



UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL DO SEMIÁRIDO
UNIDADE ACADÊMICA DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS
CURSO DE ENGENHARIA DE BIOTECNOLOGIA E BIOPROCESSOS

ÉRYKA DE ALMEIDA OLIVEIRA

**OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA VIA
SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTERMAL**

SUMÉ – PARAÍBA

2016

ÉRYKA DE ALMEIDA OLIVEIRA

**OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA VIA
SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTHERMAL**

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao Curso de Graduação em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos do Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido, da Universidade Federal de Campina Grande, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Franklin Ferreira de Farias Nóbrega

SUMÉ-PARAÍBA

2016

O482o Oliveira, Éryka de Almeida.

Obtenção de hidroxiapatita para regeneração óssea via síntese pseudomórfica hidrotermal. / Éryka de Almeida Oliveira.
- Sumé - PB: [s.n], 2016.

51 f.

Orientador: Prof. Dr. Franklin Ferreira de Farias Nóbrega.

Monografia - Universidade Federal de Campina Grande;
Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido; Curso de
Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos.

1. Cerâmica em Geral - Biocerâmica. 2. Materiais cerâmicos porosos. 3. Síntese hidrotermal. I. Título.

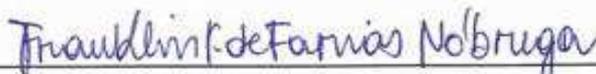
CDU: 666.3-127 (043.1)

ÉRYKA DE ALMEIDA OLIVEIRA

**OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA VIA
SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTHERMAL**

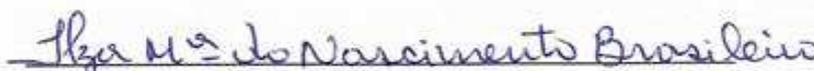
Trabalho de conclusão de curso apresentado à Universidade Federal de Campina Grande como parte das exigências do Programa do Curso de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos, para obtenção do título de Bacharel.

BANCA EXAMINADORA:



Prof. Dr. Franklin Ferreira de Farias Nóbrega

Orientador – UFCG/CDSA



Prof. Dra. Ilza Maria do Nascimento Brasileiro

Examinadora interna – UFCG/CDSA



Prof. Dra. Lenilde Mérgia Ribeiro Lima

Examinadora interna – UFCG/CDSA

Aprovado em: 03 de junho de 2016.

SUMÉ-PARAÍBA

Dedico esse trabalho àqueles que realmente acreditaram em mim. Ter o apoio e carinho de pessoas tão especiais é algo inestimável. Meu eterno obrigado!

AGRADECIMENTOS

À Deus, por nunca soltar a minha mão ao longo da caminhada.

A meus pais e irmã pelo amor incondicional dedicado a mim. Em especial à minha mãe, por todos os sacrifícios cuidados e noites em claro orando por mim. Ser sua filha é uma honra, e um dia espero enchê-la de orgulho por mim.

A Lorrany Rocha, a amiga que o destino fez toda questão de me dar. No início nem nos falávamos direito e as chances de amizade eram baixíssimas, mas a vida dá voltas. Foram noites em claro estudando, problemas compartilhados e algumas confusões. Ao longo desses 5 anos de convivência aprendi muito contigo e essas lições levo pra vida. Obrigada por estar ao meu lado em todos esses anos, amiguinha.

A Rosilândia Almeida, a amiga que o destino me deu quando eu menos esperava. Nem lembro direito o momento exato em que essa amizade surgiu, mas é muito especial para mim. Foram conselhos, paciência e horas ouvindo meus desabafos e nunca me julgando. Obrigada por cuidar de mim e por suas orações, minha amiga.

A Yago Tavares, o meu primeiro amigo. Quantos anos já se passaram, não é mesmo? Meu amigo desde a infância e que levo no peito, e mesmo quando não nos comunicamos sabemos que tudo permanece igual. A nossa amizade resiste à distância e ao tempo.

À turma de Engenharia de Biotecnologia e Bioprocessos 2011.1. Passamos por tanta coisa e, acima de tudo, crescemos juntos. Vocês são a minha família de Sumé, e levarei um pedacinho de cada um comigo.

Ao Prof. Dr. Franklin Ferreira de Farias Nóbrega, meu orientador, pela paciência e confiança depositada em mim.

Ao Dr. Thiago Bizerra Fideles pelos ensinamentos, conversas e tempo dedicado.

À Prof. Dr^a Ilza Brasileiro e Prof. Dr^a Lenilde Mérgia Ribeiro Lima por contribuírem com seus conhecimentos para minha formação acadêmica e como ser humano.

À Profa. Dr^a Glauciane Danusa, por todos os conselhos e companheirismo. E por me ensinar que “A vida? A vida é simples, a gente é quem complica”.

Ao Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste (CERTBIO) da Universidade Federal de Campina Grande, na pessoa do Prof. Dr. Marcus Vinícius Lia Fook.

Ao Centro de Desenvolvimento Sustentável do Semiárido (CDSA) /Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

MUITO OBRIGADA!

“Ainda assim, o sol aquecia.
Ainda assim, superavam-se os golpes.
Ainda assim, a vida tinha o dom de fazer um dia se seguir ao outro”
Virginia Woolf

RESUMO

Biomateriais são materiais utilizados na substituição e regeneração do tecido ósseo danificado, podendo ser classificados em metais, cerâmicos, polímeros e compósitos. A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é uma biocerâmica muito utilizada em reparação óssea por ser o principal componente da fase mineral dos ossos. É composta basicamente por cálcio, fósforo e oxigênio e pode ser sintetizada por reações de estado sólido e métodos úmidos. Entender os mecanismos de obtenção desse material é de extrema importância, a fim de garantir um material capaz de cumprir perfeitamente sua função no corpo humano. Assim, avaliar a influência do tempo de síntese, a cristalografia e composição química da hidroxiapatita obtida foram os objetivos desta pesquisa. A solução precursora para a síntese foi preparada a partir de fosfato de amônio 0,5 M e hidróxido de amônio 0,75 M, e posteriormente reagiu com arcabouços tridimensionais (scaffolds) de gesso ortodôntico sob condições hidrotermais (120 °C e 2 atm) por 3 horas. Ao final da síntese os scaffolds foram lavados e colocados em estufa a 75 °C por 24 horas. O resultado da caracterização por difração de raios-X confirmou a presença de fase de hidroxiapatita, mas também revelou a presença de β -fosfato tricálcico (β -TCP) e ainda fase de sulfato de cálcio. A fluorescência de raios-X detectou impurezas nas amostras sintetizadas, sendo estas: silício, estrôncio e enxofre. A síntese pseudomórfica hidrotermal foi eficiente para a obtenção de hidroxiapatita e mantendo a macroestrutura dos scaffolds, mas sem pureza total.

PALAVRAS-CHAVE: Síntese hidrotermal. Hidroxiapatita. Biomateriais. Biocerâmica.

ABSTRACT

Biomaterials are materials used for the replacement and regeneration of damaged bone tissue, and may be classified as metals, ceramics, polymers and composites. Hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) is a bioceramic widely used in bone repair it is the main component of the mineral phase of bone. It consists primarily of calcium, phosphorus and oxygen and can be synthesized by solid and wet methods of reactions. Understanding the mechanisms of obtaining this material is of utmost importance in order to ensure a material capable of perfectly fulfill its function in the human body. Thus, the influence of the synthesis time, crystallography and chemical composition of hydroxyapatite obtained were the goals of this research. The precursor for the synthesis solution was prepared from 0.5 M ammonium phosphate and ammonium hydroxide 0.75 M and subsequently reacted with three-dimensional frameworks (scaffolds) orthodontic gypsum under hydrothermal conditions (120 ° C and 2 atm) for 3 hours. At the end of the synthesis scaffolds were washed and placed in an oven at 75 ° C for 24 hours. The results of the characterization diffraction X-ray confirmed the presence of hydroxyapatite phase but also revealed the presence of β -tricalcium phosphate (β -TCP) and also calcium sulphate phase. The fluorescence X-rays detected impurities in the synthesized samples, which are: silicon, strontium and sulfur. The hydrothermal synthesis was Pseudomorphic efficient for obtaining hydroxyapatite and keeping the macrostructure scaffolds but without full purity.

KEY WORDS: Hydrothermal synthesis. Hydroxyapatite. Biomaterial. Bioceramics.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Projeção da pirâmide etária do Brasil em 2060.....	17
Figura 2 – Corte transversal de osso	19
Figura 3 - Evolução do desenvolvimento dos biomateriais quanto à funcionalidade e capacidade regenerativa.	25
Figura 4 - Representação da estrutura da HA	31
Figura 5 - Estrutura da hidroxiapatita a longo do eixo c.	31
Figura 6 - Metodologia utilizada neste trabalho	34
Figura 7. Dimensões e formato dos scaffolds.....	35
Figura 8 - (a) Molde flexível de silicone; (b) base de PLA para o molde de silicone; (c) conjunto de moldagem pronto para a colagem	35
Figura 9 -Moldes com palitos inseridos (a); Scaffolds durante secagem (b).....	36
Figura 10 - Scaffolds após síntese	39
Figura 11 - Difratoograma de hidroxiapatita	40
Figura 12 - (a) Moldes de silicone montados com palitos de madeira; (b) Scaffolds de HA.	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Aplicações dos biomateriais	23
Tabela 2 – Aspectos considerados no desenvolvimento de um biomaterial.....	24
Tabela 3 – Uso clínico de biocerâmicas.....	26
Tabela 4 – Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos	29
Tabela 5 – Substituições iônicas na hidroxiapatita	30
Tabela 6 - Resultados da análise química por FRX, efetuada no pó de hidroxiapatita.	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP	Fosfato de cálcio amorfo
CERTBIO	Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste
C-HA	Hidroxiapatita carbonatada
CHS	Sulfato de cálcio hemi-hidratada
DCP	Fosfato dicálcico anidro
DRX	Difração de raios-X
FRX	Fluorescência de raios-X
HA	Hidroxiapatita
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
ONU	Organização das Nações Unidas
PLA	Ácido Polilático
β-TCP	β-fosfato tricálcico

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 OBJETIVOS	16
2.1 OBJETIVO GERAL	16
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	17
3.1 TECIDO ÓSSEO	18
3.2 BIOMATERIAIS	21
3.3 BIOCERÂMICOS	25
3.4 HIDROXIAPATITA.....	27
3.5 SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTHERMAL	32
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 MATERIAIS.....	34
4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	34
4.2.1 PREPARO DE SCAFFOLDS -----	35
4.2.2 Fabricação de Scaffolds -----	35
4.2.3 Síntese pseudomórfica hidrotermal -----	36
4.2.4 Caracterizações -----	37
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1 SCAFFOLDS OBTIDOS	39
5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X	39
5.3 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X.....	42
5.4 TEMPO DE SÍNTESE	43
6 CONCLUSÕES	45
REFERÊNCIAS	46

1 INTRODUÇÃO

Biomateriais são materiais artificiais desenvolvidos para uso em áreas de saúde com finalidade de substituir a matéria viva cuja função foi perdida. Inclui qualquer substância sintética ou natural que pode ser usada como tratamento para substituição total ou parcial de qualquer tecido, órgão ou organismos (KAWACHI, 2000).

