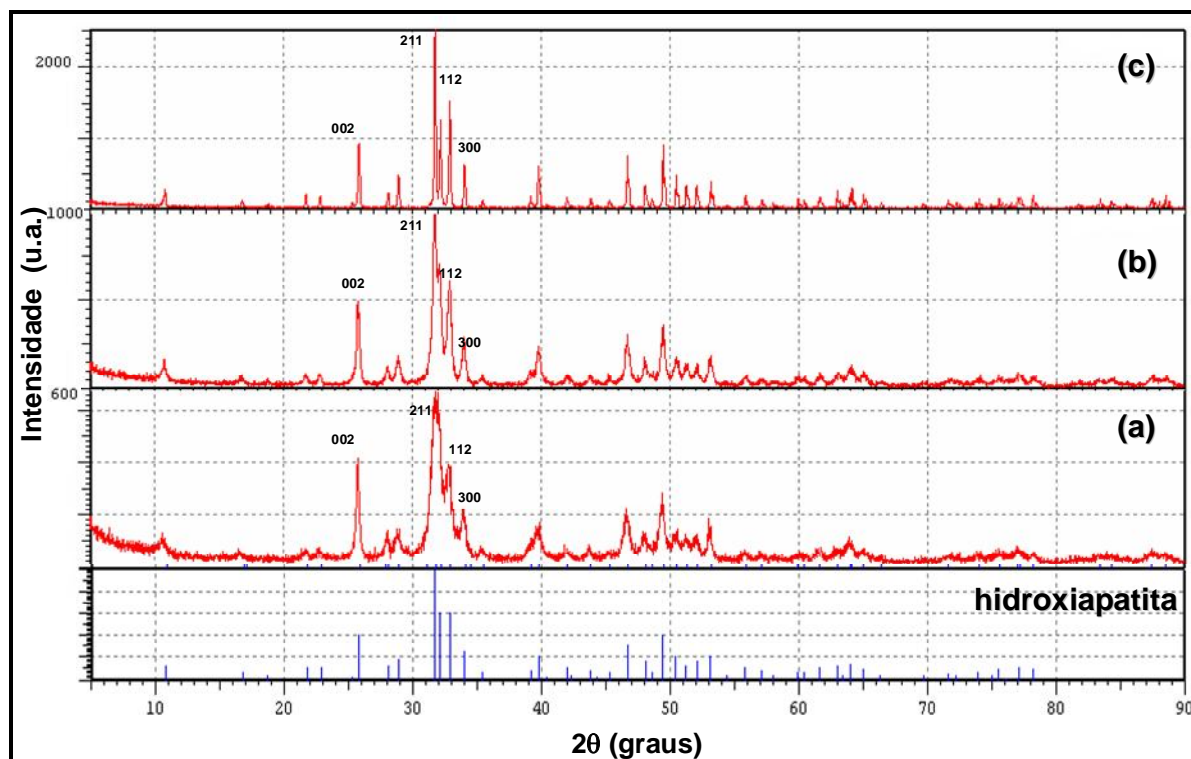


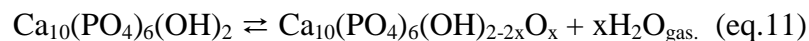
Figura 11 – Difratoogramas de Raios X das amostras (a) HAPGELLIO, (b) HAPGELLIO700 e (c) HAPGELLIO1200 (varredura de 5 a 90° com passo de 2°/min).

As amostras sem tratamento térmico apresentam os padrões característicos da HAP estequiométrica, mas com baixas resolução e intensidade. Esse comportamento pode ser observado, por exemplo, pelo alargamento dos picos associados aos planos (211) e (002). Após o tratamento térmico, especialmente a 1200°C, foram observados maior resolução e estreitamento dos picos. Dessa forma, evidencia-se que os pós sem tratamento térmico apresentavam baixa cristalinidade, e que esta aumentou após o tratamento térmico. Tal fato é confirmado pela obtenção de picos mais intensos e estreitos. Resultados semelhantes foram encontrados por Santos et al.¹³ e Feng et al.⁶¹, que, utilizando a mesma temperatura de calcinação, 700°C, verificaram um aumento na cristalinidade do pó. Mobasherpouri et al.⁸³ informaram que ocorre aumento na intensidade dos planos (211), (002), (301), (222) e (312) quando as amostras são tratadas termicamente de 450 a 900°C, ficando melhor resolvidos a 1200°C, aumentando assim a cristalinidade da amostra. Já Saeri et al.⁴¹ verificaram maior cristalinidade para o pó a 850°C do que a 1200°C.

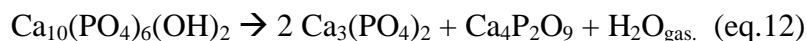
Nos difratogramas das amostras HAPCON1200, HAPCONLIO1200 e HAPGEL1200, sinterizados a 1200°C foram identificados picos característicos da fase β -TCP. O aparecimento dessa fase pode ser devido à decomposição da HAP. Ramesh et al.⁵⁷ registraram a estabilidade da HAP a temperaturas de sinterização de 1400°C em atmosfera oxidante, indicando, porém, que tal fato não estava de acordo com o encontrado por outros autores que informaram que a decomposição da HAP começou em aproximadamente 1300°C. Para Rosa, Shareef e van Noort⁶⁹, temperaturas maiores que 1250°C levaram a uma degradação com formação de outras fases de fosfatos de cálcio.

Em geral, a sinterização de HAP pode conduzir à decomposição térmica parcial em TCP e/ou CPPD. O processo ocorre em dois passos, desidroxilação e decomposição. O fenômeno de

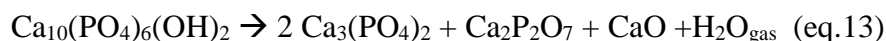
desidroxilação para oxihidroxiapatita ocorre em temperaturas entre 850-900°C pela reação reversível, apresentada pela equação abaixo.



A decomposição para TCP e CPPD ocorre em temperaturas superiores a 1000°C, de acordo com a reação ⁸⁴



Rodrigues-Lorenzo et al.⁴⁸ sugerem que a reação ocorrida seja



levando à formação de TCP, CPPD e CaO, indicando ainda que uma quantidade inferior a 3-5% de outras fases não pode ser detectada por DRX.

De acordo com essas equações, os processos de desidroxilação e decomposição levam à produção de vapor de água. As taxas nas quais essas reações ocorrem são dependentes da pressão parcial de H₂O na atmosfera do forno. Então, a formação de fase secundária durante sinterização poderia ser minimizada, com o controle da umidade na atmosfera de sinterização. Em condições adequadas de umidade, há uma tendência para reduzir a velocidade da reação de decomposição da HAP, evitando a saída do grupo OH de sua estrutura.⁴⁶

Para quantificar as fases presentes nas amostras a 1200°C, foi realizado um refinamento nos difratogramas de raios X pelo método de Rietveld, utilizando o programa GSAS.⁷⁶ As figuras 12-15 apresentam os gráficos de Rietveld com os perfis de difração experimental e calculado para as amostras.

A qualidade do refinamento pode ser verificada pelos indicadores de qualidade do refinamento, Rwp e S relacionados com o perfil do difratograma e o RF^2 , também chamado de R de Bragg (R_{Bragg}), que está associado à estrutura cristalina (tipos de átomos, posições e deslocamentos atômicos), ou, pela observação direta nos gráficos de Rietveld, através do exame da curva diferença, que indica a diferença entre os perfis observado e calculado.⁷⁵

O valor de S, “goodness-of-fit”, não é obtido diretamente no programa GSAS⁷⁶, podendo ser calculado a partir da equação 14. Re é o índice estatisticamente esperado para Rwp (índice ponderado da qualidade do refinamento em função dos pontos de perfil de difração de raios X). Analisando a equação 15, verifica-se que o mínimo valor possível de S é 1 (um), portanto quanto mais próximo de 1 estiver seu valor, melhor será o refinamento, significando que Rwp atingiu o limite que se pode esperar para aqueles dados de difração medidos.^{38,75,85}

$$S = \sqrt{\text{Chi}^2} \quad (\text{eq.14})$$

$$\text{Re} = \frac{Rwp}{\sqrt{\text{Chi}^2}} \quad (\text{eq.15})$$

onde: Chi^2 é o índice de ajuste ou qualidade do refinamento.

A tabela 9 traz os valores dos indicadores de qualidade dos refinamentos de Rietveld das amostras tratadas termicamente a 1200°C. De um modo geral, observa-se que os refinamentos

apresentaram boa qualidade, que também pode ser observada diretamente nos gráficos de Rietveld, através do exame da curva diferença. Os valores de RF^2 para as amostras HAPCONLIO1200 e HAPGEL1200 são mais elevados devido à dificuldade em se refinar a estrutura da fase secundária de β -TCP presente nestas em pequena quantidade.

Tabela 9 – Indicadores de qualidade dos refinamentos de Rietveld para as amostras sinterizadas a 1200°C.

Amostra	RF^2 %	Rwp%	Re	S
HAPCON1200	5,95	14,14	11,00	1,28
HAPCONLIO1200	8,04	14,71	11,07	1,33
HAPGEL1200	7,24	15,05	11,43	1,32
HAPGELLIO1200	5,15	15,40	11,30	1,36

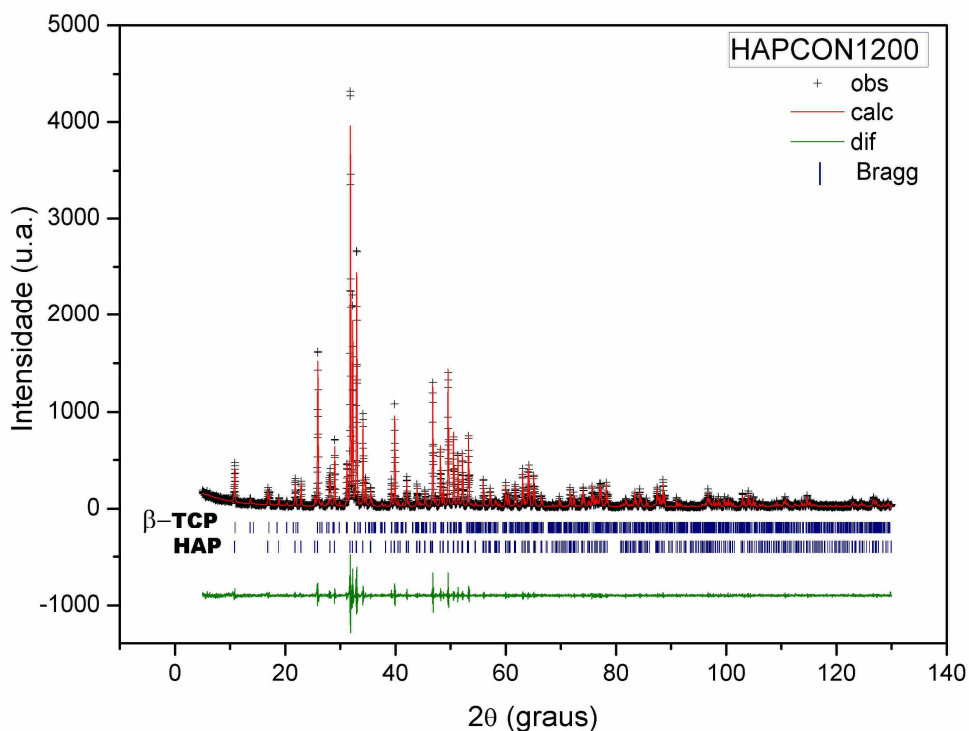


Figura 12 - Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPCON1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).

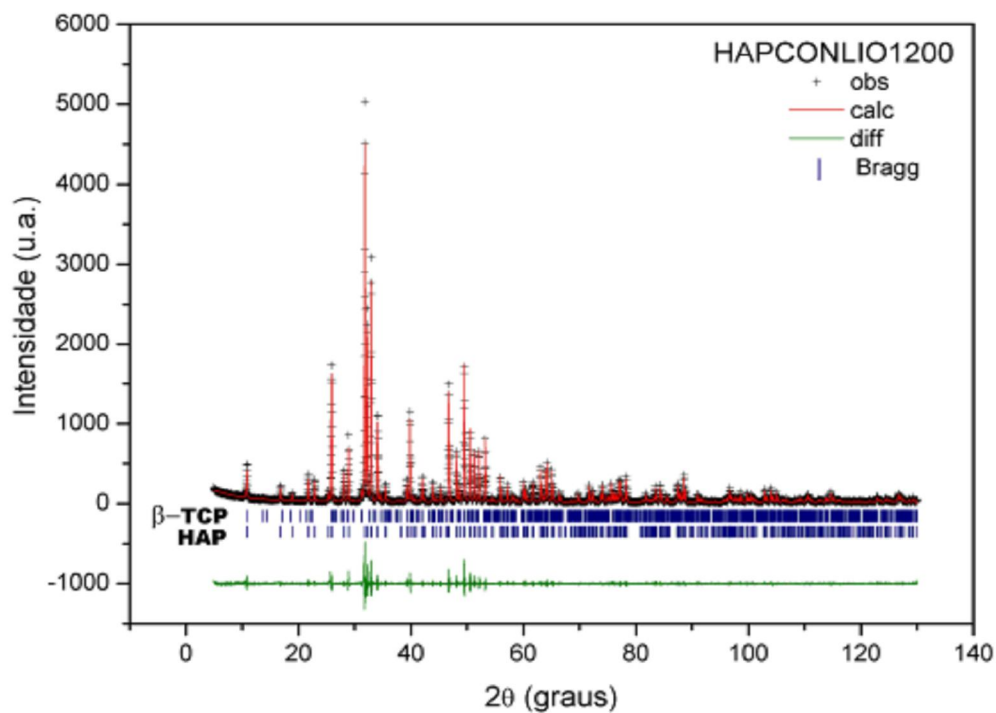


Figura 13 - Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPCONLIO1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).

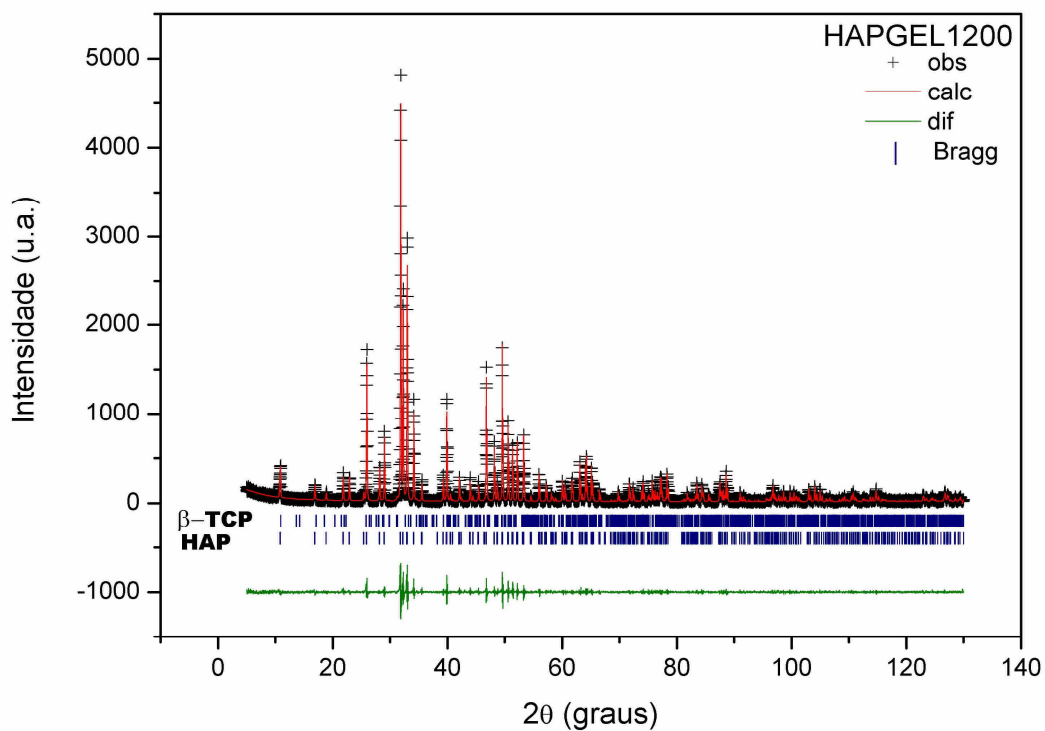


Figura 14 – Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPGEL1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).

