

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

IAGO JOSÉ VITRAL REZENDE LOPES

**SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA COM FLUORETO DE LÍTIO POR
PRECIPITAÇÃO EM MEIO AQUOSO**

**Rio de Janeiro
2020**

IAGO JOSÉ VITRAL REZENDE LOPES

SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA COM FLUORETO DE LÍTIO POR PRECIPITAÇÃO
EM MEIO AQUOSO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências dos Materiais.

Orientador: Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva, D.Sc.
Co-orientador: Prof. Jheison Lopes dos Santos, D.Sc.

Rio de Janeiro
2020

©2020

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

Praça General Tibúrcio, 80 – Praia Vermelha

Rio de Janeiro – RJ CEP: 22290-270

Este exemplar é de propriedade do Instituto Militar de Engenharia, que poderá incluí-lo em base de dados, armazenar em computador, microfilmар ou adotar qualquer forma de arquivamento.

É permitida a menção, reprodução parcial ou integral e a transmissão entre bibliotecas deste trabalho, sem modificação de seu texto, em qualquer meio que esteja ou venha a ser fixado, para pesquisa acadêmica, comentários e citações, desde que sem finalidade comercial e que seja feita a referência bibliográfica completa.

Os conceitos expressos neste trabalho são de responsabilidade do(s) autor(es) e do(s) orientador(es).

Lopes, Iago José Vitral Rezende

Síntese de Hidroxiapatita com fluoreto de lítio por precipitação em meio aquoso/ Iago José Vitral Rezende Lopes. Rio de Janeiro, 2020.

63 f.:

Orientador: Marcelo Henrique Prado da Silva.

Dissertação (Mestrado) – Instituto Militar de Engenharia, Ciência dos Materiais, 2020.

1. Hidroxiapatita. 2. Fluoreto de Lítio. 3. Biomateriais I. Silva, Marcelo Henrique Prado da, orient. II. Título.

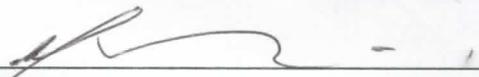
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA**IAGO JOSÉ VITRAL REZENDE LOPES****SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA COM FLUORETO DE LÍTIO POR PRECIPITAÇÃO EM
MEIO AQUOSO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Ciência dos Materiais.

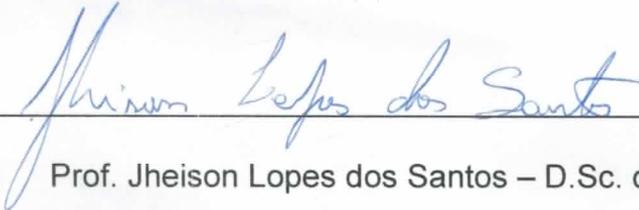
Orientadores: Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D. Sc.

Prof. Jheison Lopes dos Santos – D. Sc.

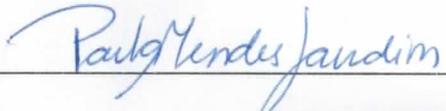
Aprovada em 04 de fevereiro de 2020 pela seguinte Banca Examinadora:



Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D.Sc. do IME



Prof. Jheison Lopes dos Santos – D.Sc. da UCAM



Prof. Paula Mendes Jardim – D.Sc. da UFRJ



Prof. Eduardo de Sousa Lima – D.Sc. do IME

Rio de Janeiro
2020

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por estar presente em todos os dias de minha vida, me guiando, fornecendo forças e resiliência para prosseguir na caminhada da vida e completar mais esta etapa.

À minha mãe, Magali Vitral Rezende, pelo apoio incondicional e sacrifícios que sempre fez pensando no bem familiar.

Ao meu pai, Marcilino de Oliveira Lopes, que oferece sempre uma palavra alegre e um ombro amigo nos dias difíceis.

Às minhas tias, Ana Lucia Valentim, Margareth Vitral e Joselita Valentim por se preocuparem comigo e sempre estarem ao meu lado.

Aos meus avós, Maria, Moyses e Eva, simplesmente por serem os melhores avós do mundo.

Ao meu primo, Leandro Vitral Andraos, que partilhou sua casa, alegria e sabedoria.

À minha namorada, Jéssica Teixeira Santos, por estar ao meu lado, me dando suporte e carinho, tornando os dias mais tranquilos.

Ao meu orientador Marcelo Henrique Prado da Silva e meu coorientador Jheison Lopes dos Santos, pela paciência, amizade, correções e lições transmitidas para a realização da pesquisa e, principalmente, para o meu desenvolvimento pessoal no Instituto Militar de Engenharia – IME.

A todos colegas e companheiros que o Instituto Militar de Engenharia – IME me possibilitou conhecer.

Ao técnico de DRX Douglas, do LDRX – UFF, e aos técnicos Gabriel e Gabriela do LFTIR – UFF pela disponibilidade de sempre me auxiliarem na caracterização amostras.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais do IME, por trabalham em benefício da educação brasileira.

À CAPES, pelo suporte financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

“Nenhum homem pode banhar-se duas vezes no mesmo rio... pois na segunda vez o rio já não é o mesmo, nem tão pouco o homem!”

Heráclito de Éfeso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS	13
1.2 OBJETIVOS GERAL	15
1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1 TECIDO ÓSSEO	16
2.2 BIOMATERIAIS	20
2.3 GERAÇÕES DE BIOMATERIAIS	22
2.4 AS APATITAS	23
2.5 HIDROXIAPATITA	25
2.5.1 ESTRUTURA DA HIDROXIAPATITA	26
2.5.2 SÍNTESE DE HA	28
2.5.3 SUBSTITUIÇÕES NA HA	30
3 MATERIAIS E MÉTODOS	35
3.1 DESCRIÇÃO GERAL	35
3.2 SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA	35
3.3 SOLUÇÃO DE FLUORETO DE LÍTIO	37
3.4 PROCESSAMENTO DO PÓ OBTIDO	38
3.5 TRATAMENTO TÉRMICO	38
3.6 RECOBRIMENTO DAS AMOSTRAS	38
3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS	38
3.7.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X	38
3.7.2 REFINAMENTO PELO MÉTODO DE RIETVELD	39

3.7.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DEFOURIER (FTIR).....	39
3.7.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	39
3.7.5 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS) ..	40
3.7.6 CÁLCULO DA POROSIDADE APARENTE	40
4 CARACTERIZAÇÕES E ANÁLISES.....	42
4.1 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX).....	42
4.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	46
4.3 ANÁLISE DAS IMAGENS OBTIDAS NO MEV.....	49
4.4 ANÁLISE DA POROSIDADE APARENTE	51
5 CONCLUSÕES.....	53
5.1 CONCLUSÃO GERAL	53
5.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS.....	53
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	55

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 Tecido ósseo cortical, localizado externamente ao tecido ósseo esponjoso	17
Figura 2.2 Esquema representativo da constituição histológica de uma zona de tecido	17
Figura 2.3 Corte histológico de uma zona de tecido ósseo esponjoso.....	18
Figura 2.4 Esquema representativo da distribuição e localização na matriz óssea das células da linha osteoblástica.	19
Figura 2.5 Estrutura da Hidroxiapatita.....	27
Figura 2.6 Modelo representativo da estrutura da hidroxiapatita.....	27
Figura 3.1 Fluxograma da síntese de hidroxiapatita.....	37
Figura 4.1 Difractogramas das Amostras HA100, FA98 e FA93 sem tratamento térmico.....	42
Figura 4.2 Difractograma da amostra HA100 após sinterização.....	43
Figura 4.3 Sobreposição dos difractogramas das amostras HA100, FA98 e FA93 após sinterização.	44
Figura 4.4 Difractograma da amostra FA98 após sinterização.....	45
Figura 4.5 Difractograma da amostra FA93 após sinterização.....	45
Figura 4.6 Espectros FTIR das amostras após tratamento térmico.....	47
Figura 4.7 Morfologia amostra HA100 com aumento de 10000x (a), 50000x (b) e EDS (c).....	49
Figura 4.8 Morfologia amostra FA98 com aumento de 5000x (a), 10000x (b), 50000x (c) e EDS (d).....	50
Figura 4.9 Morfologia amostra FA93 com aumento de 5000x (a), 10000x (b), 50000x (c) e EDS (d).....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 Principais fosfatos de cálcio com aplicação biomédica.....	25
Tabela 2.2 Comparação de diferentes métodos de obtenção de HA.....	29
Tabela 3.1 Relação Ca:Li presente em cada amostra.....	36
Tabela 4.1 Resultado quantitativo das fases.....	46
Tabela 4.2 Parâmetros de rede e Rwp.....	46
Tabela 4.3 Porosidade aparente.....	52

LISTA DE SIGLAS

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
CBPF	Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
CEPEL	Centro de Pesquisa de Energia Elétrica
DRX	Difração de Raio X
EDS	Espectroscopia por Energia Dispersiva
FA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{F})_2$ - Fluorapatita
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ – Hidroxiapatita
IME	Instituto Militar de Engenharia
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
UFF	Universidade Federal Fluminense

RESUMO

Presentes de forma predominante no tecido ósseo, as apatitas podem ser sintetizadas em laboratório a partir de uma série de rotas. Desta forma, torna-se possível criar um biomaterial semelhante aos tecidos encontrados no organismo humano. Devido a sua similaridade com o tecido mineral ósseo, a hidroxiapatita é utilizada frequentemente na aplicação de enxertos e no recobrimento de próteses metálicas. Partindo deste ponto, estudos que potencializam a utilização de determinadas apatitas como biomateriais são de grande interesse. Trabalhos que envolvam otimização dos parâmetros de síntese e das propriedades físico-químicas do biomaterial são cada vez mais frequentes. No presente trabalho, diferentes porcentagens de fluoreto de lítio foram adicionadas durante a síntese de hidroxiapatita. Os resultados de DRX e FTIR para as amostras com relação Ca/Li de 98/2 em proporção molar e 93,4/6,6 em proporção molar apresentaram fluorapatita e óxido de cálcio enquanto a amostra com relação Ca/Li de 100/0 em proporção molar apresentou as fases hidroxiapatita e óxido de cálcio. O surgimento de fluorapatita nas amostras com relação Ca/Li de 98/2 e 93,4/6,6 em proporção molar indicam uma substituição, no mínimo parcial, dos íons hidroxila presentes na hidroxiapatita por íons fluoreto. A análise morfológica também foi realizada e mostrou a tendência a um crescimento uniaxial de grão para as amostras que possuem adição de fluoreto de lítio. Além disso, as amostras que sofreram adição apresentaram menor porosidade aparente se comparada a amostra que não possui adição de fluoreto de lítio.

Palavras-chave: Hidroxiapatita; fluoreto de lítio; Biomaterial.

ABSTRACT

Predominantly present in bone tissue, the apatites can be synthesized in the laboratory from a series of routes. In this way, it becomes possible to create a biomaterial similar to the tissues found in the human organism. Established a similarity with bone mineral tissue, a hydroxyapatite is used in grafting and metal dentures. From this point on, studies that enhance the use of apatites as biomaterials are of great interest. Works involving optimization of synthesis parameters and physicochemical properties of the biomaterial is increasingly frequent. In the present work, different percentages of lithium fluoride were added during hydroxyapatite synthesis. The XRD and FTIR results for samples with Ca / Li ratio of 98/2 molar ratio and 93.4 / 6.6 molar ratio showed fluorapatite and calcium oxide while samples with Ca / Li ratio of 100/0 in molar proportion presented the phases hydroxyapatite and calcium oxide. The appearance of fluorapatite in samples with Ca / Li ratio of 98/2 and 93.4 / 6.6 in molar ratio indicates a replacement, at least partially, of hydroxyl ions present in hydroxyapatite with fluoride ions. Morphological analysis was also performed and showed a tendency for uniaxial grain growth for samples with lithium fluoride addition. In addition, the samples that were added showed lower apparent porosity when compared to the sample without lithium fluoride addition.

Keywords: Hydroxyapatite; Lithium fluoride; Biomaterial.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

O anseio crescente da humanidade em promover a qualidade de vida fomenta a interação entre ciências exatas e ciências da saúde. Desta forma, a busca por materiais que contribuam em tratamentos, exames e reparo dos mais diversos traumas e patologias, possibilitando a manutenção do bem-estar pessoal, se torna frequente. A partir desse contexto, uma classe de material capaz de operar em íntimo contato com tecidos de organismos vivos, estimular e interagir com tecidos e órgãos, ou até mesmo substituí-los, é desenvolvida, os biomateriais (DOROZHKIN, 2007).

A utilização de enxertos de origem natural juntamente com suas respectivas técnicas e metodologias empregadas são alvo de estudo até os dias atuais (AMINE, M. et al., 2019; NAROS et al., 2019; SALES et al., 2019). No entanto, uma série de limitações propiciam que os biomateriais sintéticos apresentem determinadas peculiaridades em relação aos enxertos de origem natural (NOUR et al. 2019). Dentre o diversificado campo dos biomateriais, buscam-se aqueles capazes de interagir com o organismo de forma benéfica e que, ao mesmo tempo, estimulem ativamente respostas celulares específicas (HENCH e POLAK, 2002). Uma determinada classe de biocerâmicas à base de fosfatos de cálcio merece destaque, as apatitas. Presentes de forma predominante no tecido ósseo, as apatitas podem ser sintetizadas em laboratório a partir de uma série de rotas. Desta forma, torna-se possível criar um biomaterial semelhante aos tecidos encontrados no organismo humano.

A Hidroxiapatita (HÁ), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$, presente no organismo vivo, está em contato constante com diversos fluídos e substâncias que se encontram a diferentes pH's e temperaturas, contribuindo diretamente na decomposição da hidroxiapatita em demais fases (SZCZEŚ; HOŁYSZ; CHIBOWSKI, 2017). Tal instabilidade, além de possibilitar o surgimento de novas fases de fosfatos de cálcio, também propicia substituições de demais íons na estrutura da HA. Diversos trabalhos reportam a influência, vantagens e desvantagens de substituições catiônicas (Na^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , entre outros) e/ou aniônicas (F^- , CO_3^{2-} , Cl^- , entre outros) na hidroxiapatita (ZHAN et al., 2005; SOBCZAK, 2009; SADAT-SHOJAI et al., 2013; RATNAYAKE, 2017).

A substituição parcial ou completa dos íons hidroxila (OH^-), presentes na HA, por íons fluoreto (F^-), propicia o surgimento da fluorapatita (FA) $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Este composto, quando presente nas proporções corretas no tecido ósseo, promove um incremento das propriedades mecânicas (tenacidade à fratura, dureza e módulo de elasticidade) e aumento de tamanho dos cristais e da cristalinidade (BIANCO et al., 2010). Além disso, a fluorapatita possui propriedades biológicas similares e, até mesmo, superiores se comparada a hidroxiapatita estequiométrica (RATNAYAKE et al., 2017; TREDWIN et al., 2014).

Apesar de facilitar o surgimento de novas fases cálcio deficientes, a substituição do cálcio presente na estrutura da HA por íons lítio (Li^+) promove o aumento da cristalinidade, potencializa a ação dos osteoblastos e incrementa o limite de resistência do material (WANG et al., 2016; BADRAN et al., 2017). Além disso, pesquisas reportaram a utilização do lítio no tratamento de distúrbios bipolares (KAYGILI, et al., 2013).

Trabalhos que abordam substituições simultâneas nos sítios aniônicos e catiônicas da hidroxiapatita são alvos frequentes de estudo (RATNAYAKE et al., 2017; YILMAZ; ALSHEMARY; EVIS, 2019). Possíveis substituições concomitantes em um ou nos dois sítios do cálcio, nos sítios do fosfato e das hidroxilas, podem conferir propriedades atrativas na nova estrutura obtida (ŠUPOVÁ, 2015).

