

**MINISTÉRIO DA DEFESA
EXÉRCITO BRASILEIRO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA
INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA
CURSO DE MESTRADO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

SUZANA BARRETO NORONHA RIBEIRO

**SÍLICA BIOGÊNICA DE ESPONJAS DULCÍCOLAS DA
AMAZÔNIA NA SÍNTESE DE COMPÓSITOS
HIDROXIAPATITA-SÍLICA**

**Rio de Janeiro
2019**

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA

SUZANA BARRETO NORONHA RIBEIRO

**SÍLICA BIOGÊNICA DE ESPONJAS DULCÍCOLAS DA
AMAZÔNIA NA SÍNTESE DE COMPÓSITOS
HIDROXIAPATITA-SÍLICA**

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

Orientador: Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D.C.

Co-Orientador: Prof. Valdir Florêncio da Veiga Junior – D.C.

**Rio de Janeiro
2019**

© 2019

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).

Ribeiro, Suzana Barreto Noronha
SÍLICA BIOGÊNICA DE ESPONJAS DULCÍCOLAS DA
AMAZÔNIA NA SÍNTESE DE COMPÓSITOS
HIDROXIAPATITA SÍLICA / Suzana Barreto Noronha
Ribeiro. — Rio de Janeiro, 2019.
101 f.

Orientador: Marcelo Henrique Prado da Silva.
Coorientador: Valdir Florêncio da Veiga Junior.

Dissertação (mestrado) — Instituto Militar de Engenharia,
Ciência dos Materiais, 2019.

1. Hidroxiapatita. 2. Sílica. 3. Esponja de água doce. 4.
Biomateriais. I. da Silva, Marcelo Henrique Prado, orient. II.
Junior, Valdir Florêncio da Veiga, coorient. III. Título

INSTITUTO MILITAR DE ENGENHARIA


SUZANA BARRETO NORONHA RIBEIRO

SÍLICA BIOGÊNICA DE ESPONJAS DULCÍCOLAS DA AMAZÔNIA NA SÍNTESE DE COMPÓSITOS HIDROXIAPATITA-SÍLICA

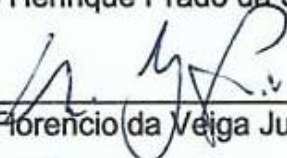
Dissertação de mestrado apresentada ao Curso de Mestrado em Ciência dos Materiais do Instituto Militar de Engenharia, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências em Ciência dos Materiais.

Orientadores: Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D. Sc.
Prof. Prof. Valdir Florencio da Veiga Junior – D. Sc.

Aprovada em 21 de maio de 2019 pela seguinte Banca Examinadora:



Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva – D. C.



Prof. Valdir Florencio da Veiga Junior – D.C.



Prof. Alaelson Vieira Gomes – D. C.



Prof. Daniel Navarro da Rocha – D. C.

À Deus, o autor da vida

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiro a Deus por ser minha força e minha alegria, por me ajudar a superar os desafios e por cuidar de mim com tanto amor.

À minha família, em especial meus pais João Neto e Noemi, minha irmã Adriana, meus avós Antônio, Adália e Teresinha pelas orações, ensinamentos, carinho, apoio e lágrimas. Essa conquista não seria possível sem vocês.

Ao meu namorado Pedro Victor por todo amor, carinho, confiança, auxílio, dedicação e compreensão durante essa jornada. Obrigada por sua calma que me traz paz. Sem você essa conquista não teria a menor graça.

Aos meus tios Ruben, Nivany, Atenildes, Welberth, Jessé e primos Nicolle, Rafael e Giovana pelo suporte, amor, carinho e atenção durante essa fase.

Aos meus orientadores Prof. Marcelo Henrique Prado da Silva e Prof. Valdir Florencio da Veiga Junior, por quem tenho profunda admiração. Obrigada pela confiança, orientação e amizade, por me motivarem a dar meu melhor sempre.

Pelos amigos de laboratório Jheison Lopes, Flávio James, Camila Lopes, Daniel Navarro, Ana Paula, Letícia Aguilera por me ensinarem tanto e por todo apoio e carinho.

À minhas amigas Maria Júlia, Daniella e Tainara pelo apoio, carinho, cuidado e incentivo, por serem mulheres guerreiras. Nós conquistaremos o mundo.

Aos meus amigos de IME e fora dele Wendell Bruno, Ricardo Dias, Gabriel Onofre, Natália Barony, Mônica Aline, Rarisson Queiróz, Isabella Jorge, Michelle Oliveira, Luana Demosthenes, Luíza Braga, Eliziane Medeiros, Larissa, Marcellly Quintão, João Gabriel, Yuri Mikael, Isadora, Gessica, Gabriel Bartholazzi, Vanessa Ermes e Isabel Silva, as IMEtitas e ao Bonde SE/4 por cuidarem sempre de mim, pela parceria, companheirismo, apoio, amizade e diversão.

Pelos amigos do Cariri que mesmo de longe nunca esqueceram de mim, em especial Gislayne Rayane, Ione Amorim, Luíza Lilandra, Natalhya Furtado, Joyce Dantas, Patricia Correia, Ikaro Ruan, Kayo Thaynan, Paloma Morais.

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 das amostras e pela amizade desenvolvida nesse período.

Ao professor Brant por toda sua paciência comigo e por me ajudar nas análises de DRX pelo método de Rietveld. Ao Vitor Ramos por me auxiliar nas análises de MEV, na UERJ. Ao Elvis do CBPF que realizou a análise de XPS e pela atenção mesmo em horários fora do expediente.

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

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

SUMÁRIO

LISTA DE ILUSTRAÇÕES.....	9
LISTA DE TABELAS.....	13
LISTA DE SIGLAS.....	14
1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Considerações gerais	17
1.2 Objetivo geral	19
1.2.1 Objetivos específicos.....	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1 Tecido ósseo	20
2.2 Introdução aos biomateriais.....	23
2.3 Biomateriais.....	24
2.4 Hidroxiapatita.....	28
2.4.1 Substituições na hidroxiapatita	31
2.5 Vias para síntese da hidroxiapatita.....	33
2.6 Sílica.....	34
2.6.1 Esponja de água doce.....	37
2.7 Processos de fabricação de corpos porosos	39
3 MATERIAIS E MÉTODOS	41
3.1 Materiais e métodos	41
3.1.1 Síntese da hidroxiapatita	41
3.2 Métodos de incorporação da sílica à hidroxiapatita.....	43
3.3 Caracterização do material.....	47
3.3.1 Difração de raios X (DRX)	47
3.3.2 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	48
3.3.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	48
3.3.4 Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS).....	48
3.3.5 Espectroscopia de fotoelétron de raios X (XPS).....	49

4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
4.1	Primeira rota	50
4.2	Segunda rota	51
4.3	Caracterização das amostras antes da produção do compósito	51
4.3.1	Difração de raios X (DRX)	51
4.3.2	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	53
4.3.3	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	55
4.3.4	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS)	58
4.4	Caracterização das pastilhas do compósito	62
4.4.1	Difração de raios X (DRX)	62
4.4.2	Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	67
4.4.3	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	74
4.4.4	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS)	78
4.4.5	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)	81
5	CONCLUSÃO	87
5.1	Conclusão geral	87
5.2	Conclusões específicas	87
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
7	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIG. 2.1 CORTE GROSSO DE UM OSSO SECO, ILUSTRANDO O OSSO CORTICAL E O OSSO ESPONJOSO. (JUNQUEIRA; CARNEIRO,2008).....	21
FIG. 2.2 ESQUEMA MOSTRANDO A ORGANIZAÇÃO HIERÁRQUICA DO OSSO DESDE A MACRO ATÉ A NANOESCALA. REPRODUZIDO COM PERMISSÃO. (COPYRIGHT 2015,NATURE PUBLISHING GROUP).	22
FIG. 2.3 (A) PROJEÇÃO DA CÉLULA UNITÁRIA DA HA DE ACORDO COM O PLANO (001); (B) PROJEÇÃO DOS ARRANJOS DOS OCTAEDROS [CA(1)O ₆] NA ESTRUTURA DO HA; C) PROJEÇÃO DA SEQUÊNCIA DA OCTAÉDRICA [CA(1)O ₆] E TETRAÉDRICA [PO ₄] NA ESTRUTURA DA HA; E (D) PROJEÇÃO MOSTRANDO A SEQUÊNCIA OCTAÉDRICA: [CA(1)O ₆] E [CA(2)O ₆], E TAMBÉM TETRAÉDRICA [PO ₄] NA ESTRUTURA DA HA (ADAPTADO DE FIHRI, 2017).....	30
FIG. 2.4 ARRANJO DE ÁTOMOS DE SILÍCIO E OXIGÊNIO EM UMA CÉLULA UNITÁRIA DE CRISTOBALITA, UM POLIMORFO DO SiO ₂ (CALLISTER, 2008).	36
FIG. 2.5 ESPONJA DE ÁGUA DOCE DA ESPÉCIE METANIA RETICULATA (VOLKMER-RIBEIRO, 2007).....	39
FIG. 3.1 AMOSTRAS DAS ESPONJAS DE ÁGUA DOCE ANTES E APÓS A CALCINAÇÃO.	41
FIG. 3.2 FLUXOGRAMA PARA A SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA.	42
FIG. 3.3 MÉTODO DE DEPOSIÇÃO QUÍMICA PARA OBTENÇÃO DOS RECOBRIMENTOS EM SOLUÇÃO PRECURSORA A 80°C (ADAPTADO DE NAVARRO DA ROCHA, 2016).....	44
FIG. 3.4 FLUXOGRAMA CORRESPONDENTE A SEGUNDA ROTA DE PRODUÇÃO DO COMPÓSITO.	45
FIG. 3.5 AMOSTRAS DE ESPONJAS POLIMÉRICAS RECOBERTAS COM A PASTA CERÂMICA.....	46
FIG. 3.6 PASTILHAS APÓS A SINTERIZAÇÃO.	47
FIG. 4.1 ESPONJA DE ÁGUA DOCE IMERSA EM SOLUÇÃO PRECURSORA.....	50

FIG. 4.2 DIFRATOGRAMA DA AMOSTRA DE HIDROXIAPATITA (A) VERDE; (B) SINTERIZADA A 1100°C.	52
FIG. 4.3 DIFRATOGRAMA DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE (A) E (B) EM SEU ESTADO PURO; (C) CALCINADA A 550°C.....	53
FIG. 4.4 ESPECTRO DE FTIR DA AMOSTRA DE HIDROXIAPATITA SINTERIZADA A 1100°C.....	54
FIG. 4.5 ESPECTRO DE FTIR DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE EM SEU ESTADO PURO.....	55
FIG. 4.6 ESPECTRO DE FTIR DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE CALCINADA A 550°C.	55
FIG. 4.7 MORFOLOGIA DA HIDROXIAPATITA COM AUMENTO DE 10.000X.	56
FIG. 4.8 MORFOLOGIA DA PARTE EXTERNA DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE, ESPÉCIE <i>METANIA RETICULATA</i> COM UM AUMENTO DE 100X.....	57
FIG. 4.9 MORFOLOGIA DA PARTE EXTERNA DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE, ESPÉCIE <i>METANIA RETICULATA</i> COM AUMENTO DE 3.000X.	58
FIG. 4.10 MORFOLOGIA DA PARTE INTERNA DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE, ESPÉCIE <i>METANIA RETICULATA</i> COM AUMENTO DE 500X.	58
FIG. 4.11 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DO PÓ DE HIDROXIAPATITA VERDE COM AUMENTO DE 5000X (A) E (B) EDS.....	59
FIG. 4.12 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ESPONJA PURA COM AUMENTO DE 50X (A) E (B) EDS.....	59
FIG. 4.13 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ESPONJA PURA COM AUMENTO DE 800X (A) E (B) EDS.....	60
FIG. 4.14 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ESPONJA PURA COM AUMENTO DE 65X (A) E (B) EDS.....	60
FIG. 4.15 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ESPONJA PURA COM AUMENTO DE 1500X (A) E (B) EDS.....	61
FIG. 4.16 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA ESPONJA PURA COM AUMENTO DE 400X (A) E (B) EDS.....	61
FIG. 4.17 DIFRATOGRAMA DO COMPÓSITO 2%SI-HA, SINTERIZADA A 1100°C.	62
FIG. 4.18 DIFRATOGRAMA DO COMPÓSITO 4%SI-HA, SINTERIZADA A 1100°C.	63

FIG. 4.19 DIFRATOGRAMA DO COMPÓSITO 8%SI-HA, SINTERIZADA A 1100°C.	64
FIG. 4.20 DIFRATOGRAMA DO COMPÓSITO 15%SI-HA, SINTERIZADA A 1100°C.	64
FIG. 4.21 DIFRATOGRAMA DO COMPÓSITO 25%SI-HA, SINTERIZADA A 1100°C.	65
FIG. 4.22 ESPECTRO DE FTIR DO COMPÓSITO 2%SI-HA, SINTERIZADO A 1100°C.	68
FIG. 4.23 ESPECTRO DE FTIR DO COMPÓSITO 4%SI-HA, SINTERIZADO A 1100°C.	69
FIG. 4.24 ESPECTRO DE FTIR DO COMPÓSITO 8%SI-HA, SINTERIZADO A 1100°C.	70
FIG. 4.25 ESPECTRO DE FTIR DO COMPÓSITO 15%SI-HA, SINTERIZADO A 1100°C.	71
FIG. 4.26 ESPECTRO DE FTIR DO COMPÓSITO 25%SI-HA, SINTERIZADO A 1100°C.	72
FIG. 4.27 ESPECTRO DE FTIR DA HIDROXIAPATITA E DOS COMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA E SÍLICA, SINTERIZADOS A 1100°C.	73
FIG. 4.28 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA PASTILHA 2%SI-HA EM UM AUMENTO DE (A) 10.000X E (B) 40.000X.	75
FIG. 4.29 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA PASTILHA 4%SI-HA EM UM AUMENTO DE (A) 10.000X E (B) 40.000X.	75
FIG. 4.30 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA PASTILHA 8%SI-HA EM UM AUMENTO DE (A) 10.000X E (B) 40.000X.	76
FIG. 4.31 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA PASTILHA 15%SI- HA EM UM AUMENTO DE (A) 10.000X E (B) 30.000X.	77
FIG. 4.32 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA DA PASTILHA 25%SI- HA EM UM AUMENTO DE (A) 300X, (B) 20.000X E (C) 60.000X.	78
FIG. 4.33 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS DO COMPÓSITO 2%SI-HA COM AUMENTO DE 20.000X.	79
FIG. 4.34 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS DO COMPÓSITO 4%SI-HA COM AUMENTO DE 1.400X.	79

FIG. 4.35 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS DO COMPÓSITO 8%SI-HA COM AUMENTO DE 5.000X.	80
FIG. 4.36 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS DO COMPÓSITO 15%SI-HA COM AUMENTO DE 5.000X.	80
FIG. 4.37 MICROGRAFIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E EDS DO COMPÓSITO 25%SI-HA COM AUMENTO DE 20.000X.	80
FIG. 4.38 ESPECTRO DE XPS CORRESPONDENTE AO PICO DE SI-O DA AMOSTRA 8%SI-HA.	82
FIG. 4.39 ESPECTRO DE XPS CORRESPONDENTE AO PICO DE SI-O DA AMOSTRA 15%SI-HA.	82
FIG. 4.40 ESPECTRO DE XPS CORRESPONDENTE AO PICO DE SI-O DA AMOSTRA 25%SI-HA.	83
FIG. 4.41 ESPECTRO DE XPS DA AMOSTRA 2%SI-HA.	83
FIG. 4.42 ESPECTRO DE XPS DA AMOSTRA 4%SI-HA.	84
FIG. 4.43 ESPECTRO DE XPS DA AMOSTRA 8%SI-HA.	84
FIG. 4.44 ESPECTRO DE XPS DA AMOSTRA 15%SI-HA.	85
FIG. 4.45 ESPECTRO DE XPS DA AMOSTRA 25%SI-HA.	85

LISTA DE TABELAS

TAB. 2.1 FORMAS, FASES E FUNÇÕES DE BIOCERÂMICAS (HENCH E WILSON, 1993).	25
TAB. 2.2 FATORES QUE AFETAM A RESPOSTA INTERFACIAL IMPLANTE-TECIDO (HENCH E WILSON, 1993).	26
TAB. 2.3 CLASSIFICAÇÃO DOS BIOMATERIAIS DE ACORDO COM A RESPOSTA TECIDUAL (HENCH E WILSON, 1993).	27
TAB. 2.4 EXEMPLOS DE SUBSTITUIÇÕES NA ESTRUTURA DA APATITA (PALARD ET AL., 2008).	32
TAB. 3.1 PORCENTAGENS DOS PÓS DE SÍLICA E HIDROXIAPATITA.	44
TAB. 3.2 COMPOSIÇÃO DA PASTA CERÂMICA.	45
TAB. 4.1 PARÂMETROS DE REDE DAS AMOSTRAS DE HA E HA PARCIALMENTE SUBSTITUÍDA POR SILÍCIO PROVENIENTE DA ESPONJA DE ÁGUA DOCE.	65
TAB. 4.2 RESULTADOS QUANTITATIVOS DAS FASES.	66
TAB. 4.3 RESULTADOS DAS ANÁLISES POR FTIR DAS PASTILHAS SI-HA.	74
TAB. 4.4 TABELA REPRESENTATIVA DA ANÁLISE QUÍMICA SEMI-QUANTITATIVA DOS ELEMENTOS PRESENTES NAS PASTILHAS DOS COMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA E ESPONJA DE ÁGUA DOCE.	81
TAB. 4.5 TABELA REPRESENTATIVA DA ANÁLISE QUÍMICA DA SUPERFÍCIE POR XPS DOS ELEMENTOS PRESENTES NAS PASTILHAS DOS COMPÓSITOS DE HIDROXIAPATITA E ESPONJA DE ÁGUA DOCE.	86

LISTA DE SIGLAS

ABNT	- Associação Brasileira de Normas Técnicas
ASTM	- American Society for Testing Materials
CaO	- Óxido de Cálcio
CaPO ₄	- Ortofosfato de Cálcio
CDHA	- Hidroxiapatita Deficiente em Cálcio
DCPA	- Fosfato Dicálcico Anidro
DRX	- Difração de Raio X
EDS	- Espectroscopia de raios X por Energia Dispersiva
FTIR	- Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
HÁ	- Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ – Hidroxiapatita
IME	- Instituto Militar de Engenharia
MEV	- Microscopia Eletrônica de Varredura
TCP	- Fosfato Tricálcico
UFF	- Universidade Federal Fluminense
α-TCP	- Fosfato A-Tricálcico
β-TCP	- Fosfato B-Tricálcico
XRF	- Fluorescência de Raios X
XPS	- Espectroscopia de fotoelétron de raios X
GOF	- Goodness Of Fit

RESUMO

A hidroxiapatita, devido a sua similaridade com a composição mineral óssea, é considerada uma válvula de escape para a demanda de tecido ósseo para aplicação em enxertos e recobrimentos de próteses metálicas, sendo seu estudo de grande interesse para o uso como biomaterial. As apatitas substituídas vêm sendo pesquisadas com o intuito de otimizar os parâmetros de síntese, as propriedades físico-químicas e o impacto que essas alterações possam ter na sua utilização. Nesse trabalho produziu-se pastilhas de hidroxiapatita parcialmente substituída por silício com diferentes porcentagens, proveniente de esponja de água doce, retiradas do rio Negro – Amazonas. Essas esponjas, quando calcinadas, são compostas basicamente por dióxido de silício apresentando uma tendência a substituírem os grupos $(\text{PO}_4)^{3-}$ na hidroxiapatita. Os resultados de DRX e FTIR para as amostras de 2% e 4% de esponja de água doce adicionada à hidroxiapatita apresentaram apenas uma única fase, as amostras de 8%, 15% e 25% apresentaram fase correspondente ao quartzo e decomposição da HA em β -TCP e whitlockita. O EDS comprovou a presença de silício em todas as amostras e o XPS apresentou bandas correspondentes ao silício nas amostras de 8%, 15% e 25% de esponja adicionada a HA. Este resultado corrobora o já esperado pela literatura, em que os grupos silicatos tendem a substituir os fosfatos. Além disso, a análise morfológica apresentou uma nova fase presente, preferencialmente, nos contornos de grãos, após a adição do silício, proveniente da esponja de água doce.

ABSTRACT

Due to its similarity to bone mineral composition, the hydroxyapatite is considered an alternative for the demand of bone tissue for application in grafts and metal dentures. Hence, its study is of great interest for use as biomaterial. Substituted apatites have been researched in order to optimize multiple aspects, such as the synthesis parameters, the physical-chemical properties and the impact that these alterations may have on their use. In this work, hydroxyapatite pellets partially replaced with silicon from freshwater sponge, taken from the Rio Negro-Amazonas, were produced using different percentages of the sponge added to the hydroxyapatite (HA) by aqueous precipitation. When calcined, these sponges are composed primarily of silicon dioxide and present a tendency to substitute the (PO₄)³⁻ groups on hydroxyapatite. The XRD and FTIR results for the samples with 2% and 4% of freshwater sponge added to hydroxyapatite presented only a single phase, while the samples with 8%, 15% and 25% presented quartz phase and the HA decomposition into β -TCP and whitlockite. The EDS results showed the presence of silicon in all the samples and the XPS analysis presented bands corresponding to silicon in the samples with 8%, 15% and 25% of sponge added to HA, corroborating what was already expected in the literature, in which the silicate groups tend to replace the phosphate groups. Morphological analysis was also performed and showed the preferential presence of a new phase in grain boundaries, differing from pure hydroxyapatite pellets, which probably occurred due to the addition of the silicon from freshwater sponge.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS

Um grande desafio na cirurgia clínica tem sido a regeneração tecidual de defeitos ósseos em condições severas, como a fratura de ossos longos pós-trauma, tumores e doenças ósseas (osteomielite e osteotíte) (BHATTACHARJEE, 2016). Muitas abordagens terapêuticas e de pesquisa, como enxertos alógenos, xenógenos, autógenos e outros substitutos artificiais têm sido empregadas para restaurar a função e estrutura dos defeitos ósseos (GORRIZ, 2015; ROSETI, 2017). No entanto, estas abordagens não foram eficazes na resolução dos problemas devido a várias limitações. Os enxertos autógenos são limitados pela quantidade de osso doado do corpo do paciente, além da necessidade de outros procedimentos cirúrgicos, levando a complicações ou perda do enxerto (BLOCK, 1995; VACCARO, 2002). O risco da resposta negativa é pequeno, porém possíveis infecções e morte de tecidos são elencados como desvantagens, quando os enxertos são os alógenos e os xenógenos (KOKUBO, 2003). Além disso, os usos de materiais sintéticos como implantes metálicos (por exemplo, titânio) como substitutos artificiais são incapazes de mimetizar o osso natural, podem falhar como resultado da fadiga (AGARWAL, 2015).

A utilização de materiais sintéticos, como algumas biocerâmicas surgem como forma de resolver o problema da falta de tecido para a demanda de procedimentos gerados pela sociedade. Dentre os biomateriais cerâmicos, destacam-se a hidroxiapatita (HA) e os fosfatos de cálcio, utilizados como componentes para a substituição tecidual óssea em aplicações biomédicas, pela similaridade química com o osso humano. Os fosfatos de cálcio são biocerâmicos que são ausentes de toxicidade local ou sistêmica, não apresentam resposta de corpo estranho ou mesmo inflamações, a qual promove excelente biocompatibilidade com o hospedeiro.

A hidroxiapatita é o principal constituinte da fase mineral dos ossos e dentes humanos. Trata-se de um fosfato de cálcio que apresenta elevada biocompatibilidade e eficiente quando utilizado na forma de arcabouço para regeneração óssea. A bioatividade da HA varia de acordo com a sua cristalinidade. A solubilidade e a degradação da fase cristalina dependem do pH e da composição química em que será submetida quando for enxertada (FONSECA, 2008).

A engenharia de tecidos, que foca na regeneração de tecidos, é um procedimento alternativo para os desafios encontrados nos métodos tradicionais de regeneração óssea. A engenharia de tecidos envolve o transplante de fatores bioativos (células, genes ou proteínas) juntamente com um material tridimensional poroso, que é biocompatível e biodegradável, conhecido como arcabouço (DUAN, 2010). Esse arcabouço poroso deve suportar atividades celulares para fácil adesão, proliferação e diferenciação de células, sem qualquer efeito tóxico no tecido. Além desses fatores, deve possibilitar a regeneração do tecido no local, com a devida resistência mecânica para resistir a processos cirúrgicos. Um outro aspecto importante dos arcabouços porosos, deve ser a permeabilidade à difusão de nutrientes essenciais e ao fluxo de oxigênio para sobrevivência das células (MOTA, 2016).

Uma alternativa para produção de melhores materiais pode ser a utilização das esponjas de água doce, que integram o *filo Porifera* da espécie *Metania reticulata*, pois apresentam em sua composição espículas silicáticas. Ademais, tem-se o fato das esponjas possuírem reprodutibilidade em meio a correntes de água doce, fazendo delas fontes inesgotáveis de sílica. (VOLKMER-RIBEIRO, 1981, 1999).

Devido a sua composição e estrutura, a esponja de água doce pode ser utilizada como arcabouço poroso para a incorporação da hidroxiapatita. Dessa maneira, no presente trabalho, busca-se formar um compósito hidroxiapatita-sílica que apresente características bioativas e tenha proximidade com o tecido ósseo. O trabalho adotou a síntese da hidroxiapatita por precipitação em meio aquoso, no qual as soluções precursoras, foram preparadas em agitação, de hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), ácido láctico ($\text{CH}_3\text{CHCO}_2\text{HOH}$) e ácido orto-fosfórico (H_3PO_4). O pH da solução foi ajustado pelo hidróxido de sódio (NaOH). A incorporação da esponja de água doce foi realizada por duas rotas diferentes durante a pesquisa.

1.2 OBJETIVO GERAL

O objetivo desta pesquisa é desenvolver um biomaterial compósito bioativo e osteocondutor de hidroxiapatita reforçada com sílica, proveniente de esponja de água doce da espécie *Metania reticulata*, por duas rotas de incorporação.

1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a síntese do compósito pelas rotas de recobrimento e mistura de pós;
- Caracterizar pastilhas produzidas pela segunda rota por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR);
- Caracterizar pastilhas produzidas pela segunda rota por microscopia eletrônica de varredura (MEV);
- Caracterizar pastilhas produzidas pela segunda rota por difração de raios X (DRX).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é uma especialização do tecido conjuntivo, formado por diferentes fases (matriz orgânica, matriz inorgânica e parte celular), após uma série de eventos em perfeita harmonia, resultando em um material comparável ao compósito na engenharia. Este tecido é considerado um dos tecidos mais rígidos e resistentes do corpo humano, e composto pela interação entre as células e a matriz óssea extracelular calcificada. A sua principal função é oferecer o suporte para as partes moles do corpo, proteger os órgãos vitais, servir como reservatório de cálcio e promover a locomoção (CHAMBERS, 1980; ALMEIDA JUNIOR, 1983). O tecido ósseo pode ser compacto ou esponjoso, como mostrado na FIG. 2.1. O compacto cortical é constituído por lâminas delgadas ósseas que se sobrepõe umas às outras, onde elas se unem sobre um centro. A parte esponjosa do tecido é onde essas lâminas delgadas se depositam para formar celuletas, ou seja, pequenas cavidades (LEGEROS, 2002). A grande maioria dos ossos curtos são compostos por esses dois tipos de tecido ósseo. Os ossos longos apresentam uma parte central, conhecida como diáfise e duas partes nas extremidades chamadas cabeças ou epífises (TIRREL et al., 2002; FALACHO et al., 2012).

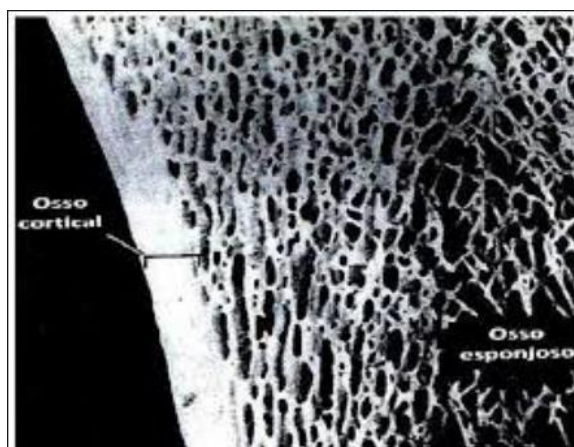


FIG. 2.1 Corte grosso de um osso seco, ilustrando o osso cortical e o osso esponjoso. (Junqueira; Carneiro,2008)

O osso é um tecido conjuntivo mineralizado que apresenta três tipos de células: osteoblastos, osteócitos, osteoclastos. Os osteoblastos são responsáveis pela produção e mineralização da parte orgânica do tecido; os osteócitos atuam na manutenção dos componentes químicos da matriz óssea; e os osteoclastos fazem a reabsorção da matriz óssea. (SOMMERFELDT e RUBIN, 2001). A matriz óssea é composta por uma parte orgânica e outra inorgânica. A parte orgânica é constituída por células, colágeno do tipo I e pequenas quantidades de proteínas não colagênicas. A parte inorgânica, equivalente a dois terços do seu peso, é composta por íons de fosfato de cálcio, que irão formar a hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$. Fora esses, ainda temos outros íons em menores concentrações como potássio, bicarbonato, magnésio, sódio e citrato (BONAR LEES e MOOK, 1985).