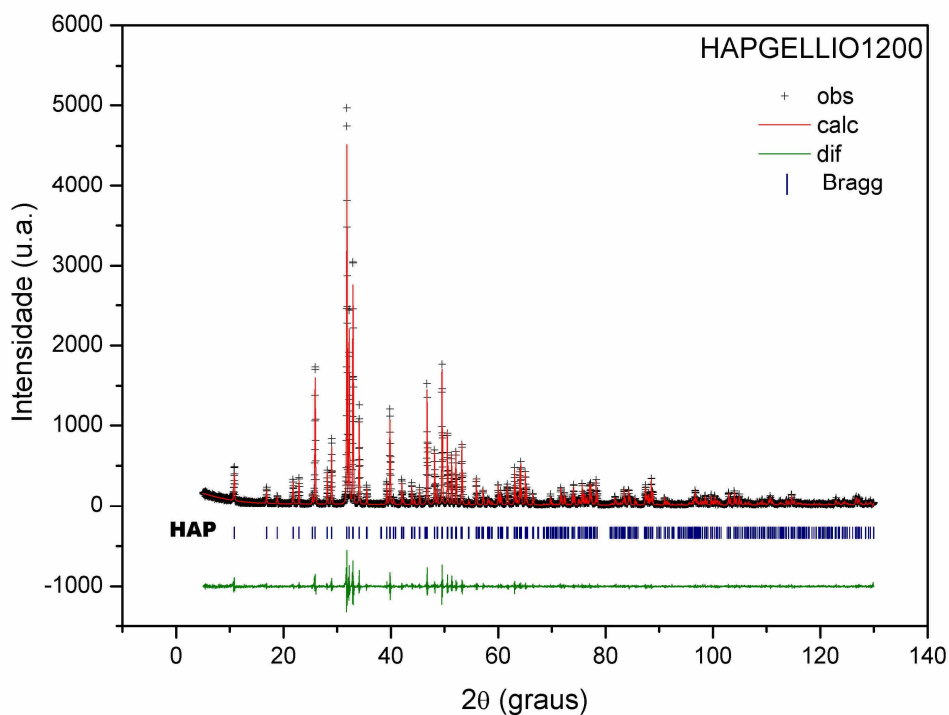


Figura 15 – Gráfico de Rietveld do refinamento realizado para a amostra HAPGELLIO1200 (varredura de 5 a 130° com passo de 0,02°/min).

Os resultados da análise quantitativa de fase, obtidos a partir dos refinamentos, são apresentados na tabela 10. Dentre as amostras analisadas, as que mais se aproximaram da monofase de hidroxiapatita, após o tratamento térmico a 1200°C, foram as sintetizadas em presença de gelatina. Essas amostras apresentaram teor mínimo de fase secundária ou apenas a fase majoritária de HAP, indicando, dessa forma, que a presença de gelatina durante a síntese pode trazer um efeito sinérgico ao biomaterial no tocante à decomposição térmica.

Tabela 10 - Análise quantitativa de fases das amostras com tratamento térmico a 1200°C

Amostra	Análise Quantitativa de fase (% em massa)
HAPCON1200	HAP=86% e β - TCP=14%
HAPCONLIO1200	HAP=95% e β - TCP= 5%
HAPGEL1200	HAP=98% e β - TCP=2%
HAPGELLIO1200	HAP= 100%

4.1.2 IV

Os espectros de IV dos pós de HAP obtidos e pós-tratamento térmico a 700 e 1200°C são apresentados nas figuras 16-19. As bandas observadas nesses espectros estão resumidas na tabela 11.

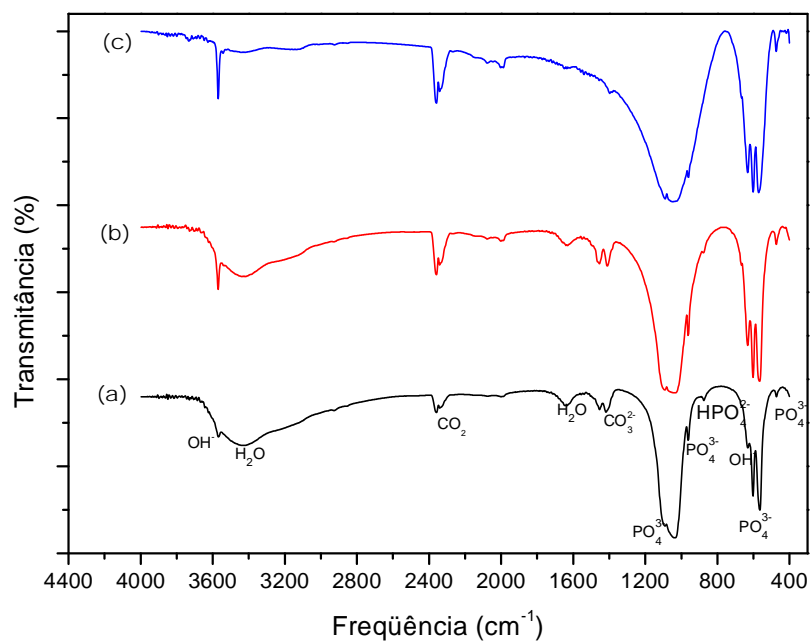


Figura 16- Espectros de IV das amostras (a) HAPCON, (b) HAPCON700 e (c) HAPCON1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.

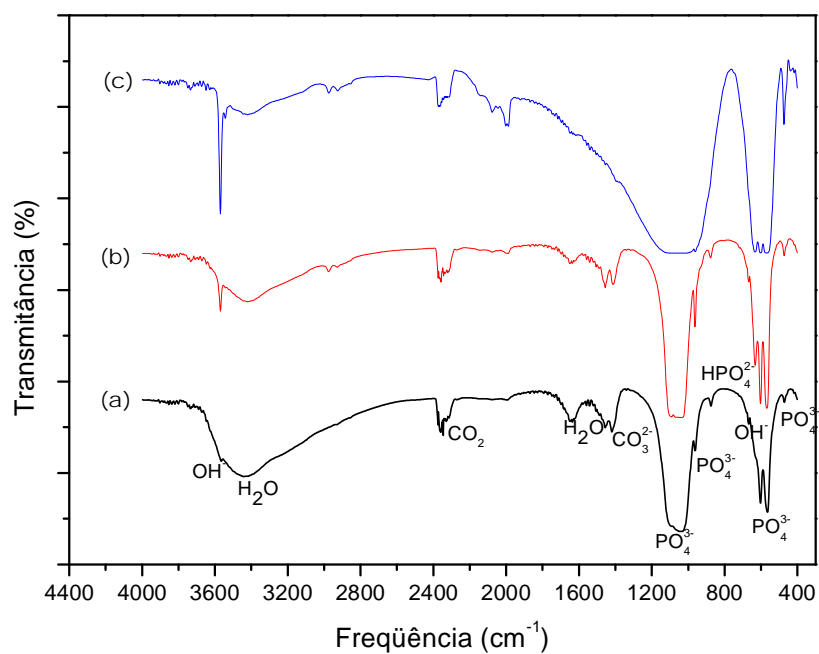


Figura 17- Espectros de IV das amostras (a) HAPCONLIO, (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.

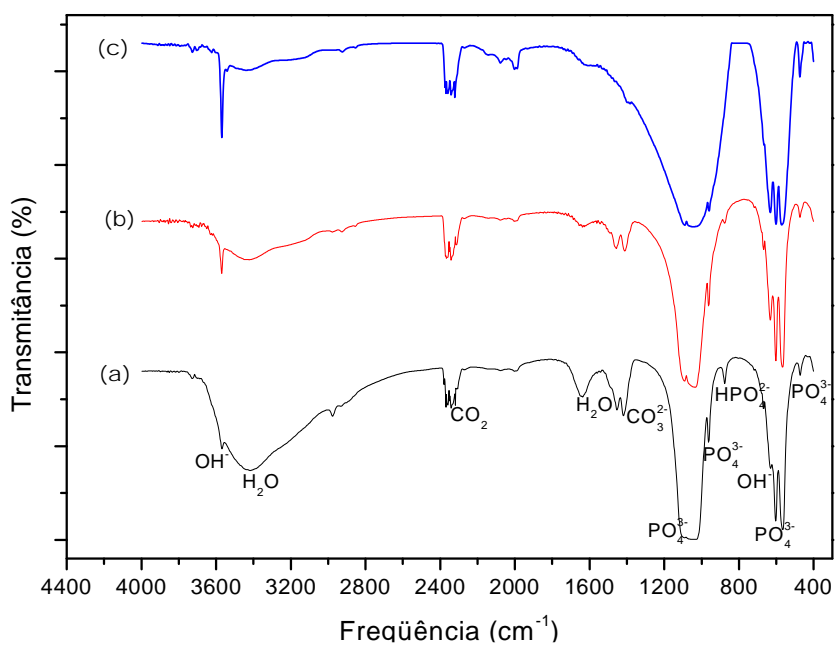


Figura 18- Espectros de IV das amostras (a) HAPGEL, (b) HAPGEL700 e (c) HAPGEL1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.

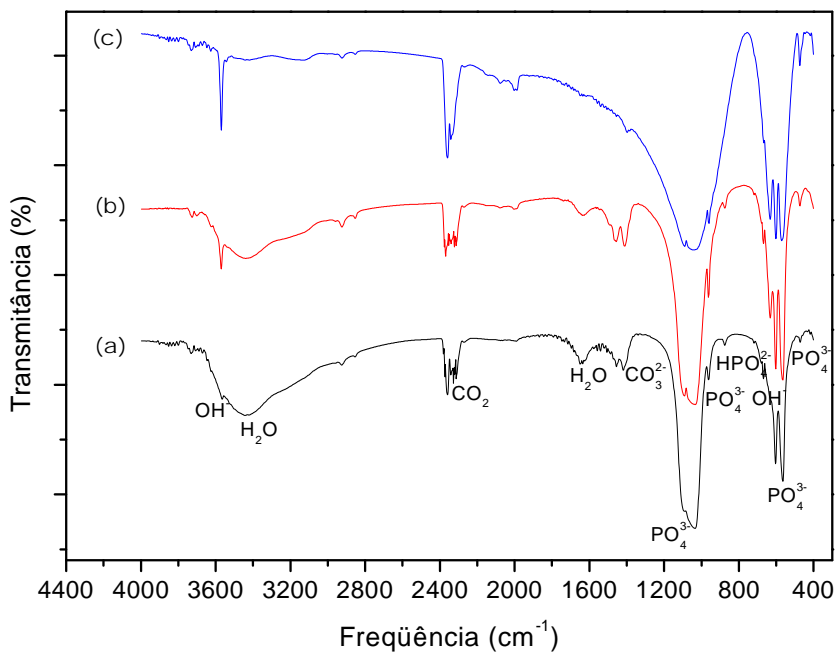


Figura 19- Espectros de IV das amostras (a) HAPGELLIO, (b)HAPGELLIO700 e (c) HAPGELLIO1200 preparadas na forma de pastilhas de KBr.

Tabela 11- Bandas de IV observadas nos pós de hidroxiapatita obtidos.

Grupo	HAP	HAP 700	HAP 1200	HLio	HLio 700	HLio 1200	HGel	HGel 700	HGel 1200	HGel Lio	HGel Lio 700	HGel Lio 1200
OH	v	3575	3580	3566	3566	3566	3575	3575	3566	3566	3570	3566
	δ	631	634	630	667	667	630	630	630	667	630	630
H ₂ O	v	3473	3442	--	3434	3424	3443	3434	3443	3434	3434	3434
	v	1639	1633	--	1638	1643	--	1648	1670	--	1648	1634
CO ₂	v	2358	2358	2358	2358	2358	2358	2358	2358	2358	2358	2349
	δ	2329	2349	2339	2339	2330	2330	2340	2330	2340	2340	2330
PO ₄ ³⁻	δ	1971	1986	1986	1980	1981	1991	1981	1971	1981	1970	1976
	v	1089	1093	1090	1094	1090	1090	1090	1086	1090	1090	1085
	v	1033	1043	1047	1038	1043	1050	1033	1033	1043	1033	1043
	δ	958	958	959	963	959	958	958	959	958	959	958
	δ	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602	602
	δ	565	569	569	564	569	569	564	569	569	564	569
	δ	470	470	470	470	470	470	466	470	475	470	470
CO ₃ ²⁻	v	1456	1460	--	1456	1456	--	1451	1456	--	1456	1460
	v	1417	1407	--	1413	1409	--	1418	1409	--	1418	1409
	v	874	874	--	874	874	--	874	874	--	874	879
HPO ₄ ²⁻	v	874	874	--	874	874	--	874	874	--	874	879

(v = estiramento e δ= deformação)

Bandas de estiramento de O-H em aproximadamente 3575cm^{-1} do grupo hidroxila da HAP e de P-O (de grupos PO_4^{3-}) a 1090 e 1033 cm^{-1} , bem como O-H de água absorvida nas regiões de 3400 e 1640 cm^{-1} são observadas. As intensidades destas últimas diminuem com o aumento da temperatura, que sugere perda desta molécula após o aquecimento. A presença de bandas de deformação P-O (de grupo PO_4^{3-}) a 1971 , 602 , 565 e 471 cm^{-1} e de O-H (do grupo OH, da hidroxiapatita) a 631 cm^{-1} também estão presentes nesses espectros.^{36,86}

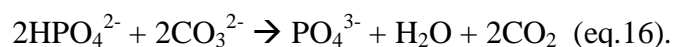
As bandas em 2358 e 2329 cm^{-1} , identificadas em todas as amostras, podem ser atribuídas ao CO_2 absorvido da atmosfera durante a realização da análise; já o dubleto observado em 1456 - 1417 cm^{-1} e a banda em 874 cm^{-1} , identificados nas amostras sem tratamento térmico e nas amostras tratadas termicamente a 700°C , são típicas do grupo CO_3^{2-} , característicos da hidroxiapatita carbonatada.^{12,13,37}

A explicação para o aparecimento dessa banda reside no fato de que o CO_2 presente na atmosfera pode ser absorvido pelas soluções durante a síntese na forma de íons CO_3^{2-} , podendo ser incorporado na estrutura da hidroxiapatita, em substituição aos íons PO_4^{3-} ou aos íons OH do retículo cristalino. A quantidade de CO_3^{2-} incorporado na apatita é dependente da concentração desse íon na solução. De acordo com a literatura, a quantidade máxima é de 22% (em massa) e maiores concentrações podem levar à formação da calcita, não observada nos difratogramas de raios X das amostras deste trabalho.³⁶

Existem dois tipos de apatitas carbonatadas, de acordo com o tipo de substituição do grupo CO_3^{2-} : tipo A, quando substitui o sítio dos íons OH, e tipo B, quando substitui os íons PO_4^{3-} . Pode-se utilizar os espectros de infravermelho para identificar o tipo de substituição do íon carbonato, uma vez que, para a apatita carbonatada tipo A, aparece um dubleto em 1528 e 1465 cm^{-1} e, para a do tipo B, em 1455 e 1413 cm^{-1} . Portanto, como o dubleto observado para as amostras sem tratamento térmico e para aquelas tratadas a 700°C aparece na faixa característica

da apatita carbonatada do tipo B, indica que para estas amostras o íon carbonato está substituindo o íon fosfato na estrutura da HAP.^{14,29,36,66}

Os espectros de infravermelho dos pós, após tratamento térmico a 1200°C, mostram ausência de picos correspondentes ao íon carbonato, confirmando que este íon sofre decomposição em altas temperaturas, como representado pela seguinte equação:⁸⁷

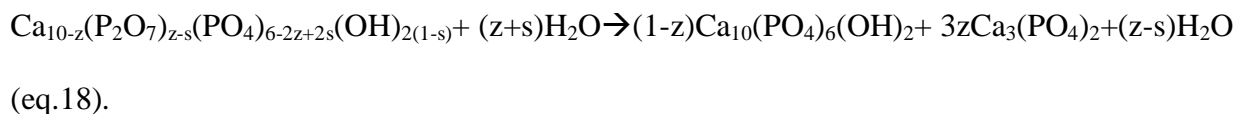
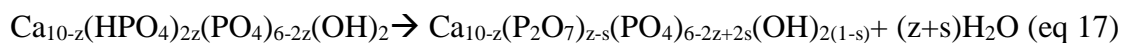


Apesar das evidências da formação de apatita carbonatada, a sua formação não foi confirmada nos difratogramas de raios X. Outros autores também observaram que, apesar dos difratogramas apresentarem apenas picos associados ao padrão de difração da fase hidroxiapatita nos espectros de infravermelho, foram identificadas bandas que representavam vibrações moleculares do grupo CO_3^{2-} , indicando sua provável presença na fase obtida, devido a processos de substituição iônica. A não detecção da fase apatita carbonatada na difração de raios X pode estar relacionada ao limite de detecção da técnica e à maior sensibilidade da técnica de espectroscopia no infravermelho.^{66,88,89}

Por outro lado, alguns autores atribuem a banda em 874 cm^{-1} à vibração de estiramento simétrico de P-O(H) do grupo HPO_4^{2-} . A formação desse grupo pode ocorrer quando há gotejamento lento da solução de H_3PO_4 na suspensão de Ca(OH)_2 evitando uma diminuição excessiva do valor do pH, como ocorreu neste trabalho. Na realidade, o grupo HPO_4^{2-} pode entrar facilmente na estrutura da HAP na posição B, assim como o carbonato, dando origem a uma apatita deficiente em cálcio Ca-dHAP, $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$, e movendo a relação Ca/P na direção oposta comparada a apenas a substituição por CO_3^{2-} , como pode ser observado na

tabela 13. A neutralidade elétrica da Ca-dHAP pode ser assegurada com redução da carga do cátion pela criação de sítios vacantes de Ca^{2+} e de OH^- .^{36,44,86,87,90,91}

Raynaud, et al.⁹³, trabalhando com apatitas com diversas razões Ca/P, verificaram que os padrões de DRX dos pós com razão entre 1,5 e 1,667 apresentavam apenas picos característicos da estrutura da hidroxiapatita (PDF 9-432), como foi observado para as amostras sintetizadas neste trabalho. Além disso, o fato da banda em 874cm^{-1} associada ao grupo HPO_4^{2-} não aparecer nos espectros de infravermelho após o tratamento térmico a 1200°C pode ser explicado pelas equações 17 e 18, segundo as quais ocorre a condensação do grupo hidrogenofosfato da Ca-dHAP no intervalo de temperatura de $350\text{-}720^\circ\text{C}$, seguida da decomposição da apatita em HAP estequiométrica e $\beta\text{-TCP}$, entre 700 e 900°C .⁸² Desta forma, baseando-se nos resultados observados, credita-se neste trabalho, a banda em 874 cm^{-1} a presença do íon HPO_4^{2-} .