Dessa maneira, o presente trabalho busca realizar substituições, no mínimo parcial, de íons lítio (Li^+) e íons fluoreto (F^-) nos sítios do cálcio e da hidroxila respectivamente, presentes na estrutura da hidroxiapatita, com o intuito de desenvolver um biomaterial de elevada bioatividade e que possa agregar nas propriedades mecânicas do tecido ósseo. Para isso, a hidroxiapatita foi sintetizada por precipitação em meio aquoso e, durante o processo, soluções de fluoreto de lítio (LiF), em diferentes proporções, foram adicionadas. Posteriormente, caracterizações foram executadas no intuito de identificar se os íons lítio (Li^+) e fluoreto (F^-) estão, de fato, presentes na estrutura da HA.

1.2 OBJETIVOS GERAIS

O objetivo desta pesquisa é sintetizar via precipitação em meio aquoso uma biocerâmica de hidroxiapatita com uma substituição, no mínimo parcial, dos íons cálcio e hidroxila, presentes na estrutura da HA, por íons lítio (Li^+) e íons fluoreto (F^-) respectivamente.

1.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Avaliar a morfologia das amostras;
- b) Comparar quimicamente e estruturalmente a hidroxiapatita pura com a hidroxiapatita que contém substituições parcial de seus íons;
- c) Identificar quais fases estão presentes nas amostras, bem como a composição química das amostras;
- d) Investigar substituições por difração de raios X e FTIR;
- e) Realizar a síntese por precipitação a partir de soluções aquosas, da hidroxiapatita pura e da hidroxiapatita com adição de fluoreto de lítio;

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 TECIDO ÓSSEO

Considerado o principal constituinte do esqueleto humano, o tecido ósseo possui por objetivo fornecer suporte aos tecidos moles, proteger órgãos vitais e proporcionar apoio aos músculos esqueléticos. Somado a tais atributos, o tecido ósseo possui uma inigualável capacidade de regeneração, uma vez que fraturas e imperfeições locais, ao serem reparadas, não ocasionam, na maioria dos casos, cicatrizes. Tal mecanismo de reparação é considerado, em determinados casos, semelhante à osteogênese primária, isto é, a formação óssea durante seu desenvolvimento (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013). De fato, os eventos observados nos processos de osteogênese embrionária são basicamente os mesmos encontrados na consolidação de trauma, ou nos mecanismos de osteointegração de um biomaterial (HALL, 2005).

O tecido ósseo é formado por uma matriz inorgânica constituída majoritariamente por fosfatos de cálcio e outros íons como potássio, sódio, bicarbonato, entre outros, e uma parte orgânica composta por colágeno, osteonectina, osteocalcina, entre outros (BOSE, TARAFDER; 2012). Considerado uma forma especializada do tecido conjuntivo, a característica que o torna peculiar está no processo de mineralização que ocorre durante seu desenvolvimento. Desta forma, o tecido ósseo adquire propriedades mecânicas essenciais para desempenhar suas funções com primor (ROSS et al.; 1993).

O tecido ósseo pode ser classificado com base em sua organização estrutural, se subdividindo em cortical compacto ou esponjoso (FIG. 2.1).

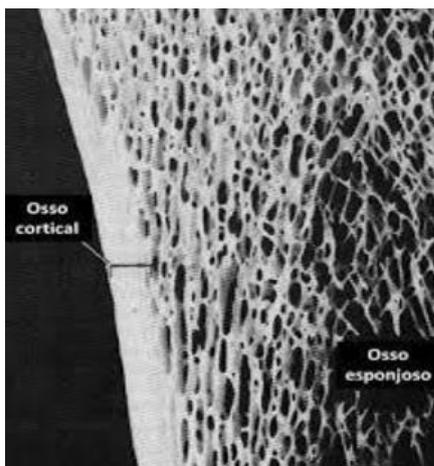


FIG. 2.1 Tecido ósseo cortical, localizado externamente ao tecido ósseo esponjoso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013)

Constituído por lâminas delgadas ósseas que se sobrepõem umas às outras, o compacto cortical se apresenta de forma sólida e homogênea. Tal tecido apresenta colunas cilíndricas com 150 a 300 μm de diâmetro denominadas osteóns ou sistemas de Havers (HALL, 2005). Por possuírem sua linha de eixo maior paralela ao osso, contribuindo desta forma na contenção dos esforços de tração e compressão, são consideradas unidades estruturais essenciais do tecido ósseo compacto (FIG. 2.2).

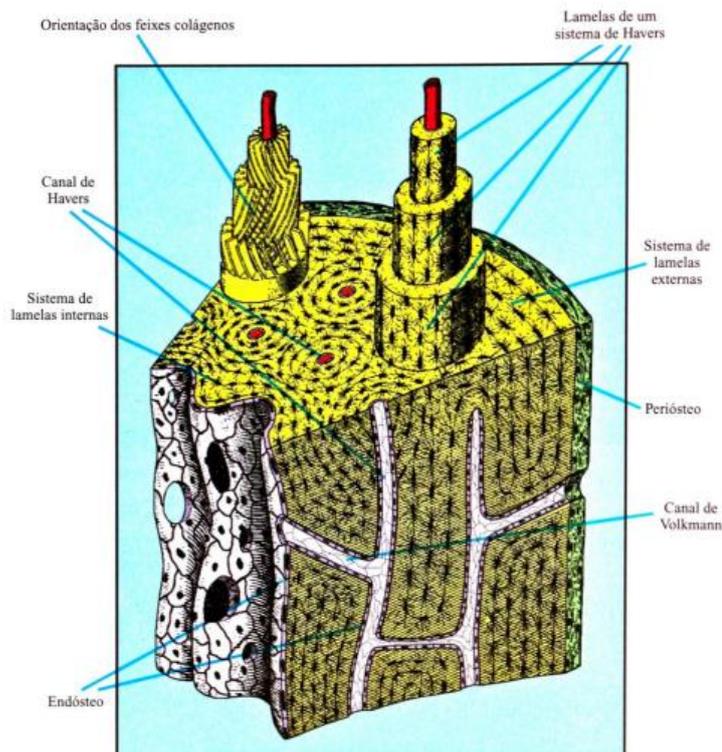


FIG. 2.2 Esquema representativo da constituição histológica de uma zona de tecido (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013)

O tecido ósseo esponjoso (FIG. 2.3) é formado por trabéculas com 100 a 150 μm de espessura, compostas por lamelas ósseas. As cavidades do osso esponjoso são preenchidas pela medula óssea. No interior de tal tecido, encontram-se as trabéculas que possuem como principal função suportar as cargas transmitidas pelas superfícies articulares, para tal, estão dispostas sob a forma de uma rede tridimensional. (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

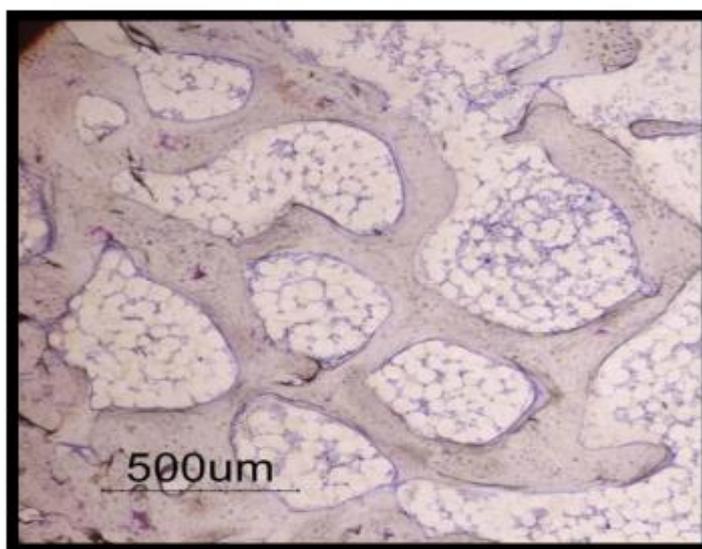


FIG. 2.3 Corte histológico de uma zona de tecido ósseo esponjoso (JUDAS, et al; 2012).

No interior da matriz do tecido ósseo, pequenos espaços chamados lacunas abrigam células ósseas. Essas são responsáveis pelas funções de formação, manutenção e reabsorção do tecido ósseo. Os três tipos celulares classicamente descritos são os osteoblastos, os osteócitos e os osteoclastos, cada qual desempenhando determinada função.

Os osteoblastos são responsáveis pela produção e mineralização da parte orgânica do tecido. Dentre as proteínas sintetizadas pelos osteoblastos estão o colágeno tipo I e proteínas não colagênicas, como a osteonectina (responsável por facilitar a deposição de cálcio), a osteocalcina, (que tem por função estimular a atividade dos osteoblastos), entre outras. Estas proteínas não colagênicas têm uma importância fundamental no processo de mineralização, ou seja, na ligação do colágeno aos cristais minerais de hidroxapatita.

Os osteócitos têm por objetivo secretar substâncias necessárias à manutenção óssea. Tal grupo celular apresenta uma organização tridimensional conectada, encontrando-se regularmente dispostos ao longo da matriz. A FIG. 2.4 ilustra a disposição dos osteoblastos e osteócitos, bem como sua conectividade. Dispostos numa camada contínua na superfície da matriz óssea, encontram-se os osteoblastos e as células de revestimento ósseo. Abaixo desta, pode-se observar uma camada de osteóides, grupo celular não mineralizado que posteriormente se tornará um novo tecido ósseo. Os osteócitos estão situados nas lacunas da matriz óssea. Pequenos canais possuem os prolongamentos dos osteócitos, responsáveis por interligá-los.

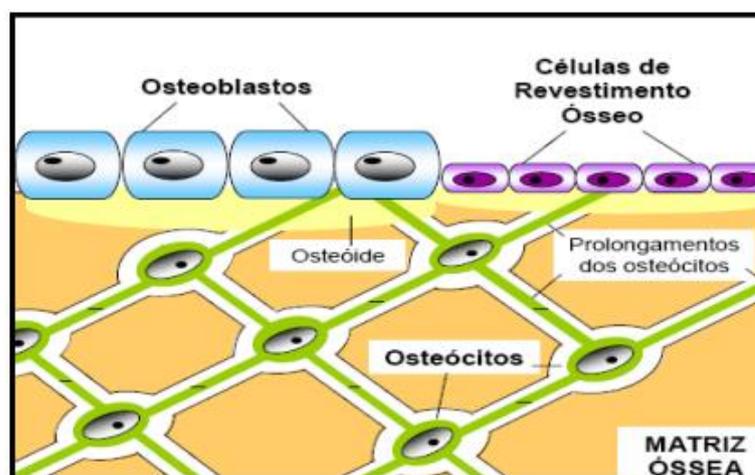


FIG. 2.4 Esquema representativo da distribuição e localização na matriz óssea das células da linha osteoblástica (JUDAS, et al.; 2012).

Como terceiro grupamento celular a ser mencionado, tem-se os osteoclastos. Responsáveis pela remodelação e renovação do tecido ósseo, tal grupo possui células grandes, móveis, multinucleadas e extensamente ramificadas. Um mecanismo de ação específico é desempenhado pelos osteoclastos para que o mesmo realize seu papel na reabsorção da matriz óssea. A região óssea reabsorvida apresenta o formato de uma lacuna denominada *howship*. Na primeira fase da reabsorção óssea ocorre o processo de acidificação do *howship* através da produção de íons H^+ e Cl^- , provocando a dissolução da fase mineral da matriz óssea, principalmente a HA. Numa segunda fase, tem-se a degradação completa da fase orgânica por ação de numerosas enzimas (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

2.2 BIOMATERIAIS

A utilização de biomateriais em humanos, na tentativa de reparo das mais diversas patologias, não é uma descoberta recente. A aplicação de suturas de linho e ouro no antigo Egito (2000 AC) já remete a sua utilização. Apesar de serem empregados desde tempos antigos, somente a partir da Segunda Guerra Mundial que houve um enfoque maior no estudo dos biomateriais (PIRES et al.; 2015).

Os avanços da medicina conciliados aos princípios da engenharia proporcionam o desenvolvimento de materiais substitutos sintéticos que possam manter, reparar, regenerar ou mesmo substituir funções de órgãos ou tecidos do corpo humano. Essa interdisciplinaridade permite o desenvolvimento de novas tecnologias, tais como as terapias celulares e de bioengenharia tecidual (MISHIMA, F. 2012).

Segundo dados divulgados pelo IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística) em 2018, a expectativa de vida dos cidadãos brasileiros aumentou de 45 para 76 anos a partir da década de 40. O interesse no desenvolvimento e melhoria dos materiais utilizados como implantes, cuja função é recuperar os tecidos afetados por patologias, infecções e traumas, intensificou-se com o aumento da expectativa de vida. Desta forma, faz-se necessário a busca por novos métodos e tecnologias que cooperem para a manutenção da qualidade de vida.

Para serem aceitos no organismo vivo, os sistemas implantáveis devem ser preparados a partir de uma classe especial, os chamados biomateriais. O primeiro encontro de pesquisadores que abordou o tema foi realizado em 1969 na universidade de Clemsom, Carolina do Sul (E.U.A). Desde então, definições de biomateriais são apresentadas e complementadas à medida que pesquisas sobre tal classe são conduzidas.

Na Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas, realizada em 1982, o termo biomaterial é definido como:

“Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (HELMUS E TWEDEN, 1995).

Williams (2009) expõe uma definição complementar de biomateriais sendo esta:

“Biomaterial é uma substância que foi projetada para assumir uma forma que, sozinho ou como parte de um sistema complexo, é usado para direcionar, pelo controle das interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, em medicina humana ou veterinária” (WILLIAMS, 2009).

Da grande gama de requisitos que um biomaterial deve atender, duas se destacam: a biocompatibilidade e a biofuncionalidade. A primeira diz respeito ao material e seus possíveis produtos de degradação, estes devem ser tolerados pelos tecidos envoltórios e não devem danificar o organismo a curto e longo prazo (JAHNO,2007).

“A biocompatibilidade de um material para implante é ótima se o material proporciona a formação de tecidos normais na sua superfície e, adicionalmente, estabelece uma interface contínua capaz de suportar as cargas que normalmente ocorrem no local da implantação” (DUCHEYNE; CUCKLER, 1992).

Para ser considerado um material de implante, é necessário que atenda aos seguintes requisitos (GOMES, 2019):

- a) O material deve ser biocompatível, sua presença não deve causar efeitos nocivos no local do implante ou no sistema biológico;
- b) O material deve ser biofuncional, possuir características mecânicas adequadas para cumprir a função desejada, pelo tempo desejado;
- c) O material deve ser esterilizável;
- d) Os tecidos não devem causar uma degradação inesperada do material.

O biomaterial precisa desempenhar com maestria os papéis para os quais foi designado, seja estático ou dinâmico. A biofuncionalidade é um conjunto de propriedades que garante a certo dispositivo a capacidade de executar uma função similar ao material que está sendo substituído (BOSCHI,1995).

A inserção de um biomaterial para reparo ósseo deve desencadear mecanismos biológicos favoráveis ao organismo e ao implante (SCHNEIDER, ZA et al., 2004). Após este processo, uma série de etapas do reparo tecidual (modelagem e remodelagem) deve ocorrer na interface óssea com a superfície do implante (KIM, et al., 2004). A interação de um biomaterial, seja ele liga metálica ou não, como é o caso da hidroxiapatita, é objetivo de vários estudos atuais.

Assim como os materiais convencionais, os biomateriais são empregados de acordo com sua aplicabilidade. Podendo ser biometais, biocerâmicos, polímeros biocompatíveis naturais ou sintéticos e macromoléculas naturais que são processados a fim de serem utilizados em dispositivos médicos que se relacionam intimamente com as proteínas, células, tecidos, órgãos e sistemas orgânicos (VINCENT, 2012).