Em 2008, o mercado de biomateriais movimentou US\$ 25,6 bilhões mundialmente, tendo a seguinte distribuição: 43% nos Estados Unidos, 33% na Europa, 3% na Ásia (Pacífico), 2% no Brasil e 19% no restante do mundo. A cifra de US\$ 44 bilhões foi atingida em 2012 e a previsão para 2017 é no valor de 88,4 bilhões de dólares, com uma taxa de crescimento de 22,1% ao ano (PIRES *et al.*, 2015). O segmento com maior representatividade econômica desse mercado é o de implantes ortopédicos, seguido por aplicações cardiovasculares e tratamento de lesões.

O impacto do uso de tais materiais na saúde humana é inquestionável, assim como a evolução em seu desenvolvimento e mercado. Contudo, existem desafios a serem solucionados, tais como: a elaboração de produtos inovadores, a criação de novas tecnologias de produção, desvendar os mecanismos que regem a interação implante/tecido vivo, entre outros (PIRES *et al.*, 2015). Existe muito a ser descoberto e aperfeiçoado, o que demanda esforços de profissionais das mais diversas áreas, como engenheiros, químicos, biólogos, farmacêuticos e físicos, como também de investimento, para explorar o potencial dessa área tão promissora.

Em busca de criar um conceito abrangente e definitivo, qualidade de vida pode ser definida com base em quatro abordagens: econômica, psicológica, biomédica e geral ou holística. Do ponto de vista biomédico, qualidade de vida está diretamente relacionada a oferecer melhores condições de vida ao enfermo, à avaliação subjetiva do paciente e ao impacto do estado de saúde na conquista de uma vida plena (PEREIRA *et al.*, 2012).

A perda da função de um órgão, ou de uma parte do corpo, incapacita o indivíduo de exercer atividades específicas e até mesmo corriqueiras. Fraturas traumáticas são resultados de traumatismos que incidem com força superior à

capacidade de deformação dos ossos, geralmente associadas a quedas, fortes pancadas e acidentes. Fraturas patológicas, por outro lado, ocorrem devido ao comprometimento da estrutura e resistência ósseas, requerendo um mínimo impacto para acontecerem. Essa fragilidade se deve a doenças invasivas, como osteoporose, tumores ósseos, doenças osteometabólicas e osteomielite, e processos degenerativos.

Para a reparação e substituição desses tecidos danificados e, conseqüentemente, garantir ao paciente saúde e melhor qualidade de vida, são utilizados materiais que desempenhem a função de suporte mecânico, mas que também participem ativamente do processo da regeneração do tecido ósseo. Nos últimos anos o desenvolvimento de materiais e dispositivos para fins biomédicos tornou-se prioridade nas políticas de desenvolvimento em todas as esferas do governo, assim como protagonista na inovação tecnológica industrial nacional e internacional (BORELLI, 2011).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência do tempo de síntese na obtenção da biocerâmica hidroxiapatita.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar a síntese pseudomórfica hidrotermal;
- Fabricar scaffolds de hidroxiapatita;
- Caracterizar o pó de hidroxiapatita quanto à sua cristalografia e composição química.

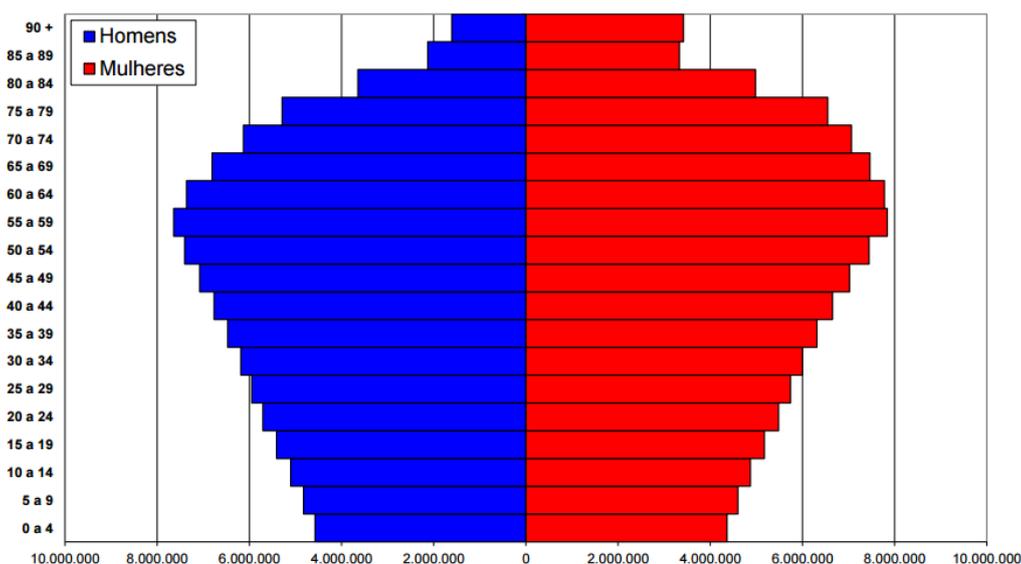
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

O envelhecimento da população mundial é um fenômeno notável desde o século XX e pretende tornar-se ainda mais acentuado no século XXI. Isso se deve, principalmente, ao declínio da taxa de fecundidade, aumento da longevidade e aos avanços da medicina. Segundo o do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), desde 1950 uma grande parcela dessa população vive em países em desenvolvimento.

A expectativa de vida aumentou substancialmente em todo o mundo. Em 2010-2015, esse índice passou a ser de 78 anos nos países desenvolvidos e 68 nas regiões em desenvolvimento. Segundo o levantamento estatístico realizado pelo Fundo de População das Nações Unidas (2012), em 2045-2050, os recém-nascidos podem esperar viver até os 83 anos nas regiões desenvolvidas e 74 naquelas em desenvolvimento.

Um indivíduo é considerado idoso a partir da idade de 60 anos. A Figura 1 mostra claramente uma alteração significativa na pirâmide etária do Brasil: o estreitamento de sua base, resultado da queda da taxa de fecundidade, seguido da expansão do tronco da pirâmide que demonstra o aumento da população ativa (14 a 64 anos) e do número de idosos (acima de 60 anos).

Figura 1 – Projeção da pirâmide etária do Brasil em 2060.



Fonte: IBGE, 2016.

De acordo com dados do IBGE, a população brasileira com mais de 65 anos vai quadruplicar, segundo projeção feita baseada em dados coletados no Censo 2010. Segundo o órgão, a população com essa faixa etária deve passar de 14,9 milhões (7,4 % do total), em 2013, para 58,4 milhões (26,7 % do total), em 2060; e com o aumento da expectativa de vida para 81 anos, sendo que as mulheres continuarão a viver mais do que os homens.

O envelhecimento da população traz consigo uma questão importante: como garantir a esses idosos uma vida com qualidade? O idoso consome mais serviços de saúde, as internações hospitalares são mais frequentes e o tempo de ocupação do leito é maior quando comparado a outras faixas etárias. Em geral, as doenças dos idosos são crônicas e múltiplas, perduram por vários anos e exigem acompanhamento constante, cuidados permanentes, medicação contínua e exames periódicos (LIMA-COSTA, VERAS, 2003).

Doenças relacionadas à estrutura óssea são muito comuns em idosos, como a osteoporose e a perda de massa óssea. Até a idade de 35 anos a massa óssea está em contínua formação, e então se inicia um declínio desse processo natural numa taxa de 1,5 % ao ano. Os problemas de estrutura óssea não são apenas doenças exclusivas de indivíduos de idade avançada, eles também atingem indivíduos jovens em sua fase mais produtiva, em decorrência de acidentes, notadamente automobilísticos e de trabalho (KAWACHI, 2000).

Devido o impacto desse tipo de doença na saúde pública, a Organização das Nações Unidas (ONU) declarou a década de 2000 a 2010 como “A década do osso e das juntas”. Devido à magnitude desse problema é necessário o desenvolvimento de novas tecnologias, assim como o aprimoramento das existentes, e políticas públicas a fim de garantir tratamento e qualidade de vida aos pacientes.

3.1 TECIDO ÓSSEO

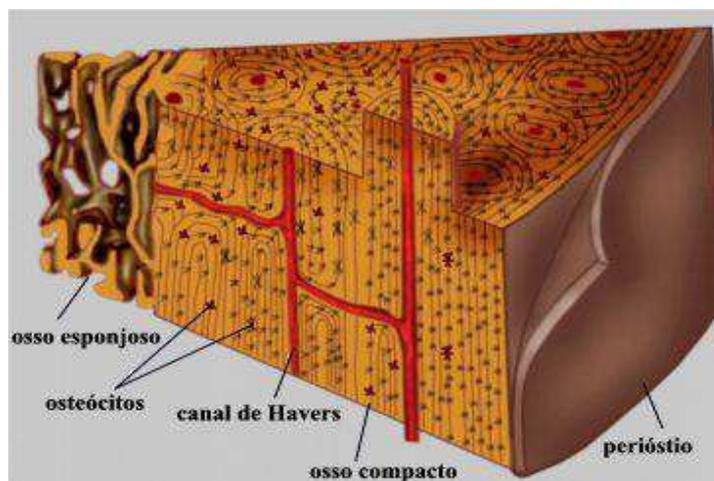
Apesar da aparente idéia de inércia, o tecido ósseo está em constante atividade por toda a vida do organismo. Esta permanente reorganização do tecido ósseo é levada a cabo por diversas células ósseas, que assumem várias formas e funções e que, no seu

conjunto, constituem a série osteoblástica e a série osteoclástica, responsáveis pela constante formação, reabsorção, reparação e manutenção da microarquitetura óssea (JUDAS *et al.*, 2012).

Durante o crescimento animal o tecido ósseo se adapta as constantes alterações inerentes a esse processo, tendo um desenvolvimento em perfeita sincronia com o tecido muscular e adiposo. Aproximadamente 99 % de todo o cálcio presente no organismo se encontra nos ossos, que também servem como reserva desse íon, e a manutenção de sua concentração (calcemia) são de extrema importância para o funcionamento normal do organismo.

A matriz óssea pode ser considerada um compósito, constituída por 70 % de minerais, 20 % de matriz orgânica e 10 % de água. A matriz inorgânica ou mineral é composta por cálcio e fósforo na forma de cristais de hidroxiapatita e equivalem cerca de 70 % do peso do osso, conferindo rigidez e resistência à força de compressão. Outros minerais estão presentes nesta matriz, e são eles: 13 % de carbonato de cálcio (CaCO_3) e 2 % de fosfato de magnésio $\text{Mg}(\text{PO}_4)_2$. A matriz orgânica é composta em sua maioria por fibras de colágeno e representa 90 % de toda matriz protéica do osso, e é responsável por conferir resistência a força de tensão aos ossos (HENN, 2010). A Figura 2 mostra o interior do osso. A ossificação é o modo pelo qual ocorre a formação do tecido ósseo, e pode ser de dois tipos: ossificação endocondral e ossificação intramembranosa.

Figura 2 – Corte transversal de osso



Fonte: Só Biologia, 2016.