Os espectros de infravermelho das amostras sintetizadas, sem tratamento térmico, com e sem gelatina são semelhantes, indicam que sua presença não provocou mudança nas faixas de absorção dos grupos funcionais. Também não foram detectadas, nos espectros das amostras sintetizadas em presença de gelatina, as presenças de bandas associadas exclusivamente à sua presença no biomaterial. Porém, alguns autores observaram nos espectros de IV de amostras de HAP sintetizadas em presença de gelatina o aparecimento de bandas em aproximadamente 1390cm^{-1} e 1660 cm^{-1} referentes respectivamente, às bandas dos grupos COO^- e amida da

gelatina. A não observação dessas bandas, porém, pode ser explicada devido à sobreposição das bandas da molécula da gelatina utilizada neste trabalho às da hidroxiapatita obtida, como pode ser observado na figura 20.^{17,64,66,92}

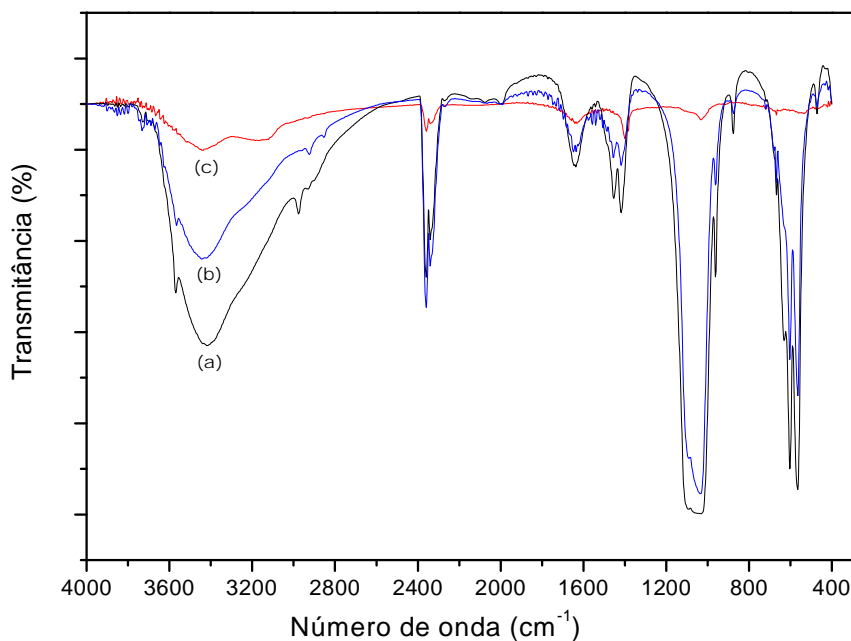


Figura 20- Espectros de IV das amostras de (a) HAPGEL, (b) HAPGELLIO e (c) pó de gelatina comercial utilizado sem tratamento térmico, preparadas na forma de pastilhas de KBr.

4.1.3 Análise Química – Fluorescência de Raios X

Apesar de se utilizar a hidroxiapatita em aplicações diversas, seu emprego mais destacado reside na fabricação de dispositivos biomédicos. Dessa forma, como preconiza a norma ASTM F-1185-88 (reaprovada em 1993)⁴⁵, o biomaterial deve apresentar baixos níveis de impurezas, conforme mencionado anteriormente na tabela 5. Nesse sentido, os resultados da análise química, por espectrometria de fluorescência de raios X, apresentados na tabela 12, não indicaram a

presença dos elementos As, Cd, Hg e Pb evidenciados na norma. Porém, foram detectadas as presenças de outros metais como Ti, Fe, Al e K, na forma de óxidos, todos em porcentagens menores que 0,1% e Mg (MgO), e Sr (SrO) em porcentagens em torno de 0,3%. Acredita-se que esses metais estivessem presentes como impurezas nos materiais de partida na síntese das amostras (Ca(OH)_2 - Vetec P.A. 95% e H_3PO_4 - Nuclear P.A. 85%).

Tabela 12- Resultados da análise quantitativa por fluorescência de Raios X.*

Amostra	SiO_2	Al_2O_3	Fe_2O_3	MgO	TiO_2	SrO	K_2O
HAPCON	<0,10	<0,10	<0,10	0,31	<0,10	0,29	<0,10.
HAPCON700	<0,10	<0,10	<0,10	0,31	<0,10	0,27	<0,10
HAPCONLIO	<0,10	<0,10	<0,10	0,31	<0,10	0,28	<0,10
HAPCONLIO700	<0,10	<0,10	<0,10	0,31	<0,10	0,27	<0,10
HAPGEL	<0,10	<0,10	<0,10	0,30	<0,10	0,29	<0,10
HAPGEL700	<0,10	<0,10	<0,10	0,30	<0,10	0,29	<0,10
HAPGELLIO	<0,10	<0,10	<0,10	0,31	<0,10	0,29	<0,10
HAPGELLIO700	<0,10	<0,10	<0,10	0,32	<0,10	0,27	<0,10

* Os resultados estão fornecidos em porcentagem de óxidos.

O aparecimento de fases diferentes da HAP pode surgir durante a precipitação e/ou do processo de sinterização. Pode-se avaliar o surgimento de outras fases estimando a razão molar Ca/P. Uma única fase, HAP, se a Ca/P for igual a 1,67; ou β -TCP se a Ca/P for igual a 1,5; ou mistura de fases, β -TCP + HAP, com Ca/P variando entre 1,67 e 1,5. Observa-se que para Ca/P maiores que 1,67 resultam a formação de HAP e CaO durante a sinterização.³⁶

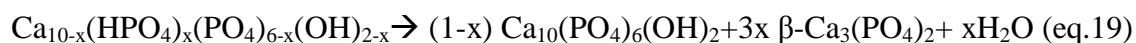
Desse modo, além de informar e quantificar os elementos existentes, a análise por fluorescência de raios X permite determinar a razão Ca/P. Os resultados apresentados na tabela 13 indicam que as amostras obtidas apresentaram razão molar Ca/P menor que o da hidroxiapatita estequiométrica. Segundo a literatura, quando a razão Ca/P é menor que 1,67, algumas características são observadas: a presença de bandas de absorção devido a grupos HPO_4^{2-} (874 cm^{-1}) no espectro de infravermelho e formação de β -TCP após 700°C , sendo que

razão molar β -TCP/HAP aumenta com o decréscimo da razão molar Ca/P na hidroxiapatita não sinterizada. Todos esses aspectos foram verificados neste trabalho.^{36,93}

Tabela 13 – Razão Ca/P dos pós de hidroxiapatita obtida pela análise de fluorescência de raios X

Amostra	HAPCON	HAPCON 700	HAPCON LIO	HAPCON LIO 700	HAPGEL	HAPGEL 700	HAPGEL LIO	HAPGEL LIO700
Ca/P	1,625	1,642	1,627	1,654	1,646	1,653	1,652	1,661

A formação de β -TCP a partir da apatita deficiente em cálcio é demonstrada na equação geral



onde x é a deficiência de cálcio e, assim, a razão molar Ca/P = $(10-x)/6$. A fração molar do β -TCP em relação à fração molar de HAP é dado por: $X_{\text{TCP}}/X_{\text{HAP}} = 3x/(1-x)$. Então a porcentagem de β -TCP pode ser calculada conhecendo a razão Ca/P dada pela análise química.⁴⁴

Segundo Raynaud et al, para Ca-dHAP, a razão molar Ca/P do pó relaciona-se com a proporção em massa de HAP/TCP como:

$$\% \text{ massa HAP} = 100 - \% \text{ massa } \beta\text{-TCP} \approx 600x \text{ Ca/P} - 900 \text{ (eq 20)}$$

Então, de acordo com os autores, uma pequena variação no valor Ca/P no pó sintetizado pode resultar numa grande variação nas proporções das fases formadas após tratamento térmico.^{93,94}

Assim, justifica-se o aparecimento da fase de β -TCP nas amostras de hidroxiapatita convencional, convencional liofilizada e hidroxiapatita gelatina após o tratamento térmico a

1200°C, caracterizadas pela presença de menores razões Ca/P. Na amostra de HAPGELLIO1200 não foi observada a formação de “ β - whitlockite”, pois a razão Ca/P do pó precursor está muito próxima da razão estequiométrica, como apresentado na tabela 13.

A tabela 14 apresenta o resultado da aplicação da equação 20 aos dados da tabela 13. As composições obtidas em cada síntese após a sinterização a 1200°C, são comparadas com os resultados da análise quantitativa de fases obtida através do refinamento dos difratogramas pelo método de Rietveld. Os resultados obtidos pelo refinamento pelo método de Rietveld concordam parcialmente com os resultados obtidos utilizando a relação de Raynaud et al.⁹³

Tabela 14– Composição química das fases das amostras sinterizadas.

Amostra	Ca/P pó precursor a 700°C	Composição (%) em massa do pó após sinterização*	Composição (%) em massa do pó após sinterização**
HAPCON700	1,642	85,2% HAP + 14,8% TCP	86% (HAP) + 14% TCP
HAPCONLIO700	1,654	92,4% HAP + 7,6% TCP	95% HAP + 5% TCP
HAPGEL700	1,653	91,8% HAP + 8,2% TCP	98% HAP + 2% TCP
HAPGELLIO700	1,661	96,6% HAP + 3,4% TCP	100% HAP

* valor calculado a partir da equação 14; ** valor encontrado através dos cálculos do refinamento dos difratogramas de raios X pelo método de Rietveld.

4.1.4 Análise Térmica

As análises foram realizadas até a temperatura de 1300°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N₂. Nas figuras 21 e 22 estão ilustradas as curvas de TG das amostras HAPCON e HAPGEL. A perda de massa total foi de 8,09% para a amostra de hidroxiapatita convencional e de 5,01% para a amostra sintetizada em presença de gelatina.

Para a amostra de HAPCON, a perda de massa mais significativa, em torno de 5,5%, ocorre até a temperatura de aproximadamente 400°C, que pode estar associada à perda parcial de

moléculas como H₂O e CO₂.⁸⁷ Como pode ser observado nas figuras 16-19, a perda completa dessas moléculas deve ocorrer em temperaturas superiores a 700°C, pois até essa temperatura ainda são observadas, nos espectros de infravermelho bandas características dos grupos H-O de água de cristalização adsorvida em aproximadamente 3400 e 1640 cm⁻¹ e de C-O de CO₃²⁻ em 1456-1417cm⁻¹. A figura 25 apresenta os espectros de EDS, esta análise também pode ser utilizada para evidenciar a eliminação parcial das moléculas CO₂ até a temperatura de calcinação, através da variação da razão das intensidades das bandas relativas aos átomos de O/C.

Após 400°C, a massa permanece praticamente constante, voltando a diminuir na faixa de 800-1000°C, possivelmente relacionada às reações de decomposição da hidroxiapatita deficiente em cálcio, como descrito pela equação 19, podendo levar à formação de HAP estequiométrica e TCP e à eliminação completa das moléculas de CO₂, o que está de acordo com o verificado por Landi et al.⁸⁷ A partir da temperatura de 1000°C, a contínua perda de massa pode estar associada à desidroxilação e/ou decomposição da hidroxiapatita, como demonstrado nas equações 11 e 12.^{48,84} Mostafa⁴⁴ verificou que a amostra de Ca-dHAP tende a se transformar em β-TCP em torno de 900°C e, que, as amostras de HAP estequiométrica eram estáveis nessa temperatura. Raynaud et al.⁹³, analisando uma isoterma a 1200°C em atmosfera de nitrogênio para uma amostra de HAP estequiométrica, verificaram que ocorre desidroxilação parcial, porém, sem decomposição da fase de HAP.

Para a amostra de HAPGEL, também, a perda de massa até aproximadamente 450°C é a mais efetiva. Nesse caso, porém, além das perdas parciais de moléculas de H₂O e CO₂, deve-se considerar a decomposição térmica da matéria orgânica incorporada nas partículas de HAP.⁶⁶ A amostra HAPGEL apresentou uma menor perda de massa em relação à amostra de HAPCON. Tal fato pode estar relacionado a menor decomposição sofrida pela amostra sintetizada em presença

de gelatina, após 1000°C, como mostram os resultados da análise quantitativa de fases (tabela 10), obtidos pelo refinamento dos difratogramas de raios X pelo método de Rietveld.

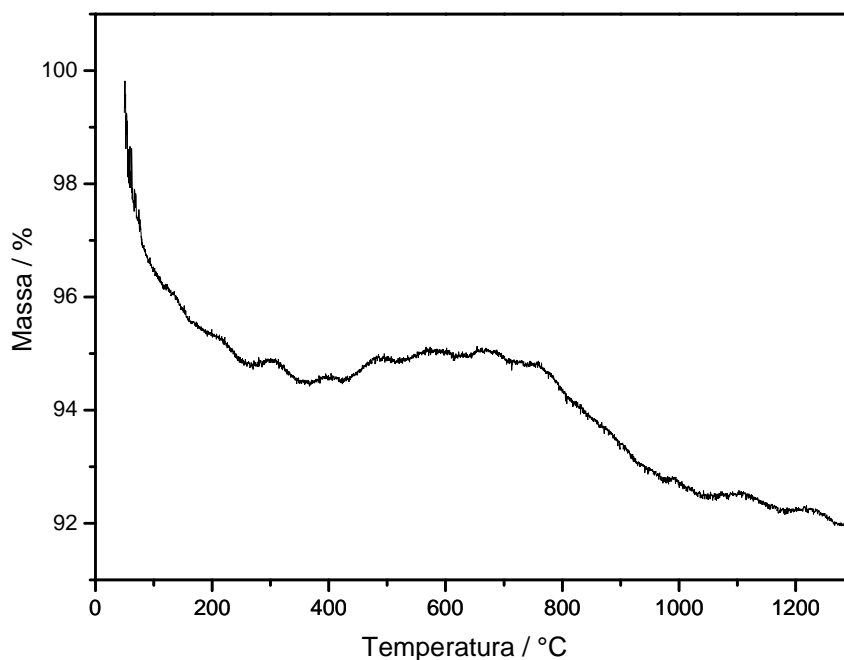


Figura 21– Curva de TG para a amostra HAPCON (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N₂).

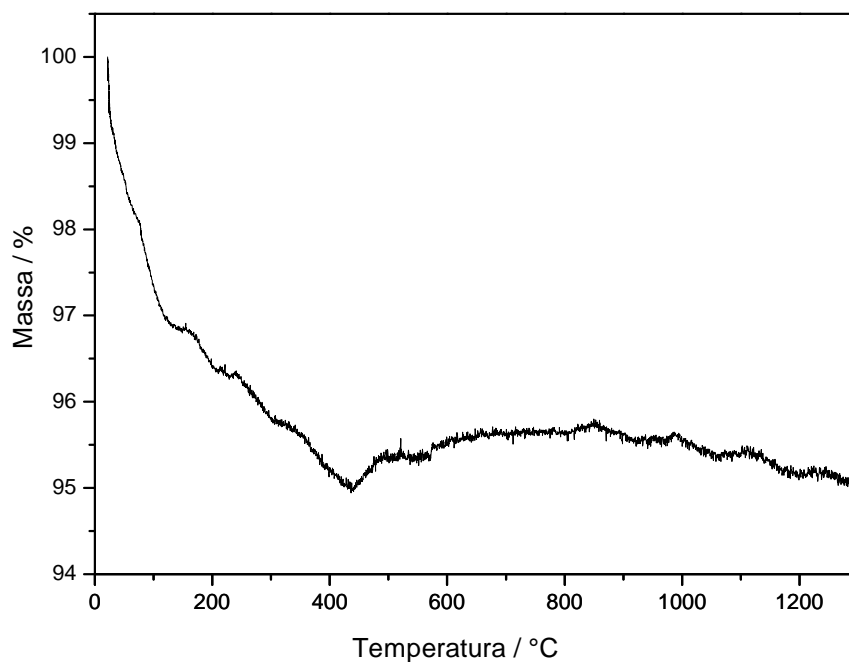


Figura 22– Curva de TG para a amostra HAPGEL (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N₂).