2.3 GERAÇÕES DE BIOMATERIAIS

Entre 1960 e 1970, a primeira geração de biomateriais foi desenvolvida para utilização interna no corpo humano. Os implantes se mantinham estáticos no organismo e possuíam como principal objetivo alcançar uma combinação adequada de propriedades físicas para o tecido substituído com uma resposta tóxica mínima ao hospedeiro (TARIVERDIAN; SEFAT; MOZAFARI; 2019). Vale ressaltar que nenhum material é totalmente “inerte” uma vez que todo material provoca algum tipo de resposta no organismo (HENCH; WILSON, 1993). Apesar disso, os materiais dessa geração são menos suscetíveis a causar uma reação biológica adversa devido a sua estabilidade química se comparado a outros. Apesar de não induzirem reação local do sistema imunológico, tendem a ser envolvidos por uma cápsula fibrosa que acaba por isolá-los do meio biológico (MISHIMA et al., 2012). Pode-se exemplificar como materiais bioinertes: alumina (Al_2O_3), zircônia (ZrO_2) e dióxido de titânio (TiO_2) (WILLIAMS, 2009).

A segunda geração possibilitou uma nova perspectiva na utilização dos materiais. Nesta fase, a ênfase não foi unicamente em se obter materiais bioinertes, mas sim produzir componentes bioreativos que possam provocar reações controladas no ambiente fisiológico. As trocas iônicas e reações proporcionadas por biovidros implantados forneceram ambientes propícios à colonização de osteoblastos. Em seguida, há proliferação e diferenciação celular para formação de um novo tecido ósseo, através da ligação química, mecanicamente forte (HENCH; POLAK, 2002).

Em meados da década de 1980, vidros bioativos, cerâmicas e materiais compósitos que induzem uma resposta específica na interface implante-tecido, permitindo ligação química entre o material e o tecido vivo, haviam alcançado a aplicação clínica em diversos procedimentos ortopédicos e odontológicos. Dentre

essa série de materiais denominados bioativos, as cerâmicas de hidroxiapatita sintética começaram a ser usadas rotineiramente como implantes porosos e em próteses metálicas, no intuito de conter a formação da camada fibrosa e, com isso, fornecer fixação bioativa. A presença de arcabouços porosos de HA moderadamente solúveis levou a uma resposta tecidual (denominada osteocondução) na qual o osso cresce ao longo do arcabouço e forma uma interface mecanicamente forte (HENCH; POLAK, 2002).

Na década de 1990, compostos bioativos, como partículas de HA em uma matriz de polietileno, tornaram-se importantes no reparo e substituição óssea (LEGEROS, 1993). Outro relevante avanço sucedido durante a segunda geração foi o desenvolvimento de biomateriais que exibem reabsorção e decomposição química clinicamente relevantes, denominados reabsorvíveis. Deste modo, a chance de transtornos na interface órgão-implante é minimizada uma vez que o material estranho é substituído por tecidos em reparação e, finalmente, não há diferença discernível entre o local do implante e o tecido hospedeiro (HENCH; POLAK, 2002).

A considerada terceira geração de biomateriais possui o intuito de estimular ativamente respostas celulares específicas a nível molecular, em uma convergência dos conceitos de reabsorção e bioatividade (HENCH e POLAK, 2002). Neste contexto, surgem os bioreabsorvíveis, materiais que são totalmente degradados ou fagocitados ao estabelecer contato com os tecidos por determinado tempo. Tal grupo propicia um processo dinâmico de formação e reabsorção óssea. Modificações intramoleculares de polímeros que direcionem a proliferação, diferenciação e organização das matrizes extracelulares, arcabouços micro e nanoporosos que estimulam a regeneração de tecidos vivos, são exemplos de tópicos abordados nesse período (HENCH; POLAK, 2002).

2.4 AS APATITAS

A palavra “apatita” incorpora outra herança do mundo grego e possui como significado decepção (ROYCROFT; CUYPERS, 2015). As apatitas possuem a seguinte composição $M_{10}Y_6J_2$, sendo M um cátion metálico divalente (por exemplo Mg^{2+} e Ca^{2+} entre outros) e Y um ânion trivalente (como PO_4^{3-} , BO_4^{3-} , VO_4^{3-} , entre

outros). Os ânions monovalentes (simbolizados com J) são aqueles responsáveis por diferenciar as apatitas mais comuns. Alguns exemplos desses são: F^- , OH^- e Cl^-

Dentre o vasto número de apatitas que podem ser produzidas, os fosfatos de cálcio são de grande interesse por representarem o mais importante constituinte inorgânico dos tecidos duros dos vertebrados. Os fosfatos de cálcio estão presentes nos ossos, dentes, chifres e tendões de mamíferos para conferir a esses organismos estabilidade, funcionalidade e dureza. Possuindo como cátion metálico divalente o cálcio (Ca^{2+}) e como ânions trivalentes o fosfato (PO_4^{3-}) sua diferenciação ocorre pela variação dos ânions monovalentes. Os principais fosfatos de cálcio são a fluoroapatita (íon fluoreto), de fórmula química $Ca_{10}(PO_4)_6F_2$; a cloroapatita (íon cloreto), $Ca_{10}(PO_4)_6Cl_2$; e a HA (íon hidroxila), $Ca_{10}(PO_4)_6OH_2$.

Em geral, as apatitas obtidas por síntese aquosa consistem inicialmente de uma camada estrutural hidratada contendo espécies iônicas facilmente substituídas, com baixa cristalinidade e estequiometria não totalmente definida (KALITA; BHATT, 2007). As apatitas possuem vários sítios cristalográficos distintos, possibilitando desta forma, a ocorrência de trocas atômicas e substituições de elementos com diferentes cargas iônicas (INAGAKI E KAMEYAMA, 2007). Apesar de considerada o provável produto final dos fosfatos de cálcio, a variação da razão existente entre cálcio e fósforo (Ca/P) torna viável o aparecimento de novos minerais. Desta forma, novas fases deficientes em cálcio surgirão. A TAB. 2.1 abaixo expõe alguns dos principais fosfatos de cálcio de interesse para a área biomédica.

TAB. 2.1. Principais fosfatos de cálcio com aplicação biomédica.

Razão Molar Ca/P	Nomenclatura e abreviação	Fórmula química	Estabilidade em pH em solução a 25°C
1,0	Bruxita (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	2,0 – 6,0
1,0	Monetita (DCPA)	CaHPO_4	*
1,33	Fosfato Octacálcico	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	5,5 – 7,0
1,5	Fosfato Tricálcico (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	**
1,5	Fosfato Tricálcico (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	**
1,2 – 2,2	Fosfato de cálcio Amorfo(ACP)	$\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n\text{H}_2\text{O}$	5,0 – 12
1,67	Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$	9,5 – 12
1,67	Fluorapatita (FHA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	7,0 – 12

* *Estável após tratamento térmico acima de 80°C.*

** *Não podem ser obtidos por métodos em solução aquosa.*

Uma complexidade encontrada na síntese dos fosfatos de cálcio reside na obtenção de um produto final estequiométrico que não possua resíduos de segunda fase. Os parâmetros mais importantes a serem controlados nessas sínteses são o pH, a temperatura de reação, o tempo de envelhecimento e a estequiometria dos precursores, pois qualquer variação de composição leva à formação de outros fosfatos de cálcio (VERCIK, et al., 2003). A estabilidade das cerâmicas após incorporada em determinado meio biológico é outro fator que merece destaque. A presença de fluídos (principalmente os de caráter ácido) e a temperatura do sítio são dois fatores que podem favorecer a decomposição de determinado fosfato de cálcio e propiciar a formação de outro.

2.5 HIDROXIAPATITA

Sendo um dos biomateriais mais investigados na reparação de tecido ósseo, a hidroxiapatita é produzida naturalmente pelo organismo humano, mas também pode ser sintetizada, possibilitando dessa forma, ampla aplicação nas áreas médicas, odontológicas e de bioengenharia tecidual. Além do vasto campo biomédico de aplicação, estudos que utilizam tal material com outras finalidades, como para células

de combustível (WEI, 2012), produtos de higiene (OBERBEK et al., 2018), entre outros, são recorrentes.

Um dos primeiros trabalhos a descrever aplicações biomédicas da HA foi produzido por Levitt et al. (1969), desde então, uma série de pesquisas são desenvolvidas no intuito de aprimorar os conhecimentos previamente adquiridos.

O ponto primordial que permite a hidroxiapatita se sobressair dos demais fosfatos de cálcio e grande parte dos biomateriais, esta no conjunto de fatos da mesma possuir uma alta biocompatibilidade, bioatividade e aceitar um grande número de substituintes aniônicos e catiônicos (OBERBEK et al., 2018).

2.5.1 Estrutura da hidroxiapatita

Considerada a principal representante do grupo dos fosfatos de cálcio, a HA apresenta fórmula estequiométrica: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Apesar da razão Ca/P igual a 1,67, é possível observar composições também estáveis mas em outras proporções, principalmente na HA sintetizada no tecido conjuntivo ósseo, que estabelece constante interação com fluidos de pHs variados produzidos pelo organismo (BROWN, CONSTANTZ, 2017). Ainda assim, a HA é considerada uma das fases mais estáveis em meio fisiológico (SZCZEŚ; HOŁYSZ; CHIBOWSKI, 2017).

A célula unitária da HA se cristaliza na forma monoclinica no grupo espacial P21/b, porém, em temperaturas superiores a 250°C, ocorre uma transição polimórfica para forma hexagonal (FIG. 2.5), com grupamento espacial P63/m que é caracterizado pela simetria perpendicular a três eixos equivalentes que formam um ângulo de 120° (AOKI, 1991) (FIG. 2.6). A mudança de sistema cristalino citada anteriormente se deve principalmente ao deslocamento dos íons OH⁻ que promovem distorções na rede, tornando-se necessário a readequação da mesma. Desta forma, as dimensões da nova célula unitária, sendo esta a mais encontrada, são a = b = 9,418 Å e c = 6,881 Å sendo que cada uma contém 10Ca²⁺, 6(PO₄)³⁻ e 2 grupos OH⁻.

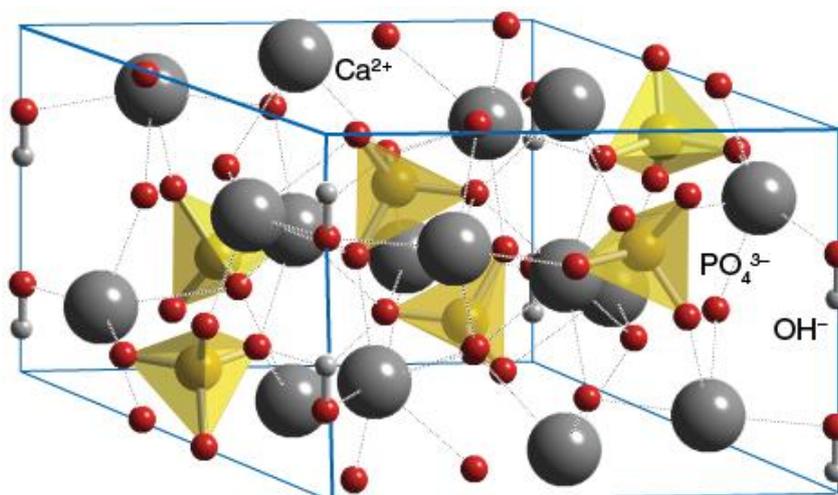


FIG. 2.5 Estrutura da Hidroxiapatita. (ChemTube 3D).

Os dez íons cálcio estão dispostos em sítios não equivalentes, sendo quatro no sítio 1 (Ca-I) e seis no sítio 2 (Ca-II). Os íons Ca-I estão dispostos em colunas e os íons Ca-II organizam-se formando dois triângulos equiláteros perpendiculares ao eixo *c*. O paralelismo proporcionado pela disposição dos íons Ca-I é um dos principais fatores que propiciam as possíveis substituições catiônicas da HA. Os íons P^{5+} encontram-se no centro dos tetraedros cujos vértices são ocupados por 4 átomos de oxigênio.

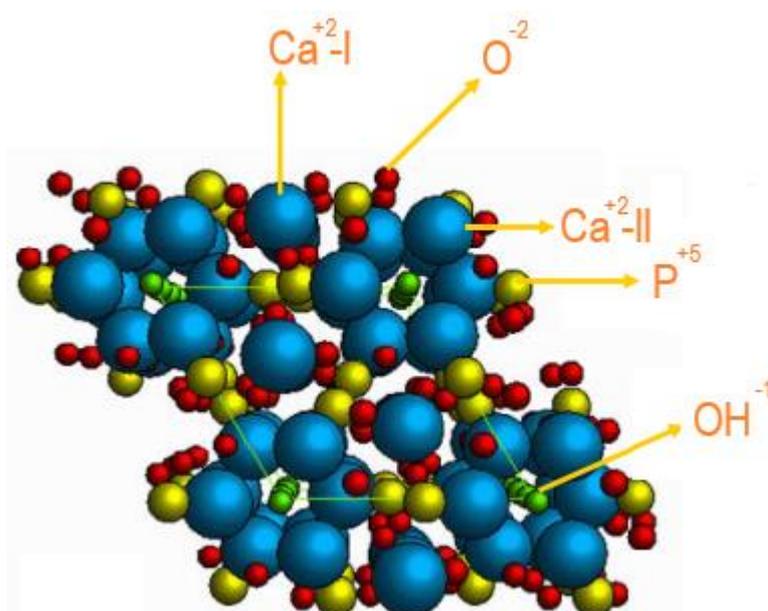


FIG. 2.6 Modelo representativo da estrutura da hidroxiapatita (DE MELO COSTA, et al., 2009) (adaptado).

A existência de dois sítios eleva a possibilidade de substituições catiónicas, tornando a gama de produtos finais obtidos mais vasta (KHALID; CHAUDHRY, 2019).

2.5.2 Síntese de ha

A similaridade da hidroxiapatita produzida em laboratório com aquela encontrada no tecido ósseo contribui para o desenvolvimento de métodos para síntese do biomaterial para aplicação biomédica (SZCZEŚ; HOŁYSZ; CHIBOWSKI, 2017).

Durante as últimas décadas diversos métodos, cada qual com sua peculiaridade e conhecimento químico específico, foram analisados para preparação de HA. Em cada um desses processos, pode-se variar determinadas condições resultando desta forma, em uma gama de sub métodos. Com tamanha variedade, a seleção de uma rota de síntese específica irá impactar diretamente nas características finais do biomaterial obtido (SADAT-SHOJAI et al., 2013).

Segundo Sadat-Shojai et al. (2013), pode-se classificar os métodos de preparação em quatro grupos que, por sua vez, se subdividem em demais (TAB. 2.2).

O primeiro deles é a via seca que se subdivide em dois subgrupos. Neste processo não se faz necessário o uso de solvente. As características do pó de HA sintetizado por tal via não são fortemente afetadas pelos parâmetros de produção, desta forma, esta metodologia é frequentemente utilizada para produção em massa (SADAT-SHOJAI et al., 2013). A principal peculiaridade de tal processo está no aumento do tamanho de grão. Diferente da via seca, o segundo grupo, denominado via úmida (composta por seis subgrupos), permite maior precisão da morfologia e do tamanho de grão obtido, uma vez que os parâmetros da reação são mais facilmente controlados (ZHAN et al., 2005). Apesar de ser o procedimento mais utilizado, a síntese por via úmida é comumente realizada a baixas temperaturas (se comparado ao processo descrito anteriormente) podendo resultar na aparição de fases de fosfatos de cálcio com diferentes índices de cristalinidade. Outro fator somado as desvantagens de tal rota, está na possibilidade de incorporação de íons provenientes da solução aquosa, gerando impurezas no produto final.