A ossificação endocondral tem início no centro de ossificação primário de modelo cartilaginoso. Basicamente, um modelo de cartilagem hialina serve de molde para a formação do osso. Esse molde é destruído e substituído de acordo com o surgimento do tecido, e, geralmente, possui tamanho menor do que o osso formado. Ossos curtos e longos são criados dessa forma (ANDIA *et al.*, 2006; HENN, 2010).

A ossificação intramembranosa tem início no centro de ossificação primário sem modelo cartilaginoso e as células mesenquimatosas (células tronco adultas originadas do tecido embrionário derivado do mesoderma) coordenam todo o processo. Ossos planos e irregulares do esqueleto cefálico, assim como o aumento da espessura de ossos longos obedecem a esse processo.

As células que compõem o tecido ósseo são divididas em duas séries: linha osteoblástica e linha osteoclástica. A primeira é responsável pela formação e mineralização da matriz óssea, e tem origem em células mesenquimatosas pluripotenciais que passam por uma complexa seqüência de proliferação e diferenciação que leva a criação de osteoblastos maduros. Essa classe abrange pré-osteoblastos, osteoblastos maduros, células de revestimento ósseo e osteócitos. A segunda está intimamente relacionada à reabsorção óssea, e essas células são encontradas em superfícies do endóstio e perióstio e abrange os monócitos circulantes, pré-osteoclastos e osteoclastos (ANDIA *et al.*, 2006) (JUDAS *et al.*, 2012).

O processo de remodelagem dos ossos é tão antigo quanto o próprio tecido, e mostra a influência do processo evolutivo no desenvolvimento dos organismos. O processo de manutenção da estrutura óssea permite eficácia e velocidade de movimentos, apresenta uma elevada especificidade quanto ao local que precisa de reparos (HEEN, 2010). Além de reparar e adaptar a estrutura óssea existe também a atividade metabólica: participando da homeostasia do cálcio plasmático.

A remodelação óssea consiste num mecanismo de substituição, ou reconstrução, de áreas de tecido ósseo de modo a preservar a sua integridade, aperfeiçoar a sua função e prevenir a sua degradação (OLIVEIRA *et al.* 2010). Para isso, a substituição óssea é iniciada por uma fase de reabsorção osteoclástica, logo seguida por uma etapa de formação osteoblástica. É um processo complexo, controlado pela interação de forças

mecânicas, hormonais sistêmicas, citocinas, prostaglandinas e fatores de crescimento produzidos localmente (JUDAS *et al.*, 2012).

3.2 BIOMATERIAIS

Tais materiais são dispositivos que entram em contato com sistemas biológicos (incluindo fluidos biológicos), com aplicações diagnósticas, vacinais, cirúrgicas ou terapêuticas, podendo ser constituídos de compostos de origem sintética ou natural, assim como de materiais naturais quimicamente modificados, tanto na forma de sólidos como de géis, pastas ou mesmo líquidos, não sendo necessariamente fabricados, como válvulas cardíacas de porco, e retalhos de pele humana tratados para uso como implante (PIRES, *et al.*, 2015).

Os materiais usados na substituição óssea devem ser biocompatíveis, ou seja, devem possuir características físicas e biológicas que não comprometam o tecido hospedeiro e ainda estimulem uma resposta adequada (RODRIGUES, 2013). Uma grande variedade de produtos de uso médico é proveniente de biomateriais, como dispositivos biomédicos, materiais implantáveis, dispositivos para a liberação de medicamentos, órgãos artificiais e curativos, por exemplo (CUNHA, 2010).

Usualmente, são classificados quanto ao tipo de material usado, sendo divididos em: metais, cerâmicas, polímeros e compósitos.

Os metais destacam-se devido seu desempenho mecânico (alta resistência à fadiga e à fratura), durabilidade, possibilidade de visualização em imagens de raios-X e boa condutividade elétrica (PIRES *et al.*, 2015.). Metais são amplamente utilizados como componentes estruturais com objetivo de substituição, reforço ou estabilização de tecidos rígidos. Biomateriais permanecem em contato com o fluido corpóreo e os componentes desse fluido (proteínas, íons, oxigênio dissolvido, entre outros) podem provocar a corrosão dos metais. Por conta do atrito causado pela carga mecânica imposta a implantes metálicos existe a possibilidade de liberação de partículas (FERNANDES, 2013). Problemas como osteólise, inflamações, teratogenicidade e câncer foram relatados como consequência do processo de desgaste desse tipo de

implante. Atualmente, os metais mais utilizados são ligas de titânio, titânio comercialmente puro e ligas à base de cobalto-cromo.

Polímeros são macromoléculas de alta massa molar formadas pela ligação de unidades repetitivas menores ao longo da cadeia principal (PIRES *et al.*, 2015). A fabricação de polímeros permite produzir grande variedade de forma, é um material de grande disponibilidade e baixo custo. Podem ser divididos segundo sua origem em sintéticos, obtidos por reações de polimerização, e naturais, obtidos por meio de organismo vivos (SANTOS, 2014). A degradação de polímeros deve ser estudada intensamente, não apenas por perda de funcionalidade como pelo risco de citotoxicidade decorrente da decomposição do material.

Compósitos são constituídos por uma matriz e um componente de reforço. Basicamente, compósito é uma combinação de materiais diferentes e que incorpora as propriedades de ambos os constituintes (FERNANDES, 2013). Um exemplo simples de compósitos são implantes metálicos com recobrimento de hidroxiapatita. As principais associações feitas entre materiais são metal-cerâmica e polímero-cerâmica. Estudos acerca do desenvolvimento de compósitos são crescentes, uma vez que esta classe apresenta grande potencial para a área biomédica.

A Tabela 1 mostra as diversas aplicações clínicas como também a variedade na composição química, morfologia e características específicas desses materiais. Todos esses fatores influenciam diretamente na escolha do biomaterial a ser utilizado no desenvolvimento de um dispositivo médico, neste caso implantes, que por si só é um processo com muitas etapas, testes e que envolve profissionais com variadas formações (FOOK, 2005; PIRES *et al.* 2015).

Tabela 1 – Aplicações dos biomateriais

Biomaterial	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Polímeros Poliétileno PTFE Poliéster Poliuretano PMMA Silicona	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade	Baixa resistência mecânica, degradação dependente de tempo	Suturas, artérias, veias; maxilofacial (nariz, orelha, mandíbula, dente); cimento, tendão artificial; oftalmologia
Metais e ligas Aço inoxidável Liga de titânio Liga de cobalto-cromo	Alta força de tensão, alta resistência a desgaste, energia de deformação alta	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, perda das propriedades mecânicas com tecidos conectivos moles, alta densidade	Fixação ortopédica (parafusos, pinos, placas, fios, hastes); implantes dentários.
Cerâmicas e vidros Alumina Zircônia Carbono Fosfato de cálcio Porcelana Vidros bioativos	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia alta resistência à compressão	Baixa força de tensão, baixa resistência mecânica, baixa elasticidade, alta densidade	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sanguíneos e traquéias artificiais
Compósitos Fibra de carbono-resina termofixa Fibra de carbono termoplástico Carbono-carbono Fosfato de cálcio-colágeno	Boa biocompatibilidade, inércia, resistência à corrosão, alta força de tensão	Material de fabricação incompatível	Válvula cardíaca artificial (carbono ou grafite pirolítico), implantes da juntas de joelho (fibra de carbono reforçada com polietileno de alta densidade)

Fonte: RATNER, 1996.

Embora não seja possível generalizar, devido a fatores como, por exemplo, a aplicação, elencar as propriedades que são atraentes para esse material é relevante. A Tabela 2 mostra os principais aspectos considerados no desenvolvimento de biomateriais.

Tabela 2 – Aspectos considerados no desenvolvimento de um biomaterial.

Fatores	Descrição		
	Características químicas/biológicas	Características físicas	Características mecânicas/estruturais
Propriedades dos materiais – 1º nível	Composição química: superfície e interior	Densidade	Módulos de elasticidade e cisalhamento; tensão de escoamento, resistência à tração/compressão
Propriedades dos materiais – 1º nível	Adesão	Topologia da superfície, textura e rugosidade	Dureza, módulo e resistência à flexão
Aspectos funcionais específicos	Biofuncional, bioinerte, bioativo, bioestável, biodegradável	Forma e geometria, coeficiente de expansão térmica, condutividade elétrica, cor, índice de refração, opacidade ou translucidez	Dureza, resistência à fadiga, resistência ao atrito, resistência à fricção e desgaste, resistência ao impacto, adesão, resistência à abrasão
Processo e fabricação	Reprodutibilidade, processamento posterior	qualidade, esterilizável,	embalagem,
Características do hospedeiro: tecido, órgão, espécie, idade, sexo, raça, condições de saúde, atividade e capacidade de resposta sistêmica			
Procedimento médico/cirúrgico e período de aplicação/uso			
Custo			

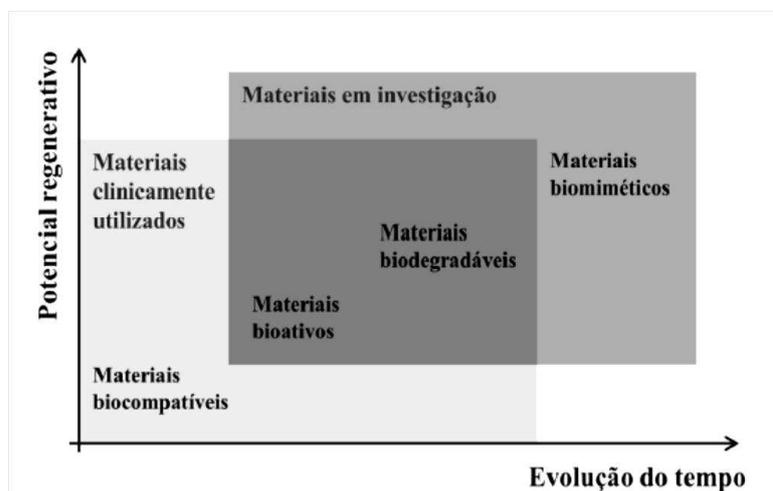
Fonte: RAMAKRISHNA, 2004.

É interessante destacar que grande parte dos materiais usados para aplicação biológica foram desenvolvidos para outro fim, e então aplicados como biomaterial.

Na década de 50, o principal objetivo dos biomateriais era substituir um tecido danificado e oferecer suporte mecânico, ou seja, desejava-se que fosse um material bioinerte. Com o passar dos anos a busca por aumentar o tempo de vida do implante, capacidade de ser reabsorvido pelo tecido hospedeiro, e mais recentemente o desenvolvimento de materiais que participem ativamente do processo de recuperação mostram uma evolução no conceito de funcionalidade desses materiais (PIRES *et al.*

2012). O interesse atual é por implantes que sejam biocompatíveis, bioativos e biodegradáveis. Essa evolução está representada na Figura 3.

Figura 3 - Evolução do desenvolvimento dos biomateriais quanto à funcionalidade e capacidade regenerativa.



Fonte: PIRES *et al.*, 2012.

3.3 BIOCERÂMICOS

Os materiais cerâmicos são compostos inorgânicos formados de elementos metálicos e não metálicos unidos por ligações iônicas e/ou covalentes e apresentam estruturas cristalinas com alto fator de empacotamento (OLIVEIRA, 2009). Esses materiais apresentam alta temperatura de fusão, baixa condutividade elétrica e térmica, possuem boa estabilidade química, são duros, porém frágeis.

