

KARINA FELICIANO SANTOS

**Deposição da Hidroxiapatita sintetizada a partir da casca de ovos
sobre a superfície de ligas de titânio**

São Paulo
2018

KARINA FELICIANO SANTOS

**Deposição da Hidroxiapatita sintetizada a partir da casca de ovos
sobre a superfície de ligas de titânio.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à
Faculdade de Tecnologia de São Paulo como
requisito para obtenção do Título de Tecnóloga
em Materiais na ênfase em Materiais
Cerâmicos.

Orientador: Prof. Dr. Davinson Mariano da Silva

São Paulo
2018

Agradecimentos

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por esta oportunidade, por permitir a realização de um desejo de poder me dedicar aos meus estudos.

À minha família, pela ajuda e apoio nos momentos mais difíceis, principalmente aos meus pais José Feliciano Santos e Maria Jose A. Feliciano Santos por sempre acreditarem em mim e incentivar a correr atrás dos meus objetivos. Também aos meus irmãos Mariana e Pedro pela paciência por terem me aturado sempre.

Ao meu Profº. Dr. Davinson Mariano da Silva pela orientação, apoio, amizade, ensinamento e discussões que foram fundamentais nesses quase 2 anos de trabalho que me fizeram crescer tanto profissionalmente como pessoalmente. Além disso, sempre presente e muito atencioso disposto ajudar a qualquer aluno com um sorriso no rosto.

Ao Profº. M.e da ênfase de cerâmica, Newton Hauro Saito pelos ensinamentos e por incentivar sempre que devemos estudar para sermos melhor e contribuir com a sociedade.

A Profª. Dra. Vanessa Duarte Del Cacho que tem acompanhado meu trabalho e que não sei como agradecer. Por ter cedido espaço para realização deste trabalho no laboratório de síntese de Materiais (LSM), por ter conseguido o material que foi utilizado para ser precursor na síntese da hidroxiapatita. Não posso esquecer, que ela é a professora responsável por me influenciar a escolher o curso da ênfase de cerâmicos devido seu amor e sua dedicação.

Aos auxiliares docentes, do laboratório (LPCM) Silvano Leal dos Santos pela ajuda experimental e por me ensinar novas técnicas que agregaram de forma significativa o meu trabalho. Ao auxiliar Abrão Chiaranda Merij por ter cedido as placas de titânio e pelas análises de FTIR realizadas na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). E por último, ao auxiliar Jose Augusto Martins Garcia (LMTFO) pela ajuda em montagem de aparatos elétricos e por ter montando a minha caixa do circuito eletroforético.

Ao Aluno João Gustavo Semensin por ter me doado casca de ovo de galinha, que foi de fundamental importância para produzir a hidroxiapatita. Além disso, por ser uma pessoa muito bacana que eu tive a honra de estudar.

Aos meus amigos, Jhonatan, Nataly, Stefany Karine, Bruno, Ana Paula, Beatriz, Lucas, Luciana, Michele, Geize, Emiliane, Tawany, Carol, Thais Maria, Sindy, Pamela, Mirthes e a galera do LTMFO. Em especial duas pessoas que me ajudaram muito, o João Victor Sousa Araujo que sempre lembra de mim me indicando a diversas oportunidades mesmo longe e a Jennifer Lourenço que tem sido uma grande amiga durante todo o curso.

Gostaria de agradecer ao Instituto Semear pelo incentivo financeiro como bolsista por um ano como jovem semente. A oportunidade de fazer parte desse time, que tem como objetivo combater a evasão de jovens universitários em universidades públicas pela sua vulnerabilidade social. Mais do que a bolsa, o instituto me proporcionou conhecer pessoas com ideias incríveis que tem realmente o desejo de melhorar a sociedade com ações de impacto social utilizando a ciência para atingir esse objetivo.

A empresa Anton Paar pelas análises por espectroscopia Raman feitas por cortesia da empresa.

Ao CNPq, pelo incentivo financeiro por meio da bolsa de Iniciação científica.

A todos, que contribuíram de alguma forma seja direta ou indiretamente para realização deste trabalho

Agradeço de coração, muito obrigada!

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

(Marthin Luther King)

RESUMO

A hidroxiapatita (HA), pertencente ao grupo das apatitas, é um fosfato de cálcio com fórmula molecular $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, cuja composição mineral e natural representa em torno de 30 a 70 % da massa óssea e dentária. A HA já é conhecida por ser altamente biocompatível e bioativa. A HA apresenta algumas características como osteoindução e osteocondução, assim permitindo melhor interação entre o implante e o osso. Na etapa final desse trabalho, o objetivo principal foi realizar caracterização da HA e a deposição do material sintetizado em substrato de titânio. Para sintetizar a HA foram utilizadas as cascas de ovos de galinha (COG) como precursoras. O uso da COG é plausível, já que se trata de um material rico em carbonato de cálcio (CaCO_3). Para obtenção da HA foi utilizado o método de precipitação por via úmida. Todo o processo de síntese ocorreu em condições controladas de pH e temperatura afim de obter o material de composição estequiométrica adequada. O produto obtido após processo de síntese foi filtrado, seco em estufa e separado em duas frações, uma destinada a calcinação para obter HA cristalina numa temperatura de 1000°C e a outra destinada sem tratamento térmico para análise, ambas inicialmente foram feitas no equipamento de difração de raios x (DRX). Para caracterizar as amostras obtidas foram empregadas algumas técnicas como microscopia de varredura (MEV) para análise morfológica, a fluorescência de raios X (FRX) para verificar a composição do material, análise termogravimétrica (TGA) para analisar perda de massa sofrida pelo material no processo de calcinação espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Raman (ER) para analisar a composição química do material obtido. As análises de DRX, confirmaram que o produto obtido na síntese era majoritariamente de HA. Ainda pôde-se verificar que o material calcinado apresentou cristalinidade superior às amostras que não foram submetidas a tratamento térmico. De acordo com as análises efetuadas com MEV foi possível verificar a influência da temperatura na morfologia. Inicialmente, a HA apresentou grande número de aglomerados e após o tratamento térmico houve leve mudança de formato das partículas e a coalescências das mesmas. Foram também realizadas análises de TGA para avaliar o comportamento da HA durante a calcinação e sua perda de massa numa faixa de temperatura de 600 a 800°C , que pode ter influenciado na sua composição estequiométrica. Após a síntese da HA, iniciou-se testes de deposição em uma liga de titânio utilizando técnica de deposição eletroforética. Para avaliar as características do filme obtido foram realizadas análises de MEV, que indicaram, de forma preliminar, a formação de um filme poroso

Palavras-Chave: Biomaterial. Hidroxiapatita. Casca de Ovo. Deposição. Liga de titânio. Eletroforese.

Sumário

| | | |
|--------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 9 |
| 1.1 | Objetivos Gerais e Específicos..... | 10 |
| 2 | REVISÃO DA LITERATURA..... | 11 |
| 2.1 | Biomateriais | 11 |
| 2.2 | Classificação dos Biomateriais | 13 |
| 2.3 | Biocompatibilidade | 14 |
| 2.4 | Fosfatos de Cálcio e sua classificação | 15 |
| 2.5 | Hidroxiapatita | 17 |
| 2.6 | Hidroxiapatita Carbonatada..... | 20 |
| 2.7 | Utilização da Casca de Ovo de Galinha (COG) na Produção de Hidroxiapatita (HA) 21 | |
| 2.7.1 | Estrutura e Composição | 22 |
| 2.8 | Métodos Possíveis de Obtenção de Hidroxiapatita (HA)..... | 24 |
| 2.8.1 | Síntese por método via úmida..... | 24 |
| 2.8.2 | Método de síntese por via seca..... | 26 |
| 2.8.3 | Método de síntese por via hidrotermal..... | 26 |
| 2.8.4 | Método de síntese via sol-gel..... | 26 |
| 2.8.5 | Quadro geral de métodos de síntese da hidroxiapatita (HA)..... | 27 |
| 2.9 | Aplicações da Hidroxiapatita | 29 |
| 2.10 | Titânio e suas ligas..... | 30 |
| 2.11 | Filmes finos | 32 |
| 2.11.1 | Deposição de filmes Finos..... | 33 |
| 2.12 | Revestimentos de Hidroxiapatita | 35 |
| 2.12.1 | Deposição por método Sol- Gel | 35 |
| 2.12.2 | Revestimento por eletrólitos | 36 |
| 2.12.3 | Deposição Biomimética..... | 37 |
| 2.13 | Deposição Eletroforética (<i>Electrophoretic Deposition – EPD</i>)..... | 38 |
| 2.13.1 | Fatores que influenciam na deposição eletroforética | 39 |
| 2.13.2 | Fatores que influenciam a suspensão | 39 |
| 2.13.3 | Fatores relacionados ao Processo..... | 40 |
| 3 | MATERIAIS E MÉTODOS | 41 |
| 3.1 | Fluxograma Geral do Processo do Trabalho | 41 |
| 3.1.1 | Tratamento preliminar das cascas de ovo galináceo (COG)..... | 43 |
| 3.1.2 | Obtenção da Hidroxiapatita (HA) pelo método da precipitação por via úmida..... | 45 |
| 3.2 | Caracterização da hidroxiapatita | 47 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.2.1 | Difração de raios X (DRX)..... | 47 |
| 3.2.2 | Fluorescência de Raios – X (FRX) | 49 |
| 3.2.3 | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)..... | 50 |
| 3.2.4 | Caracterização por análise térmica – Termogravimétrica | 52 |
| 3.2.5 | Espectroscopia Raman | 54 |
| 3.2.6 | Espectroscopia por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) | 55 |
| 3.3 | Deposição Eletroforética | 56 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÕES PARCIAIS..... | 59 |
| 4.1 | Características das COG utilizada como precursor na síntese por via úmida | 59 |
| 4.2 | Amostras Produzidas a partir da Síntese por Precipitação | 61 |
| 4.3 | Análise termogravimétrica da hidroxiapatita | 62 |
| 4.4 | Análise de Fluorescência de raios – X (FRX) | 63 |
| 4.5 | Análise de difração das amostras de Hidroxiapatita por DRX..... | 65 |
| 4.6 | Tamanho de cristalito | 66 |
| 4.7 | Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 66 |
| 4.8 | Análises Espectroscópicas Vibracionais..... | 68 |
| 4.8.1 | Espectroscopia no Infravermelho..... | 69 |
| 4.8.2 | Espectroscopia Raman (ER) | 71 |
| 4.9 | Amostras produzidas por eletroforese | 72 |
| 5 | CONCLUSÕES..... | 75 |
| 6 | Propostas para futuros trabalhos | 76 |
| 7 | Divulgação dos Resultados..... | 77 |
| 8 | REFERÊNCIAS | 78 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ca/P Razão Molar do cálcio – fosforo

CHA-Tipo A – Hidroxiapatita carbonatada do tipo A

CHA- Tipo B – Hidroxiapatita carbonatada do tipo B

COG Casca de ovo de galinha

DRX Difractometria de raios X / Difração de raios X

ER Espectroscopia Raman

FTIR Espectroscopia Transformada de Fourier

FRX Fluorescência de raios X

HA Hidroxiapatita

MEV Microscópio eletrônico de varredura

pH Potencial Hidrogeniônico

TGA análise termogravimétrica

Ti-cp Titânio comercialmente puro

1 INTRODUÇÃO

O uso de biomateriais não é recente. Desde a antiguidade existem registros que mostram a preocupação do homem com a reconstrução de tecidos ou órgãos danificados [1,29]. Um exemplo famoso é prótese mais antiga do mundo, datada de aproximadamente 2600 a.C., encontrada na cidade de Tebas, no Egito: trata-se de um dedo artificial, feito de linho. Devido a prensagem esse dedo semelhava a da pele e da textura de couro [29].

Atualmente, os biomateriais vem ganhando cada vez mais importância, principalmente por causa do aumento da expectativa de vida do ser humano como consequência dos avanços tecnológicos da medicina [28].

Os biomateriais podem ser aplicados nos mais diversos tipos de problemas relacionados a saúde humana. Dentre eles podem ser citados diversos dispositivos biomédicos (biossensores e tubos de circulação sanguínea), materiais implantáveis (suturas, placas, substitutos ósseos, válvulas cardíacas, lentes), dispositivos para liberação de medicamentos, órgãos artificiais como coração, rins, pâncreas, pele, curativos entre outros [1].

Biocerâmicas de fosfato de cálcio têm merecido um lugar de destaque entre os biomateriais, pois apresentam ausência de toxicidade nas áreas aplicadas, ausência de respostas inflamatórias a corpos estranhos ou inflamações e possuem habilidade nata de aderir aos tecidos do hospedeiro. As biocerâmicas têm conquistado lugar não somente na medicina e odontologia, mas também nas áreas química, bioquímica, física e ciência dos materiais e engenharia [4].

Dentre as biocerâmicas, a hidroxiapatita (HA) se destaca devido a sua alta capacidade de ser utilizada em diversos procedimentos na área de reconstrução de tecidos ósseos e dentários. Isso se deve a propriedade da HA de ser biocompatível com o organismo e sua semelhança estrutural, química e física a matriz óssea [2].

Há, portanto, demanda para biomateriais fabricados com a HA. São diversos os métodos para a síntese da HA, podendo ser citados os métodos de síntese por via úmida, por via seca, por via hidrotermal e sol-gel [4,14,18]. Este trabalho propõe realizar a obtenção da HA utilizando a precipitação por via úmida utilizando cascas de ovos de galinha (COG) como fonte de alternativa de cálcio.

1.1 Objetivos Gerais e Específicos

O objetivo principal deste estudo é investigar a possibilidade de utilização da casca de ovo de galinha na síntese de HA como biomaterial, empregando o método por via úmida, afim de obter um produto com grau de pureza elevado, com baixa ou ausência de geração de resíduos, que apresente um baixo custo e fácil manipulação. O material obtido será depositado em placas de ligas de titânio por meio da eletroforese.

De forma a atingir o objetivo principal deste trabalho, diversas etapas deverão ser realizadas, elencadas a seguir:

- Caracterizar a casca de ovo de galinha com o objetivo de verificar a sua composição e a possibilidade de sua utilização como fonte de cálcio de HA;
- Realizar a caracterização da HA utilizando as técnicas de difração de raios X (DRX), fluorescência de raios X (FRX), análise termogravimétrica (TGA), Microscopia Eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e espectroscopia Raman;
- Fazer a deposição desse material em uma liga de titânio por meio de deposição eletroforética. Verificar se as características do material recoberto com HA são adequadas para aplicações em próteses metálicas.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Esta seção abordará os principais conceitos e definições sobre os biomateriais e a sua classificação atual. Maiores detalhamentos sobre a hidroxiapatita (HA), bem como sua estrutura serão discutidos, bem como suas principais aplicações, métodos de síntese e as técnicas de caracterização. Dentre os métodos para a obtenção da hidroxiapatita, será detalhado o método de síntese partir da casca de ovo de galinha.

2.1 Biomateriais

Os biomateriais compreendem uma parcela expressiva em produtos utilizados na área da saúde. Estima-se que cerca de 300 mil novos produtos baseados em biomateriais tenham surgido num período de 10 anos. Dentre eles, podemos citar os materiais utilizados nos dispositivos biomédicos, materiais implantáveis, órgãos artificiais, curativos entre outros [1]. Mesmo antes da chegada dos biomateriais no mercado, há séculos as pessoas vem dedicando esforços para encontrar materiais com características adequadas para restauração e substituição de tecidos ósseos no corpo humano [2].

O termo biomaterial pode ser definido como qualquer material ou combinação de materiais que não sejam drogas ou fármacos de origem natural ou sintética, podendo ser utilizados em qualquer período de tempo, como parte ou como um conjunto de sistemas que trata, aumenta ou substitui quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo [1, 3]. Para Caliman et al [4], os biomateriais também podem ser definidos como materiais sintéticos ou naturais que são utilizados para substituir partes de um sistema biológico ou desempenhar uma determinada função em contato com um tecido vivo [17].

Com o avanço tecnológico houve a descoberta de novos materiais sintéticos que podem ser aplicados na substituição de outros tecidos de origem biológica a partir dos materiais cerâmicos, metálicos, poliméricos e compósitos [2]. A Tabela 1 mostra alguns exemplos de biomateriais e suas aplicações típicas.

Tabela 1- Tipos de biomateriais e exemplo de aplicações típicas.

| Biomaterial | | Aplicações |
|-------------|--|---|
| Polímeros | Poliétileno (PE) | Tubos de drenagem e cateteres |
| | Polipropileno (PP) | Suturas e reparo de hérnias |
| | Poli(tereftalato de etileno) (PET) | Enxertos Vasculares, reconstrução de ligamentos e fixação de implantes |
| | Poli(2-hidroxietilmetacrilato) (Poli(HEMA)) | Lentes de contato |
| Metais | Aço inox 316L | Fixação de fraturas, stentes, instrumentos cirúrgicos |
| | CP- Ti; Ti-Al-V; Ti-Al-Nb; Ti-13Nb-13Zr; Ti-Mo-Zr-Fe | Substituição de ossos e articulações; implantes dentários; encapsulações de marca-passo |
| | Liga de ouro, amalgama de Hg- Ag- Sn | Restaurações dentárias. |
| Cerâmicos | Alumina (Al ₂ O ₃) | Confecção de acetábulo e cabeças femorais para ortoplastia de quadril, próteses para joelhos e elementos para reconstrução maxilo- facial. |
| | Zircônia | Junto com Al ₂ O ₃ sujeito a aplicações mecânicas, na confecção de cabeças femorais, prótese de quadril e joelho, ombro e materiais dentários |
| | Biovidros | Reparo ósseo, reconstrução maxilo- facial, cirurgia coluna vertebral e reconstruções otorrinolaringológicas. |
| Compósitos | Scaffolds | Engenharia tecidual que associam biodegradabilidade, propriedades mecânicas de alguns polímeros como PLLA, o PLGA e PCL. |
| | Quitosana | Pode ser associada aos cimentos de fosfatos de cálcio. |

Fonte: [1]

2.2 Classificação dos Biomateriais

A escolha de um material que possa ser empregado como biomaterial leva em consideração uma série de requisitos que devem ser considerados de forma significativa [6]. Entre os critérios a serem avaliados, destaca-se a possibilidade que o biomaterial tem de provocar, em maior ou menor grau, uma resposta imunológica no receptor [5]. A necessidade de reconstruções dos tecidos ósseos danificados levou ao aprimoramento técnico e científico desses biomateriais, para que pudessem substituir ou otimizar certos processos de enxertia. [5,6]

Assim, inicialmente dava-se preferência a materiais de origem biológica, como enxertos autógenos cujo enxerto é extraído do próprio receptor, devido à capacidade osteoindutora, osteocondutora, osteogênica (termos que são explicados a seguir), além de resposta imunológica favorável [5]. Entretanto, o procedimento envolvido na utilização e aplicação desse tipo de enxerto pode ser bastante demorado, e a retirada do enxerto só pode ser efetuada em pequenas quantidades.

As limitações citadas abrem espaço para os biomateriais sintéticos [5]. Entretanto, todo biomaterial deve seguir requisitos afim de promover benefícios ao organismo implantando [6,7], entre eles:

- **Biocompatibilidade:** não provocar no corpo receptor efeitos nocivos nos locais aplicado ou prejudicar sistemas [6];
- **Biofuncionalidade:** o material deve apresentar propriedades mecânicas adequadas a aplicação para que foi indicado [5, 6, 7].
- **Biodegradabilidade:** não ser degradável ou solubilizado (sofrer corrosão) em contato com fluidos do corpo, de forma que substâncias tóxicas não sejam liberadas no organismo que recebeu o biomaterial [6,7].

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com a sua origem, seu mecanismo de atuação e de acordo com seu comportamento fisiológico. A Tabela 2 resume a maneira como os biomateriais podem ser classificados [5,9].

Tabela 2 - Classificação dos biomateriais.

| Origem do biomaterial | Mecanismo de Ação | Comportamento Fisiológico |
|---|--|--|
| <p>Autógenos: geralmente são obtidos do próprio organismo receptor.</p> <p>Enxertos homogêneos: derivados de outro doador, porém da mesma espécie. Enxerto heterogêneos: derivado de um doador de espécies diferentes.</p> <p>Aloplástico ou Sintético: são materiais sintéticos, podendo ser de origem metálica, polimérica, cerâmicos ou compósitos.</p> | <p>Osteoindução: está relacionado com a capacidade de induzir células mesenquimais não diferenciadas, se transformar na área aplicada como uma célula formadora de matriz óssea, ou seja, um osteoblasto.</p> <p>Osteocondução: é a propriedade de um biomaterial servir como arcabouço/ molde/ estrutura para migração e proliferação das células sanguíneas para formação do tecido ósseo.</p> <p>Osteogênico: é capacidade de crescimento de formar osso, sem depender de outras células do organismo receptor.</p> <p>Osteopromotores – através de meios físicos e específicos promovem o isolamento do local, permitindo que haja proliferação de um mesmo grupo de células, os osteoblastos a partir do organismo receptor, afim também de evitar ação de fatores que prejudicam o processo de regeneração</p> | <p>Biotoleráveis: não estabelece uma osseointegração verdadeira, mas leva a formação de um tecido conjuntivo na interface.</p> <p>Bioinertes: não causam reação alguma ao tomar contato direto com os tecidos.</p> <p>Bioativo: não estabelecem osseointegração, mas interagem com tecidos vizinhos de forma a estimular a proliferação de celular.</p> |

Fonte [5,9]

2.3 Biocompatibilidade

O conceito de biocompatibilidade foi atualizado nos últimos anos, pois acreditava-se que um material poderia ser dito biocompatível se fosse totalmente inerte ao corpo, não causando nenhum tipo de resposta no meio fisiológico. Entretanto, recente a ideia de um material inerte foi modificada, pois como mencionado anteriormente, um material aplicado a um corpo sempre causa algum tipo de resposta ao organismo. Desta forma, a biocompatibilidade pode ser definida

como a capacidade de interação dos biomateriais com a interface dos tecidos [23].

A biocompatibilidade pode ser sintetizada como dependentes de alguns fatores tais, como:

- A interface entre o material e o tecido hospedeiro; modificações no material por exemplo em relação ao desgaste
- Corrosão ou degradação do material;
- Resposta localizada no organismo como reações inflamatórias na região aplicada com o implante
- Efeitos sistêmicos no organismo, que é a reação ao corpo estranho, desenvolvendo espécie de um tecido fibroso pouco vascularizado afim de separar o material do tecido vivo [30].

2.4 Fosfatos de Cálcio e sua classificação

Existem diversos tipos de fosfatos de cálcio, que constituem uma família com vasta gama de compostos que podem ser obtidos por diversos métodos e técnicas de síntetização [16,17].

