

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS – UNIFAL-MG

**RAFAEL DOS SANTOS GEONMONOND**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITAS  
CARBONATADAS NANOMÉTRICAS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Alfenas/MG

2015

**RAFAEL DOS SANTOS GEONMONOND**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITAS  
CARBONATADAS NANOMÉTRICAS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Química Inorgânica. Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mirta Mir Caraballo

Alfenas/MG

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Alfenas

Geonmonond, Rafael dos Santos

Síntese e caracterização de hidroxiapatitas carbonatadas nanométricas para regeneração óssea / Rafael dos Santos Geonmonond. -- Alfenas/MG, 2015.

78 f.

Orientadora: Mirta Mir Caraballo.

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2015.

Bibliografia.

1. Hidroxiapatita. 2. Microestrutura. 3. Transformações de Fase (Física estatística). 4. Tratamento Térmico. I. Caraballo, Mirta Mir. II. Título.

CDD-546

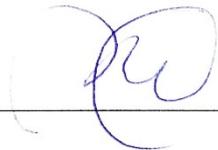
**RAFAEL DOS SANTOS GEONMONOND**

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITAS  
CARBONATADAS NANOMÉTRICAS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

A Banca Examinadora abaixo-assinada, aprova a  
Dissertação apresentada como parte dos requisitos para  
obtenção do título de Mestre em Química pela  
Universidade Federal de Alfenas. Área de  
Concentração: Química Inorgânica

Aprovado em: 20/05/2015

Profa. Dra. Mirta Mir Caraballo  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas –  
UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profa. Dra. Neide Aparecida Mariano  
Instituição: Universidade Federal de Alfenas –  
UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Alexandre Malta Rossi  
Instituição: CBPF

Assinatura: 

*À Ana Maria, Vantuil, Neusa e Naãma  
pelo apoio, incentivo e companheirismo  
na busca pelo conhecimento.*

## AGRADECIMENTOS

**A Deus**, primeiramente, toda glória por eu ter chegado até aqui.

**Às pessoas mais importantes em minha vida**, minha mãe Ana Maria e meu pai Vantuil, sem vocês nada disso seria possível. Obrigado por toda minha educação, amor, investimento, formação, afeto, companheirismo e sabedoria. Não há palavras que expressem o orgulho de ser filho de vocês! Amo vocês!

**À minha segunda Mãe e Madrinha**, Neusa Basso, por sempre me apoiar e incentivar meu crescimento profissional. Nossos momentos de conversa, afeto, risadas e companheirismo serão sempre lembrados. À você, meu muito obrigado! Amo você!

**À minha companheira especial e amiga**, Naãma Cristina Negri Vaciloto, que sempre esteve ao meu lado durante essa e outras jornadas. E pela cumplicidade, amizade e amor. E também pelos recadinhos de afeto e incentivo. Um dia veremos que isso valeu a pena! Amo você!

**À minha estimada orientadora**, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Mirta Mir Caraballo (ICEx/UNIFAL-MG), por todos os momentos de discussões mesmo quando acabavam gerando mais dúvidas inerentes a esta profissão de pesquisador. Por seus momentos de ação em 220 V e sábios conselhos profissionais e pessoais. Pelas divergências, instigações, trabalhos exaustivos, e enorme aprimoramento em minha formação acadêmica. Pelo convívio, conhecimento e aprendizado sobre uma nova cultura. Pelo Espanhol. Por ter aberto as janelas para a pesquisa, quando muitas portas se encontravam fechadas. *Más sabe el diablo por viejo que por diablo!* Obrigado por sua amizade!

**À minha estimada e batalhadora educadora**, Prof<sup>ª</sup>. Dra. Keila Bossolani Kiill (IQ/UNIFAL-MG), por seu conhecimento, humanismo e exemplo pessoal. E por sua cobrança por melhores resultados. Por ensinar e sempre batalhar pela profissão de Professor de Química. Pelo Boo. Pelas conversas e conselhos. Obrigado por sua amizade!