As figuras 23 e 24 apresentam as curvas de TG para as amostras HAPCONLIO e HAPGELLIO. Os resultados obtidos indicam que ocorre uma gradativa perda de massa no intervalo de temperatura analisado, não ocorrendo diferenças significativas no comportamento térmico das amostras. O total dessa perda foi de 9,43% para a amostra de HAPCONLIO e de 10,66% para a amostra HAPGELLIO. A pequena diferença na perda de massa observada entre as duas amostras pode estar associada ao processo de decomposição da matéria orgânica oriunda das moléculas de gelatina que estavam incorporadas à estrutura da hidroxiapatita na amostra HAPGELLIO.

Ao se comparar as amostras no que se refere ao processo de secagem, observa-se que aquelas que passaram pelo processo de liofilização apresentaram maior perda de massa ao longo do programa de aquecimento da análise termogravimétrica. Como a diferença é mais evidente nos primeiros estágios do aquecimento, próximo de 400°C, faixa de temperatura em que se espera ocorrer a eliminação de água, pode-se sugerir que o processo de secagem mais efetivo no que se refere à eliminação dessas moléculas foi o processo de secagem em estufa, indicando que o tempo de liofilização poderia ter se estendido, para garantir uma maior eliminação das moléculas de água.

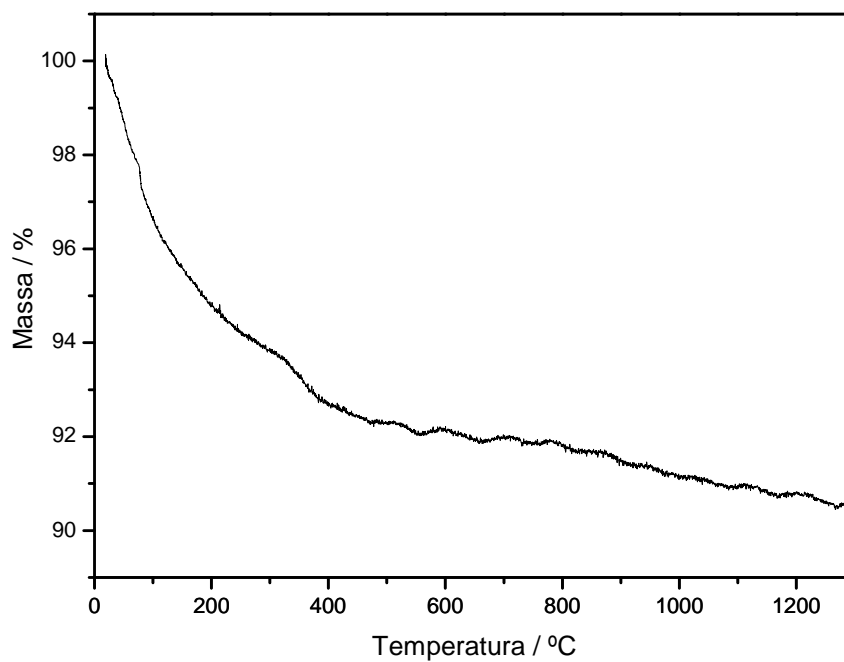


Figura 23- Curva de TG para a amostra HAPCONLIO (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N₂).

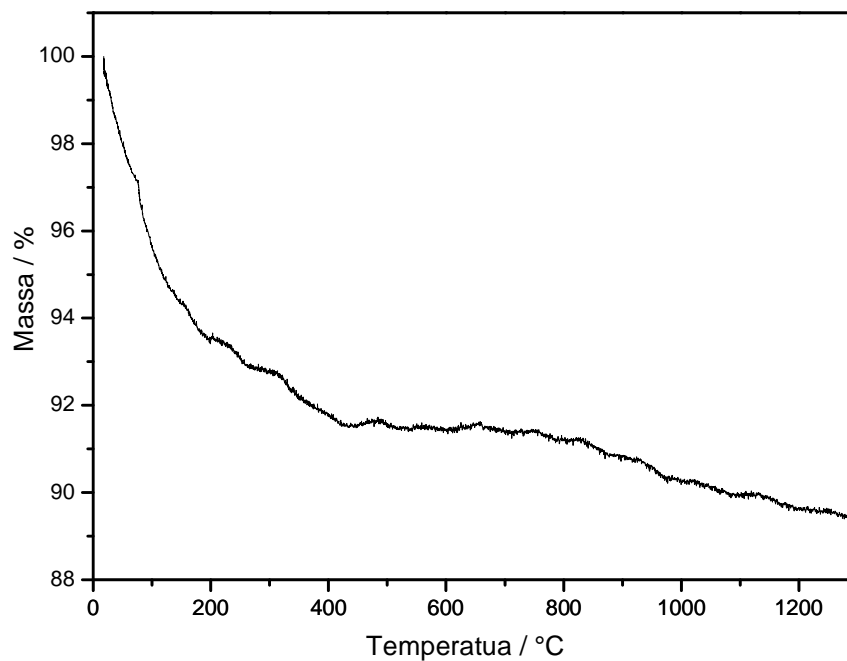


Figura 24- Curva de TG para a amostra de HAPGELLIO (taxa de aquecimento de 10°C/min em atmosfera de N₂).

4.1.5 Análise Química - EDS

Pode-se utilizar a análise de EDS como técnica complementar para evidenciar a eliminação parcial do grupo carbonato após o tratamento térmico a 700°C. Os resultados, apresentados nas figuras 25a-d, indicam um aumento na relação das intensidades das bandas de O/C após a calcinação. Segundo Landi et al.⁸⁷ quanto menor a razão das intensidades O/C maior a quantidade de apatita carbonatada tipo B. Portanto, se a razão das intensidades O/C está aumentando, pode indicar a decomposição do grupo CO_3^{2-} , que estaria sendo eliminado na forma de CO_2 , como demonstrado na equação 16.

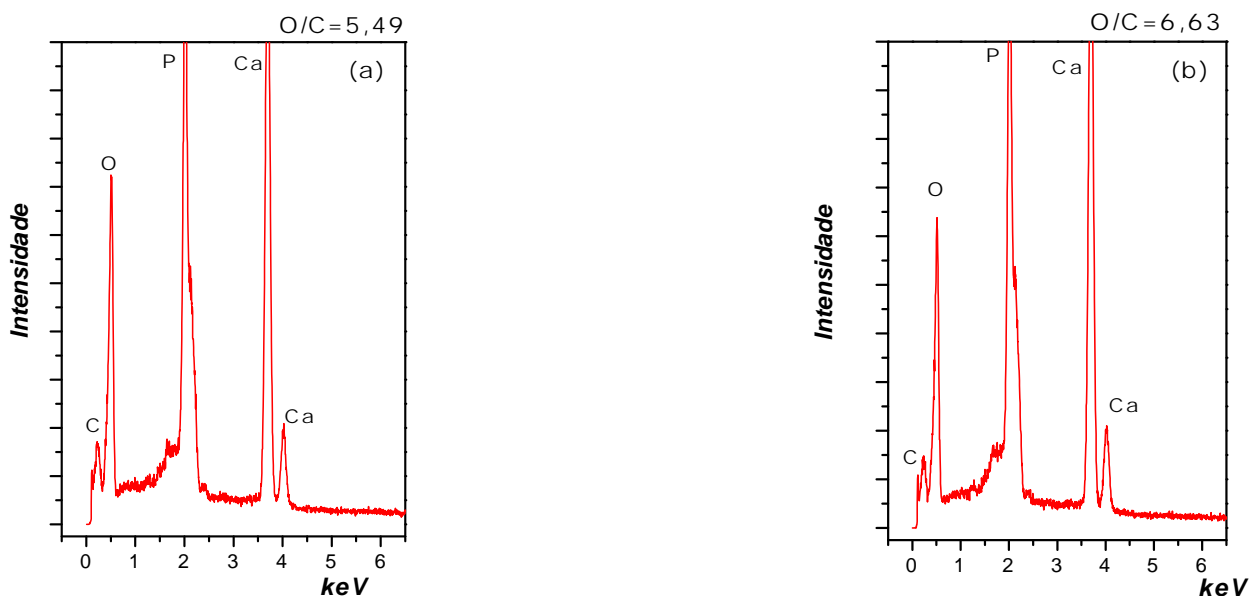


Figura 25a- Espectro de EDS das amostras (a) HAPCON e (b) HAPCON700.

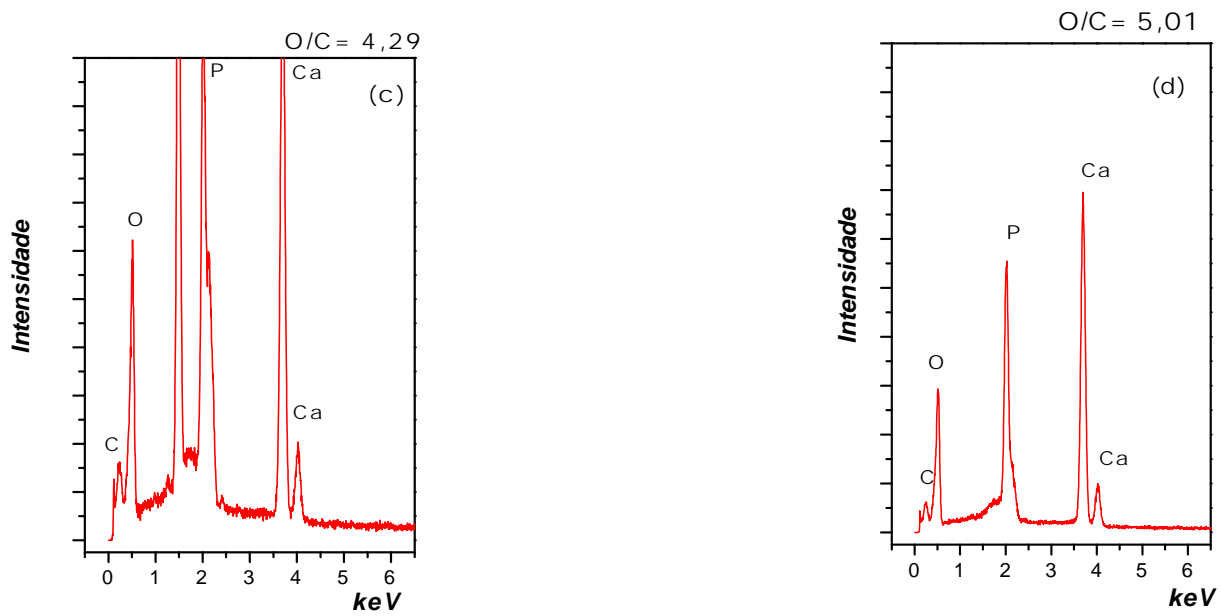


Figura 25b- Espectro de EDS das amostras (c) HAPCONLIO e (d) HAPCONLIO700

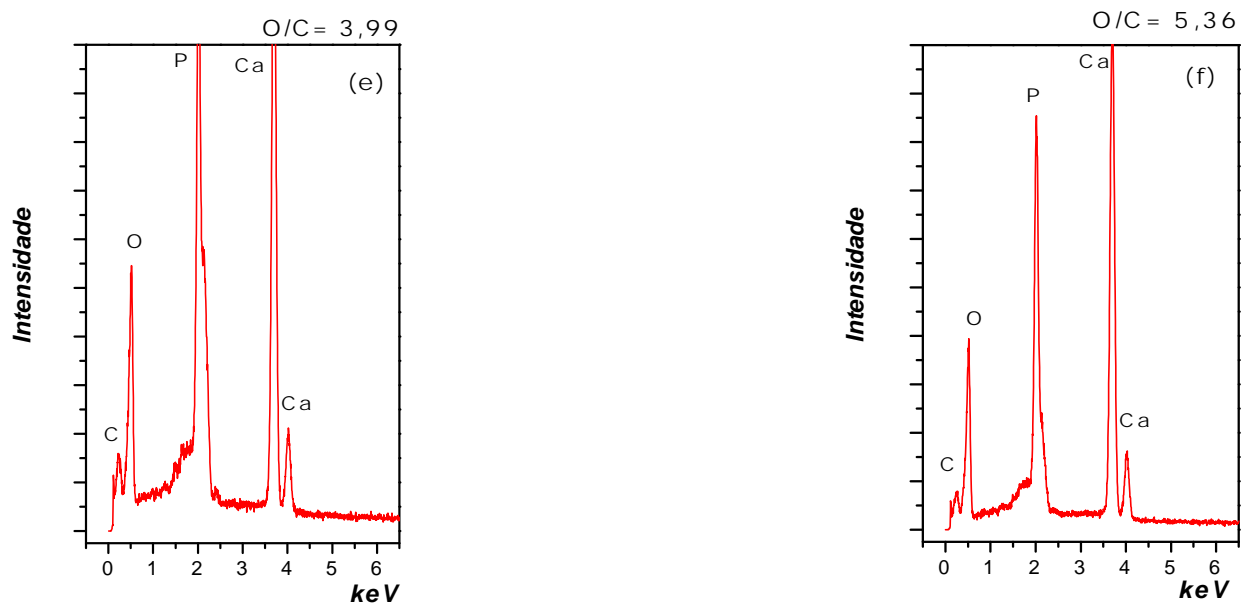


Figura 25c- Espectro de EDS das amostras (e) HAPGEL e (f) HAPGEL700

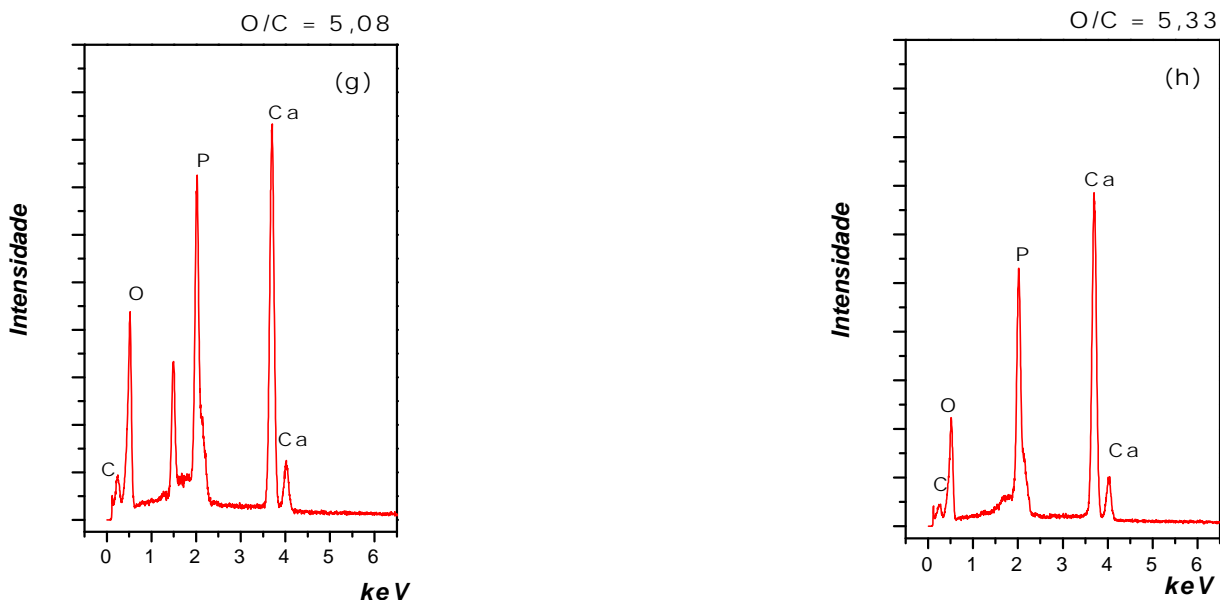


Figura 25d- Espectro de EDS das amostras (g) HAPGELLIO e (h) HAPGEL700.