TAB. 2.2 Comparação de diferentes métodos de obtenção de HA (SADAT-SHOJAI et al., 2013)

Método	Aspecto do processo		Características do produto obtido			
	Nº de agentes químicos utilizados	Custo	Grau de cristalinidade	Pureza da fase	Razão Ca/P	
Via seca	Fase sólido	Poucos	baixo	muito alto	geralmente baixo	variável
	Mecanoquímico	Poucos	baixo	muito alto	baixo	geralmente não estequiométrico
Via úmida	Precipitação química	Poucos	baixo	geralmente baixo	variável	geralmente não estequiométrico
	Hidrólise	Poucos	geralmente alto	variável	geralmente alto	estequiométrico
	Sol-gel	Variável	variável	variável	variável	estequiométrico
	Hidrotérmico	Variável	geralmente alto	muito alto	geralmente alto	estequiométrico
	Emulsão	Vários	alto	geralmente baixo	variável	não estequiométrico
	Sonoquímica	Poucos	geralmente baixo	variável	geralmente alto	variável
Alta temperatura	Combustão	Poucos	geralmente baixo	variável	geralmente alto	variável
	Pirólise	Variável	geralmente baixo	muito alto	variável	geralmente estequiométrico
Recursos biológicos		Poucos	geralmente baixo	variável	geralmente alto	variável

O terceiro grupo, que possui como principal característica promover a retirada parcial ou completa dos precursores através da queima, compreende os processos realizados a alta temperatura. Dentro deste, tem-se a combustão e a pirólise, processos capazes de formar HA nanométricas, de elevada cristalinidade e alta pureza (CHO; KANG, 2008).

Como quarta forma de obtenção da HA, tem-se a síntese via recursos biológicos que proporciona um biomaterial que tende a ser mais bem aceito quando submetido a testes *in vivo* devido a similaridade da HA produzida no organismo humano. (SOBCZAK, 2009). Com intuito de aprimorar as propriedades do produto final, dois ou mais métodos distintos podem ser combinados criando uma nova estratégia de síntese (WANG; SHAW, 2009).

2.5.3 Substituições na ha

A hidroxiapatita presente no tecido ósseo humano se apresenta, de forma majoritária, em proporção não estequiométrica possuindo desta forma, diversas substituições iônicas (CO_3^{2-} , Na^+ , Mg^{2+} , Fe^{2+} , F^- , Zn^{2+} e silicatos) (LEGEROS, 1993). Nas últimas décadas, uma série de pesquisas evidenciam que as substituições iônicas na HA sintética contribuem na formação de um biomaterial mais similar àquela encontrado no organismo. Tal alteração pode acarretar variações nos parâmetros de rede, na estrutura cristalina, morfologia, solubilidade e estabilidade térmica se comparada a HA não substituída (RATNAYAKE et al., 2017). Alguns dos principais íons substituintes na estrutura da hidroxiapatita serão mencionados nos subcapítulos abaixo juntamente com as consequentes características descendentes de sua incorporação.

2.5.3.1 Substituições catiônicas na HA

Substituições catiônicas ocorrem quando íons cálcio presentes nos sítios da HA são parcialmente substituídos por cátions geralmente mono ou bivalentes. Alguns íons usualmente empregados nesse tipo de substituição são: manganês (Mn^{2+}), sódio (Na^+), prata (Ag^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), zinco (Zn^{2+}), ferro (Fe^{2+}), cobalto (Co^{2+}) e estrôncio (Sr^{2+}), cada qual contribuindo de determinada maneira específica. O manganês auxilia no crescimento, desenvolvimento e remodelagem do tecido ósseo e, quando parcialmente substituído nos sítios catiônicos da HA, além de estimular a osteogênese (PABBRUWE et al., 2004), proporciona maior interação entre a matriz celular e as células de adesão (MEDVECKÝ, et al., 2006).

Com a presença de 0,5% a 1% em massa na apatita biológica, o sódio possui um papel fundamental na adsorção celular, mineralização e reabsorção óssea (MATSUNAGA; MURATA, 2009). Pesquisas *in vivo* e *in vitro* diagnosticaram resultados positivos de biocompatibilidade com a substituição, no mínimo parcial, dos íons cálcio presentes na estrutura da HA por íons sódio (SANG et al., 2014).

Por sua eficiência na inibição de bactéria, vírus e fungos (EWALD et al., 2011) a prata é cada vez mais visada para aplicações biomédicas. Desta forma, as

substituições de íons prata nos sítios que contém íons cálcio na estrutura da HA previnem a proliferação de tais organismos, restringindo uma possível toxicidade celular (CHEN et al., 2010).

Estimulando a produção de osteoblastos nos primeiros estágios da osteogênese, o magnésio compõe 0,72% (em massa) do osso (REN et al., 2010). Pelo fato do magnésio possuir menor raio atômico, se comparado ao cálcio, resultando em severas alterações na rede, a substituição de íons magnésio nos sítios que previamente continham íons cálcio na estrutura da HA é conhecido por inibir a cristalização da biocerâmica (BIGI et al., 1992). Apesar desta característica, a carência do mesmo promove uma diminuição da atividade dos osteoblastos, ocasionando imperfeições e fragilidade óssea.

Intitulado como segundo elemento mais abundante no tecido ósseo, além de inibir a osteoporose, o zinco contribui na formação e na supressão da reabsorção óssea (SAMANTA; CHANDA; NANDI, 2019). Resultados positivos evidenciam a capacidade antibacteriana e antiinflamatória decorrente da substituição parcial de íons zinco nos sítios dos íons cálcio presentes na estrutura da HA (STANIC et al., 2010). Outro fator a ser ressaltado está no aumento da atividade celular dos osteoblastos e osteoclastos quando Zn-HA é submetida a teste *in vitro* (SHEPHERD; SHEPHERD; BEST, 2012).

Encontrado majoritariamente no sistema renal e sanguíneo, o ferro está disposto em menores quantidades nos tecidos duros. Substituições parciais de íons ferro nos sítios catiônicos, anteriormente contendo íons cálcio, na estrutura da HA conferem propriedades magnéticas ao biomaterial. Desta forma, uma série de aplicações tornam-se possíveis no campo biomédico tais como: obter imagem de ressonância magnética, transporte de fármacos, separação celular e tratamento hipertermiais em tumores ósseos (GUPTA, 2005). Em contrapartida, pesquisas referentes a toxicidade de tal material ainda são necessárias no propósito de eliminar qualquer incerteza sobre a segurança do mesmo em aplicações terapêuticas (RATNAYAKE et al., 2017).

Sendo um dos componentes da vitamina B12 (necessário na produção de hemoglobina e síntese de DNA), os íons cobalto podem ser substituídos nos dois diferentes sítios de cálcio que a hidroxiapatita contém. Quando substituí, ainda que parcialmente, os íons cálcio presentes na estrutura da HA em concentrações superiores a 3,7% em peso de Co^{2+} , promove severas distorções na rede da HA

(TANK et al., 2013). Assim como o ferro, pesquisas mais conclusivas devem ser desenvolvidas no intuito de validar a não toxicidade do material quando incorporado.

O estrôncio é um componente mineral que desempenha função fundamental na mineralização óssea (BIGI et al., 2007). Induzir a produção e ativação de osteoblastos e estimular síntese de colágeno presente no osso são duas das vantagens da substituição parcial de íons estrôncio no sítio dos íons cálcio presentes na estrutura da hidroxiapatita. Em contrapartida, a produção e ativação de osteoclastos é inibida (RAVI; BALU; KUMAR, 2012). Apesar de pesquisas comprovarem que a incorporação de íons de estrôncio, a partir de determinada quantidade, contribuem na redução da cristalinidade e promove variações dos parâmetros de rede (BIGI et al., 2007), novas análises revelam que concentrações inferiores a 1,5% em peso não afetam a cristalinidade da HA obtida (CURRAN et al., 2011).

2.5.3.1.1 Substituição cationica de Li na estrutura da HA

O emprego do lítio na manutenção da saúde humana não é apenas um alvo de estudo atual. Koutsoukos e Nancollas (1985) relataram a tentativa de utilização do lítio no tratamento de artrite aguda em 1841. No final dos anos 40, cloreto de sódio foi substituído por cloreto de lítio na dieta de pacientes com hipertensão. Apesar da tentativa, a utilização indiscriminada do produto propiciou ocorrências de intoxicação (BROWN, 1973). No início dos anos 60 experimentos evidenciaram o potencial uso de íons de lítio como agente cariostático (MALTHUS; LUDWIG; HEALY, 1965).

Bradán et al. (2017) após realizarem um estudo de substituições parciais de lítio nos sítios catiônicos da HA, concluíram que para determinadas proporções, tal modificação pode conferir maior cristalinidade ao material apesar do surgimento de novas fases deficientes em cálcio. Em termos de bioatividade, Wang et al. (2016) constaram que substituições parciais dos íons cálcio por íons lítio na estrutura da hidroxiapatita potencializam a ação dos osteoblastos, promovem um decréscimo de porosidade e incrementam o limite de resistência do material. Em contrapartida, ensaios in vitro evidenciaram uma maior taxa de degradação do biomaterial se comparada a HA pura.

2.5.3.2 Substituições ânionicas na HA

As substituições aniônicas na HA se subdividem nos grupos dos sítios A e B. As do tipo A são aquelas em que o íon hidroxila é substituído, geralmente por um halogenato. As substituições do tipo B ocorrem quando grupos funcionais de fosfato são substituídos, na maioria dos casos, por grupos funcionais de silicato ou carbonato (RATNAYAKE et al., 2017).

O carbonato desempenha um papel vital no metabolismo ósseo, desta forma, substituições parciais de íons carbonato no lugar dos íons fosfato presentes na estrutura da HA, são de grande interesse quando considerado como um material biorreabsorvível para aplicações de enxerto ósseo (RATNAYAKE et al., 2017). Apesar das substituições do tipo B serem encontradas com maior frequência nas espécies vivas (LANDI et al., 2003), íons carbonato também podem ocupar os sítios A. As substituições do tipo A e B podem ocorrer simultaneamente, embora exija uma reação de precipitação complexa, que envolve a substituição de íons amônio ou sódio. Quando realizadas, o biomaterial obtido possui um incremento de sua solubilidade tanto *in vitro* quanto *in vivo* e uma maior osteocondução se comparada à HA estequiométrica (HE et al., 2013)

Contribuindo na manutenção do pH dos osteoclastos, os íons cloreto compõem cerca de 0,13% em peso da fase mineral óssea. Para obtenção da HA substituída com tais íons, diferentes rotas de síntese podem ser utilizadas (RATNAYAKE et al., 2017). Resultados reportaram um incremento do módulo de Young e da dureza da composição Cl-HA se comparada a HA estequiométrica (KANNAN et al., 2007) e, em termos de bioatividade, notou-se uma maior solubilidade e osteocondução (KANNAN; ROCHA; FERREIRA, 2006).

Utilizado em tratamentos de prevenção da osteoporose, o flúor fornece estímulos a atividade osteoblástica respeitando a diferenciação e proliferação celular (CHAVASSIEUX et al., 1993). Substituições parciais de íons fluoreto no lugar das hidroxilas presentes na estrutura da HA conduzem a um incremento das propriedades mecânicas (tenacidade a fratura, dureza e modulo de elasticidade), do tamanho dos cristais e um aumento da cristalinidade; por outro lado, nota-se a diminuição da solubilidade do biomaterial (BIANCO et al., 2010). Resultados apontam uma maior bioatividade de hidroxiapatitas que possuem suas hidroxilas substituídas totalmente

ou parcialmente por íons fluoreto, se comparada a HA estequiométrica (RATNAYAKE et al., 2017).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 DESCRIÇÃO GERAL

No presente trabalho foram produzidas amostras em forma de pó de HA e HA com adição de fluoreto de lítio (LiF). As amostras obtidas foram sinterizadas a 1100°C e mantidas a tal temperatura durante uma hora. Uma parte do material obtido foi mantido em forma de pó e caracterizada via análise de espectrometria no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e difração de raios X (DRX). Outra parte do material obtido foi processado e transformado em pastilhas e, posteriormente, observado e analisado no microscópio eletrônico de varredura (MEV)

3.2 SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA

A metodologia empregada para obtenção da hidroxiapatita baseou-se na precipitação em meio aquoso (CUOZZO et al, 2014), processo que compreende uma sequência de reações entre precursores do fosfato de cálcio. Para isso, as soluções de 0,5mol/L hidróxido de cálcio (Merk-Darmstadt, Alemanha), 0,3mol/L ácido ortofosfórico (ISOFAR, Brasil) e 1mol/L ácido láctico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) foram preparadas em constante agitação para a posterior síntese.

O primeiro passo consiste na preparação da solução de hidróxido de cálcio sob agitação constante. Posteriormente, uma solução preparada previamente de ácido láctico foi adicionada com intuito de promover e facilitar a dissociação dos íons cálcio Ca^{2+} . Após mantida sob agitação no período de 30 minutos, uma terceira solução constituída por ácido fosfórico e água é adicionada a uma baixa vazão (8ml/min) formando desta forma, a solução precursora. Após manter tal solução 1 horas em agitação, uma quarta solução de 1,25mol/L de hidróxido de sódio (Merk-Darmstadt, Alemanha) é adicionada a solução precursora, promovendo um rápido aumento de pH contribuindo desta forma, na formação de hidroxiapatita. Para garantir a transformação majoritária em HA, a solução foi envelhecida durante 18h. Como etapa final, o precipitado obtido é lavado e filtrado, em sistema a vácuo (Edwards,

Neuberger,Alemanha) até que o pH se torne neutro. O fluxograma (FIG 3.1), ilustra sucintamente as etapas do processo.

3.3 SOLUÇÃO DE FLUORETO DE LÍTIO

Para a síntese de HA com LiF, uma solução de fluoreto de lítio foi adicionada à solução de ácido fosfórico, em diferentes frações pré-estabelecidas pelo autor, durante a síntese da hidroxiapatita. A TAB. 3.1 apresenta a razão Ca:Li para cada amostra obtida.

TAB. 3.1 Relação Ca:Li presente em cada amostra.