**Ao Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida (IQ/UNIFAL-MG)**, por me dar a oportunidade de ingressar no mundo da pesquisa científica. E pelos conselhos pessoais e profissionais. Pelas horas engraçadas, valiosas e ricas em conhecimento, tanto em aula quanto na pesquisa. Pelo apoio nas medidas e interpretação de Análise Elementar. Obrigado por sua amizade!

**Ao Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan (IQ/UNIFAL-MG)**, pelo apoio nas medidas e interpretação nas medidas de Infravermelho. Pelos conselhos e ensinamentos profissionais, meu muito obrigado!

**Ao Prof. Dr. Luciano Sindra Virtuoso e Prof. Dr. Pedro Orival Luccas (IQ/UNIFAL-MG)**, pelo exemplo de ética, humildade, dedicação e profissionalismo docente.

**Ao pesquisador Dr. Carlos Alberto Rodrigues Costa (LCS/LNNano)**, pela cordialidade, hospitalidade e pronto atendimento para realização de medidas de Microscopia de Força Atômica, meu muito obrigado!

**Ao Sr. Sidnei Ramis de Araujo (LME/LNNano)**, pela cordialidade e pronto atendimento para realização de medidas de Microscopia Eletrônica, meu muito obrigado!

**Ao Prof. Dr. Omar Teschke e Sr. Luiz Orivaldo Bonugli (IFGW/UNICAMP)**, pelo pronto atendimento na realização de medidas Raman.

**A toda minha família**, irmã(os), primos(as), agregados e amigos de Buritama, Mococa e Alfenas pela importância que vocês possuem em minha vida. Às minhas tias Rosângela e Rosemeire pela amizade, apoio e carinho incondicionais, amo vocês!

**Aos meus amigos e companheiros de sempre**, Lucas Souza (Lukete), Lucas Magno (Rádio), Renan Carnevale (Nô), Ruhan Melo (Duvirgi) e companheiros do “Terceirão A”, que nossa amizade seja eterna!

**A todos os amigos da Química e Física**, pelo crescimento, aulas, debates, ideias e momentos de descontração. E aos amigos do LEQuim, LANTin, LabIQ e LACFar, meu muito obrigado!

**A todos os amigos e familiares**, incluindo os não citados que diretamente ou indiretamente estiveram comigo e mesmo nas divergências contribuíram para minha formação e crescimento como pessoa e sempre estarão presentes em minha vida.

**À Maria Aparecida Teixeira de Oliveira**, (Cidoca) pela amizade e companheirismo. E pela deliciosa comida diária, pudim de calda-rala e café matinal. Pelo exemplo de vida e por zelar pelo meu bem-estar em Alfenas, meu muito obrigado, “Cidi”!

**À Sueni dos Reis Sousa**, pela amizade e momentos de descontração. Pelo sagrado café nos momentos de estudos no LEQuim, meu muito obrigado, “colega”!

**Ao Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais**, pela disponibilidade de equipamentos e pessoal para medidas de Microscopias Eletrônica e de Força Atômica.

**À CAPES e a Universidade Federal de Alfenas**, pelo apoio financeiro e oportunidade de realização da pesquisa.

*“Não importa o quanto a vida possa ser ruim, sempre existe algo que você pode fazer, e triunfar. Enquanto há vida, há esperança”.*