4.1.6 Área Superficial Específica – BET

As diferenças no processamento para a obtenção de hidroxiapatita na forma de material particulado podem ser também verificadas pela variação nos valores da área superficial específica determinados pelo método BET. Os resultados obtidos foram: HAPCON $55,68 \pm 0,07 \text{ m}^2/\text{g}$, HAPGEL $71,56 \pm 0,10 \text{ m}^2/\text{g}$, HAPCONLIO $83,04 \pm 0,11 \text{ m}^2/\text{g}$ e HAPGELLIO $72,72 \pm 0,08 \text{ m}^2/\text{g}$. Verifica-se que a presença de gelatina e, mais acentuadamente o processo de secagem por liofilização, levaram à obtenção de pós de HAP com maior área superficial específica. O resultado obtido para a amostra HAPCON é semelhante ao determinado por Saeri et al.⁴¹ ($54,5 \text{ m}^2/\text{g}$) que também sintetizaram a hidroxiapatita utilizando método de precipitação, através da reação entre $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e H_3PO_4 na temperatura de 40°C e posterior secagem em estufa, porém a 80°C .

De acordo com a literatura, deve-se esperar que partículas muito pequenas e que possuem uma grande área superficial venham a formar maiores aglomerados, na tentativa de diminuir sua energia superficial. Portanto, deve-se esperar que a amostra de HAPCONLIO, que apresenta uma elevada área superficial específica, tenha maior tendência em formar aglomerados em comparação às amostras HAPCON e HAPGEL, que sofreram secagem convencional em estufa, o que pode ser comprovado pelas fotomicrografias apresentadas na figura 35. ^{44,95}

4.1.7 Análise de distribuição de tamanho de partícula

A distribuição de tamanho de partícula das amostras foi determinada por difração a laser. Esse método avalia somente os aglomerados ou partículas agregadas em suspensão no solvente, as figuras 26-33 e a tabela 15 mostram os resultados obtidos. A presença de duas faixas de tamanho de partículas foi observada em todas as amostras. Possivelmente é decorrente de um processo de agregação primário, na faixa de tamanho submicrométrico, pois tais aglomerados continuam a se agregar por formação de ligações interpartículas até alcançar uma faixa de tamanho maior, o que explica a formação do segundo pico (distribuição bimodal).⁴⁴ Em geral, a formação dos aglomerados de partículas de HAP pode ser explicada pelo mecanismo de nucleação-agregação-aglomeração-crescimento, proposto por Rodriguez et al.⁹⁶ Segundo estes a formação de partículas se dá pelos seguintes passos: nucleação e crescimento para formar cristalitos de tamanho nanométrico, agregação dos nanocristais elementares por atrações físicas e crescimento cristalino adicional com formação de aglomerados secundários na faixa de tamanho micrométrico. Para Gomes-Morales, citado por Mostafa⁴⁴, os processos de agregação são dirigidos por diferentes forças; na escala nanométrica/coloidal, a minimização da energia livre

superficial pode ser responsável pela agregação, enquanto a carga elétrica superficial dirige a agregação na escala micrométrica.

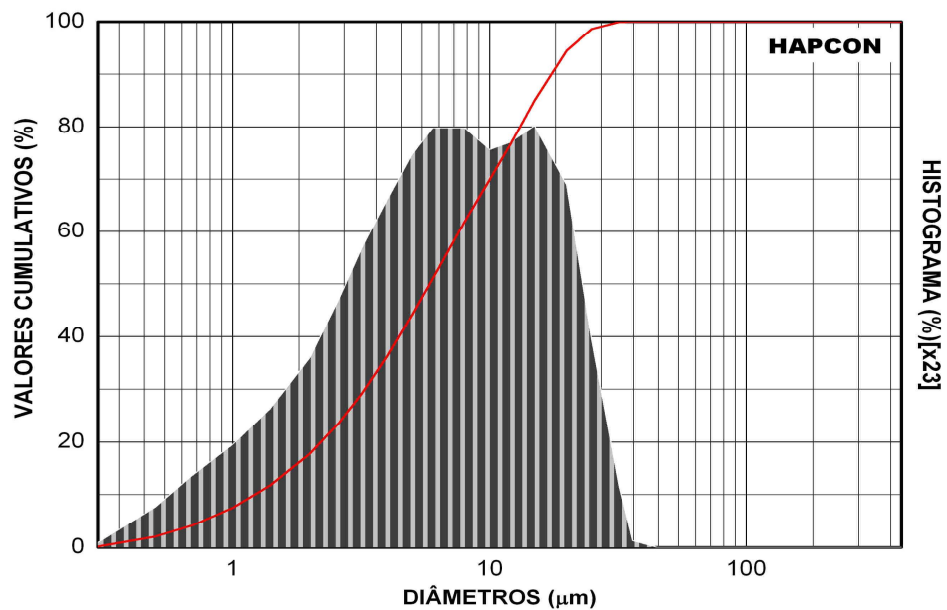


Figura 26- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCON.

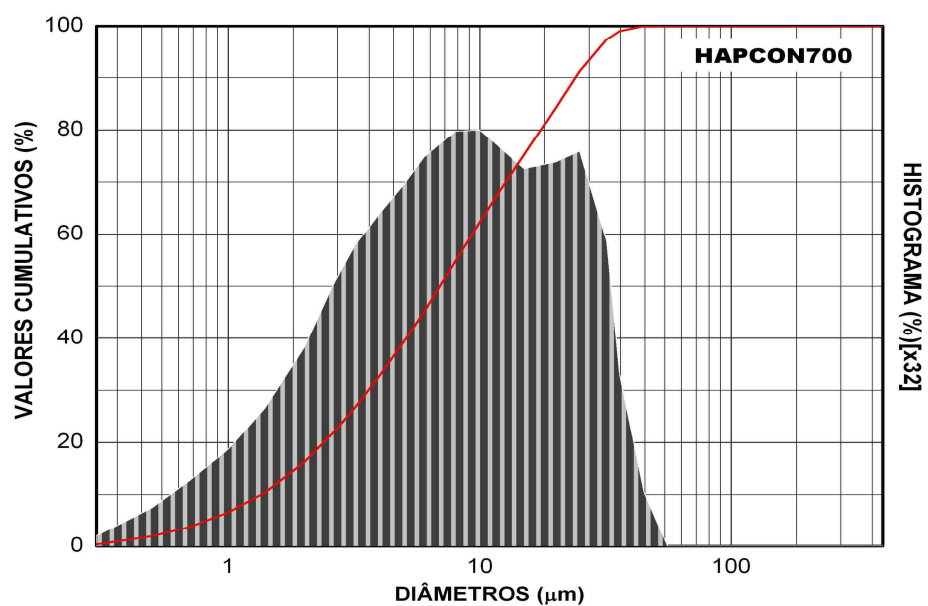


Figura 27- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCON700.

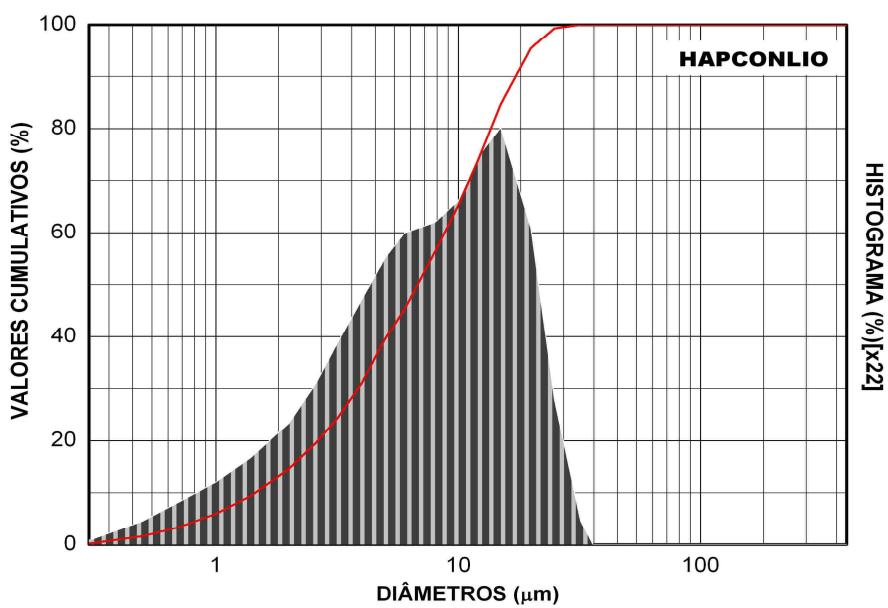


Figura 28- Distribuição de tamanho de partícula da amostra HAPCONLIO.

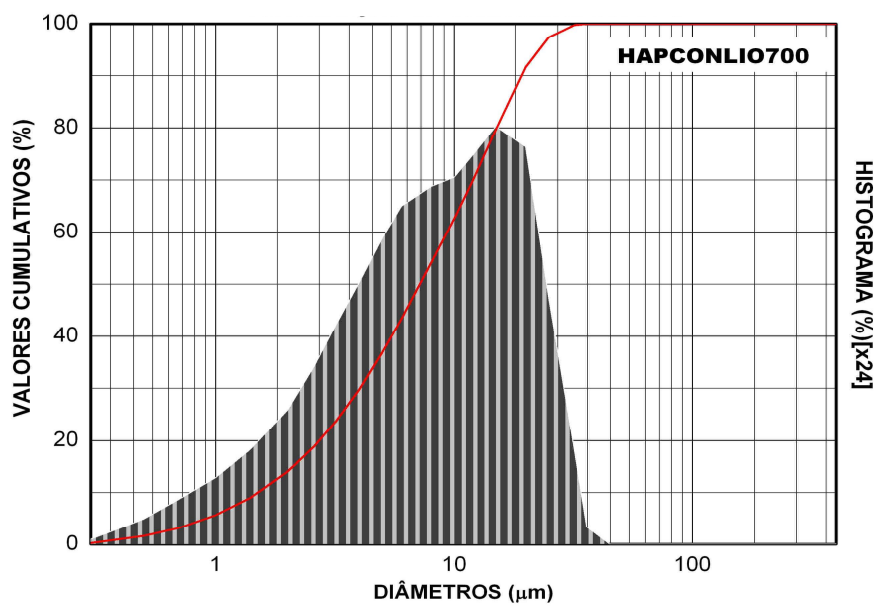


Figura 29- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPCONLIO700.

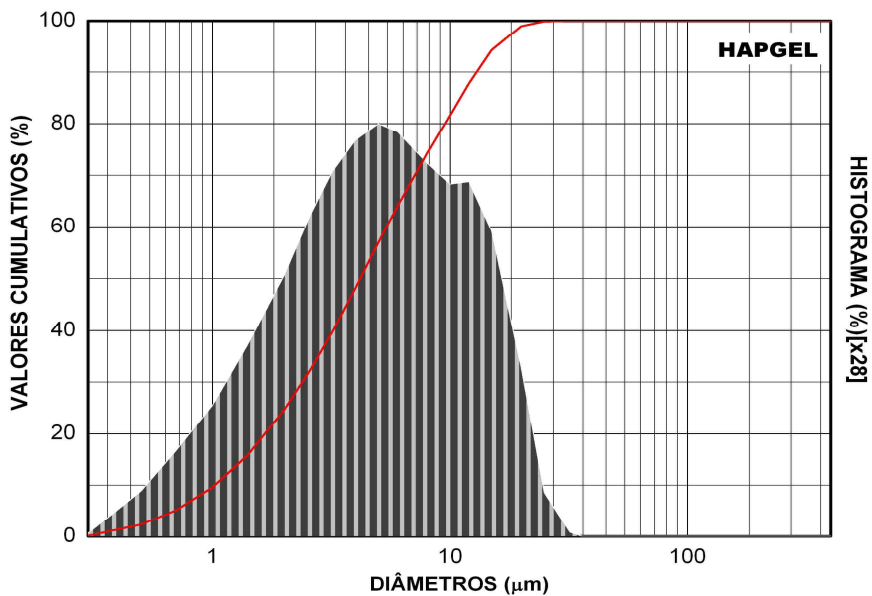


Figura 30- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGEL.

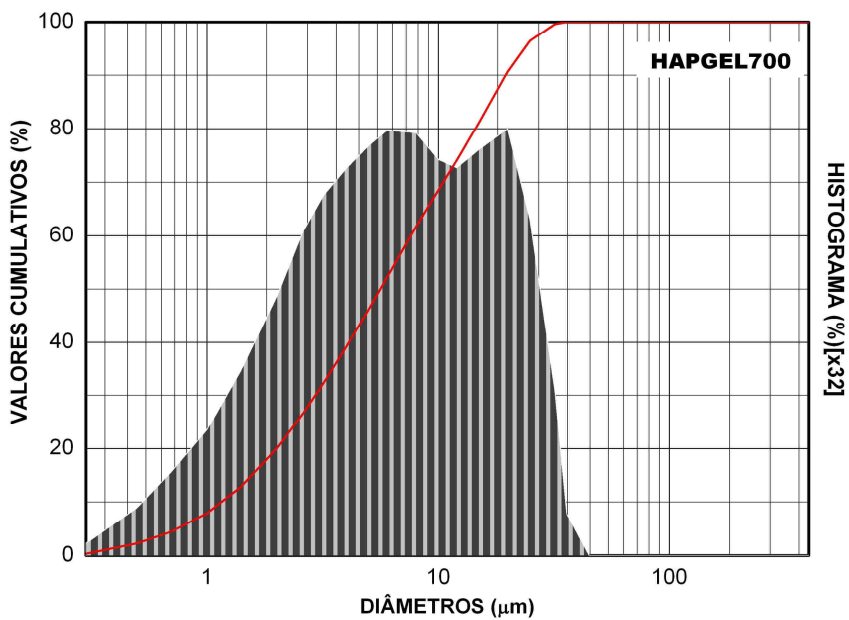


Figura 31- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGEL700.

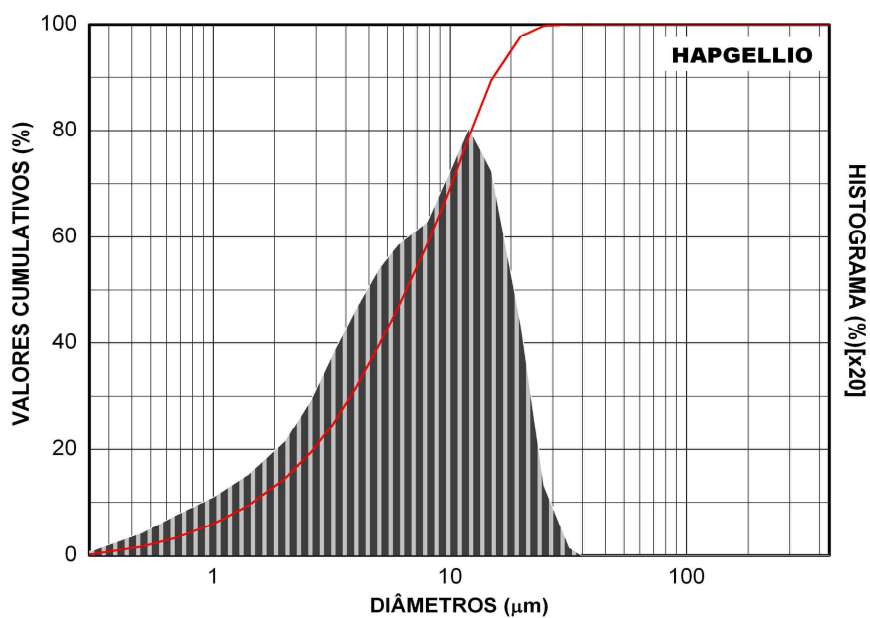


Figura 32- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGELLIO.

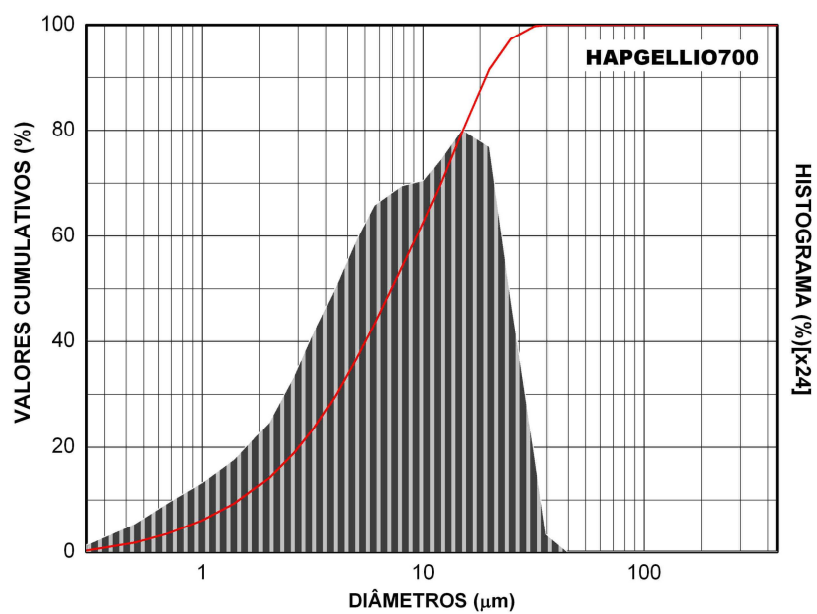


Figura 33- Distribuição de tamanho de partícula da amostra de HAPGELLIO700.