Para classificar esses compostos existem alguns parâmetros importantes que permitem compreender o comportamento inerente desses materiais, sendo eles a razão molar (Ca/P), basicidade e acidez e a solubilidade em água [14-18].

Quanto menor o valor da razão Ca/P, maior é a acidez e a solubilidade do fosfato de cálcio em água. De forma análoga, os compostos básicos serão menos solúveis em água se a sua razão molar for mais alta, logo o pH será mais básico [14-18].

Na Tabela 3 são exemplificados alguns fosfatos de cálcio. As apatitas apresentam menor solubilidade dos que fosfatos mono-hidratado e monocálcico, de acordo com as razões molares mostradas na tabela 3 [4].

Tabela 3 - Alguns tipos de fosfatos existentes com sua razão Ca/P que variam 0,5 a 2, solubilidade e pH.

| Fosfato de cálcio | Formula Química | Ca/P | Solubilidade a 25°C, g/L | pH estabilizada a 25°C |
|---|---|------|---|------------------------|
| Fosfato de tetracálcico (TeCP) | $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ | 2,0 | ~0,0007 | [a] |
| Hidroxiapatita (HA) | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | 1,67 | ~0,0003 | 9 -12 |
| Fluorapatita | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$ | 1,67 | ~0,0002 | 7-12 |
| Fosfato tricálcico (TCP) | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1,5 | ~0,0025 (α) ~0,0005 (β) | [a] |
| Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM) | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0,5 | ~18 | [a] |
| Fosfato monocálcico anidro | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ | 0,5 | ~17 | [b] |

Fonte: adaptada de [4]

[a] Esses compostos não podem ser precipitados a partir de uma solução aquosa.

[b] Estável em temperaturas acima de 100°C

Os fosfatos de cálcio mais conhecidos e estudados são os que possuem estrutura de apatitas, que se caracterizam pelas propriedades isomorfas, ou seja, apresentam semelhanças em sua estrutura cristalina mas podem diferir em sua composição química [4]. O termo da palavra apatita deriva do grego “*apatites*” que significa enganadora. Esses materiais recebem este nome devido à dificuldade para serem identificados em função de suas estruturas por serem semelhantes [4].

As apatitas apresentam a formula química genérica $\text{M}_{10}(\text{YO}_4)_6\text{Z}_2$ as quais podem sofrer substituições nos sítios M^{+2} , $(\text{YO}_4)^{-3}$ e Z^- . As espécies (M^{2+}) são cátions metálicos, que podem ser substituídos por íons bivalentes como Ca^{+2} , Zn^{+2} , Ba^{+2} . Já o grupo $(\text{YO}_4)^{-3}$ representa os ânions trivalentes como: PO_4^{-3} , VO_4^{-3} , CrO_4^{-3} ou MnO_4^{-3} . Por fim, os ânions monovalentes (Z^-) geralmente são substituídos por grupos halogêneos como (F^- , OH^- , Br^- , Cl^-) [4,14,18].

As apatitas que sofrem substituições nos sítios (Z^-) podem originar compostos como a hidroxiapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, fluoro apatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$,

bromatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{Br})_2$ e cloroapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{Cl})_2$ [4,18].

Devido às semelhanças estruturais entre as apatitas, elas podem apresentar composição química similar aos ossos e dentes, sendo assim muito importantes do ponto de vista biológico por serem compatíveis com os tecidos biológicos. Por isso, a HA é uma das biocerâmicas que se mostra interessante por apresentar essas tais características [4, 16,18].

Portanto, os fosfatos de cálcio apresentam-se como importantes materiais de estudo, devido a sua empregabilidade como biomateriais para a reposição e regeneração do tecido ósseo, devido as suas características semelhantes com a fase mineral de ossos, dentes e tecidos calcificados [24].

2.5 Hidroxiapatita

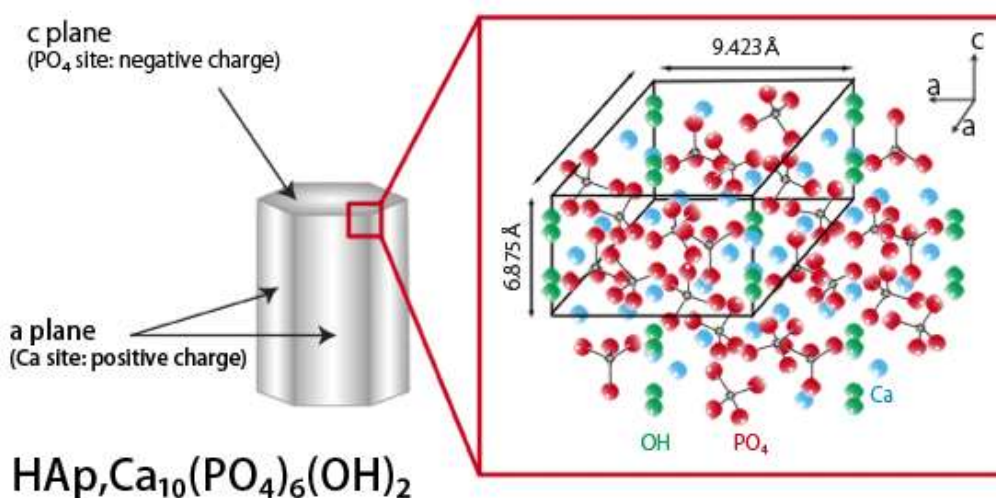
A hidroxiapatita (HA) é uma substância pertencente à família dos fosfatos de cálcio, compondo o grupo das apatitas. Essa substância é encontrada no corpo humano nos ossos e dentes e raramente na natureza [14,18].

A fórmula molecular da HA é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ com razão molar Ca/P de 1,67 e baixíssima solubilidade em água [14]. A HA pode ser produzida artificialmente, e as características do material obtido dependem das temperaturas na qual a síntese foi realizada. Em geral, as HA obtidas a partir de altas temperaturas apresentam tamanhos de grão relativamente grandes e alta cristalinidade. Por outro lado, a HA sintetizada em baixas temperaturas apresenta granulometria mais fina bem como menor grau de cristalinidade [18].

A HA sintetizada pelo método por via úmida apresenta características muito semelhantes ao tecido ósseo e dentário sendo capaz de induzir interação entre os tecidos existentes com o material aplicado, promovendo, desta forma, a osseointegração [14,18].

Em relação a sua estrutura, a sua cristalização na forma hexagonal ocorre em temperaturas acima de 250°C . Seus cristais são prismáticos, terminados em faces dipiramidais [14,18, 37]. Na estrutura hexagonal da Figura 1 a célula unitária apresenta espaçamento no grupo espacial P_{63}/m e as dimensões de sua célula unitária com eixo $a = b = 0,9423 \text{ nm}$ e o eixo $c = 0,6875 \text{ nm}$ e densidade de $3,16 \text{ kg/m}^3$.

Figura 1 - Célula cristalina da HA num sistema hexagonal.



Fonte: [38]

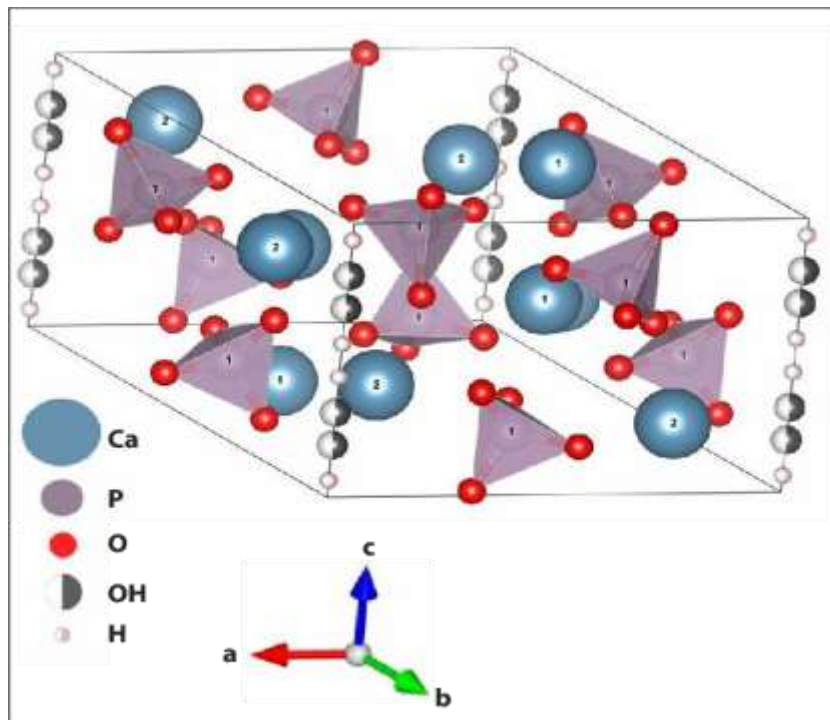
A célula unitária hexagonal da HA apresenta em sua estrutura 10 íons de (Ca^{2+}) localizados em sítios não equivalentes, sendo quatro no sítio 1 (Ca_1) e seis no sítio 2 (Ca_2) octaédrico [14,18,37].

Esses íons localizados nos sítios (Ca_1) estão alinhados em forma de colunas enquanto que os (Ca_2) estão alinhados em forma de triângulos equiláteros perpendiculares a direção da dimensão c na estrutura. Os cátions existentes na estrutura do sítio 1 estão coordenados com os 6 átomos de oxigênio existentes que pertencem a diferentes tetraedros do grupo PO_4 e também a 3 outros átomos de oxigênio relativamente distantes [18].

A existência desses dois sítios dos íons de cálcio impacta na estrutura da HA de forma significativa. Impurezas catiônicas que podem ter suas propriedades estruturais modificadas, dependendo do sítio ocupado pelo cátion. [14,18, 37].

Na figura 2 é possível visualizar como estão situados os cátions em cada sítio na célula cristalina.

Figura 2 - Célula unitária da hidroxiapatita e a situação das espécies

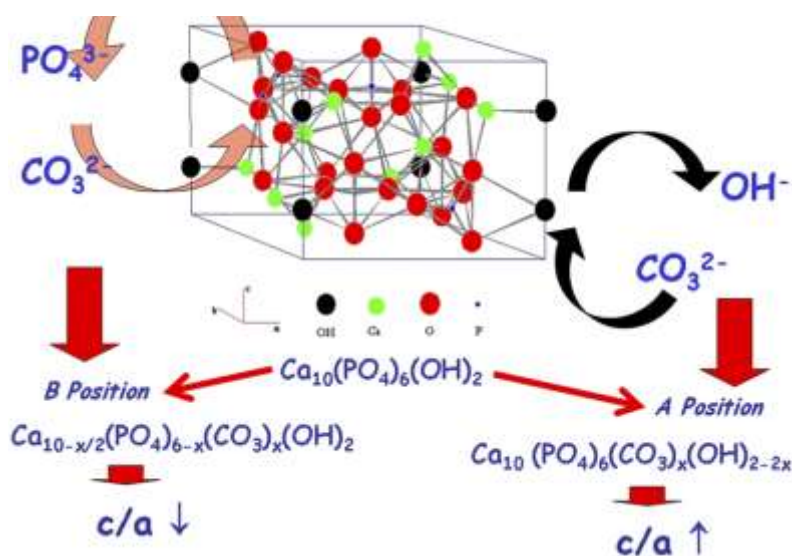


Fonte: [26]

A estrutura da HA permite que haja substituições catiônicas e aniônicas isomorfas. A remoção dos íons de cálcio por substituição pode ocorrer com metais em forma de íons de chumbo, cádmio, cobre, zinco, estrôncio, cobalto e ferro entre outros. Os grupos fosfatos podem sofrer substituição por carbonatos, vanadatos e os íons hidroxila podem ser substituídos por íons carbonatos, flúor e cloro [18].

Esses tipos de trocas iônicas podem alterar a estrutura cristalina, os parâmetros de rede, dimensões no tamanho do cristal, solubilidade, morfologia e a estabilidade do cristal [14,18]. A Figura 3 esquematiza como ocorre a troca dos íons na célula unitária da HA.

Figura 3 - Estrutura cristalina e prováveis substituições iônicas em apatitas carbonatadas.



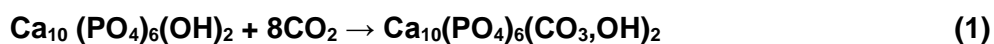
Fonte: [25]

2.6 Hidroxiapatita Carbonatada

As apatitas biológicas diferem da HA pura, principalmente em composição, estrutura cristalina e estequiometria, pois podem conter diversos íons incorporados [60,61]. Desta forma a HA sintética, ao sofrer substituições de seus grupos iônicos, pode apresentar composição química similar a biológica em relação a HA pura [61,59].

Devido ao grande número de possibilidades de substituições dos grupos aniônicos da HA pelo íon carbonato (CO_3^{2-}) em apatitas biológicas e sintéticas, as HA carbonatas podem ser classificadas de duas formas: a HA carbonatada do tipo A (CHA-tipo A), na qual o íon carbonato substitui o íon hidroxila (OH^-) e a HA carbonatada do tipo B (CHA-tipo B), na qual o íon carbonato substitui os grupos do íon fosfato (PO_4^{3-}) [59,60,62-63].

Na CHA-tipo A a substituição do grupo monovalente (no caso a hidroxila) ocorre normalmente quando a HA é preparada em altas temperaturas e na presença de CO_2 . Esse tipo de apatita pode ser caracterizada por apresentar uma expansão na dimensão do eixo *a* e menor a contração do eixo *c* que ocorre devido a substituição alterando a morfologia dos cristalitos e aumentando a sua solubilidade em água [60-63]. A substituição da hidroxila na CHA-tipo A pode ser descrita pela equação (1)



Já nas apatitas CHA-tipo B, $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}((\text{CO}_3)_x, \text{OH})_2$, o íon carbonato substitui o grupo fosfato (PO_4^{3-}) e íons de sódio substituem os íons de cálcio. Este tipo de substituição apresenta efeito contrário ao da CHA-tipo A nos parâmetros de rede, com a expansão no eixo c e contração das dimensões do eixo a. A apatita do tipo B pode ser obtida quando a síntese é realizada em soluções aquosas, pelo método de precipitação ou hidrólise [59,61-63].

Quanto maior a presença dos íons carbonatos na estrutura da HA, maior a solubilidade, a reatividade química e estabilidade térmica do composto. Do ponto de vista biológico, segundo *Sena et al* quanto maior o teor de carbonato incorporado na apatita maior será a sua atividade metabólica no organismo [58].

2.7 Utilização da Casca de Ovo de Galinha (COG) na Produção de Hidroxiapatita (HA)

A busca por novos métodos de obtenção da HA tem ocorrido devido a relevância que o material apresenta na realização de procedimentos para reconstrução e recomposição tecidual.

A utilização de cascas de ovos como fonte alternativa para obter os íons de cálcio no momento da síntese da HA, já foi demonstrada na literatura em diversos trabalhos [4, 14]. Só no ano de 2016 segundo IBGE registrou-se a produção de 3,10 bilhões de dúzias de ovos no Brasil [41,42]. Consequentemente toneladas de casca de ovos foram geradas no período, e a maior parte desse material tem como destino final o descarte aterros.

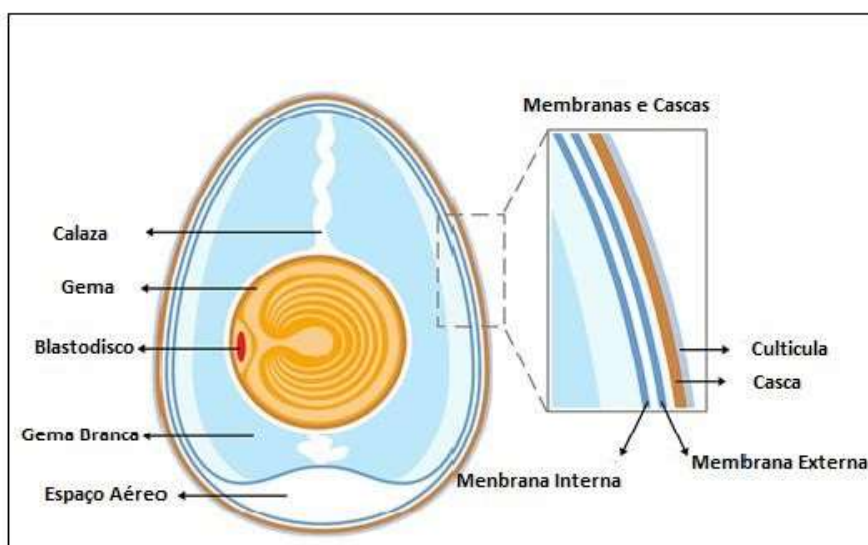
Outra parte é destinada a pequena iniciativa ligadas a agricultura que utilizam a cascas de ovos, que seriam descartadas, com a finalidade de utilizar o CaCO_3 na correção de solos com o pH ácidos, farinhas como complemento alimentar e também como agente de remoção de metais pesados em meio aquoso [14,15,17].

Portanto, neste trabalho busca-se uma nova aplicação para o COG, com o intuito de obter a HA além de contribuir com meio ambiente constituindo uma nova fonte alternativa de carbonato de cálcio (CaCO_3), mineral que geralmente é obtido a partir de rochas calcárias, que são fontes naturais, mas não renováveis [15,17].

2.7.1 Estrutura e Composição

O ovo é constituído principalmente por casca, membrana da casca, gema e clara. Os ovos possuem também, em menor proporção, o disco germinativo, calaza, câmara de ar e cutículas da membrana da casca [12]. Neste trabalho será dada maior ênfase a casca que será estudada como potencial precursor para a obtenção da HA. A Figura 4 mostra os elementos que constituem o ovo.

Figura 4 - Principais estruturas dos componentes do ovo



Fonte: adaptada em [39]

A casca é considerada a embalagem do ovo, sendo composta por substâncias de origem orgânica e mineral que representam em torno de 8 a 11 % dos constituintes do ovo. O carbonato de cálcio (CaCO_3) representa em torno de 94 a 96 % peso da casca, o carbonato de magnésio (MgCO_3) 1,4 % da massa do ovo, e as substâncias orgânicas como glicoproteínas, muco proteínas, colágeno, mucopolissacarídeo constituem cerca de 3 % do peso do ovo. A parte mineral é

composta por 98,02% de carbonato de cálcio (CaCO_3), 0,9% de carbonato de magnésio (MgCO_3) e 0,9% de fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) [12,15].

Na Tabela a seguir 4 mostra a composição química da casca de ovo, sendo o cálcio o elemento que está presente em maior quantidade, devido a presença do carbonato de cálcio.

Tabela 4 - Composição química típica da casca de ovo de galinha contendo os principais minerais.

| Elemento Químico | Quantidade (mg/100g) |
|-------------------------|-----------------------------|
| Cálcio | 30,264 |
| Magnésio | 0,351 |
| Sódio | 0,117 |
| Potássio | 0,042 |
| Estrôncio | 0,103 |
| Fósforo | 0,098 |
| Ferro | 0,002 |

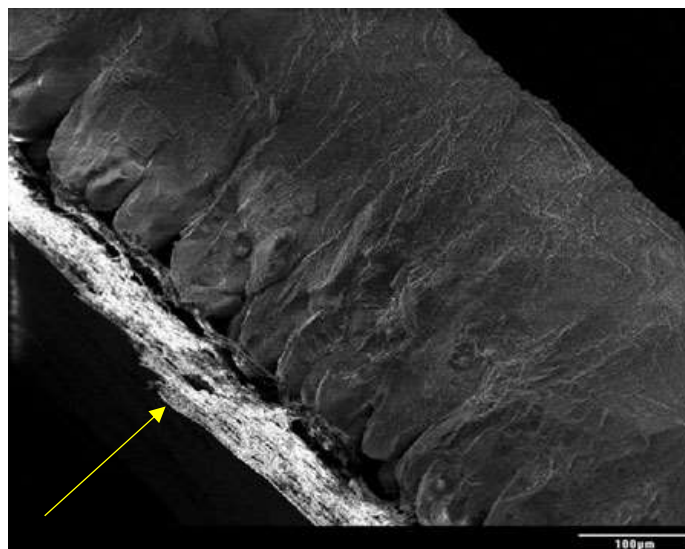
Fonte: adaptada de [40]

É possível também encontrar na casca pequenos poros que possibilitam a respiração do embrião, permitindo a entrada de oxigênio e saída de gás carbônico. Esses poros também apresentam um leve revestimento de uma cutícula cerosa que ainda protege ovo contra a perda de água para ambiente externo e a penetração de microrganismos [15].

A membrana da casca é composta por duas camadas, sendo uma externa que é mais espessa denominada de esponjosa, que é mais próxima a casca, e a outra que se localiza na parte interna é denominada mamilária. Essas duas camadas são formadas por fibras proteicas inter cruzadas, que conferem resistência a casca impermeabilizando o conteúdo dos ovos contra os microrganismos [15].

A micrografia apresentada na Figura 5 evidencia a morfologia típica da casca de ovo reportada na literatura. Obtida por MEV da seção transversal da estrutura da COG, onde as membranas proteicas são evidenciadas. Pode ser claramente observada a estrutura porosa da superfície interna da COG [36].

Figura 5 - Micrografia da seção transversal da COG



Fonte [36]

2.8 Métodos Possíveis de Obtenção de Hidroxiapatita (HA)

A síntese da hidroxiapatita pode ser realizada de diversas formas. Um dos métodos mais utilizados é a técnica de precipitação, que envolve reações via úmida entre os reagentes de cálcio e fósforo. Existem outros métodos que podem ser utilizados na síntese, seja por via úmida, via seca, hidrotermal e método sol-gel [14,18].

2.8.1 Síntese por método via úmida

O método por via úmida consiste na reação entre o ácido fosfórico e com o hidróxido de cálcio. Esse método é muito difundido, sem grandes complexidades em sua operação, fácil acesso, baixo custo [14,18].

Nessa técnica a HA pode ser obtida misturando os dois reagentes em quantidades estequiométricas, com o cuidado de realizar o monitoramento do pH (para que seja maior que 9) e da temperatura. Nesse período o produto sofre o processo de envelhecimento por um longo período de tempo, sendo que após momento reacional ocorre a filtragem, secagem e a sinterização que é feita em altas temperaturas [14,17,18].

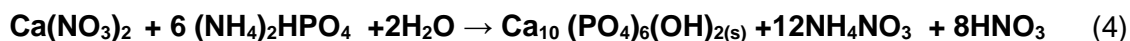
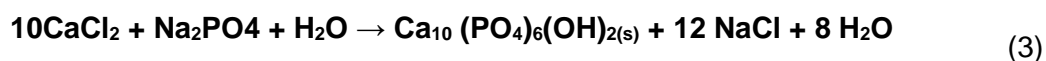
Nesse processo obtém-se um produto com alta pureza e não há geração de resíduos [15]. A reação pode ser mostrada na equação (2):



Para sintetizar HA com características desejáveis deve-se também levar em consideração que, quando os íons fosfatos são adicionados juntamente com os íons de cálcio obtém-se como produto a HA no estado amorfo, apresentando maior solubilidade. Por isso a adição do ácido deve ser feita lentamente para evitar que não haja a falta de homogeneidade química ao produto final. Então faz-se necessário obter maior controle nas condições da solução como o pH, dito anteriormente, temperatura e vazão do ácido controlada, para que não haja formação de uma hidroxiapatita deficiente em cálcio (Ca) ou com morfologias e estequiometrias diferentes [17,18].