Amostra	Ca:Li
HA100	100:0
FA98	98:2
FA93	93,4:6,6

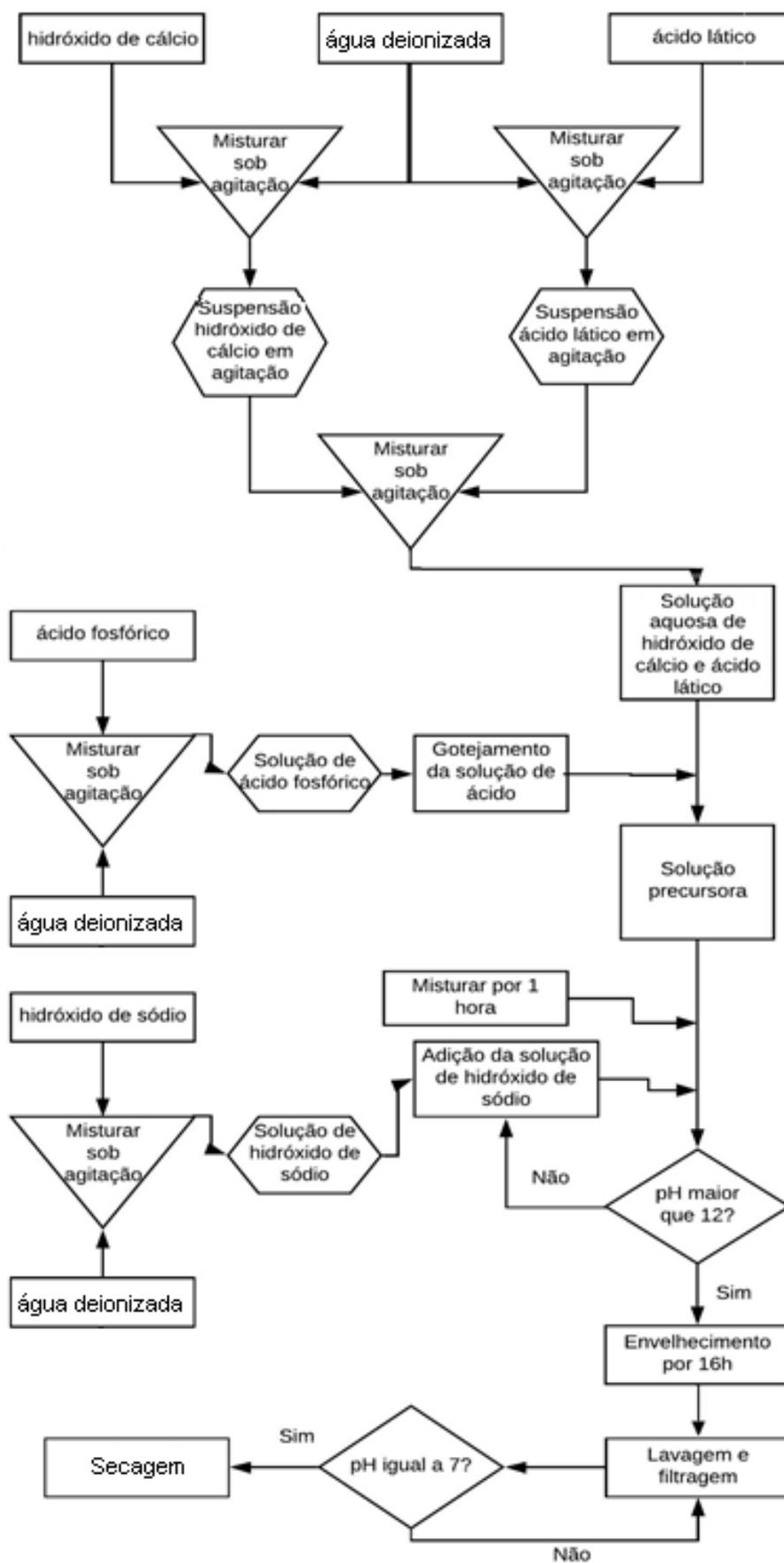


FIG. 3.1 Fluxograma da síntese de hidroxiapatita.

3.4 PROCESSAMENTO DO PÓ OBTIDO

Após filtragem, lavagens sucessivas e re-suspensões, os pós foram secados em estufa e, em seguida, macerados. Uma fração dos pós foi reservada para caracterização por difração de raios X (DRX) e espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), e outra parte foi submetida a um processo de conformação mecânica de prensagem a 47MPa (valor referência utilizado em outros experimentos realizados no laboratório), dando origem a pastilhas de 2 gramas e 20mm de diâmetro.

3.5 TRATAMENTO TÉRMICO

Concluída a etapa de síntese, as amostras foram mantidas 48 horas a uma temperatura de 80°C. Finalizada a etapa de secagem, uma parte do pó obtido foi processado dando origem as pastilhas que, juntamente com o pó sobressalente, foram sinterizados a 1100°C e mantidas em tal patamar durante 1 hora.

3.6 RECOBRIMENTO DAS AMOSTRAS

As amostras foram recobertas no CBPF por deposição de ouro (Emitech, K550X) sob corrente de 50 mA durante 200 segundos, gerando uma espessura média de 40nm de ouro.

3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS

3.7.1 Difração de raios X

A identificação das fases presentes nas amostras foi realizada no Laboratório de Difração de raios X da Universidade Federal Fluminense (UFF) em um difratômetro

modelo D8 Advance fabricado pela empresa Bruker-AXS operando com fonte de cobalto $\text{CoK}\alpha$ ($\lambda=1,78897 \text{ \AA}$), corrente de 40 mA e 40 kV. A varredura foi realizada no intervalo de $5^\circ < 2\theta < 80^\circ$, a um passo de coleta de $0,02^\circ$.

3.7.2 Refinamentos pelo método de Rietveld

O objetivo principal do Método de Rietveld é o refinamento das estruturas cristalinas com os dados da difração de pó por meio de modelos teóricos usando o método dos mínimos quadrados. O padrão calculado é obtido pela introdução dos dados cristalográficos e ajustado ao padrão observado no difratograma, fornecendo os parâmetros estruturais da amostra e parâmetros do perfil da difração. A análise quantitativa de fases foi realizada utilizando o programa HighScore Plus. Obtiveram-se as percentagens de fases cristalinas das pastilhas de hidroxiapatita pura e daqueles que sofreram adição de fluoreto de lítio durante a síntese.

3.7.3 Espectroscopia de infravermelho por transformada de fourier (FTIR)

A identificação dos grupos funcionais por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi realizado no laboratório de química da UFF. O espectrômetro utilizado é da marca NICOLET, modelo iS50 FT-IR. Os espectros foram obtidos na faixa de número de ondas entre 4000 e 525 cm^{-1} , em resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras.

3.7.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Foram analisadas seções transversais das amostras, fraturadas mecanicamente por modo quase-estático. A análise da morfologia das pastilhas sinterizadas foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura com fonte de emissão de campo (Field Emission Gun, MEV-FEG, da marca FEI e modelo: QUANTA FEG 250) no Instituto Militar de Engenharia – IME, a uma voltagem de 15kV.

3.7.5 Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS)

A análise qualitativa e semi-quantitativa da composição química das amostras foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (Fonte de emissão termoiônica, marca Zeiss e modelo: EVO40) no Centro de Pesquisas de Energia Elétrica (CEPEL).

3.7.6 Cálculo da porosidade aparente

A porosidade aparente das amostras foi calculada a luz da norma ABNT 16661:2017. Para tal, foram utilizadas três amostras de cada uma das composições (HA100, FA98 e FA93). Após aferir a massa seca, massa imersa, massa saturada e a massa específica do líquido (água), foi possível estipular o volume aparente (volume do material sólido adicionado ao volume dos poros abertos e fechados) através da Equação 3.1. A massa seca é mensurada após manter as amostras durante a 110°C por três horas, enquanto a massa imersa é estipulada com as amostras submergidas em água e a massa saturada é aferida com a amostra impregnada com o líquido.

$$V_a = \frac{m_u - m_i}{m_{e\text{liquido}}} (cm^3) \quad \text{EQ. 3.1}$$

Onde m_u é a massa saturada (g), m_i é a massa imersa (g) e $m_{e\text{liquido}}$ é a massa específica do líquido (g/cm³).

Com o volume aparente calculado, foi possível estabelecer a porosidade aparente (quociente do volume dos poros abertos do corpo de prova pelo volume aparente) de cada amostra através da Equação 3.2.

$$pa = \left(\frac{m_u - m_s}{m_{e\text{liquido}}} v_a \right) \cdot 100(\%) \quad \text{EQ. 3.2}$$

Onde pa é porosidade aparente (%), m_u é a massa saturada (g), m_s é a massa seca (g), m_{liquido} é a massa específica do líquido (g/cm³) e v_a é o volume aparente (cm³).

4 CARACTERIZAÇÕES E ANÁLISES

4.1 ANÁLISE DE DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A FIG 4.1 apresenta os difratogramas dos pós obtidos após a síntese. Observam-se picos com elevada largura a meia altura (FWHM), pouco intensos e pouco definidos, características esperadas uma vez que as amostras não haviam sido submetidas a tratamento térmico. Tal aspecto obtido nos difratogramas indica que as amostras possuem baixa cristalinidade e/ou são nanocristalinas. Em relação à hidroxiapatita sem adição de fluoreto de lítio, o padrão identificado é similar ao padrão da fase mineral do osso humano (DOROZHKIN, 2018).

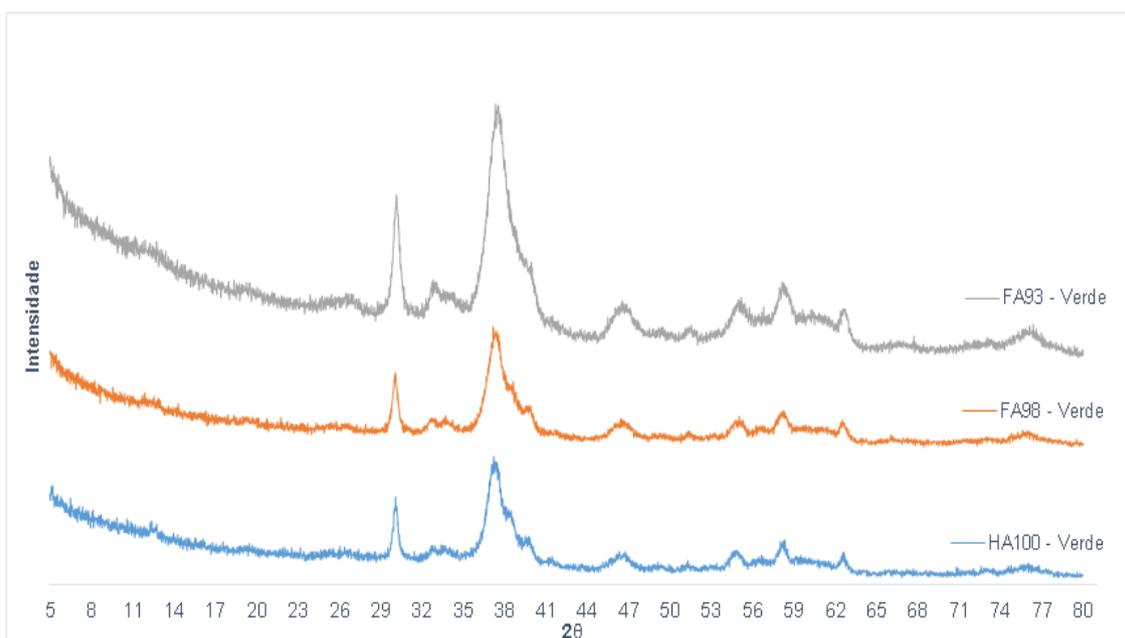


FIG. 4.1 Difratogramas das Amostras HA100, FA98 e FA93 sem tratamento térmico.

Diferente das amostras em estado verde, as amostras sinterizadas apresentaram picos bem definidos e com baixa largura a meia altura (FWHM), tornando possível a indexação dos mesmos. Ao analisar o difratograma da amostra HA100 (FIG. 4.2) e realizar a indexação de seus picos, foram identificadas a presença de duas fases, sendo uma delas a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$) (código de referência da ficha: 96-901-1095) e a segunda óxido de cálcio (CaO) (código de

referência da ficha: 96-900-8606). Vale ressaltar que o difratograma não identificou demais fases, como β -TCP, que poderiam estar associadas à decomposição da hidroxiapatita.

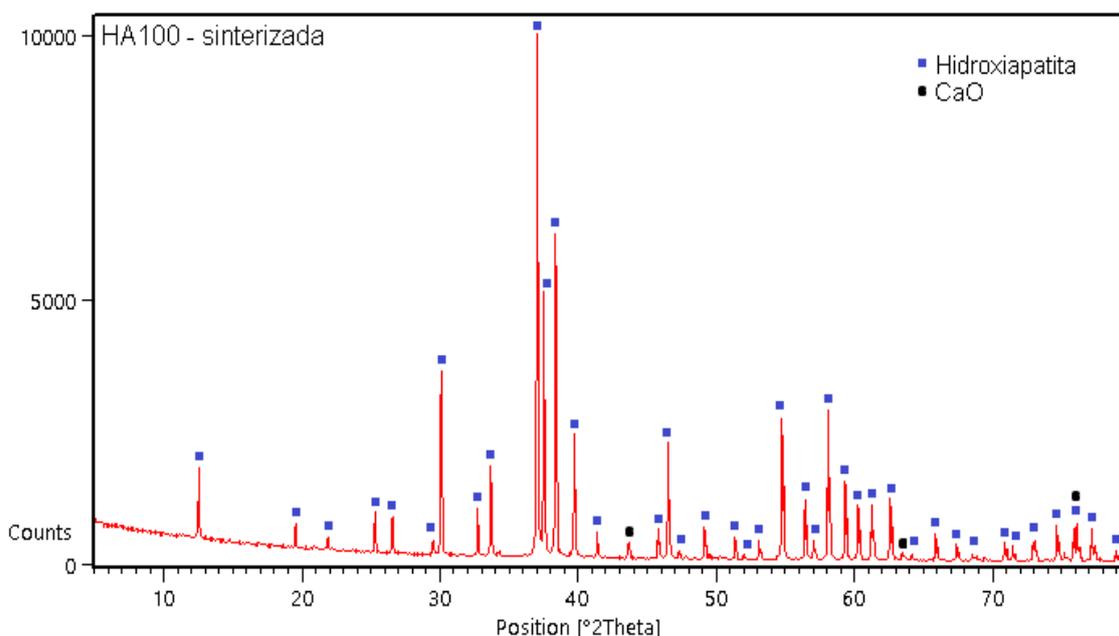


FIG. 4.2 Difratograma da amostra HA100 após sinterização.

Uma série de picos existentes no difratograma que corresponde à fluorapatita apresentam pequenos deslocamentos em relação aos picos que identificam a hidroxiapatita (FIG 4.3). Desta forma, há indícios de que houve no mínimo uma substituição parcial dos íons hidroxila (OH^-) por íons fluoreto (F^-) na estrutura da hidroxiapatita, possibilitando o surgimento da fluorapatita.

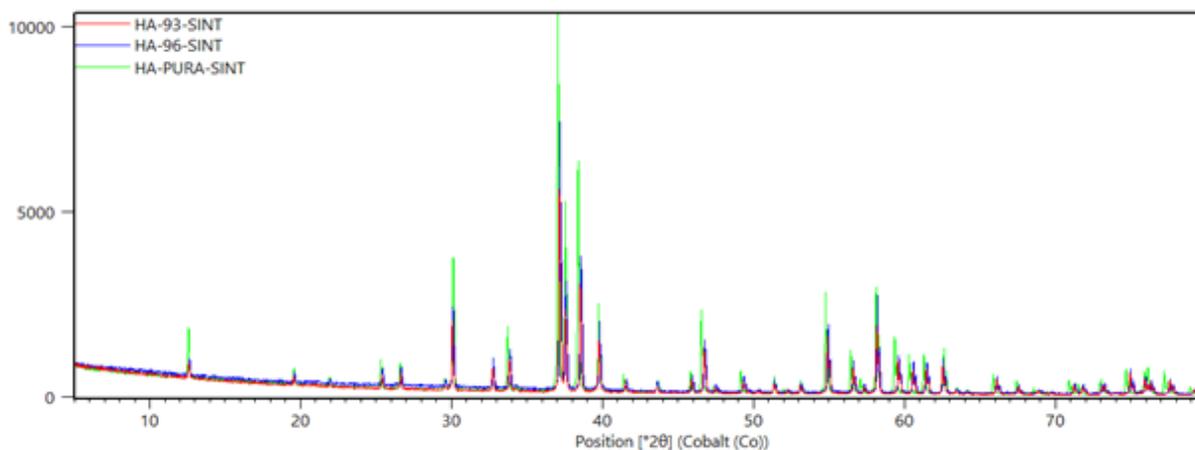


Figura 4.3 Sobreposição dos difratogramas das amostras HA100, FA98 e FA93 após sinterização.

Nos difratogramas das amostras FA98 (FIG 4.4) e FA93 (FIG 4.5) sinterizadas, foi possível identificar a formação de duas fases, sendo uma delas fluorapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) (código de referência da ficha: 96-900-1880) e a segunda óxido de cálcio (CaO) (código de referência da ficha: 96-900-6696). A identificação da fluorapatita indica a substituição dos íons fluoreto (F^-), provenientes da adição de fluoreto de lítio (LiF) na solução precursora, nos sítios dos íons hidroxila (OH^-) existentes na hidroxiapatita.