A tabela 15 apresenta os dados de distribuição de tamanho de partícula para as amostras sem tratamento térmico e para as tratadas termicamente a 700°C. Os resultados indicam que as amostras que passaram pelo processo de liofilização apresentaram uma distribuição de tamanho de partícula muito semelhante e diâmetros D_{50} (diâmetro a 50%) maiores que os verificados para amostras que sofreram secagem em estufa, possivelmente em decorrência da maior área superficial específica dessas amostras, conforme verificado no item 4.1.6. Observa-se, também, que a amostra sintetizada em solução de gelatina apresentou o menor D_{50} , possuindo uma distribuição granulométrica com maior porcentagem de agregados finos que as demais amostras, como pode ser verificado na figura 34 que traz as distribuições de tamanho de partículas das amostras sem tratamento térmico, plotadas em sobreposição para facilitar a comparação entre os diferentes processamentos. Apesar do esperado aumento no tamanho das partículas após o tratamento térmico a 700°C, não foram observadas mudanças significativas na distribuição dos aglomerados em comparação com as amostras sem tratamento térmico.

Tabela 15- Resumo da distribuição granulométricas dos pós de HAP.

Amostra	Diâmetro a 10% (μm)	Diâmetro a 50% (μm)	Diâmetro a 90% (μm)	Diâmetro médio (μm)
HAPCON	1,22	5,84	17,47	7,83
HAPCON 700	1,35	6,93	24,04	10,11
HAPCONLIO	1,45	6,78	17,28	8,30
HAPCONLIO700	1,50	7,18	19,23	9,09
HAPGEL	1,02	4,19	12,93	5,76
HAPGEL700	1,16	5,61	19,62	8,29
HAPGELLIO	1,47	6,52	15,23	7,68
HAPGELLIO700	1,47	7,18	19,26	9,10

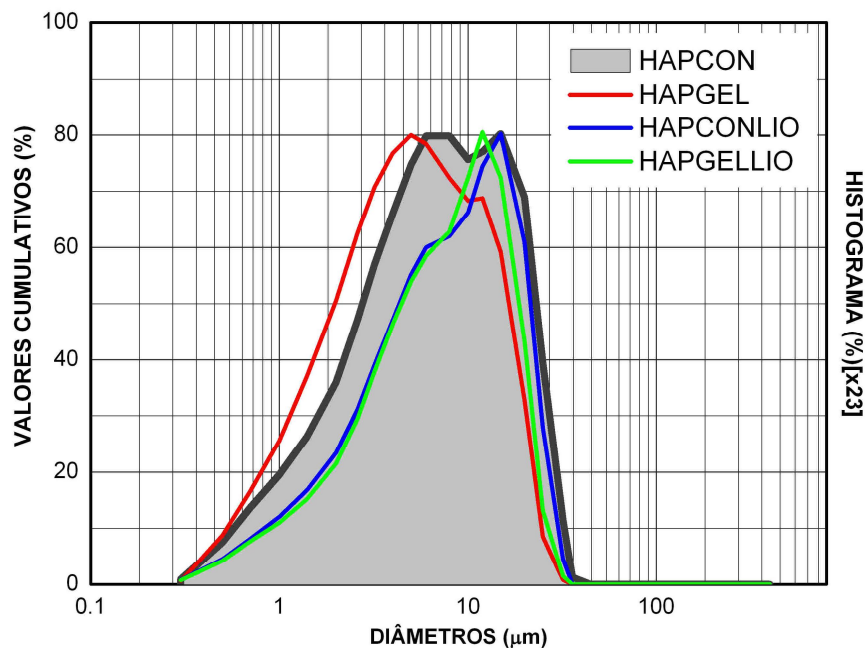


Figura 34- Distribuição de tamanho de partícula das amostras sem tratamento térmico.

Para a amostra HAPGEL, a única diferença na reação de precipitação, em comparação com HAPCON, é a presença da gelatina dispersa na suspensão de $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Pode-se observar que sua presença diminuiu o tamanho dos agregados, o que pode estar associado a modificações nos processos de nucleação e crescimento do grão. Os menores diâmetros médios (D_{50}) para as amostras HAPGEL, podem ser explicados baseando-se no fato do íon R-COO^- , da gelatina ser um local especialmente ativo para a coordenação de íons cálcio, o que leva à formação de um complexo. Esses complexos podem interagir mais tarde com os íons PO_4^{3-} , devido a efeitos de supersaturação e formar núcleos de tamanhos críticos para que ocorra o crescimento subsequente de cristais de HAP. A provisão abundante de locais de coordenação de R-COO^- disponíveis para complexação com Ca^{2+} conduz a um número muito grande de núcleos de HAP. Porém, um grande número de núcleos depleta a concentração de Ca^{2+} que estariam disponíveis para o crescimento dos grãos, diminuindo o tamanho destes. O efeito da presença de gelatina no que se

refere à distribuição de tamanho das partículas foi menos pronunciado para as amostras liofilizadas.^{17,65}

As diferenças nas distribuições de tamanho de partícula para as amostras HAPCON e HAPCONLIO podem ser observadas na figura 35, que apresenta as fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura com aumento de 2400 vezes. As micrografias mostram que a amostra liofilizada tem maior tendência em formar aglomerados, sendo formadas por grânulos mais grossos com superfície mais rugosa. Isso está de acordo com Gibson, citado por Kothapalli et al., que informou que partículas pequenas pareciam formar aglomerados maiores, com rugosidade superficial, que são indícios de que a amostra possui uma área de superfície específica elevada.⁹⁵

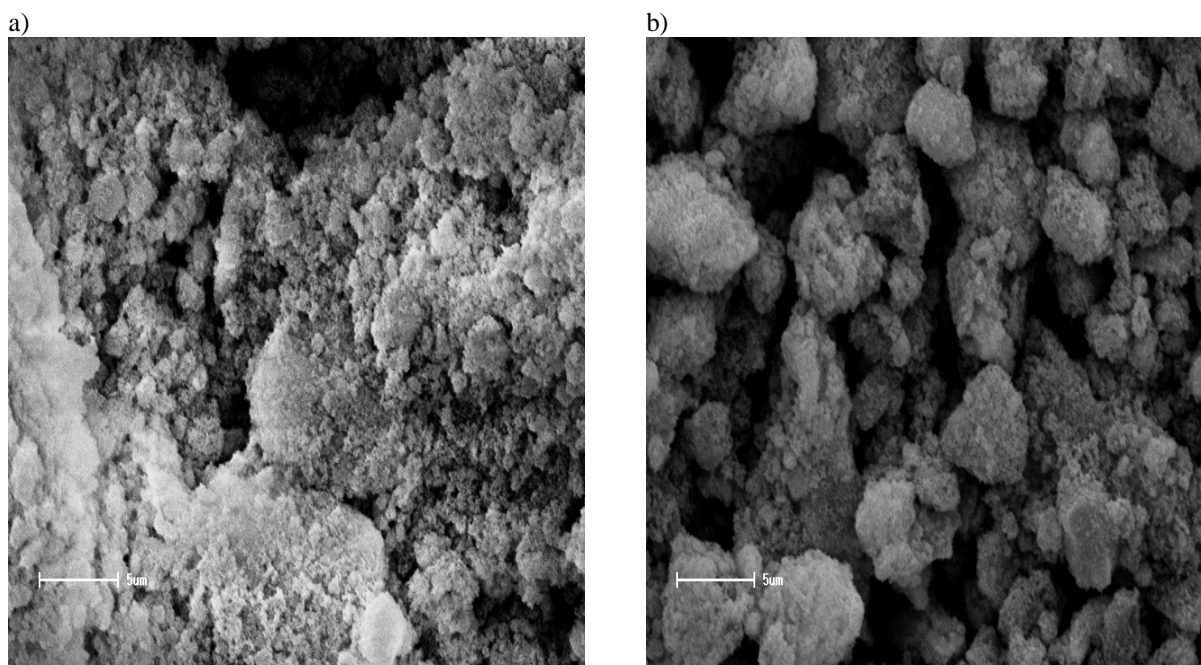


Figura 35- Fotomicrografia eletrônica das amostras de (a) HAPCON e (b) HAPCONLIO (2400X)

Na figura 36 pode-se observar a evolução da microestrutura com a variação da temperatura. Como esperado, há um aumento dos aglomerados em função da densificação

promovida pelo aumento na temperatura e pelo processo de coalescência, característicos da sinterização. A tabela 16 mostra os valores da densidade dos pós, obtida por picnometria de hélio.

Tabela 16– Densidade obtida por picnometria de hélio para os pós de HAP.

Amostra	HAP	HAP 700	HAP 1200	HAP Lio	HLio 700	HLio 1200	HAP Gel	HGel 700	HGel 1200	HGel Lio	HGel Lio 700	HGel Lio 1200
d (g/cm ³)	2,82	2,89	3,12	2,74	2,83	3,14	2,72	2,91	3,09	2,73	2,84	3,07
	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,01	± 0,02	± 0,01	± 0,01

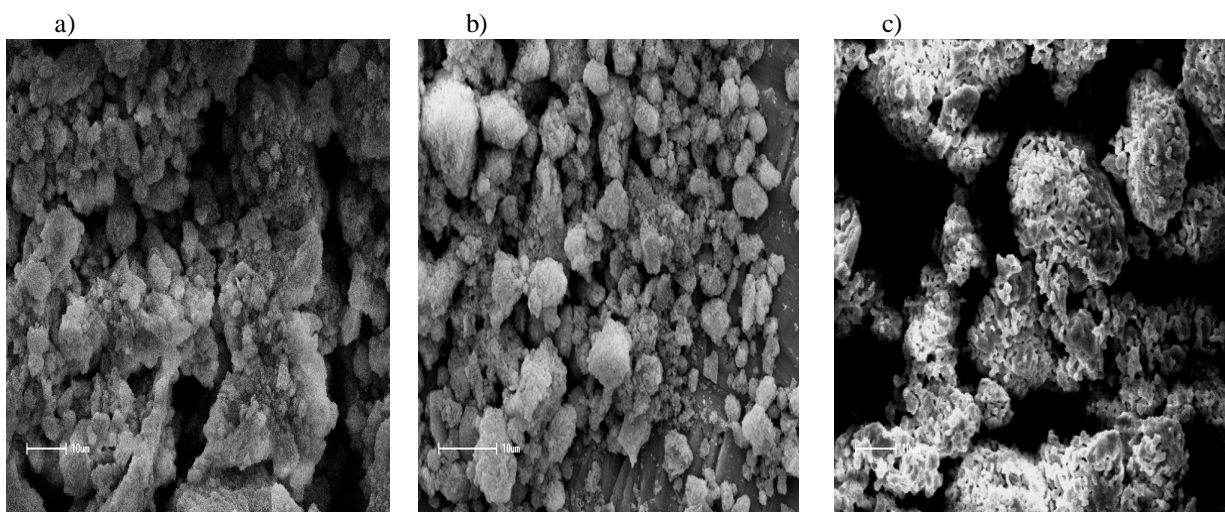


Figura 36 - Fotomicrografia eletrônica das amostras: (a) HAPCONLIO; (b) HAPCONLIO700 e (c) HAPCONLIO1200.(aumento de 1000X)

4.2 ANÁLISE DOS CORPOS DE PROVA

4.2.1 Compactação e Sinterização

Os valores de retração linear, densidade geométrica, densidade aparente, densidade relativa e de porosidade aparente obtidos pelo método de Arquimedes, dos compactos após processo de sinterização a 1200°C, estão listados na tabela 17. A densidade relativa foi calculada adotando 3,156g/cm³ como densidade teórica da HAP. Foi observado que uma maior retração linear está associada com o aumento na densidade dos compactos.

Tabela 17 – Retração linear, densidade aparente, densidade relativa e porosidade aparente dos compactos sinterizados a 1200°C.

Amostra	Retração linear	Densidade Aparente (g/cm ³)	Densidade Relativa *	Densidade Relativa **	Porosidade Aparente
HAPCON1200	18,57%±0,07	3,00 ±0,03	91,48%	94,93%	2,52%±0,41
HAPCONLIO1200	19,28%±0,11	3,07±0,04	93,18%	97,15%	1,53%±0,35
HAPGEL1200	19,56%±0,04	3,06±0,04	94,22%	96,80%	0,76%±0,12
HAPGELLIO1200	19,78%±0,08	3,08±0,02	94,30%	97,63%	0,73%±0,09

* valores calculados a partir dos dados referentes à densidade geométrica; ** valores calculados a partir da densidade aparente.

Os resultados estão de acordo com os obtidos por Raynaud et al.⁹⁷, segundo os quais a densificação decresce com o aumento da fase β -TCP nas amostras sinterizadas e ficaram próximos aos apresentados por outros autores que utilizaram prensagem isostática a frio e programa semelhante de sinterização. Kothapalli et. al.⁹⁵ obteve como máxima densificação 92% para uma amostra de hidroxiapatita estequiométrica e Mostafa⁴⁴ relatou um valor de 93,5% para uma hidroxiapatita deficiente em cálcio com razão Ca/P= 1,65.

Os altos valores de densidade obtidos para os compactos podem estar associados a dois fatores: a deficiência em cálcio do pó precursor e ao processo de compactação escolhido. Segundo Hatim et al.⁹¹, a estrutura de lacunas da hidroxiapatita deficiente em cálcio Ca-dHAP parece favorecer o processo de coesão entre as partículas durante a compactação. Para Raynaud et al.⁹⁴, a presença das vacâncias facilita a transferência de massa, aumentando a coalescência das partículas. De acordo com Mostafa⁴⁴, no início da sinterização, a coalescência das partículas ocorre praticamente sem densificação. A temperatura de início do processo de coalescência, abaixo de 1000°C, diminui com a redução da razão molar Ca/P, pois a transferência de massa por difusão superficial é facilitada pelo aumento no número de vacâncias e defeitos na estrutura e pela reação de dissociação da Ca-dHAP, que ocorre próximo a 900°C. O processo de densificação também parece ser ajudado pela dissociação de Ca-dHAP, porém, neste caso, o processo ocorre por difusão de volume e de contorno de grão. Ainda, segundo o autor, embora o início da densificação dependa principalmente da razão Ca/P, a densidade final de sinterização depende do tamanho de partícula e da homogeneidade dos aglomerados do pó precursor.

Deste modo, a densificação final foi maior para a amostra HAPGEL1200 (97,63% da DT) que para HAPCON1200 (94,93% DT), pois a rota utilizando gelatina durante a síntese resultou em um pó precursor nanométrico que formou aglomerados finos com estreita distribuição de tamanho e, portanto, mais homogêneos, como pode ser verificado na figura 30. As amostras liofilizadas HAPCONLIO1200 e HAPGELLIO1200 apresentaram valores de densidade relativa próximos em função da semelhança na distribuição de tamanho das partículas. Destaca-se, também, que as amostras liofilizadas fornecem espécimes mais densos quando comparados àquelas que passaram por secagem convencional em estufa.

Já, quanto ao processo de compactação das amostras, escolheu-se a prensagem isostática, pois a aplicação das forças de compactação ocorre em todas as direções, levando a um

empacotamento mais eficiente. A pressão de compactação de 200 MPa, para prensagem isostática a frio, é freqüentemente utilizada em outros trabalhos e por esse motivo foi empregada^{44,46,47,68} Resultados anteriores para amostras de hidroxiapatita sintetizadas em presença de gelatina realizando apenas a prensagem uniaxial indicou uma densidade de 2,01 g/cm³ que corresponde a, aproximadamente, 64% DT, para compactos sinterizados a 1200°C durante 2h. Passando para, aproximadamente, 97% após realização da prensagem isostática a frio de 200 MPa.⁹⁸

4.2.2 Propriedades Mecânicas

Os valores de resistência à flexão estão apresentados na tabela 18. O maior valor obtido, 91,45 MPa, foi para a amostra de HAPCONLIO1200.

Tabela 18 - Resistência à flexão dos compactos sinterizados a 1200°C.

Amostra	Resistência à flexão (MPa)
HAPCON1200	81,57 ± 4,1
HAPCONLIO1200	91,45 ± 5,5
HAPGEL1200	87,25 ± 4,2
HAPGELLIO1200	81,20 ± 4,6

Raynaud et al.⁹⁷ obtiveram maiores valores de resistência à flexão para amostras sinterizadas a 1100°C do que a 1200°C e apontaram o crescimento do grão e a quantidade de β -TCP como fatores determinantes para essa diferença. Verificaram que a mistura bifásica 90% HAP e 10% β -TCP em massa, a 1100°C alcançou os maiores valores de resistência à flexão de 150 MPa, enquanto a HAP estequiométrica apresentou 75MPa. Relataram que valores maiores de

10% em massa de β -TCP são responsáveis pelos aumentos na porosidade residual e no tamanho do grão, efeitos relatados como prejudiciais a resistência à fratura das cerâmicas.