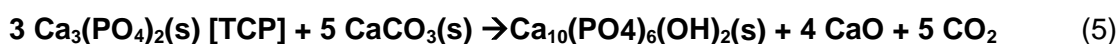
Mesmo em condições ideais, as vezes o precipitado pode se apresentar não estequiométrico, aparecendo formação de produto intermediário. Com o envelhecimento do produto dentro da solução mãe essas fases podem ser formadas pela dissolução e recristalização de fases com solubilidades diferentes. Logo a razão molar da hidroxiapatita só pode ser obtida após um tempo de reação de no mínimo 2 a 5 horas numa temperatura de 90°C, por isso a importância do envelhecimento [14,17]. Outro fator na síntese que influencia na cristalinidade do produto obtido além da morfologia, é a temperatura de síntese, pois quanto maior a temperatura maior será a cristalinidade da HA. A temperatura é responsável em modificar composição e a estrutura, daí a importância de se calcinar posteriormente o material obtido [14].

Outra forma de obtenção da hidroxiapatita pelo método via úmida é pela reação de sais de fosfato com sais de cálcio [18]. Como mostram as equações 3 e 4 respectivamente:



2.8.2 Método de síntese por via seca

Ocorrem por meio de reações de estado sólido entre os reagentes fosfato de cálcio e o carbonato de cálcio em temperaturas elevadas. Esse método exige que haja uma boa mistura dos pós dos reagentes para que haja homogeneidade no momento da reação e minimizar a formação de subprodutos. O produto neste método geralmente é obtido o pó com cristalinidade alta por volta de 1200°C [14,17,18]. A Equação 5 mostra a reação por via seca:



2.8.3 Método de síntese por via hidrotermal

Esse método se assemelha muito ao método por via úmida, entretanto o processo é realizado sob condições de temperatura e pressão controladas. Nesta técnica são utilizados recipientes fechados que possibilitam o controlar e a manutenção da pressão do sistema [18].

Geralmente os reagentes utilizado para obtenção da HA são o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, H_3PO_4 e CaHPO_4 e o $\text{CaHPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [14]. Como resultado da síntese por via hidrotermal é possível obter como produto um pó com granulometria variando de nanômetros a milímetros, bem como materiais porosos com morfologia e estruturas diferentes [18].

2.8.4 Método de síntese via sol-gel

O método do sol-gel é um processo químico via úmida, que consiste na preparação de um pó com alto índice de pureza devido ao grande controle de seus parâmetros no momento do processo, permitindo o uso de reagentes líquidos e dispensando altas temperaturas e alto-vácuo [18].

Esse método permite que os reagentes tenham uma interação em nível molecular, contribuindo para homogeneidade química e física entre o cálcio e o fósforo assim resultando em um pó com microestrutura de granulação fina contendo grãos

muitos pequenos que permite melhorar a reação devido à grande superfície de contato e estabilidade de interface [18].

Geralmente os reagentes mais utilizados nesse processo são o ácido fosfórico (H_3PO_4) e o nitrato de cálcio $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, pois são solúveis em álcoois e água [18]. Após as etapas de processo há a formação do sol, seguido da hidrólise dos compostos do alcóxido e posterior evaporação, transformando o sol em gel que após secagem fornece a HA em forma de pó [14].

2.8.5 Quadro geral de métodos de síntese da hidroxiapatita (HA)

Para ilustrar a variedade de metodologia existente da HA, o quadro 1 mostra algumas características dos processos da síntese seca, úmida e de alta temperatura, além de mostrar algumas das características da HA obtida por cada um destes métodos [46].

Quadro 1 - Métodos de síntese da HA e as características possíveis do material conforme o processamento [46].

| Método | | Aspecto no processo | Característica dos pós obtido conforme o método | | | | | |
|-------------------------|-------------------------|---------------------|---|-------------------------------|---------------|---------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | | <i>Custo</i> | <i>Morfologia</i> | <i>Grau de Cristalinidade</i> | <i>Pureza</i> | <i>Razão Ca/P</i> | <i>Tamanho</i> | <i>Distribuição de tamanho</i> |
| Seco | Estado Sólido | Baixo | Diversa | Muito Alta | Baixa | Variável | Micrometro | Largo |
| | Mecanoquímico | Baixo | Diversa | Muito Alta | Baixa | Não estequiométrica | Nanômetro | Variável |
| Úmido | Precipitação Química | Baixo | Diversa | Baixo | Variável | Não estequiométrica | Nanômetro | Variável |
| | Hidrólise | Alto | Diversa | Variável | Alta | Estequiométrica | Variável | Variável |
| | Sol-Gel | Variável | Diversa | Variável | Variável | Estequiométrica | Nanômetro | Estreito |
| | Hidrotermal | Alto | Tipo Agulha | Muito Alto | Alta | Estequiométrica | Nano ou Micrometro | Largo |
| | Emulsão | Alto | Tipo Agulha | Baixo | Variável | Não Estequiométrica | Nanômetro | Estreito |
| | Sonoquímico | Baixo | Diversa | Variável | Alta | Variável | Nanômetro | Estreito |
| Alta Temperatura | Combustão | Baixo | Irregular | Variável | Alta | Variável | Nanômetro | Largo |
| | Pirólise | Baixo | Diversa | Alta | Variável | Estequiométrica | Nano e micrometro agregado | Variável |
| | Fonte Biogênica | Baixo | Diversa | Variável | Alta | Variável | Variável | Variável |
| | Combinação de Processos | Variável | Tipo Agulha | Alta | Alta | Estequiométrica | Nanômetro | Variável |

2.9 Aplicações da Hidroxiapatita

A HA pode ser utilizada em diversas áreas, dentre as quais a mais comum é o seu uso na área médica, devido sua alta biocompatibilidade. As interações químicas envolvendo a HA, tecidos e ossos permitem o crescimento do osso ao redor de implantes em período curto de tempo. Desta forma, a HA pode ser considerada osteocondutiva. [14, 17].

Existe um interesse particular na área da ortopedia pois a HA pode ser utilizada em revestimento de ligas metálicas, geralmente titânio, pois permite a interação entre as interfaces entre do material com o organismo receptor [17].

Outra área que tem grande interesse por este composto é a odontologia. Geralmente a aplicação da HA está relacionada a perda de tecido ósseo, devido a extrações parcial ou completa do dente [4,14].

A capacidade da HA de absorver/adsorver moléculas, contribui no tratamento de tumores ósseos, pois a HA na sua morfologia mais porosa permite que a liberação da droga utilizada seja realizada de forma gradual no organismo. Essa técnica é interessante, pois permite o tratamento da doença e a substituição do osso doente [4,18].

A sua aplicação não se restringe apenas a área biomédica, mas também na área de análises químicas. Devido à sua capacidade de adsorver moléculas, a HA é utilizada como adsorvente em cromatografia líquida. Essa capacidade está relacionada a estrutura de poros do material. [18].

Na área ambiental a HA pode ser utilizada como catalizador na decomposição de compostos orgânicos, principalmente os clorados provenientes da indústria metalúrgica e da incineração de lixo industrial. A HA também tem sido utilizada como catalisador efetivo para desidratação e desidrogenação de álcoois primários para aldeídos a altas temperaturas [4, 14, 18]. Ainda na área ambiental sua alta capacidade de substituição iônica permite a utilização da HA como absorvedora de metais pesados, como o chumbo, que é extremamente tóxico. Desta forma, a HA pode ser utilizada para descontaminar água, resíduos industriais e solos [14, 18].

Desta forma, a HA apresenta grande potencial econômico e tecnológico, pois pode ser de fácil obtenção e ainda possuir custo acessível. Ainda, suas características podem ser aprimoradas, dependendo de sua empregabilidade e método de síntese, corroborando a importância deste estudo [17].

2.10 Titânio e suas ligas

O titânio puro e suas ligas são considerados materiais atrativos para a área biomédica devido a um conjunto de qualidades, como uma alta resistência à corrosão, alta dureza e por sua boa biocompatibilidade [47-49]. O uso do titânio e de suas ligas utilizadas como implantes cirúrgicos vem sendo crescente desde da sua introdução no mercado a partir de 1947 [48].

O titânio puro (Ti cp), quando utilizado em implantes, recebe uma classificação de acordo com a concentração de elementos em posições de interstícios na estrutura cristalina [49]. Na tabela 5 estão apresentados os quatros graus de pureza do Ti cp. As propriedades podem variar de acordo com a concentração de impurezas presentes [49, 50].

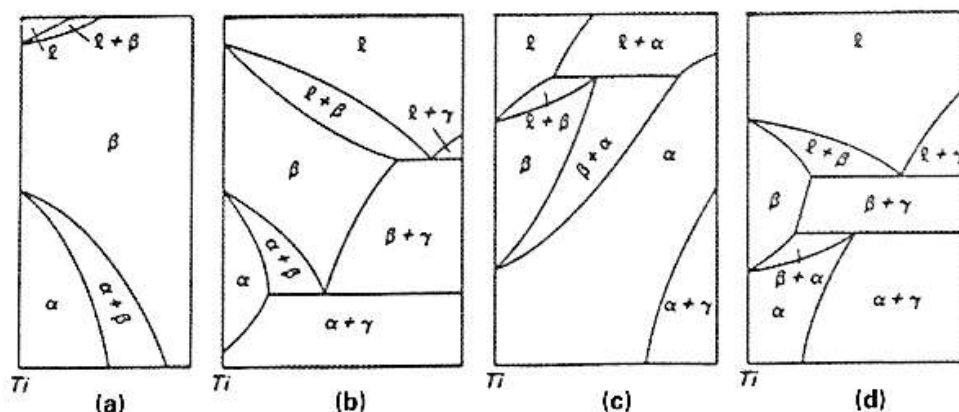
Tabela 5 - Composição química do titânio comercialmente puro.

| Valor das Propriedades do Ti, de acordo com o grau de Pureza | | | | | | | |
|--|--|------|------|------|-------|----------------------------|-----------------|
| Elemento Intersticial | Composição Máxima de impurezas (% Massa) | | | | | Resistência à tração (MPa) | Alongamento (%) |
| | N | Fe | O | C | H | | |
| Grau 1 | 0,03 | 0,20 | 0,18 | 0,10 | 0,015 | 240 | 24 |
| Grau 2 | 0,03 | 0,30 | 0,25 | 0,10 | 0,015 | 340 | 20 |
| Grau 3 | 0,05 | 0,30 | 0,35 | 0,10 | 0,015 | 450 | 18 |
| Grau 4 | 0,05 | 0,30 | 0,40 | 0,10 | 0,015 | 550 | 15 |

Fonte adaptada [49,50]

No caso das ligas de titânio, sua classificação pode ser realizada em termos de suas características microestruturais, podendo ser divididas em três grupos: ligas α (hexagonal), ligas β (cúbica de corpo centrado) e ligas $\alpha + \beta$ [48]. A figura 6 mostra de forma esquemática diferentes diagramas de fase binários para o sistema Ti-X, nos quais X representam elementos de liga estabilizantes de diferentes fases na liga.

Figura 6 - Diagrama Binários para sistemas Ti-X. (a) o elemento X é estabilizador da fase Ti- β , com transformação isomorfa do Ti- $\beta \rightarrow$ Ti- α . (b) o elemento X é estabilizador da fase Ti- β , com transformação isomorfa do Ti- $\beta \rightarrow$ Ti- $\alpha +$ Ti- γ . c) o elemento X é estabilizador da fase Ti- α , com transformação isomorfa do Ti- $\beta \rightarrow$ Ti- α . (d) o elemento X é estabilizador da fase Ti- α , com transformação peritética do Ti- $\beta +$ Ti- $\gamma \rightarrow$ Ti- α .



Fonte adaptada [48]

Como foi colocado anteriormente, diferentes elementos de liga podem ser utilizados para estabilizar as diferentes fases no material [49]. Na tabela 6 estão apresentados alguns dos elementos estabilizadores para as fases α , β e $\alpha+\beta$.

Tabela 6 - Elementos Estabilizadores de fase

| α | β | | $\alpha+\beta$ (ligas neutras) |
|-----------|---------|----|-----------------------------------|
| Al | Mo | Cr | Zr |
| O | V | Si | Sn |
| N | Nb | Ni | |
| C | Ta | Co | |
| | Fe | Mg | |
| | W | H | |

Fonte adaptada [49].

Geralmente, as ligas α apresentam maior resistência a corrosão, mas a sua aplicação em biomateriais é mais restrita por causa de sua resistência mecânica à temperatura ambiente. Já as ligas mistas ($\alpha + \beta$) possuem maior resistência mecânica devido a presença de ambas as fases. As ligas β apresentam alta resistência à corrosão combinada com baixo módulo de elasticidade [49-51]. Na tabela 7 encontram-se os tipos de ligas mais utilizados e suas estruturas cristalinas de acordo com as normas das ASTM [49,48].

Tabela 7- Liga de Titânio para aplicações biomédicas

| Material | Tipo de Liga | Normas |
|---|---------------------|--------------------------|
| Primeira Geração (1950 – 1990) | | |
| Ti cp | A | ASTM F.67.ISO 5832 |
| Ti – 6Al – 4V | $\alpha + \beta$ | ASTM F1108, ASTM F1472 |
| Ti – 6Al – 7Nb | $\alpha + \beta$ | ASTM F1295, ISO 5832 -11 |
| Segunda Geração (A partir de 1990) | | |
| Ti – 13Nb – 12Zr (TNZ) | Metaestável β | ASTM F1713 |
| Ti – 12Mo – 6Zr – 2Fe (TMZF) | B | ASTM F1813 |
| Ti – 35Nb – 7Zr – 5Ta (TNZT) | B | - |
| Ti – Mo – 5Zr – 3Al | B | - |
| Ti - Mo | $\alpha + \beta$ | - |

Fonte adaptada [49-51]

O Ti cp e a liga Ti – 6Al – 4V são as ligas mais utilizadas na odontologia e ortopedia. Entretanto, após 1990 (segunda geração) começou-se a desenvolver novos tipos de ligas com propriedades mecânicas e resistência a corrosão aprimoradas do que os materiais feitos na primeira geração [48-50].

2.11 Filmes finos

O uso de filmes finos como revestimento, com intuito de modificar propriedades superficiais de certos materiais vem sendo aprimorado nos últimos anos devido ao avanço tecnológico. Geralmente os filmes produzidos tem como objetivo otimizar propriedades desses materiais como: dureza, proteção contra-ataques corrosivos, resistência mecânica e abrasivas [68, 71].

Filmes finos podem ser definidos como uma fina película de um certo material que é disposto sobre uma base sólida denominada substrato, sendo que a espessura desta cobertura apresenta dimensões muito menores do que a peça revestida. Esses filmes podem ser obtidos através de processos físicos, químicos ou eletroquímicos. [68, 69, 72]

Geralmente a espessura dos filmes finos são da ordem de nanômetros. Entretanto, é possível obter filmes com espessuras micrométricas, que são necessários em diferentes aplicações. Cabe salientar que não é somente a espessura pequena do filme que apresenta propriedades especiais e distintas, mas sim a sua

microestrutura resultante [69, 72].

Os filmes finos vêm sendo utilizados em diversas áreas industriais como, eletrônica, óptica, sensores, decoração, medicina, mecânica entre outras [69].

Na área biomédica estudos já comprovaram que a utilização de revestimentos biocompatíveis melhoram as características de próteses de titânio. Filmes biocompatíveis podem ainda diminuir as chances de rejeição e minimizar processos inflamatórios. [23,68, 69].

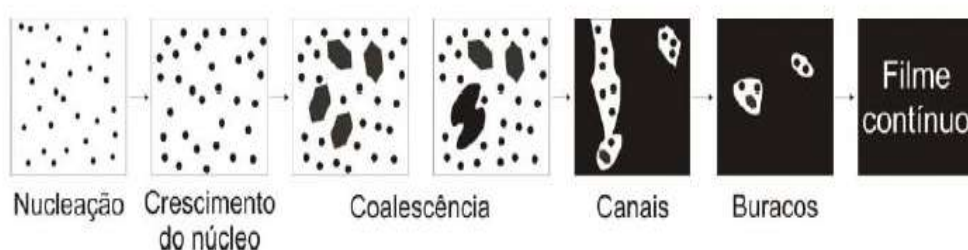
2.11.1 Deposição de filmes Finos

Existem inúmeras técnicas de deposição de filmes finos, cada uma com suas propriedades particulares. Dentre elas, podemos destacar:

- Processos de deposição física à vapor (PVD);
- Processos de deposição química à vapor (CVD);
- Processos de deposição eletroforética (EPD).

A técnicas que utilizam deposição física à vapor (PVD) consistem basicamente na retirada de espécies atômicas de um material (alvo) que são transportadas e depositadas até o substrato. A Figura 7 ilustra o processo de formação do filme fino por PVD. Nesse tipo de processo a formação do filme inicia-se através de pequenos aglomerados denominado (cluster) que são nucleados sobre a superfície do substrato. Esses pequenos aglomerados crescem em ilhas e coalescem para formação do filme contínuo. Os canais formados provenientes do crescimento dessas ilhas formadas, são geralmente formadas por grãos monocristalinos dispostos em diferentes direções cristalográficas. Esse tipo de técnica utiliza normalmente câmaras com gases e baixa pressão [69].

Figura 7- Ilustração esquemática mostrando os passos durante a nucleação e os primeiros estágios do crescimento do filme.



Fonte [69]

Nas técnicas de deposição química à vapor (CVD), o vapor de um composto volátil entra em contato com a superfície a ser recoberta. A temperatura utilizada no substrato fornece ao sistema energia de ativação necessária para induzir reações químicas que resultam em um produto sólido, que é resultante da difusão dos átomos através de uma superfície, facilitada em temperaturas elevadas, aumentando assim aderência do filme formado. A composição e a estrutura nesse tipo de filme são altamente controladas [70, 73].

Tanto os métodos de deposição PVD como os CVD produzem filmes com boa pureza e qualidade estrutural e geralmente são processos com alto grau de reprodutibilidade. No entanto existem algumas desvantagens, relacionado ao custo de processamento e exigência de instrumentação [70].

A técnica por deposição eletroforética (EPD) (que será melhor explicado adiante), é uma tecnologia de deposição eletrolítica úmida para deposição de filmes finos. O EPD emprega o uso do mecanismo da eletroforese, que consiste basicamente num processo coloidal para a produção de filmes em uma série de materiais [74,75].

A técnica de deposição eletroforética apresenta inúmeros relatos referentes a sua aplicação tecnológica, pois permite a obtenção de recobrimento cerâmicos em uma gama de substratos que são utilizadas em diversas aplicações, tais como melhorar a resistência à corrosão, desgaste, recobrimento bioativo para aplicações biomédicas além de aplicações na área eletrônica. Em comparação com os métodos PVD e CVD, métodos eletroquímicos de deposição de filmes apresentam custo-benefício bem atraentes [74].

2.12 Revestimentos de Hidroxiapatita

A HA, como já foi extensivamente reportado na literatura, apresenta excelente biocompatibilidade. Entretanto, como a maioria dos materiais cerâmicos, apresenta baixa tenacidade a fratura, limitando a sua aplicação em regiões que necessitem de esforços mecânicos contínuos. Em contrapartida, os metais apresentam boa tenacidade e resistência mecânica [17, 45-48,61,67].

Em vista disso, é possível combinar a boa biocompatibilidade da HA com a excelente tenacidade dos metais, por meio de um revestimento de HA sobre os metais [61,67]. O revestimento de HA tem sido utilizado sobre diversos tipos de substratos metálicos, para poder obter características desejáveis ou para ativar propriedades que o substrato não possui [67].

2.12.1 Deposição por método Sol- Gel

A técnica sol-gel surgiu como um método versátil para a preparação de filmes finos de óxidos e filmes compósitos contendo óxidos. No método sol-gel os precursores são preparados a partir de soluções contendo compostos como alcóxidos, ou outros tipos de sais inorgânicos como fonte de cátions, água como agente responsável pela hidrólise e álcoois como solventes [70, 79]. Com a mistura desses materiais, tem resultado a hidrólise dos precursores ricos em cátions, que podem condensar dando origem a uma suspensão com partículas muito pequenas (o sol). O processo de condensação pode continuar entre as partículas presentes no sol; a “interligação” das partículas forma uma espécie de uma rede, solidificando o sol em gel. Após a secagem do gel pode-se obter produtos que podem ser submetidos a calcinação/e ou sinterização em baixas temperaturas para obter monólitos, fibras, ou recobrimento cerâmicos [79].

Para preparação de filmes finos ou espessos, são bem usuais técnicas como o “dip-coating”, o “spin-coating” e o “spray coating” normalmente usados para revestir substratos vítreos, cerâmicos, metálicos e poliméricos [70, 79].

Os filmes obtidos por sol-géis representam uma método inovador para a obtenção de revestimentos de superfícies de pequenas ou grandes áreas, com aplicações em dispositivos optoeletrônicos, químicos, fotônicos e mecânicos. Essa técnica não é amplamente utilizada para preparados de recobrimento de HA, sendo

ainda objeto de estudo devido falta de trabalhos na área [79].

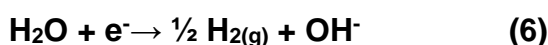
Breme [80], através da hidrólise de uma suspensão de óxido de cálcio com trietila ou fosfato de trimetila obteve o sol e pela técnica “ dip-coating” que foram depositados para recobrir substratos de Ti dopados com manganês. Após um processo de secagem de 1 hora a 130°C obteve a formação do gel, que foi direcionado a calcinação de 600 a 800°C. Como resultado, foi possível a formação de um filme de HA, caracterizado por difração de raios X [79, 80].

Segundo Rigo et al [81] não havia na literatura relatos sobre a aderência da HA ao substrato. O processo sol gel ainda encontra dificuldades devido a baixa produtividade e da toxicidade das substâncias envolvidas. Entretanto, trata-se de um método atrativo, pois permite o controle das características desejadas, pode ser realizado em baixas temperaturas e não demanda equipamentos de alta tecnologia [70-73, 79-81].

2.12.2 Revestimento por eletrólitos

As técnicas de eletrólise são empregadas para depositar filmes com propriedades especiais. Geralmente são obtidos filmes metálicos sobre substratos metálicos, de forma semelhante a eletrólise convencional.