A organização estrutural do tecido ósseo pode ser compreendida, de melhor maneira, dividindo seus níveis de estruturas que vão desde as macrométricas até as nano e subnanométricas. Esses níveis de estruturas são importantes para compreender melhor as propriedades do osso. A organização macroestrutural, correspondente ao osso maduro, existe em duas geometrias diferentes: sistema de Havers e sistema lamelar. O primeiro é formado por camadas concêntricas, como pele de cebola, ao redor de um vaso sanguíneo. O segundo é formado por camadas que vão até a superfície óssea (LEGEROS, 2002; TIRREL et al., 2002).

A micro e nanoporosidade servem para que ocorra uma melhor vascularização ao longo de todo o tecido, atuando na migração celular e favorecendo as ligações

celulares. Os cristais de hidroxiapatita (10 a 50nm de comprimento), por exemplo, ligam-se com colágenos tipo 1, que possuem diâmetro de aproximadamente 3 a 10nm e comprimento de 300µm, onde essa organização estrutural é de fundamental importância para a resistência dos ossos (PORTER et al., 2009).

A FIG. 2.2 mostra um esquema da estrutura da diáfise dos ossos longos, exibindo os sistemas circunferenciais externos e internos de Havers. O sistema de Havers, desenhado em três dimensões, na FIG. 2.2(a) mostra a orientação das fibras colágenas nas lamelas, a FIG. 2.2(b), um sistema de Havers isolado, mostrando a forma dos osteócitos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

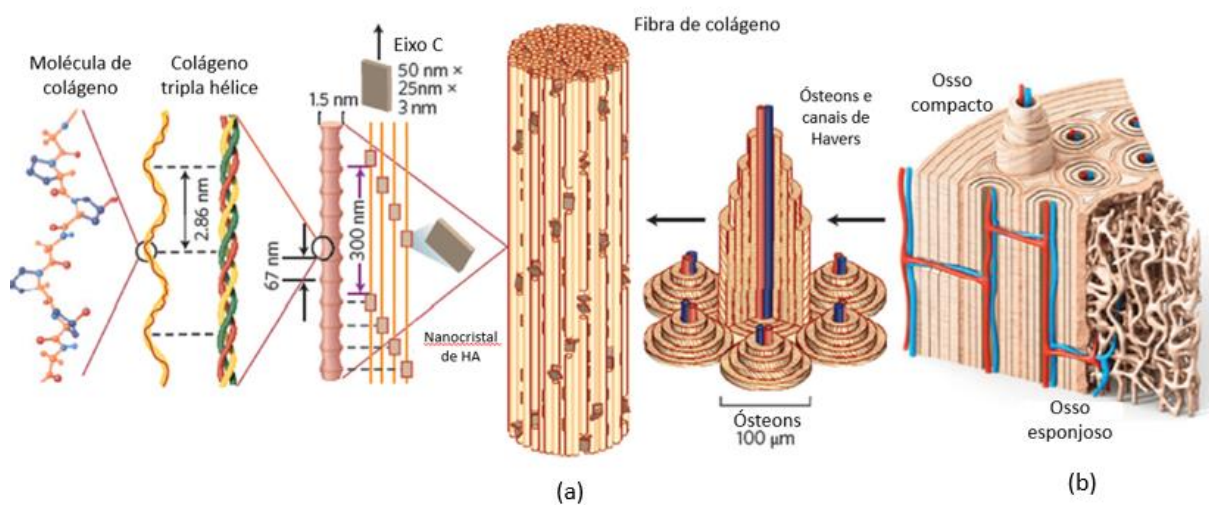


FIG. 2.2 Esquema mostrando a organização hierárquica do osso desde a macro até a nanoescala. Reproduzido com permissão. (Copyright 2015, Nature Publishing Group).

Para que os defeitos ósseos sejam corrigidos é necessária uma boa combinação de células, biomateriais e moléculas bioativas. Os materiais em formato de arcabouços, dotados de propriedades, como atividade osteogênica, osteocondutividade, biocompatibilidade e biodegradabilidade, são frequentemente selecionados para esse tipo de aplicação (DAVIES, 2000; SCHAFFLER, 2014). Os arcabouços devem ser altamente porosos, variando entre 100-600µm, com interconexão, proporcionando espaço para a migração celular, transferência de nutrientes, eliminação de resíduos, neovascularização e espaço para o crescimento de tecido ósseo novo (HOLLISTER, 2005).

2.2 INTRODUÇÃO AOS BIOMATERIAIS

Devido à abundância na natureza (minérios contendo fosfatos) e a vasta presença em organismos vivos (como em ossos e dentes), os fosfatos de cálcio são compostos inorgânicos que apresentam especial interesse pelo ser humano. Eles foram descobertos em 1769 e são estudados desde então (DOROZHKIN 2012a, 2013a). A utilização de materiais para implantes vem desde as civilizações hindu, egípcio e grega, sendo primeiramente encontrados no sistema esquelético. Historicamente, a seleção dos materiais se baseava na disponibilidade e da engenhosidade do indivíduo em fazer e aplicar a prótese (HUEBSCH, 2009). Descobertas arqueológicas mostram que ossos e dentes humanos eram substituídos por partes do corpo de cadáveres ou de animais, além de conchas, corais, marfim, bem como alguns metais (prata ou ouro). No século XVII, um pedaço de crânio de cachorro foi transplantado com sucesso para o crânio danificado de um duque holandês (WILLIAMS, 1999). Os chineses registraram o primeiro uso de amálgamas dentárias para reparar dentes cariados no ano 659 d.C., enquanto civilizações pré-colombianas usaram folhas de ouro para curar cavidades cranianas após a trepanação (RING, 1992). Amadeo Bobbio, em 1970, descobriu crânios maias, alguns deles com mais de, aproximadamente, 4000 anos de idade, nos quais dentes perdidos foram substituídos por nácar, obtido da camada interna de conchas marinhas (BOBBIO, 1970). Infelizmente, devido à prática de cremação em muitas sociedades, pouco se sabe sobre os materiais pré-históricos utilizados para substituir os ossos perdidos por acidentes ou doenças.

A primeira biocerâmica artificial amplamente testada foi o gesso de Paris (HULBERT et al, 1982). No entanto, no passado, muitos implantes falharam devido a infecções, que tendiam a ser exacerbadas na presença de implantes. Isto ocorria pois forneciam uma região inacessível às células imunologicamente competentes do corpo. Assim, o uso de biomateriais não se tornou prático até o advento de uma técnica cirúrgica asséptica desenvolvida por J. Lister na década de 1860. Além disso, a toxicidade dos materiais escolhidos era, até então, desconhecida (RATNER, 2004). Dentre as biocerâmicas, os fosfatos de cálcio não são tóxicos e não causam morte celular nos tecidos circundantes. No entanto, de acordo com a literatura

disponível, a primeira tentativa de usar o fosfato tricálcico (TCP) ou a hidroxiapatita como material artificial para reparar defeitos criados cirurgicamente em coelhos foi realizada em 1920 (ALBEE, 1920). O segundo relatório clínico foi publicado 30 anos depois (RAY, 1951). Mais de 20 anos depois, a primeira aplicação dentária de um fosfato de cálcio em defeitos periodontais criados cirurgicamente (NERY, 1975) e o uso de cilindros densos de HA para a substituição imediata da raiz dentária foram relatados (DENISSEN, 1979). Embora o fosfato de cálcio, possuindo composição próxima do TCP tenham sido descobertos em 1770 (DOROZHKIN 2012a, 2013a). Polimorfos α -TCP e β -TCP foram diferenciados apenas em 1932 (BREDIG et al., 1932; TROMEL, 1932).

A comercialização das aplicações dentárias e cirúrgicas das biocerâmicas de fosfato de cálcio, principalmente hidroxiapatita (HA), ocorreu na década de 1980, em grande parte devido aos esforços pioneiros de Jarcho, nos EUA, De Groot, na Europa e Aoki, no Japão (JARCHO, 1976 e 1981; DE GROOT, 1977 e 1983; AOKI, 1977 e 1982). Pouco depois, a HA passou a ser uma biocerâmica de referência no campo dos fosfatos de cálcio para aplicações biomédicas. Preparações e aplicações biomédicas de apatitas derivadas de corais do mar (coralina HA) e osso bovino foram relatadas ao mesmo tempo (LEGEROS, 2003; ROY, 1974; HOLMES, 1979; SHIPMAN, 1984).

2.3 BIOMATERIAIS

Nas últimas décadas, com o desenvolvimento das áreas biomédicas, a necessidade de desenvolver novos materiais que possam atuar no corpo humano de maneira a suprir as necessidades causadas por patologias, infecções e traumas vem se tornando crescente. A definição mais aceita para esses materiais foi dada pelo Instituto Nacional Americano de Saúde que descreve o biomaterial como qualquer substância ou combinação de substâncias, que não drogas, sintéticas ou de origem natural, que pode ser usado por qualquer período de tempo, o qual amplie ou substitua parcial ou totalmente qualquer tecido, órgão ou função do corpo, a fim de manter ou melhorar a qualidade de vida do indivíduo (WILLIAMS, 1999).

Os recursos utilizados atualmente para o tratamento de tecidos lesionados são os enxertos autógenos, alógenos, aloplásticos (materiais sintéticos) e xenógenos. Os enxertos autógenos são considerados o “padrão ouro”, pois são provenientes do tecido ósseo do próprio indivíduo, sem a possibilidade de rejeição; Já os alógenos são tecidos a partir de matriz óssea de indivíduos da mesma espécie (por exemplo: ossos de cadáver), podendo ser misturada ao tecido autógeno ou utilizada sozinha; Os sintéticos são produzidos em laboratório o qual é gradualmente reabsorvido e substituído pelo osso vital. Por fim os xenógenos, que são de origem animal (bovina, suína). O grande problema é a falta de tecido disponível para realização de inúmeros transplantes realizados diariamente (WILLIAMS, 1987). Dessa maneira, uma das formas de suprir essa necessidade é a utilização dos sintéticos, como uma válvula de escape para a carência de tecido em tratamento de lesões.

As características necessárias que esses materiais devem ter para que possam exercer sua aplicação com segurança, eficácia e qualidade são a biocompatibilidade e a biofuncionalidade. A biocompatibilidade é a capacidade de uma resposta satisfatória quando em contato com o hospedeiro em uma dada aplicação, sem manifestar qualquer tipo de experiência tóxica, irritante, inflamatória, alérgica ou de fundo mutagênico ou carcinogênico. Além disso, os biomateriais devem ser osteocondutores, proporcionando a condução de osteoblastos ou de células precursoras de osteoblastos para o sítio lesado e de fatores regulatórios que promovam esse recrutamento, assim como o crescimento celular neste local (LIU; MA, 2004; WAN; NACAMULI; LONGAKER, 2006; CHEN et al., 2009). A biofuncionalidade está relacionada às características mecânicas e físicas que o dispositivo deve ter para cumprir pelo tempo necessário à função para a qual foi projetado (WILLIAMS, 1999).

As aplicações das biocerâmicas na área médica variam de acordo com a função em que se deseja utilizar e a forma em que esse material deve se encontrar, o que se resume na TAB. 2.1 (HENCH E WILSON, 1993; RATNER, 1996).

TAB. 2.1 Formas, fases e funções de biocerâmicas (HENCH E WILSON, 1993).

FORMA	FASE	FUNÇÃO
Pós, esferas	Policristalina vítrea	Preenchimento de espaços (vazios), tratamento terapêutico, regeneração de tecidos

Recobrimento de implantes metálicos ou poliméricos	Policristalina vítrea Vitrocerâmica	Ligação ao tecido, tromboresistência, proteção contra corrosão
Corpo sólido (conformado)	Monocristal Policristalina Vítrea Vitrocerâmica Compósito (multifaces)	Substituição e adição a tecidos, substituir partes funcionais

Além disso, para que as biocerâmicas tenham um bom desempenho nas suas funções em aplicações em implantes, elas dependerão de uma série de fatores, tanto relacionados ao próprio implante como também ao tecido que entrará em contato com o implante. Na TAB. 2.2 estão listados os fatores que influenciam o comportamento da interface tecido-implante.

TAB. 2.2 Fatores que afetam a resposta interfacial implante-tecido (HENCH E WILSON, 1993).

POR PARTE DO TECIDO	POR PARTE DO IMPLANTE
Tipo do tecido	Composição do implante
Saúde do tecido	Fases do implante
Idade do tecido	Fases nos contornos de grão
Circulação do sangue no tecido	Morfologia da superfície
Circulação do sangue na interface	Porosidade da superfície
Movimento da interface	Reações químicas

O tecido hospedeiro apresentará uma resposta diferente de acordo com o material utilizado no implante, como visto na TAB. 2.1. O modo que ocorrerá a ligação do tecido e o implante está relacionado diretamente com essa resposta do tecido ao implante, conforme a TAB. 2.2. Além das formas já citadas de classificação dos biomateriais, estes ainda podem ser classificados por seu comportamento fisiológico, onde todo material em contato com o tecido vivo apresenta uma resposta, mesmo sendo “inerte”. Esse comportamento ajudará a definir qual biocerâmica será utilizada em determinada aplicação.

Hench e Wilson (1993) classificaram os biomateriais de acordo com seu comportamento fisiológico, ou seja, de acordo com a resposta à interação tecido-implante, da seguinte maneira: Bioinertes são aqueles que não se unem ao tecido hospedeiro, formando uma camada fibrosa na interface tecido-implante; Biocompatíveis, são materiais isolados do tecido hospedeiro por uma camada de tecido fibroso, o qual é formado pela liberação de íons, compostos químicos, produtos de corrosão e outros. Os bioativos, que possuem grande similaridade química com o tecido ósseo e por isso ocorre a união na interface tecido-implante pelas ligações de natureza química. E os reabsorvíveis são aqueles que após um determinado tempo podem ser reabsorvidos, fagocitados, degradados ou solubilizados pelo organismo. Na TAB. 2.3 é apresentada o resumo dessa classificação de acordo com a resposta tecidual e o tipo de materiais utilizados para cada situação.

TAB. 2.3 Classificação dos biomateriais de acordo com a resposta tecidual (HENCH E WILSON, 1993).

BIOMATERIAIS	TIPO DE LIGAÇÃO	EXEMPLOS
Bioinertes	Fixação mecânica	Zircônia, Alumina, Titânio
Biocompatíveis	Crescimento Tecidual	Polímeros, metais
Bioativos	União química com tecidos	HA, biovidros
Reabsorvíveis	Substituição por tecido	Polímeros, Fosfato tricálcio

A utilização de biomateriais para a formação de tecidos ósseos está diretamente relacionada a alguns fatores como a estabilidade do material, irrigação sanguínea, a qual proporciona o crescimento de novas células e nutrientes para essa nova região, tamanho do defeito ósseo e arcabouço tridimensional. Esse último, dá-se pela necessidade de o tecido novo formado possuir estrutura equivalente ao tecido original. Em regiões em que a morfologia e dimensão do defeito são extensas e críticas ao reparo, o mecanismo regenerativo torna-se limitado. Desta forma, há formação de uma cicatriz fibrosa (KIM et al., 2006). Assim, os biomateriais devem ser compatíveis com o tecido em que se unirão, de forma que venham contribuir para o crescimento e recuperação óssea. Estes materiais devem ser biocompatíveis, biodegradáveis e osteocondutores, proporcionando a migração de osteoblastos e

células precursoras do crescimento e desenvolvimento ósseo (LIU e MA, 2004; WAN; NACAMULI; LONGAKER, 2006; CHEN et al., 2009).

2.4 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita (HA) é um material de propriedades variadas, dependendo do seu modo de preparação. Compreendendo a fórmula estequiométrica de $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e pertence à família da apatita, a HA é uma das formas mais comuns de fosfato de cálcio. O atributo especial dessa estrutura reside na sua capacidade de formar soluções sólidas e aceitar um grande número de substituintes aniônicos e catiônicos. A variabilidade de propriedades na HA possibilita a utilização do material em diversas aplicações. Por exemplo, devido à semelhança da HA na composição química da fase mineral dos tecidos ósseos, ela é conhecida por suas aplicações na medicina como substitutos ósseos sintéticos (ZHAO, 2005). Além de sua importância biológica, a HA é estudada para várias aplicações, como lâmpadas fluorescentes (WAGNER, 2013), material para células de combustível (WEI, 2012) ou uma matriz de adsorção e estabilização para resíduos radioativos e metais tóxicos (WATANABE, 2006). Atividades catalíticas significativas de HA são objeto de numerosas publicações (KANEDA, 2009) e patentes (TSUCHIDA, 2011). A hidroxiapatita é um ótimo catalisador por apresentar características como alta atividade, alta seletividade e alta estabilidade que são ideais e de interesse industrial de produtos químicos, operações de refinaria, bem como no domínio da energia e proteção ambiental (PEREGO, 2013).

A hidroxiapatita, cuja fórmula molecular é $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, apresenta razão Ca/P igual a 1,67, próxima à razão Ca/P dos minerais ósseos (entre 1,37 e 1,87). Possui uma estrutura cristalina composta por uma rede tridimensional de óxido de cálcio e poliedros de fosfatos. A HA é o principal composto natural dos ossos e dentes humanos, possuindo cerca de 95% de fase mineral (LEGEROS, 1991), considerada a fase mais estável no ambiente fisiológico. É de grande importância para o organismo por agir como reserva de cálcio e fósforo, possuindo uma estrutura parecida com a da fluorapatita, mas com parâmetros de rede iguais a: $a = b =$

9,4123Å e $c = 6,875 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 120^\circ$. A célula unitária contém 10 Ca^{2+} , 6 $(\text{PO}_4)^{3-}$ e 2 grupos OH^- (HENCH e WILSON, 1993).

A rede cristalina da HA estequiométrica pode ser descrita como uma junção compacta de grupos tetraédricos (PO_4), onde os íons P^{5+} estão no centro dos tetraedros e cujos topos são ocupados por 4 átomos de oxigênio. Cada tetraedro PO_4 é compartilhado por uma coluna e delimita dois tipos de canais não conectados (FIG. 2.3). O primeiro canal tem um diâmetro de $2,5 \text{ \AA}$ e é cercado por íons Ca^{2+} , denotado Ca (I) (4 por célula unitária). Eles estão em coordenação 9 com os átomos de oxigênio dos tetraedros de PO_4 resultando na formação de um poliedro como mostrado na FIG. 2.3a. O segundo tipo de canal desempenha um papel importante nas propriedades das apatitas por possuir um diâmetro maior que o anterior (entre 3 - $4,5 \text{ \AA}$) e contém seis outros íons Ca^{2+} , referidos como Ca (II). Estes últimos estão localizados na periferia do canal. Esses íons estão localizados em duas dimensões $1/4$ e $3/4$ da célula unitária ao longo do eixo c e formam triângulos equiláteros alternados ao redor do eixo senóide helicoidal. Sua coordenação é 7, e eles são circundados por seis átomos de oxigênio pertencentes ao tetraedro $[\text{XO}_4]$ e um ânion OH^- na posição 2a (FIG. 2.3b) (KAY, 1964). A existência de dois diferentes locais de cálcio é de especial interesse porque as propriedades da HA podem ser ajustadas por modificação específica do local (ELLIOTT, 1994). Esses canais hospedam grupos OH^- ao longo do eixo c para equilibrar a carga positiva da matriz. Os íons OH^- estão presentes em colunas perpendiculares à face da célula unitária, no centro dos grandes canais do tipo II. O oxigênio presente no grupo hidroxila está localizado a $0,4 \text{ \AA}$ do plano formado pelo íon cálcio e o hidrogênio do grupo hidroxila está localizado em 1 \AA , que está quase no plano do triângulo de cálcio.

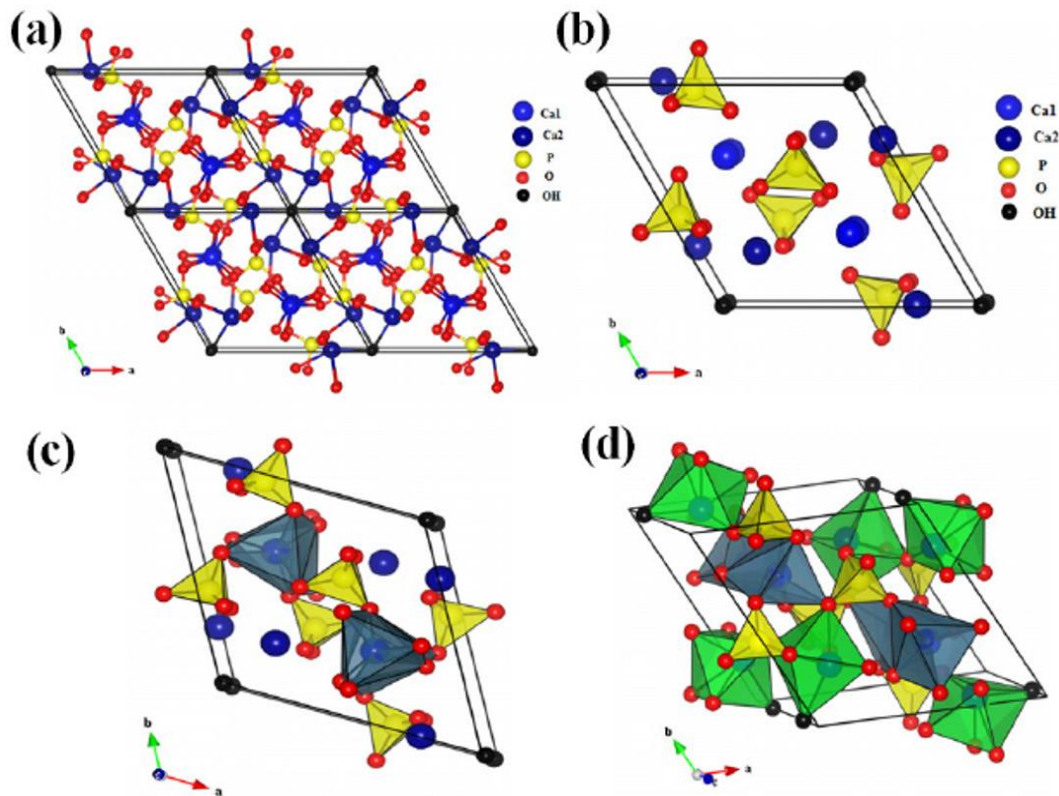


FIG. 2.3 (a) Projeção da célula unitária da HA de acordo com o plano (001); (b) Projeção dos arranjos dos octaedros $[Ca(1)O_6]$ na estrutura do HA; c) Projeção da seqüência da octaédrica $[Ca(1)O_6]$ e tetraédrica $[PO_4]$ na estrutura da HA; e (d) Projeção mostrando a seqüência octaédrica: $[Ca(1)O_6]$ e $[Ca(2)O_6]$, e também tetraédrica $[PO_4]$ na estrutura da HA (Adaptado de FIHRI, 2017).

De acordo com a literatura, a hidroxiapatita biológica, que forma as fases minerais dos tecidos calcificados, é diferente da apatita sintética (SUN, 2001; TAS, 2000; THIAN, 2011). As comparações entre a hidroxiapatita sintética e do tecido ósseo foram observadas pela primeira vez através da difração de raios X (DRX) por De Jong em 1926, verificando que a fase mineralizada não apresentava uma composição bem definida, mostrando variações no estado de mutação e envelhecimento dos tecidos duros (BENS NISSAN e PEZZOTTI, 2002). A hidroxiapatita sintética, pelas suas propriedades similares a hidroxiapatita biológica, é amplamente utilizada em implantes dentais e reconstruções faciais (SUBRAMANI, 2018; GENECOV, 2007), onde podem atuar como arcabouços porosos para a neoformação óssea ou na forma de grânulos, arcabouços e blocos densos (FONSECA, 2007); em medicamentos para o tratamento de doenças ósseas

(SANGEETHA et al, 2018, DANTAS et al., 2011); além de ser utilizado para retirada de metais pesados das águas e solos poluídos (MCGRELLIS et al., 2000).

Devido a baixa resistência mecânica e tenacidade da HA. O foco das pesquisas se restringe a situações onde o material não sofrerá esforços mecânicos, como por exemplo, recobrimento superficial de metais e polímeros em áreas de maior tensão (HENCH e WILSON, 1993). Um dos grandes motivos de se utilizar HA em revestimento de implantes metálicos se deve ao fato de favorecer uma boa resposta osteoblástica, tanto in vitro como in vivo (SNYDERS et al., 2007; AVÉS E.P., 2008).

2.4.1 SUBSTITUIÇÕES NA HIDROXIAPATITA

As cerâmicas apatitas, em relação aos fosfatos de cálcio são, dentre os biomateriais sintéticos, os materiais mais estudados. Sua estrutura complexa permite várias substituições aniônicas e catiônicas, e dessa maneira, apresentam vários comportamentos e características diferentes que se assemelham ao comportamento das apatitas biológicas. As apatitas possuem fórmula do tipo $X_{10}(Y)_6Z_2$ onde as espécies X^{2+} são normalmente substituídas por cátions metálicos divalentes como cálcio (Ca^{2+}), magnésio (Mg^{2+}), ferro (Fe^{2+}), chumbo (Pb^{2+}), etc. As espécies Y^{3-} representadas pelos íons trivalentes tais como fosfatos, manganatos, boratos, etc. E os ânions monovalentes Z^- que são geralmente fluoreto, hidroxila, cloreto, etc. (MAVROPOULOS, 1999). Os membros das apatitas normalmente são diferenciados por seus ânions monovalentes, que são flúor (fluorapatitas), o grupo funcional hidroxila (hidroxiapatita) ou o cloro (cloroapatita).

A HA permite muitas substituições de íons em sua estrutura que podem ocorrer nas posições dos íons cálcio (Ca^{2+}), nos grupos fosfato (PO_4^{3-}) ou nos grupos hidroxilas (OH^-), podendo ser substituída por diferentes íons como, por exemplo, silício (THIAN, 2011), magnésio (ZIANI, 2014), zinco (TRUJILLO, 2012) e prata (REN, 2009). Vários íons podem ser incorporados aos grupamentos das apatitas, sendo eles de mesma valência ou de valência diferente. Eles podem ser inclusive da composição mineral do próprio osso humano (PALARD et al., 2008). A introdução desses íons nas estruturas das hidroxiapatita podem provocar mudanças na

morfologia e nos parâmetros de rede, diminuição da cristalinidade e da estabilidade térmica e aumento da solubilidade. Os sítios de hidróxido (OH) e fosfato (PO₄) da HA são notados, respectivamente, como sítios A e B. Os exemplos de substituições presentes na TAB. 2.4 são relacionados aos elementos presentes na estrutura da fase mineral do osso.

TAB. 2.4 Exemplos de substituições na estrutura da apatita (PALARD et al., 2008).

SÍTIO	Fórmulas químicas teóricas
Ca⁺²	
Mg ⁺²	Ca _{10-x} Mg _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂
Zn ⁺²	Ca _{10-x} Zn _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂
Sr ⁺²	Ca _{10-x} Sr _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂
Ag ⁺	Ca _{10-x} Ag _x (PO ₄) ₆ (OH) ₂
(PO₄)³⁻	
(CO ₃) ⁻²	Ca _{10-x} (PO ₄) _{6-x} (CO ₃) _x (OH) _{2-x}
(SiO ₄) ⁻⁴	Ca _{10-x} (PO ₄) _{6-x} (SiO ₄) _x (OH) _{2-x}
HPO ₄	Ca _{10-x} (PO ₄) _{6-x} (HPO ₄) _x (OH) _{2-x}
(OH⁻)	
F ⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} F _{2x}
Cl ⁻	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} Cl _{2x}
CO ₃ ⁻²	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) _{2-2x} (CO ₃) _x

Entretanto, os íons de fluoreto (F⁻) atuam como exceção a essa regra, os quais substituem os íons (OH⁻) e tendem a reduzir a solubilidade do material (YAO et al., 2009). Substituições como OH → F⁻ são conhecidas por fortalecer a estrutura apatita e por diminuir a sua solubilidade (LEGEROS, 2008). O íon fluoreto pode ser incorporado a HA substituindo os grupos hidroxilas, tornando a estrutura hexagonal mais estável e menos solúvel que a hidroxiapatita estequiométrica (MAVROPOULOS, 1999). Consequentemente, alteram a solubilidade e a biomineralização desses fosfatos de cálcio quando em contato com a água e os fluidos corporais (SONG et al., 2008).

2.5 VIAS PARA SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA

A HA pode ser obtida por várias reações, sejam elas por via sólida ou úmida, onde inúmeros métodos têm sido utilizados como técnicas por precipitação (SANTOS, 2004), síntese hidrotérmicas (MANAFI, 2009), processo sol-gel (CHAI, 1999), deposição biomimética (TAS, 2000), neutralização e outras. Algumas alterações estão sendo aplicadas nas técnicas clássicas de obtenção da HA para o preparo de pós com estequiometria, grau de cristalinidade, morfologia, ou substituições iônicas variáveis para cada aplicação específica (VALLET e GONZÁLEZ, 2004).