Deve ser ressaltado, ainda, que os valores de resistência à flexão obtidos neste trabalho são comparáveis aos do osso cortical, que está no intervalo de 50-150 MPa, de acordo com os dados da literatura, como mencionado na tabela 1.

Na figura 37 as fotomicrografias revelam a superfície de fratura dos compactos, sinterizados a 1200°C por 2 horas, após ensaio de flexão em três pontos, confirmando os resultados da densificação e mostrando uma microestrutura compacta, mas com a presença de microporos de formato irregular. A microestrutura da superfície de fratura da amostra HAPCON1200 (figura 37a) é a que aparenta maior presença de porosidade. Tal fato pode ser em parte provocado pelo processo de desidroxilação e decomposição na matriz da HAP. Durante a decomposição, há a formação de água, como indicado nas equações 11 e 12, sua saída poderia ter gerado poros observados nas imagens de microscopia eletrônica de varredura e ocasionado uma diminuição da densidade do espécime sinterizado.⁵²

Observa-se que as amostras liofilizadas (figuras 37b e 37d) apresentam microestruturas aparentemente menos porosas que as secas em estufa (figura 37a e 37c). Estas, por sua vez, aparentaram uma granulação mais grosseira, principalmente a hidroxiapatita convencional. Tais características podem ter influenciado suas propriedades mecânicas, como mostram os resultados das tabelas 18 e 19, uma vez que apresentou menores valores de resistência à flexão e dureza.

Não se observa a formação de micro e/ou macrotincas na superfície de fratura dos espécimes. Segundo Prokopiev e Sevostianov⁴⁹, apesar do processo de sinterização convencional em forno ser mais prático e simples, o método poderia conduzir à formação desses defeitos, devido à geração de campos de tensão térmica e residual em decorrência da baixa condutividade térmica e alta retração da HAP.

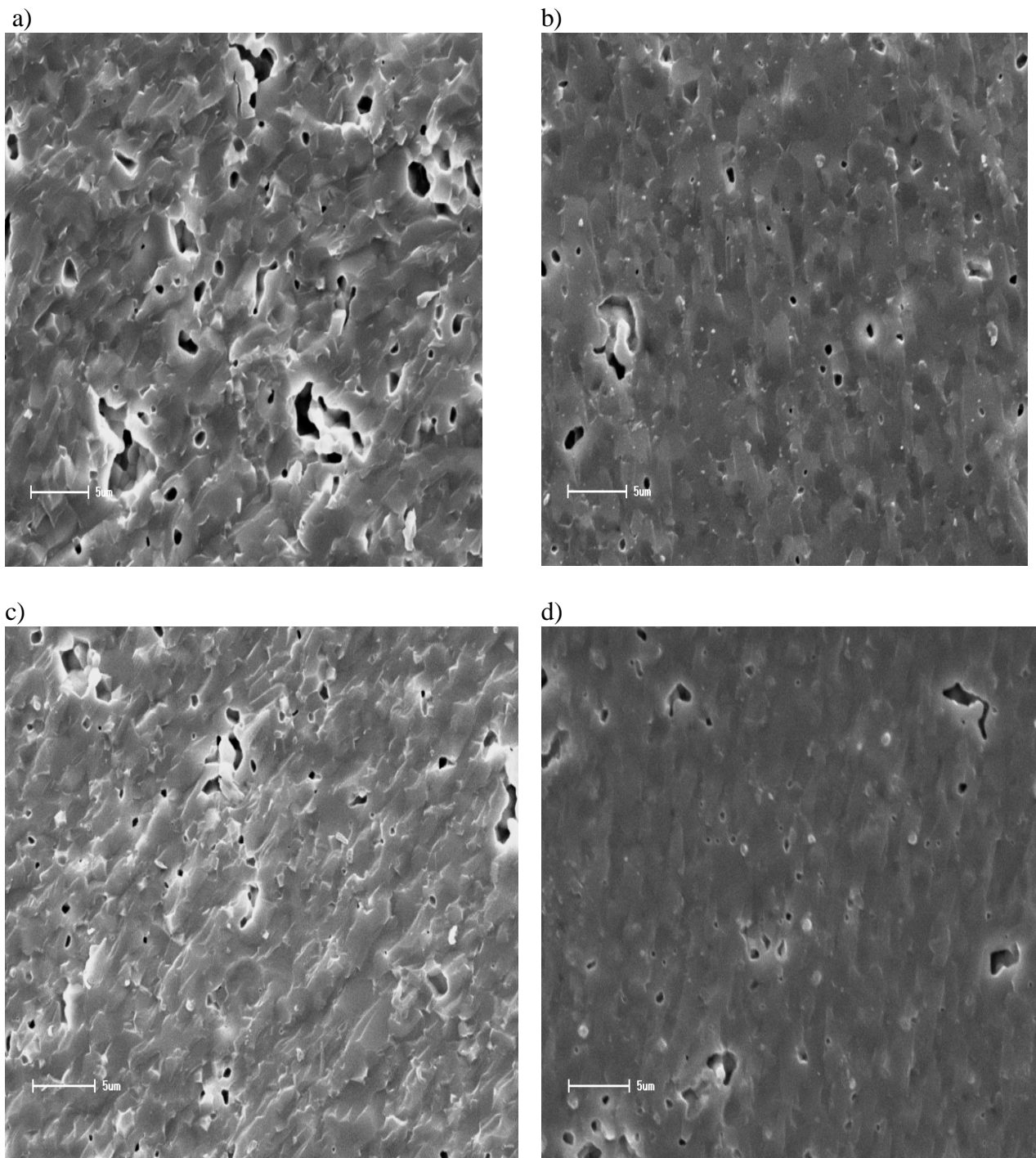


Figura 37 - Fotomicrografia eletrônica da superfície de fratura das amostras sinterizadas a 1200°C: (a) HAPCON1200; (b) HAPCONLIO1200; (c) HAPGEL1200; (d) HAPGELLIO1200. (aumento 2400X)

Para a determinação da dureza, utilizou-se o ensaio de microdureza Vickers, por ser um método adequado para medição em regiões pequenas e selecionadas do corpo de prova. A impressão produzida pelo penetrador de diamante foi observada e medida, os resultados estão apresentados na tabela 19. Para realização adequada das medidas, é necessário que a impressão esteja bem definida para permitir uma boa leitura das diagonais. A figura 38 mostra a imagem realizada com microscópio ótico, com aumento de 500 vezes, da impressão produzida por uma indentação com carga de 1,96 N durante 10s em um compacto de HAPCON1200.

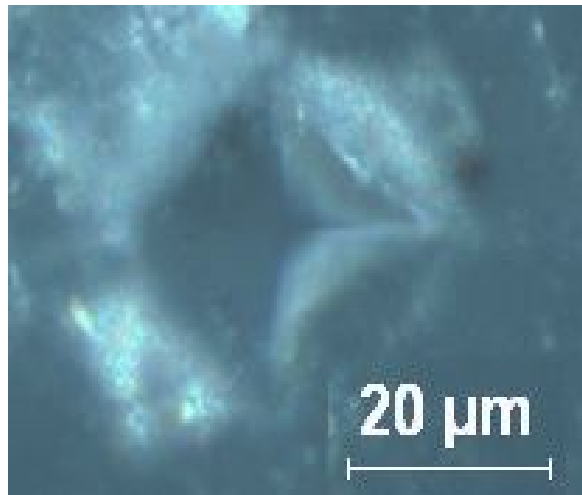


Figura 38- Impressão realizada no ensaio de dureza com um indentedor Vickers.

Os resultados de microdureza Vickers obtidos estão de acordo com os resultados reportados por diferentes autores: Cunha et al.⁹⁹, 3,2 GPa (prensagem uniaxial de 100 MPa e $T=1250^{\circ}\text{C}$) e 3,17 GPa obtido por Kalita e Bhatt⁵¹ (prensagem à quente e $T=1300^{\circ}\text{C}$), que apresentam em seu artigo valores de outros autores, variando entre 3,8 GPa a 5,0 GPa. Além disso, os valores estão próximos dos materiais obtidos a partir da combinação de hidroxapatita

com zircônia, aditivo que sabidamente promove a melhoria nas propriedades mecânicas do biomaterial.^{53,55,58,100}

Foi observado que as amostras com gelatina apresentaram valores de dureza mais altos quando comparados às amostras sintetizadas somente em meio aquoso. Os menores valores verificados para as amostras HAPCON1200 e HAPCONLIO1200 podem estar associados aos seguintes fatores: maior porosidade, processo de decomposição da HAP e aparecimento de β -TCP como fase secundária.

Tabela 19- Microdureza dos compactos de hidroxiapatita sinterizados a 1200°C

Amostra	microdureza (GPa)
HAPCON1200	3,95 \pm 0,8
HAPCONLIO1200	4,79 \pm 0,6
HAPGEL1200	6,58 \pm 0,5
HAPGELLIO1200	5,17 \pm 0,6

Verifica-se que a dureza diminui rapidamente com o aumento da porosidade dos compactos. O compacto de HAPCON1200 que possui maior porosidade e maior porcentagem em massa de β -TCP apresentou a menor dureza entre as amostras analisadas. O que está de acordo com Hoepfner e Case⁸⁴, segundo os autores a dureza da HAP é dependente da microestrutura, especialmente da porosidade e da presença de segunda fase.

5 CONCLUSÃO

A análise dos resultados de caracterização microestrutural, química, morfológica e mecânica dos compostos obtidos permitiu chegar às seguintes conclusões:

- Os resultados da análise química por fluorescência de raios X em combinação com a análise quantitativa de fases obtida através do refinamento dos difratogramas de raios X, pelo método de Rietveld, indicam que as amostras de HAPCONLIO, HAPGEL e HAPGELLIO, tratadas termicamente a 1200°C, possuem as principais características químicas preconizadas pela Norma ASTM F 1185/88, com o que se pode afirmar que os critérios da norma para o uso de hidroxiapatita como biomaterial são atendidos, e os materiais podem potencialmente ser utilizados como implante cirúrgico.
- Os pós de HAP que foram submetidos ao processo de secagem por liofilização apresentaram, em comparação às amostras secas em estufa, um aumento na área superficial específica e, em decorrência desta, maior tendência em formar aglomerados. Nos compactos, leva à formação de uma microestrutura homogênea e de menor porosidade.
- A presença de gelatina na síntese da hidroxiapatita induz à formação de uma distribuição mais fina e uniforme dos aglomerados, auxilia a densificação dos compactos sinterizados a 1200°C, provocando aumento da dureza em comparação às amostras sintetizadas de forma convencional. As análises por espectroscopia no infravermelho indicam que a presença de gelatina no meio reacional não provocou o aparecimento de outras espécies que comprometam a estabilidade da HAP. Indicam também que, após tratamento térmico a 700°C, a fase mineral formada é uma apatita carbonatada deficiente em cálcio.
- As amostras apresentaram valores de resistência à flexão compatíveis a do osso cortical.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Estudo de dissolução do material em meio aquoso e em solução simulando fluido corpóreo (SBF).
- Estudo das propriedades mecânicas de amostras variando a concentração de gelatina e/ou promovendo a incorporação de dopantes.
- Avaliação “in vitro” do comportamento de osteoblastos sobre amostras de hidroxiapatita sintetizadas em presença de gelatina.
- Avaliação “In Vivo” das amostras de HAP/gelatina.
- Incorporação de fármacos para produção de sistemas de liberação controlada.

REFERÊNCIAS

1. SOARES, Glória de Almeida. **Biomaterias**. Disponível em: <http://www.anbio.org.br/pdf/2/tr10_biomateriais.pdf>. Acesso em: 10/10/2006.
2. Implantes ortopédicos a base de biomateriais. **Biomaterials**. v.25, n.13, p.2629-2635, jun.2004.
3. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Síntese dos Indicadores Sociais 2006**. Rio de Janeiro, 2006.
4. KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.
5. CORREIA, L. F.; ALVES, G. Auto e xenoenxertos na prática clínica implantológica. **Portugal Implantologia**, n.1, p. 47-52, 2002.
6. ANDRADE, A. L.; DOMINGUES, R. Z. Cerâmicas Bioativas-Estado da Arte. **Química Nova**, v. 29, n. 1, p. 100-104, 2006.
7. CARRODEGUAS, R. G.; MONDÉJAR, S. P.; SANTOS, L. A.; RIGO, E. C. S.; BOSCHI, A. O. Cimentos de Fosfato de Cálcio - Uma alternativa para remodelação e reconstrução óssea. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, ano2, n. 10, 30-32, set./out. 1998.
8. SALEH, J; WILLKE, L. W.; BASSANI, I. A.; KRAETHER, L.; MOLZ, R. F.; SANTOS, L. A. Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo. In: CBECIMAT,16, 2004, Porto Alegre. **Anais ... Porto Alegre**: [s.n.], 2004.
9. ALMEIDA, J. M. V.; SENA, L. A.; VIDIGAL JR., G. M.; SOARES, G. A. Avaliação da adesão de hidroxiapatita sobre implantes metálicos utilizando jato com suspensão de bicarbonato. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**, v. 18, n. 3, p. 133-139, set./dez. 2002.
10. VERCIK, L. C. de O.; ASSIS, C. M.; LIA FOOK, M. V.; SANTOS, M. L.; GUASTALDI, A. C. Recobrimento de Apatitas “in vitro” sobre titânio - Influência do tratamento térmico. **Eclética Química**, São Paulo, v. 28, n. 1, p. 25-31, 2003.
11. OGAWA, C. A.; PLEPIS, A. M. G. Liberação in vitro de cloridrato de ciprofloxacina em compósitos hidroxiapatita: colágeno. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 12, n. 2, p. 115-122, 2002.
12. LACERDA, K. A; LAMEIRAS, F. S.; SILVA, V. V. Síntese e caracterização de matrizes porosas de hidroxiapatita para aplicação como fontes radioativas em

- braquiterapia. **Revista Escola de Minas**. Ouro Preto, v. 59, n. 2, p. 217-223, abr./jun. 2006.
13. SANTOS, M. L.; FLORENTINO, A. O.; SAEKI, M. J.; APARECIDA, A. H.; LIA FOOK, M. W.; GUASTALDI, A. C. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato e cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**, São Paulo, v. 30, n. 3, p. 29-35, 2005.
 14. SECKLER, M. M.; CARRODEGUAS, R.G.; DERENZO, S.; GIULIETTI, M.; CLEMENTE, R. R. Técnicas de obtención de hidroxiapatita y otros fosfatos de cálcio. **II Curso sobre biomateriales para aplicaciones odontológicas y traumatológicas**. Cartagena de Indias, 1998.
 15. RIGO, E. C. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; BOSCH, A. O.; CARRODEGUAS, R. G. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**. v. 15, n.1-2, p. 21-29, jan./ago. 1999.
 16. MURUNGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of nanocomposites for bone grafting. **Composites Science and Technology**. v. 65, p. 2385-2406. 2005.
 17. CHANG, M. C.; KO, C. C.; DOUGLAS, W. H. Preparation of hydroxyapatite-gelatin nanocomposite. **Biomaterials**, v. 24, p. 2853-2862. 2003.
 18. TORTORA, G. J.; GRABOWSKI, S. R. **Princípios de Anatomia e Fisiologia**. 9ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogans S.A., 2002.
 19. GARTNER, L. P; HIATT, J. L. **Tratado de Histologia**. 2ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogans S.A., 2003.
 20. RODRIGUES, M. E. S. **Análise do risco de fratura óssea por ultrasonometria e ensaio mecânico de compressão**. Dissertação (mestrado). Escola de Engenharia de São Carlos; Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto; Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 2003.
 21. GUYTON, A. C.; HALL, J. E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 10ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S.A., 2002. p. 843-845.
 22. GENESER, F. **Histologia**. 3ªed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogans S.A., 2003.
 23. OLSZTA, M. J.; CHENG, X.; JEE, S. S.; KUMAR, R.; KIM, Y.; KAUFMAN, M. J.; DOUGLAS, E. P.; GOWER, L. B. Bone structure and formation: A new perspective. **Materials Science and Engineering R**. v. 58, p. 77-116, 2007.
 24. SMELTZER, S. C.; BARE, B. G. **Brunner & Suddarth Tratado de Enfermagem Médico-Cirúrgica**. 9ªed., v. 4. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, 2002. p. 1690-1694.