Também é possível realizar a deposição de filmes a base de fosfato de cálcio sobre substratos metálicos, com base na redução catódica da água, conforme mostra a equação (6) [79, 81]:



A reação eletrolítica (6) produz um aumento no pH nas mediações do eletrodo, contribuindo para a precipitação dos íons de cálcio e dos fosfatos presentes, gerando uma camada insolúvel do fosfato sobre o catodo [79].

Comumente, esse tipo de técnica é utilizado para recobrir ligas de Ti com uma camada de fosfatos de cálcio, cuja a estrutura se assemelha a HA carbonatada. Em um processo típico, soluções de CaCl_2 e $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ são utilizadas para obter filmes uniformes de HA carbonatada, que são submetidos à sinterização em vácuo entre 300 a 800°C [79, 82].

O método eletrolítico apresenta como vantagens o baixo custo e a utilização de equipamentos simples. Também se trata de um método promissor para obtenção de revestimentos bioativos de HA sobre substratos metálicos, porém apresenta como desvantagem a impossibilidade de obter filmes espessos, uma vez que a HA é um isolante elétrico, limitando o processo de eletrólise. Ainda, a liberação de hidrogênio pode afetar a adesão da camada de HA e contribuir para surgimentos de poros e a velocidade de formação dos filmes e adesão a camada ao substrato pode ser baixa [79,81].

2.12.3 Deposição Biomimética

A HA biológica presente no tecido ósseo vivo se diferencia da obtida por métodos sintéticos por sua cristalinidade. Ainda, a presença de substituições iônicas em sua estrutura desempenham um papel importante no comportamento biológico da HA biológica [81].

Em 1990, Abe e seus colaboradores desenvolveram um procedimento que permite revestir o substrato com uma camada uniforme de HA biológica com até 15 mm de espessura. Esse procedimento foi empregado inicialmente em ligas de titânio (Ti-6Al-4V), aços inoxidáveis, e outros materiais [81]. No procedimento em questão, é utilizado um fluido chamado de *Simulated Somebody Fluid* - (SBF) de composição iônica semelhante à do plasma sanguíneo junto com o substrato. Uma placa de vidro bioativa é posicionada a cerca de 0,5 mm do substrato. O sistema é mantido a 36,5°C, durante sete dias. Após esse período, forma-se sobre o substrato uma camada contínua e uniforme de aproximadamente 1 mm de espessura compostas por cristalitos de HA biológica muito finos e de aparência fibrosa. Para obter filmes mais densos é possível reimmergir o substrato numa solução mais concentrada durante mais 7 dias, possibilitando a obtenção de filmes de até 15 mm de cobertura. Esse tipo de técnica obteve a HA carbonatada de baixa cristalinidade semelhante HA biológica [79].

O recobrimento biomimético não necessita de equipamentos tecnológicos sofisticados e os reagentes químicos necessários são de baixo custo; como desvantagens destacam-se a baixa produtividade e a baixa adesão [81].

2.13 Deposição Eletroforética (*Electrophoretic Deposition – EPD*)

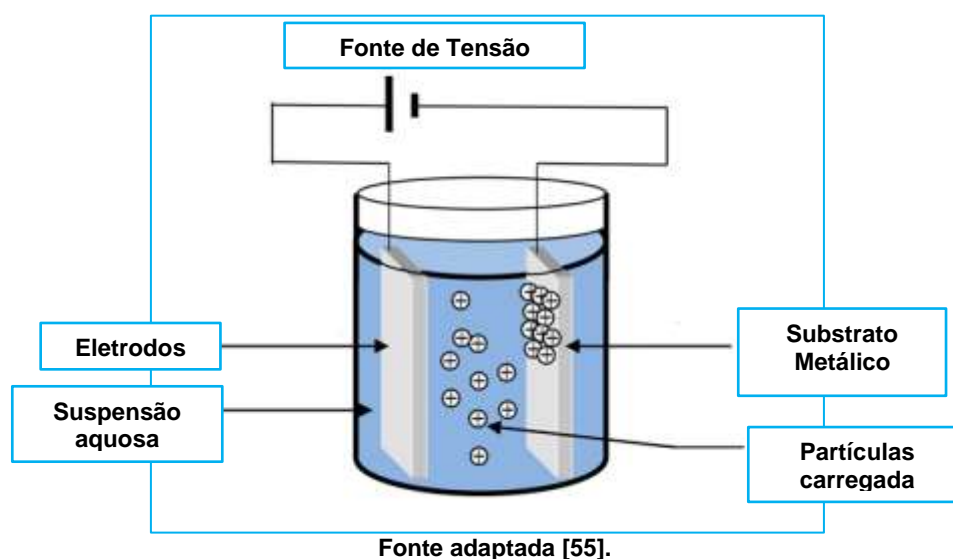
A técnica de EPD é reconhecida por ser uma técnica muito versátil para a deposição de particulado, pode ser considerada como uma variante da conformação por barbotina [52,54].

Essa técnica apresenta como vantagens a rapidez em sua deposição (geralmente em alguns minutos), baixo custo, permite a conformação de corpos cerâmicos de geometria complexas utilizando equipamentos simples, sua deposição permite obter corpos homogêneos e uniformes [52,54].

O EPD pode ser caracterizado como um processo coloidal, realizado a partir de uma suspensão cerâmica eletricamente estável [54, 74]. A deposição eletroforética pode ser descrita por meio da união de dois processos distintos: a *eletroforese*, que é a movimentação das partículas eletricamente carregadas através de um fluido sob a aplicação de um campo elétrico [52, 54, 74, 75] e a deposição que ocorre após a coagulação das partículas que se encontram em movimento sobre um eletrodo com carga elétrica oposta [54, 74,75].

Nesse sistema um campo elétrico DC (corrente direta) promove a migração das partículas coloidais (eletroforese) que movem de um eletrodo para outro (de carga oposta, depositando na superfície de um deles [52-54]. A figura 8 ilustra um sistema de deposição eletroforética de forma esquemática.

Figura 8 - Representação esquemático do processo de deposição eletroforético adaptado.



2.13.1 Fatores que influenciam na deposição eletroforética

O mecanismo da EPD envolve partículas carregadas em suspensão que serão depositadas em um eletrodo (superfície das amostras) sob a influência de um campo elétrico. Para avaliar a qualidade do filme leva – se em consideração dois parâmetros muito importantes. O primeiro relacionado as características do processo (relacionado a suspensão) e outro parâmetro relaciona-se com os processos físicos como a natureza elétrica dos eletrodos, condições elétricas (relação tensão/ intensidade), tempo de deposição [74,75].

2.13.2 Fatores que influenciam a suspensão

Em relação ao parâmetro a suspensão os principais aspectos são tamanho de partículas, constante dielétrica, pois essas variáveis afetam o potencial zeta que é responsável pelo equilíbrio eletroquímico na interface partícula-liquido [74,75].

Os usos de certos solventes também podem ser mais eficientes no processo EPD como acetona e etanol, pois são capazes de formar suspensões estáveis, como boa condutividade [74].

Com relação ao tamanho das partículas, são reportadas na literatura dimensões que a deposição deve ocorrer com partículas na faixa de 1-20 μm . Cabe ressaltar que é possível obter filmes com tamanhos de partículas fora dessa faixa, como a obtenção de materiais em escala nanométrica, que tem sido bastante atrativa para deposição de filmes [74, 75].

O potencial zeta da suspensão é um fator chave no processo de deposição eletroforética. É de suma importância obter uma carga superficial alta e uniforme das partículas suspensas. Sendo de extrema importância na determinação da intensidade da interação repulsiva entre as partículas, direção e velocidade na migração das partículas durante a EPD [75, 78].

Segundo Besra [75] a estabilidade de um sistema depende basicamente da interação entre as partículas individuais na suspensão [75]. Os dois mecanismos que influenciam essa interação são forças eletrostáticas e de Van der Waals [74, 75]. Num sistema coloidal, a formação de aglomerados depende da energia de interação resultante dessas forças, pois é necessário que haja alta repulsão entre as partículas para que não haja formação de aglomerados [74].

A medida que ocorre a deposição, as partículas depositam se aproximam aumentando a força de atração entre elas, se a carga superficial entre elas serem baixas, ao se aproximarem ocorre a formação aglomerados mesmo em distâncias maiores, assim produzindo filmes de baixa densidade [74,75]. Ainda para Besra [75] uma suspensão estável não visa a formação de aglomerados e sedimentação. A suspensões estáveis possibilitam obter filmes com melhor aderência ao substrato [74,75].

2.13.3 Fatores relacionados ao Processo

Verifica-se que a taxa de deposição diminui para maiores tempos de deposição [76]. Isto ocorre pois quando a diferença potencial é mantida constante, a camada cerâmica (isolante) do material que se forma sobre a superfície do substrato (eletrodo) provoca diminuição da influência do campo elétrico, no início da deposição. É possível estabelecer uma relação linear entre a massa que foi depositada e o tempo [74-76].

Comumente, a quantidade de material depositado aumenta conforme aumenta a diferença de potencial aplicado. Entretanto a qualidade do revestimento pode ser afetada devido a aumento de velocidade da deposição. De acordo com Basu et al [76] ao observar a HA em substrato de titânio obtidos em potenciais entre 25 e 100 V resultaram na obtenção de filmes homogêneos. Por outro lado, filmes obtidos em potenciais maiores do 100 V apresentaram-se menos homogêneos. Assim, a diferença de potencial tem o poder de provocar distúrbios na suspensão, afetando o filme, mesmo durante a deposição. As partículas estão sujeitas a se moverem muito rápido não dando tempo suficiente para agregarem – se umas às outras, não formando filmes densos [74 – 77].

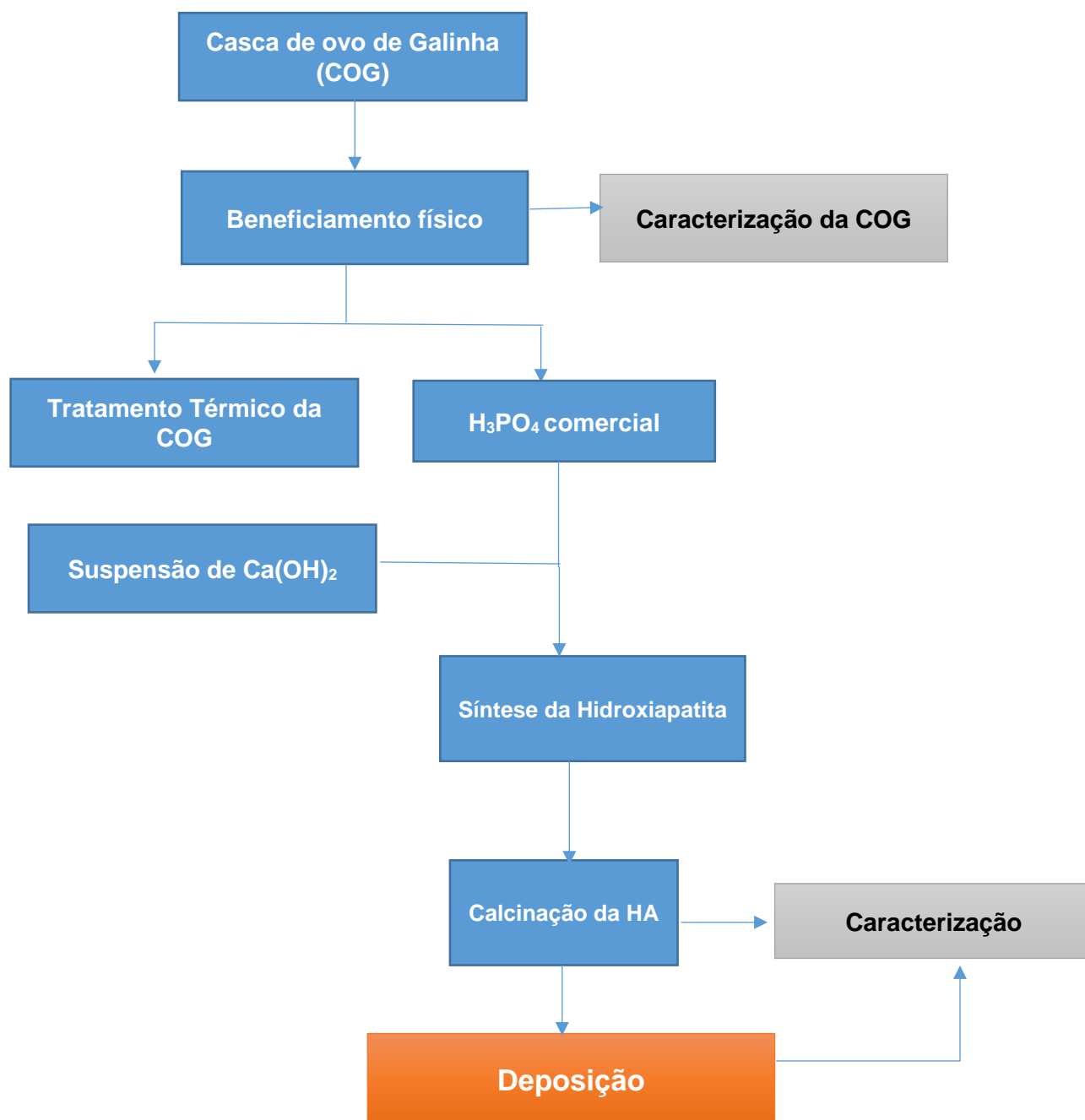
3 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta seção abordará quais técnicas e materiais que foram utilizadas para obtenção da HA, empregando o método de precipitação por via úmida. Será detalhado o tratamento efetuado na casca de ovo na obtenção do carbonato de cálcio que posteriormente será transformado no nosso precursor hidróxido de cálcio. Detalhes a respeito da deposição de HA sobre um substrato de liga de titânio também serão fornecidos. Da mesma forma, as técnicas de caracterização empregadas desde da síntese até a deposição da HA sobre o substrato de titânio serão discutidas.

3.1 Fluxograma Geral do Processo do Trabalho

O fluxograma mostrado na Figura 9 mostra as etapas de processo envolvidas na síntese da Hidroxiapatita (HA) e na obtenção de filmes sobre substrato e titânio. Cada uma das etapas será discutida em detalhes nas seções a seguir.

Figura 9 - Fluxograma com procedimento experimental de síntese da HA até a sua deposição.



3.1.1 Tratamento preliminar das cascas de ovo galináceo (COG)

A casca de ovo galináceo utilizada neste trabalho, foi submetida a um processo de beneficiamento. Inicialmente as cascas de ovo foram enxaguadas diversas vezes em água corrente e deixadas de molho por algumas horas. Decorrido esse tempo, foram retiradas as membranas internas, uma a uma, e enxaguadas novamente. Posteriormente realizou-se um banho em água deionizada por 24 horas, visando retirar qualquer contaminante contido na água de lavagem. Após a remoção do banho em água deionizada, as cascas foram quebradas manualmente, para minimizar seu volume, facilitando seu armazenamento e manuseio.

A etapa de secagem foi realizada em uma estufa a 100°C por 24 horas para eliminar a umidade presente. A estufa utilizada pertence ao Laboratório de Processamento e Caracterização de Materiais (LPCM), da FATEC-SP.

Após o resfriamento foi realizada uma etapa de moagem em moinho de bolas por 24 horas para redução granulométrica, obtendo um pó fino da COG, com uma maior área de superfície específica e maior reatividade favorecendo assim uma adequada homogeneidade na mistura dos reagentes. A figura 10 mostra o pó obtido após a secagem e trituração da casca.

Figura 10 - Casca de Ovo triturada e seca por 24 horas a 100°C.



Fonte: próprio autor

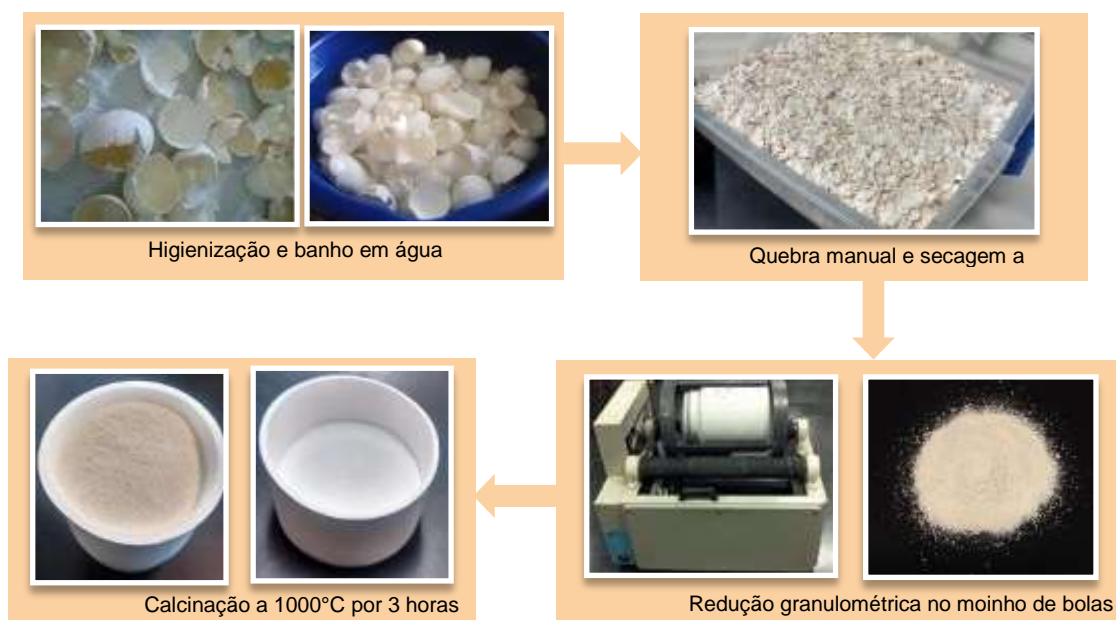
Ao término do beneficiamento físico, foi feita uma etapa de beneficiamento químico a partir da calcinação do pó resultante da COG, visando obter o óxido de cálcio. A decomposição do carbonato de cálcio é representada pela equação (7):



A temperatura de decomposição da calcita (CaCO_3) é de aproximadamente 900°C , segundo a literatura [31]. No entanto, para reduzir a reatividade e a taxa de hidratação do óxido de cálcio, a calcinação foi feita em temperaturas superiores a 900°C . A calcinação foi então realizada a 1000°C durante 3 horas em um forno elétrico da empresa Jung modelo LF2313 do LPCM. Outra etapa de calcinação foi realizada a 1050°C durante 3 horas em um forno elétrico com fluxo de oxigênio (3L/min).

Todas as etapas de beneficiamento da COG mencionadas foram realizadas em trabalho de iniciação científica anterior do Laboratório de Síntese de Materiais [31]. As etapas mencionadas estão ilustradas no fluxograma da Figura 9.

Figura 11 - Fluxograma do beneficiamento da COG.



Fonte [31]

Após a calcinação do pó obtido, foram realizadas análises de DRX para verificar se o material realmente continha apenas CaO .

3.1.2 Obtenção da Hidroxiapatita (HA) pelo método da precipitação por via úmida

Inicialmente, foi preparada uma suspensão de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 , a partir de 5,6 g de CaO proveniente das COG. O CaO foi adicionado lentamente a um béquer com 150 ml de água deionizada até a obtenção de uma mistura homogênea. A preparação da suspensão pode ser vista na equação abaixo (8):



No método de precipitação por via úmida, a obtenção da HA pode ser realizada a partir da reação mostrada na equação (9):



Os reagentes utilizados foram uma solução aquosa comercial de H_3PO_4 com concentração de 2,0 mol/L e a suspensão de hidróxido de cálcio Ca(OH)_2 preparada a partir do óxido de cálcio (CaO) obtido através da casca. Para obter a HA na razão molar Ca/P (1,67), foram utilizados 5,6 g de CaO que foi misturado com 150 mL de água destilada para formar uma suspensão. A suspensão foi homogeneizada e em seguida colocada em balão de fundo chato com capacidade de 250 mL.

Para obter a solução de H_3PO_4 com a concentração de 2 mol/L, utilizou-se uma pipeta volumétrica de 2 mL para obter 1,8 mL de ácido que foi diluído em água destilada de forma a obter 30 mL de solução.

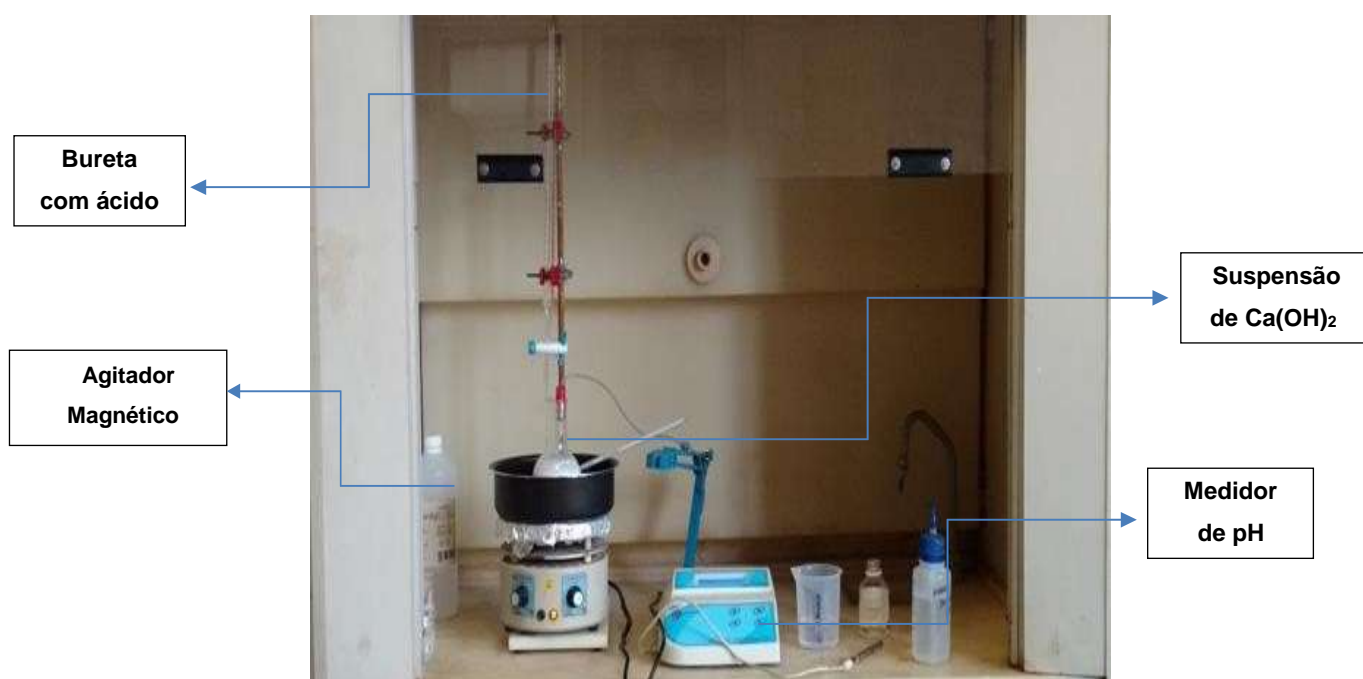
A solução de ácido fosfórico foi colocada em uma bureta, fixada com auxílio de garras universais a um suporte de haste metálica e posicionada acima do balão volumétrico com a suspensão de hidróxido de cálcio. A válvula de saída da bureta foi ajustada para que o gotejamento de ácido na suspensão ocorresse numa vazão de aproximadamente 1 mL/min.