*Stephen Hawking*

*“O sucesso é ir de fracasso em fracasso sem perder o entusiasmo”.*

*Winston Churchill*

## RESUMO

No presente trabalho foram sintetizadas amostras de hidroxiapatitas carbonatadas nanométricas (HAC) pelo método de precipitação em meio aquoso, com diferentes concentrações de carbonato,  $[\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x}]$ , na faixa  $0 \leq x \leq 2$ . As amostras foram submetidas a tratamento térmico nas temperaturas de 500, 700 e 1000 °C para estudo de possíveis transições de fase e comportamento térmico. Utilizou-se a Difração de Raios-X (DRX), Espectroscopia de Infravermelho (FTIR), Espectroscopia Raman, Análises Térmicas (TG-DTA), Microscopia de Transmissão por Varredura (STEM), Microscopia de Força Atômica (AFM) e Análise Elemental (AE) para a caracterização das HACs. Foram realizados refinamentos dos difratogramas pelo método de Le Bail, para investigação da estrutura e microestrutura cristalinas. A quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$  presente nas amostras foi determinada indiretamente pelas técnicas de AE, IV e TG. Foi sugerido por DTA e AE, que para as amostras com  $X < 0.92$  o carbonato encontra-se no sítio  $\text{PO}_4^{3-}$  e para as amostras com  $X \geq 0.92$  o carbonato foi encontrado tanto no sítio do  $\text{PO}_4^{3-}$  quanto no sítio do  $\text{OH}^-$ . Através das medidas de AFM foi visto que o tamanho de cristalito obtido é próximo ao tamanho de cristalito nas direções “ab”, obtidos pelo refinamento. Por AFM foi visto grande quantidade de material amorfo, corroborando com o fundo visto nos difratogramas. Foi verificado que a amostra HC0.00 sofreu transformação de fase total para  $\alpha$ -TCP em 700 °C e  $\beta$ -TCP em 1000 °C. Todas as HACs transformaram-se parcialmente em  $\alpha$ -TCP em 1000 °C. Os resultados sugerem que este biomaterial pode melhorar os tempos de regeneração óssea, quando comparado a um material comercialmente disponível.

Palavras-Chave: Carboapatita Nanométrica. Microestrutura. Transformações de Fase. Tratamento Térmico.

## ABSTRACT

In this study samples were synthesized of nano carbonated hydroxyapatites (HAC) by the precipitation method in aqueous solutions with different concentrations of carbonate,  $[\text{Ca}_{10-x}(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x(\text{OH})_{2-x}]$ , in the range  $0 \leq x \leq 2$ . The samples were subjected to heat treatment at temperatures of 500, 700 and 1000 °C to study the possible phase transitions and thermal behavior. We used the X-ray diffraction (XRD), Infrared Spectroscopy (FTIR), Raman Spectroscopy, thermal analysis (TG-DTA), Scanning Transmission Electronic Microscopy (STEM), Atomic Force Microscopy (AFM) and Elemental Analysis (EA) for the characterization of HACs. Refinements were made of diffraction patterns by the method of Le Bail for investigation of structure and crystalline microstructure. The amount of  $\text{CO}_3^{2-}$  present in the samples was determined indirectly by techniques EA, FTIR and TG. It was suggested by DTA and EA, for the samples with  $x < 0.92$  carbonate is  $\text{PO}_4^{3-}$  and the site for the samples with  $x \geq 0.92$  carbonate was found either at the site of the  $\text{OH}^-$  as  $\text{PO}_4^{3-}$  site. Through the AFM measures, it was seen that the crystallite size is obtained near the crystallite size in the directions "ab", obtained by refinement. By AFM was seen lots of amorphous material, corroborating the background seen in the diffraction patterns. It was found that the sample suffered HC0.00 total phase transformation to  $\alpha$ -TCP at 700 °C and  $\beta$ -TCP at 1000° C. All HACs became partially  $\alpha$ -TCP at 1000 °C. The results suggest that this biomaterial may improve bone regeneration times compared to a commercially available material.

Keywords: Nanometric Carboapatite. Microstructure. Phase Transformation. Heat Treatment.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AE	-	Análise Elementar
DTA	-	Análise Térmica Diferencial
CIF	-	Arquivo de Informação Cristalográfica
DSC	-	Calorimetria Exploratória Diferencial
CV	-	Coefficiente de Variação
DRX	-	Difração de Raios-X
FTIR	-	Espectroscopia Vibracional na Região do Infravermelho
HAC	-	Hidroxiapatita Carbonatada
HAP	-	Hidroxiapatita Estequiométrica
R <sup>2</sup>	-	Índice de Correlação Linear
FWHM	-	Largura à Metade da Altura
AFM	-	Microscopia de Força Atômica
STEM	-	Microscopia Eletrônica de Varredura por Transmissão
ATR	-	Refletância Total Atenuada
TC	-	Tamanho Médio Aparente do Cristalito
TA	-	Temperatura Ambiente
TG	-	Termogravimetria
3D	-	Três dimensões
$\alpha$ -TCP	-	$\alpha$ -Fosfato Tricálcico
$\beta$ -TCP	-	$\beta$ -Fosfato Tricálcico