A utilização de cerâmicas para fins biomédicos remonta 1894, quando Dreesman relatou o uso de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) como possível substituto para ossos (KAWACHI, *et al.*, 2000). Os elementos químicos usados na produção de biocerâmicas representam uma pequena parte de toda a Tabela periódica, sendo estes: óxido de alumínio, óxido de zircônio, dióxido de silício, carbono e alguns outros. A Tabela 3 detalha os principais usos clínicos e as biocerâmicas mais utilizadas em cada caso.

Tabela 3 – Uso clínico de biocerâmicas.

Uso clínico	Biocerâmicas
Reparo craniano	Vidros bioativos
Reconstrução maxilofacial	Al ₂ O ₃ , HA, HA-PLA, biovidro
Implantes dentários	Al ₂ O ₃ , HA, recobrimento de HA, biovidro
Aumento do rebordo alveolar	Al ₂ O ₃ , β-TCP, HA+osso autógeno, HA-PLA, biovidro, HA
Dispositivos percutâneos	Vitro-cerâmica bioativa, biovidro, HA, recobrimento de carbono pirolítico
Válvulas cardíacas	Recobrimento de carbono pirolítico
Cirurgia da coluna	Vitro-cerâmica bioativa, HA
Reparo da crista ilíaca	Vitro-cerâmica bioativa
Preenchimentos ósseos	β-TCP, sais de fosfatos de cálcio, grânulos de biovidro
Ortopedia	Al ₂ O ₃ , zircônia, PE-HÁ, recobrimento de HA e de vitro-cerâmica

Fonte: www.slideplayer.com.br (2013).

A partir da década de 1970 a utilização de biocerâmicas tornou-se mais intensa. A alumina densa (α -Al₂O₃) foi à primeira biocerâmica a ser amplamente utilizada, isso se deve a sua boa biocompatibilidade e resistência mecânica e ser bioinerte (CUNHA, 2010). Atualmente a alumina continua sendo usada com frequência em próteses ortopédicas e implantes dentários.

Em comparação as demais classes, as cerâmicas são menos densas, apresentam boa estabilidade dimensional, resistência a desgaste e compressão e comportamento consistente em ambientes ácidos (KAWACHI, *et al.*, 2000). No entanto, por conta das fortes ligações interatômicas que formam as estruturas cristalinas tridimensionais, esse tipo de material é duro, mas suscetível a fraturas, e apresenta deformação plástica desprezível. Sua sensibilidade a rachaduras ou defeitos é um agravante, uma vez que esses defeitos podem vir a ser início de fraturas.

Esses materiais podem ser classificados em duas classes: bioinerte e bioativo. Segundo a Conferência da Sociedade Européia para Biomateriais, realizada em 1986, o termo bioinerte é inadequado, no entanto ainda é bastante utilizado. Como exemplos dessa categoria tem-se alumina, zircônio e dióxido de titânio. Um material bioativo é aquele que induz uma atividade biológica específica, como a hidroxiapatita, fosfatos tricálcio e biovidros.

Segundo a classificação estabelecida por Larry L. Hench (1991), baseada na interação implante/tecido vivo, as biocerâmicas podem ser: inertes, porosas, bioativas, reabsorvíveis.

3.4 HIDROXIAPATITA

As cerâmicas de fosfato de cálcio tem merecido lugar de destaque entre as denominadas biocerâmicas por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica, ausência de respostas a corpo estranho ou inflamações, e aparente habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Tais características positivas podem ser explicadas pela natureza química destes materiais que por serem formados basicamente por íons de cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico entre fluido biológico e a cerâmica (KAWACHI, *et al.*, 2000).

As cerâmicas de fosfato de cálcio são amplamente empregadas no tratamento de defeitos ósseos e em reconstruções crânio-maxilo-facial, mas também atuam como suportes durante a liberação de hormônios, vacinas, antibióticos e cisplatina, uma vez incorporados no material (CUNHA, 2010). A baixa resistência à fadiga é um dos principais limitantes no uso dessas cerâmicas, no entanto, são amplamente utilizadas como recobrimento de implantes metálicos a fim de permitir fixação biológica ou osseointegração (FERNANDES, 2013).

Os fosfatos de cálcio são constituídos por sais de ácido fosfórico ou ortofosfórico e, sob condições alcalinas ou ácidas, podem ser sintetizadas a partir de soluções contendo íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} (DOROZHKIN, 2011; CUNHA, 2010). Atualmente quatro vias de síntese são comumente utilizadas para esse propósito:

— Via úmida (precipitação por solução aquosa);

- Via seca (reações em estado sólido);
- Métodos hidrotérmicos;
- Processo sol-gel.

Rochas de fosfato, ou fosforitos, são calcários de baixa cristalinidade e composição variável e ocorrem em diversos depósitos. O extenso e contínuo processo de lixiviação, causada pela água, que as rochas ígneas sofrem ao longo do tempo serve de fonte formação de fosfato de cálcio biológico (MAVROPOULOS, 1999).

Algumas espécies marinhas apresentam fosfato de cálcio em seu esqueleto. Uma vez que esses esqueletos não são reabsorvidos no ciclo de vida carnívoro do mar vão depositar-se no fundo de oceanos, mares e lagos formando depósitos minerais.

Existem hipóteses de que esses depósitos de apatitas são provenientes de depósitos de carbonatos de cálcio convertidos em apatitas via reação direta com fosfato dissolvido, assim como formação a partir de precipitação direta da água do mar. Esses fosfatos de origem aquática possuem cristais muito pequenos e propriedades dependentes de alta área superficial por unidade de massa (NEUMAN, 1958). Fosfatos de cálcio também são encontrados no corpo humano como componente de ossos e em calcificações normais e patológicas (JUDAS *et al.* 2012,). A Tabela 4 mostra de forma clara os fosfatos existentes no corpo humano e o local de sua ocorrência.

Tabela 4 – Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Razão Ca/p	Ocorrências
Apatita	$(Ca, Z)_{10}(PO_4, Y)_6(OH, X)_2$ Z = Mg^{2+} , Si^{2+} , Ba^{2+} ; Y = HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} ; X = Cl^- , F^-	Varia com Z e Y	Esmalte, dentina, osso, calcificação de tecido mole e outros
Fosfato de octacálcio	$Ca_8H_2(PO_4)_6 \cdot 5H_2O$	1,33	Cálculo dentário e urinário
Monohidrogeno fosfato de cálcio dihidratado	$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	1,0	Cálculo urinário e ossos decompostos
Fosfato tricálcio	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	Cálculo dentário, urinário e outros
Pirofosfato de cálcio dihidratado	$Ca_2P_2O_7 \cdot 2H_2O$	1,0	Depósito de pseudo-gotas de fluidos

Fonte: GUASTALDI, 2010.

A hidroxiapatita ($Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) é o fosfato de cálcio mais utilizado por ser o principal componente da fase mineral dos ossos. A hidroxiapatita (HA) esta presente em ossos e dentes de todos vertebrados, representando 5 % do peso total de um individuo adulto. Representa 55 % da composição dos ossos, 96 % da composição do esmalte dentário e 70 % da dentina (GUASTALDI, APARECIDA, 2010).

Ao contrário dos outros fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita não quebra sob condições fisiológicas. De fato, é termodinamicamente estável em pH fisiológico e participa ativamente na ligação óssea, formando ligações químicas fortes com os ossos em volta (AZEVEDO *et al.*, 2007).

Raramente encontrada na natureza, a hidroxiapatita possui estrutura similar a fluorapatita, sendo a principal diferença a presença de OH^- ocupando os sítios F^- . Ambos são encontrados como constituintes de rochas ígneas e metamórficas, em especial em calcários cristalinos. A HA pode ser dividida em dois tipos: aquelas sintetizadas em altas temperaturas apresentando boa cristalinidade e cristais grandes, e hidroxiapatitas sintetizadas em baixa temperatura e apresentando baixa cristalinidade e cristais pequenos (COSTA *et al.*, 2009).

A HA é um material usado em revestimentos de substratos metálicos desde 1983. É composta basicamente por cálcio, fósforo e oxigênio e pode ser sintetizada por reações de estado sólido e métodos úmidos, e aplicada na forma de grânulos, pó, densa ou porosa.

Esse material apresenta uma boa osteocondutividade, bioatividade, permite a proliferação das células ósseas, rápida adaptação óssea, íntima adesão implante/implante e um reduzido tempo de cicatrização. Por outro lado, sua lenta biodegradação é uma grande limitação. A razão Ca/P é usada para classificar os fosfatos de cálcio, uma vez que quanto maior esse número mais reabsorvível é o fosfato (COSTA *et al.*, 2009). Neste caso, a hidroxiapatita apresenta razão de 1,67 e sua degradação começa após de 4 ou 5 anos de implante seja por dissolução simples ou fagocitose por osteoblastos.

Tabela 5 – Substituições iônicas na hidroxiapatita

Íons presentes	Íons substitutos
Ca ²⁺	Ba ²⁺ Mn ²⁺ Mg ²⁺ K ⁺ Zn ²⁺ Ni ²⁺ Cu ²⁺ Sr ²⁺ Pb ²⁺ e íons trivalente de elementos de terra rara
PO ₄ ³⁻	AsO ₄ ³⁻ SO ₄ ²⁻ CO ₃ ²⁻ SiO ₄ ⁴⁻ VO ₄ ³⁻
OH ⁻	CO ₃ ²⁻ F ⁻ Cl ⁻

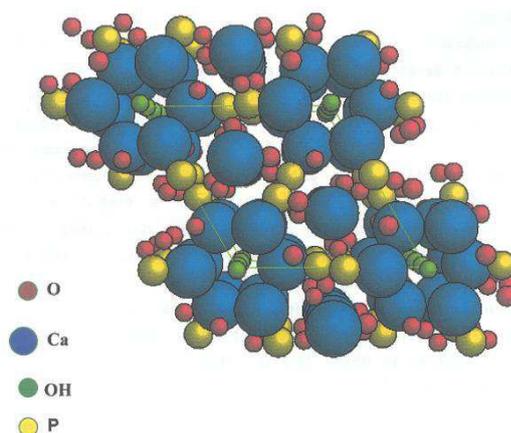
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Como mostra a Tabela 5, devido a sua facilidade de substituições iônicas a HA pode incorporar uma grande variedade de elementos; todas as substituições podem alterar a cristalinidade, os parâmetros de rede, as dimensões dos cristais, a textura superficial, a estabilidade e a solubilidade da hidroxiapatita que, por sua vez, alteram a degradação e comportamento *in vivo* (GUASTALDI; APARECIDA, 2010). Essa propriedade de substituições iônicas faz desse material um sistema regulador de íons nos líquidos corporais, assim como reserva de Ca e P.

A célula unitária hexagonal da hidroxiapatita contém 10 íons cálcio localizados em sítios não equivalentes, quatro no sítio I (Ca_I) e seis no sítio II (Ca_{II}), conforme mostra a Figura 4. Os íons cálcio no sítio I estão alinhados em colunas, enquanto os íons cálcio

do sítio II estão em triângulos equiláteros perpendiculares à direção c da estrutura (Figura 5). Os cátions do sítio I estão coordenados a 6 átomos de oxigênio pertencentes a diferentes tetraedros de PO_4 e também a 3 outros átomos de oxigênio relativamente distantes (MAVROPOULOS, 1999).