A suspensão contida no balão volumétrico foi submetida à agitação e sua temperatura foi mantida em torno de 40° C com o auxílio de um agitador magnético com aquecimento e banho de glicerina. O sistema foi mantido por 24 horas sob agitação e aquecimento para seu envelhecimento.

O pH da suspensão foi monitorado durante a reação com auxílio de um pHmetro. Caso o pH ficasse abaixo de 10, uma solução aquosa de hidróxido de amônio (NH_4OH) 1:1 v/v era utilizada para correção de pH.

A Figura 12 mostra o aparato utilizado para a síntese de HA por precipitação via úmida. Todo o processo de síntese foi realizado no Laboratório de Síntese de Materiais (LSM) da Fatec-SP.

Figura 12 - Aparato utilizado no momento reacional.



Fonte: Próprio autor

Após o período de envelhecimento, foi obtido um precipitado de cor branca que foi separado por meio de filtragem, e submetido a secagem em uma estufa por 24 horas em 100°C .

Ao término da secagem o precipitado foi desaglomerado em almofariz. Parte do material obtido foi submetido a calcinação em 1000°C por 3 horas numa taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$.

3.2 Caracterização da hidroxiapatita

O pó de HA foi submetido ao processo de caracterização inicial por meio de análises de raios X (DRX), análise termogravimétrica (TGA), fluorescência de raios X (FRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e Raman a fim de identificar as fases presentes, comportamento térmico, morfologia e verificação da composição química.

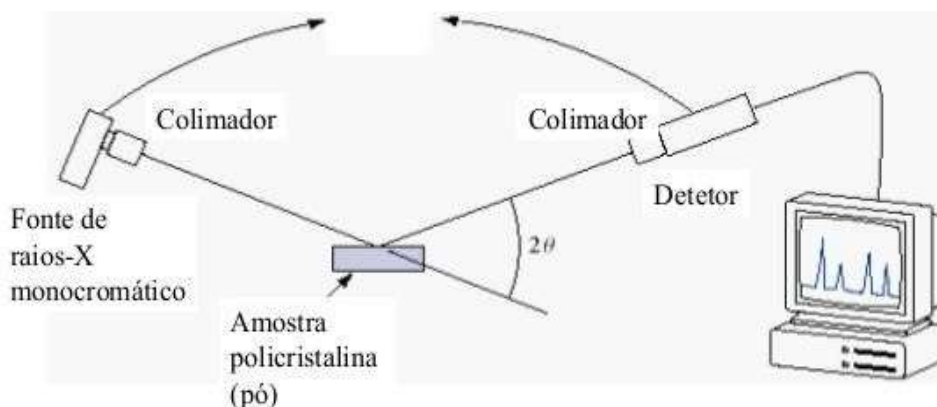
3.2.1 Difração de raios X (DRX)

A difração de raios X (DRX) é uma técnica utilizada para determinar a estrutura cristalina dos materiais. A difração geralmente aplica-se na determinação dos parâmetros de rede de uma estrutura cristalina, tamanho de cristalito, grau cristalinidade e identificação de fases, entre outras finalidades.

A DRX ocorre por causa da interação das ondas eletromagnéticas com os elétrons sobre o material [22]. Dependendo do ângulo de incidência, os raios refletem nos planos cristalinos do material com uma diferença de fase, formando dois feixes que podem interferir construtivamente [20].

Em um material cristalino, as informações obtidas por cada pico coletado são a intensidade e a posição angular. O conjunto de picos de difração e suas posições angulares geralmente são únicos para cada material, o que permite a identificação de fases cristalinas. A figura 13 ilustra o funcionamento do DRX de forma simplificada.

Figura 13 - Esquema básico de funcionamento de raios x



Fonte: [14].

A HA obtida após a precipitação via úmida, como mencionado anteriormente, foi dividida em duas frações: HA calcinada e HA sem calcinação. Ambas foram submetidas à análise de DRX para identificação das fases presentes com o objetivo de verificar se o procedimento adotado para a síntese da HA foi adequado.

Foi utilizado para a análise um difratômetro de Raios-X (Rigaku, modelo Miniflex 2, radiação Cu-K α), mostrado na Figura 12 A análise foi realizada no Laboratório de Processamento e Caracterização de Materiais (LPCM).

Figura 14 - Equipamento de difração de raios X



Fonte: Próprio autor

3.2.1.1 Análise de Tamanho do cristalito

Cristalito pode ser definido como um número de “células” sistemicamente agrupadas que formam espécie de um domínio de difração coerente [44]. Quando o material analisado apresenta Partículas com dimensões inferiores a 1 μm , pode ocorre o alargamento do pico difratado. O alargamento do pico (β) pode ser associado com as dimensões do cristalito (L_{hkl}) através da relação de Scherrer, mostrada na equação (10) :

$$L_{(hkl)} = \frac{K\lambda}{\beta_{hkl} \cos \theta_{hkl}} \quad (10)$$

Onde: K é o fator de forma (usualmente 0,9 para partículas esféricas), λ é o comprimento de onda do raio – X utilizado na análise, Θ é o ângulo de Bragg do pico (hkl) e $\beta_{(hkl)}$ é o alargamento de linha devido ao efeito do cristalito pequeno (dado em radiano). Para calcular o valor de $\beta_{(hkl)}$ temos a equação (11) :

$$\beta_{hkl} = (B - B_0) \quad (11)$$

Onde: B é a largura total a meia altura e a intensidade máxima (*Full Width at Half Maximum* – FWHM) do pico de difração observado e B_0 é o alargamento instrumental ou FWHM do pico de um espécime padrão com tamanho cristalito superior a 1 μm .

3.2.2 Fluorescência de Raios – X (FRX)

A Fluorescência de raios X é uma técnica muito utilizada para determinação da constituição química em amostras em materiais (poliméricos, cerâmicos e metálicos). Um espectro de fluorescência de raios X (FRX) permite detectar a presença de átomos que participam de moléculas, cargas minerais, aditivos etc., possibilitando a determinação qualitativa e quantitativa, pois se baseia na medição da intensidade dos raios emitidos pela amostra [43-45].

A FRX baseia-se na medição das intensidades de raios X, que podem ter fins qualitativos ou quantitativos. Radiações eletromagnéticas de altas frequências com comprimento de onda na faixa de 0,03 a 3 nm. Ao interagir com a amostra a radiação eletromagnética pode ter como consequência a absorção, emissão ou espalhamento de raios-X [43,45].

Esse tipo de instrumento tem adquirido importante papel em análises químicas, devido à possibilidade de detecção simultânea de elementos numa ampla faixa de números atômicos e de concentrações, por não ser um método não destrutivo, geralmente não necessita de tratamento químico, fácil operação e, ainda, apresenta vantagem no quesito tempo. Também, pode ser aplicado em diversas amostras, incluindo as de estado sólido e líquido, sem necessitar de tratamento específico para a preparação das amostras [37].

Foi utilizado para a análise um Espectrofotômetro de raios X, de modelo S2 ranger como mostrado na Figura 13. A análise foi realizada no Laboratório de Processamento e Caracterização de Materiais (LPCM).

Figura 15 - Equipamento de fluorescência de raios X.



Fonte: Próprio autor

3.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

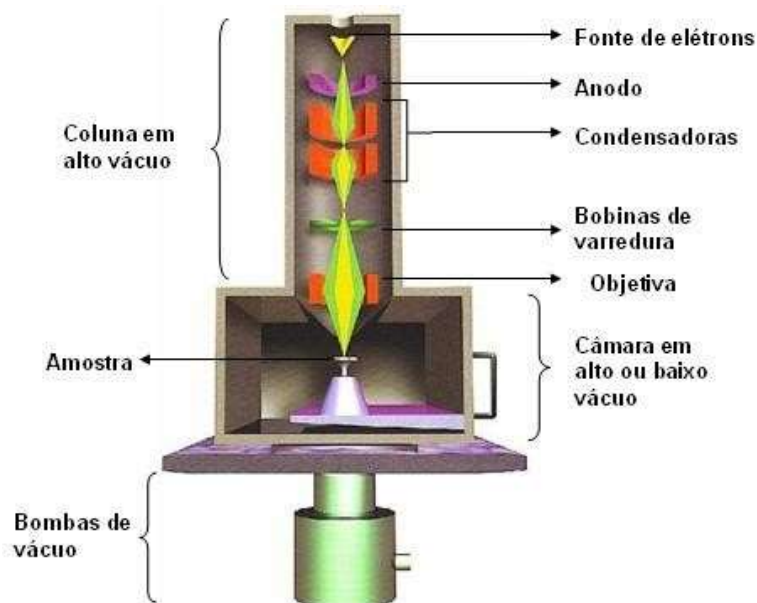
A microscopia eletrônica de varredura é o método mais utilizado para estudar as características microestruturais, bem como a morfologia da superfície de amostras através de imagens de alta ampliação, em até 300.000 vezes o tamanho original [31,32].

O método consiste em acelerar elétrons contra a superfície da amostra a ser estudada. Estes elétrons são provenientes de um filamento catódico aquecido e que viajam em direção ao anodo após serem acelerados por uma diferença de potencial de 0,5 a 30 kV. Estes elétrons são acelerados através de uma coluna em vácuo onde passam por duas lentes objetivas e condensadoras que reduzem o tamanho do diâmetro do feixe. Assim, o propósito destas lentes é reduzir a área que o feixe atinge a amostra para alguns nanômetros (50 a 100 Å). A incidência destes elétrons na amostra resulta na emissão de elétrons secundários, de baixa energia, da superfície, que são coletados por um detector [31,32,43].

A emissão desses elétrons é maior nas regiões de quinas e pontas mais agudas do que em superfícies suaves, pois é nas quinas e pontas que o feixe incide com maior sucesso nos átomos. O contraste das imagens é, portanto, obtido pela diferença de intensidade destas duas regiões, sendo esta proporcional ao número de elétrons secundários coletados [31,32]. O feixe colimado de elétrons varre uma área retangular pré-selecionada na superfície da amostra, ao mesmo tempo em que coleta os sinais do detector projetando os em forma de imagem no monitor do aparelho.

O limite de resolução da microscopia eletrônica de varredura é de aproximadamente 100 \AA [31,32]. A Figura 16 mostra um diagrama esquemático de um MEV tradicional.

Figura 16 - Funcionamento do MEV



Fonte: [33]

As análises de MEV foram feitas no equipamento JEOL, modelo JCM-6000 do LPCM da FATEC-SP Figura 17. As amostras foram analisadas em uma fita de carbono para melhorar o contato elétrico dos pós analisados e minimizar efeitos de carregamento da amostra [31].

Figura 17- Equipamento de Microscopia eletrônica de varredura.



Fonte próprio autor

3.2.4 Caracterização por análise térmica – Termogravimétrica

A análise térmica é definida como um grupo de técnicas por meio das quais uma propriedade física de uma substância ou de seus produtos de reações que é medida em função da temperatura, enquanto essa substância é submetida a uma programação controlada de temperatura e sob uma atmosfera especificada [43].

A tabela 8 exemplifica as técnicas empregadas e as suas respectivas propriedades a cada uma delas.

Tabela 8 - Classificação das principais técnicas termo analíticas

| Propriedade Física | Principais Técnicas | Sigla |
|--------------------|---------------------------------------|-------|
| Massa | Análise Termogravimétrica | TG |
| | Detecção de gás desprendido | EGD |
| | Análise de gás desprendido | EGA |
| | Análise térmica por emissão | ETA |
| Temperatura | Análise Térmica Diferencial | DTA |
| Entalpia | Calorimetria exploratória diferencial | DSC |
| Dimensões | Termodilatometria | TD |

Fonte: adaptada [43]

A análise termogravimétrica (ATG) é usada para determinar a variação da massa da amostra, afim de poder estabelecer a faixa de temperatura nas quais o material adquire composição química definida ou a temperatura onde inicia o processo de decomposição. Desse modo é possível obter curvas de decomposição e estabilidade de compostos intermediários e resíduos. Os métodos utilizados incluem termogravimétrica (TGA), análise térmica diferencial (DTA), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a análise termogravimétrica derivada (DTG) [43].

A TGA pode ser utilizada para observar qualquer reação que envolva uma fase de gás como oxidação ou desidratação. Os equipamentos mais modernos permitem obter a curva DTG, que nada mais que a derivada da TGA, ou seja, é um arranjo matemático que permite relacionar a variação de massa em relação ao tempo em função da temperatura [43]. A Figura 18 mostra o equipamento LABYS, modelo YS do LPCM da FATEC-SP utilizado para as análises efetuadas de TGA.

Figura 18 - Equipamento de análises térmicas.



Fonte: próprio autor

3.2.5 Espectroscopia Raman

Espectroscopia é um termo designado para toda técnica de obtenção de dados físico-químico através de transmissão, absorção ou reflexão da energia que radia sobre uma amostra [64]. Este tipo de método é utilizado para análise de elementos pertencentes a compostos inorgânicos ou na identificação de grupos funcionais de uma amostra orgânica. Existem três tipos de processo pela qual a irradiação eletromagnética interage com a amostra: a espectroscopia de absorção que está relacionada com a quantidade de energia absorvida em função do comprimento de onda, a espectroscopia de emissão que analisa a relação de energia emitida pela amostra em relação ao comprimento de onda e por último a espectroscopia de espalhamento que determina a quantidade da espalhada, levando em consideração o comprimento de onda e o ângulo de incidência da radiação [64,66].

A espectroscopia Raman é uma das técnicas espectroscópicas vibracionais usadas para fornecer informações sobre vibrações moleculares e estruturas cristalinas e também para identificação e quantificação de materiais [64,66]. Esta técnica utiliza uma fonte de luz laser para irradiar uma amostra e gera uma quantidade infinitesimal de luz Raman dispersa, que é detectada como um espectro Raman [65]. As principais aplicações dessa técnica encontram-se na área químico-farmacêutica por não ser uma análise destrutiva de produtos acabados, sejam eles sólidos, líquidos e gasosos, com rápida identificação das amostras [66].

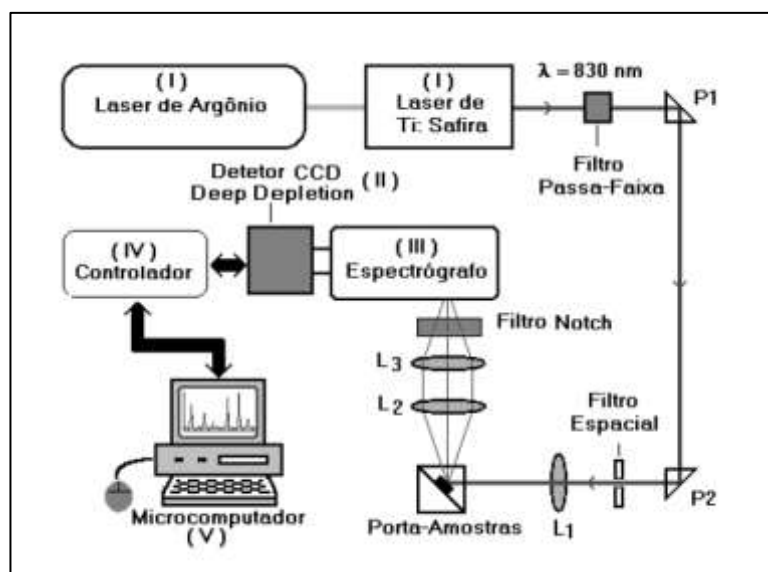
No processo de espalhamento Raman, sob o ponto de vista energético as moléculas passam por um processo de transição energética, ou seja, do estado fundamental para o estado excitado. Cada amostra possui de forma particular o seu próprio conjunto vibracional, formando um espectro Raman que apresentará uma série de picos que se relacionam com a frequência vibracional característica da molécula em análise [64,66].

A identificação da molécula é possível devido as posições relativas dos átomos que não são fixas, variando conforme a vibração em torno de suas ligações. Essas vibrações podem ser de estiramento ou deformações angulares [64].

A figura 19 ilustra o funcionamento do Raman. Um espectro é formado a partir de um laser que incide sobre uma amostra que será estudada. A luz espalhada é dispersa em monocromador que separa os diversos tipos de comprimentos de ondas por interferência. Em seguida o sinal Raman é coletado por um filtro do tipo Notch,

que tem como função separar os sinais baseado nos tipos de frequência. Assim os dados obtidos são enviados ao espectrômetro (equipamento responsável em fazer o registro de um espectro luminoso) ligado a um detector que fará a conversão para sinais elétricos que são interpretados por computadores que por fim processarão os dados e exibirão o espectro Raman correspondente [64].

Figura 19 - Diagrama ilustrativo de um sistema de espectroscopia Raman de bancada.



Fonte [64]

Neste trabalho as análises por espectroscopia Raman foram obtidas por cortesia da empresa Anton Paar. Em todas as análises, os espectros foram obtidos sob excitação com laser de 785 nm.

3.2.6 Espectroscopia por infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Existem inúmeras técnicas que permitem obter informações sobre a estrutura molecular e ligações químicas das substâncias. Dentre estas podemos citar a espectroscopia no infravermelho (IV), que estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria [58,59].

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma ferramenta utilizada em avaliações qualitativa e semi-quantitativas para identificação de compostos de grupos orgânicos e inorgânicos presentes amostras [58].

Neste trabalho esse tipo de análise foi empregado com intuito de detectar frequências das vibrações das ligações químicas nas amostras sólidas de forma complementar com as demais técnicas já realizadas [20].

Na técnica de espectroscopia no infravermelho a amostra é irradiada com luz no infravermelho, no qual as moléculas ou agrupamentos atômicos presentes na amostra vibram ao absorver energia [20]. Desde modo, gera-se um espectro de infravermelho quando estes grupos funcionais absorvem energia incidente com um determinado comprimento de onda [20].

A espectroscopia no infravermelho tem sido amplamente utilizada para análise de vários compostos, tem sido aplicada em diversas áreas de estudo, principalmente na farmacológica, médica e biológica [59].

Neste trabalho, todas as análises de FTIR foram realizadas na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), em São José dos Campos.

3.3 Deposição Eletroforética

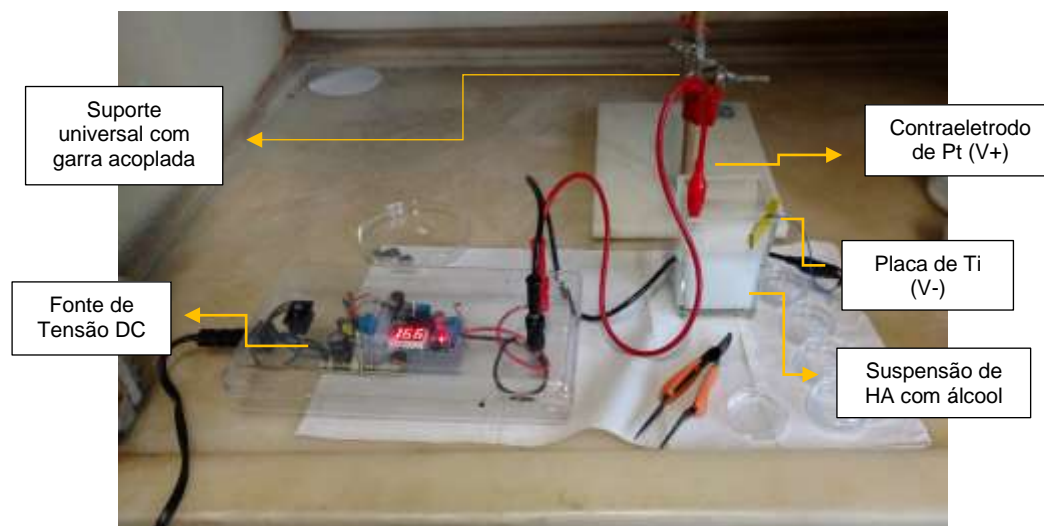
Neste trabalho, uma suspensão coloidal foi preparada com 0,5 g de HA calcinada, obtida a partir das COGs, em 80mL de álcool etílico (C_2H_6O). A mistura foi agitada mecanicamente em temperatura ambiente.

Foram adicionados suspensão 3 mL de uma solução de ácido clorídrico (0,1M). Em seguida a solução foi deixada em repouso durante uma hora para a sedimentação de aglomerados.

As placas metálicas de liga de titânio (Ti-Al-V) foram previamente lixadas em lixas d'água com granulometria de 180, 200, 300, 400 e 600 mm. Em seguida a placa foi lavada com água corrente, água deionizada, com álcool metílico e acetona para remoção de possível gordura sobre a superfície.

Para realizar o processo de deposição, a placa de liga de titânio foi utilizada como eletrodo de trabalho, no qual foi aplicado potencial negativo. Foi utilizado um contra eletrodo de platina, a distância entre os eletrodos foram de 40mm. Na figura 22 é possível observar o aparato instrumental utilizado.

Figura 20 - Aparato instrumental utilizado na deposição eletroforético



Fonte próprio autor

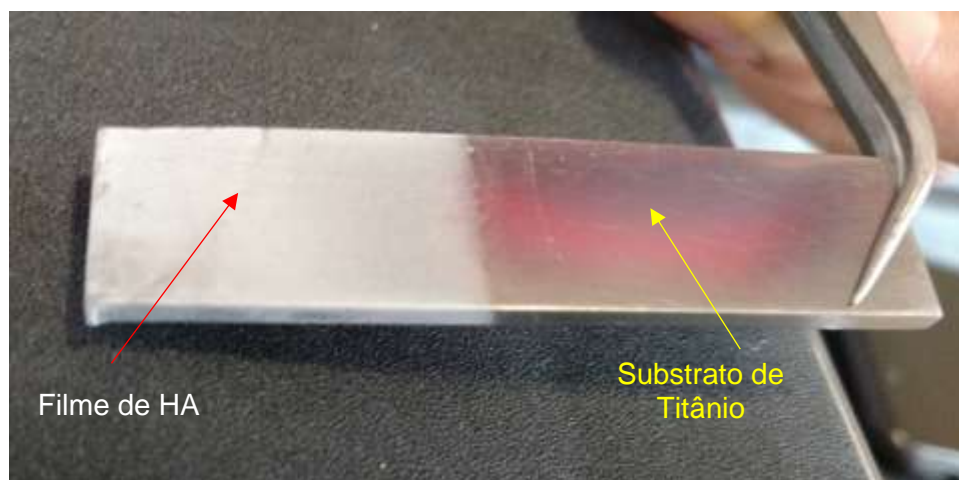
A tabela 9 mostra as condições utilizadas no processo de deposição eletroforética para a obtenção de filmes de HA sobre os substratos de liga de Ti.