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Teores experimentais de carbono obtidos para as séries de amostras TA, 500, 700 e 1000 °C.....	32
Figura 2 - Difractogramas para a série de amostras TA.....	34
Figura 3 - Difractogramas para a série de amostras a 500 °C .....	34
Figura 4 - Difractogramas para a série de amostras a 700 °C .....	35
Figura 5 - Difractogramas para a série de amostras a 1000 °C .....	35
Figura 6 - Difractogramas de $\alpha$ -TCP, HC0.00-TA e HC0.00-700.....	39
Figura 7 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras TA.....	40
Figura 8 - Espectros de absorção FTIR para as séries de amostras a 500 °C .....	41
Figura 9 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras a 700 °C .....	41
Figura 10 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras a 1000 °C .....	42
Figura 11 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras TA.....	43
Figura 12 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 500 °C.....	43
Figura 13 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 700 °C.....	44
Figura 14 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 1000 °C.....	44
Figura 15 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras TA .....	45
Figura 16 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 500 °C.....	46
Figura 17 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 700 °C.....	46
Figura 18 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 1000 °C.....	47
Figura 19 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 878 $\text{cm}^{-1}$ vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras TA.....	48
Figura 20 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480 $\text{cm}^{-1}$ vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras TA.....	49
Figura 21 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480 $\text{cm}^{-1}$ vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras a 500 °C .....	50
Figura 22 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480 $\text{cm}^{-1}$ vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras a 700 °C .....	50
Figura 23 - Espectros Raman para a série de amostras TA.....	51
Figura 24 - Perda de massa para a série de amostras TA .....	52
Figura 25 - Curvas DTA para a série de amostras TA .....	53

Figura 26 - Razões teórica estequiométrica e experimental de $\text{CO}_3$ , para os pares consecutivos das amostras da série TA.....	56
Figura 27 - Imagem STEM de aglomerados de HAC.....	58
Figura 28 - Topografia da amostra HC0.00-TA.....	58
Figura 29 - Topografia da amostra HC0.92-TA.....	59
Figura 30 - Topografia da amostra HC2.00-TA.....	59
Figura 31 - Topografia da matriz de mica utilizada.....	59
Figura 32 - Imagem de fase da amostra HC0.00-TA.....	60
Figura 33 - Imagem de fase da amostra HC0.92-TA.....	61
Figura 34 - Imagem de fase para a amostra HC2.00-TA.....	61
Figura 35 - Imagem de fase da matriz de mica utilizada.....	62

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.....	19
Tabela 2 - Razão Ca/P de vários fosfatos de cálcio.....	20
Tabela 3 - Elementos que podem ocupar os sítios atômicos das apatitas.....	21
Tabela 4 - Composição inorgânica de ossos e dentes.....	22
Tabela 5 - Amostras de HAC sintetizadas.....	25
Tabela 6 - Nomenclatura utilizada nas séries de HACs nanométricas.....	26
Tabela 7 - Teores de carbono e carbonato para as HACs determinados teóricos e experimentalmente.....	31
Tabela 8 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras TA.....	36
Tabela 9 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 500 °C.....	37
Tabela 10 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 700 °C.....	37
Tabela 11 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 1000 °C.....	38
Tabela 12 - Áreas médias dos modos vibracionais centrados em 878 cm <sup>-1</sup> para a série de amostras TA.....	47
Tabela 13 - Áreas médias para os modos vibracionais centrados em 1418 e 1480 cm <sup>-1</sup> para a série de amostras TA.....	48
Tabela 14 - Perda de massa atribuída a degradação de carbonato.....	53
Tabela 15 - Temperatura de ocorrência de picos para a substituição do tipo A.....	54
Tabela 16 - Razões experimentais da quantidade CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> e suas razões teóricas estequiométricas para os pares consecutivos obtidos por AE, TG e FTIR das amostras a TA.....	55
Tabela 17 - Razões experimentais de carbonato para pares de amostras a 500 °C.....	56
Tabela 18 - Razões experimentais de carbonato para pares de amostras a 700 °C.....	57