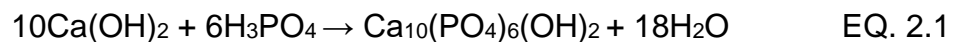
As reações em estado sólido envolvem temperaturas acima de 950°C nos fosfatos de cálcio, e baseada na troca iônica entre as partículas sólidas, originando dessa forma um produto por mecanismo de difusão e nucleação (AOKI, 1991; LEGEROS, 1991; AKAO, 1982). A vantagem desse método é a capacidade de definir precisamente a estequiometria do produto final. Embora essa rota seja de fácil execução ela possui várias desvantagens como: não uniformidade do tamanho das partículas formadas, caráter multifásico e difícil reprodutibilidade. Dentre as desvantagens, a principal é o alto nível de consumo de energia.

Algumas das rotas de síntese aplicadas recentemente apresentam desvantagens pelo alto custo da matéria prima (metais alcoxídicos para aplicações em sol-gel), processos intermediários descartáveis (agentes criogênicos para métodos como o freeze-drying), entre outros. As rotas por via úmida são bastante defendidas por alguns autores por apresentarem vantagens como baixo custo, obtenção de um biomaterial homogêneo, reativo e de composição estequiométrica melhor definida, possibilitando controle nas condições de síntese. Além desses fatores, a HA obtida por via úmida apresenta mais semelhança com as produzidas pelo tecido ósseo, diferentemente das produzidas a altas temperaturas por via sólida. Nas reações entre sais de fosfatos de cálcio, também ocorre a formação de partículas de baixa cristalinidade, semelhantes ao osso humano (AOKI e LEGEROS, 1991).

O método mais aplicado popularmente para a síntese da hidroxiapatita é a da precipitação, que pode ser chamada também de precipitação úmida, química ou

aquosa. Esse método pode ser realizado de duas formas: uma, envolvendo reações de neutralização de soluções ácidas e alcalinas, a outra, envolve reações entre sais de fosfato de cálcio. Dentre as grandes vantagens, destaca-se a possibilidade de sintetizar quantidades relativamente grandes de hidroxiapatita em ausência de solventes orgânicos, a um custo razoavelmente favorável (SANTOS, 2004). Esse método necessita de controle da relação Ca/P dos reagentes, temperatura, pH, tempo de maturação e de reação. Esses aspectos vão ter consequências que poderão se apresentar na cristalinidade, estequiometria e morfologia do material.

A técnica baseia-se na adição de ácido fosfórico (H_3PO_4) numa suspensão de hidróxido de cálcio formando água como subproduto, onde o hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) e o ácido fosfórico (H_3PO_4) são a matéria prima de acordo com a EQ. 2.1 (NAYAK, 2010):



O tamanho, a forma e a área superficial específica das partículas de HA obtidas por esta reação são muito sensíveis à taxa de adição do ácido fosfórico e da temperatura. Os cristais de HA sintetizados podem ser monocristalinos ou policristalinos. Partículas de HA sintetizadas a baixas temperaturas são monocristalinas ($<60^\circ$) (FERRAZ et al., 2004).

2.6 SÍLICA

O silício é um dos elementos de maior abundância na crosta terrestre, perdendo apenas para o oxigênio. Os silicatos correspondem cerca de 60% do silício disposto na terra (ILER, 1979). Embora ele nunca seja encontrado naturalmente de forma isolada, ele sempre está combinado a algum outro elemento, estando presente em praticamente todo solo, rocha e areia, além de ser encontrado em plantas, águas naturais, esqueletos, tecidos e fluidos orgânicos de alguns animais. Quando o silício está combinado com o oxigênio, é formado o dióxido de silício ou sílica (SiO_2). E, quando combinado com o oxigênio e com outros elementos, são formados os silicatos, como: o quartzo, a mica e zeólita (GREENWOOD, 2002).

Os depósitos de sílica são provenientes de várias eras geológicas. O Brasil produz em média 6000 toneladas por dia através do quartzo, onde as principais fontes vêm do estado de Minas Gerais. A sílica proveniente da ágata e ametista estão localizadas no sul do Brasil e norte do Uruguai. Comercialmente a sílica que é proveniente do silício é utilizada em grande quantidade como um dos constituintes principais dos materiais de construção. Além disso, ela também possui propriedades especializadas como cristais piezoelétricos (LEDUC, 1946).

A sílica é encontrada na natureza de diversas formas, podendo ser cristalina ou amorfa. A forma mais comum da sílica na forma cristalina é o quartzo, podendo ser encontrada nas formas de cristobalita e tridimita, onde são mais nocivas. A sílica amorfa, contrariamente, apresenta baixa toxicidade. Em geral, ela possui 17 formas cristalinas distintas, dentre elas quartzo, topázio, tridimita, cristobalita e outros (GREENWOOD, 2002).

Estruturalmente, uma rede tridimensional de sílica é gerada quando os átomos de oxigênio nos cantos dos tetraedros são compartilhados para tetraedros adjacentes. Dessa forma, o material é eletricamente neutro e seus átomos tem estrutura eletrônica estáveis, justificando de tal maneira a rigidez do mesmo. De acordo com a fórmula química, a proporção de Si/O é de 1:2. Os tetraedros podem ser dispostos de forma ordenada ou desordenada, quando ordenada formam uma estrutura cristalina (CALLISTER, 2008).

Dessa maneira, a estrutura disposta dos átomos de silício e oxigênio permitem a sílica algumas propriedades. Como: a densidade relativamente baixa. O tipo das ligações interatômicas Si-O também caracteriza propriedades como a temperatura de fusão relativamente alta de 1710°C (CALLISTER, 2008).

A sílica é formada de 46,72% de silício e 53,28% de oxigênio. É encontrada em formas polimorfas devido ao silício que apresenta isótopos, sendo eles Si 28, Si 29, Si 30. Dessa maneira, a sílica é uma mistura desses três isótopos. Sendo um composto duro que, ao formar macromoléculas, se liga à 4 átomos de oxigênio, seguindo os vértices de um tetraedro regular e cada átomo de oxigênio está ligado a dois átomos de silício, como pode ser observado na FIG. 2.4.

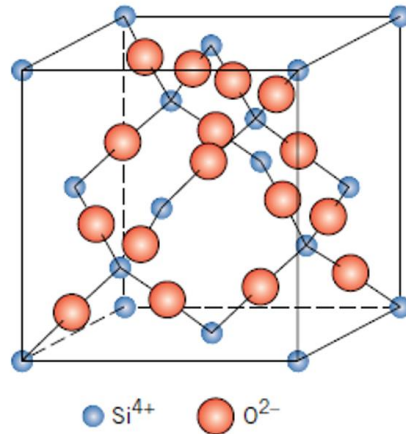


FIG. 2.4 Arranjo de átomos de silício e oxigênio em uma célula unitária de cristobalita, um polimorfo do SiO_2 (CALLISTER, 2008).

Botelho (2002) estudou o efeito da incorporação do silício na carga superficial da hidroxiapatita, avaliando as alterações estruturais na superfície. A análise de XPS mostrou que os grupos $(\text{SiO}_4)^{4-}$ substituíram os grupos $(\text{PO}_4)^{3-}$ na rede do silício-hidroxiapatita (Si-HA). Esses resultados de XPS indicam que o Si deve ser preferencialmente lixiviado na superfície Si-HA em comparação com outras espécies iônicas. Além disso, outros estudos comparativos de revestimentos feitos com Si-HA revelam que os revestimentos com Si-HA exibem bioatividade aumentada e biomineralização em relação a filmes de HA pura (THIAN, 2005 e 2006; HIJON, 2006).

Por volta dos anos 70, vários grupos demonstraram que a mineralização requer uma concentração mínima de silício solúvel no corpo (THIAN, 2005). Estudos relatam que a presença de ligações de silício e oxigênio provocam a ativação de genes de DNA e RNA, sendo o silício um componente inerte aos ácidos nucleicos, substituindo os fosfatos P^{5+} (THIAN, 2006). Hench (1999) relatou que a deterioração dos osteoblastos devido a osteogenia e osteoporose estão relacionados com a perda de silício biologicamente disponível (HENCH, 1999). As células ósseas se proliferam mais rapidamente na presença de silício solúvel (BOTELHO, 2002; DOROZHKIN, 2013).

A presença de sílica na composição de um biomaterial vem contribuir com a bioatividade. Isto está relacionado a facilidade que a sílica apresenta na formação de pontes de OH^- quando aplicado em meios biológicos. Esta característica favorece a

osseointegração, a osseointegração e a reparação de tecidos ósseos (CAMARGO,2007). Estudos realizados por diferentes autores mostram que a presença de grupos silanóis (Si-OH), devido a sua alta densidade na superfície da sílica amorfa, derivados da adsorção da hidroxila pela hidratação da sílica, possibilita a formação de sítios de nucleação para a apatita biológica e esse é um fator determinante para o aumento da bioatividade (HENCH,1998; ANDERSSON, 2005; BORUM; 2003; THIAN, 2011).

2.6.1 ESPONJA DE ÁGUA DOCE

As esponjas são animais pertencentes ao filo Porífera exclusivamente aquáticos, podendo ser marinhos e/ou dulciaquícolas. Elas vivem aderidas a substratos rochosos, sobre restos de vegetação submersa, incrustado em raízes de macrófitas, galhos ou troncos de árvores, em regiões que sofrem inundações sazonais, como nas várzeas dos grandes rios amazônicos (VOLKMER-RIBEIRO 1999).

Esses animais estão entre os metazoários e são conhecidos por serem os mais antigos (HENTSCHEL, 2006). Somente no século XIX as esponjas de água doce foram identificadas, encontradas em museus na Europa, após serem levadas da Amazônia por taxonomistas da época. No entanto, a partir da segunda metade do século XX, Volkmer-Ribeiro vem realizando estudos sobre essas espécies, principalmente, da Amazônia e do Rio Grande do Sul (VOLKMER-RIBEIRO, 1999). Animais dessa espécie são bastante conhecidos por sua capacidade de agir como filtros no ambiente aquático. A água ambiente é absorvida pelos poros, filtradas nas câmaras coanócitas e expelida novamente para o meio ambiente aquático através dos ósculos (orifícios de saída da água). (VOLKMER-RIBEIRO e PAROLIN, 2010). Segundo os autores, as esponjas de água doce surgiram a partir das esponjas marinhas que adquiriram capacidade de viver nos dois ambientes a muitas épocas geológicas atrás, no momento da história em que ocorreu a mudança de oceanos para águas continentais (VOLKMER-RIBEIRO e PAROLIN, 2010).

As esponjas de água doce são caracterizados por ter total ou quase total composição composta por sílica. Dessa forma, esses animais que possuem

endoesqueleto silicosos podem ser de três categorias: Megascleras ou macroscleras, microscleras e gemoscleras. As macroscleras são espículas que integram a rede esquelética e, geralmente, são as maiores espículas possíveis; Microscleras possuem espículas reduzidas e, geralmente, estão na parte externa da esponja; Gemoscleras são espículas que revestem as gêmulas, constituem o caráter morfológico mais importante na identificação e caracterização de famílias, gêneros e espécies (VOLKMER-RIBEIRO e PAULS, 2000; PINHEIRO, 2007).

As esponjas são ainda distribuídas em três classes, classe calcarea: Esponjas com esqueleto unicamente formado por espículas de carbonato de cálcio, onde não se notam fibras de esponjina e são encontradas em águas rasas em sua maioria; classe hexactinellida ou “esponja de vidro”: possui espículas composta por sílica e seus “tecidos”, e se difere das outras classes por se arranjar de forma sincicial e são encontradas em grandes profundidades; classe demospongiae: compostas pelo maior grupo de esponjas, cerca de 95% das espécies totais do filo, onde o seu esqueleto é composto por sílica ou esponjina e são encontrados em todos os ambientes aquáticos (HOOPER e VAN SOEST, 2002).

As esponjas duciaquícolas pertencem a classe demospongiae, assim como as esponjas marinhas, sua taxonomia é baseada especialmente na morfologia de seus elementos espiculares. Cerca de 45 espécies de esponjas de água doce encontradas no Brasil, 33 foram encontradas na região amazônica. Acredita-se que prospecções levadas a efeitos no profundo dos rios dessa região irão contribuir para o surgimento de novas espécies e até gêneros. Das espécies presentes encontram-se *Metania Reticulata* (FIG. 2.5), *Spongilla spoliata*, *M. fittkaui*, *M. kiliani* e *Trochospongilla amazônica* como endêmicas essa região (VOLKMER-RIBEIRO, 1972).

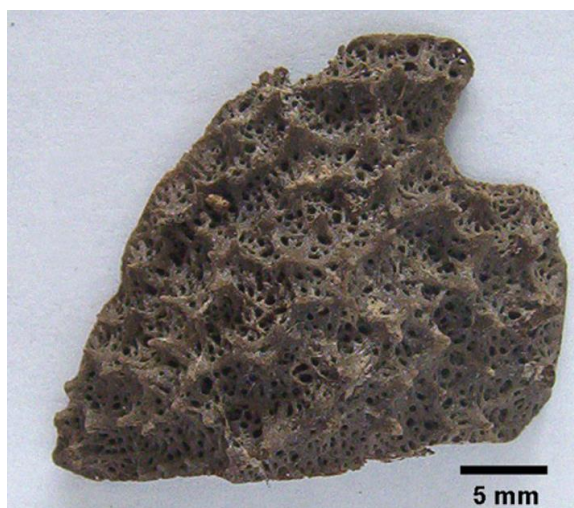


FIG. 2.5 Esponja de água doce da espécie *Metania reticulata* (VOLKMER-RIBEIRO, 2007).

2.7 PROCESSOS DE FABRICAÇÃO DE CORPOS POROSOS

A demanda por cerâmicas porosas vem crescendo cada vez mais, principalmente se tratando de biomateriais e aplicação em tecido ósseo. As cerâmicas porosas podem ser classificadas em quatro estruturas básicas, de acordo com Hirschfeld (1996), que são: redes de fibras enroladas, estruturas de células fechadas, estruturas de células abertas e membranas, onde suas aplicações são determinadas por uma única estrutura. No entanto, Saggio-Woyansky e Scott (1992) classificaram as cerâmicas porosas apenas em dois tipos: cerâmicas reticuladas e cerâmicas de espumas. As cerâmicas reticuladas são materiais porosos compostos por vazios interconectados rodeados por uma rede cerâmica. Já a cerâmica de espuma possui vazios fechados com uma matriz de cerâmica contínua. Elas duas se diferem pela propriedade de permeabilidade, de tal forma que a permeabilidade é alta para cerâmicas reticuladas e baixas para cerâmicas de espuma. Essa estrutura porosa apresenta normalmente baixa densidade, massa e condutividade térmica, além delas apresentarem propriedades que fazem delas apropriadas para várias aplicações, como: alta tenacidade, alta uniformidade, resistência a altas

temperaturas e resistência a ataques químicos (HIRSCHFELD, 1996; SAGGIO-WOYANSKY E SCOTT, 1992).

A formação dessas cerâmicas porosas pode se dar por vários métodos, onde os principais são: método da esponja polimérica, método da adição de espumante, método da adição de cera. Além desses, pode-se usar outros materiais como arcabouços porosos para a impregnação da pasta cerâmica e posterior obtenção da cerâmica porosa. O método da esponja polimérica corresponde, basicamente, pela impregnação de uma esponja polimérica com uma pasta cerâmica contendo os pós a serem impregnados, água e aditivos, que ajudam na viscosidade da pasta para que ela penetre todos os poros. O método da adição de espumante consiste na preparação de uma mistura química contendo os componentes cerâmicos e constituintes orgânicos usados para gerar um gás que cria bolhas no material e conseqüentemente, a espuma. Esse último apresenta algumas vantagens em relação ao método da esponja polimérica, onde composições e densidades são produzidas mais facilmente pela formação da espuma. Além disso, corpos cerâmicos com poros pequenos são difíceis de serem confeccionados pelo método da esponja polimérica (SAGGIO-WOYANSKY E SCOTT, 1992; BRUMATI, 1995).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesse capítulo é feita a descrição dos materiais utilizados, métodos de obtenção das amostras e dos equipamentos usados na caracterização dos materiais na forma de pó e pastilhas. Para o desenvolvimento dessa pesquisa a Dra. Cecília Volkmer Ribeiro doou esponjas de água doce da espécie *Metania reticulata* coletada na região amazônica, apresentada na FIG. 3.1. A água deionizada utilizada no preparo das soluções apresentou um pH de caráter ácido (entre 5 e 6), obtida através de um Aparelho de Osmose Reversa da marca Quimis, modelo Q842-210 disponível no Laboratório de Cerâmica do IME.



FIG. 3.1 Amostras das esponjas de água doce antes e após a calcinação.

3.1.1 SÍNTESE DA HIDROXIAPATITA

O método de obtenção da hidroxiapatita baseou-se na precipitação em meio aquoso ou síntese química de uma solução precursora que deu origem a um

precipitado, com controle de pH à temperatura ambiente. A rota utilizada de precipitação em meio aquoso equivalente ao método utilizado por Prado da Silva e Navarro da Rocha (2011), diferindo apenas pela não utilização do liofilizador. A síntese está ilustrada no fluxograma da FIG. 3.2.

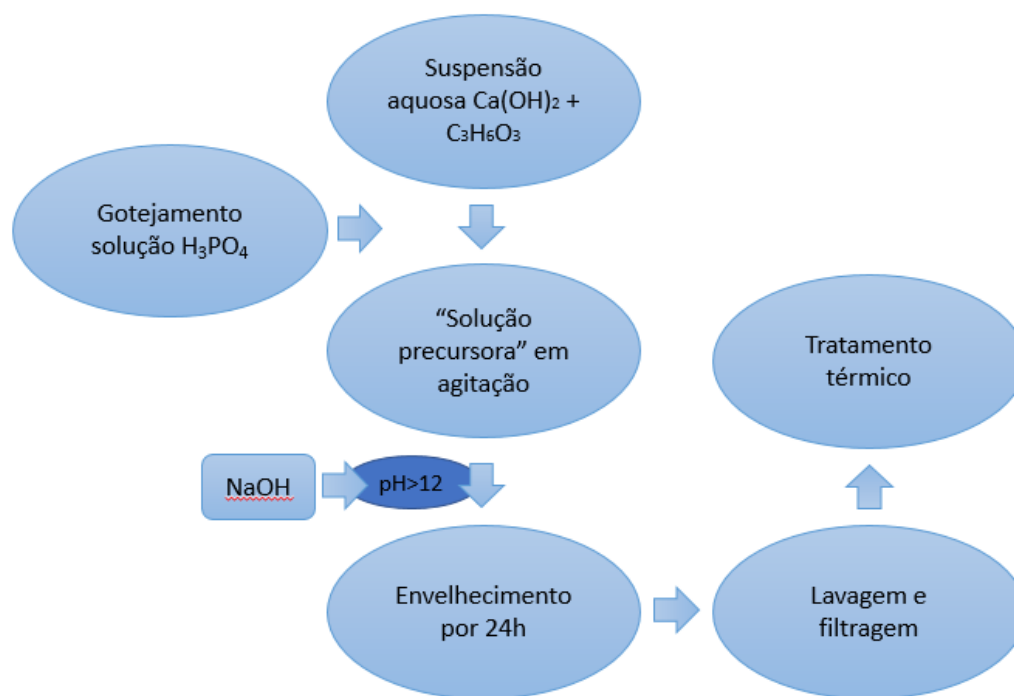


FIG. 3.2 Fluxograma para a síntese da hidroxiapatita.

Esse método envolve reações aquosas entre os precursores do fosfato e cálcio com controle de pH e temperatura da solução. A solução rica em íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} foi preparada pela mistura de uma solução de 0,5M hidróxido de cálcio (Merk-Darmstadt, Alemanha), uma solução de 0,3M ácido orto-fosfórico (ISO FAR, Brasil) e uma solução de 1M ácido láctico (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil), todas preparadas em agitação (agitador magnético – Quimis, São Paulo, Brasil).

Primeiramente, foi preparada uma solução de hidróxido de cálcio $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ e em agitação a solução de ácido láctico $[\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3]$ foi adicionada à primeira solução. Após 30 minutos, o ácido fosfórico $[\text{H}_3\text{PO}_4]$ foi adicionado à mistura lentamente, a uma taxa de 8ml/min. Essa solução final foi denominada solução precursora. Após 24 horas em agitação, adicionou-se uma solução de 1M hidróxido de sódio $[\text{NaOH}]$ (Merk-Darmstadt, Alemanha) para o pH da solução ser ajustado a fim de alcançar o valor de 12 e permitir a precipitação da hidroxiapatita. O precipitado resultante foi

envelhecido por 24 horas, logo após sendo filtrado com papel de filtro, com sistema de vácuo (Edwards, Neuberger, Alemanha) adicionando água deionizada em abundância para a retirada do NaOH. Nessa etapa o pH 7 foi alcançado no líquido filtrado. O precipitado foi retirado do filtro e seco em estufa a 60°C durante 24 horas.

3.2 MÉTODOS DE INCORPORAÇÃO DA SÍLICA À HIDROXIAPATITA

A incorporação da sílica, proveniente da esponja de água doce, à hidroxiapatita foi realizada utilizando duas rotas diferentes.

PRIMEIRA ROTA

A primeira rota tem o objetivo de utilizar a esponja de água doce como arcabouço poroso para a incorporação na hidroxiapatita utilizando o método de deposição química. Esse método baseia-se na imersão da esponja de água doce em uma solução precursora.

Primeiramente, foi realizada a preparação dessa solução precursora por meio de soluções aquosas entre os precursores do Ca^{2+} e PO_4^{3-} com o devido controle de pH e temperatura da solução, conforme a FIG. 3.3. Inicialmente, a solução de ácido láctico [$\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$] foi adicionada à solução de hidróxido de cálcio [$\text{Ca}(\text{OH})_2$], em agitação, após 30 minutos. O ácido fosfórico [H_3PO_4] foi adicionado à mistura lentamente, a uma taxa de 8ml/min. Ao final, a solução obtida tem o apelido de solução transparente pelo aspecto translúcido e estável que apresenta. As esponjas foram imersas na solução a 80°C até total deposição do recobrimento em sua superfície, em aproximadamente 12 horas. Esse processo foi repetido duas vezes.

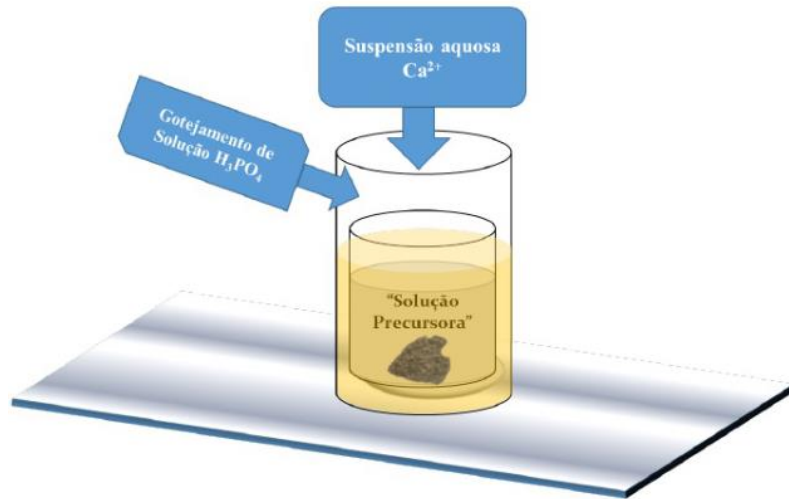


FIG. 3.3 Método de deposição química para obtenção dos recobrimentos em solução precursora a 80°C (Adaptado de Navarro da Rocha, 2016).

Após a deposição química no substrato, os recobrimentos foram imersos em uma solução alcalina, 0,1M de NaOH, à temperatura de 80°C, com o intuito de converter o recobrimento em HA, aproximadamente 24h.

SEGUNDA ROTA

A segunda rota baseia-se na produção de um compósito contendo hidroxiapatita, obtida pelo método de precipitação em meio aquoso, sílica proveniente da esponja de água doce calcinada, e polietilenoglicol (PEG) agindo como ligante. São utilizadas cinco diferentes porcentagens para a produção dessa pasta, de acordo com a TAB. 3.1. Após a obtenção do compósito em forma de pasta, com as cinco composições diferentes, realizou-se a impregnação dessa pasta em esponjas poliméricas arredondadas, que funcionam como arcabouço poroso para a impregnação da pasta cerâmica. O fluxograma da segunda rota está disposto na FIG. 3.4 para facilitar a visualização da rota de preparação.

TAB. 3.1 Porcentagens dos pós de sílica e hidroxiapatita.

Amostras	Sílica	HA	Nomenclatura
1	2%	98%	2% Si-HA
2	4%	96%	4% Si-HA
3	8%	92%	8% Si-HA

4	15%	85%	15% Si-HA
5	25%	75%	25% Si-HA

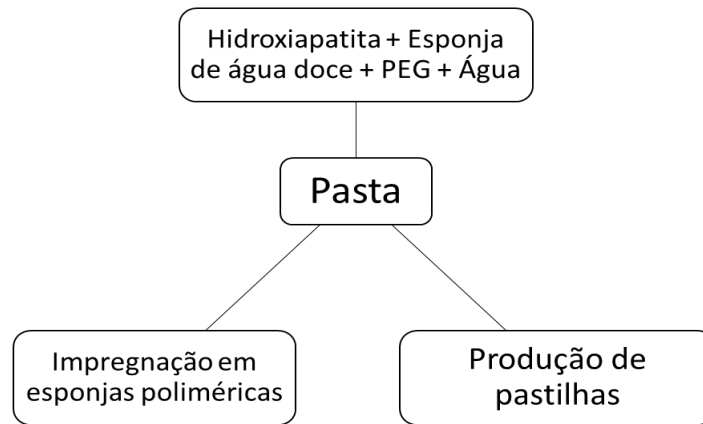


FIG. 3.4 Fluxograma correspondente a segunda rota de produção do compósito.

As esponjas poliméricas foram imersas na pasta por 12 horas, após isso elas foram retiradas e encaminhadas para tratamento térmico, onde a taxa de temperatura permaneceu em um patamar de 550°C durante 2 horas para a eliminação do PEG e dos compostos orgânicos. A sinterização das amostras foi realizada no forno JUNG obedecendo a rota e os patamares do forno, em uma temperatura de 1100°C durante 1 hora. A representação da impregnação feita da pasta nas esponjas poliméricas está na FIG. 3.5. A TAB. 3.2 apresenta a composição da pasta cerâmica, contendo a quantidade utilizada de hidroxiapatita, esponja de água doce calcinada, PEG e água.

TAB. 3.2 Composição da pasta cerâmica.

	2%Si-HA	4%Si-HA	8%Si-HA	15%Si-HA	25%Si-HA
HA	20,416g	20g	19,166g	17,708g	15,6246g
Esponja	0,4168g	0,8336g	1,6672g	3,126g	5,2099g
PEG	0,3237ml	0,3237ml	0,3237ml	0,3237ml	0,3237ml
Água	25ml	25ml	25ml	25ml	25ml



FIG. 3.5 Amostras de esponjas poliméricas recobertas com a pasta cerâmica.

Para a confecção das pastilhas, a pasta produzida foi seca em estufa a 80°C por 24 horas, desaglomerada em almofariz e pilão de cerâmica e o pó foi prensado a frio em prensa uniaxial hidráulica (modelo P30 Skay Press) em tensão de 31,23 MPa (1,0 tonelada). Dessa maneira, pastilhas com massa de aproximadamente, 3,0 g, 5,0 mm de espessura e 12,0 mm de diâmetro foram confeccionadas. Após isso, as pastilhas foram sinterizadas a 1100°C a uma taxa de 3°C/min e um patamar de 1 hora ao atingir a temperatura. A FIG. 3.6 apresenta as pastilhas sinterizadas observando-se diferença na coloração de acordo com a adição da sílica à HA.



FIG. 3.6 Pastilhas após a sinterização.

3.3 CARACTERIZAÇÃO DO MATERIAL

3.3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

A investigação das fases presentes nas pastilhas, o grau de cristalinidade e os parâmetros de rede da mesma foram realizadas no Laboratório de Difração de raios X da UFF, em um difratômetro de modelo D8 Advance do fabricante Bruker-AXS operando com fonte de cobre $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda=1,54060 \text{ \AA}$), corrente de 30 mA e 40 kV, varredura de 10 a 80° 2 θ e um passo de coleta de 0,02 segundos. Os programas utilizados para analisar qualitativa e quantitativamente as amostras foram o HighScore Plus e o Topas – Bruker, respectivamente.

3.3.2 REFINAMENTO 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 (grupo espacial, parâmetros de rede, posições atômicas, entre

outras) 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 TOPAS. Obtiveram-se as percentagens de fases cristalinas das pastilhas de hidroxiapatita pura e substituída.

3.3.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A identificação dos grupos funcionais das pastilhas de hidroxiapatita e sílica foi realizada na UFF por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) da marca NICOLET e modelo iS50 FTIR, foi utilizado na faixa de IR média de 4000 a 400 cm^{-1} , com 32 scans, e uma resolução de 4 cm^{-1} . O FTIR - ATR, modo de refletância total atenuada.