Tabela 9 - Grupos de amostras revestidas com HA calcinada

| Amostras | Tensão (V) | Tempo (minutos) |
|---------------|------------|-----------------|
| Grupo inicial | 12 | 3 |
| Grupo 1 | 12 | 6 |
| Grupo 2 | 12 | 9 |
| Grupo 3 | 12 | 12 |

Posteriormente, a placa de titânio, já com o revestimento de HA, foi submetida a um tratamento térmico em 800°C por período de 3 hora com objetivo de melhorar a adesão do filme com a liga de titânio. As placas obtidas foram caracterizadas utilizando o MEV. Na figura 21 é possível observar amostra obtida pela técnica, o filme formado sobre o substrato metálico, após o processo de deposição.

Figura 21- Amostra inicial de titânio com revestimento de HA calcinada



Fonte: próprio autor

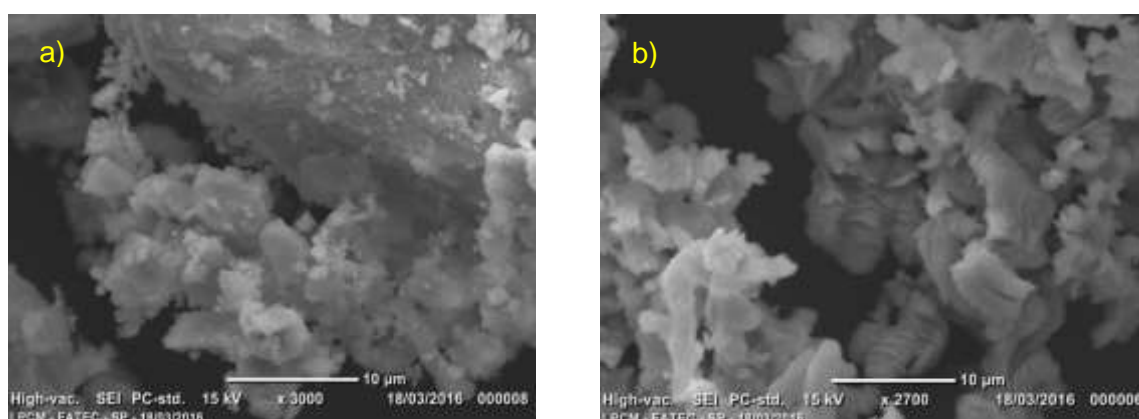
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES PARCIAIS

Esta seção apresenta os resultados obtidos após a realização da síntese por via úmida, com o objetivo de confirmar se o método proposto neste trabalho foi adequado para a síntese da HA. Ainda nessa seção, será mostrado novos resultados obtidos com o processo de deposição realizado através da técnica eletroforética.

4.1 Características das COG utilizada como precursor na síntese por via úmida

A Figura 22 (a) e (b) mostra as micrografias obtidas por MEV das COG sem tratamento térmico e após tratamento térmico em 1000 °C por 3h.

Figura 22 Micrografias da COG sem tratamento térmico.



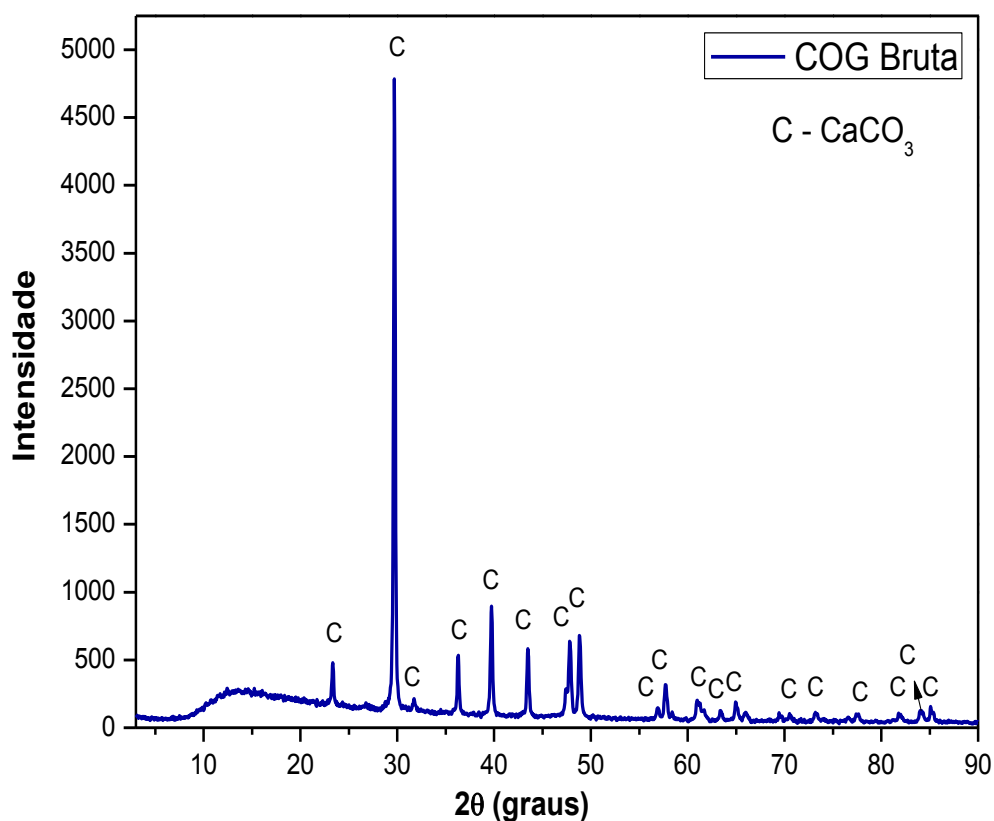
Fonte: Simensin [31]

A micrografia 22 (a) correspondente à casca de ovo sem tratamento térmico evidenciou a presença de partículas com granulometria fina aderidas à superfície de partículas maiores. As partículas menores podem estar relacionadas a pequenos fragmentos da COG encontram-se possivelmente restos de membrana e cutículas [31].

Após a calcinação, restam apenas partículas maiores com alta rugosidade de superfície Figura 22 (b) A rugosidade superficial apresentada pelas partículas pode estar relacionada a decomposição do carbonato e liberação do CO₂ no interior da estrutura do pó da COG, como consequência da calcinação.

A Figura 23 apresenta o difratograma da casca de ovo galináceo (COG). Observou-se que após a calcinação, a análise de DRX da COG apresentou apenas picos característicos da fase cristalina do carbonato de cálcio. Este resultado é importante, pois indica que a COG pode, de fato ser utilizada como precursor para a síntese de HA por via úmida.

Figura 23 - Difratograma realizada da COG



Fonte: [31]

4.2 Amostras Produzidas a partir da Síntese por Precipitação

A Figura 24 (a) mostra o precipitado obtido imediatamente após o período reacional, ainda com o sobrenadante, sedimentado no fundo do béquer. A figura 24 (b) mostra o precipitado após filtragem e secagem em estufa por 24h a 100°C. Como esperado, o pó obtido após o processo de síntese apresentava baixa solubilidade em água, o que tornou fácil a separação, mesmo com granulometria fina, por filtragem.

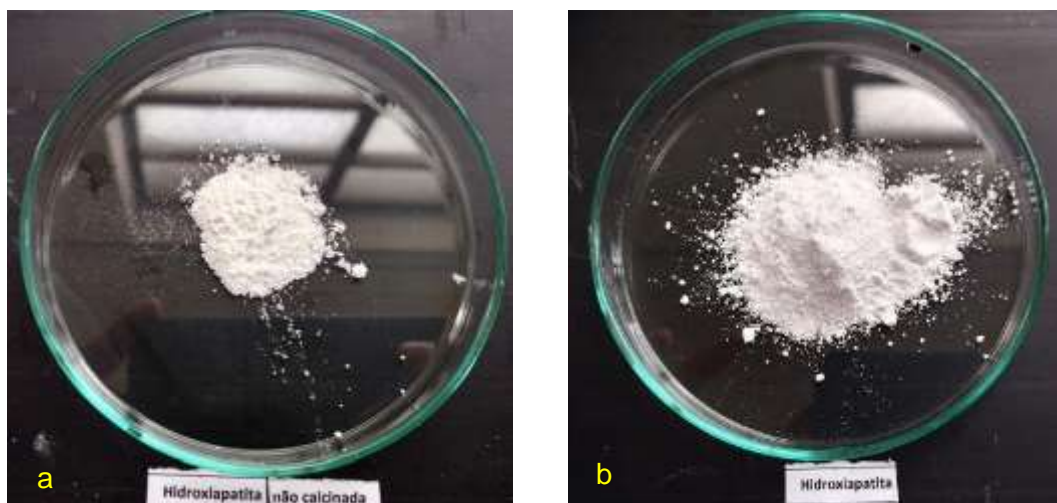
Figura 24- Precipitado obtido após período reacional (a) e precipitado após filtragem e (b) após a secagem em estufa a 100°C



Fonte: próprio autor

A Figura 25 apresenta a aparência dos pós-sintetizados. Observou-se que o pó obtido após a síntese por via úmida apresentou granulometria fina e cor branca. Após a calcinação em 1000 °C durante 3h, não houve mudanças significativas na aparência do pó obtido.

Figura 25 - Materiais sintetizados sem tratamento térmico (a) e (b) após beneficiamento térmico em 1000 °C por 3h.

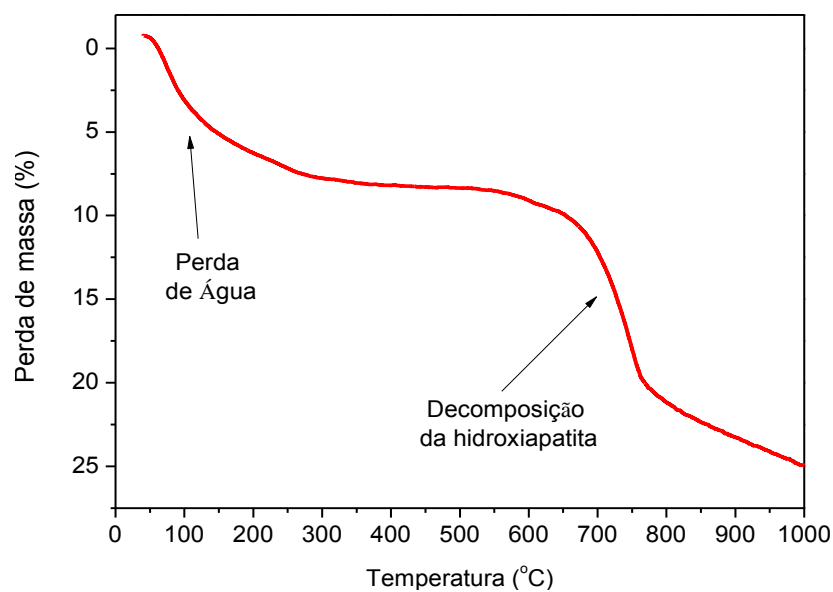


Fonte: Próprio autor

4.3 Análise termogravimétrica da hidroxiapatita

O resultado da análise termogravimétrica é mostrado na Figura 26.

Figura 26 – Resultado da análise termogravimétrica da HA não calcinada



Fonte: Próprio autor

É possível observar através do resultado do TGA que a amostra de HA,

apresentou duas etapas de perda de massa. A primeira etapa de perda de massa, em aproximadamente 100 °C, corresponde a evaporação da água não estrutural presente no material. Verificou-se, por meio da curva obtida, que a perda de água corresponde a aproximadamente 8%.

Também se observa na Figura 26 uma perda de massa de aproximadamente 12% entre 600 e 800 °C. A perda de massa nessa faixa de temperatura é atribuída, em alguns trabalhos, a decomposição da HA [44].

A decomposição pode ser atribuída a substituição dos íons de fosfato na molécula por íons de carbonatos em seus sítios. Essa substituição sugere que a HA obtida tenha predominância de carbonatos em sua composição, caracterizando-a como CHA – tipo B, na qual ocorrem substituições dos íons fosfatos pelo carbonato. Também é possível que ocorram substituições dos íons de fosfato e das hidroxilas simultaneamente, o que poderia dar origem a CHA- tipo AB [63, 83-85].

Já é conhecido o fato de que a estabilidade térmica das apatitas pode ser influenciada pela presença do íon carbonato. A HA carbonatada decompõe-se em temperaturas menores com aumento de teor desse íon. Na decomposição da molécula, é formado o óxido de cálcio como fase secundária [63,83 -86].

4.4 Análise de Fluorescência de raios – X (FRX)

Os resultados obtidos das análises de FRX para as amostras de HA antes e após calcinação à 1000 °C estão apresentados na Tabela 10. Na composição química da HA pura, 39,82% da massa é de cálcio e 18,52% da massa corresponde ao fósforo. Entretanto foram encontrados 51,2% em massa de cálcio e de fósforo 12,5% e o restante está dividido entre traços dos demais elementos.

As composições químicas obtidas a partir das análises de FRX são similares a de outros trabalhos da literatura [40], e essa variação pode ocorrer devido à composição química da COG [40].

Os resultados expressos na Tabela 10 também indicam que a HA obtida no processo de síntese não apresenta composição estequiométrica. Na HA estequiométrica, a razão mássica teórica esperada, Ca/P, é de 2,16. A amostra de HA apresentou razão Ca/P de 2,77 antes da calcinação e após tratamento térmico em 1000 °C, a razão Ca/P observada foi de 4,12.

Tabela 10 -Composição Química da HA antes e após calcinação à 1000 °C

| Elemento | Concentração | |
|----------|----------------|--------------------|
| | Calcinação (%) | Não calcinação (%) |
| Ca | 51,2 | 49,4 |
| Na | 16,2 | 14,1 |
| P | 12,5 | 17,7 |
| Cl | 2,1 | 1,81 |
| K | 0,132 | 0,192 |
| Tr* | < 0.01 | < 0.01 |

Tr*- Traço de outros elementos

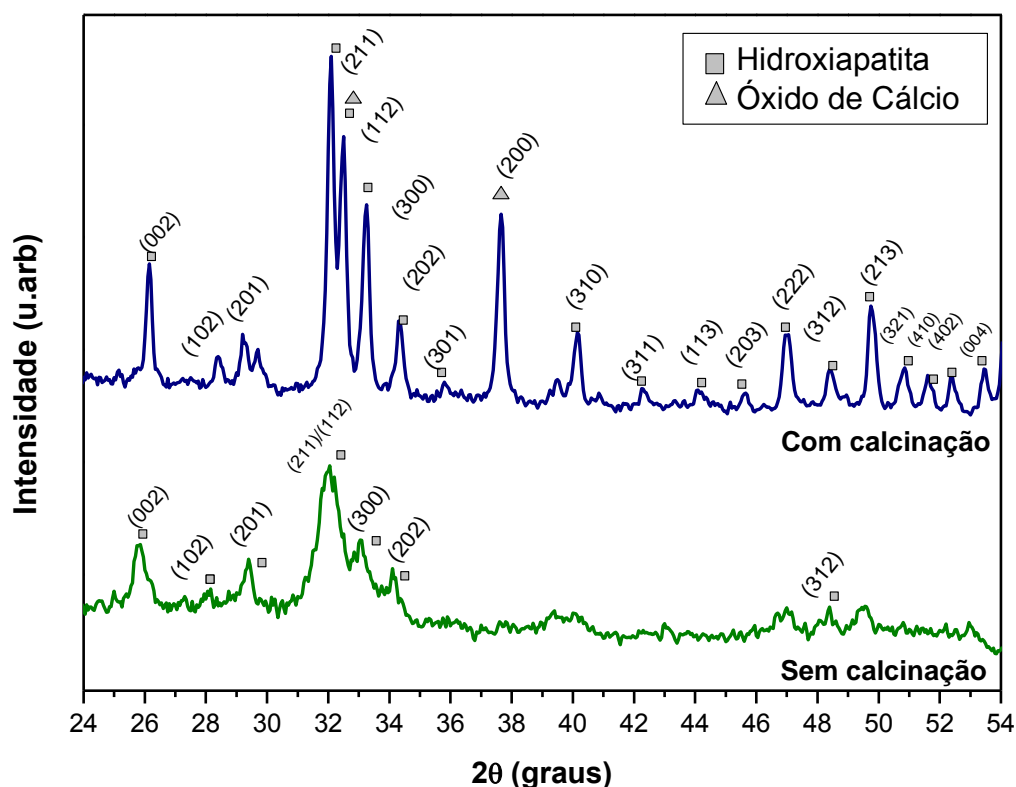
A Tabela 10 ainda mostra que houve um aumento da concentração de Ca e diminuição do fósforo e de outros elementos, para a HA que sofreu o processo de calcinação. Este resultado sugere que realmente a apatita formada é a CHA-Tipo B, como foi discutido nos resultados das análises de TGA. Geralmente esse tipo de apatita pode ser obtida através de soluções aquosas, como as utilizadas nos métodos de precipitação ou hidrólise [59,63]. Entretanto, somente após a calcinação é que a obtenção da CHA-Tipo B é percebida, devido a decomposição da HA. Segundo *Wong et al* a síntese da HA em altas temperaturas pode resultar na decomposição do carbonato em HA pura e óxido de cálcio, com a consequente liberação de dióxido de carbono [59, 63].

Na CHA-tipo B é comum que ocorram trocas simultâneas e aos pares entre os íons CO_3 no lugar do PO_4 e do Na^+ no lugar do Ca^{2+} [59,63]. Ao visualizar a tabela 10 também se nota uma maior concentração de Na após a calcinação, o que corrobora os resultados obtidos.

4.5 Análise de difração das amostras de Hidroxiapatita por DRX

A figura 27 mostra os difratogramas obtidos para as amostras sintetizadas sem e com beneficiamento térmico. A partir dos difratogramas foi possível verificar a presença de HA nas amostras com e sem tratamento térmico. A presença da HA foi confirmada utilizando a ficha (ICCD - 01-073-1731).

Figura 27 - Difratogramas das curvas da HA calcinada e não calcinada



Fonte: próprio autor

A Figura 27 também indica que a amostra que recebeu tratamento térmico apresentou maior grau de cristalinidade, como já era esperado, com picos melhor definidos e de maior intensidade em relação a curva da amostra não calcinada. As análises de DRX indicaram que o processo de síntese por via úmida foi adequado e ainda que o processo térmico utilizado favoreceu o crescimento dos grãos, já que a largura dos picos de difração das amostras calcinadas é menor. Ainda, após o processo de calcinação, verificou-se o aparecimento de uma fase relacionada ao CaO.

A presença de CaO também foi confirmada por outros métodos de caracterização como o FRX, ER, FTIR, como será mostrado a seguir. Segundo Azevedo *et al* [44] as amostras com excesso de cálcio e alta razão mássica Ca/P apresentam picos de difração mais bem definidos e sem presença de fases de outros fosfatos de cálcio como (β - TCP). Isso ocorre, pois o excesso de cálcio favorece a formação de compostos como Ca(OH)_2 que, ao serem submetidos a tratamento térmico sofrem desidroxilação irreversível do hidróxido de cálcio e sua posteriormente decomposição em CaO. Os picos de hidróxido de cálcio não são observados facilmente nos difratogramas devido a sua baixa concentração no material geralmente, assim sendo mascarados por picos da própria HA [44].

4.6 Tamanho de cristalito

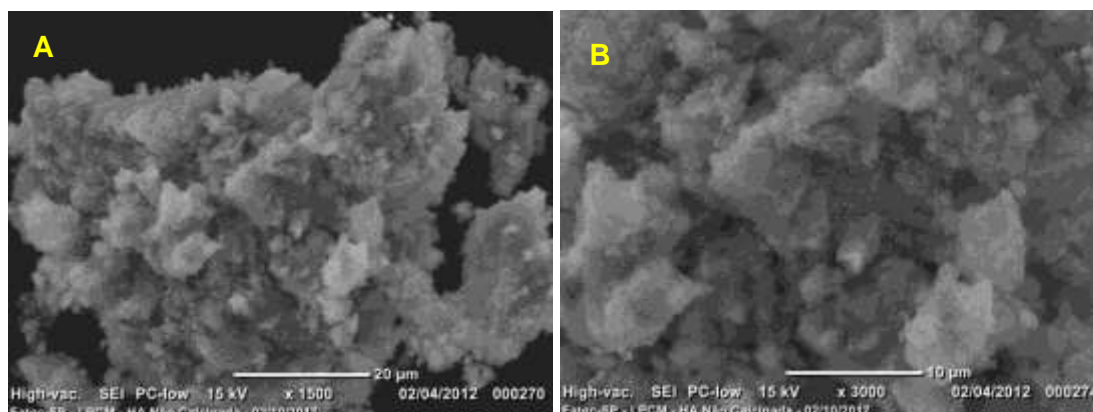
Utilizando a equação de Scherrer (equação 10), foi possível obter o valor de tamanho de cristalito das amostras de HA que não foram submetidas ao processo de calcinação, que ficou em torno de 128 nm. Para as amostras calcinadas, a largura dos picos de difração ficou muito próxima à amostra de referência, impossibilitando a obtenção do tamanho de cristalito pela equação de Scherrer. Entretanto, o estreitamento dos picos de difração após a calcinação indicam claramente que o tamanho de cristalito ficou maior após o tratamento térmico da HA.

Com o aumento da temperatura houve aumento no tamanho do crescimento dos cristais, isso deve-se ao fato da difusão atômica que é responsável em promover o crescimento do tamanho do grão contribuindo também no aumento do grau de cristalinidade do material [44].

4.7 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A síntese da HA, a partir dos precursores da COG com o H_3PO_4 , levou a formação de precipitado com nanopartículas aglomeradas, como pode ser observado nas micrografias da Figura 28 sem o tratamento térmico.