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>18</b>
2.1	BIOMATERIAIS, FOSFATOS DE CÁLCIO .....	18
<b>2.1.1</b>	<b>Fosfatos de Cálcio de Interesse Biológico.....</b>	<b>20</b>
2.1.1.1	Apatitas.....	21
2.1.1.2	Aplicações das HACs.....	23
2.1.1.3	Antecedentes de Invenção, Pesquisa e Desenvolvimento .....	24
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>25</b>
3.1	PREPARO DAS AMOSTRAS .....	25
<b>3.1.1</b>	<b>Síntese das HACs nanométricas.....</b>	<b>25</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Tratamento Térmico .....</b>	<b>26</b>
<b>3.1.3</b>	<b>Nomenclatura utilizada para as amostras.....</b>	<b>26</b>
3.2	CARACTERIZAÇÃO DAS HACs .....	27
<b>3.2.1</b>	<b>Análise Elementar (AE) .....</b>	<b>27</b>
<b>3.2.2</b>	<b>Difração de Raios-X (DRX) .....</b>	<b>27</b>
3.2.2.1	Refinamento dos Difratomogramas.....	28
<b>3.2.3</b>	<b>Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.4</b>	<b>Espectroscopia Raman.....</b>	<b>28</b>
<b>3.2.5</b>	<b>Análises Térmicas.....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.6</b>	<b>Microscopia Eletrônica de Varredura por Transmissão (STEM).....</b>	<b>29</b>
<b>3.2.7</b>	<b>Microscopia de Força Atômica (AFM).....</b>	<b>30</b>
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>31</b>
4.1	ANÁLISE ELEMENTAR.....	31
4.2	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X.....	33
<b>4.2.1</b>	<b>Refinamento dos difratogramas.....</b>	<b>36</b>

4.3	ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER.....	39
<b>4.3.1</b>	<b>Deconvolução e Análise dos Picos de FTIR .....</b>	<b>47</b>
4.4	ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	51
4.5	ANÁLISES TÉRMICAS .....	52
4.6	DETERMINAÇÃO SEMI-QUANTITATIVA DE CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> .....	54
4.7	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR TRANSMISSÃO .....	57
4.8	MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA .....	58
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>63</b>
<b>6</b>	<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>64</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>65</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>74</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>76</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O primeiro registro de utilização de um biomaterial data de ~2.600 anos, na cidade de Tebas, Egito, com a prótese de madeira e couro atualmente conhecida como “Dedo do Cairo”. De lá para cá, os biomateriais sofreram grandes avanços, não apenas na sua forma de obtenção, como também de aplicação e capacidade de interação com o organismo humano. Nos dias de hoje, a utilização de biomateriais para regeneração de tecidos e implantes tem ganhando grande destaque principalmente devido ao grande número de acidentes domésticos e de trabalho ou ainda casos de má formação e doenças raras [1], [2].

Muitos são os processos de fabricação de biomateriais, sendo que estes variam de acordo com o tipo de biomaterial, seja ele polimérico, cerâmico ou metálico. A forma de obtenção destes materiais ainda pode estar relacionada com o objetivo final de aplicação deste, ou ainda, o tipo de resposta biológica que se deseja obter.

O campo de biomateriais se desenvolveu historicamente de forma a se obter uma combinação satisfatória de propriedades físicas próximas àquelas do tecido substituído com uma resposta tóxica mínima para o hospedeiro. O desafio neste campo de pesquisa é que todos os dispositivos de implantes e enxertos substituem tecidos vivos cujas propriedades físicas são resultado de longo tempo de evolução e que possuem a capacidade de crescimento, regeneração e reparo. Neste sentido o controle sobre a interface tecido-biomaterial tem sido o objetivo de otimização em vários materiais, visto que as propriedades físicas da maioria dos tecidos podem ser obtidas dentro de certos limites por seleção cuidadosa de materiais ou em combinações específicas, projetadas sob medida.