3.3.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A morfologia dos pós verdes e tratados termicamente foi investigada em microscopia eletrônica de varredura (MEV) - FEG FEI Quanta 250 – IME, voltagem de aceleração de 10 kV e em MEV/FEG JSM -7100F – laboratório UDT/NanoFAB UERJ, voltagem de aceleração de 5kV. As amostras foram recobertas algumas amostras com platina e outras com ouro, depositado por um metalizador LEICA modelo EM ACE600 sob corrente de 50mA durante 2 minutos.

3.3.5 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

A identificação dos elementos químicos nos pós, antes da produção dos compósitos, e nas pastilhas foi realizada utilizando-se o equipamento de EDS - FEG FEI Quanta 250 – IME e em um EDS – EVO-040 no centro de pesquisa da Eletrobrás (CEPEL).

3.3.6 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRON DE RAIOS X (XPS)

A técnica de XPS foi utilizada nas pastilhas para determinar a composição da superfície das amostras utilizando o equipamento SPECS 100, com radiação Al-K α e detector 2-D Line, do laboratório de superfície e nanoestruturas do CBPF. O espectro de XPS foi obtido em 55° (ângulo entre a superfície e o eixo da lente de análise do XPS) e o pico de carbono 1s, em 284.6 eV, foi usado como referência para calibração do espectro.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRIMEIRA ROTA

A primeira rota teve como objetivo utilizar a esponja de água doce da espécie *Metania reticulata* como substrato para a deposição de fosfato de cálcio. Ao imergir a esponja na solução precursora (FIG. 4.1) durante 36h e 24h, onde essa solução precursora era trocada por outra nova de 12 em 12 horas, e posteriormente imergir essas esponjas recobertas em solução alcalina (NaOH) por 36 horas, observou-se que ela degradou. Novos testes foram realizados diminuindo o tempo em que os recobrimentos permaneceram em meio alcalino, passando de 36 horas para 24 horas. A esponja não degradou em primeiro momento, apresentando apenas grande fragilidade, mas ao passar por tratamento térmico a 1100°C durante 1 hora, não resistiu. O processo de conversão em menor tempo, de acordo com a literatura, não é recomendado, pois acredita-se que não é suficiente para a solução precursora recobrir todo o substrato. Devido a isso, não foram realizados testes com permanência em solução alcalina por 12 horas, mesmo observando que ela apresentaria resistência maior ao processo.



FIG. 4.1 Esponja de água doce imersa em solução precursora.

4.2 SEGUNDA ROTA

A segunda rota concentrou-se na produção de uma pasta contendo hidroxiapatita, esponja de água doce calcinada, PEG e água. A pasta produzida foi impregnada em esponjas poliméricas que após o tratamento térmico, apresentaram fragilidade, mas resistência suficiente para não degradar o material e a permitir o manuseio da peça. Entretanto, esse trabalho de dissertação focou na produção da pasta e caracterização do compósito a partir das pastilhas produzidas.

A adição do PEG como ligante ajudou as pastilhas possuírem resistência suficiente, permitindo assim o seu manuseio. Após a sinterização apresentaram boa resistência e facilitaram o seu processo de caracterização.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DAS AMOSTRAS ANTES DA PRODUÇÃO DO COMPÓSITO

4.3.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Os difratogramas a seguir representam as amostras de hidroxiapatita verde e tratada termicamente a 1100°C, respectivamente. A amostra de HA verde FIG. 4.2(a) apresentou picos poucos definidos e com bandas alargadas, indicando um padrão característico de uma hidroxiapatita pouco cristalina e/ou nanométrica, similar ao padrão da fase mineral do osso humano (LEGEROS, 2008). As amostras de HA sinterizada FIG. 4.2(b) exibiram a fase óxido de cálcio (CaO), a qual é esperada em amostras tratadas termicamente.

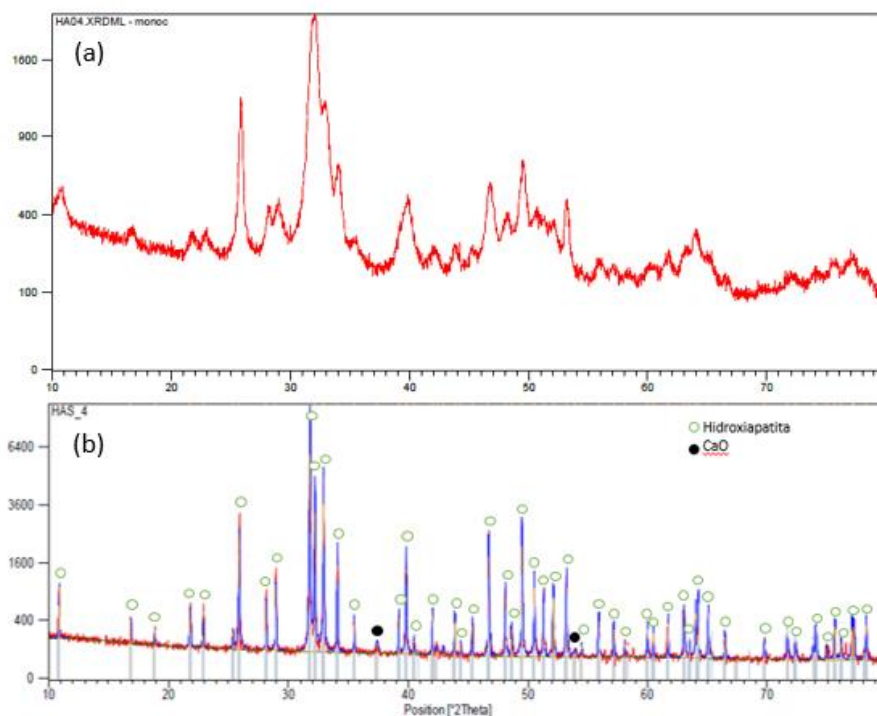


FIG. 4.2 Difratoograma da amostra de hidroxiapatita (a) verde; (b) sinterizada a 1100°C.

Os difratogramas a seguir representam as amostras da esponja de água doce pura e calcinada a 550°C. A amostra da esponja pura FIG. 4.3 (a) e (b) apresentam picos bem definidos e fases de sílica e pequena quantidade de hidróxido de silicato de ferro. Após a calcinação, o pico correspondente ao hidróxido de silicato de ferro FIG. 4.3(c) desapareceu e um pico novo de sílica (monoclínica) foi detectado. Este resultado está de acordo com a literatura, onde a parte orgânica com o aumento de temperatura é retirada da amostra.

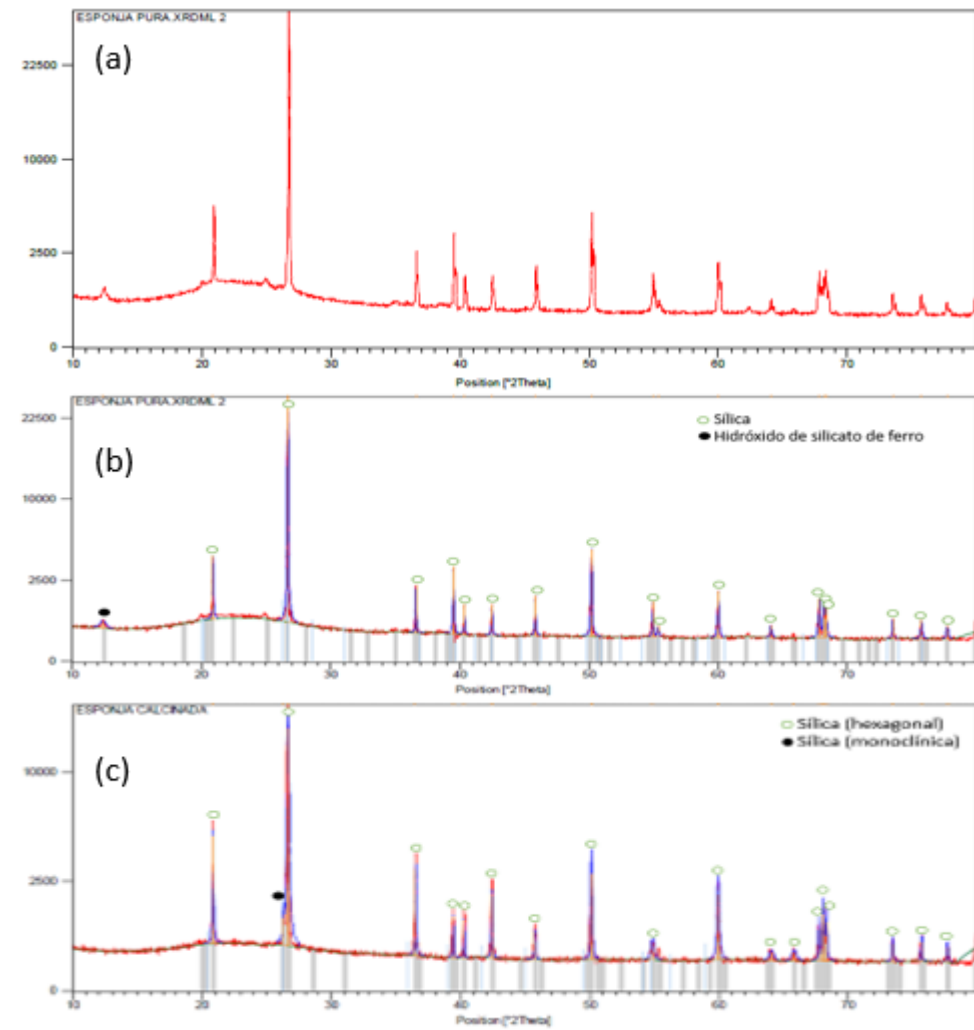


FIG. 4.3 Difratoograma da esponja de água doce (a) e (b) em seu estado puro; (c) calcinada a 550°C.

4.3.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A FIG. 4.4 corresponde aos espectros de FTIR mostrando as posições das bandas das amostras de hidroxiapatita tratadas termicamente a 1100°C por uma hora.

A amostra de HA sinterizada apresentou o grupamento hidroxila (OH^-), em, aproximadamente 3570 cm^{-1} , associada ao modo de vibração ν_1 de estiramento simétrico, sendo a banda vibracional característica da hidroxiapatita. As bandas

intensas que aparecem nas amostras, em torno de 1090 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} , são características do modo de estiramento assimétrico dos fosfatos $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$ e a banda próxima de 960 cm^{-1} é devida ao estiramento simétrico dos fosfatos $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$. As bandas em 598 e 561 cm^{-1} são relativas aos modos de deformação assimétrica dos fosfatos $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$ (SLÓŠARCZYK *et al.*, 2005; AZEVEDO, 2015).

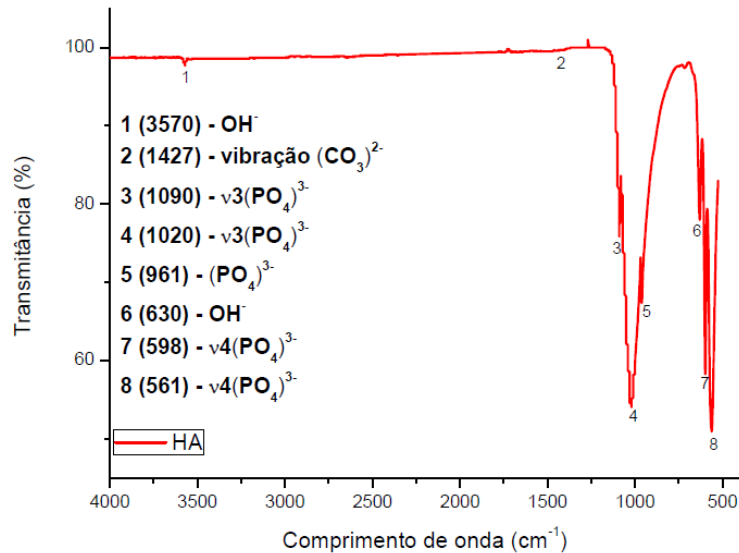


FIG. 4.4 Espectro de FTIR da amostra de hidroxiapatita sinterizada a 1100°C .

As FIG. 4.5 e FIG. 4.6 são correspondentes aos espectros de FTIR da esponja de água doce pura e calcinada a 550°C , respectivamente. As bandas 3670 e 1630 cm^{-1} são relativas ao alongamento Al-OH e a ligação dupla C=O, ambas desaparecem quando realizado tratamento térmico. As bandas 1060 , 780 e 790 cm^{-1} correspondem a ligação Si-O observadas antes e após o tratamento térmico, enquanto as bandas 1030 e 915 cm^{-1} não foram visualizadas a partir da calcinação (MORALES,2003; RIBEIRO, 2009; RIVERA, 2002).

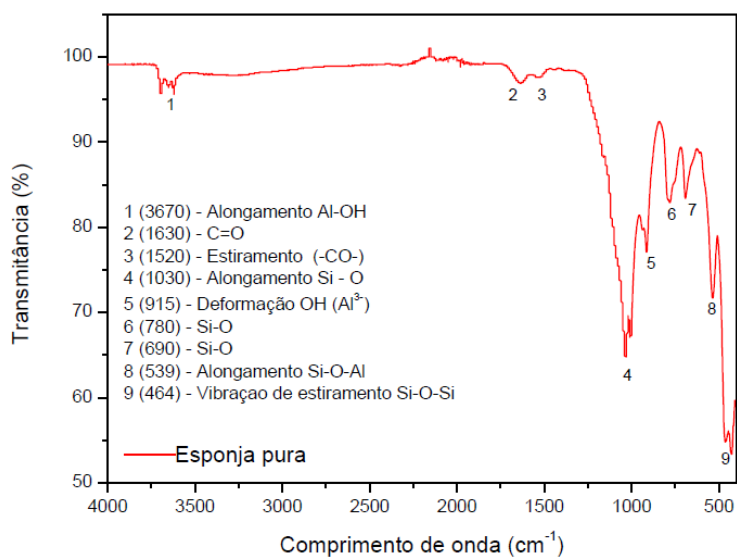


FIG. 4.5 Espectro de FTIR da esponja de água doce em seu estado puro.

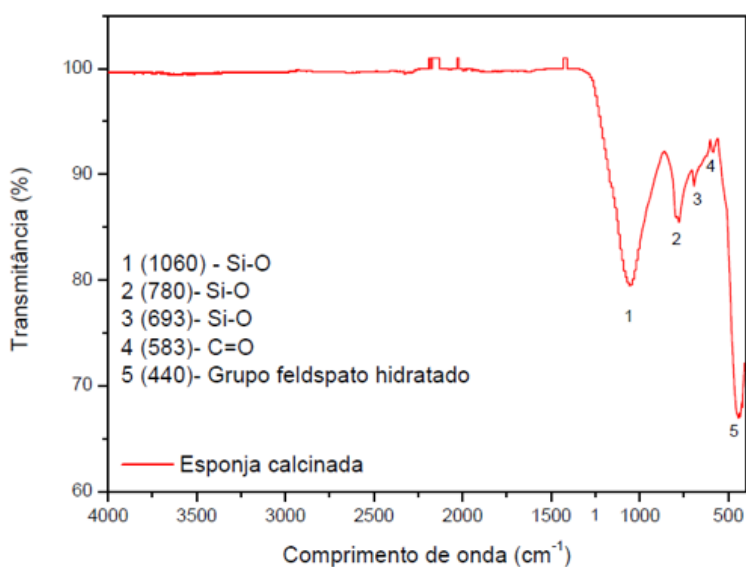


FIG. 4.6 Espectro de FTIR da esponja de água doce calcinada a 550°C.

4.3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A morfologia das pastilhas de hidroxiapatita e da esponja de água doce foram analisadas em MEV. A FIG. 4.7 apresenta a morfologia da hidroxiapatita com um

aumento de 10.000x. Foram observados grãos esféricos e aglomerados na superfície da amostra, corroborando o já esperado pela literatura (SILVA, 2010).

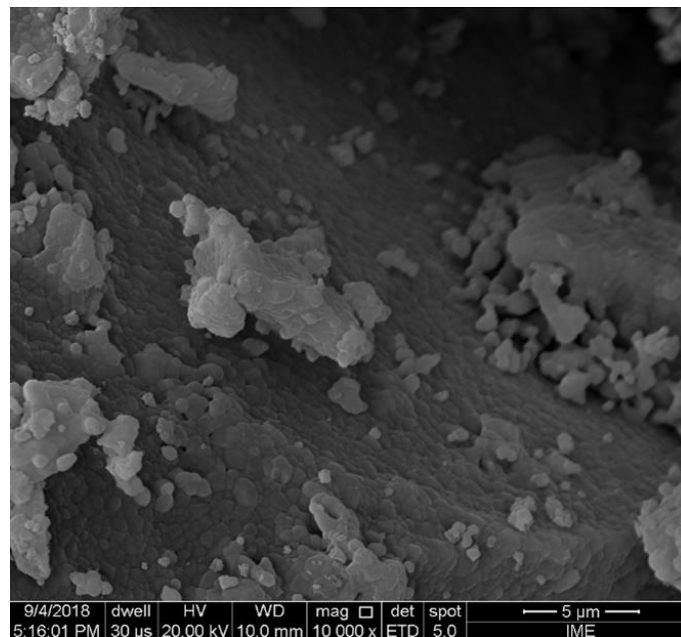


FIG. 4.7 Morfologia da hidroxiapatita com aumento de 10.000x.

A morfologia da esponja de água doce apresentou-se de formas diferentes de acordo com a região analisada. As estruturas variam da parte externa para a interna. Uma visão geral de como ela se apresenta na parte externa está exposta na FIG. 4.8. Com um aumento de 100x, foi possível observar a presença de espículas e de uma região de aglomerados.

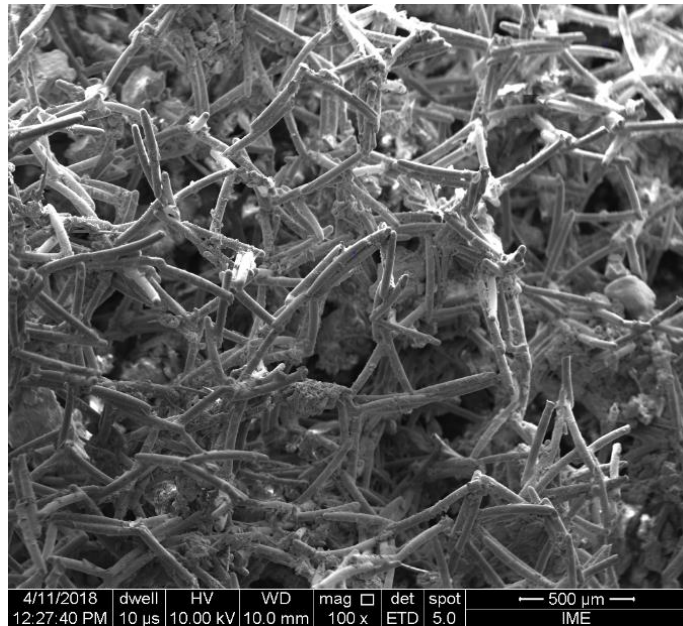


FIG. 4.8 Morfologia da parte externa da esponja de água doce, espécie *Metania reticulata* com um aumento de 100x.

A FIG. 4.9 apresenta a ampliação da parte externa da esponja de água doce, com um aumento de 3000x. Nela observamos a presença de uma estrutura tubular porosa além das duas estruturas já citadas anteriormente, que são as espículas e uma região de aglomerados.

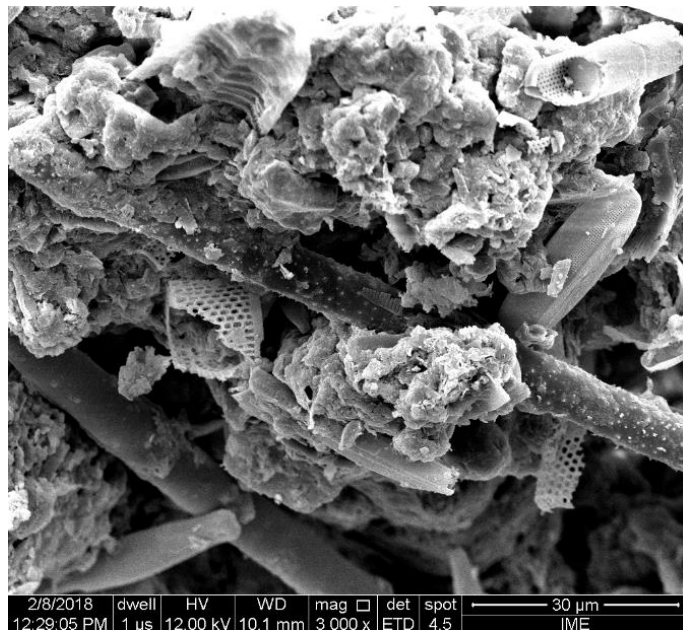


FIG. 4.9 Morfologia da parte externa da esponja de água doce, espécie *Metania reticulata* com aumento de 3.000x.

A FIG. 4.10 representa a morfologia da parte interna da esponja de água doce. Além das espículas e dos aglomerados, que são observados ao longo de toda a estrutura, apresentam regiões composta por uma gêmula, sendo essa o seu meio de reprodução, de acordo com a literatura (VOLKMER-RIBEIRO e PAULS, 2000).

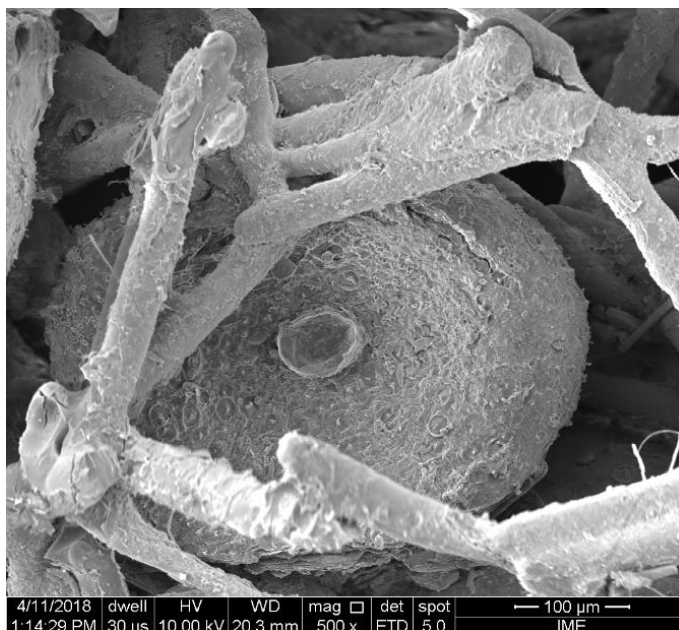


FIG. 4.10 Morfologia da parte interna da esponja de água doce, espécie *Metania reticulata* com aumento de 500x.

4.3.4 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

A FIG. 4.11 representa a morfologia (a) e o EDS (b) da amostra de hidroxiapatita verde, antes do tratamento térmico, identificando a presença de cálcio (Ca), fósforo (P) e oxigênio (O) já esperados presentes na hidroxiapatita, além da presença de ouro (Au) devido ao recobrimento.

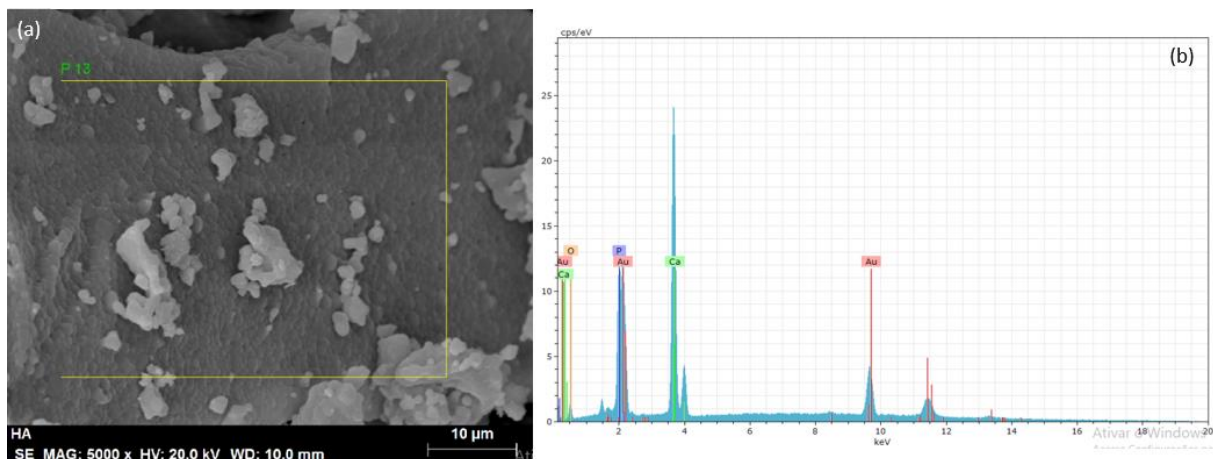


FIG. 4.11 Micrografia eletrônica de varredura do pó de hidroxiapatita verde com aumento de 5000x (a) e (b) EDS.

Nas amostras de esponja pura são encontradas diversas morfologias que as caracterizam de acordo com o filo pertencente. Na FIG. 4.12(a) temos uma imagem com aumento de 50X. O EDS, na FIG. 4.12(b), realizado nessa área mostrou a presença de silício (Si), ferro (Fe), e bromo (Br), onde a platina (Pt) presente é devido ao recobrimento.

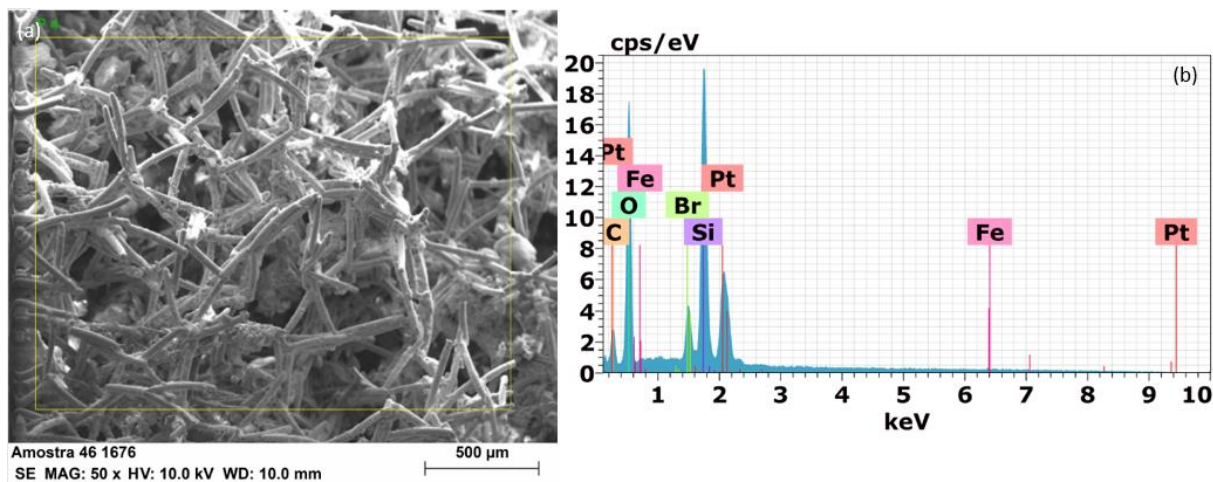


FIG. 4.12 Micrografia eletrônica de varredura da esponja pura com aumento de 50x (a) e (b) EDS.

A FIG. 4.13(b) representa o EDS da região espicular, comprovando que as espículas apresentam basicamente silício. Para o recobrimento dessa amostra foi utilizada a platina (Pt).

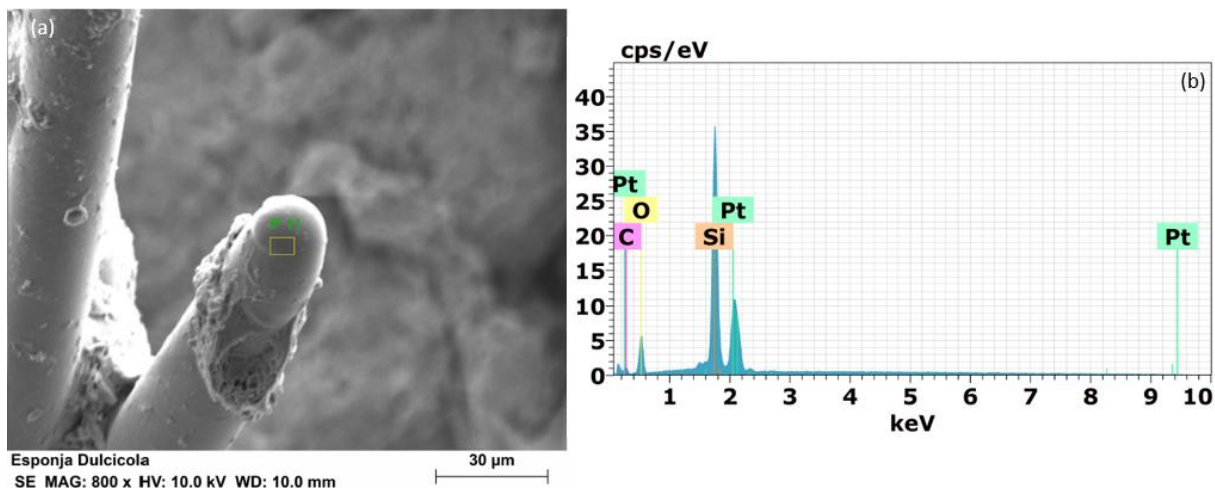


FIG. 4.13 Micrografia eletrônica de varredura da esponja pura com aumento de 800x (a) e (b) EDS.