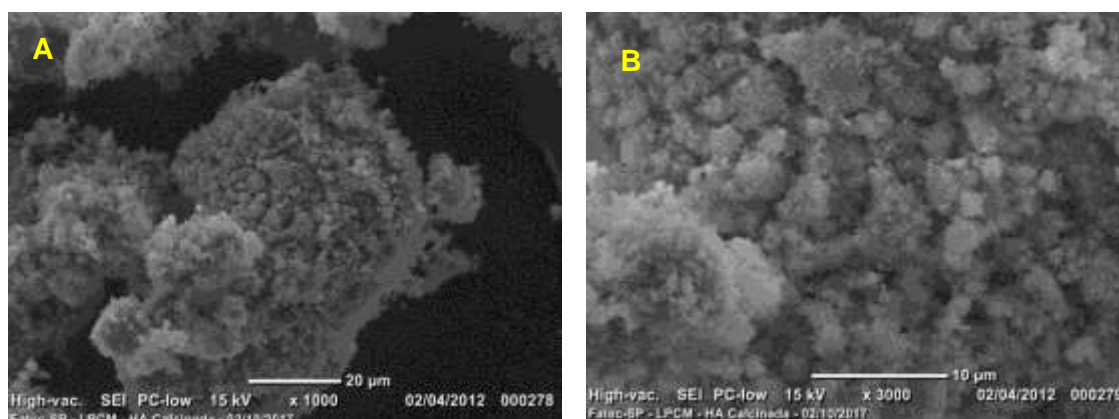
Figura 28 - Micrografias das amostras de HA não calcinadas



Fonte: Próprio autor

Após o tratamento térmico, verificaram-se leve alterações na morfologia das partículas da HA, como pode ser visualizado nas micrografias da Figura 28 (a) e (b) em comparação com as micrografias da Figura 29 (a) e (b).

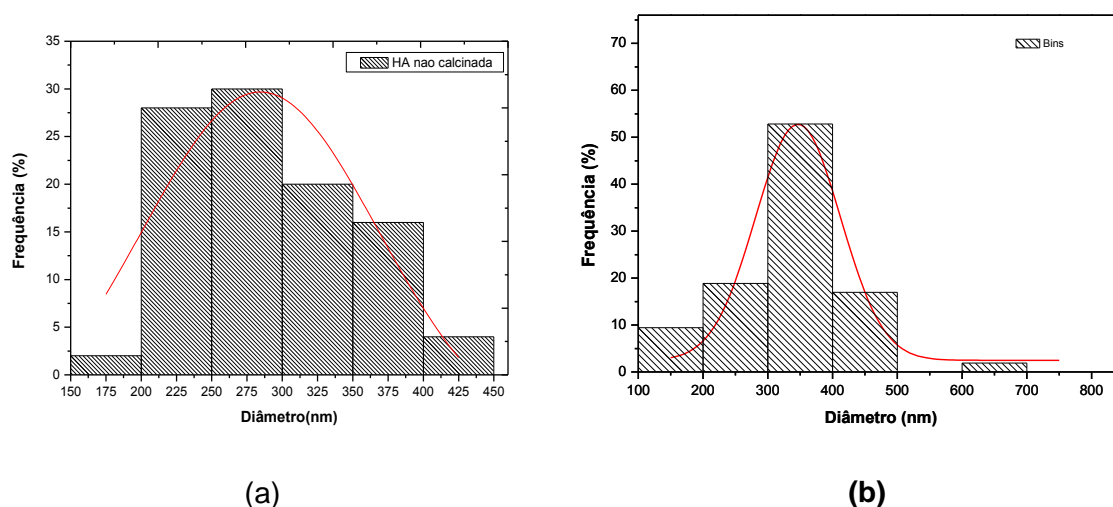
Figura 29 - Micrografias das amostras que sofreram tratamento térmico



Próprio autor

A partir das imagens de MEV obtidas foi realizada a análise granulométrica com auxílio do software *ImageJ*. A Figura 30 (a) e (b) mostra a distribuição de tamanho de partículas para a amostra de HA antes e após a calcinação. Na análise granulométrica, foram analisadas ao total de 50 partículas para não calcinada e a calcinada de 53 partículas. O tamanho médio das partículas de HA antes da calcinação foi de 275 nm e após a calcinação em torno de 350 nm.

Figura 30 - Histograma da contagem de partículas não calcinada (a) e calcinada (b)



Fonte: próprio autor

As curvas de distribuição granulométrica mostram que os pós obtidos após calcinação se apresentam na forma de aglomerados, cujo tamanho pode ser reduzido na etapa de cominuição por exemplo. Como visto, as micrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura apontam que esses aglomerados são constituídos por partículas submicrométricas como visto nas imagens 28 e 29.

4.8 Análises Espectroscópicas Vibracionais

Os resultados obtidos por Espectroscopia Raman (ER) e por Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram utilizados como caracterização complementar. Os principais modos vibracionais identificados na literatura para a HA foram sintetizados na tabela 11, que foi utilizada como referência para a identificação de picos tanto na ER como no FTIR.

Tabela 11 - Tabela adaptada com respectivos picos utilizado como consulta para atribuições no ER e FTIR

| Número de onda/ Deslocamento Raman – FTIR (cm^{-1}) | Identificação |
|---|---|
| 3570 | ν_5 Estiramento OH de hidroxila |
| 3400 - 3100 | ν_5 Estiramento OH de H_2O |
| 1645 | Deformação H-O-H de H_2O |
| 1470- 1420 | ν_1 Estiramento simétrico CO_3 (CHA- tipo B) |
| 1104 | ν_1 Estiramento simétrico CO_3 (CHA - tipo A) |
| 1128,875, 880 | ν_6 Estiramento PO_3 em HPO_4 |
| 1100, 1093, 1047 | ν_3 Estiramento assimétrico de PO_4 ou ν_6 estiramento PO_3 em HPO_4 |
| 965 | ν_1 Estiramento simétrico PO_4 |
| 918 | ν_2 Estiramento antissimétrico de CO_3 |
| 884 | ν_2 Estiramento de CO_3 (CHA- tipo B) |
| 650 | Vibrações da hidroxila |
| 616, 581 | ν_4 Deformação O-P-O em PO_4 ou ν_4 deformação P-O em HPO_4 |
| 535 | ν_7 Estiramento P-OH em HPO_4 |
| 431, 446, 460 | ν_2 Estiramento simétrico do PO_4 |

Fonte: [61,91,92,97,98]

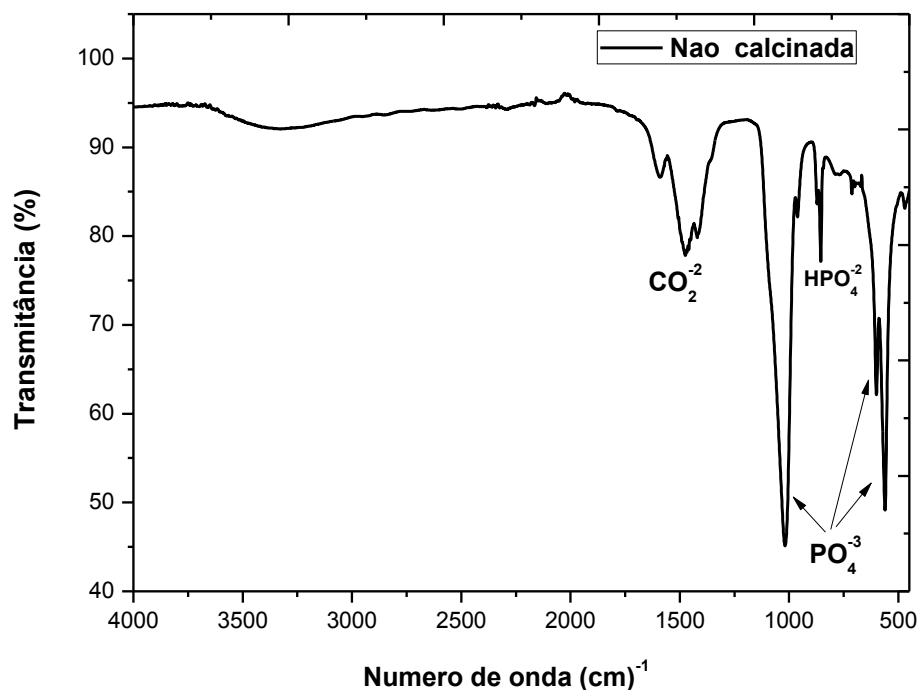
4.8.1 Espectroscopia no Infravermelho

Na HA é possível observar 4 modos vibracionais relacionado ao íon PO_4^{3-} no espectro de FTIR [61]. As bandas absorção relacionadas aos modos ν_2 e ν_3 , localizadas entre $1000 - 1200 \text{ cm}^{-1}$, podem ser atribuídas ao estiramento assimétrico do PO_4^{3-} . Já o modo vibracional ν_1 situado próximo a $950\text{-}960 \text{ cm}^{-1}$ está relacionado ao estiramento simétrico do PO_4^{3-} . A banda de absorção situada entre $560\text{-}570 \text{ cm}^{-1}$ corresponde a banda ν_4 [61,63, 90].

A figura 31 mostra o espectro de FTIR obtido para a amostra de HA não calcinada. É possível identificar nitidamente bandas de absorção dos grupos fosfatos HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} no espectro apresentado. As bandas de absorção localizadas entre 1400 e 1600 cm^{-1} correspondem a presença de íons carbonatos (CO_3^{2-}). Também foi

observada uma banda larga de absorção em torno de 3400 cm^{-1} que provavelmente está associada à presença de água absorvida e estiramento do OH^- da água.

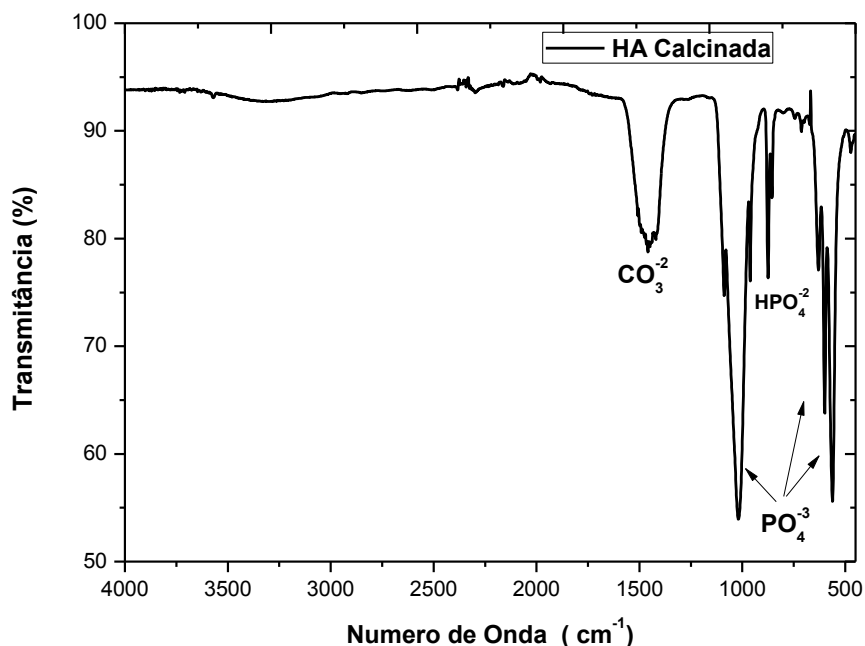
Figura 31 - Espectros FTIR das amostras não calcinada de HA.



Fonte: próprio autor

O espectro de infravermelho da amostra de HA que sofreu o processo de calcinação está mostrado na figura 32. Foram identificados os grupos fosfatos HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} . Da mesma forma, foram observadas as bandas de absorção correspondentes aos íons carbonatos CO_3^{2-} e a presença do pico de absorção relacionado a presença de água absorvida e OH, com menor intensidade quando comparada com o espectro da amostra não calcinada. Esse pequeno decréscimo pode estar relacionado a substituição dos íons de hidroxila pelos íons carbonato, o que pode justificar a intensidade desses picos.

Figura 32 - Espectro de FTIR das amostras calcinadas.



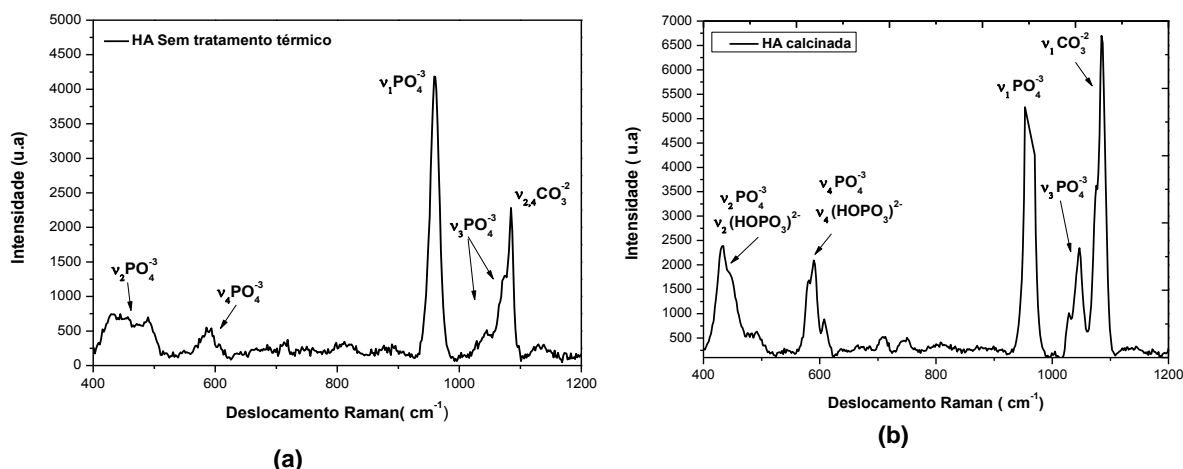
Fonte: próprio autor

As regiões de absorção próximas a 875, 1424, 1445 e 1461 cm^{-1} estão associadas a substituição da HA carbonatada do tipo B, ou seja, ocorre a substituição do grupo fosfato na estrutura da molécula apatita e ocorre a incorporação do grupo carbonato [61]. Já nas apatitas do (tipo A), a substituição pode ser identificada pela banda de absorção situada na região de 1550 cm^{-1} , que indica a substituição do grupo carbonato pelo grupo da hidroxila na estrutura [61,90,97]. Tanto na figura 31 como 32 é possível identificar esses picos quando comparamos a outras referências.

4.8.2 Espectroscopia Raman (ER)

A Figura 33 mostra os espectros Raman das amostras de HA antes e após a calcinação. Os picos apresentados nos gráficos foram identificados conforme a Tabela 11. Os espectros Raman de ambas as amostras ficaram bem semelhantes. Entretanto, foi observado que o pico centrado em aproximadamente 1070 cm^{-1} , correspondente a presença do íon carbonato CO_3^{2-} apresentou intensidade bastante superior na amostra após a calcinação. Já foi reportado na literatura que a presença do pico centrado em 1070 cm^{-1} corresponde a CHA- tipo B, que indica a ocorrência de substituições dos grupos fosfatos pelo carbonato. [91-95].

Figura 33 - Espectros Raman das amostras de HA (a) não calcinada e (b) das amostras após calcinação.



Fonte: próprio autor

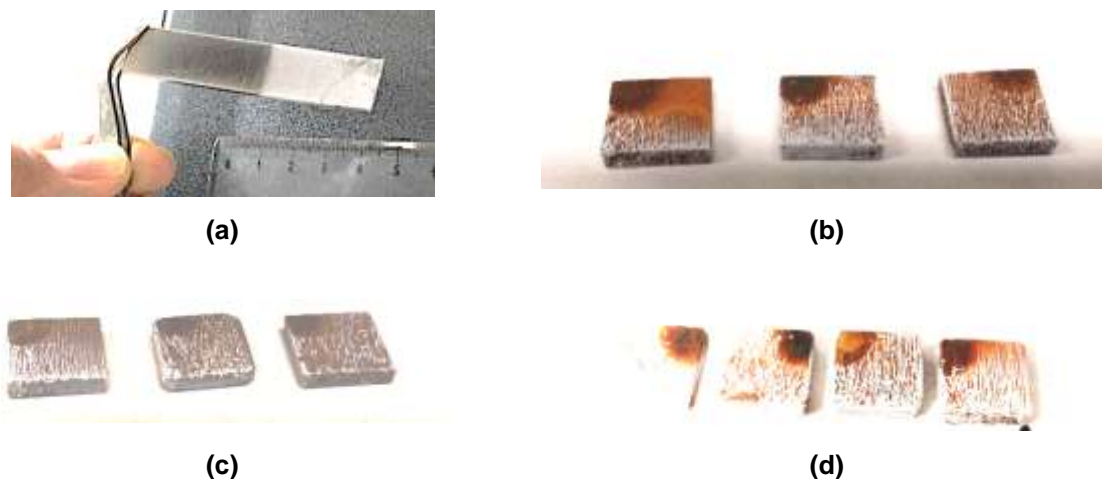
Bazin *et al* [95] cita que o CHA-tipo B é predominante nas espécies de apatitas biológicas. Ainda, as substituições no sítio B, que correspondem ao fosfato são energeticamente preferidas do que as substituições que ocorrem na CHA-tipo A, nos sítios nos quais estão situadas as hidroxilas. Isto é explicado pelo fato de que substituição de um ânion monovalente por um bivalente é compensando pela criação de uma vacância [95].

4.9 Amostras produzidas por eletroforese

Neste trabalho também foram realizados alguns testes para a obtenção de filmes finos de HA por eletroforese.

A Figura 34 mostra as amostras obtidas após o processo de deposição por eletroforese. Em todas as amostras foi utilizado 12 V para a tensão entre o contra eletrodo e o eletrodo de trabalho. Os tempos de deposição variaram entre 3 e 12 min. Todas as amostras foram submetidas a tratamento térmico em forno mufla, a 800 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 hora.

Figura 34 – Ligas de Ti revestidas com HA por eletroforese. A tensão aplicada em todas as amostras foi de 12 V e foram submetidas a tratamento térmico em 800°C durante 3h. O tempo de deposição foi de (a) 3 min, (b) 6 min, (c) 9 min e (d) 12 min.

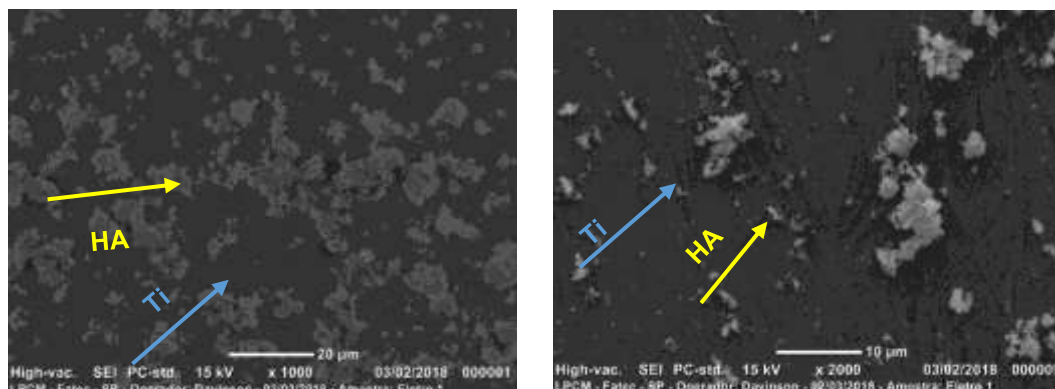


Fonte: Próprio autor

A partir da Figura 34, verificou-se que foi possível obter filmes de HA sobre as superfícies de ligas de Titânio. Embora os filmes obtidos tenham apresentado boa aderência ao substrato metálico, após o processo de tratamento térmico, não foi observado em nenhum dos filmes uma cobertura homogênea. Isto pode ter ocorrido pela ocorrência de eletrólise durante a deposição eletroforética, que culmina na geração de bolhas nos eletrodos, limitando a eficiência da deposição. Entre todas as amostras, o filme de HA obtido na deposição de 3 minutos foi o que apresentou melhor cobertura, visualmente. Isto pode estar relacionado à maior área do substrato utilizado, que resulta numa menor densidade de corrente durante o processo, limitando o processo de deposição, mas também diminuindo a incidência de bolhas nos eletrodos, devido à ocorrência de eletrólise. Muito possivelmente, a melhor cobertura do filme de HA na amostra que sofreu deposição durante 3 minutos também inibiu a oxidação do substrato metálico, após o processo de tratamento térmico.

A figura 35 mostra imagens de MEV, nas quais é possível observar a morfologia da superfície da peça com HA depositada por 3 minutos. É possível observar que a presença de partículas aglomeradas sobre a superfície do substrato de titânio.

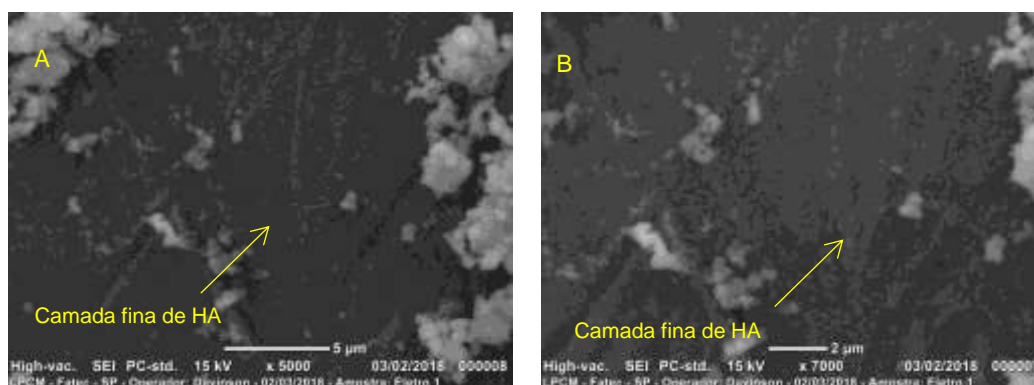
Figura 35 - Micrografias da amostra produzida a partir da deposição por eletroforese



Fonte: próprio autor

Na figura 35, sob um maior aumento, é possível verificar a formação de uma película fina sobre a liga, que a deposição da HA. Desta forma, concluímos que inicialmente ocorre a formação de um filme homogêneo na superfície da liga de Titânio. Entretanto, a presença de aglomerados na suspensão pode ter dado origem a um filme menos homogêneo. No futuro, a dispersão do pó na suspensão poderá ser melhorada, por meio da utilização de moinho de bolas e ajuste da quantidade de defloculante, de forma a evitar a presença de aglomerados e melhorar a uniformidade do filme resultante.

Figura 36 - Micrografia de camada extremamente delgada de HA no substrato de titânio.



Fonte: próprio autor

5 CONCLUSÕES

Foi demonstrada, neste trabalho, a viabilidade da obtenção de HA a partir do método de precipitação úmida, utilizando cascas de ovos de galinha como precursores. Análises de DRX indicaram que a HA obtida após o processo de síntese apresenta menor grau de cristalinidade, com partículas menores do que 400 nm. O tratamento térmico favorece a cristalização da HA e crescimento das partículas.