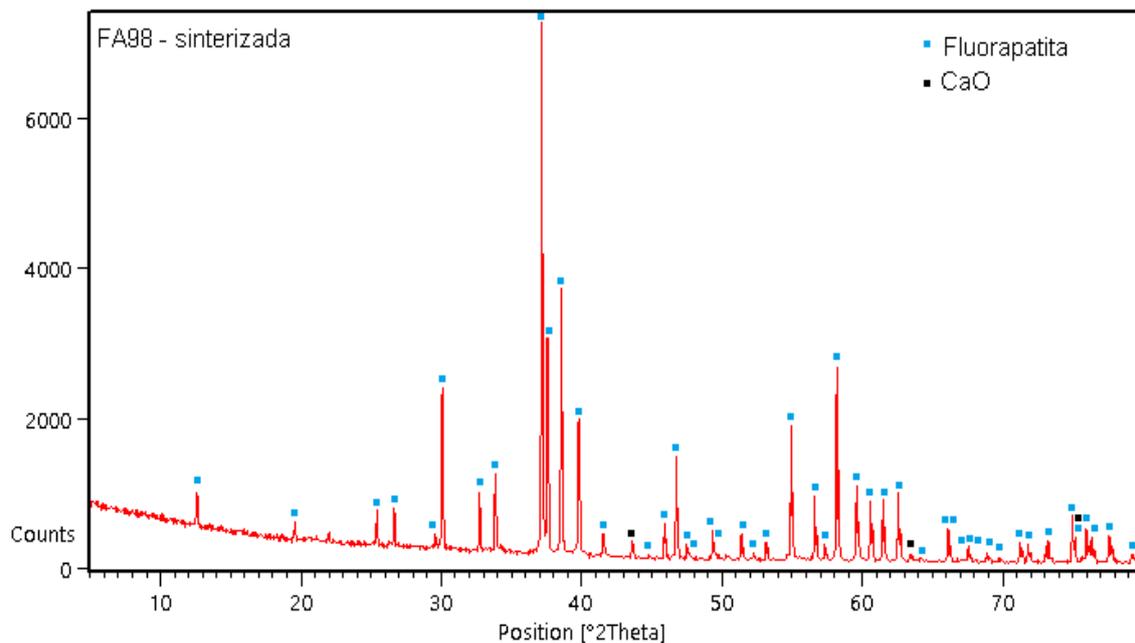


FIG. 4.4 Difratoograma da amostra FA98 após sinterização.

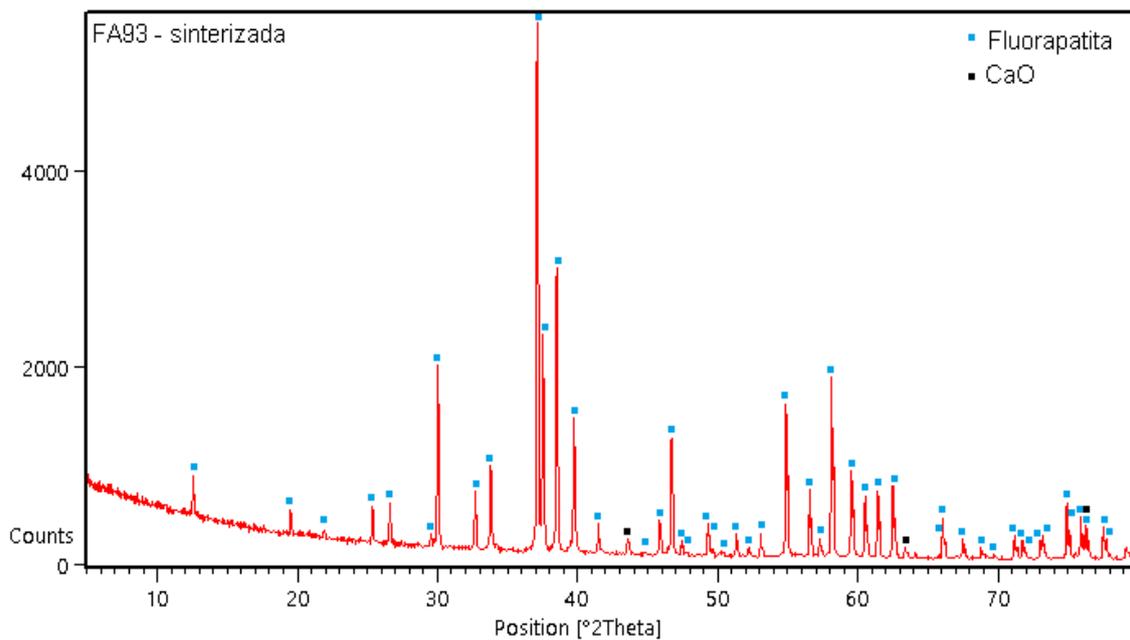


FIG. 4.5 Difratoograma da amostra FA93 após sinterização.

A TAB. 4.1 exhibe as porcentagens de fases presente em cada uma das amostras estipuladas através do refinamento pelo método de Rietveld. A TAB. 4.2 expõe os parâmetros de rede encontrados bem como o fator Rwp.

TAB. 4.1 Resultado quantitativo das fases.

Amostra	Hidroxiapatita (%)	Fluorapatita (%)	Óxido de Cálcio (%)
HA100	98,7	0	1,3
FA98	0	99,2	0,8
FA93	0	99,4	0,6

TAB. 4.2 Parâmetros de rede e Rwp.

Amostra	a(Å)	b(Å)	c(Å)	RWP
HA100	9,4210	9,4210	18,84138	8,0475
FA98	9,3794	9,3794	6,88801	8,2389
FA93	9,3809	9,3809	6,88851	8,8024

4.2 ANÁLISE POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As análises por FTIR das amostras submetidas a tratamento térmico foram executadas (FIG 4.6) e, além de fornecerem novos resultados, também corroboraram aqueles obtidos via análise DRX. Enquanto o espectro FTIR da amostra HA100 apresentou bandas de alta intensidade características da hidroxiapatita, remetendo aos grupos funcionais hidroxila (OH^-) e fosfato (PO_4^{3-}) na região de impressão digital molecular, os espectros FTIR das amostras FA98 e FA93 apresentaram em sua região característica, bandas correspondentes aos grupamentos químicos fosfato (PO_4^{3-}), carbonato (CO_3^{2-}) e ligações entre os íons fluoreto (F^-) e ligações e ligações e entre os íons hidroxila (OH^-).

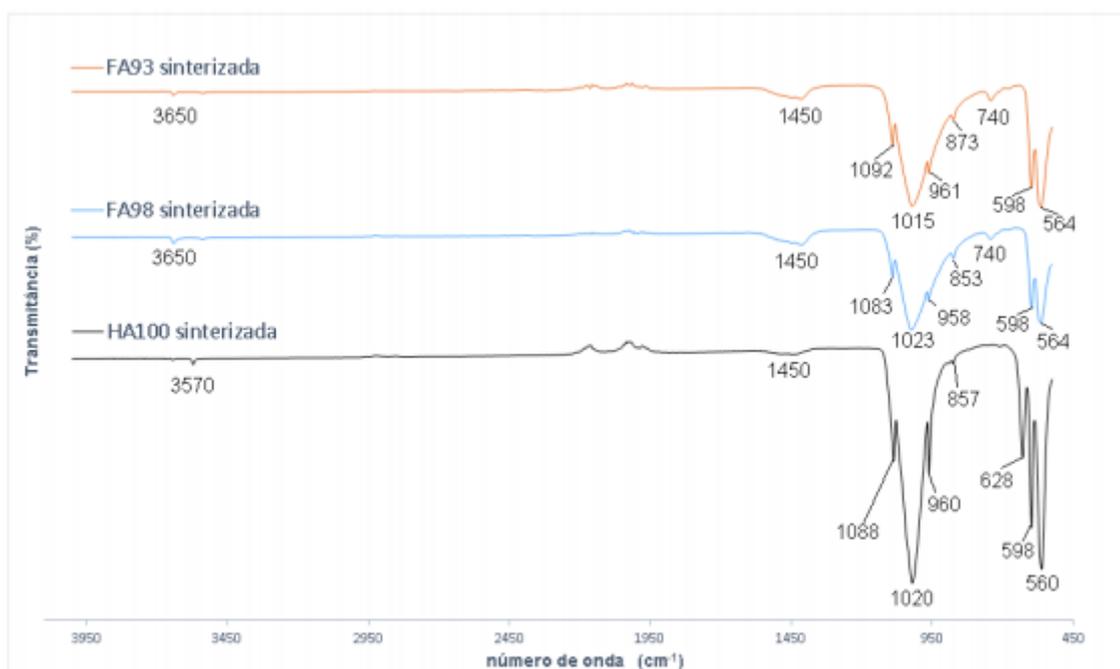


FIG. 4.6 Espectros FTIR das amostras após tratamento térmico.

Na região entre 1100 e 4000 cm^{-1} duas bandas se sobressaem. A primeira delas situada na região entre 3550 e 3650 cm^{-1} , constitui uma banda de baixa intensidade e representa o modo vibracional do grupo funcional hidroxila (OH^-) (MONTAZERI et al., 2010). Enquanto na amostra HA100 a banda está em aproximadamente 3570 cm^{-1} correspondendo ao modo vibracional simétrico ν_1 da ligação entre hidrogênio (H) e oxigênio do grupamento funcional hidroxila (OH^-) (ROJAEI; FATHI; RAEISSI, 2013), nas amostras FA98 e FA93 a banda pode ser visualizada em 3650 cm^{-1} , característica de hidroxilas livres (SMITH, 2011). Esse resultado pode estar associado à substituição parcial de íons fluoreto (F^-), uma vez que essa substituição gera o rompimento de algumas ligações entre hidroxilas.

A segunda banda fora da região de impressão digital molecular a ser analisada, está situada em 1450 cm^{-1} e corresponde ao modo vibracional ν_3 do íon carbonato (CO_3) $^{2-}$ (SHARIFNABI et al., 2015). Na amostra HA100 foi constatado uma banda de baixíssima intensidade, diferente das amostras FA98 e FA93 que apresentam uma banda, apesar de fraca, um pouco mais intensa, evidenciando desta forma, que a adição de fluoreto de lítio propiciou uma menor decomposição dos íons carbonato (CO_3) $^{2-}$. Uma possível explicação para tal fato, consiste na substituição dos íons cálcio (Ca^{2+}) por íons lítio (Li^{1+}) na estrutura da fluorapatita, resultando em um excesso

de íons negativos. Como forma de corrigir o balanceamento de cargas, íons carbonato (CO_3)²⁻ ocuparam sítios dos íons fosfato (PO_4)³⁻ (SUCHANEK et al., 2004).

Dando sequência às análises, foram abordadas as bandas que se encontram dentro da região de impressão digital. Das cinco bandas correspondentes ao fosfato (PO_4)³⁻, a primeira delas está localizada entre 1083 e 1092 cm^{-1} e a segunda entre 1015 e 1023 cm^{-1} , ambas representam o modo de estiramento assimétrico ν_3 do íon fosfato (PO_4)³⁻. A terceira banda está situada entre 958 e 961 cm^{-1} e representa o modo simétrico de vibração ν_1 dos fosfatos (PO_4)³⁻. A quarta está localizada em 598 cm^{-1} e a quinta entre 560 e 564 cm^{-1} , sendo ambas correspondentes ao modo de vibração assimétrico ν_4 dos fosfatos (PO_4)³⁻ (SLÓŠARCZYK et al., 2005). Ao observar em cada espectro os cinco últimos intervalos citados, é possível inferir que a amostra HA100 possui bandas mais intensas se comparada as amostras FA98 e FA93.

Na região do espectro entre 853 e 873 cm^{-1} foi identificada uma banda correspondente ao modo de vibração ν_3 do carbonato (CO_3)²⁻. Vale ressaltar que tal banda apresenta uma ínfima intensidade na amostra HA100, diferente da banda equivalente às duas demais amostras que, apesar de ainda pequenas, possuem maior intensidade. Tal constatação evidencia que, de fato, uma parte dos íons carbonato (CO_3)²⁻ foi incorporada à estrutura da fluorapatita. Somando tal conclusão ao fato da diminuição da intensidade das bandas correspondentes aos íons fosfato (PO_4)³⁻ já mencionados anteriormente, tem-se a indicação de uma substituição parcial de íons carbonato (CO_3)²⁻ nos sítios dos íons fosfato (PO_4)³⁻ (SHARIFNABI et al., 2015).

A banda correspondente ao modo vibracional ν_2 da hidroxila (OH^-) está associada às grandes cadeias de hidroxilas presentes na hidroxiapatita (SHARIFNABI et al., 2015), sendo essa identificada apenas no espectro da amostra HA100, indicando que de fato, a cadeia de hidroxilas foi quebrada nas amostras FA98 e FA93. Com intuito de somar a tal evidência e corroborar as análises feitas no DRX, foi observado nas amostras FA98 e FA93 uma banda em 740 cm^{-1} correspondente ao modo vibracional da ligação entre o íon fluoreto (F^-) e a hidroxila (OH^-) (SHARIFNABI et al., 2015). Essa observação indica substituição de íons fluoreto (F^-), no mínimo parcialmente, nos sítios dos íons hidroxila (OH^-) presentes na hidroxiapatita, possibilitando o surgimento de uma nova fase, a fluorapatita.

4.3 ANÁLISE DAS IMAGENS OBTIDAS NO MEV

As análises em MEV das amostras indicou a diferentes morfologias entre as três amostras. A amostra HA100 (FIG. 4.7) apresentou grãos equiaxiais, contornos bem definidos e, se comparada às demais amostras, a HA100 apresentou menores grãos que, ao serem observados concordam com os trabalhos de Ipekoglu e Altintas (2010), que trataram termicamente amostras de hidroxiapatita, a 1100°C, e obtiveram um pó micrométrico com as mesmas características morfológicas. A análise por EDS indicou a presença dos elementos O, Ca, P, C e Au (elemento do recobrimento).