A FIG. 4.14 representa a parte interna da esponja de água doce. Ela é composta pela gêmula e pelas espículas. O EDS da gêmula, além do recobrimento de platina (Pt), apresentou silício (Si), ferro (Fe) e bromo (Br). O bromo é, provavelmente, impureza pois, pela análise de FTIR, as bandas correspondentes a ligações de bromo com os demais elementos não foram encontradas.

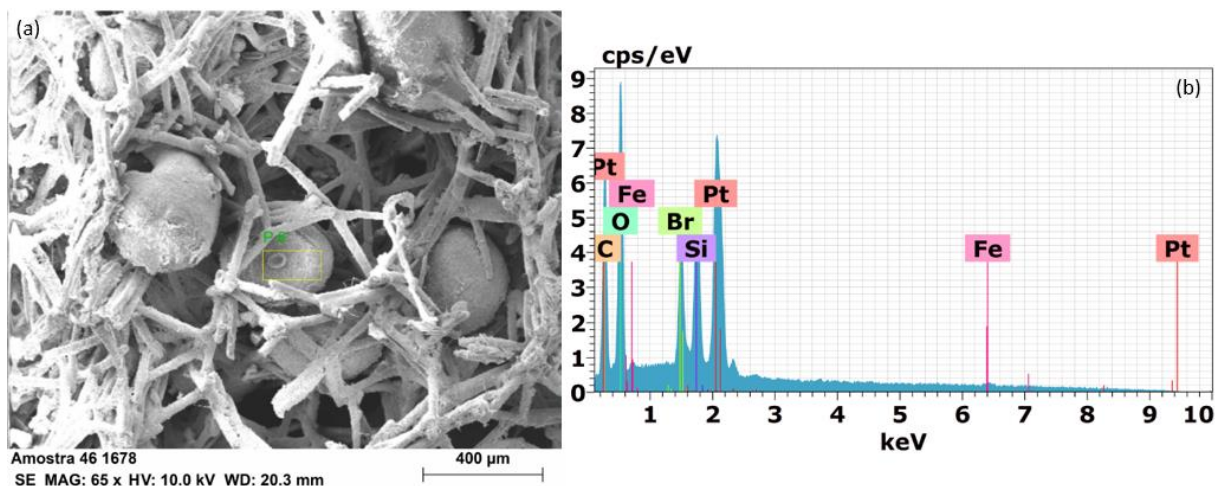


FIG. 4.14 Micrografia eletrônica de varredura da esponja pura com aumento de 65x (a) e (b) EDS.

A parte externa da esponja, além das espículas silicáticas, apresenta uma estrutura que se equipara a uma grade em forma de tubo. Essa estrutura tubular com poros está representada no MEV da FIG. 4.15(a) e o EDS da região marcada

na FIG. 4.15(b). Pelo EDS tem-se a presença de silício, alumínio (Al) e ouro (Au) proveniente do recobrimento. A presença do alumínio é corroborada pelo FTIR que comprovou com a presença de várias bandas referentes a agrupamento com esse elemento.

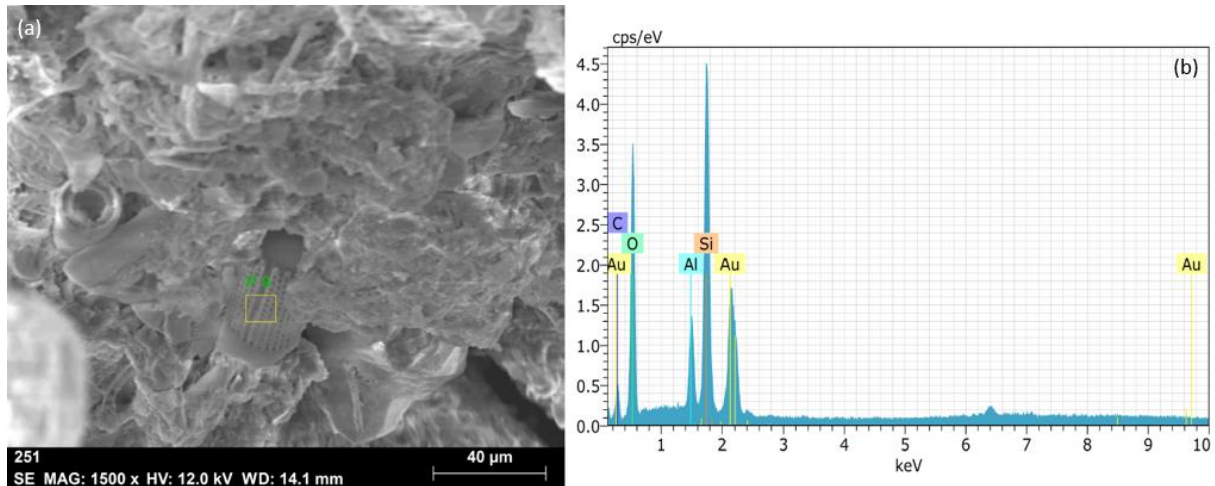


FIG. 4.15 Micrografia eletrônica de varredura da esponja pura com aumento de 1500x (a) e (b) EDS.

A parte externa da esponja apresenta ainda uma região aglomerada disposta na FIG. 4.16(a). O EDS apresentado na FIG. 4.16(b) acusa a presença de silício (Si), alumínio (Al) e ouro (Au), proveniente do recobrimento.

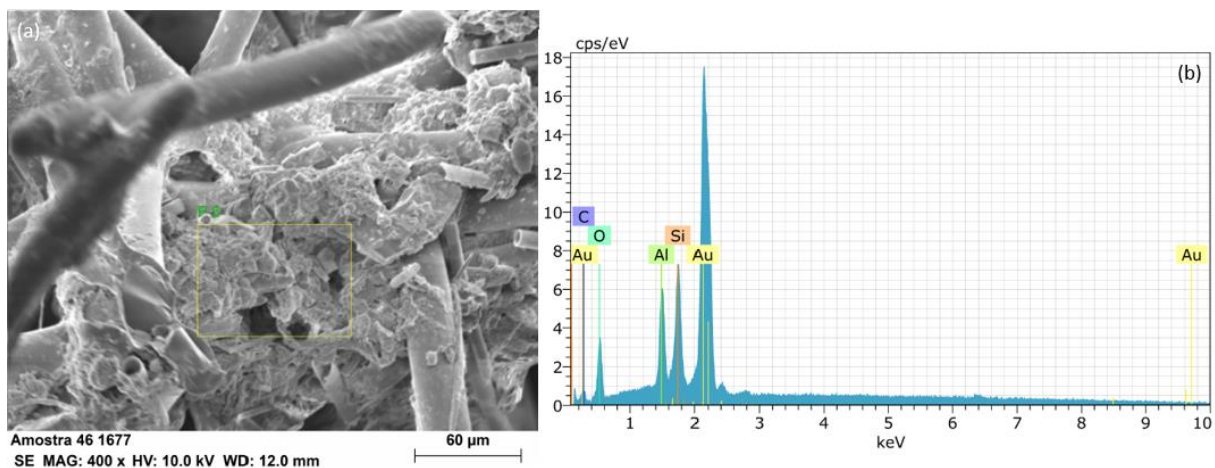


FIG. 4.16 Micrografia eletrônica de varredura da esponja pura com aumento de 400x (a) e (b) EDS.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DAS PASTILHAS DO COMPÓSITO

4.4.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Os difratogramas a seguir apresentam os padrões de difração dos compostos contendo hidroxiapatita e esponja de água doce. A FIG. 4.17 corresponde a amostra 2%Si-HA que apresentou um padrão difratométrico compatível com a ficha JCPDS 09-0432, correspondente a hidroxiapatita, mas não apresentou nenhuma ficha correspondente a sílica, esses resultados qualitativos foram obtidos com o auxílio do HighScore. Entretanto, ao realizar o refinamento pelo método de Rietveld, que analisou quantitativamente a porcentagem de cada fase presente, obtivemos que 99,83% refere-se a hidroxiapatita e 0,17% ao quartzo.

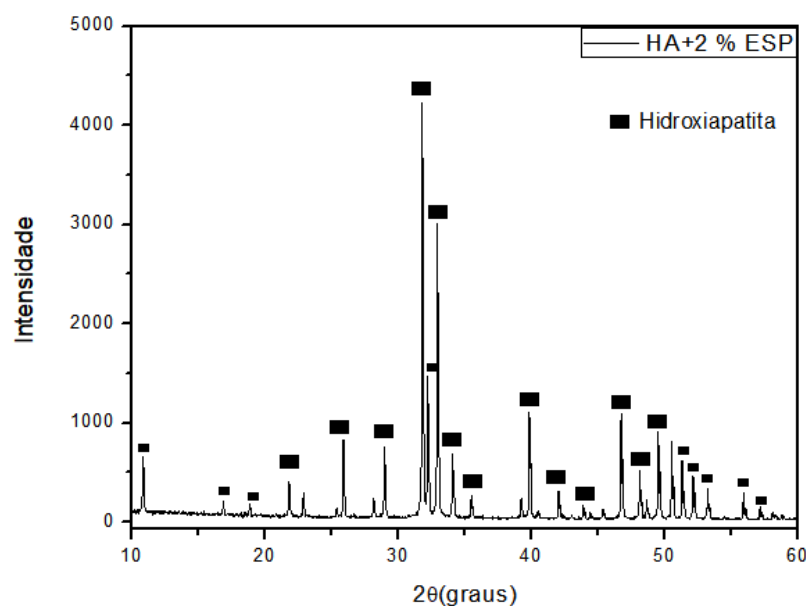


FIG. 4.17 Difratograma do composto 2%Si-HA, sinterizada a 1100°C.

A FIG. 4.18 corresponde ao difratograma do composto 4% Si-HA. A baixa porcentagem de sílica adicionada ao composto é representada pela pequena quantidade de fases e baixa intensidade dos picos contendo o silício que se apresentou em forma de quartzo, de acordo com a ficha JCPDS 46-1045. Os demais

picos correspondem à hidroxiapatita (JCPDS 09-0432). Pelo refinamento de Rietveld obtivemos que a amostra possui 99,43% de hidroxiapatita e 0,57% de quartzo.

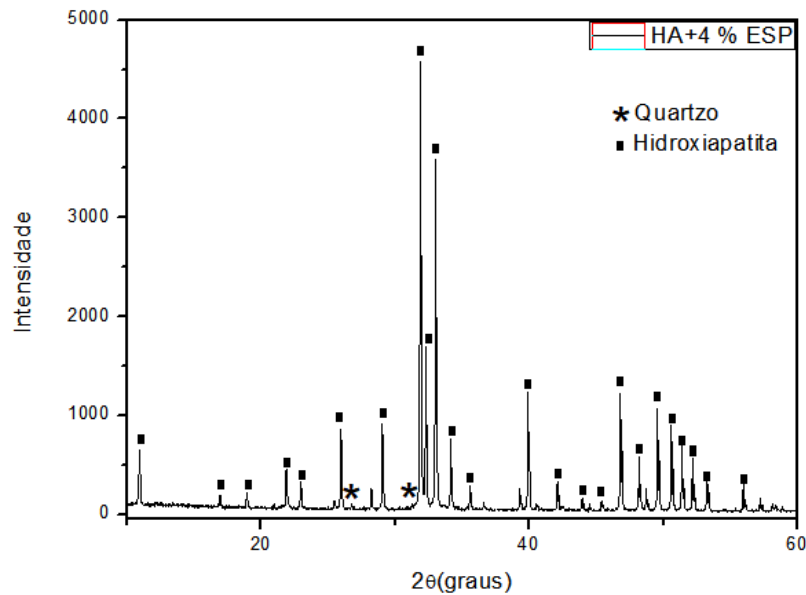


FIG. 4.18 Difratograma do composto 4%Si-HA, sinterizada a 1100°C.

A FIG. 4.19 representa o difratograma da pastilha do composto 8% Si-HA. O DRX apresenta além das fases correspondentes à hidroxiapatita (JCPDS 09-0432) e ao quartzo (JCPDS 46-1045) a presença de uma nova fase característica do β -TCP (JCPDS 09-0169). De acordo com o refinamento pelo método de Rietveld, para analisar quantitativamente, a amostra apresentou 93,90% de hidroxiapatita, 3,40% de quartzo e 2,70% equivalente a fase β -TCP. A presença do silício na estrutura do composto favorece a degradação da hidroxiapatita em β -TCP, além disso, produz perda de resistência mecânica (Morejón-Alonso, 2011). A degradação da hidroxiapatita em β -TCP é mais um indício que houve substituição da sílica, proveniente da esponja de água doce, na estrutura da hidroxiapatita. Esse efeito observado da degradação da HA com a incorporação da sílica, foi observado por Botelho (2002) e por Thian (2011) onde os íons de $(\text{SiO}_4)^{4-}$ substituíram os íons $(\text{PO}_4)^{3-}$.

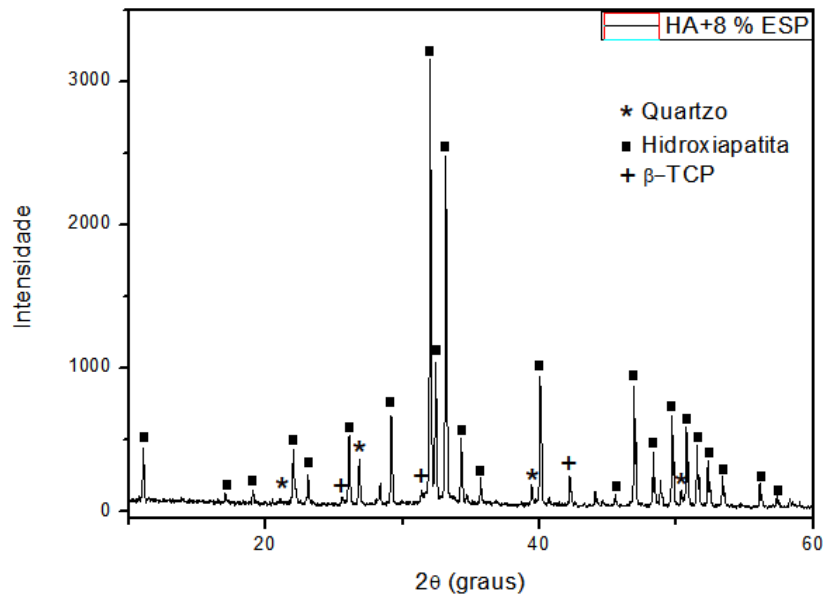


FIG. 4.19 Difratoograma do compósito 8%Si-HA, sinterizada a 1100°C.

O difratograma da FIG. 4.20 apresenta o compósito 15% Si-HA. Mais uma vez observa-se a presença das fases esperadas como a hidroxiapatita (JCPDS 09-0432) e o quartzo (JCPDS 46-1045) e com o aumento do teor de sílica adicionados, a pastilha apresentou decomposição da hidroxiapatita em whitlockita. Pelo refinamento utilizando o método de Rietveld obteve-se a porcentagem da fase whitlockita equivalente a 30,92%, a hidroxiapatita com 64,03% e o quartzo com 5,05%.

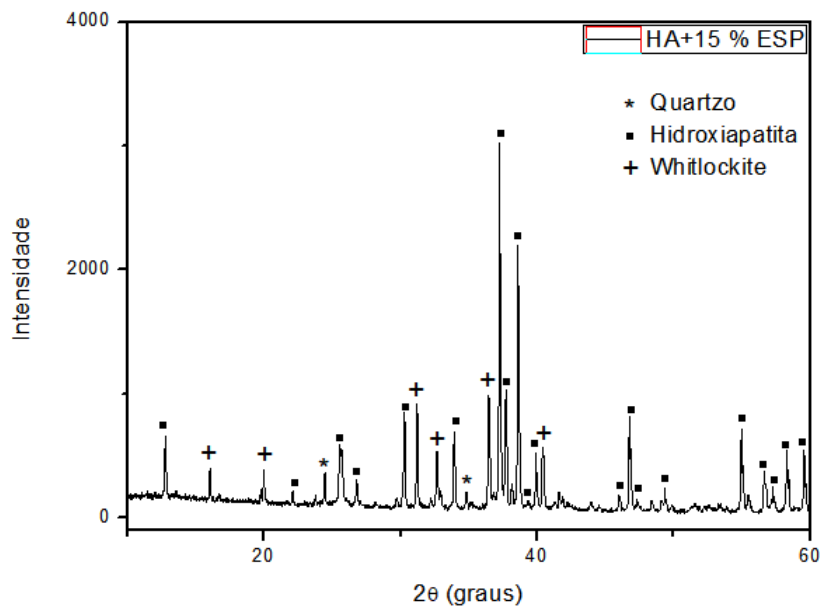


FIG. 4.20 Difratoograma do compósito 15%Si-HA, sinterizada a 1100°C.

A FIG. 4.21 corresponde a amostra do compósito 25% Si-HA. O difratograma apresentou picos correspondente a sílica em forma de quartzo (JCPDS 46-1045), já esperado pela adição da esponja. A maioria dos picos correspondentes à hidroxiapatita (JCPDS 09-0432) e a presença da whitlockita (JCPDS 09-0169), em que a temperaturas de sinterização acima de 900°C podem se decompor. A análise quantitativa dessas fases foi realizada, obtendo para essa amostra a maior porcentagem de quartzo em comparação às demais, o equivalente a 17,72%. A hidroxiapatita obteve o equivalente a 66,06% e a fase whitlockita o equivalente a 16,22%.

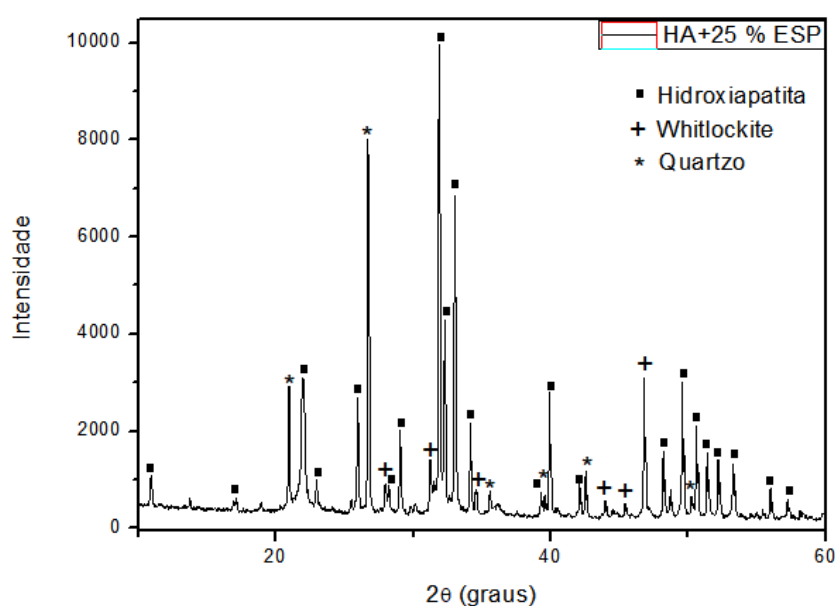


FIG. 4.21 Difratoograma do compósito 25%Si-HA, sinterizada a 1100°C.

TAB. 4.1 Parâmetros de rede das amostras de HA e HA parcialmente substituída por silício proveniente da esponja de água doce.

	HA	2%Si-HA	4%Si-HA	8%Si-HA	15%Si-HA	25%Si-HA
a	9,42596Å	9,42266Å	9,42140Å	9.42409Å	9.42633Å	9.42035Å
b	18,84325Å	18,83892Å	18,84250Å	18.84854Å	18.83105Å	18.84147Å
c	6,88469Å	6,88462Å	6,88743Å	6.89126Å	6.88781Å	6.88643Å
GOF	1,498	2,378	2,190	1,732	1,829	4,374
ρ	3,15g/cm ³	3,15g/cm ³	3,15g/cm ³	3,15g/cm ³	3,15g/cm ³	3,15g/cm ³
Tam	326,35nm	264,81nm	330,98nm	216,15nm	232,95nm	191,78nm

Os resultados demonstraram a influência do tamanho do raio iônico dos íons substituintes sobre os parâmetros de rede. Verificou-se uma expansão nos parâmetros de rede quando o grupo $(\text{PO}_4)^{3-}$ foi parcialmente substituído pelo grupo $(\text{SiO}_4)^{4-}$. Este fato pode ser explicado pelo maior raio iônico do Si^{4+} (2,71Å) em relação ao raio iônico do P^{3-} (2,12Å). Pelo refinamento de Rietveld verificou-se a diminuição do tamanho de cristalito nas amostras com a adição da esponja de água doce. Entretanto não foi observada mudança de densidade na estrutura da HA e da HA parcialmente substituída.

A TAB. 2.1 apresenta um resumo da quantificação de fases realizada utilizando o programa Topas. A partir dele é possível observar que o aumento da sílica, proveniente da esponja de água doce, à hidroxiapatita tende a provocar a degradação da HA em β -TCP ou em Whitlockita. A hidroxiapatita é a fase mais solúvel em meio biológico. A adição de íons à sua estrutura provoca a diminuição da sua estabilidade, favorecendo a decomposição em outras fases mais solúveis. Essas fases de β -TCP e Whitlockita apresentam fácil dissolução em meio biológico sua capacidade de dissolução e adsorção nos tecidos biológicos chega a ser 12 vezes maior que a HA. Elas estimulam a proliferação das células osteogênicas e contribuem, dessa forma, com os processos de osteoindução, osseointegração e formação de novo tecido ósseo (Sinhorette, 2013).

TAB. 4.2 Resultados quantitativos das fases.

Pastilhas	Quantificação de fases		
	HA	β -TCP/Whitlockita	Quartzo
2%Si-HA	99,83%	0%	0,17%
4%Si-HA	99,43%	0%	0,57%
8%Si-HA	93,90%	2,70%	3,40%
15%Si-HA	64,03%	30,92%	5,05%
25%Si-HA	66,06%	16,22%	17,72%

4.4.2 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As análises por espectroscopia do infravermelho por transformada de Fourier, foram realizadas com o objetivo de complementar as informações obtidas nas análises de difração de raios X. A estrutura molecular das pastilhas dos compósitos apresentou modos vibracionais resultantes das ligações interatômicas fortes, dos grupos funcionais específicos presentes nos materiais, representado pelo espectro de FTIR.

Mais especificamente, o objetivo dessas análises foi obter informações quanto às alterações dos grupos funcionais frequentemente encontrados na hidroxiapatita, após a incorporação da sílica proveniente da esponja de água doce, à sua estrutura cristalina. Os perfis dos espectros de HA e dos compósitos produzidos estão em concordância com os espectros encontrados na literatura (PRADO DA SILVA, 2008; ALVES DA SILVA, 2011, MORALES, 2003; RIBEIRO, 2009; RIVERA, 2002; POINERN, 2012; CHANDRASEKARAN, 2013)

As análises pelo FTIR confirmam os resultados de DRX nas amostras de HA incorporadas com sílica. Nesse estudo foi verificada a presença de grupos substitucionais, como os grupos $(\text{CO}_3)^{2-}$ nas estruturas das amostras.

O espectro de absorção no infravermelho da primeira pastilha do compósito contendo hidroxiapatita e 2% de sílica proveniente da esponja de água doce está apresentado na FIG. 4.22. A pequena banda em 3570 cm^{-1} e a banda característica em 630 cm^{-1} correspondem à vibração dos íons OH^- livres, que não participam de ligações secundárias. O comprimento de onda 1427 cm^{-1} corresponde as impurezas $(\text{CO}_3)^{2-}$, que supostamente, foi adquirida da atmosfera durante o processo de precipitação em meio aquoso (REHMAN et al., 2005). A presença da vibração $(\text{CO}_3)^{2-}$ pode causar redução no tamanho dos cristais e aumentar a solubilidade do material. As bandas 1090 cm^{-1} e 1020 cm^{-1} são atribuídas ao modo vibracional simétrico dos grupos $\nu_3(\text{PO}_4)^{3-}$. As bandas em 598 cm^{-1} e 562 cm^{-1} referem-se à deformação anti-simétrica do $\nu_4(\text{PO}_4)^{3-}$. A banda em 961 cm^{-1} refere-se ao modo vibracional simétrico do grupo $\nu_1(\text{PO}_4)^{3-}$. A ausência de ligações contendo silício já era esperada pela baixa quantidade de esponja de água doce adicionada. As

bandas vibracionais encontradas se assemelham as relatadas por Poinern (2012) e Chandrasekaran (2013), que caracterizam a hidroxiapatita.

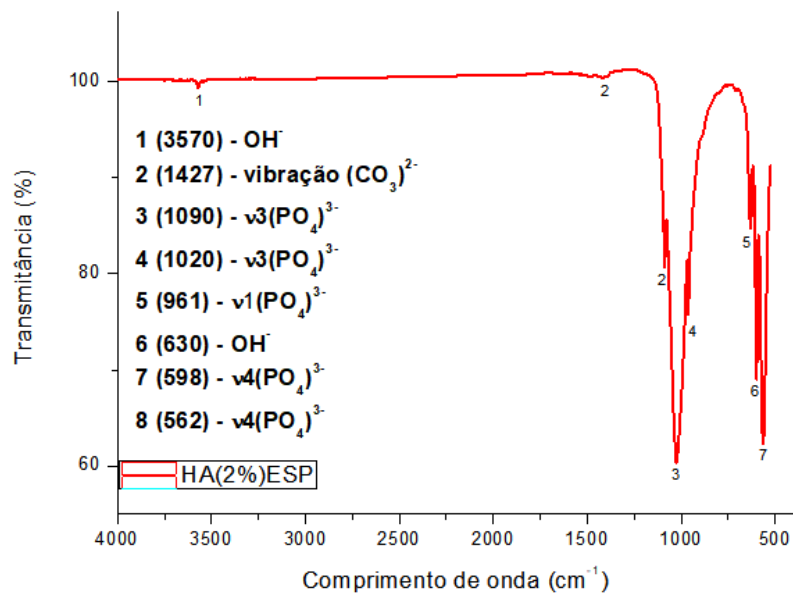


FIG. 4.22 Espectro de FTIR do compósito 2%Si-HA, sinterizado a 1100°C.

A FIG. 4.23 corresponde ao espectro da pastilha do compósito de hidroxiapatita e 4% esponja de água doce, produzidos pela segunda rota. A baixa quantidade de sílica proveniente da esponja de água doce não foi suficiente para apresentar bandas com silício no FTIR. Pela análise quantitativa realizada pelo método de Rietveld com os resultados de DRX obtidos, apresenta-se que a porcentagem de sílica é quase que insignificante, equivalendo a 0,17%. Os demais comprimentos de onda são correspondentes a hidroxiapatita, corroborando os picos indexados presentes nos difratogramas de raios X e a presença de grupos funcionais fosfatos, hidroxilas e carbonato substituído na estrutura da HA.

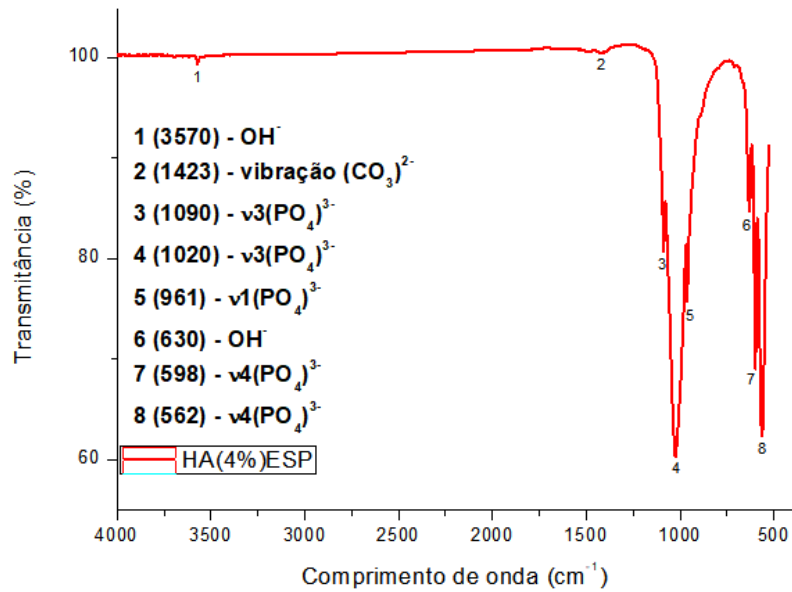


FIG. 4.23 Espectro de FTIR do compósito 4%Si-HA, sinterizado a 1100°C.