25. GIMENES, R. **Preparação e caracterização de compósitos polímero/cerâmica com potencial de aplicações médicas.** 2001,127p. Dissertação (Mestrado em Química)-Instituto de Química,Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Araraquara, 2001.
26. RAMALHO, E. G. **Obtenção de cerâmicas à base de tricálcio fosfatos utilizando óxido de manganês como aditivo.** 2006.72f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica)-Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, junho 2006.
27. ROSSI, J. D. M. B. A.; COSTA, R. C.; LEIVAS, T. P. Avaliação mecânica de compósitos de hidroxiapatita - polimetilmetaacrilato. **Revista Brasileira de Ortopedia.** v. 28, n. 3, p. 167-171, mar.1993.
28. ROJANO, J. F. R.; VELÁSQUEZ, J. O. R. Injertos óseos: revisión bibliográfica. **Medicina Oral.** v. 2, p. 114-118, 2000.
29. APARECIDA, A. H.; FOOK, M. V. L.; SANTOS, M. L.; GUASTALDI, A. C. Influência de íons K^+ e Mg^{+2} na obtenção de apatitas biomiméticas. **Eclética Química,** São Paulo, v. 30, n. 4, p. 13-18. 2005.
30. SANTOS, L. A. **Desenvolvimento de Cimento de Fosfato de Cálcio reforçado por fibras para uso médico-odontológico.**2002, 274f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) - Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.
31. AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; COSTA, A. C. F. M. Materiais cerâmicos utilizados para implantes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos.** v. 2, p. 35-42, 2007.
32. KOKUBO, T.; KIM, H. M.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials.** v. 24, p. 2161-2175, 2003.
33. KALITA, S. J; BHARDWAJ, A.; BHATT, H. A. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. **Materials Science and Engineering C.** v.27, p. 441-44, 2007.
34. REGI, M. V.; CALBET, J. M. G. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry.** v.32, p.1-31, 2004.
35. LIU, H. S.; CHIN, T. S.; LAI, L. S.; CHIU, S. Y.; CHUNG, K. H.; CHANG, C. S.; LUI, M. T. Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method. **Ceramics International.** v. 23, p. 19-25, 1997
36. LEGEROS, Racquel Zapanta.**Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine.** KARGER, 1991.

37. RATNER, R. D.; HOFFMAN, A. S.; SHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. 2^ªed. Elsevier, 2004.
38. SOUZA, L. A. **Fosfatos de cálcio aditivados com fosfato de nióbio (V): análise por difração de raios X e de biocompatibilidade com eritrócitos humanos**. 2008, 97f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Materiais) – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, 2008.
39. BASTOS, I. N.; ANDRADE, M. C. de; SILVA, R. R. da; SOARES, G. A.; OGASAWARA, T. Análise termodinâmica da fluoretação de hidroxiapatita no sistema Ca-P-F-H₂O a 37°C. **Educação e Tecnologia**: Belo Horizonte, v. 6, n.1/2, p. 14-17, jan./dez. 2001.
40. AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SAERI, M. R.; SORRELL, C. C. Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite. **Material and Design**, v. 24, p. 197-202, 2003.
41. SAERI, M. R.; AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SORRELL, C. C. The wet precipitation process of hydroxyapatite. **Material Letters**, v. 57, p. 4064-4069, 2003.
42. SANTOS, M. H.; OLIVEIRA, M.; SOUZA, L. P. F.; MANSUR, H. S.; VASCONCELOS, W. L. Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared wet by precipitation process. **Materials Research**, v. 7, n. 4, p. 625-630, 2004.
43. SECKLER, M. M; DANESE, M.; DERENZO, S.; VALARELLI, J. V.; GIULITTI, M.; RODRÍGUES-CLEMENTE, R. Influence of Process Conditions on Hydroxyapatite Crystallinity Obtained by Direct Crystallization. **Materials Research**, v. 2, n. 2, p.59-62, 1999.
44. MOSTAFA, N.Y. Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes. **Materials Chemistry and Physics**, v. 94, p. 333-341, 2005.
45. American Society for Testing and Materials-ASTM F 1185/88 (Reapproved 1993), Standard “**Specification for Composition of Ceramic Hydroxyapatite for Surgical Implants**”.
46. RAMESH, S.; TAN, C. Y.; SOPYAN, I.; HAMPI, M.; TENG, W. D. Consolidation of nanocrystalline hydroxyapatite powder. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 8, p. 124-130, 2007.
47. RAMESH, S.; TAN, C. Y.; BHADURI, S. B.; TENG, W. D. Rapid densification of nanocrystalline hydroxyapatite for biomedical applications. **Ceramics International**, v. 33, p. 1363-1367, 2007.

48. RODRÍGUES-LORENZO, L. M.; VALLET-REGÍ, M.; FERREIRA, J. M. F. Fabrication of hydroxyapatite bodies by uniaxial pressing from a precipitated powder. **Biomaterials**, v. 22, p. 583-588, 2001.
49. PROKOPIEV, O.; SEVOSTIANOV, I. Dependence of the mechanical properties of sintered hydroxyapatite on the sintering temperature. **Materials Science and Engineering A**, v. 431, p. 218-227, 2006.
50. DEVILLE, S.; SAIZ, E.; TOMSIA, A. P. Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v.27, p. 5480-5489, 2006.
51. KALITA, S. J.; BHATT, H.A. Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering C**, v. 27, p. 837-848, 2007.
52. KALITA, S. J.; BOSE, S.; HOSICK, H. L.; BANDYOPADHYAY, A. CaO-P₂O₅-Na₂O –based sintering additives for hydroxyapatite (HAp) ceramics. **Biomaterials**, v. 25, p. 2331-2339, 2004.
53. RAPACZ-KMITA, A.; SLÓŠARCZYK, A.; PASZKIEWICZ, Z. Mechanical properties of HAp-ZrO₂ composites. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 26, p. 1481-1488, 2006.
54. OKTAR, F. N. Hydroxyapatite-TiO₂ composites. **Materials Letters**, v. 60, p. 2207-2210, 2006.
55. EVIS, Z; DOREMUS, R. H. Hot-pressed hydroxylapatite/monoclinic zirconia composites with improved mechanical properties. **Journal Materials Science**, v. 42. p. 2426-2431, 2007.
56. AHN, E. S.; GLEASON, N. J.; YING, J. Y. The Effect of Zirconia Reinforcing Agents on the Microstructure and Mechanical Properties of Hydroxyapatite-Based Nanocomposites. **Journal American Ceramic Society**, v. 12, p. 3374-3379, 2005.
57. RAMESH, S; TAN, C. Y.; PERALTA, C. L.; TENG, W. D. The effect of manganese oxide on the sinterability of hydroxyapatite. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 8, p. 257-263, 2007.
58. EVIS, Z; DOREMUS, R. H. Effect of ZrF₄ on hot-pressed hydroxyapatite/monoclinic zirconia composites. **Scripta Materialia**, v. 56, p. 53-56, 2007.
59. SANTOS, M. H.; HENEINE, L. G. D.; MANSUR, H. S. Processamento Cerâmico de baixo custo para compósitos fosfatos de cálcio/colágeno. Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 17, 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2006.

60. SIVAKUMAR, M.; RAO, P. K. Preparation, characterization and in vitro release of gentamicin from coralline hydroxyapatite–gelatin composite microspheres. **Biomaterials**, v. 23, p. 3175–3181, 2002.
61. FENG, W.; MU-SEN, L.; YU-PENG, L.; YOUNG-XIN, Q. A simple sol-gel technique for preparing hydroxyapatite nanopowders. **Materials Letters**, v. 59, p. 916-919, 2005
62. LIU, W .B.; QU, S. X.; SHEN, R.; JIANG, C. X.; LI, X. H.; FENG, B.; WENG, J. Influence of pH values on preparation of hydroxyapatite/gelatin composites. **Journal Materials Science**, v.41, p. 1851-1853, 2006.
63. TENG, S.; SHI, J.; PENG, B.; CHEN, L. The effect of alginate addition on the structure and morphology of hydroxyapatite/gelatin nanocomposites. **Composites Science and Technology**, v. 66, p. 1532-1538, 2006
64. SHU, C.; XIANZHU, Y.; ZHANGYIN, X.; GUOHUA, X. HONG, L.; KANGDE, Y. Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin-based precipitation method. **Ceramics International**, v. 33, p. 193-196, 2007.
65. FOMIN, A. S.; BAINOV, S. M.; IEVLEV, V. M.; FADEEVA, I. V.; KOMLEV, V. S.; BELONOGOV, E. K.; TURAEVA, T. L. Nanosized Hydroxyapatite Synthesized by Precipitation in a Gelatin Solution. **Doklady Chemistry**, v. 411, p. 219-222, 2006.
66. YANG, Z.; JIANG, Y.; YU, L. X.; WEN, B.; LI, F.; SUN, S.; HOU, T. Preparation and characterization of magnesium doped hydroxyapatite-gelatin nanocomposite. **Journal of Materials Chemistry**, v .15, p. 1807-1811, 2005.
67. CALLISTER, W. D. J. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. 5ed. Rio de Janeiro: LTC, 2002, p. 56-57.
68. PANDOLFELLI, V. C.; OLIVEIRA, I. R.; STUDART, A. R.; PILEGGI, R. G. **Dispersão e empacotamento de partículas**. São Paulo: Fazendo Arte, 2000.
69. ROSA, A. L.; SHAREEF, M. Y; van NOORT, R. Efeito das condições de preparação e sinterização sobre a porosidade da hidroxiapatita. **Pesquisa Odontológica Brasileira**, v. 14, n. 3, p. 273-277, jul./set.2000.
70. HALL L.; VLACK, V. **Princípios de Ciência e Tecnologia dos Materiais**. 4ªed. Rio de Janeiro: Campus, 1984.
71. GARCIA, A.; SPIN, J. A.; SANTOS, C. A. **Ensaio dos Materiais**. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2000.
72. SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5ªed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

73. ARAÚJO, J. C.; BASTOS, I. N.; SENA, L.; SOARES, G. D. A. Caracterização do efeito de tamanho e microdeformação da hidroxiapatita. **Educação e Tecnologia**, v. 10, n. 2, p. 10-15, jul.-dez., 2005.
74. TAS, A. C.; KORKUSUSZ, F.; TIMUCIN, M.; AKKAS, N. An investigation of the chemical synthesis and high-temperature sintering behaviour of calcium hydroxyapatite (HA) and tricalcium phosphate (TCP) bioceramics. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 8, p. 91-96, 1997.
75. ANDRADE, A. V. C. **Análises Estrutural, Nanoestrutural e Quantitativa de Fases, em Materiais Cerâmicos de Interesse Tecnológico, Utilizando Difração de Raios X pelo Método do Pó**. 2003, 177f. Tese (Doutorado em Química). Instituto de Química de Araraquara, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo, 2003.
76. LARSON, A. C.; VON DREELE, R. B. GSAS – GENERAL STRUCTURE ANALYSIS SYSTEM. Los Alamos National Laboratory, 224p. 2000.
77. EVIS, Z.; DOREMUS, R. H. Hot-pressed hydroxylapatite/monoclinic zirconia composites with improved mechanical properties. **Journal Materials Science**, v. 42. p. 2426-2431, 2007.
78. KESTENBACH, H. J.; BOTTA, W. J. F. **Microscopia eletrônica: transmissão e varredura**. São Paulo: Associação Brasileira de Metalurgia e Materiais, 1994.
79. SANTOS, P. S. **Ciência e Tecnologia de Argilas**. 2ª edição, Ed. Edgar Blucher Ltda, São Paulo. Volume 1, [19--]. p.175-209
80. RING, T. A. **Fundamentals of Ceramic Powder Processing and Synthesis**. San Diego: Academic Press, 1996. p. 67-78.
81. TEIXEIRA, V G.; COUTINHO, F. M. B.; GOMES, A. S. Principais Métodos de Caracterização da Porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v.124, n. 6, p. 808-818, 2001.
82. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. ISO 6872 (E). **“Dental ceramic”**, 1995.
83. MOBASHERPOUR, I.; HESHAJIN, M. S.; KAZEMZADEH, A.; ZAKERI, M. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method. **Journal Alloys and Compounds**, v. 430, p. 330-333, 2007.
84. HOEPFNER, T. P.; CASE, E. D. The influence of the microstructure on the hardness of sintered hydroxyapatite. **Ceramics International**, v. 29, p. 699-706, 2003.

85. SENA, L. A. **Produção e caracterização de Compósitos Hidróxiapatita-Colágeno para Aplicações Biomédicas**. 2004, 95f. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.
86. LIU, Y.; HOU, D.; WANG, G. A simple wet chemical synthesis and characterization of hydroxyapatite nanorods. **Materials Chemistry and Physics**, v. 86, p. 69-73, 2004.
87. LANDI, E.; TAMPIERI, A.; CELOTTI, G.; VICHI, L.; SANDRI, M. Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite. **Biomaterials**, v. 25, p. 1763-1770, 2004.
88. RIGO, E. C. S.; GEHRKE, S. A.; CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. **Revista Dental Press Periodontia Implantodontia**, v. 1, n. 3, p. 39-50, 2007.
89. LONDONO, M. E.; ECHAVARRÍA, A.; DE LA CALLE, F. Características Cristaloquímicas de La Hidroxiapatita Sintética Tratada a Diferentes Temperaturas. **Revista EIA-Escuela de Ingenieria de Antioquia**, n. 5, p.109-118, 2006.
90. GOUVEIA, D. S.; BRESSIANI, D. S. A. H. A; BRESSIANI, J. C. Efeito do carbonato durante a síntese da hidroxiapatita. In:17° CBECIMat-Congresso Brasileira de Engenharia e Ciência dos Materiais, 17, 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...** Foz do Iguaçu, 2006.p.133-143.
91. HATIM, Z.; MICHRAFY, A.; ELASSFOURI, M.; ABIDA, F. Stoichiometry and particle morphology effects on the aptitude to compaction of apatitic structure powders. **Powder Technology** (2008), doi:10.1016/j.powtec.2008.04.040.
92. ABMANN-EIDEN, S.; VIERTELHAUS, M.; HEIB, A.; HOETZER, K. A.; FELSCHE, J. The influence of amino acids on the biomineralization of hydroxyapatite in gelatin. **Journal of Inorganic Biochemistry**, n. 91, p. 481-466, 2002.
93. RAYNAUD, S.; CHAMPION, E.; BERNACHE-ASSOLANT, D.; THOMAS, P. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio I. Synthesis, characterization and thermal stability of powders. **Biomaterials**, n. 23, p. 1065-1072, 2002.
94. RAYNAUD, S.; CHAMPION, E.; BERNACHE-ASSOLANT, D. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Calcination and Sintering. **Biomaterials**, n. 23, 1073-1080, 2002
95. KOTHAPALLI, C.; WEI, M.; VASILIEV, A.; SHAW, M. T. Influence of temperature and concentration on the sintering behavior and mechanical properties of hydroxyapatite. **Acta Materialia**, v. 52, p. 5655-5663, 2004
96. RODRIGUEZ, C. R.; MACIPE, A. L.; MORALES, J. G.; BURGUÉS, T. T; CASTAÑO, V. M. Hydroxyapatite precipitation: a case of nucleation-aggregation-agglomeration-

- growth mechanism. **Journal of the European Ceramic Society**, v.18, p. 1351-1356, 1998.
97. RAYNAUD, S.; CHAMPION, E.; LAFON, J. P.; BERNACHE-ASSOLANT, D. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio III. Mechanical properties and degradation in solution of hot pressed ceramics. **Biomaterials**, n. 23, p. 1081-1089, 2002.
98. OLIVEIRA, F. P.; FERREIRA, F. R.; WEBER, C.; ANTUNES, S. R. M.; ANTUNES, A. C.; ANDRADE, A. V. C.; BORGES, C. P. F. Influência do Processamento nas Propriedades Mecânicas de Biocerâmicas à base de Hidroxiapatita. In: XV Encontro de Química da região Sul – XV SBQ Sul, 15, 2007, Ponta Grossa/PR. **Resumos...**Ponta Grossa: UEPG, 2007. 1 CD-ROM.
99. CUNHA, S. M.; LAZAR, D. R. R.; USSUI, V.; FANCIO, E.; LIMAN, B.; BRESSIANI, A. H. A. Influência da Relação Ca/P na formação de fosfatos de cálcio sintetizados por precipitação homogênea. In: 17º CBECIMat-Congresso Brasileira de Engenharia e Ciência dos Materiais, 17, 2006, Foz do Iguaçu. **Anais...**Foz do Iguaçu, 2006.
100. KHALIL, A. K.; KIM, S. W.; KIM, H. Y. Consolidation and mechanical properties of nanostructured hydroxyapatite – ($ZrO_2 + 3 \text{ mol\% } Y_2O_3$) bioceramics by high-frequency induction heat sintering. **Materials Science & Engineering A**. n. 456, p 368-372, 2007.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA. Biblioteca Central Prof. Faris Michael. **Manual de normalização bibliográfica para trabalhos científicos**. Ponta grossa: UEPG, 2005.