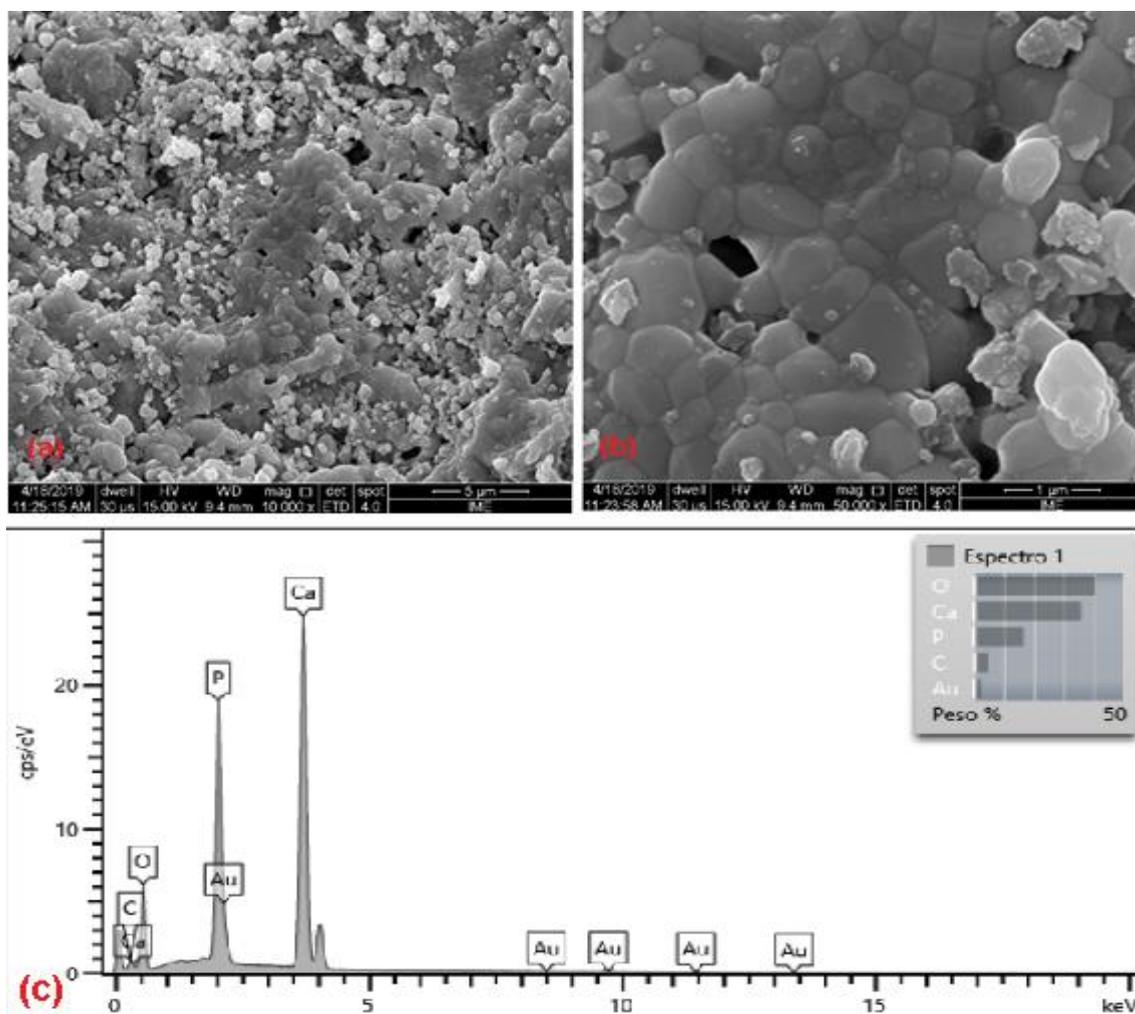


FIG. 4.7 Morfologia amostra HA100 com aumento de 10000x (a), 50000x (b) e EDS. (c).

Diferente da amostra HA100, a amostra FA98 apresentou crescimento uniaxial, indicando que a adição de fluoreto de lítio provocou alterações morfológicas. Além

disso, foi identificado um maior tamanho de grão como pode ser observado na FIG. 4.8. A análise por EDS indicou a presença dos elementos O, Ca, P, C, F e Au (elemento do recobrimento). Não foi possível, por esta análise, observar o elemento Li por limitação da técnica.

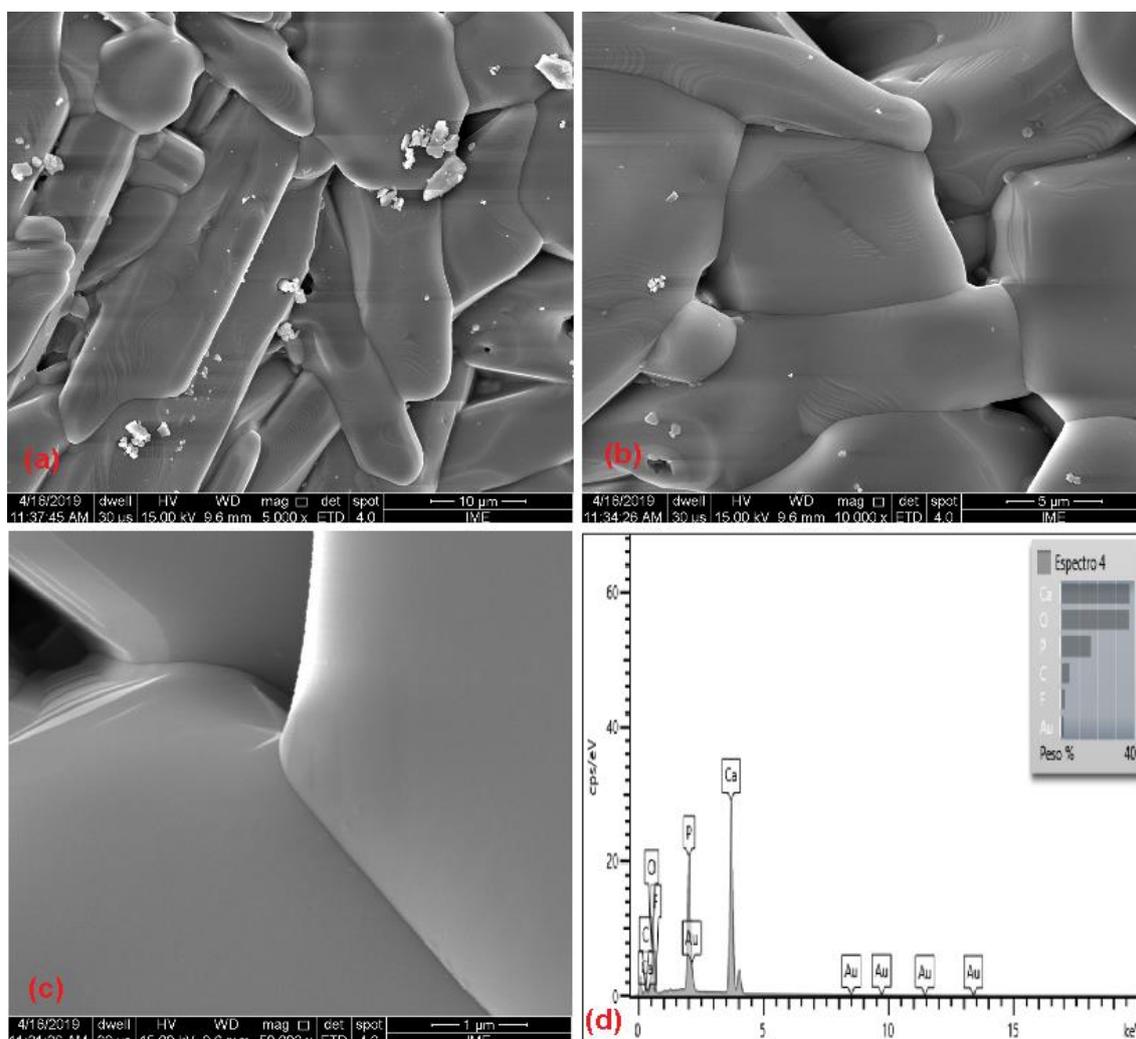


FIG. 4.8 Morfologia amostra FA98 com aumento de 5000x (a), 10000x (b), 50000x (c) e EDS (d).

A amostra com maior fração de fluoreto de lítio (FA93) (FIG. 4.9) apresentou contornos de grão pouco definidos. Apesar dos grãos pouco definidas, ainda foi possível identificar uma direção preferencial de crescimento dos mesmos. A análise por EDS indicou a presença dos elementos O, Ca,P, C, F e Au (elemento do

recobrimento). Não foi possível, por esta análise, observar o elemento Li por limitação da técnica.

Após analisar as características morfológicas das partículas de cada amostra, foi possível identificar um possível padrão de variação que se correlaciona a fração de fluoreto de lítio adicionada.

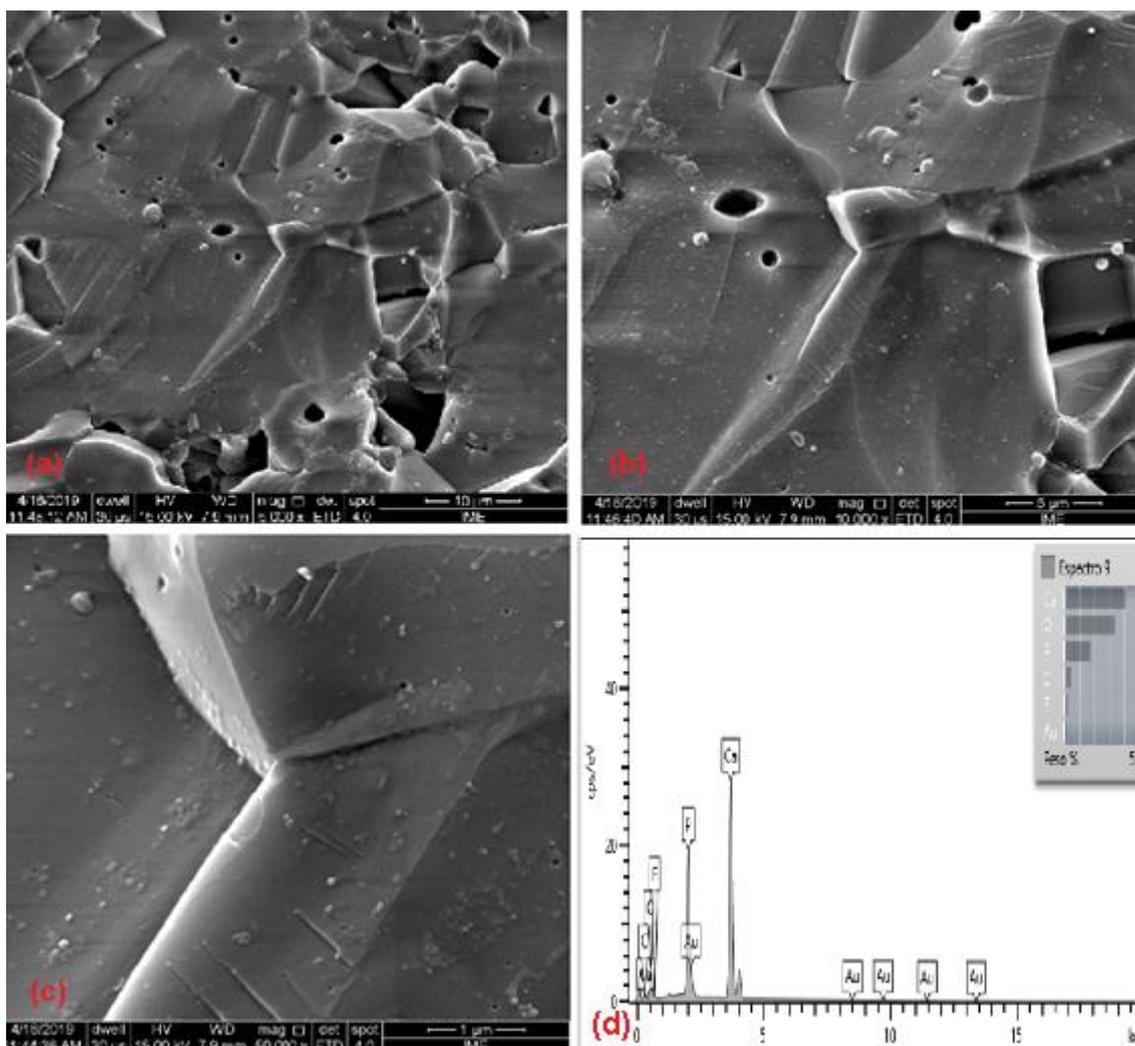


FIG. 4.9 Morfologia amostra FA93 com aumento de 5000x (a), 10000x (b), 50000x (c) e EDS (d).

4.4 ANÁLISE DA POROSIDADE APARENTE

A TAB. 4.3 expõe as porcentagens de porosidade aparente obtidas em cada amostra.

TAB. 4.3 Porosidade aparente das amostras sinterizadas.

Amostra	nº da amostra	Porosidade aparente (%)
HA100	1	6,8
	2	6,9
	3	6,6
FA98	1	5,6
	2	5,8
	3	5,5
FA93	1	-
	2	-
	3	-

Das amostras analisadas, todas apresentaram baixos valores de porosidade. As amostras com composição HA100 foram aqueles que apresentaram valores mais elevados, chegando a aproximadamente 6,9%. Com a adição de fluoreto de lítio, as amostras FA98 apresentaram valores menores de porosidade. As amostras FA93 encontraram-se quebradiças e não resistiram ao ensaio, impossibilitando mensurar a porosidade aparente das mesmas. A substituição de íons lítio na estrutura da HA propicia o aumento de dureza (WANG et al., 2016) do material assim como a substituição de íons flúor na estrutura da HA acarreta um incremento da dureza do material e maior estabilidade da estrutura cristalina (PAJOR et al., 2019). Tal fato indica que o percentual de adição utilizada para sintetização da amostra FA93 produziu uma estrutura de baixa porosidade, mas ao mesmo tempo de alta fragilidade.

5 CONCLUSÕES

5.1 CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados, o trabalho obteve uma biocerâmica à base de hidroxiapatita e, a partir da adição de fluoreto de lítio durante a síntese, houve o surgimento de fluorapatita com indícios de substituições de íons lítio em sua estrutura, pesquisa inédita no campo acadêmico.

5.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

- a) A rota utilizada para incorporação de fluoreto de lítio na síntese de hidroxiapatita foi realizada com êxito e proporcionou o surgimento de fluorapatita.
- b) As amostras foram caracterizadas por DRX, MEV, FTIR e EDS a fim de analisar se houve substituição nos íons presentes na estrutura da hidroxiapatita, por íons flúor e íons lítio provenientes da adição de fluoreto de lítio durante a síntese.
- c) Enquanto as amostras que não sofreram adição de fluoreto de lítio apresentaram uma coloração branca após sinterizadas, as amostras com adição apresentaram uma coloração azul.
- d) As amostras com maior adição de fluoreto de lítio apresentaram alta fragilidade.
- e) Quando submetidas a caracterização por DRX, enquanto a amostra HA100 apresentou basicamente hidroxiapatita, as amostras FA98 e FA93 apresentaram fluorapatita como fase majoritária.
- f) Através do refinamento pelo método de Rietveld foi possível detectar pequenas porcentagens (inferior a 1%) de óxido de cálcio em todas as amostras.
- g) Os resultados obtidos através da análise por FTIR indicam que para as amostras FA98 e FA93, os íons flúor substituíram os íons hidroxila até então presentes na estrutura da hidroxiapatita, corroborando os resultados obtidos via análise de DRX.

- h) As imagens obtidas através do MEV evidenciaram um aumento do tamanho de grão à medida que se aumentou a porcentagem de adição de fluoreto de lítio.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como trabalhos futuros sugere-se realizar os seguintes testes:

- a) Realizar testes e análises com o auxílio da espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios x e o microscópio eletrônico de varredura no intuito de obter mais informações referentes à substituição dos íons lítio no lugar dos íons cálcio presentes na estrutura da fluorapatita;
- b) Repetir o estudo com outras porcentagens de adição de fluoreto de lítio;
- c) Estipular uma quantidade ótima de fluoreto de lítio que deve ser adicionada.
- d) Efetuar a adição de fluoreto de lítio em diferentes etapas do processo de síntese da hidroxiapatita e avaliar seus respectivos resultados.
- e) Analisar a relação existente entre a prensagem exercida na fabricação das pastilhas e a porosidade aparente e, a partir dessa, esboçar curvas de prensagem.
- f) Teste in vitro de citotoxicidade e viabilidade celular, selecionar os melhores resultados para realizar o teste de diferenciação e proliferação celular.