Ao analisar a HA não calcinada utilizando a TGA, foi possível observar, que o material sofreu uma perda de massa em torno de 12% numa faixa de temperatura de 600 a 800°C, que pode ter influenciado na obtenção de um material não estequiométrico. O material calcinado a 1000°C apesar de apresentar maior grau de cristalinidade, apresentou maior diferença na razão mássica Ca/P em relação à amostra que não foi calcinada, confirmando que provavelmente houve decomposição de componentes da hidroxiapatita durante o tratamento térmico.

Por meio das análises de infravermelho por transformada de Fourier e Raman, foi possível identificar os grupos funcionais fosfatos e carbonatos, característicos da molécula de hidroxiapatita carbonatada com predominância da CHA-tipo B. Esta observação foi corroborada pelas análises de TGA, DRX e FRX.

Por fim, este trabalho também demonstrou que é possível obter filmes de HA em substratos de ligas de titânio, possibilitando a obtenção de próteses com melhores características no que se refere a biocompatibilidade. Entretanto, a obtenção de filmes uniformes demanda mais estudos, que visem identificar as melhores condições de deposição, levando em conta a defloculação da suspensão utilizada no processo de eletroforese e as condições utilizadas no processo.

Desta forma, este trabalho mostrou que é possível obter HA a partir precipitação úmida, e que os parâmetros utilizados durante o processo de síntese, bem como o tratamento térmico posterior podem influenciar significativamente nas características do material obtido. Cabe ressaltar que a utilização das cascas de ovos de galinha para a síntese de HA representa mais uma possível destinação para este tipo de resíduo. Atualmente, praticamente toda a HA utilizada no Brasil precisa ser importada, a altos custos. A utilização de uma matéria-prima como as cascas de ovos pode, portanto, representar uma economia considerável, se o processo de síntese puder ser realizado em maior escala de produção.

6 Propostas para futuros trabalhos

Para os futuros trabalhos propõem-se:

- Estudo das aplicações da liga de titânio, e sua modificação superficial para recebimento da deposição dos filmes finos de óxido de titânio com HA;
- Ensaio para verificar a corrosão das ligas de titânio, com e sem filmes fino da HA, em situações que simulam o sistema fisiológico utilizando substâncias salinas semelhantes aos fluidos corporais (SBF);
- Faixa de temperatura ideal para síntese da HA para que não haja sua decomposição;
- Maiores estudos da HA carbonatada e sua possível aplicações;
- Como obter revestimentos homogêneos e uniformes de HA sobre o substrato através da técnica por eletroforese;
- Obtenção da HA com incorporações com outros íons / partículas, como Zn, Ag, Mg, por exemplo;
- Caracterização da HA pela análise de Rietveld;
- Testes de resistência mecânica das amostras revestida com HA;
- Teste de aderência dos filmes obtidos das amostras metálicas revestidas com HÁ;
- Estudo da granulometria da COG e a sua possível interferência no rendimento da HÁ;
- Estudo de obtenção da HA a partir da COG vermelha em comparação com a COG de coloração branca;
- Possível obtenção da HA utilizando outras fontes de cálcio, como ovos de (avestruz, codorna, pata, entre outros).

7 Divulgação dos Resultados

Os resultados deste trabalho foram apresentados no 19º Simpósio de Iniciação Científica e Tecnológica da Fatec-SP, realizado em 5 de outubro de 2017 e no 1º Simpósio de Pesquisa em Materiais e Pesquisas Relacionadas, realizado em Juiz-de-Fora – MG, realizado entre os dias 10 a 13 de abril de 2018.

8 REFERÊNCIAS

- [1] PIRES, Ana Luiza R.; BIERHALZ, Andréa CK; MORAES, Ângela M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.
- [2] Almeida Filho, E. et al, **Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-CP modificada por aspersão térmica**, Quim. Nova, Vol. 30, No. 5, 1229, 2007.
- [3] ALMEIDA FILHO, Edson de et al. Biomateriais: deposição de hidroxiapatita sobre superfície de Ti-cp modificada por aspersão térmica. **Química Nova**, p. 1129-1232, 2007.
- [4] CALIMAN, L. B. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida a partir da casca de ovo de avestruz**. 2011. Tese de Doutorado. Dissertação de mestrado. Instituto Federal do Espírito Santo–Programa de pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, Vitória, Brasil.
- [5] Paterno Junior, D., Desosdi, C. C., **Biomateriais: Suas características físico-químicas, adesão celular e porosidade. Uma revisão**. Disponível em: <http://www.debortoli.com.br/detalheArtigo.asp?id=950>. Acesso em: 19/12/2016
- [6] OLIVEIRA, Luciana Soares de Andrade Freitas et al. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea–método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e biológicas**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2010
- [7] SIMÕES, Marcelo Simoni. **Desenvolvimento e estudo in vitro de implante biorreabsorvível em poli (L-lactídeo)(PLLA) para artrodese de coluna lombar**. 2007. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.
- [8] Mol Microscopia online – Tecido muscular capítulo 8. Disponível em: <http://www.icb.usp.br/mol/7-6-organiz-celulas1.html> Acesso em 15 de fevereiro de 2017.

- [9] Prótese News. Disponível em:
<http://www.inpn.com.br/ProteseNews/Material/Index/132480> Acesso em 19 de março de 2017.
- [10] ALENCAR, Paulo Gilberto Cimbalista de; VIEIRA, Inácio Facó Ventura. Banco de ossos. **Rev. bras. ortop**, v. 45, n. 6, p. 524-528, 2010.
- [11] SANTOS, Alex Eugênio dos. Desenvolvimento de parafuso de interferência bioabsorvível para cirurgia de joelho em PLDL (poli ácido láctico) e compósito PLDL+ β TCP (beta trifosfato de cálcio). 2015.
- [12] DE ALCÂNTARA, Juliana Bonifácio. **Qualidade físico-químico de Ovos Comerciais: avaliação e manutenção da qualidade**, dissertação de pós-graduação, Escola Federal de Goiás, 2011.
- [13] SCATOLINI-SILVA, Aline Mary. Características físicas e químicas, sensoriais e microbiológicas de ovos armazenados em diferentes condições de embalagens sob temperatura ambiente. 2010.
- [14] Tomaselli, M.G., **Síntese Caracterização da Hidroxiapatita obtida a partir da casca de ovo de galinha**, Monografia, Escola de Engenharia de Lorena, 2011.
- [15] OLIVEIRA, D. A.; BENELLI, P.; AMANTE, E. R. Valorização de resíduos sólidos: casca de ovos como matéria-prima no desenvolvimento de novos produtos. In: **INTERNATIONAL WORKSHOP ADVANCES IN CLEAR PRODUCTION, São Paulo, Brasil**. 2009.
- [16] DALMONICO, Gisele Maria Leite et al. Síntese e caracterização de fosfato de cálcio e hidroxiapatita: elaboração de composições bifásicas HA/TCP- β para aplicações biomédicas. 2011
- [17] WILLIAMS, David F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, v. 29, n. 20, p. 2941-2953, 2008.

[18] DE MELO COSTA, Ana Cristina Figueiredo et al. 4. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, 2009.

[19] PIBID e o Ensino da Química. Disponível em: <http://quipibid.blogspot.com.br/2015/01/os-ovos-sao-viloes-ou-mocinhos.html> Acesso em 15 de março de 2017.

[20] BOSSU, Milena Felix. **Desenvolvimento de hidroxiapatita contendo prata via precipitação e imersão: avaliação do efeito antimicrobiano**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

[21] GOLOSHCHAPOV, D. L. et al. Excitation of luminescence of the nanoporous bioactive nanocrystalline carbonate-substituted hydroxyapatite for early tooth disease detection. **Results in physics**, v. 7, p. 3853-3858, 2017.

[22] PIRAJA, Juliana et al. Estudo das propriedades dos filmes de fosfato de cálcio produzidos pela técnica de sputtering. 2015

[23] RODRIGUES, Luciano Brito. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63-76, 2013

[24] GUASTALDI, Antonio Carlos; APARECIDA, Anahi Herrera. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química nova**, p. 1352-1358, 2010.

[25] Royal Society of Chemistry. Disponível em: <http://pubs.rsc.org/en/content/chapterhtml/2015/bk9781782621041-00001?isbn=978-1-78262-104-1> Acesso em 19 de fevereiro de 2017

[26] KOLENČÍK, Marek; SIMANSKY, Vladimir. Application of various methodological approaches for assessment of soil micromorphology due to VESTA program applicable to prediction of the soil structures formation. **Acta Fytotechnica et Zootechnica**, v. 19, n. 2, p. 68-73, 2016.

- [27] SANTOS, M. L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**, v. 30, n. 3, p. 29-35, 2005.
- [28] BERTRAN, Celso A. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Quim Nova**, v. 23, p. 123-129, 2000.
- [29] SANTOS, Késia Sousa; PAULO, M. N. BIOMATERIAIS NA REGENERAÇÃO ÓSSEA. **Revisão de literatura da pós-graduação em ciência animal da Universidade Federal de Goiás**, p. 11-12, 2011.
- [30] VALERETO, IVONE de CL et al. **Caracterizacao de implantes dentais da liga Ti6Al7Nb revestidos por hidroxiapatita pela tecnica plasma-spray**. 1998.
- [31] Semensin, J. G. C.; **Incorporação de resíduos sólidos agroindustriais na fabricação de vidros sodo-cálcicos**. Monografia (FATEC-SP), São Paulo, SP, 2016, 96p.
- [32] OHRING, M., Engineering Materials Science, 1a edição, capítulo 3, Academic Press, San Diego (1992).
- [33] “Microscópio Eletrônico de Varredura”. Disponível em: <<http://fap.if.usp.br/~lff/mev.html>>. Acesso em março de 2016.
- [33] HAMAD, M. A.; KHATTAB, I. A. Effect of the combustion process on the structure of rice hull silica. *Thermochimica Acta*. v.48. p. 343-349. 1981.
- [34] SILVA, A. C., ESTUDO E OTIMIZAÇÃO DA REAÇÃO DE HIDRATAÇÃO DO ÓXIDO DE CÁLCIO, Dissertação de Mestrado em Engenharia Química, UNIVERSIDADE federal de Uberlândia, 2007. 111 p.
- [35] NEVES, M. A., 1998. Alternativas para valorização da casca de ovo como complemento alimentar e em implantes ósseos. Dissertação de Mestrado em Ciência

dos Alimentos. Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil.

[36] ELIZONDO-VILLAREAL, N.; MARTÍNEZ-DE-LA-CRUZ, A.; GUERRA, R.O.; GÓMEZ-ORTEGA. J.L.; TORRES-MARTÍNEZ, L.M.; CASTAÑO, V.M., Biomaterials from Agricultural Waste: Eggshell-based Hydroxyapatite, Water Air Soil Pollut (2012) 223:3643–3646.

[37] DE ARAUJO BATISTA, Tatiana Santos; DOS SANTOS-FILHO, João Batista. Calcita, Hidroxiapatita e β -Fosfato Tricálcio como absorvedores do ultravioleta. Pag. 33 – 56, ano 2016.

[38] SofSera - Hydroxyapatite Nanoparticle. Disponível em: http://sofsera.co.jp/english/tech1_e.html Acesso em 15 de fevereiro de 2017

[39] Wikipedia – Eggshell anatomy – Disponível em: https://en.wikipedia.org/wiki/Eggshell#/media/File:Anatomy_of_an_egg_labeled.jpg Acesso 17 de fevereiro de 2017.

[40] Vilar, J. S Mello, R; Beque, T.; **Determinação de cálcio em casca de cálcio em cascas de ovos**. Universidade de Santa Maria – Santa Maria, Rio Grande de sul, 2013.

[41] IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – Produção agropecuária indicadores. Disponível em: ftp://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_201604caderno.pdf Acesso em 01 de abril de 2017

[42] Avicultura Industrial – Produção do ovo no Brasil. Disponível em: <http://www.aviculturaindustrial.com.br/imprensa/producao-de-ovos-do-brasil-bate-recorde-historico-em-2016/20160129-083510-n719> acesso 01 de abril de 2017

[43] CANEVAROLO JR, Sebastião V. et al. Técnicas de caracterização de

polímeros. **Artliber, São Paulo**, v. 430, n. 2004, 2004.

[44] AZEVEDO, Adriano Galvão S.; STRECKER, Kurt. Avaliação da influência da razão Ca/P nos valores de cristalinidade e crescimento de cristalitos durante a sinterização de pós de hidroxiapatita. **Eclética Química Journal**, v. 39, n. 1, p. 141-150, 2014.

[45] SANTOS, Elenir Souza et al. Espectrometria de Fluorescência de Raios-X na Determinação de Espécies Químicas. **Enciclopédia Biofera**, v. 9, n. 17, p. 3413-3432, 2013.

[46] MORENO, Guilherme Guedes. **Síntese da hidroxiapatita utilizando casca de ovo de codorna como fonte alternativa de cálcio**. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

[47] CASAGRANDE, Joeci. Estudo das propriedades mecânicas da liga Ti-Nb sinterizada para aplicação na área biomédica. 2011.

[48] AZEVEDO, Cesar RF. Microestrutura do titânio e suas ligas para implantes cirúrgicos. **Metalurgia e Materiais**, p. 446-447, 2003.

[49] LEIVA, Karla Miriam Reyes. Estudo da resistência à corrosão em fluido corpóreo e caracterização da liga biomédica Ti-40Nb. 2015.

[50] DA SILVA, J. C. **Estudo Comparativo de Superfícies de Titânio Utilizada em Implantes**. 2006. Tese de Doutorado. Dissertação de Mestrado apresentada a Universidade Federal do Paraná.

[51] LUZ, Aline Rossetto da. Caracterização de superfícies de titânio modificadas anodicamente para aplicação biomédica. 2013.

[52] SAKAMOTO, E. K.; GOUVÊA, D. Desenvolvimento do sistema de Deposição por Eletroforese (EPD).

- [53] GELFUSO, M. V.; PEREIRA JÚNIOR, F. S.; THOMAZINI, D. The influence of defloculant on alumina deposition by electrophoresis. **Cerâmica**, v. 49, n. 312, p. 228-231, 2003.
- [54] CAPRONI, E.; MUCCILLO, R. Aplicação da técnica de deposição eletroforética para a obtenção de tubos cerâmicos de zircônia-ítria (Application of the electrophoretic deposition technique for obtaining yttria-stabilized zirconia tubes). **Cerâmica**, v. 58, n. 345, p. 131-136, 2012.
- [55] GHRAIRI, Najla; BOUAICHA, Mongi. Structural, morphological, and optical properties of TiO₂ thin films synthesized by the electrophoretic deposition technique. **Nanoscale research letters**, v. 7, n. 1, p. 357, 2012.
- [56] OSORIO, Alice Gonçalves. Funcionalização de nanotubos de carbono e sua utilização como reforço em matriz de hidroxiapatita. 2008.
- [57] DE ANDRADE GOMES, Juliano; DA SILVA SERCHELI, Maurício. Espectroscopia Raman: um novo método analítico para investigação forense em cruzamento de traços. **Revista Brasileira de Criminalística**, v. 1, n. 1, p. 22-30, 2011.
- [58] DA SILVA CUNHA, Dayana Alves et al. APLICAÇÕES DE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR) PARA CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXOS. **ANAIS DO ENIC**, n. 6, 2014.
- [59] MENDES FILHO, Antônio Alves. Síntese e caracterização de hidroxiapatita e compósitos a partir de matéria-prima reciclada. 2006.
- [60] SENA, L. A. Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatita-colágeno para aplicações biomédicas. **Rio de Janeiro: Universidade Federal do Rio de Janeiro**, 2004.
- [61] TROMMER, Rafael Mello. Obtenção e caracterização de revestimentos de hidroxiapatita sobre substratos de aço inoxidável 316L utilizando a técnica de deposição química de vapor assistida por chama. Rio Grande do Sul: Universidade

Federal do Rio grande do Sul, 2006.

[63] WONG, W. Y.; NOOR, Ahmad-Fauzi Mohd. Synthesis and sintering-wet carbonation of nano-sized carbonated hydroxyapatite. **Procedia Chemistry**, v. 19, p. 98-105, 2016.

[64] TORRES, Sandra Regina Mendes. Caracterização comparativa do esmalte de dentes decíduos e permanentes por Espectroscopia Raman. 2010.

[65] Nano Photo. Disponível em:

<https://www.nanophoton.net/raman/raman-spectroscopy.html>. Acesso 11 de março de 2018.

[66] DE BARROS, Souza Fabiano et al. Avaliação do ácido láctico intramuscular através da espectroscopia Raman; novas perspectivas em medicina do esporte. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 9, n. 6, p. 388-395, 2003.

[67] BONAN, R. F. et al. Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita. **Cerâmica**, v. 60, n. 355, p. 402-410, 2014.

[68] FEIL, Adriano Friedrich et al. Deposição e caracterização de filmes finos de TiOx formados por DC Magnetron Sputtering reativo: estudo de transição estrutural. 2006.

[69] ROMAN, Daiane. Deposição de filmes finos de nitreto de zircônio para aplicação em biomateriais. 2014.

[70] GRIESSER, Hans J. (Ed.). **Thin Film Coatings for Biomaterials and Biomedical Applications**. Woodhead Publishing, 2016.

[71] VARGAS, André Luís Marin. **Deposição e caracterização de revestimentos de Ni-Ti e Ni-Ti/Nb para aplicações biomédicas**. 2007. Dissertação de Mestrado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul.

[72] DEL CACHO, Vanessa Duarte. **Produção e caracterização de guias de onda de telureto e germanato para aplicações em optoeletrônica**. 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

[73] CARRIEL, Rodrigo Crociatti. **Caracterização de filmes finos de TiO₂ obtidos por deposição química em fase vapor**. 2015. 58 f. 2015. Tese de Doutorado. Dissertação (Mestrado)-Curso de Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear-Materiais, Instituto de Pesquisa Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo.

[74] XAVIER, Gleicy de Lima. **Estudo da deposição eletroforética de 3YTZP em titânio metálico e avaliação da irradiação com laser**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

[75] BESRA, Laxmidhar; LIU, Meilin. A review on fundamentals and applications of electrophoretic deposition (EPD). **Progress in materials science**, v. 52, n. 1, p. 1-61, 2007.

[76] BASU, Rajendra N.; RANDALL, Clive A.; MAYO, Merrilea J. Fabrication of dense zirconia electrolyte films for tubular solid oxide fuel cells by electrophoretic deposition. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 84, n. 1, p. 33-40, 2001.

[77] ZHITOMIRSKY, I.; GAL-OR, L. Electrophoretic deposition of hydroxyapatite. **Journal of materials science: materials in medicine**, v. 8, n. 4, p. 213-219, 1997.

[78] WANG, Yuan-Chung; LEU, Ing-Chi; HON, Min-Hsiung. Kinetics of electrophoretic deposition for nanocrystalline zinc oxide coatings. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 87, n. 1, p. 84-88, 2004.

[79] RIBEIRO, Alexandre Antunes et al. Biomateriais: estudo da deposição de hidroxiapatita por via polimerica sobre superficies de Ti cp modificado por feixe de laser. 2007.

- [80] BREME, J.; ZHOU, Y.; GROH, L. Development of a titanium alloy suitable for an optimized coating with hydroxyapatite. **Biomaterials**, v. 16, n. 3, p. 239-244, 1995.
- [81] RIGO, E. C. S., OLIVEIRA, L. C., SANTOS, L. A., CARRODEGUAS, R. G., BOSCHI, A. O. Recobrimento de hidroxiapatita sobre Titânio. Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais. Belo Horizonte, MG – Brasil, 10 a 13 de Dezembro de 1998.
- [82] PILLIAR, R. M. et al. Carbon fiber-reinforced bone cement in orthopedic surgery. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 10, n. 6, p. 893-906, 1976.
- [83] LAFON, J. et al. Thermal decomposition of carbonated calcium phosphate apatites. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 72, n. 3, p. 1127-1134, 2003.
- [84] SANTOS, Márcio Luiz dos. Aplicação do processo sol-gel na produção de recobrimentos de hidroxiapatita sobre ligas a base de Ti empregadas em implantes odontológicos. 2005.
- [85] AZEVEDO, AG de S.; STRECKER, K.; GORGULHO, H. F. Efeito da temperatura em processos de sinterização de pós de hidroxiapatita. **Cerâmica**, v. 61, n. 357, p. 52-59, 2015.
- [86] CHEN, Song et al. Preparation of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite Nanoparticles by Microwave Process. In: **Key Engineering Materials**. Trans Tech Publications, 2008. p. 1178-1180.
- [87] LANDI, E. et al. Carbonated hydroxyapatite as bone substitute. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 23, n. 15, p. 2931-2937, 2003.
- [88] ANGELO, Liliam Cristina et al. Síntese e Caracterização de nanocompósitos hidroxiapatita-gelatina obtidos pelo método de precipitação utilizando o método de Rietveld e Ivtf. 2008.

- [89] LEGEROS, R. Z.; CONTIGUGLIA, S. R.; ALFREY, A. C. Pathological calcifications associated with uremia. **Calcified tissue research**, v. 13, n. 1, p. 173-185, 1973.
- [90] SOLLA, E. L. et al. Plasma assisted pulsed laser deposition of hydroxylapatite thin films. **Applied surface science**, v. 248, n. 1-4, p. 360-364, 2005.
- [91] RAMAKRISHNAIAH, Ravikumar et al. Applications of Raman spectroscopy in dentistry: Analysis of tooth structure. **Applied Spectroscopy Reviews**, v. 50, n. 4, p. 332-350, 2015.
- [92] LIMA, Cleibson Oliveira de et al. Hidroxiapatitas modificadas com prata aplicadas como agentes antimicrobianos. 2015.
- [93] ZAVALA-ALONSO, Verónica et al. Analysis of the molecular structure of human enamel with fluorosis using micro-Raman spectroscopy. **Journal of oral science**, v. 54, n. 1, p. 93-98, 2012.
- [94] EL FEKI, H.; REY, Christian; VIGNOLES, M. Carbonate ions in apatites: Infrared investigations in the ν_4 CO₃ domain. **Calcified tissue international**, v. 49, n. 4, p. 269-274, 1991.
- [95] BAZIN, Dominique et al. Diffraction techniques and vibrational spectroscopy opportunities to characterize bones. **Osteoporosis international**, v. 20, n. 6, p. 1065-1075, 2009.
- [96] SEREDIN, P. V. et al. Fabrication and characterization of composites materials similar optically and in composition to native dental tissues. **Results in physics**, v. 7, p. 1086-1094, 2017.
- [97] LAFON, Jean-Philippe; CHAMPION, Eric; BERNACHE-ASSOLLANT, Didier. Processing of AB-type carbonated hydroxyapatite $\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_6-x(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x-2y}(\text{CO}_3)_y$ ceramics with controlled composition. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, n. 1, p. 139-147, 2008.

[98] OLIVEIRA, Sara Verusca et al. Caracterização química e morfológica do pirofosfato de cálcio obtido por via úmida. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, 2009.