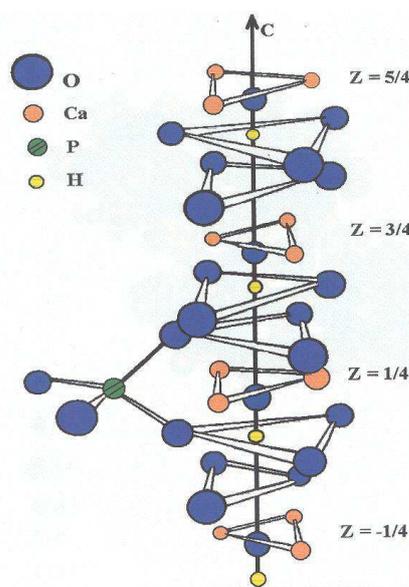
Figura 4 - Representação da estrutura da HA



Fonte: KAY *et al.*, 1994.

Como consequência de dois sítios de íons de cálcio, a hidroxiapatita pode conter impurezas, uma vez que suas propriedades estruturais são afetadas em função do sítio ocupado pelo cátion da impureza.

Figura 5 - Estrutura da hidroxiapatita a longo do eixo c.



Fonte: ELLIOT, 1994.

Os triângulos empilhados, observados na Figura 5, são resultado da ligação entre íons óxidos (O^{2-}) e íons cálcio (Ca^{2+}) com intermédio de íons fosfato. Os grupos fosfato são constituídos por quatro átomos de oxigênio, sendo dois situados em planos perpendicular à direção c e os restantes são paralelos a esta direção.

3.5 SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTÉRMAL

O termo hidrotermal foi utilizado pela primeira vez pelo geólogo britânico Roderick Murchison (1792 - 1871). Apesar dos avanços a cerca da técnica ainda não se tem uma definição definitiva, mas Yoshimura e seus colaboradores (2008) a definiram como “qualquer reação química, que ocorra em sistema fechado, aquoso ou não aquoso, em condições supercríticas ou subcríticas”.

A síntese de materiais cerâmicos via técnica hidrotermal envolve tratamentos térmicos em elevadas temperaturas. O tratamento hidrotérmico envolve o aquecimento dos reagentes, frequentemente sais, óxidos, hidróxidos ou pós de metais em solução ou suspensão aquosa (no caso de outros solventes o processo é chamado solvotermal). A solução é submetida a temperaturas de até $400^{\circ}C$ e pressão até 100 MPa (BINGOL; DURUCAN, 2012) (PEREIRA, 2012) .

Diversos óxidos têm sido sintetizados, com sucesso, via tratamento hidrotermal tanto em tamanhos micrométricos quanto nanométricos. Podemos citar como exemplos o Fe_2O_3 , TiO_2 , ZrO_2 , SnO_2 , NiO , ZnO , entre outros. A síntese hidrotermal mostrou-se adequada também para a obtenção de óxidos como $PbTiO_3$, $BaTiO_3$, PZT, $CaWO_4$, $BaWO_4$ (JUNIOR, 2008).

A água é um constituinte de extrema importância no sistema hidrotermal, por possuir propriedades únicas sob diferentes condições de temperatura e pressão como importantes mudanças em sua viscosidade, na densidade, e na constante dielétrica. Foi observado que essas mudanças podem influenciar de forma significativa a mobilidade de moléculas ou íons contidos na solução (JUNIOR AVANSI, 2010).

Segundo o Museu de Mineralogia e Petrologia “Luiz Englert” (2016), pseudomorfismo é uma palavra de origem grega e significa “forma falsa”. Pseudomorfose ocorre quando a estrutura interna de um cristal não corresponde à sua

forma externa, e pode ocorrer de 4 maneiras: inversão, alteração, substituição, incrustação e infiltração. Durante síntese pseudomórfica hidrotermal ocorre à mudança morfológica e química do material, preservando sua macroestrutura, o que caracteriza pseudomorfose de inversão.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Avaliação e Desenvolvimento de Biomateriais do Nordeste - CERTBIO, da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais, na Universidade Federal de Campina Grande, campus Campina Grande.

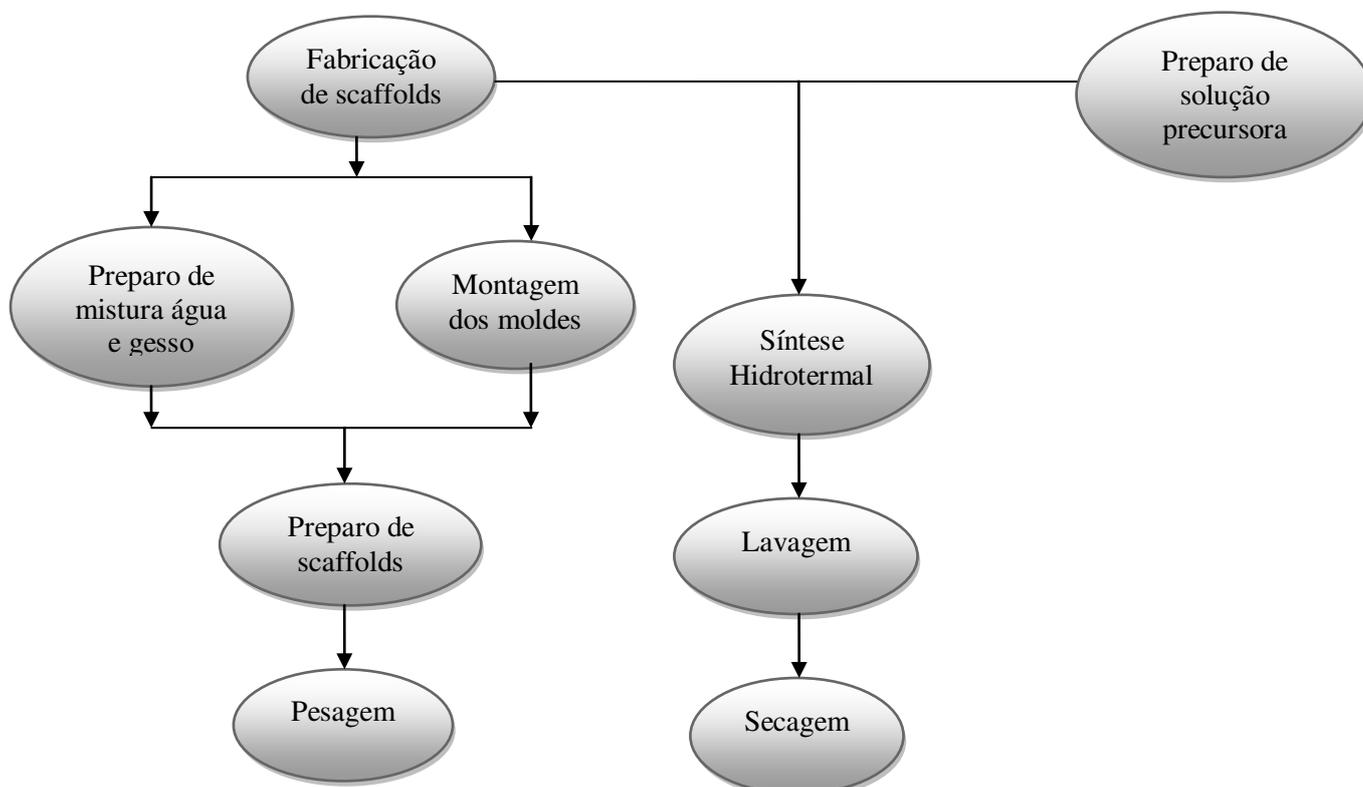
4.1 MATERIAIS

- Gesso ortodôntico
- Fosfato de amônio 0,5M
- Hidróxido de amônio 0,75M

4.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O experimento pode ser dividido em duas etapas principais: a fabricação de scaffolds e síntese pseudomórfica hidrotérmica. A Figura 6 representa o fluxograma da metodologia utilizada no presente trabalho.

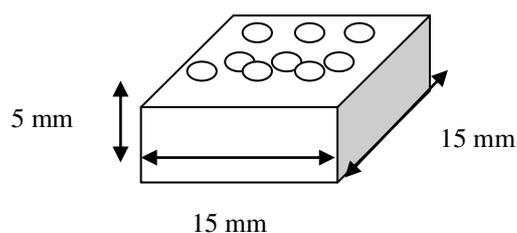
Figura 6 - Metodologia utilizada neste trabalho



4.2.1 PREPARO DE SCAFFOLDS

Os scaffolds preparados possuem 15 mm de comprimento quanto de largura e 5 mm de espessura, e com poros de 1 mm de circunferência, como pode ser visualizado na Figura 7.

Figura 7. Dimensões e formato dos scaffolds.

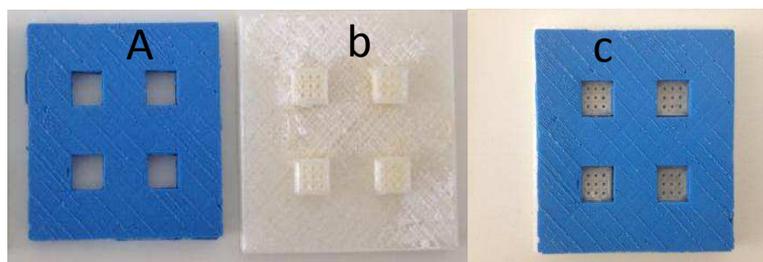


Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.2.2 FABRICAÇÃO DE SCAFFOLDS

Para a moldagem de scaffolds foi empregado o sistema de moldes indicados na Figura 8.

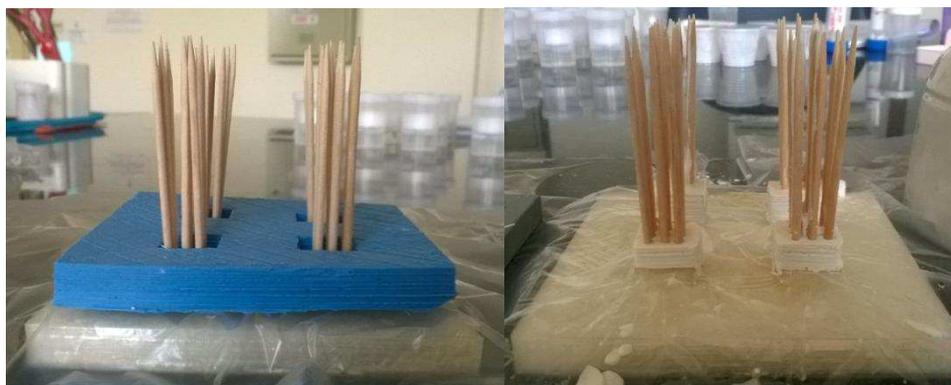
Figura 8 - (a) Molde flexível de silicone; (b) base de PLA para o molde de silicone; (c) conjunto de moldagem pronto para a colagem



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Previamente à colagem, foram inseridos palitos de dente ($\varnothing = 1,5$ mm) nos 9 furos de cada cavidade do molde (Fig. 8c). Posteriormente, foi preparada uma pasta fluida empregando uma razão água/gesso de $0,5 \text{ ml.g}^{-1}$.