Devido ao constante investimento na melhora da interface tecido-biomaterial, muitas pesquisas são feitas visando estabilizar esta interface controlando as reações químicas ou a microestrutura dos biomateriais. O controle microestrutural está fundamentado na ideia de que o tecido pode se desenvolver em poros ou regiões de depressão da superfície; se estas cavidades possuem tamanho adequado para manter uma provisão vascular necessária vital para o tecido hospedeiro. A partir disso, uma forma de controle e manipulação de interface amplamente utilizada consiste na clivagem química a partir da reabsorção do biomaterial. Nesta perspectiva o material invasor (enxerto) é degradado por células do organismo receptor e gradualmente substituído por tecido hospedeiro. Seguindo esta premissa o produto final da regeneração não teria diferença entre o enxerto e o tecido anfitrião. Neste caso obter-se-ia um

resultado semelhante a utilização de tecidos derivados do próprio paciente (métodos autogênicos) [2]–[5].

Os biomateriais baseados em fosfatos de cálcio, tal como as apatitas, podem ser decompostos em componentes solúveis, ricos em sais de cálcio e fosfatos que são metabolizados e participam dos mecanismos de mineralização em tecidos duros de ossos e dentes. Uma característica destes biomateriais é a formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada na superfície de contato com o tecido hospedeiro equivalente em composição e estrutura à fase mineral do osso e é responsável pela ligação interfacial [6], [7].

Dentre os biomateriais baseados em fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita, por ser o principal componente inorgânico da estrutura óssea tem sido muito estudada e utilizada para fins médicos, ortopédicos e odontológicos. Estudos clínicos realizados por longos períodos de tempo mostraram que a hidroxiapatita cerâmica começa a ser reabsorvida gradualmente após quatro ou cinco anos de implante. A velocidade de reabsorção pode aumentar com o aumento da área superficial, com o decréscimo da cristalinidade e, no caso da hidroxiapatita, pela substituição de  $\text{CO}_3^{2-}$  nos sítios de fosfato e hidroxila, produzindo as hidroxiapatitas carbonatadas nanométricas do tipo B, ou AB [8]–[11].

Devido à similaridade química entre hidroxiapatita carbonatada e a fase mineral dos tecidos ósseos, ela é um dos materiais mais biocompatíveis conhecidos. Como resultado estes materiais melhoram o crescimento ósseo nos locais de enxerto, estabelecendo ligações químicas entre estes e o tecido ósseo (bioatividade), permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas humanas [1], [2], [12].

O aumento no uso de materiais nanoestruturados que exibem propriedades específicas, requer que o tamanho e as microdeformações do material sejam bem determinados. Para isto a caracterização dos materiais, condições de processamento, rotas de obtenção, adição de dopantes ou aditivos devem ser bem controlados [13]–[16].

Atualmente existe notável interesse em correlacionar as propriedades do material com o tamanho das partículas, pois é conhecido que as propriedades finais do material estão fortemente correlacionadas tanto com o tamanho dos cristalitos quanto das partículas, assim como das diferentes imperfeições neles existentes. Já quando este material apresenta escalas nanométricas estas propriedades são intensificadas. Desta forma, para realizar estudos das propriedades fundamentais dos materiais e sua adequação para futuras aplicações tecnológicas, na medicina ou na indústria é indispensável o conhecimento e controle do processo de preparação das amostras [17].

O objetivo deste trabalho foi obter um material que apresente as características químicas e físicas semelhantes às do osso ao qual será implantado, promovendo assim os processos de osteointegração e regeneração óssea natural.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

A revisão de literatura contempla os principais motivos que levam a utilização de biomateriais, em especial aqueles de fosfatos de cálcio. Discute sobre os principais fosfatos de cálcio, explorando os de interesse em aplicações biológicas; A família das apatitas em especial a nano HAC, suas aplicações e antecedentes de invenção e desenvolvimento.