O espectrograma da FIG. 4.24 refere-se a amostra contendo 8% da esponja de água doce. Ele compreende basicamente a presença de todas as bandas citadas nos difratogramas anteriores, contendo as porcentagens de 2 e 4% da esponja de água doce adicionada à HA. Além dos comprimentos de onda já esperados como relatados anteriormente, tem-se a presença de duas bandas uma em 1509 cm⁻¹ e outra em 1423 cm⁻¹ correspondente aos grupamentos das impurezas (CO₃)²⁻ do tipo A no primeiro caso, ou seja, substituição do (CO₃)²⁻ no grupo OH⁻ e do tipo B no segundo caso, substituição do (CO₃)²⁻ no grupo (PO₄)³⁻. A porcentagem de sílica adicionada na amostra obteve quantidade suficiente para apresentar uma banda em 672 cm⁻¹ correspondente a ligações de silício e oxigênio. A presença dessas ligações em meio biológico auxilia no processo de osteogênese do tecido ósseo. Também observa-se que as bandas referentes ao grupamento hidroxila no compósito vem diminuindo de acordo com o aumento da porcentagem de esponja adicionada, isso corrobora a presença da fase β-TCP observada nos resultados de DRX a partir da amostra de 8%.

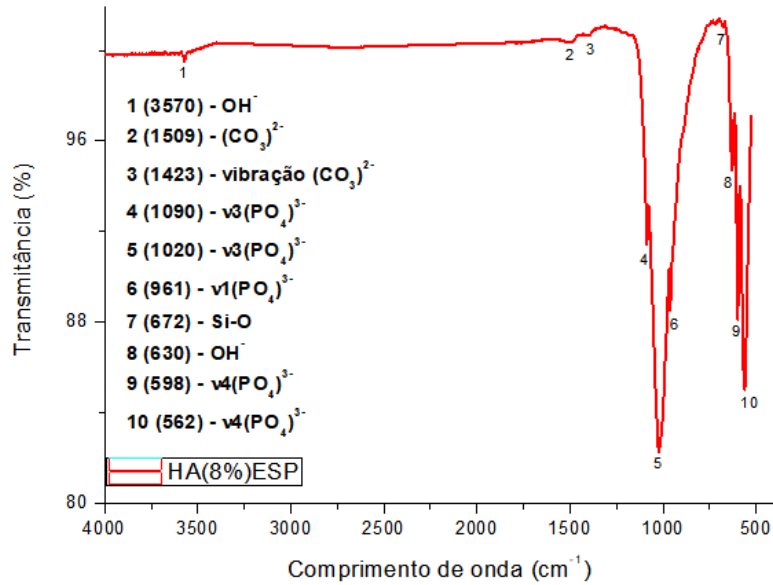


FIG. 4.24 Espectro de FTIR do compósito 8%Si-HA, sinterizado a 1100°C.

O espectro de infravermelho da amostra contendo hidroxiapatita e 15% de esponja de água doce calcinada, como demonstrado na FIG. 4.25. Esse espectro apresenta o aparecimento das bandas 780 cm⁻¹ e 690 cm⁻¹ contendo Si-O, já esperado pela adição da esponja. A inclusão de íons carbonatos pode acontecer pela substituição dos grupos OH⁻ e (PO₄)³⁻ durante o processo de precipitação da hidroxiapatita, resultando em carbohidroxiapatita ou HA carbonatada. Além disso, o aumento das bandas contendo silício contribuíram para apresentar uma diminuição expressiva de intensidade na região entre 1600-1300cm⁻¹ correspondente as bandas dos íons de carbonatos do tipo B, promovendo indícios que substituições aconteceram com o aumento da porcentagem de esponja de água doce. Dessa forma corroborando os difratogramas que apresentam o aumento da fase β-TCP com o aumento da sílica adicionada.

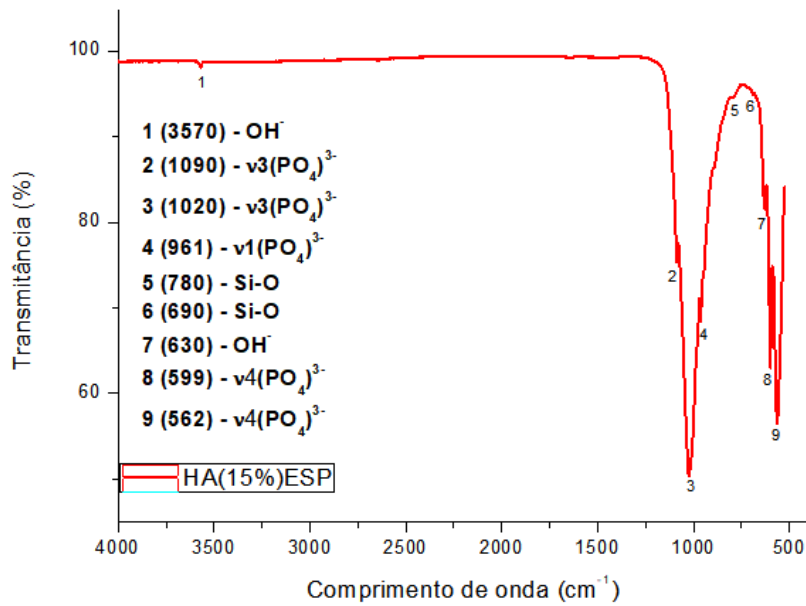


FIG. 4.25 Espectro de FTIR do compósito 15%Si-HA, sinterizado a 1100°C.

A FIG. 4.26 corresponde ao espectro do compósito de hidroxiapatita e 25% de esponja de água doce calcinada. A adição de uma quantidade de sílica considerável promoveu o aparecimento de duas bandas, uma em 690 cm^{-1} , correspondente a ligação Si-O, e uma em 780 cm^{-1} , correspondente a vibração dessa ligação Si-O. Os outros comprimentos de onda estão de acordo com o esperado para amostras contendo hidroxiapatita, como as vibrações do ν_3 e ν_4 de fosfatos e a presença de hidroxila. Mais uma vez observa-se a diminuição expressiva das bandas correspondente aos carbonatos com o aumento da porcentagem de sílica adicionada, provocando a decomposição da hidroxiapatita em β -TCP.

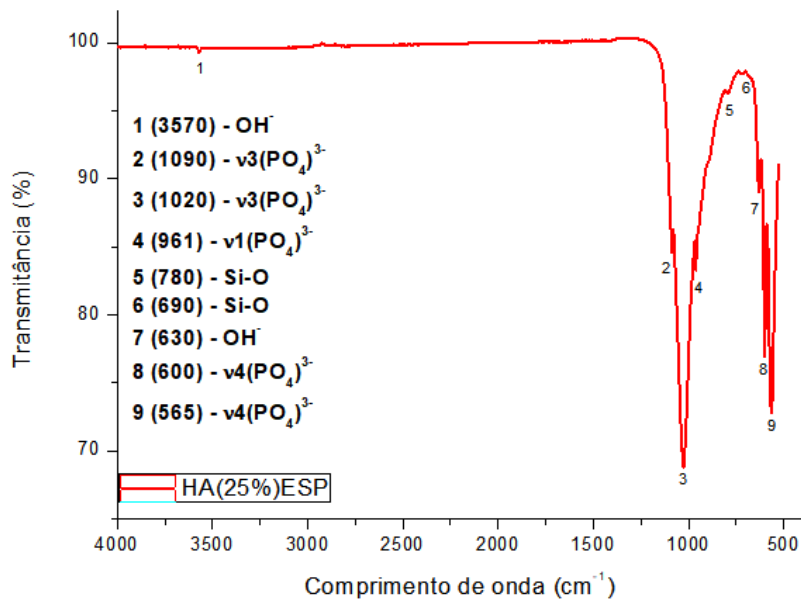
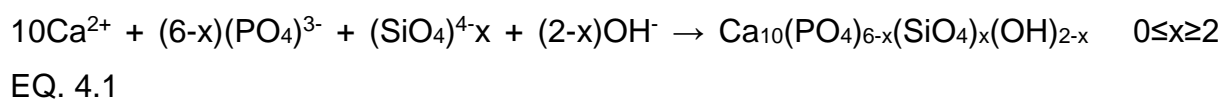


FIG. 4.26 Espectro de FTIR do compósito 25%Si-HA, sinterizado a 1100°C.

A FIG. 4.27 representa a sobreposição dos espectros de FTIR da hidroxiapatita sinterizada e das amostras dos compósitos contendo hidroxiapatita e a esponja de água doce. Nas amostras com adição de 2%, 4%, 8%, 15% e 25% da esponja, observa-se que as intensidades das bandas de hidroxila diminuem em função do aumento da fração de esponja adicionada. Essa diminuição concorda com a redução da fração de HA com o aumento da fração de esponja, observada por DRX. Com o aumento do teor da esponja calcinada, a fração da fase β -TCP aumenta, o que ocorre devido à presença do silício na estrutura, induzindo a degradação da HA em β -TCP. A fase β -TCP não possui hidroxila em sua fórmula. É observada uma diminuição da intensidade das bandas da hidroxila nas amostras com maior porcentagem de esponja, sendo esse um resultado já esperado, podendo ser explicado pelo modelo (EQ. 4.1) de substituição proposto por Gibson et al, onde a substituição do grupo fosfato pelo o grupo silicato leva à perda de alguns OH^- , a fim de manter o balanceamento das cargas.



De acordo com esse modelo, o número teórico de silicatos que podem ser introduzidos na rede cristalina é igual a 2. É possível perceber um leve alargamento na banda do fosfato, este resultado é atribuído a algumas substituições de grupos aniônicos $(\text{SiO}_4)^{4-}$ por grupos fosfatos. A substituição do grupo fosfato pelo grupo silicato pode ser comprovada pelo balanço de cargas gerado para compensar a maior eletronegatividade do grupo silicato, assim como dados encontrados na literatura (Gibson, 1999). Desta forma, com a adição da sílica à HA nota-se uma menor intensidade das bandas características de OH^- e $(\text{PO}_4)^{3-}$ observadas principalmente nas composições de 25%, 8% e 2%. Além disso, bandas adicionais aparecem devido à incorporação do Si na estrutura da hidroxiapatita. Os resultados da hidroxiapatita parcialmente substituída com sílica proveniente da esponja de água doce estão dispostos na TAB. 4.3.

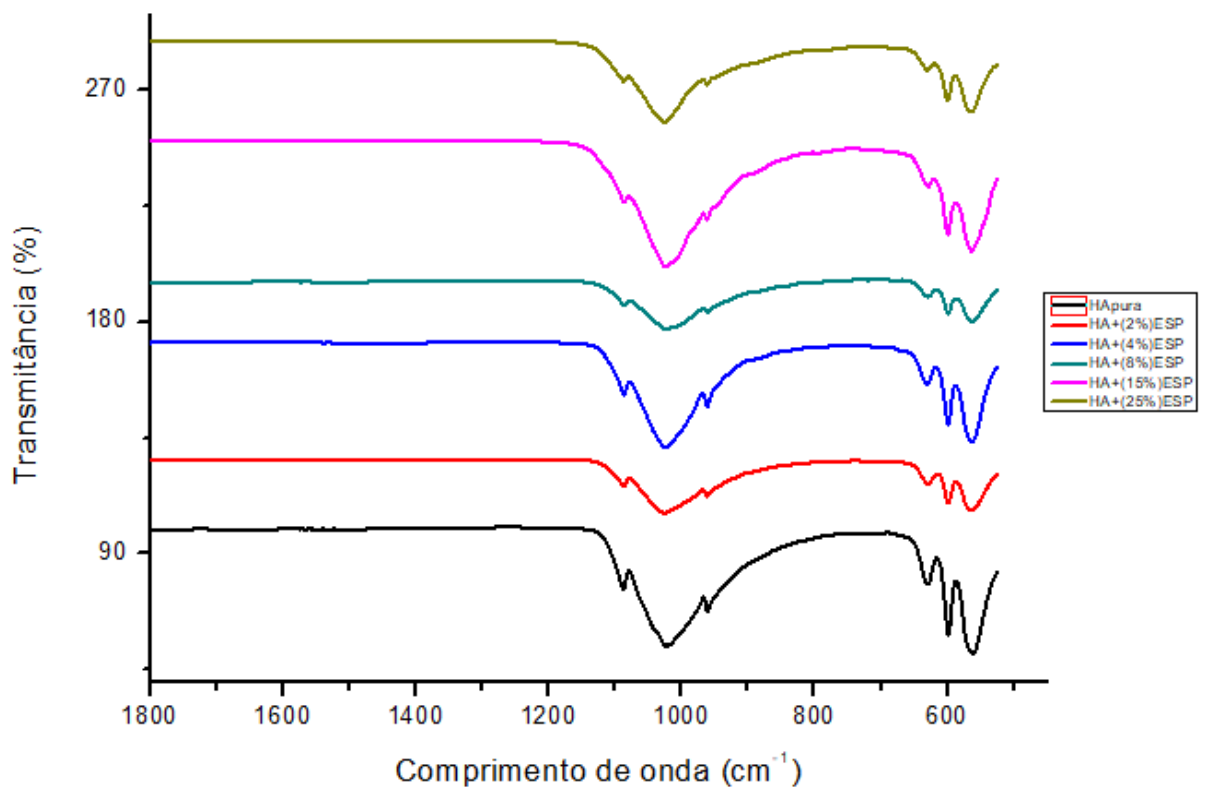


FIG. 4.27 Espectro de FTIR da hidroxiapatita e dos compósitos de hidroxiapatita e sílica, sinterizados a 1100°C.

TAB. 4.3 Resultados das análises por FTIR das pastilhas Si-HA.

Número de ondas (cm⁻¹)	Grupo funcional
3570	vibração dos íons OH ⁻ livres
1509	(CO ₃) ²⁻
1423 – 1427	(CO ₃) ²⁻
1090	ν ₃ (PO ₄) ³⁻
1020	ν ₃ (PO ₄) ³⁻
961	ν ₁ (PO ₄) ³⁻
780	Si-O
690	Si-O
672	Si-O
630	OH ⁻
598 a 600	ν ₄ (PO ₄) ³⁻
562 – 563	ν ₄ (PO ₄) ³⁻

4.4.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A análise morfológica dos compósitos de hidroxiapatita com diferentes porcentagens de sílica, proveniente da esponja de água doce, estão dispostas nas figuras abaixo. Na amostra 2%Si-HA constatou-se uma morfologia formada por finas partículas equi-axiais aglomeradas, variando de tamanho, com partículas inferiores a 100µm. Elas apresentaram uma morfologia pontilhada na interface de cada grão, representados na FIG. 4.28.

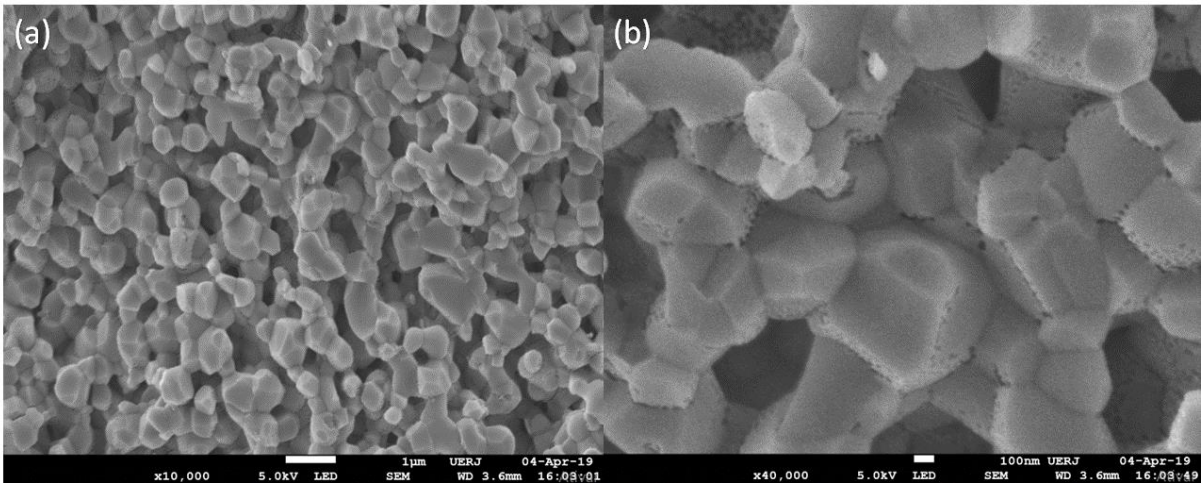


FIG. 4.28 Micrografia eletrônica de varredura da pastilha 2%Si-HA em um aumento de (a) 10.000x e (b) 40.000x.

A FIG. 4.29 corresponde a morfologia da pastilha 4%Si-HA. Observou-se, em comparação com a primeira, que as pastilhas apresentam basicamente a mesma constituição equi-axial aglomerada e a morfologia pontilhada na interface dos grãos aparecem em maior quantidade. As partículas apresentaram tamanhos menores que 500nm.

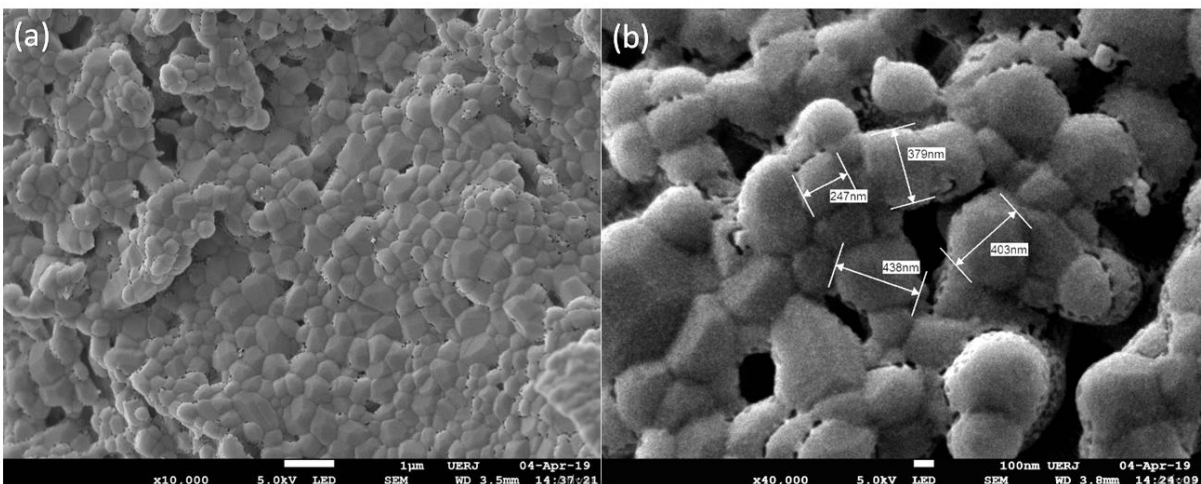


FIG. 4.29 Micrografia eletrônica de varredura da pastilha 4%Si-HA em um aumento de (a) 10.000x e (b) 40.000x.

A amostra do composto de 8%Si-HA está representada na FIG. 4.30. Observa-se que os grãos estão bem mais agrupados em comparação com as duas amostras

anteriores, apresentando um crescimento no tamanho médio dos grãos. A presença da morfologia pontilhada na interface dos grãos vem crescendo com o aumento da quantidade de sílica, proveniente da esponja de água doce, adicionada, observada na FIG. 4.30(b).

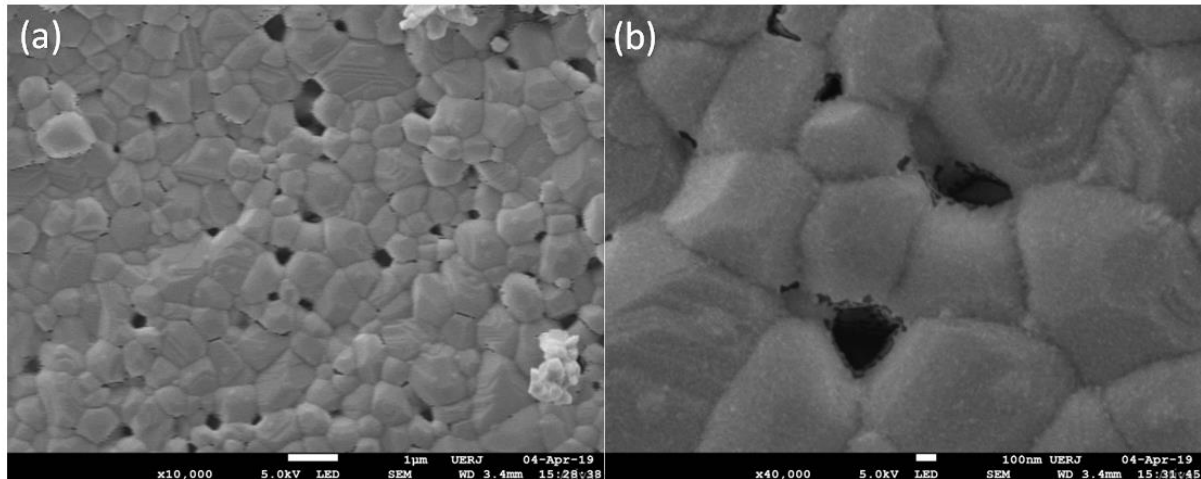


FIG. 4.30 Micrografia eletrônica de varredura da pastilha 8%Si-HA em um aumento de (a) 10.000x e (b) 40.000x.

A FIG. 4.31 corresponde a pastilha 15%Si-HA. Observa-se que sua morfologia apresenta a permanência de partículas equi-axiais aglomeradas, em algumas áreas esses grãos já se uniram a ponto de se tornarem um só. Mesmo assim ainda apresentam grande porosidade e em regiões próximas aos poros tem se tornado cada vez maior a presença dessa nova fase, tendo em vista as amostras anteriores analisadas é perceptível o aumento quantitativo dessa fase. Pode-se afirmar que sua presença corresponde à adição da sílica, proveniente da esponja de água doce, pois, em comparação a demais literaturas as quais relatam a adição de sílica proveniente de outras fontes, não apresenta a mesma morfologia. Outra constatação foi em relação a microestrutura microporosa interconectada com finos grãos do biomaterial granulado observada na FIG. 4.31(b). Essa condição é favorável a vascularização, molhabilidade, proliferação e adesão celular na superfície de grãos e de microporos, o que contribui diretamente com os processos de osseointegração e osseointegração do biomaterial com os tecidos adjacentes. Este tipo de microestrutura microporosa interconectada, formada por finos grãos podem contribuir positivamente dentro dos processos de reparação e reconstituição de tecidos ósseos.

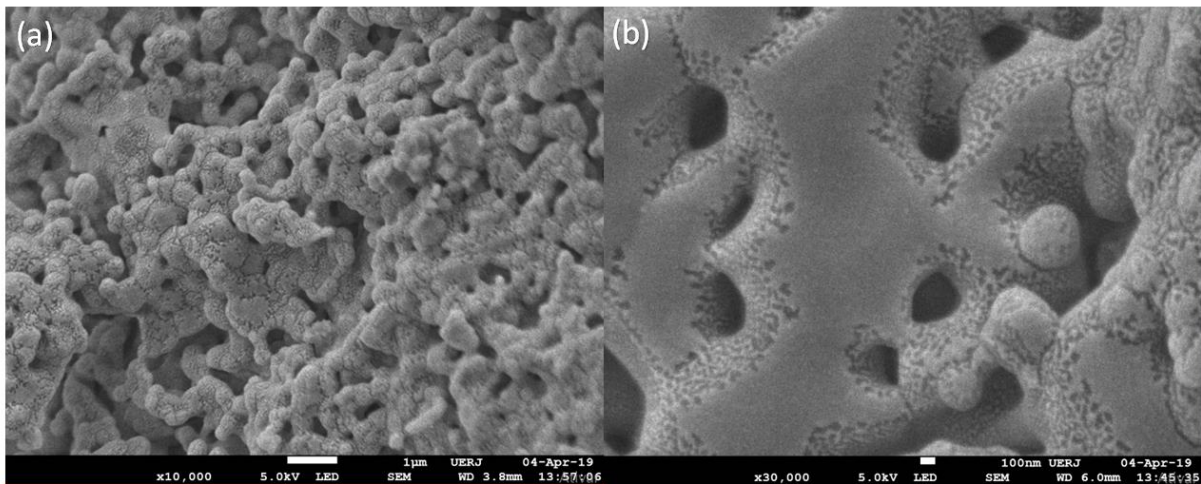


FIG. 4.31 Micrografia eletrônica de varredura da pastilha 15%Si-HA em um aumento de (a) 10.000x e (b) 30.000x.

A FIG. 4.32 corresponde a morfologia da pastilha 25%Si-HA. A FIG. 4.32(a) apresenta estrutura equivalente a observada na FIG. 4.9, onde espículas silicosas surgiram na morfologia da amostra analisada. Acredita-se que a grande quantidade de esponja de água doce adicionada promoveu o aparecimento das espículas na estrutura. A degradação das espículas podem não ter sido eficiente com a temperatura de 1100°C, pois, de acordo com a literatura, a presença da sílica tende a elevar a temperatura de sinterização das amostras. Na FIG. 4.32(b) observa-se a morfologia pontilhada. Antes sua presença era apenas nos contornos dos poros e na interface das partículas, agora verifica-se o aparecimento ao longo de toda a amostra. Com o aumento de 60.000x de acordo com a FIG. 4.32(c) denota-se o tamanho nanométrico dos grãos, onde ainda é possível perceber os seus contornos. Acredita-se que essa morfologia pontilhada são nanoporos que surgiram com a adição da sílica.

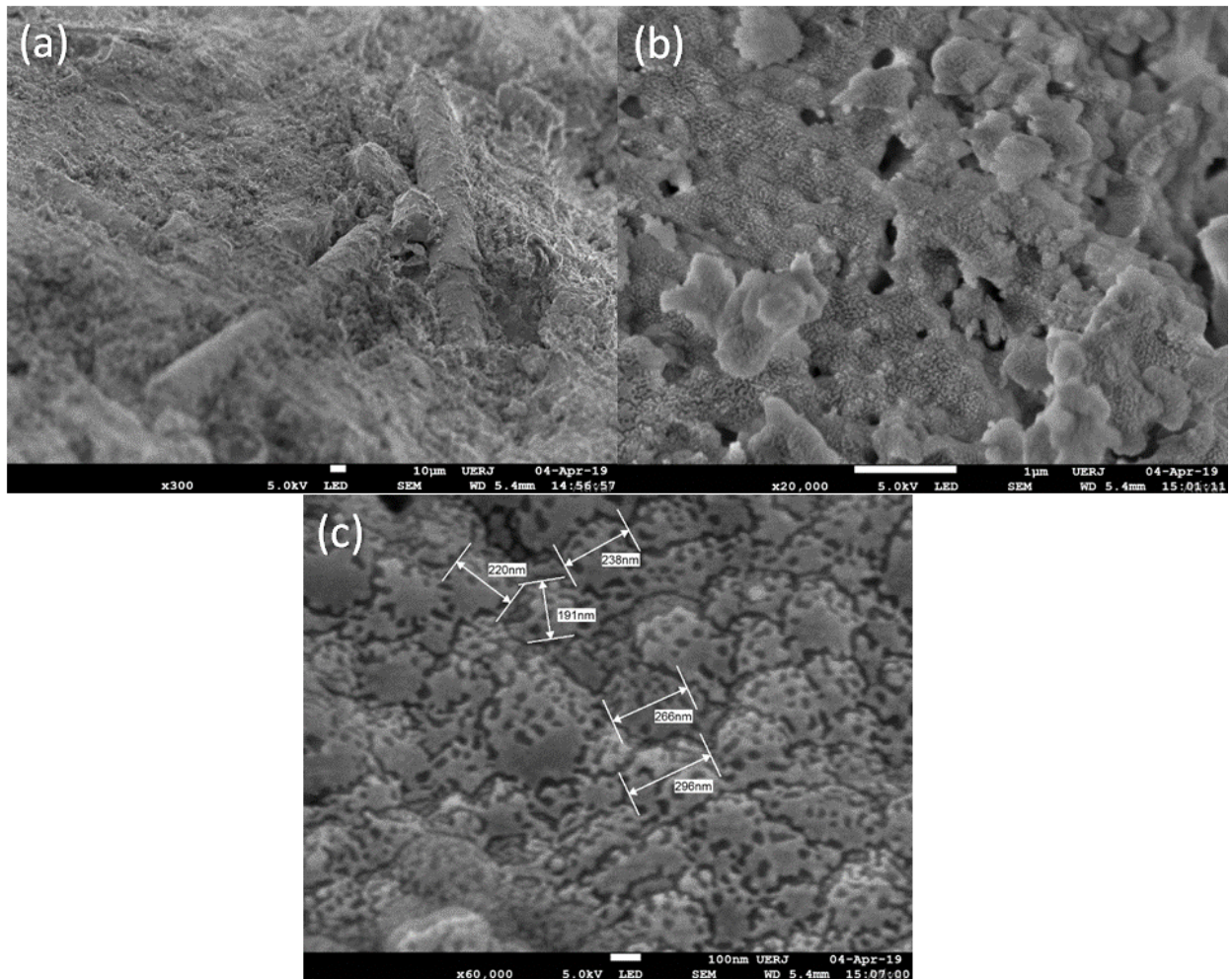


FIG. 4.32 Micrografia eletrônica de varredura da pastilha 25%Si-HA em um aumento de (a) 300x, (b) 20.000x e (c) 60.000x.

A incorporação do silício proveniente da esponja de água doce adicionada não causou grandes modificação em relação ao crescimento do grão nos compósitos. Esse comportamento já era esperado, Bang (2011) observou que a adição do silício à hidroxiapatita inibiu o crescimento de grão do compósito Si-HA.