REFERÊNCIAS

- ALBAYRAK, Onder et al. Preparation and characterization of porous hydroxyapatite pellets: Effects of calcination and sintering on the porous structure and mechanical properties. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications**, v. 230, n. 6, p. 985-993, 2016.
- AMINE, M. et al. Short implants (5–8 mm) vs. long implants in augmented bone and their impact on peri-implant bone in maxilla and/or mandible: Systematic review. **Journal of stomatology, oral and maxillofacial surgery**, v. 120, n. 2, p. 133-142, 2019.
- AOKI, Hideki. Science and medical applications of hydroxyapatite. **JAAS**, v. 1991, p. 123-134, 1991.
- BIANCO, Alessandra et al. F-substituted hydroxyapatite nanopowders: thermal stability, sintering behaviour and mechanical properties. **Ceramics international**, v. 36, n. 1, p. 313-322, 2010.
- BIGI, Adriana et al. Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. **Inorganica Chimica Acta**, v. 360, n. 3, p. 1009-1016, 2007.
- BIGI, A. et al. The role of magnesium on the structure of biological apatites. **Calcified tissue international**, v. 50, n. 5, p. 439-444, 1992.
- BOSCHI, A. O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial. In: **Congresso Anual da Associação Brasileira de Metalurgia**. 1995. p. 43.
- BOSE, Susmita; TARAFDER, Solaiman. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering: a review. **Acta biomaterialia**, v. 8, n. 4, p. 1401-1421, 2012.
- BADRAN, H. et al. Lithium-doped hydroxyapatite nano-composites: synthesis, characterization, gamma attenuation coefficient and dielectric properties. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 130, p. 85-91, 2017.
- BROWN, Paul W.; CONSTANTZ, Brent. **Hydroxyapatite and related materials**. CRC press, 2017.
- BROWN, William T. The use of lithium carbonate in the treatment of mood disorders. **Canadian Medical Association Journal**, v. 108, n. 6, p. 742, 1973.
- CARLISLE, Edith M. Silicon: a possible factor in bone calcification. **Science**, v. 167, n. 3916, p. 279-280, 1970.
- CHAVASSIEUX, P. et al. Fluoride increases rat osteoblast function and population after in vivo administration but not after in vitro exposure. **Bone**, v. 14, n. 5, p. 721-725, 1993

CHEN, Yikai et al. Silver release from silver-containing hydroxyapatite coatings. **Surface and coatings technology**, v. 205, n. 7, p. 1892-1896, 2010.

CHO, Jung Sang; KANG, Yun Chan. Nano-sized hydroxyapatite powders prepared by flame spray pyrolysis. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 464, n. 1-2, p. 282-287, 2008.

CUOZZO, Renan Costa et al. Zinc alginate–hydroxyapatite composite microspheres for bone repair. **Ceramics International**, v. 40, n. 7, p. 11369-11375, 2014.

CURRAN, Declan J. et al. Mechanical parameters of strontium doped hydroxyapatite sintered using microwave and conventional methods. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 4, n. 8, p. 2063-2073, 2011.

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

DEE, Kay C.; PULEO, David A.; BIZIOS, Rena. **An introduction to tissue-biomaterial interactions**. John Wiley & Sons, 2003.

DOROZHKIN, S. V. Bioceramics based on calcium orthophosphates. **Glass and Ceramics**, v. 64, n. 11-12, p. 442-447, 2007.

DOROZHKIN, Sergey V. Calcium Orthophosphate (capo4) Scaffolds For Bone Tissue Engineering Applications. **Journal of Biotechnology and Biomedical Science**, v. 1, n. 3, p. 25, 2018.

DUCHEYNE, Paul; CUCKLER, John M. Bioactive ceramic prosthetic coatings. **Clinical orthopaedics and related research**, n. 276, p. 102-114, 1992.

EL FEKI, Hafed et al. Sodium and carbonate distribution in substituted calcium hydroxyapatite. **Solid State Sciences**, v. 2, n. 5, p. 577-586, 2000.

Estrutura hidroxiapatita. Disponível em;
<<http://www.chemtube3d.com/solidstate/SShydroxyapatite.htm>> acessado em 10 de abril de 2019.

Expectativa de vida brasileira em 2017, Disponível em:
<<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-sala-de-imprensa/2013-agencia-de-noticias/releases/23200-em-2017-expectativa-de-vida-era-de-76-anos>> acessado em 7 de abril de 2019.

EWALD, Andrea et al. Silver-doped calcium phosphate cements with antimicrobial activity. **Acta biomaterialia**, v. 7, n. 11, p. 4064-4070, 2011.

FAWCETT, Don Wayne; BLOOM, William; RAVIOLA, Elio. **A textbook of histology**. Philadelphia: Saunders, 1986

GOMES, D. S. et al. A brief review on hydroxyapatite production and use in biomedicine. **Cerâmica**, v. 65, n. 374, p. 282-302, 2019.

GUPTA, Ajay Kumar; GUPTA, Mona. Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3995-4021, 2005.

HALL, Brian K. **Bones and cartilage: developmental and evolutionary skeletal biology**. Elsevier, 2005.

HE, Xiao. Yttrium, Biological Effects. **Encyclopedia of Metalloproteins**, p. 2338-2340, 2013.

JUNE, Wilson et al. (Ed.). **An introduction to bioceramics**. World scientific, 1993.

HENCH, Larry L.; POLAK, Julia M. Third-generation biomedical materials. **Science**, v. 295, n. 5557, p. 1014-1017, 2002.

HELMUS, M. N.; TWEDEN, K. Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering. **Part A**, v. 1, p. 27-59, 1995.

INAGAKI, M.; KAMEYAMA, T. Phase transformation of plasma-sprayed hydroxyapatite coating with preferred crystalline orientation. **Biomaterials**, v. 28, n. 19, p. 2923-2931, 2007.

IPEKOGLU, M.; ALTINTAS, S. Silver substituted nanosized calcium deficient hydroxyapatite. **Materials technology**, v. 25, n. 5, p. 295-301, 2010.

JAHNO, Vanusca Dalosto et al. Chemical synthesis and in vitro biocompatibility tests of poly (l-lactic acid). **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 83, n. 1, p. 209-215, 2007.

JUDAS, F. et al. **Estrutura e dinâmica do tecido ósseo**. 2012.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 10^a. Ed. **Guanabara Koogan SA., Rio**, 2013.

KALITA, Samar J.; BHATT, Himesh A. Nanocrystalline hydroxyapatite doped with magnesium and zinc: Synthesis and characterization. **Materials Science and Engineering: C**, v. 27, n. 4, p. 837-848, 2007.

KANNAN, S.; ROCHA, J. H. G.; FERREIRA, J. M. F. Synthesis of hydroxy-chlorapatites solid solutions. **Materials Letters**, v. 60, n. 7, p. 864-868, 2006.

KANNAN, S. et al. Synthesis and mechanical behaviour of chlorapatite and chlorapatite/ β -TCP composites. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, n. 5, p. 2287-2294, 2007.

KAYGILI, Omer et al. Synthesis and characterization of lithium calcium phosphate ceramics. **Ceramics International**, v. 39, n. 7, p. 7779-7785, 2013.

KHALID, Hamad; CHAUDHRY, Aqif Anwar. 4.1 Biological apatite and synthetic hydroxyapatite: differences and similarities. **Handbook of Ionic Substituted Hydroxyapatites**, p. 85, 2019.

KOUTSOUKOS, P. G.; NANCOLLAS, G. H. The effect of lithium on the precipitation of hydroxyapatite from aqueous solutions. **Colloids and Surfaces**, v. 17, n. 4, p. 361-370, 1986.

KIM, Hae-Won et al. Hydroxyapatite coating on titanium substrate with titania buffer layer processed by sol-gel method. **Biomaterials**, v. 25, n. 13, p. 2533-2538, 2004.

LANDI, E. et al. Carbonated hydroxyapatite as bone substitute. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 23, n. 15, p. 2931-2937, 2003.

LEGEROS, Racquel Z. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. **Clinical materials**, v. 14, n. 1, p. 65-88, 1993.

MATSUNAGA, Katsuyuki; MURATA, Hidenobu. Formation energies of substitutional sodium and potassium in hydroxyapatite. **Materials transactions**, p. 0902090667-0902090667, 2009.

MEDVECKÝ, L. et al. Influence of manganese on stability and particle growth of hydroxyapatite in simulated body fluid. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 281, n. 1-3, p. 221-229, 2006.

MISHIMA, Fernanda Danielle et al. Hydroxyapatite scaffolds produced by hydrothermal deposition of monetite on polyurethane sponges substrates. In: **Key Engineering Materials**. Trans Tech Publications, 2012. p. 820-825.

MONTAZERI, Leila et al. Hydrothermal synthesis and characterization of hydroxyapatite and fluorhydroxyapatite nano-size powders. **Biomedical Materials**, v. 5, n. 4, p. 045004, 2010.

NAROS, Andreas et al. A prospective histomorphometric and cephalometric comparison of bovine bone substitute and autogenous bone grafting in Le Fort I osteotomies. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 47, n. 2, p. 233-238, 2019.

NOUR, Shirin et al. Bioactive materials: A comprehensive review on interactions with biological microenvironment based on the immune response. **Journal of Bionic Engineering**, v. 16, n. 4, p. 563-581, 2019.

OBERBEK, Przemyslaw et al. Characterization and influence of hydroxyapatite nanopowders on living cells. **Beilstein journal of nanotechnology**, v. 9, n. 1, p. 3079-3094, 2018.

PABBRUWE, Moreica B. et al. Bone formation within alumina tubes: effect of calcium, manganese, and chromium dopants. **Biomaterials**, v. 25, n. 20, p. 4901-4910, 2004.

PAJOR, Kamil; PAJCHEL, Lukasz; KOLMAS, Joanna. Hydroxyapatite and Fluorapatite in Conservative Dentistry and Oral Implantology—A Review. **Materials**, v. 12, n. 17, p. 2683, 2019.

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.

MALTHUS, R. S.; LUDWIG, T. G.; HEALY, W. B. Trace elements and dental caries in rats. In: **JOURNAL OF DENTAL RESEARCH**. 1619 DUKE ST, ALEXANDRIA, VA 22314: AMER ASSOC DENTAL RESEARCH, 1965. p. 1207-&.

RATNAYAKE, Jithendra TB; MUCALO, Michael; DIAS, George J. Substituted hydroxyapatites for bone regeneration: A review of current trends. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 105, n. 5, p. 1285-1299, 2017.

RAVI, Narmadha Devi; BALU, Rajkamal; SAMPATH KUMAR, T. S. Strontium-substituted calcium deficient hydroxyapatite nanoparticles: Synthesis, characterization, and antibacterial properties. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 95, n. 9, p. 2700-2708, 2012.

REN, F. et al. Synthesis, characterization and ab initio simulation of magnesium-substituted hydroxyapatite. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 7, p. 2787-2796, 2010

ROJAEI, Ramin; FATHI, Mohammadhossein; RAEISSI, Keyvan. Controlling the degradation rate of AZ91 magnesium alloy via sol-gel derived nanostructured hydroxyapatite coating. **Materials Science and Engineering: C**, v. 33, n. 7, p. 3817-3825, 2013.

ROSS, Michael H.; REITH, Edward J.; ROMRELL, Lynn J. **Histologia: texto e atlas: Michael H. Ross, Edward J. Reith, Lynn J. Romrell**. Panamericana, 1993.

ROYCROFT, Patrick D.; CUYPERS, Martine. The etymology of the mineral name 'apatite': A clarification. **Irish Journal of Earth Sciences**, v. 33, p. 71-75, 2015.

RUDE, Robert K.; SINGER, Frederick R.; GRUBER, Helen E. Skeletal and hormonal effects of magnesium deficiency. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 28, n. 2, p. 131-141, 2009.

SADAT-SHOJAI, Mehdi et al. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591-7621, 2013.

SALES, P. H. H. et al. Effectiveness of dental implants placed in bone graft area of cleft Patients. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, 2019.

SAMANTA, Sujan Krishna; CHANDA, Abhijit; NANDI, Samit Kumar. Physical and Mechanical Characterization of Crystalline Pure β -Tri Calcium Phosphate & Its

Dopants as Bone Substitutes. In: **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**. IOP Publishing, 2019. p. 012138

SANG CHO, Jung et al. Enhanced osteoconductivity of sodium-substituted hydroxyapatite by system instability. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 102, n. 5, p. 1046-1062, 2014.

SANTOS, Maria Helena et al. Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process. **Materials Research**, v. 7, n. 4, p. 625-630, 2004.

SCHNEIDER, Galen B. et al. Differentiation of preosteoblasts is affected by implant surface microtopographies. **Journal of Biomedical Materials Research Part A: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials**, v. 69, n. 3, p. 462-468, 2004.

SHARIFNABI, Ali et al. Synthesis and characterization of nanosized magnesium-doped fluorapatite powder and coating for biomedical application. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 74, n. 1, p. 66-77, 2015.

SHEPHERD, Jennifer H.; SHEPHERD, David V.; BEST, Serena M. Substituted hydroxyapatites for bone repair. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 23, n. 10, p. 2335-2347, 2012.

ŚLÓŠARCZYK, Anna; PASZKIEWICZ, Zofia; PALUSZKIEWICZ, Czesława. FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods. **Journal of Molecular Structure**, v. 744, p. 657-661, 2005.

SMITH, Brian C. **Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy**. CRC press, 2011.

SOBCZAK, Agnieszka et al. Evaluation of the biomedical properties of hydroxyapatite obtained from bone waste. **Polish Journal of Chemical Technology**, v. 11, n. 1, p. 37-43, 2009.

STANIĆ, Vojislav et al. Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders. **Applied Surface Science**, v. 256, n. 20, p. 6083-6089, 2010.

SUCHANEK, Wojciech L. et al. Mechanochemical-hydrothermal synthesis of calcium phosphate powders with coupled magnesium and carbonate substitution. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 177, n. 3, p. 793-799, 2004.

ŠUPOVÁ, Monika. **Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: a review**. *Ceramics international*, v. 41, n. 8, p. 9203-9231, 2015

SZCZEŚ, Aleksandra; HOŁYSZ, Lucyna; CHIBOWSKI, Emil. **Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications**. *Advances in colloid and interface science*, v. 249, p. 321-330, 2017.

TARIVERDIAN, Tara; SEFAT, Farshid; MOZAFARI, Masoud. 1Bioengineering Research Group, Nanotechnology and Advanced Materials Department, Materials and Energy Research Center (MERC), Tehran, Iran; 2Department of Biomedical and Electronics Engineering, School of Engineering, University of Bradford, Bradford, United Kingdom; 3Interdisciplinary Research Centre in Polymer Science and Technology (IRC Polymer). **Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume One**, p. 153, 2019.

TANK, K. P. et al. Cobalt-doped nanohydroxyapatite: synthesis, characterization, antimicrobial and hemolytic studies. **Journal of nanoparticle research**, v. 15, n. 5, p. 1644, 2013.

TREDWIN, Christopher J. et al. Hydroxyapatite, fluor-hydroxyapatite and fluorapatite produced via the sol–gel method: dissolution behaviour and biological properties after crystallisation. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 25, n. 1, p. 47-53, 2014.

VERCIK, LC de O. et al. Recobrimento de apatitas in vitro sobre titânio: influência do tratamento térmico. **Eclética química**, p. 25-31, 2003.

VINCENT, Julian FV. **Structural biomaterials**. Princeton University Press, 2012.

WANG, Jiwen; SHAW, Leon L. Synthesis of high purity hydroxyapatite nanopowder via sol–gel combustion process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 20, n. 6, p. 1223-1227, 2009.

WANG, Yaping et al. In vitro study on the degradation of lithium-doped hydroxyapatite for bone tissue engineering scaffold. **Materials Science and Engineering: C**, v. 66, p. 185-192, 2016.

WEI, Xue; YATES, Matthew Z. Yttrium-doped hydroxyapatite membranes with high proton conductivity. **Chemistry of Materials**, v. 24, n. 10, p. 1738-1743, 2012.

WILLIAMS, David F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909, 2009.

YILMAZ, Bengi; ALSHEMARY, Ammar Z.; EVIS, Zafer. Co-doped hydroxyapatites as potential materials for biomedical applications. **Microchemical Journal**, v. 144, p. 443-453, 2019.

ZHAN, Jinhua et al. Biomimetic formation of hydroxyapatite nanorods by a single-crystal-to-single-crystal transformation. **Advanced Functional Materials**, v. 15, n. 12, p. 2005-2010, 2005.