### 2.1 BIOMATERIAIS, FOSFATOS DE CÁLCIO

À medida que os seres vivos crescem, se movimentam e envelhecem, começam a se desgastar. O crescimento no número de esportes radicais, assim como, a incidência de acidentes domésticos, trabalhistas e automobilísticos, tem feito com que anualmente aumentem o número de cirurgias ortopédicas no Brasil. Embora muitos fatores responsáveis pelo envelhecimento não sejam compreendidos, as consequências estão bastante claras. Nossos dentes cariados/quebrados provocam dor e os ossos ficam mais frágeis com a idade e se quebram, perdendo a capacidade de movimentação e sustentação perfeitas.

A partir destas necessidades da vida humana atual, surgiram os biomateriais, que são uma substância ou mistura de substâncias que podem regenerar, substituir ou tratar um tecido, órgão ou parte do corpo humano [1]. O desafio neste campo da ciência é que todos os materiais artificiais usados para reparo ou restauração do corpo devem representar um ajuste de características e propriedades inerentes aos tecidos humanos naturais, sendo esse ajuste de fundamental importância para seu sucesso ou fracasso.

O estudo dos materiais bioativos se iniciou de forma naturalmente compreensiva pelos tecidos do sistema ósseo-dentário, já que a maior exposição a esforços físicos, torna mais difícil a necessidade de uma interação forte entre tecido-biomaterial. O mecanismo de formação de ligação envolve várias reações físico-químicas complexas, em que há a formação de uma camada de hidroxiapatita carbonatada na superfície dos implantes. Esta fase é equivalente em composição e estrutura à fase mineral do osso e é responsável pela ligação interfacial.

As cerâmicas mais estudadas, as quais possuem características de superfície bioativas e que vêm sendo utilizadas no tratamento ou substituição de ossos, envolvem os fosfatos de cálcio. O comportamento em meio biológico das cerâmicas de fosfatos de cálcio, depende muito do processamento, composição e particularmente da microestrutura. As principais aplicações das hidroxiapatitas são: reparo de defeitos ósseos em aplicações odontológicas e ortopédicas; aumento de rebordo alveolar; coadjuvante na colocação de implantes metálicos; reconstrução bucomaxilofacial; equipamentos percutâneos; reparos e substituição de paredes orbitais; recobrimento de implantes metálicos, entre outras.

Os ossos e dentes humanos são formados por compósitos naturais constituídos por moléculas de colágeno ligadas em cadeias lineares arranjadas em fibras. Entre estas moléculas há pequenos compartimentos intersticiais regularmente espaçados, onde estão presentes nanocristalitos de HAC representando aproximadamente 65% da massa total do osso, a HAC [6], [18], [19]. Devido a este grande percentual em massa, os principais fosfatos de cálcio conhecidos no corpo humano aparecem resumidos na Tabela 1.

Tabela 1 - Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.

<b>Fosfato de cálcio</b>	<b>Ocorrências</b>
– Hidroxiapatita (HA)	Esmalte, dentina, osso, cálculo dentário e urinário.
– Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Cálculo dentário e urinário.
– Fosfato octacálcico (OCP)	Cálculo dentário e urinário.
– Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	Cálculo dentário, ossos decompostos.
– Fosfato tricálcico (TCP)	Cálculo dentário e urinário, pedras salivares, cáries dentárias. Calcificação de tecido mole.

Fonte: Adaptado das referências Guastaldi e Aparecida [6], [9].

Atualmente os compostos de fosfatos de cálcio, na forma natural ou sintética, são os principais materiais empregados e estudados em técnicas de reposição, recobrimento e regeneração do tecido ósseo humano em diversos campos da odontologia, ortopedia e medicina. As características que fazem destes materiais, exímios candidatos à regeneração óssea, podem ser descritas como: semelhança com a fase mineral de ossos, dentes e tecidos calcificados; excelente biocompatibilidade; bioatividade; ausência de toxicidade; taxas de degradação variáveis e osteocondutividade (indicam o caminho para o crescimento ósseo, tanto na superfície quanto através de poros intraestruturais) [6], [10], [20].