4.4.4 ESPECTROSCOPIA DE RAIOS X POR DISPERSÃO DE ENERGIA (EDS)

A análise de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS) a qual permite uma análise química semi-quantitativa dos elementos presentes nas pastilhas dos compósitos de diferentes composições. Essa técnica é usada junto às

outras como FTIR e DRX para auxiliar na caracterização e corroborar os resultados obtidos e esperados. As figuras a seguir (FIG. 4.33, FIG. 4.34, FIG. 4.35, FIG. 4.36, FIG. 4.37) correspondem as composições de HA com 2%, 4%, 8%, 15% e 25% de esponja de água doce, respectivamente. De acordo com as FIG. 4.33 - FIG. 4.37 e a TAB. 4.4 é observada a presença de cálcio, fósforo e oxigênio referentes a hidroxiapatita, os quais estão presentes em todas as amostras, basicamente. A sílica proveniente da esponja de água doce apresenta picos característicos a partir da amostra com adição de 8%. O elemento sódio esteve presente apenas em duas composições, podendo ser caracterizado por impureza. O ouro aparente corresponde ao recobrimento.

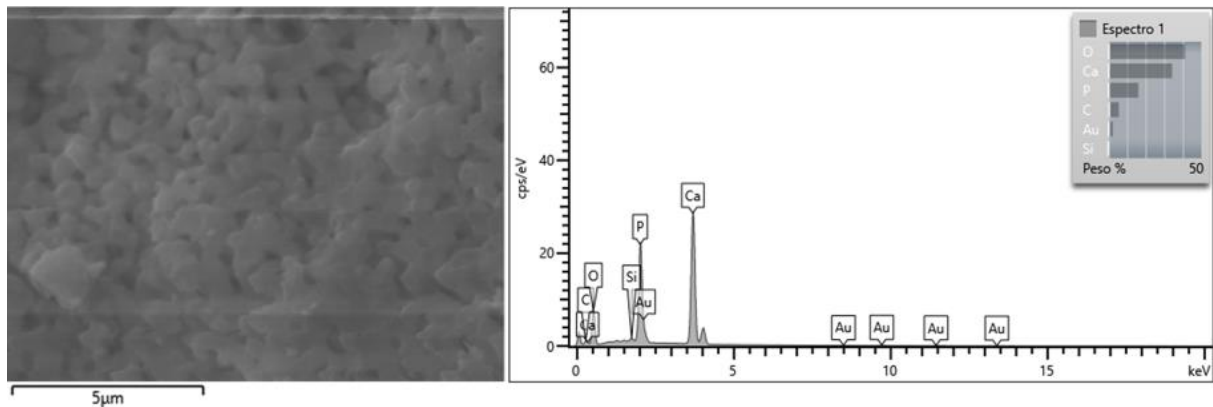


FIG. 4.33 Micrografia eletrônica de varredura e EDS do composto 2%Si-HA com aumento de 20.000x.

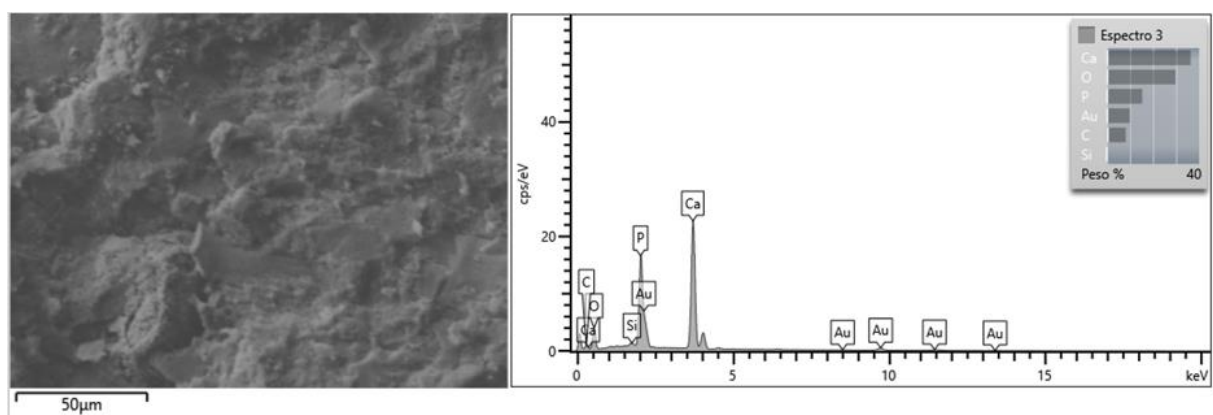


FIG. 4.34 Micrografia eletrônica de varredura e EDS do composto 4%Si-HA com aumento de 1.400x.

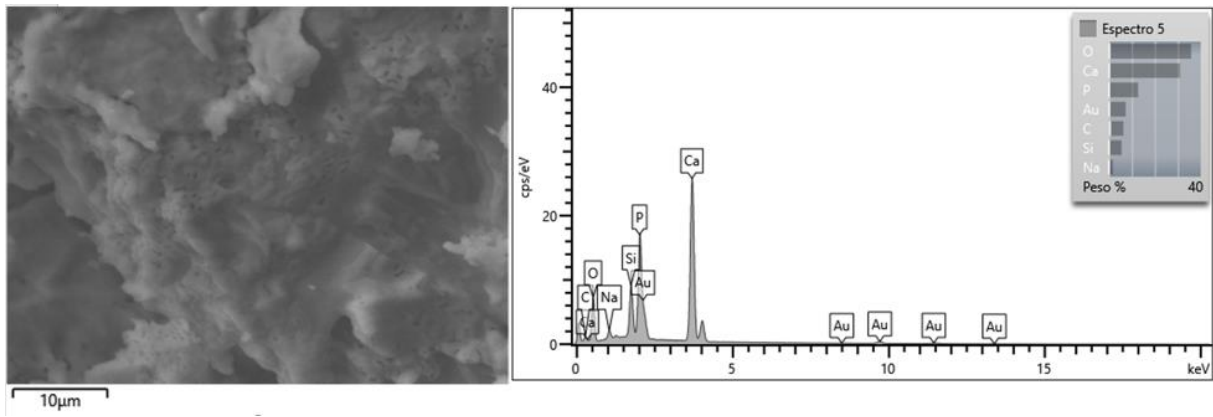


FIG. 4.35 Micrografia eletrônica de varredura e EDS do compósito 8%Si-HA com aumento de 5.000x.

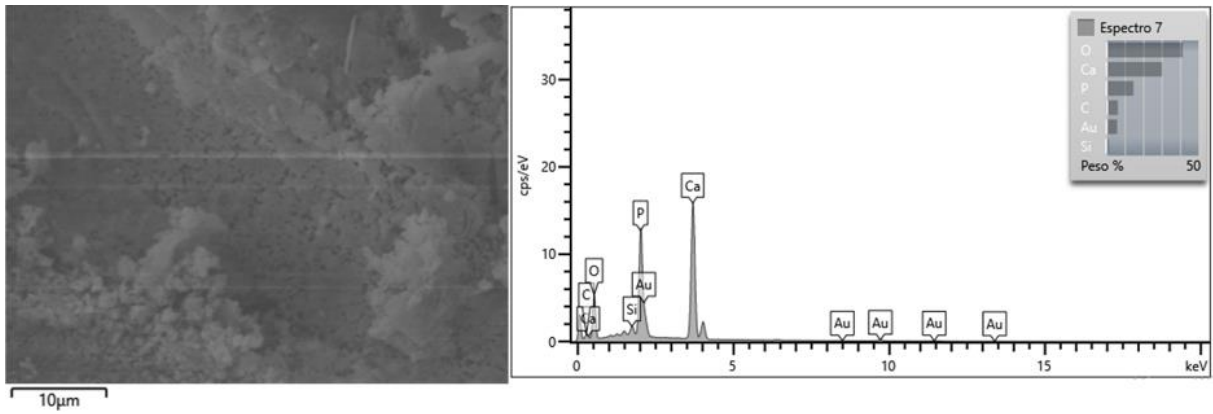


FIG. 4.36 Micrografia eletrônica de varredura e EDS do compósito 15%Si-HA com aumento de 5.000x.

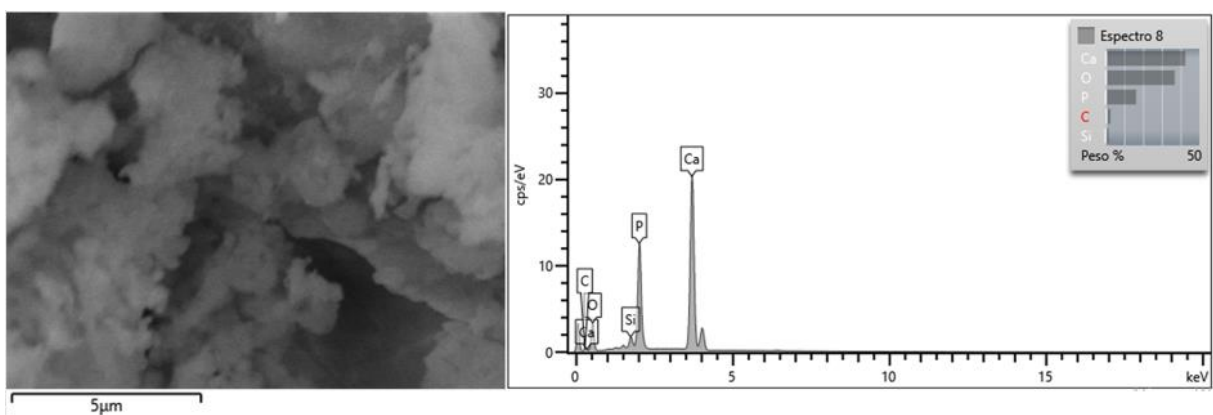


FIG. 4.37 Micrografia eletrônica de varredura e EDS do compósito 25%Si-HA com aumento de 20.000x.

TAB. 4.4 Tabela representativa da análise química semi-quantitativa dos elementos presentes nas pastilhas dos compósitos de hidroxiapatita e esponja de água doce.

Elementos	Concentração aparente				
	2%Si-HA	4%Si-HA	8%Si-HA	15%Si-HA	25%Si-HA
C	1,70	2,31	1,77	1,93	1,28
O	27,88	16,38	24,17	29,50	29,71
Na	-	-	2,09	-	-
Si	0,86	0,71	8,29	2,03	3,31
P	37,93	32,30	27,16	33,64	31,56
Ca	56,72	51,76	47,85	48,09	58,59
Au	3,25	12,37	9,29	7,95	0,51

4.4.5 ESPECTROSCOPIA DE FOTOELÉTRONS EXCITADOS POR RAIOS X (XPS)

Os picos encontrados em um espectro de XPS indicam a energia de ligação dos fotoelétrons emitidos por um determinado elemento químico presente na superfície da amostra que foi irradiada pelo feixe de raios X.

As figuras FIG. 4.38, FIG. 4.39, FIG. 4.40 representam os espectros de XPS obtidos das amostras de 8%,15% e 25%, respectivamente, que apresentaram energia de ligação referentes ao silício. Os picos característicos a Si_{2p} (101,66 eV) na amostra com 8%, Si_{2p} (101,64 eV) na amostra com 15% e Si_{2p} (102,0 eV) na amostra com 25% esponja de água doce são equivalentes à ligação de silício e oxigênio (Si-O) de acordo com a NIST - National Institute of Standards and Technology Database complementando os resultados de análise química por EDS e FTIR. Em conformidade com BOTELHO (2002), esses resultados comprovam que o silício existe como um silicato tetraédrico, grupo SiO_4 , em vez de uma forma polimérica ou SiO_2 . Este resultado indica a possibilidade de substituição de silicatos

em grupos fosfatos na hidroxiapatita, de forma semelhante às substituições de carbonatos em grupos fosfatos.

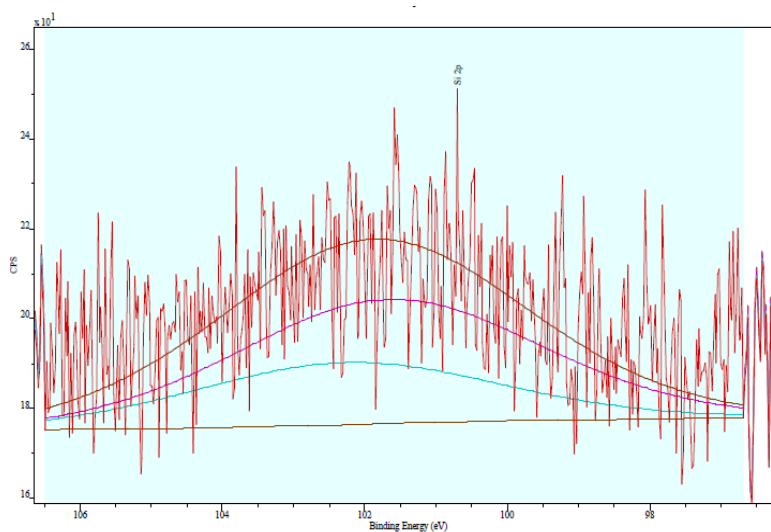


FIG. 4.38 Espectro de XPS correspondente ao pico de Si-O da amostra 8%Si-HA.

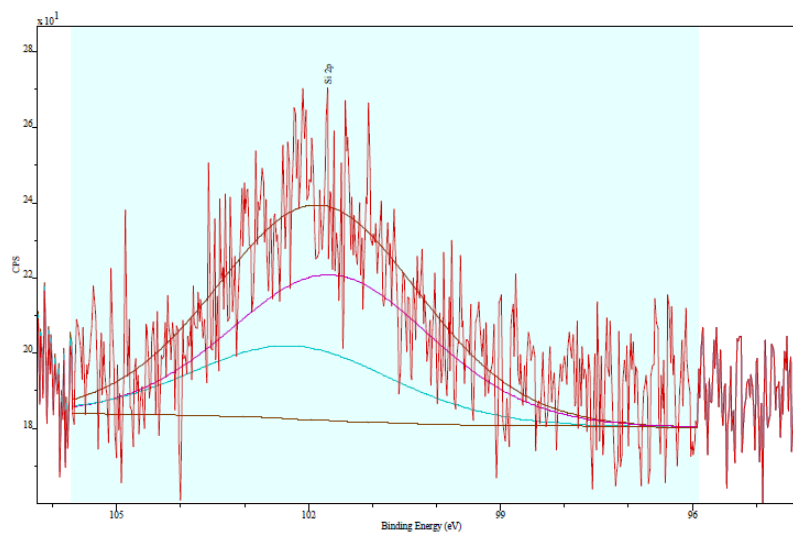


FIG. 4.39 Espectro de XPS correspondente ao pico de Si-O da amostra 15%Si-HA.

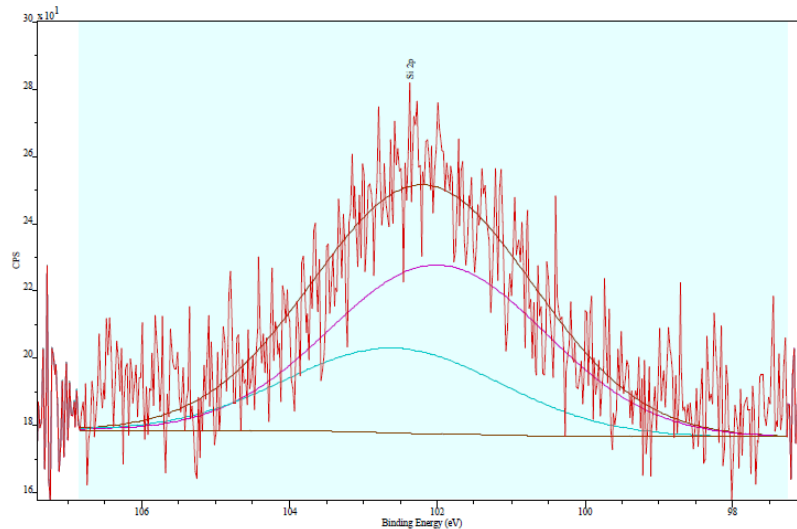


FIG. 4.40 Espectro de XPS correspondente ao pico de Si-O da amostra 25%Si-HA.

Os espectros de XPS a seguir correspondem às amostras correspondentes às adições de 2%, 4%, 8%, 15% e 25%, em peso, de esponja de água doce adicionada à hidroxiapatita. As figuras FIG. 4.41, FIG. 4.42, FIG. 4.43, FIG. 4.44, FIG. 4.45 são os espectros de XPS correspondentes a essas composições, respectivamente. Nessas amostras, foram detectados os elementos O, Ca, P, C em todas as composições analisadas. Todas as amostras apresentam basicamente os mesmos picos correspondentes a O_{1s} (530,87 eV), P_{2p} (132,65 eV) e Ca_{2p} (346,80 eV). A presença das energias de ligação correspondentes ao silício só foi identificada nas composições de 8%, 15% e 25% conforme as figuras abaixo.

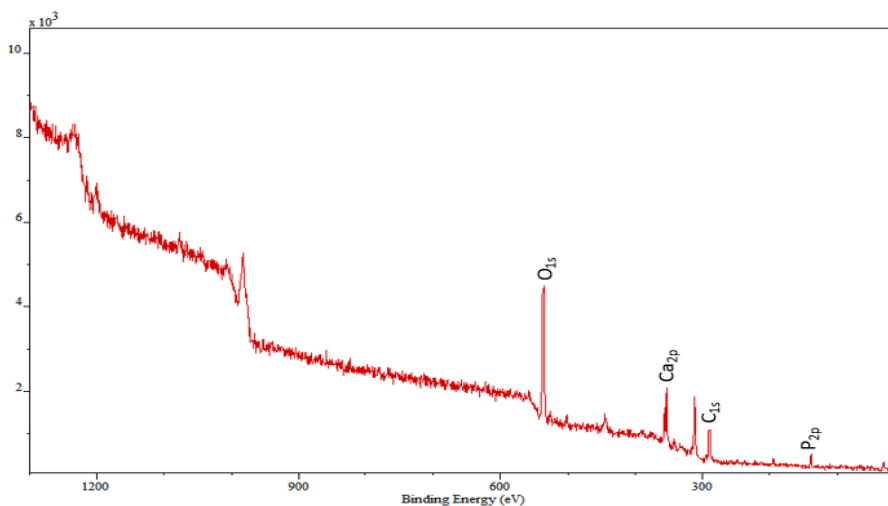


FIG. 4.41 Espectro de XPS da amostra 2%Si-HA.

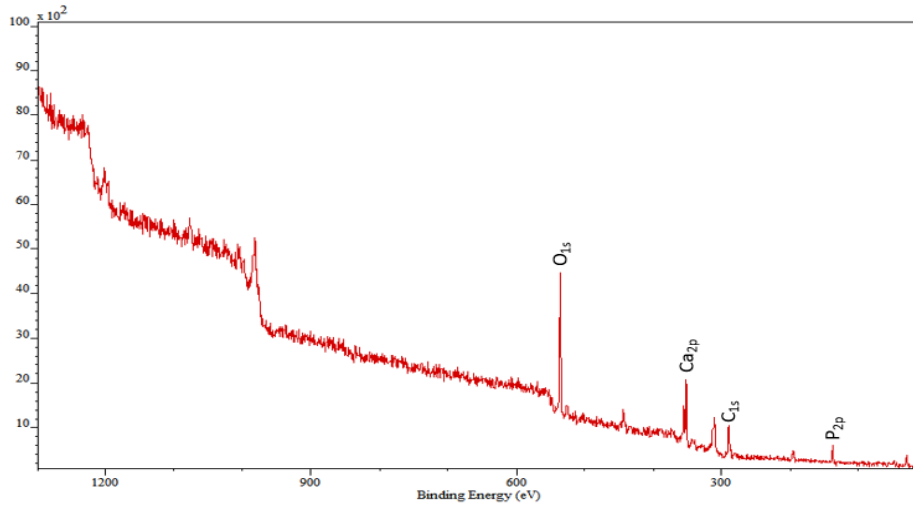


FIG. 4.42 Espectro de XPS da amostra 4%Si-HA.

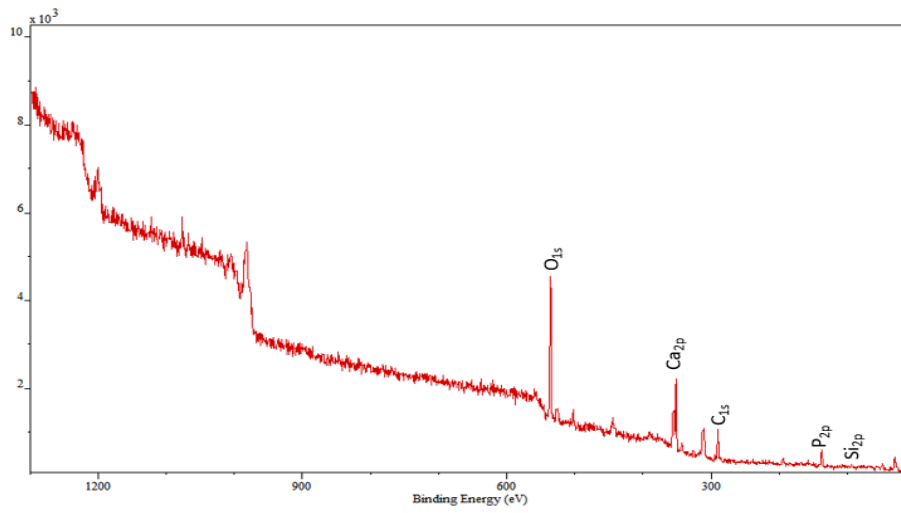


FIG. 4.43 Espectro de XPS da amostra 8%Si-HA.

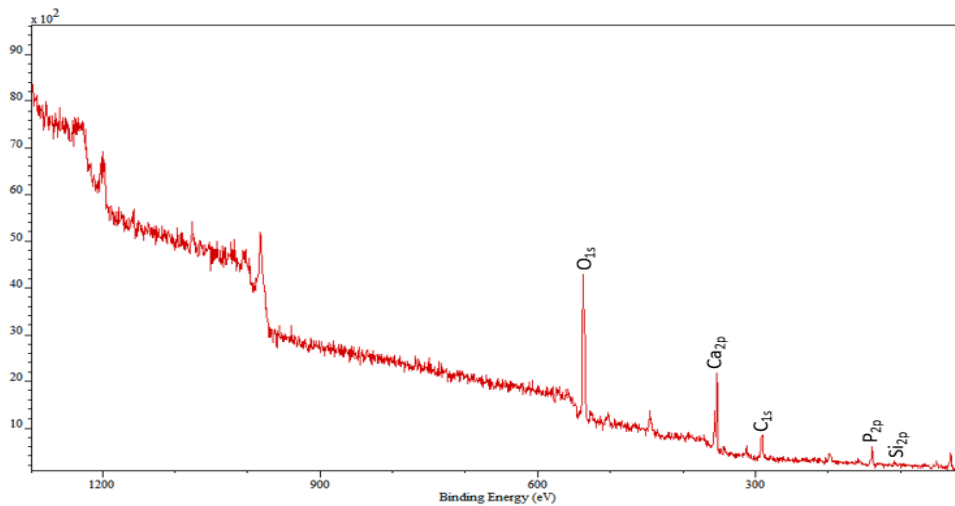


FIG. 4.44 Espectro de XPS da amostra 15%Si-HA.

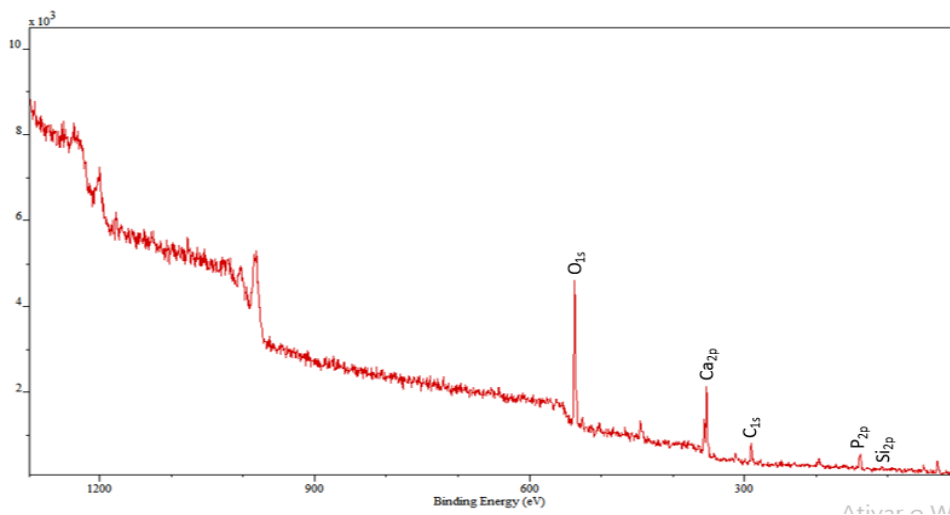


FIG. 4.45 Espectro de XPS da amostra 25%Si-HA.

Pela caracterização da superfície, pela técnica de XPS com uma profundidade de 2nm, obtêm-se a seguir uma análise quantitativa na superfície do material. Os resultados de XPS (TAB. 4.5) confirmam a presença do elemento químico silício nas composições a partir de 8% de esponja de água doce adicionada à HA. Observa-se o aumento da razão molar Ca/P com o aumento do teor de silício adicionado, podendo indicar que a substituição parcial do silício na HA tenha maior probabilidade de ocorrer no sítio $(PO_4)^{3-}$. É válido lembrar que a razão Ca/P dada na superfície pode não ser exatamente o valor em relação ao volume do material.

TAB. 4.5 Tabela representativa da análise química da superfície por XPS dos elementos presentes nas pastilhas dos compósitos de hidroxiapatita e esponja de água doce.

Concentração atômica					
Elementos	2%Si-HA	4%Si-HA	8%Si-HA	15%Si-HA	25%Si-HA
Ca	13,2	14,1	16,0	16,7	16,8
P	9,7	10,2	11,5	11,3	10,3
O	46,5	42,3	45,2	44,1	45,6
Si	-	-	4,4	4,5	5,5
Na	2,4	2,1	3,6	2,3	2,1
C	28,2	31,3	19,3	21,1	19,7
Ca/P	1,36	1,38	1,39	1,48	1,91

5 CONCLUSÃO

5.1 CONCLUSÃO GERAL

A partir dos resultados, neste trabalho foi obtida uma biocerâmica à base de hidroxiapatita modificada com sílica, proveniente da esponja de água doce.

5.2 CONCLUSÕES ESPECÍFICAS

- As duas rotas de incorporação da sílica, proveniente da esponja de água doce, à hidroxiapatita foram realizadas, mas apresentaram grande dificuldade quanto a resistência ao manuseio.
- A primeira rota foi desclassificada para uso, pois a esponja de água doce não resistiu sendo utilizada como substrato para decomposição de hidroxiapatita, e antes do processo de sinterização, degradou.
- A segunda rota, caracterizada pela produção da pasta contendo hidroxiapatita e sílica proveniente da esponja de água doce, foi a rota que trouxe o melhor resultado. Sua utilização para impregnação em esponja polimérica apresentou resultados característicos antes da sinterização. Após a sinterização ela apresentou bastante fragilidade. Dessa forma, utilizou-se a pasta do compósito para produzir pastilhas e caracterizá-las.
- Os compósitos em forma de pastilhas foram caracterizados por DRX, MEV, FTIR, EDS e XPS a fim de analisar a incorporação da esponja de água doce à hidroxiapatita.
- As duas primeiras composições (2% e 4%) na análise de DRX apresentaram basicamente hidroxiapatita, mas pelo refinamento usando o método de Rietveld foi detectada porcentagem característica ao quartzo. O FTIR e o XPS não apresentaram ligações correspondentes a sílica, mas o EDS acusou pequenas porcentagens de silício.