Figura 9 -Moldes com palitos inseridos (a); Scaffolds durante secagem (b).



(a)

(b)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

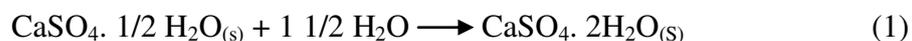
Após a inserção dos palitos, o gesso em suspensão foi vertido. Antes da pega final do gesso, os palitos foram cuidadosamente retirados. Os scaffolds foram deixados secar nos moldes e, em seguida, foram extraídos (Figura 9). Após a secagem o material foi pesado e foi obtida a média de 2g.

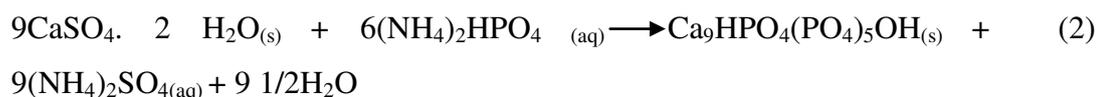
4.2.3 SÍNTESE PSEUDOMÓRFICA HIDROTERMAL

Os scaffolds fabricados foram submetidos à síntese pseudomórfica hidrotérmica segundo metodologia adaptada de BINGÖL; DURUCAN (2012). O processo é esquematizado nas Equações 1 e 2.

Foi utilizada uma solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ 0,5 M e NH_4OH 0,75M com pH de 9,8. Após determinar e registrar a massa inicial (2g), os scaffolds foram colocados em frasco de vidro de borossilicato juntamente com solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ em uma razão líquido/sólido de 10 ml.g^{-1} .

Os frascos foram tampados, mas não hermeticamente, colocados em autoclave, onde foram tratados a $120 \text{ }^\circ\text{C}$ pelo período de 3h. Os scaffolds foram posteriormente colhidos e lavados com água destilada para eliminar a solução de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4/\text{NH}_4\text{OH}$ e secos na estufa a 75°C por 24 horas.





4.2.4 CARACTERIZAÇÕES

A caracterização de materiais utiliza de técnicas instrumentais de análise visando à compreensão de diferentes aspectos relacionados à composição (massa molecular, número de oxidação) e estrutura (ligações químicas, fase cristalina) de materiais que estão diretamente ligadas às propriedades químicas e físicas dos mesmos, sendo que tais propriedades estão vinculadas a propriedades mecânicas, óticas, catalíticas, entre outras (GOMES, 2015).

4.2.4.1 Difração de raios-X (DRX)

A difração de raios-X é uma das técnicas mais indicadas para a análise de fases cristalinas presentes em sólidos cristalinos.

A determinação das fases cristalinas é possível quando os átomos se encontram de forma ordenada. E essa configuração é formada por planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios-X. Quando um cristal é exposto a um feixe de raios-X, o mesmo interage com os átomos presentes na amostra, originando o fenômeno de difração (GOMES, 2015).

A partir dos picos, e ausência deles, no difratograma é possível obter informações sobre o arranjo estrutural dos átomos indicando características de sólido cristalino ou amorfo. O principal limitante dessa técnica é que pode ser utilizada apenas em materiais que apresentam rede cristalina.

4.2.4.2 Espectrometria de fluorescência de raios-X (FRX)

A espectrometria de fluorescência de raios-X é uma técnica não destrutiva que permite identificar os elementos presentes em uma amostra (análise qualitativa) assim

como estabelecer a proporção (concentração) em que cada elemento se encontra presente na amostra.

O método de fluorescência de raios-X é considerado uma das melhores técnicas analíticas quando se trata de realizar análise elementar em todos os tipos de amostras, sejam elas líquidas ou sólidas.

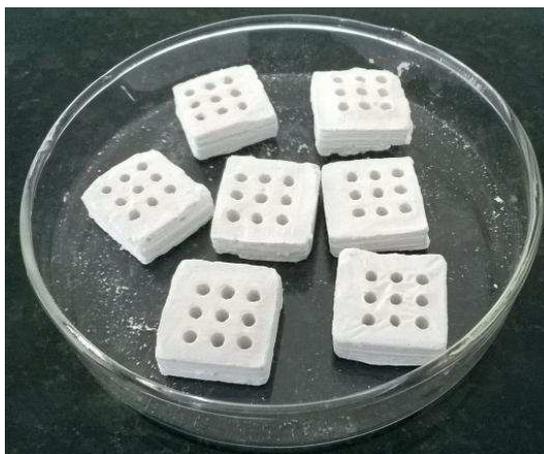
Esta técnica vem sendo utilizada principalmente para amostras sólidas, permitindo a determinação simultânea ou seqüencial da concentração de vários elementos, sem a necessidade de destruição da amostra, ou seja, de modo instrumental, sem nenhum pré-tratamento químico. Para amostras líquidas pode-se recorrer a uma pré-concentração, empregando-se troca iônica, precipitação, quelação (FILHO, 1999).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 SCAFFOLDS OBTIDOS

Os arcabouços obtidos foram macerados e o pó submetido a caracterizações para análise quanto à cristalografia e composição química. A Figura 10 mostra os scaffolds após o processo de síntese hidrotérmal.

Figura 10 - Scaffolds após síntese

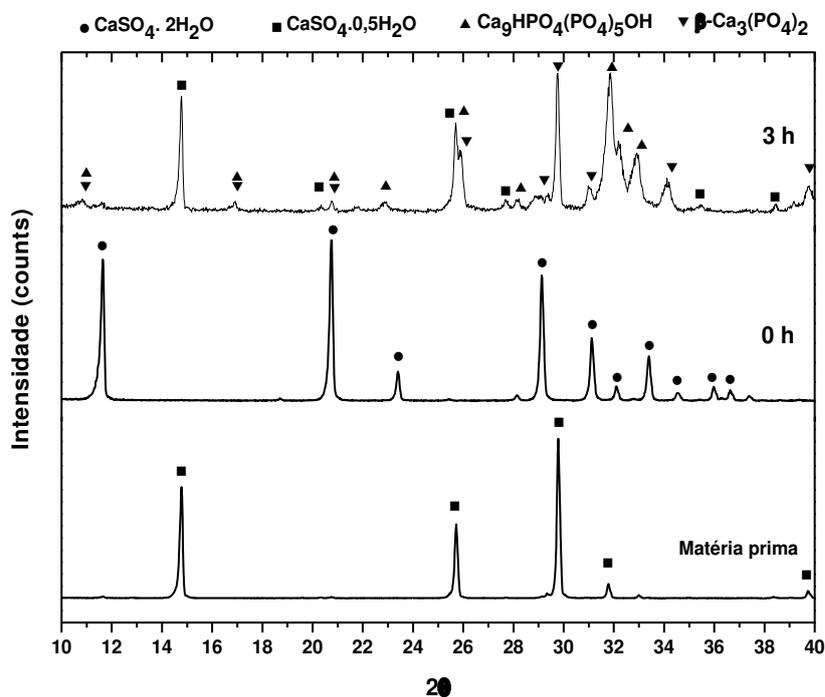


Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Com a finalidade de acompanhar as mudanças de fases a Figura 11 apresenta os padrões difratométricos em função do tempo de síntese pseudomórfica hidrotérmal.

Figura 11 - Difratoograma de hidroxiapatita.



Fonte: Dados do autor.

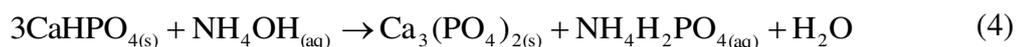
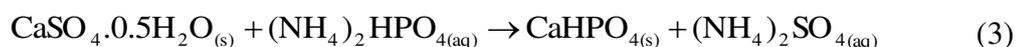
Quando da preparação da suspensão de gesso, toda a matéria prima, ou seja, o sulfato de cálcio hemi-hidratado ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) (*plaster of Paris*) presente transformou-se em sulfato de cálcio di-hidratado, conforme pode ser verificado no difratograma do scaffold no tempo de início da reação dos reagentes (0 h), conforme previsto na Equação 1.

Após as 3h de síntese pseudomórfica hidrotermal, sucede a formação da fase cristalina desejada, conforme a Equação 2, que é particularmente útil para a aplicação em regeneração óssea, ou seja, a hidroxiapatita. Outros autores têm utilizado a fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ para representar a apatita resultante da síntese pseudomórfica hidrotermal da Equação 2. Por outro lado, neste trabalho foi usada a fórmula $\text{Ca}_{10-a}(\text{PO}_4)_{6-b}(\text{CO}_3)_c(\text{OH})_{2-d}$, ciente de que a composição real, provavelmente, corresponde a uma apatita carbonatada do tipo B (CO_3 -HA ou C-HA), como visto no estudo de (SUZUKI *et al.*, 2005), que obteve uma apatita deste tipo mesmo sem qualquer adição de fonte do íon CO_3^{2-} . Segundo a literatura, o caráter alcalino do ambiente em que a reação ocorreu foi responsável pela absorção de CO_2 , a partir do ar, que foi incorporado

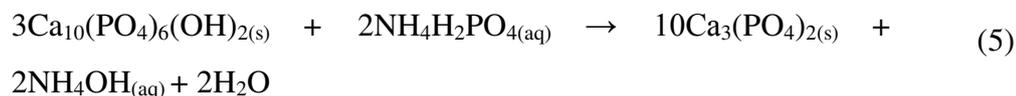
na estrutura da apatita substituindo, parcialmente, o íon PO_4^{3-} , resultando, assim, na apatita supracitada.

Além dos principais picos da HA, foram observados picos referentes ao β -fosfato tricálcico ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ou $\beta\text{-TCP}$), em $21,87^\circ$ com $d = 4,06 \text{ \AA}$ e índice de Miller = (0 2 4), em $27,76^\circ$ com $d = 3,21 \text{ \AA}$ e índice de Miller = (2 1 4), e em $31,02^\circ$ com $d = 2,88 \text{ \AA}$ e índice de Miller = (0 2 10), depois de 3h de síntese. A este ponto, faz-se necessário ressaltar que não foram encontrados relatos anteriores da cristalização do $\beta\text{-TCP}$ por síntese pseudomórfica hidrotermal do gesso em solução de hidrogênio fosfato de amônio.

Com respeito ao surgimento não previsto do $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, este pode ser obtido diretamente a partir do precipitado de fosfato de cálcio amorfo (ACP), por síntese hidrotermal, em presença de ácidos carboxílicos, (TOYAMA; NAKASHIMA; YASUE, 2002). Ainda sobre os resultados do estudo citado, o ACP foi transformado em DCP (Fosfato Dicálcico Anidro) por ação do tratamento hidrotermal a 160°C . Ao aumentar a temperatura para 200°C , houve o surgimento de um composto bifásico (DCP e $\beta\text{-TCP}$) e após um novo aumento de temperatura para 220°C , rendeu apenas a fase $\beta\text{-TCP}$. A formação do DCP e da HA no núcleo e na superfície nos cristais do sulfato de cálcio hemi-hidratado (CSH), respectivamente, durante o tratamento hidrotermal, a 120°C em solução não tamponada de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, foi anteriormente descrita por Jang *et al.*(2014). Dessa forma, pode-se admitir que na solução tamponada empregue no presente trabalho, o DCP é formado intermediariamente no núcleo dos cristais do CSH e que a reação continua até a formação do $\beta\text{-TCP}$, como exemplificado nas Equações 3 e 4.