- A grande variação surgiu nas amostras de 8%, 15% e 25% de esponja de água doce adicionada. A fase β -TCP, antes não encontrada nas amostras de 2% e 4%, apresentou-se significativamente, com o aumento do teor de sílica adicionada.
- O aumento dessa fase foi proporcional a quantidade adicionada de sílica, proveniente da esponja de água doce, comprovando que os íons de silício provavelmente substituíram o grupamento $(\text{PO}_4)^{3-}$, favorecendo a degradação da hidroxiapatita em β -TCP.
- Esse resultado foi corroborado pela presença de ligações de silício e oxigênio no FTIR e a diminuição das bandas correspondentes às impurezas $(\text{CO}_3)^{2-}$, OH^- e $(\text{PO}_4)^{3-}$. A presença do silício é notada nos resultados de EDS em todas as amostras dos compósitos.
- A presença de ligações de Si-O pela análise de XPS confirma que esse tipo de ligação é referente ao grupo tetraédrico e esse grupamento só entra na estrutura da hidroxiapatita substituindo os grupos $(\text{PO}_4)^{3-}$, de acordo com o balanceamento das cargas proposto por Gibson e corroborado pela literatura.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como trabalhos futuros sugere-se realizar os seguintes testes tanto no compósito quanto nas esponjas impregnadas:

- Realizar análises de fluorescência de raios X (FRX);
- Continuar o refinamento pelo método de Rietveld a fim de validar o sítio em que ocorreu a substituição do silício;
- Teste in vitro de citotoxicidade e viabilidade celular, selecionar os melhores resultados para realizar o teste de diferenciação e proliferação celular;
- Refazer a primeira rota de incorporação da hidroxiapatita na esponja, sendo que é essencial imergir em algumas soluções previamente para que a estrutura da esponja venha resistir ao meio alcalino em que é necessário para que ocorra a precipitação da hidroxiapatita;
- Utilizar as biocerâmicas de HA com adição de esponja de água doce para desenvolver novos biomateriais e biocompósitos para engenharia de tecido ósseo.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGARWAL R., GARCÍA A.J., **Biomaterial strategies for engineering implants forenhanced osseointegration and bone repair**, *Adv. Drug Deliv. Rev.* 94 (2015)53–62.
- AKAO, M.; AOKI, H.; KATO, K.; SATO, A. **Dense polycrystalline β -tricalcium phosphate for prosthetic applications**. *J. Mater. Sci.* 1982, 17, 343-346.
- ALBEE, F.H. **Studies in bone growth: Triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis**. *Ann. Surg.* 1920, 71, 32-39.
- ALMEIDA JUNIOR A., FERREIRA A. **Elementos de Anatomia e Fisiologia humanas**. São Paulo, S.P.: Edição Nacional, p. 41-66, 1983.
- ALVES DA SILVA C. L, PINTO L. E. S. C, LOURO L. H. L., SOUSA LIMA E., PRADO DA SILVA M. H., **Caracterização microestrutural do compósito hidroxiapatita bovina-biovidro**, RMCT, Vol. XXVIII 1o Trimestre de 2011.
- ANDERSSON, J.; AREVA, S.; SPLIETHOFF, B.; LINDÉNA, M.; **Sol-gel synthesis of a multifunctional, hierarchically porous silica/apatite composite**; *Biomaterials*, vol. 26, 2005 p. 6827 – 6835.
- AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. 1 ed. Tokyo: JAAS, 1991.
- AOKI, H.; KATO, K.M.; OGISO, M.; TABATA, T. **Studies on the application of apatite to dental materials**. *J. Dent. Eng.* 1977, 18, 86-89.
- AVÉS E.P.; GALVÁN J.C.; LIMA I.R.; GRANJEIRO J.M.; BASTOS I.N.; SOARES G.D. **Recobrimento da liga Ti-6Al-4V com hidroxiapatita pelo método sol-gel e sua aplicação a hastes femorais não-cimentadas**. *Cerâmica* 54.p. 476-479, 2008.
- AZEVEDO A.G. DES., STRECKER K., GORGULHO H.F. **Efeito da temperatura em processos de sinterização de pós de hidroxiapatita**. *Cerâmica* vol.61 no.357 São Paulo Jan./Mar (2015).

- BANG L.T., ISHIKAWA K., OTHMAN R., **Effect of silicon and heat-treatment temperature on the morphology and mechanical properties of siliconsubstituted hydroxyapatite.** *Ceram.Int* 37 (2011) 3637-3642.
- BENS NISSAN, B.; PEZZOTTI, G. **Bioceramics: Processing Routes and Mechanical Evaluation.** *Journal of the Ceramic of Japan*, v. 110, n. 7, p. 601-608, 2002.
- BHATTACHARJEE P., NASKAR D., MAITI T.K., BHATTACHARYA D., KUNDU S.C. Investigating the potential of combined growth factors delivery, from non-mulberry **silk fibroin grafted poly(caprolactone)/hydroxyapatite nanofibrous scaffold, in bone tissue engineering,** *Appl. Mater. Today* 5(2016) 52–67.
- BLOCK J.E., POSER J. **Does xenogeneic demineralized bone matrix have clinical utility as a bone graft substitute.** *Med. Hypotheses* 45 (1995) 27–32.
- BOBBIO, A. **The first endosseous alloplastic implant in the history of man.** *Bull. Hist. Dent.* 1970, 20, 1-6.
- BONAR L.C., LEES S., MOOK H.A.; **Neutron diffraction studies of collagen in fully mineralized bone.** *J. molecular biology* 1985 Jan 20;181(2):265-70
- BORUM, L.; WILSON Jr., O.C. **Surface modification of hydroxyapatite. Part II. Silica.** *Biomaterials*, vol. 24, 2003, p. 3681-3688.
- BOTELHO C.M, LOPES M.A., GIBSON I.R., MELHOR S.M., SANTOS J.D. **Structural analysis of Si-substituted,** *Journal of materials science: materials in medicine* 13 (2002) 1123±1127
- BREDIG MA, FRANCK HH, FÜLLNER H **Beiträge zur Kenntnis der Kalk-Phosphorsäure-Verbindungen. II.** *Z Elektrochem angew* (1932) P 38:158–164
- BRUMATI, P. A., **Utilização de Ceras Naturais no Processo de Moldagem de Cerâmicas por Injeção,** 1995, Dissertação (Mestrado) – Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.
- CALLISTER Jr., WILLIAN T. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução–LTC.** Sétima Edição – 2008. p.464-467.
- CAMARGO, N. H. A., BELLINI, O. J., GEMELLI, E., TOMIYAMA, M. **Synthesis and Characterization of Nanostructured Ceramic Powders for Biomedical Applications.** *Revista Matéria*, vol. 12, nº 4, (2007), p. 574-582.
- CHAI CS, BEN-NISSAN B. **Bioactive nanocrystalline sol-gel hydroxyapatite coatings.** *J Mater Sci: Mater Med.* 1999; 10: 465-469.

- CHAMBERS, T. J.; PATH, M. R. C. **The cellular basis of bone resorption.** Clinical Orthopaedics and Related Research, Sept, v.151, p. 283-293,1980.
- CHANDRASEKARAN, A.; SURESH S.; DAKSHANAMOORTHY A.. **Synthesis and characterization of nano-hydroxyapatite (n-HAP) using the wet chemical technique.** International Journal Of Physical Sciences, 2013, 8(30), 1639-1645.
- CHEN X., ERIC S., XIANG Y., KACHMAN M., PHILIP C.; **Quantitative proteomics analysis of cell cycle regulated Golgi disassembly and reassembly,** JBC Papers in Press, January 7, 2010, M109.047084.
- DANTAS, T.S., LELIS, E.R., NAVES, L.Z., FERNANDES-NETO, A.J., MAGALHÃES, D. **Materiais de enxerto ósseo e suas aplicações na Odontologia.** UNOPAR Cient Cienc Biol Saude, v.13, n.2, p.131-5, 2011
- DAVIES E., HOSSEINI M.M., **Histodynamics of endosseous wound healing,** in:J.E. Davies (Ed.), Bone Engineering, Em squared Inc., Toronto, 2000, pp. 1–14.
- DE GROOT, K. **Bioceramics consisting of calcium phosphate salts.** *Biomaterials* 1980, 1, 47-50.
- DE GROOT, K., **Bioceramics of Calcium Phosphate;** Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 1983; p. 146.
- DENISSEN, H.W.; DE GROOT, K. **Immediate dental root implants from synthetic dense calcium hydroxylapatite.** *J. Prosthet. Dent.* 1979, 42, 551-556.
- DOROZHKIN S.V. **Calcium Orthophosphates as Bioceramics:** State of the Art. Int J Biomater, (2010) p.22–107
- DOROZHKIN S.V. **A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950.** Mater Sci Eng (2013a) C 33:3085–3110
- DOROZHKIN S.V. **Calcium orthophosphates and human beings. A historical perspective from the 1770s until 1940.** Biomatter (2012a) 2:53–70
- DUAN B., WANG M. **Customized Ca–P/PHBV nanocomposite scaffolds for bone tissue engineering:** design, fabrication, surface modification and sustained release of growth factor, J. R. Soc. Interface (2010), rsif20100127.
- ELLIOTT J.C., **Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates.** Elsevier Science, Amsterdam, 1994.

- FALACHO, R.I., JUDAS F., PALMAS P.; **Estrutura dinâmica do tecido ósseo.** Clínica universitária de ortopedia dos HUC-CHUC. Faculdade de medicina da universidade de Coimbra, 2012.
- FERRAZ, S.; FREITAS, L. G. **Use of antagonistic plants and natural products.** In: CHEN, Z.X.; CHEN, S.Y.; DICKSON, D.W. (Ed.) *Nematology: advances and perspectives.* Wallingford UK: CABI Publishing, 2004. p. 931-977
- FIHRI A., LEN C., VARMA R.S., SOLHY A. **Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis,** *Coordination Chemistry Reviews* (2017).
- FONSECA, F.M.; **Biocerâmicas Porosas Bifásicas e Trifásicas à Base de Hidroxiapatita Produzidas Por Gelcasting.** Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências dos Materiais (2007), Instituto Militar de Engenharia, IME.
- GENECOV DG, KREMER M, AGARWAL R, SALYER KE, BARCELO CR, ABERMAN HM, ET AL. **Norian craniofacial repair system: compatibility with resorbable and nonresorbable plating materials.** *Plast Reconstr Surg.* 2007;120(6):1487-95.
- GIBSON, I. R.; BEST, S. M.; **Bonfield, W. Chemical characterisation of siliconsubstituted hydroxyapatite.** *J J. Biom. Mat. Res.,* v. 44, p. 422-428, 1999
- GORRIZ C., RIBEIRO F., GUEDES J.M., FERNANDES P.R. **A biomechanical approach for bone regeneration inside scaffolds,** *Proc. Eng.* 110 (2015) 82–89.
- GREENWOOD, N. N.; EARNSHAW, A.; **Chemistry of The Elements,** 2nd ed., Butterworth-Heinemann, Oxford, 2002.
- HENCH, L. L.; WILSON, J.; **Introduction to bioceramics.** Word Scientific Publishing: Singapore, 1993, p.1-15.
- HENCH, L.L.; '**Bioceramics**', *Journal of the American Ceramic Society* (1998), Vol. 81, No. 7, pp. 1705-1728.
- HENTSCHEL, U.; Usher, K. M.; Taylor, M. W. **Marine sponges as microbial fermenters.** *FEMS Microbiology Ecology, Wien,* v. 55, p. 167–177, 2006.
- HIJON, N., CABANAS M.V., PENA, J., VALLET-REGI, M. **Nanocrystalline bioactive apatite coatings.** *Acta Biomater,* 2 (2006), p. 567.

- HIRSCHFELD, D. A., LI, T. K., LIU, D. M., **Processing of Porous Oxide Ceramics**, Key Engineering Materials Vol. 115, 1996, p. 65 – 80.
- HOLLISTER S.J., LIN C.Y., SAITO E., SCHEK R.D.; **Engineering craniofacial scaffolds**, 15 July 2005 <https://doi.org/10.1111/j.1601-6343.2005.00329.x>
- HOLMES, R.E. **Bone regeneration within a coralline hydroxyapatite implant**. *Plast. Reconstr. Surg.* 1979, 63, 626-633.
- HOOPER J.N.A., SOEST V., ROB W.M., *Systema porifera. A guide to the classification of sponges*. Plenum publishers, January 2002.
- HUEBSCH N.; MOONEY, D.J. **Inspiration and application in the evolution of biomaterials**. *Nature* 2009, 462, 426-432.
- HULBERT S.F., HENCH L.L., FORBERS D., BOWMAN L.S., **History of bioceramics**. *Ceramics international*, 1982, vol.8, n.4, .131-140.
- ILER, R. K.; **The Chemistry of Sílica**, John Wiley & Sons, New York, 1979.
- JARCHO, M. **Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics**. *Clin. Orthop. Rel. Res.* 1981, 157, 259-278.
- JARCHO, M.; BOLEN, C.H.; THOMAS, M.B.; BOBICK, J.; KAY, J.F. DOREMUS, R.H. **Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form**. *J. Mater. Sci.* 1976, 11, 2027-2035. 95.
- JARCHO, M.; O'CONNOR, J.R.; PARIS, D.A. **Ceramic hydroxylapatite as a plaque growth and drug screening substrate**. *J. Dental Res.* 1977, 56, 151-156. 96.
- JARCHO, M.; SALSBURY, R.L.; THOMAS, M.B.; DOREMUS, R.H. **Synthesis and fabrication of β -tricalcium phosphate ceramics for potential prosthetic applications**. *J. Mater. Sci.* 1979, 14, 142-150. 97.
- JUNQUEIRA & CARNEIRO. **Biologia celular e molecular**. Op. cit., pp. 3-5, 14-16, 293, 296, 2009.
- KANEDA K., MIZUGAKI T. **Development of concerto metal catalysts using apatite compounds for green organic syntheses**, *Energy Environ. Sci.* 2 (2009) 655-673.
- KAY M.I., YOUNG R.A., POSNER A.S., **Crystal structure of hydroxyapatite**. *Nature* 204 (1964) 1050-1052.
- KIM, S-S. et al. **Poly(lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite composite scaffolds for bone tissue engineering**. *Biomaterials*, v.27, n.8, p.1399-1409, 2006.

- KOKUBO T., KIM H.-M., KAWASHITA M. **Novel bioactive materials with different mechanical properties**, *Biomaterials* 24 (2003) 2161–2175.
- LEDUC, R. **A sílica, Geologia e metalurgia**: boletim, Centro Moraes Rêgo. Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, n. 4, 1946.
- LEGEROS R.Z. **Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine: Monographs in Oral Science**, v. 15, Switzerland: Karger, 1991.
- LEGEROS, R. Z. **Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates**. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, v.1, n.395, p.81-98, 2002.
- LEGEROS, R.Z. LEGEROS, J.P. **Calcium phosphate bioceramics: Past, present, future**. *Key Eng. Mater.* 2003, 240-242, 3-10.
- LEGEROS, R.Z.; **Calcium phosphate-based osteoinductive materials**. *Chem. Rev* 2008;108: 4742–4753.
- LIU, X.; MA, P.X. **Polymeric Scaffolds for Bone Tissue Engineering**. *Ann. Biomed. Eng.*, v.32, n.3, p.477-486, 2004.
- MANAFI S.A., JOUGHEHDOUST S. **Synthesis of hydroxyapatite nanostructure by hydrothermal condition for biomedical application**. *Iranian J Pharm Sci.* 2009; 5(2): 89-94.
- MAVROPOULOS, E. **A hidroxiapatita como removedora de chumbo**. Dissertação (Mestrado). Fundação Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saúde Pública e Toxicologia. Rio de Janeiro, 1999.
- MCGRELLIS, S., SERAFINI, J., JEANJEAN, J., et al., 2000, **Influence of Sorption Protocol on the Uptake of Cadmium Ions in Calcium Hydroxyapatite**, *Separation Purification Technology*, v. 24 (2001) p. 129-138.
- MORALES A.A., SÁNCHEZ F.P. **Caracterización por espectroscopía en el infrarrojo de óxidos de silicio depositados em ambiente de N₂O**. *Superficies y Vacío* 16(2), 16-18, junio de 2003

- MOREJÓN-ALONSO L.; CARRODEGUAS R. G.; SANTOS L. A.; **Effects of silica addition on the chemical, mechanical and biological properties of a new α -Tricalcium Phosphate/Tricalcium Silicate Cement**; Mat. Res. vol.14 no.4 São Carlos Oct./Dec. 2011 Epub Oct 28, 2011.
- MOTA RCDAG, DA SILVA E.O., DE LIMA F.F., DE MENEZES L.R., THIELE A.C.S. **3Dprinted scaffolds as a new perspective for bone tissue regeneration**:literature review, Mater. Sci. Appl. 7 (2016) 430.
- NAVARRO DA ROCHA D., **Caracterização de substituições iônicas em fosfatos de calico depositados em titânio**. Tese (Doutorado em Ciencia dos Materiais) – Instituto Militar de Engenharia – IME. Rio de Janeiro, p. 66, 2016.
- NAYAK, A.K.; **Hydroxyapatite Synthesis Methodologies: An Overview**. Int.J. ChemTech Res.2010,2(2).
- NERY, E.B.; LYNCH, K.L.; HIRTHE W.M.; MUELLER; K.H. **Bioceramic implants in surgically produced infrabony defects**. *J. Periodontol.* 1975, 46, 328-347.
- NIST – National Institute of Standards and Techonogy Database.
- PALARD, M.; CHAMPION, E.; FOUCAUD, S., 2008, **Synthesis of silicated hydroxyapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{SiO}_4)_x(\text{OH})_{2-x}$** , Journal of Solid State Chemistry, v. 181, n. 1950-1960.
- PEREGO C., MILLINI R. **Porous materials in catalysis: challenges for mesoporous materials** Chem. Soc. Rev. 42 (2013) 3956-3976.
- PINHEIRO, U. S. **Contribuições à taxonomia e biogeografia das esponjas de águas continentais brasileiras**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas – Zoologia). Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2007
- POINERN, E.; BRUNDAVANAM, R. K.; LE, X. T.; FAWCETT, D., **Thermal and ultrasonic influence in the formation of nanometer scale hydroxyapatite bio-ceramic**, international journal of nanomedicine 2011, January; 6: 2083-2095.
- PORTER D.; **The design, testing and implementation of Virginia's NOx allowance auction**. Journal of Economic Behavior & Organization 69 (2009) 190–200.
- PRADO DA SILVA, M.H., NAVARRO DA ROCHA, D., **Composição de hidroxiapatita parcialmente substituída com nióbio e processo para sua obtenção**. BR n PI 020110137091, 2011.

- PRADO DA SILVA, M.H.; MOURA RAMIREZ, C.; GRANJEIRO, J. M.; ROSSI, A. M.;
In Vitro assessment of new niobium phosphate glasses and glass ceramics;
 key Engineering Materials 2008, 361-363, 229.
- RATNER B.D., JOHNSON E.E., **XPS and SSIMS characterization of surfaces modified by plasma deposition oligoglycane films.** Eds. Plenum Press, New York, pp 35-44, 1996.
- RATNER BD, et al. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine.** Academic Press . 864p ed 2a. 2004.
- RAY, R.D.; WARD, A.A., JR. **A preliminary report on studies of basic calcium phosphate in bone replacement.** *Surg. Form.* 1951, 3, 429-434.
- REHMAN, I; SMITH, R; HENCH, L L; BONFIELD, W. **Structural evaluation of human and sheep bone and comparison with synthetic hydroxyapatite by FT-Raman spectroscopy** Journal of Biomedical Materials Research, v. 29, n. 10, p.1287-94, 2005.
- REN, F., XIN, R., GE, X., LENG, Y. **Characterization and structural analysis of zinc-substituted hydroxyapatites** Acta Biomater., 5 (2009), pp. 3141-3149.
- RIBEIRO M. **Produção e caracterização de multicamadas de dimensões nanométricas de filmes a base de silício.** Tese de doutorado, Ed rev. São Paulo, 2009, p.139.
- RING, M.E., Harry N., **Dentistry: An Illustrated History;** Ed.; Abrams: New York, NY, USA, 1992; p. 320.
- RIVERA W., TORRER C.M., PISSO A.E. **Estudio de silicio poroso por ftir.** Revista colombiana de física, vol. 34, no. 1. 2002
- ROSETI L., PARISI V., PETRETTA M., CAVALLO C., DESANDO G., BARTOLOTTI I ET AL. **Scaffolds for bone tissue engineering:** state of the art and new perspectives, Mater. Sci. Eng. C 78 (2017) 1246–1262.
- ROY, D.M.; LINNEHAN, S.K. **Hydroxyapatite formed from coral skeletal carbonate by hydrothermal exchange.** *Nature* 1974, 247, 220-222.
- S.J. HOLLISTER, **Porous scaffold design for tissue engineering,** Nat. Mater. 4(2005) 518–524.
- SAGGIO-WOYANSKY, J., SCOTT, C. E., **Processing of Porous Ceramics,** American Ceramic Society Bulletin **71**, 11, 1992, p. 1674 – 1682.

- SANGEETHA K.; ASHOK M.; GIRIJA E.K.; VIDHYA G.; VASUGI G.; **Strontium and ciprofloxacin modified hydroxyapatites as functional grafts for bone prostheses.** *Ceramics International*, v.44, issue 12, p 13782-13789, 2018.
- SANTOS C.F.L., SILVA A.P., LOPES L., PIRES I., CORREIA I.J. **Design and production of sintered b-tricalcium phosphate 3D scaffolds for bone tissue regeneration.** *Mater Sci Eng (2012) C 32*:1293–1298
- SANTOS MH, DE OLIVEIRA M, DE FREITAS SOUZA P, MANSUR HS, VASCONCELOS WL. **Synthesis Control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process.** *Mater Res.* 2004; 7(4): 625-630.
- SCHAFFLER M.B., CHEUNG W.Y., MAJESKA R., KENNEDY O., **Osteocytes: masterorchestrators of bone,** *Calcif. Tissue Int.* 94 (2014) 5–24.
- SHIPMAN, P.; FOSTER, G.; SCHOENINGER, M. **Burnt bones and teeth: An experimental study of color, morphology, crystal structure and shrinkage.** *J. Archaeol. Sci.* 1984, 11, 307-325.
- SILVA C.C.; SOMBRA A.S.B. **Estudo das propriedades estruturais e mecânicas do fosfato de cálcio dopado com óxido de silício obtido pelo método do estado sólido,** *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, v.5.3 (2010) 23-27 ISSN 1809-8797.
- SINHORETI M. A. C.;VITTI R. P.;SOBRINHO L. C.; **Biomateriais in dentistry: current view and future perspectives;** *Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.* vol.67 no.4 Sao Paulo 2013.
- SLÓŠARCZYK, A.; PASZKIEWICZ Z.; PALUSZKIEWICZ C. **FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods.** *J Molecular Structure*, p. 657-661, 2005.
- SNYDERS, R; MUSIC, D.; SIGUMORONG, S.; SCHELBERGER, J.; JENSEN, J.; SCHNEIDER, J.M.; **Experimental and ab initio study of the mechanical properties of hydroxyapatite.** *Appl Phys Lett*, Vol 90, p 193902, 2017
- SOMMERFELDT, D. W.; RUBIN, C. T. **Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton.** *Eur Spine J*, 10(Suppl 2):S86–S95, 2001.

- SONG Y., CHEON S.A., LEE K.E., LEE S.Y., LEE B.K., KANG H.A., KIM J.Y., **Role of the RAM network in cell polarity and hyphal morphogenesis in *Candida albicans***. *Mol Biol Cell* 19(2012):5456-77, 2008.
- SUBRAMANI K.; REJI T.M.; PACHAURI P.; **Titanium Surface Modification Techniques for Dental Implants**. From Microscale to Nanoscale <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128122914000066>
- SUN, L., BERNDT, C.C., GROSS, K.A., KUCUK, A. **Material fundamentals and clinical performance of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings: a review**. *J. Biomed. Mater. Res. B: Appl. Biomater.*, 58 (2001), pp. 570-592.
- TABATA, Y. **Biomaterial technology for tissue engineering applications**. *J. R. Soc. Interface*, v.6, p.S311-324, 2009.
- TAS A.C. **Combustion synthesis of calciumphosphate bioceramic powders**. *J. Eur. Ceram. Soc.*, 12 (2000), pp. 2389-2394
- TAS A.C. **Synthesis of biomimetic Calciumhydroxyapatite powders at 37 degrees C in synthetic body fluids**. *Biomaterials*. 2000; 21: 1429-1438.
- THIAN, E.S., HUANG, J., BEST, S.M., BARBER, Z.H., BONFIELD, W. **A new way of incorporating silicon of hydroxyapatite (Si-HA) as thin films**. *Biomater*, 26 (2005), p. 2947.
- THIAN, E.S., HUANG, J., BEST, S.M., BARBER, Z.H., BONFIELD, W. **Novel silicon-doped hydroxyapatite (Si-HA) for biomedical coatings: an in vitro study**. *Biomed Mater Res*, 76B (2006), p. 326.
- THIAN, E.S., HUANG, J., BEST, S.M., BARBER, Z.H., BONFIELD, W.: **Surface modification of magnetron-sputtered hydroxyapatite thin films via silicon substitution for orthopaedic and dental applications** *Surf. Coat. Technol.*, 205 (2011), pp. 3472-3477
- TIRREL, M.; KOKKOLI, E.; BIESALSKI, M. **The role of surface science in bioengineered materials**. *Surface Science*, v.500, p.61-83, 2002.
- TROMEL G., **Beiträge zur Kenntnis des Systems Kalziumoxyd-Phosphorpentoxyd**. *Mitt Kaiser-Wilhelm. Inst Eisenforsch Du'sseldorf* (1932) 14:25–34
- TRUJILLO, N.A., OLDINSKI, R.A., MA, H., BRYERS, J.D., WILLIAMS, J.D., POPAT, K.C. **Antibacterial effects of silver-doped hydroxyapatite thin films sputter deposited on titanium** *Mater. Sci. Eng. C*, 32 (2012), pp. 2135-2144.

- TSUCHIDA T., SAKUMA S.U.S. **Method of synthesizing higher-molecular alcohol**, Patent 8080695 B2, 2011.
- ultrasonic influence in the formation of nanometer scale hydroxyapatite bio-ceramic**, International Journal Of Nanomedicine, 2011, 6, 2083-2095.
- VACCARO A.R., CHIBA K., HELLER J.G., PATEL T.C., THALGOTT J.S., TRUUMES E. ET AL., **Bone grafting alternatives in spinal surgery**, Spine J. 2 (2002) 206–215.
- VALLET-REGÍ M., GONZÁLEZ-CALBET, J.M. **Calcium Phosphate as Substitution of Bone Tissues**. Progress in solid State Chemistry, v.32, p. 1-31, 2004.
- VOLKMER-RIBEIRO C., PAROLIN M. As esponjas. In: Parolin M., Volkmer-Ribeiro C., Leandrini J. A. eds. 2010. **Abordagem ambiental interdisciplinar em bacias hidrográficas no Estado do Paraná**. 2010, Campo Mourão: Editora da Fecilcam. p. 105-130.
- VOLKMER-RIBEIRO C., PAULS S. M. **Esponjas de agua dulce (Porifera, Demospongiae) de Venezuela**. Acta Biol. Venez., 20(1): 1-28, 2000.
- VOLKMER-RIBEIRO, C. **Esponjas**. In: JOLY, C. A.; BICUDO, C. E. M. (orgs). Biodiversidade do Estado de São Paulo, Brasil: síntese do conhecimento ao final do século XX. São Paulo: FAPESP, 1999.
- VOLKMER-RIBEIRO, C. PORIFERA. In: S.H. HURLBERT, G. RODRIGUES and N.D. SANTOS (eds.) **Aquatic Biota of Tropical South America**, Part 2: Anarthropoda. San Diego State University, San Diego 1981., Cal. USA: p 86-95.
- VOLKMER-RIBEIRO, C.; DE ROSA-BARBOSA, R. 1972. **On Acalle recurvata (Bowerbank, 1863) and an associated fauna of other freshwater sponges**. Revista Brasileira de Biologia. 32(3): 303-317.
- VOLKMER-RIBERIO, C.; PIMPÃO, D.M. 2007. Capítulo 7. Esponjas. p. 83-88. In: Rapp Py-Daniel, L.; Deus, C.P.; Henriques, A.L.; Pimpão, D.M.; Ribeiro, O.M. (orgs.). **Biodiversidade do Médio Madeira: Bases científicas para propostas de conservação**. INPA: Manaus, 244pp.
- WAGNER D.E., EISENMANN K.M., NESTOR-KALINOSKI A.L., BHADURI S.B. A **microwave-assisted solution combustion synthesis to produce europium-doped calcium phosphate nanowhiskers for bioimaging application**. Acta biomaterialia, vol. 9, no. 9, 09.2013, p. 84.

- WAN, D.C.; NACAMULI, R.P.; LONGAKER, M.T. **Craniofacial Bone Tissue Engineering**. Dent. Clin. N. Am., v.50, n.2, p.175-190, 2006.
- WATANABE Y., IKOMA T., SUETSUGU Y. YAMADA H., TAMURA K., KOMATSU Y., TANAKA J., MORIYOSHI Y. **Long-term immobilization of strontium ions using zeolite A/calcium phosphate nanocomposites** J. Eur. Ceram. Soc. 26 (2006) 481-486.
- WEI X., YATES M.Z.. **Yttrium-Doped hydroxyapatite membranes with high proton Conductivity**, Chem. Mater. 24 (2012) 1738-1743.
- WILLIAMS, D.F. **Definitions in biomaterials**. Elsevier: New York, 1987.
- WILLIAMS, D.F.; **The Williams Dictionary of biomaterials**. Liverpool University Press, 1999. p.42
- WILLIAMS, D.F. **On the nature of biomaterials**. Biomaterials Elsevier 2009. P. 5897-5909.
- YAO, F.; LEGEROS, J. P.; LEGEROS, R. Z., **Simultaneous incorporation of carbonate and fluoride in synthetic apatites: Effect on crystallographic and physico-chemical properties**, Acta Biomater., 2009, v. 5, n. 6, pp. 2169-2177.
- ZHAO B., HU H., MANDAL S.K., HADDON R.C. **A bone mimic based on the self-assembly of hydroxyapatite on chemically functionalized single-walled carbon nanotubes**, Chem. Mater. 17 (2005) 3235-3241.
- ZIANI, S., MESKI, S., KHIREDINE, H. **Characterization of magnesium-doped hydroxyapatite prepared by sol-gel process** Int. J. Appl. Ceram. Technol., 11 (2014), pp. 83-91.