Também há evidências para a hidrólise direta de C-HA em β -TCP, a 90°C e um pH inferior a 7 (nesse estudo, o pH baixou para 6,86), relatado por JANG e colaboradores (2015), que acontece como segue na Equação 5.



5.3 FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X

A Espectroscopia de fluorescência foi a segunda caracterização realizada na amostra obtida. A Tabela 6 apresenta a composição obtida da amostra pela qual se verifica predominância de óxidos de cálcio e fósforo, o que indica a presença de cálcio e grupos fosfatos.

Tabela 6 - Resultados da análise química por FRX, efetuada no pó de hidroxiapatita.

Constituição	Valor (%)	Desvio padrão
CaO	49,545	0,053
P ₂ O ₅	31,359	0,054
SO ₃	17,558	0,034
SiO ₂	1,450	0,022
SrO	0,179	0,002
C	0,000	-

Fonte: Dados do autor.

Essa técnica foi utilizada de forma complementar a difração de raios-X para a detecção de possíveis impurezas presentes na amostra. Os elementos silício (Si), enxofre (S) e estrôncio (Sr) foram detectados na composição química.

A presença de impurezas se deve à facilidade de substituições aniônicas e catiônicas que a HA possui. Íons Ca²⁺ foram substituídos por Sr²⁺ enquanto íons PO₄³⁻ foram substituídos por SO₄²⁻ e SiO₄⁴⁻. Como consequência desse fenômeno alterações

na cristalinidade, parâmetros de rede, textura superficial, estabilidade são observados, e têm influência direta na degradação e comportamento *in vivo*. A substituição catiônica por Sr acarreta o aumento da solubilidade do biomaterial.

O presente trabalho não se deteve ao estudo dessas alterações no comportamento.

5.4 TEMPO DE SÍNTESE

A síntese de materiais cerâmicos via técnica hidrotermal envolve tratamentos térmicos em elevadas temperaturas. O tratamento hidrotérmico envolve o aquecimento dos reagentes, freqüentemente sais, óxidos, hidróxidos ou pós de metais em solução ou suspensão aquosa (no caso de outros solventes o processo é chamado solvotermal).

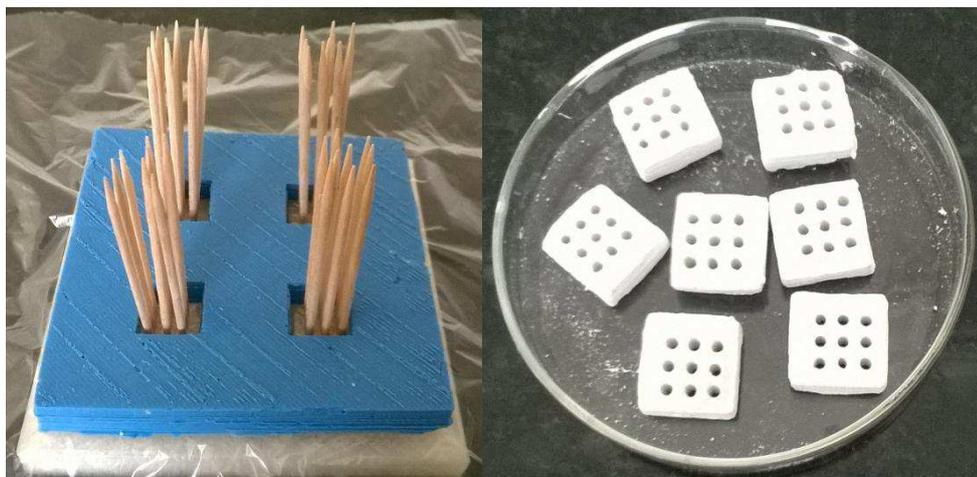
A solução é submetida a temperaturas de até 400 °C e pressão até 100 MPa. Entre as vantagens desse método estão: síntese do material em etapa única, obtenção de material com alto nível de cristalinidade, mesmo com as trocas catiônicas, e uniformidade no tamanho das partículas, economicamente viável e versatilidade.

A conversão em hidroxiapatita tem início aos 15 minutos de síntese. De maneira oposta do que é relatado na literatura, neste caso específico, após 3 horas de síntese ainda existia fase de sulfato de cálcio. A ocorrência inesperada dessa fase pode estar relacionada com os reagentes utilizados na preparação da solução precursora, podendo estar com sua composição química alterada por contaminações cumulativas e efeito do tempo.

Pseudomorfismo é uma palavra de origem grega e significa “forma falsa”. Pseudomorfose ocorre quando a estrutura interna de um cristal não corresponde à sua forma externa, e pode ocorrer de 4 maneiras: inversão, alteração, substituição, incrustação e infiltração. Durante síntese pseudomórfica hidrotermal ocorre à mudança morfológica e química do material, preservando sua macroestrutura, o que caracteriza pseudomorfose de inversão.

A Figura 12 faz um comparativo entre a forma conferida pelos moldes de silicone e os scaffolds de hidroxiapatita.

Figura 12 - (a) Moldes de silicone montados com palitos de madeira; (b) Scaffolds de HA.



(a)

(b)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

6 CONCLUSÕES

- Por meio da síntese hidrotermal foi possível a obtenção de scaffolds.
- Foi identificada a fase cristalina hidroxiapatita juntamente com β -fosfato tricálcico (β -TCP).
- Considerando o fato de que esta pesquisa apresentou a permanência de fase de sulfato de cálcio, após 3 horas de síntese, é preciso desenvolver novos trabalhos para investigar esse fenômeno.

REFERÊNCIAS

- ANDIA, D. C.; CERRI, P. S.; SPOLIDORIO, L. C. Tecido ósseo: aspectos morfológicos e histofisiológicos. **Revista de Odontologia da UNESP**, v. 35, n. 2, p. 191-98, 2006.
- ARTHUSO, F. S.; BARTOLINI, P.; SOARES, C. R. J. Laboratory production of human prolactin from CHO cells adapted to serum-free suspension culture. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 167, n. 8, p. 2212-2224, 2012.
- AZEVEDO, A. G. S. Avaliação das mudanças cristalográficas e morfológicas com o aumento da temperatura de sinterização de pós de hidroxiapatita. **Revista da Universidade Vale do Rio Verde**, Três Corações, v. 10, n. 2, p. 297-307, ago./dez. 2012.
- AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; MELO COSTA, A. C. F. Materiais cerâmicos utilizados para implantes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 35-42, 2007.
- BINGOL, O. R.; DURUCAN, C. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite from calcium sulfate hemihydrate. **Am. J. Biomed. Sci**, v. 4, n. 1, p. 50-59, 2012.
- BORELLI, V. **Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais**: estudo das inter-relações científicas, tecnológicas e normativas. 2011. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.
- BORELLI, V.; MEDEIROS, F.; MAIA, M.; MEDEIROS, R.; HIGA, O. Z. Biocompatibilidade de biomateriais: estudo exploratório sobre a aplicação da norma ISO 10.993. In: **6 Congresso Latino Americano de 2008 Órgãos Artificiais e Biomateriais, COLAOB**. 2014.
- CIVIDATTI, L. N.; DOS SANTOS, V.; URBANO, A.; SILVA, A. F.; DALL'ANTONIA, L. H.. Estudo da Influência do Tempo de Síntese na Obtenção de Hidroxiapatita por Hidrotermal/micro-ondas. **Orbital-The Electronic Journal of Chemistry**, v. 6, n. 1, p. 7-13, 2014.
- COSTA, A. C. F. M.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V.; LIRA, H. L. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, 2009.
- COSTA, H. S.. **Fabricação de biocerâmicas de matriz porosa com estrutura em alumina, recobrimento superficial de fosfato de cálcio e zinco incorporado à superfície**. 126f. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais. 2006.

CUNHA, M. A. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada obtidos por aspersão de solução em chama.** Trabalho de conclusão de graduação. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

COSTA, R. C. C.; MIGUEL, F. B.; ROSA, F. P. Estratégias de bioengenharia tecidual na reconstrução óssea. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 4, n. 1, 2010.

DOROZHKIN, S. V. Medical application of calcium orthophosphate bioceramics. **Bio**, v. 1, n. 1, p. 1-51, 2011.

DOS MINISTÉRIOS, Esplanada. Estratégia Nacional de Biotecnologia: interfaces com a saúde humana. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, n. 5, p. 938-940, 2006.

EARL, J. S.; WOOD, D. J.; MILNE, S. J. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite. In: **Journal of Physics: Conference Series**. IOP Publishing, 2006.

ELLIOTT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates.** London: Elsevier Science, 1994. 389p.

FERNANDES, J. M. **Síntese e caracterização de cimento de α - fosfato tricálcico reforçado com hidrogel de alginato de sódio e PVA para aplicação médico-odontológica.** 166f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2013.

FERRETTI, M.; TIRELLO, R. A. Princípios e aplicações de espectroscopia de fluorescência de Raios X (FRX) com instrumentação portátil para estudo de bens culturais. **Revista CPC**, n. 7, p. 74-98, 2009.

FOOK, M. V. L. **Desenvolvimento de técnica de deposição de hidroxiapatita pelo método biomimético na superfície polietileno de ultra-alto peso molecular para aplicação como biomaterial.** 127 f. (Tese de Doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2005.

FORMOSO, A.; GUILLAMA, D.; GARCÍA, B.; MARTIN, Y.; GONZÁLEZ, R.; GONZÁLEZ, E.; LÓPEZ, M.; BÉCQUER, C. Gestão da qualidade na produção e comercialização de biomateriais. In: **V Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2011** May 16-21, 2011, Habana, Cuba. Springer Berlin Heidelberg, 2013. p. 495-498.

FUNDO DE POPULAÇÃO DAS NAÇÕES UNIDAS (UNFPA). **Envelhecimento no século XXI: celebração e desafio** (Resumo Executivo). Nova York, 2012.

GRANDI, G. **Reparo do tecido ósseo irradiado após utilização de beta fosfato tricálcico associado à hidroxiapatita:** estudo em ratos. Tese de doutorado. Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2013.

GOMES, P. B. **Caracterização de materiais:** uma abordagem das possibilidades de algumas técnicas instrumentais. 35f. (Trabalho de conclusão de curso). Universidade Federal de São João Del-Rei. 2015

GOMIDE, V. S.; ZAVAGLIA, C. A. C. Desenvolvimento e Caracterização Mecânica e Estrutural do Compósito Hidroxiapatita-Alumina para fins Biomédicos. In: **17 CEBECIMat-Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, Foz do Iguaçu, PR, Brasil. 2006.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química nova**, p. 1352-1358, 2010.

HATTORI, T.; IWADATE, Y.; KATO, T. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite from calcium pyrophosphate. **Journal of materials science letters**, v. 8, n. 3, p. 305-306, 1989.

HENCH, L. L. Bioceramics: from concept to clinic. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 74, p. 1487-1, 1991.

HENCH, L. L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, p. 1419-1423, 1998.

HENCH, L. L.; ETHRIDGE, E. C. **Biomaterials an interfacial approach**. New York: Academic Press, 1982.

HENN, J. D. **Seminário Bioquímica do tecido ósseo**. 19f. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2010.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: **Censo Demográfico 2010**. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>. **Acesso em:**

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística: **Projeção da População do Brasil por sexo e idade: 2000-2060**. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/projecao_da_populacao/2013/default.shtm. **Acesso em:**

ISHIKAWA, K. Bone Substitute Fabrication Based on Dissolution-Precipitation Reactions. **Molecular Diversity Preservation International**, v. 3, n. 2, p. 1138–1155, 2010.

JANG, H. L.; JIN, K.; LEE, J.; KIM, Y.; NAHM, S. H.; HONG, K. S.; NAM, K. T. Revisiting whitlockite, the second most abundant biomineral in bone: nanocrystal synthesis in physiologically relevant conditions and biocompatibility evaluation. **ACS nano**, v. 8, n. 1, p. 634-641, 2013.

JANG, H. L.; LEE, H. K.; JIN, K.; AHN, H. Y.; LEE, H. E.; NAM, K. T. Phase transformation from hydroxyapatite to the secondary bone mineral, whitlockite. **J. Mater. Chem. B**, v. 3, n. 7, p. 1342–1349, 2015.

JINAWATH, S.; PONGKAO, D.; YOSHIMURA, M. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite from natural source. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, n. 5, p. 491-494, 2002.

JUDAS, F.; PALMA, P.; FALACHO, R.I.; FIGUEIREDO, H. **Estrutura e dinâmica do tecido ósseo**. Clínica Universitária de Ortopedia, HUC. Coimbra. 2012.

JUNIOR AVANSI, M. **Síntese de nanopartículas de óxido de vanádio obtidas pela decomposição de peróxido**. 153f. (Tese de Doutorado). Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo. 2010.

KALACHE, A.; VERAS, R. P.; RAMOS, L. R. O envelhecimento da população mundial: um desafio novo. **Rev Saúde Pública**, v. 21, n. 3, p. 200-10, 1987.

KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D. Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials**, v. 26, n. 27, p. 5474-5491, 2005.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O L. Bioceramics: tendencies and perspectives of an interdisciplinary area. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.

KAY, M. I.; YOUNG, R. A.; POSNER, A. S. Crystal Structure of Hydroxyapatite. **Nature** vol 204, p.1050-1055. 1964.

KILSZTAJN, S.; ROSSBACH, A.; CÂMARA, M. B. Serviços de saúde, gastos e envelhecimento da população brasileira. **Revista brasileira de estudos de população**, v. 20, n. 1, p. 93-108, 2013.

KWON, S.; JUN, Y. K.; HONG, S. H.; KIM, H. E. Synthesis and dissolution behavior of β -TCP and HA/ β -TCP composite powders. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 23, n. 7, p. 1039-1045, 2003.

LAVRADOR, I. F. **Desenvolvimento de biomateriais para futura aplicação em medicina regenerativa**. 98f. (Dissertação de Mestrado). Universidade da Beira Interior. 2008.

LIMA-COSTA, M. F.; VERAS, R. Saúde pública e envelhecimento. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 3, p. 700-701, 2003.

LIMA, S. A; SOUZA, J. C.P.; CAMARGO, N. H. A.; PUPIO, F.; SANTOS, R. B. M.; GENELLI, E. Síntese e caracterização de pós nanoestruturados de hidroxiapatita. In: **5 Congresso Latino Americano de 2008 Órgãos Artificiais e Biomateriais, COLAQB**. 2008. p. 1-6.

LIMA, T. A. Remacre Munareto. **Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio meso e macroporosos para sistemas de liberação controlada de fármacos**. 155f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Sergipe. 2015.

LIMA, I.; ÁPPOLONI, C.; OLIVEIRA, L.; LOPES, R. T. Caracterização de materiais cerâmicos através da microtomografia computadorizada 3D. **Revista Brasileira de Arqueometria, Restauração e Conservação**, v. 1, n. 2, p. 22-27, 2007.

LIU, H. S.; CHIN, T. S.; LAI, L. S.; CHIU, S. Y.; CHUNG, K. H.; CHANG, C. S. LUI, M. T. Hydroxyapatite synthesized by a simplified hydrothermal method. **Ceramics International**, v. 23, n. 1, p. 19-25, 1997.

MATSUDO, S. M.; MATSUDO, V. K. R.; BARROS NETO, T. L. Impacto do envelhecimento nas variáveis antropométricas, neuromotoras e metabólicas da aptidão física. **Revista brasileira de ciência e movimento**, v. 8, n. 4, p. 21-32, 2000.

MAVROPOULOS, E. A **hidroxiapatita como absorvedor de metais**. 105f. (Dissertação de Mestrado). Escola Nacional de Saúde Pública – Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro. 1999.

MODESTO, C.; BRISTOT, V.; MENEGALI, G.; DE BRIDA, M.; MAZZUCCO, M.; MAZON, A.; BORBA, G.; VIRTUOSO, J.; GASTALDON, M.; NOVAES DE OLIVEIRA, A. P. Obtenção e caracterização de materiais cerâmicos a partir de resíduos sólidos industriais. **Cerâmica Industrial**, v. 8, n. 4, p. 14-18, 2003.

NASCIMENTO FILHO, V. F. Técnicas analíticas nucleares de fluorescência de raios X por dispersão de energia (EDXRF) e por reflexão total (TXRF). **Piracicaba**: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1999.

NASRI, F.. O envelhecimento populacional no Brasil. **Einstein**, v. 6, n. Supl 1, p. S4-S6, 2008.

NEIRA, I. S.; KOLEN'KO, Y. V.; LEBEDEV, O. L.; TENDELOO, G. V.; GUPTA, H. S.; GUITIÁN, F.; YOSHIMURA, M. An effective morphology control of hydroxyapatite crystals via hydrothermal synthesis. **Crystal Growth and Design**, v. 9, n. 1, p. 466-474, 2008.

NETO, C. R. S.; CAPANEMA, L. X. L.; PALMEIRA FILHO, P. L.; PIERONI, J. P.; SOUZA, J. O. B.; SILVA, L. G. Biotecnologia para saúde humana: tecnologias, aplicações e inserção na indústria farmacêutica. **BNDES Setorial**, n. 29, mar. 2009, p. 359-392, mar. 2009, 2009.

NEUMAN, W. F.; NEUMAN, M. V. The chemical dynamics of bone mineral. **The chemical dynamics of bone mineral**. 1958.

OLIVEIRA, C. S.; NASCIMENTO, M.; ALMEIDA JUNIOR, E. C.; CRUSOÉ, M.; BAHIA, P.; ROSA, F. P. Avanços e aplicações da bioengenharia tecidual. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 28-36, 2010.

OLIVEIRA, L. S. A. F.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea—método de análise e perspectivas futuras. **Revista de ciências médicas e biológicas**, v. 9, n. 1, p. 37-44, 2010.

OLIVEIRA, S. V.; MEDEIROS, K. M.; ARAÚJO, E. P.; BRAGA, C. R. C.; ARAÚJO, E. M.; FOOK, M. V. L. Caracterização química e morfológica do pirofosfato de cálcio obtido por via úmida. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 4, n. 3, 2009.

PEREIRA, E. F.; TEIXEIRA, C. S.; DOS SANTOS, A. Qualidade de vida: abordagens, conceitos e avaliação. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 26, n. 2, p. 241-250, 2012.

PEREIRA, L. M. **Síntese citrato-hidrotermal e caracterização eletroquímica de LSCF para aplicação como catodo em célula a combustível de temperatura intermediária**. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Materiais; Projetos Mecânicos; Termociências) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

PINHEIRO, M. M.; CICONELLI, R. M.; O Jacques, N.; GENARO, P. S.; MARTINI, L. A.; FERRAZ, M. B. O impacto da osteoporose no Brasil: dados regionais das fraturas em homens e mulheres adultos-The Brazilian Osteoporosis Study (BRAZOS). **Rev Bras Reumatol**, v. 50, n. 2, p. 113-27, 2010.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K; MORAES, A. M. BIOMATERIAIS: TIPOS, APLICAÇÕES E MERCADO. **Quim. Nova**, v. 38, n. 7, p. 957-971, 2015.

RAMAKRISHNA, S. **Series on biomaterials and bioengineering**. Switzerland: Singapore, 2004. v. 1, 236 p.

RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. **An introductions to materials I medicine**. San Diego: Academic Pres, 1996. 484p.

RIBEIRO, Christiane. **Processamento e caracterização de cerâmicas à base de hidroxiapatita e fosfato-tricálcico**. 112f. (Dissertação de Mestrado). Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo. 2003.

RIGO, E. C. S.; GEHRKE, S. A.; CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. **Rev. dental press periodontia implantol**, v. 1, n. 3, p. 39-50, 2007.

RODRIGUES, L. B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63-76, 2013.

SIQUEIRA, L. C. B. **Caracterização de Biomateriais compósitos PHB/HA**. 136f. (Dissertação de Mestrado). Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. 2009.

SOUSA, G. S. **Síntese, caracterização e investigação da atividade fotocatalítica dos nanocristais de ZrO_2** . 89f. (Dissertação de mestrado). Universidade Federal do Piauí. 2011.

SUCHANEK, W. L.; RIMAN, R. E. Hydrothermal synthesis of advanced ceramic powders. In: **Advances in Science and Technology**. 2006. p. 184-193.

SUZUKI, Y.; SUZUKI, Y.; MATSUYA, S.; UDOH, K. I.; NAKAGAWA, M.; TSUKIYAMA, Y.; KOYANO, K.; ISHIKAWA, K.; Fabrication of hydroxyapatite block from gypsum block based on $(NH_4)2HPO_4$ treatment. **Dent Mater J**, v. 24, p. 515-521, 2005.

TAVARES, E. L.; DOS ANJOS, L. A. Perfil antropométrico da população idosa brasileira. Resultados da Pesquisa Nacional sobre Saúde e Nutrição Anthropometric profile of the elderly Brazilian population: results of the National Health and. **Cad. Saúde Pública**, v. 15, n. 4, p. 759-768, 1999.

TOYAMA, T.; NAKASHIMA, K.; YASUE, T. Hydrothermal Synthesis of Beta-Tricalcium Phosphate from Amorphous Calcium Phosphate. **J Ceram Soc Japan**, v. 110, p. 716-721, 2002.

VALLET-REGI, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 32, n. 1, p. 1-31, 2004.

WANG, Y.; ZHANG, S.; WEI, K.; ZHAO, N.; CHEN, J.; WANG, X. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanopowders using cationic surfactant as a template. **Materials Letters**, v. 60, n. 12, p. 1484-1487, 2006.

YAZBEK, M. A.; MARQUES NETO, J. F. Osteoporose e outras doenças osteometabólicas no idoso. **Einstein**, v. 6, n. 1 sup, p. S74-S8, 2008.

YOSHIMURA, M.; BYRAPPA, K. Hydrothermal processing of materials: past, present and future. **J. Mater. Sci.** v.43, p.2085-2103, 2008.

ZHANG, F.; ZHOU, Z. H.; YANG, S. P.; MAO, L. H.; CHEN, H. M.; YU, X. B. Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite nanorods in the presence of anionic starburst dendrimer. **Materials Letters**, v. 59, n. 11, p. 1422-1425, 2005.