A classificação dos fosfatos de cálcio pode ser dada levando em conta a sua razão Ca/P. Neste caso podem ser ricos em cálcio ( $\text{Ca/P} > 1$ ), equivalentes ( $\text{Ca/P} = 1$ ) ou deficientes em cálcio ( $\text{Ca/P} < 1$ ), como mostrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Razão Ca/P de vários fosfatos de cálcio.

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Ca/P
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,00
Hidroxiapatita (HÁ)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,50
Fosfato tricálcico ( $\alpha$ , $\alpha'$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$\text{CaHPO}_4$	1,00
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,00
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,70
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50
Metafosfato de cálcio ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,50

Fonte: Adaptado das referências Guastaldi e Aparecida [6], [9].

Os fosfatos de cálcio são geralmente sintetizados por precipitação de soluções em meio aquoso contendo substâncias precursoras de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ . Nestes casos, geralmente, os compostos que apresentam grupos  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  são obtidos por rotas em meio ácido, ao passo que os que apresentam os grupos  $\text{HPO}_4^{2-}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  podem ser obtidos sob condições levemente ácidas ou alcalinas [21], [22]. A variação de fatores como temperatura, tempo de maturação e agitação podem influenciar também na morfologia final dos fosfatos de cálcio, como proposto por Lin e colaboradores [23].

### 2.1.1 Fosfatos de Cálcio de Interesse Biológico

As cerâmicas baseadas em fosfatos de cálcio provaram ser materiais atrativos para aplicações biológicas devido à sua alta similaridade com o tecido ósseo duro e capacidade de regeneração. Suas primeiras utilizações remontam para a década de 1890, com o início do uso de gesso ( $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ ) como possível substituto para ossos. Em contrapartida, porém, este

material apresenta baixa resistência e é rapidamente absorvido pelo organismo, gerando fragmentação e degradação em pouco tempo [12]. Com o avanço da ciência as biocerâmicas foram cada vez mais se aperfeiçoando em capacidade de regeneração óssea e similaridade com o tecido ósseo duro. A utilização clínica destes materiais teve seu início por volta da década de 70, compondo a chamada 3ª geração de biomateriais, visando suprir os problemas de inatividade de materiais metálicos e poliméricos utilizados à época [1]. Desta forma o estudo de materiais bioativos se iniciou pelos tecidos dos sistemas ósseo e dentário, devido a maior exposição a esforços físicos, tornando necessária uma interação entre tecido-biomaterial. O conceito de uma cerâmica bioativa, capaz de interagir e se ligar ao tecido ósseo, foi originalmente sugerido por Larry Hench e colaboradores [1]. Este mecanismo de ligação envolve uma série de reações físico-químicas complexas, em que a formação de uma camada de fosfato de cálcio biologicamente ativa é induzida pelo biomaterial implantado [1], [20], [24], [25]. Atualmente os biomateriais com características de superfície bioativas, mais utilizados para regeneração e tratamento de defeitos ósseos, são o beta fosfato tricálcico ( $\beta$ -TCP) e hidroxiapatita (HAP) [10], [20].

#### 2.1.1.1 Apatitas

O conceito de apatita é um termo geral relacionado a uma família de minerais com composição  $M_{10}(ZO_4)_6X_2$ , tais como: a fluoapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6F_2]$ , a cloroapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6Cl_2]$  e hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . Este nome foi dado por Werner em 1790 [26]. Diferentes elementos podem ocupar os sítios M, Z e X, como pode ser visto na Tabela 3; Particularmente, decorrente da posição ocupada na estrutura, pode ocorrer vacâncias no sítio X [26].

Tabela 3 - Elementos que podem ocupar os sítios atômicos das apatitas.

Sítios	Elementos
M	Ca, Mg, Sr, Ba, Cd, Pb
Z	P, V, As, S, Si, Ge, C (como $CO_3^{2-}$ )
X	F, C, OH, O, Br, C (como $CO_3^{2-}$ ), vacâncias

Fonte: Adaptado da referência Aoki [26].

Na natureza, as apatitas podem ser encontradas em rochas ígneas apresentando diversas composições. Já no sistema biológico são encontradas como constituintes de ossos e dentes de vertebrados na forma de fosfatos de cálcio, onde os sítios M e Z são ocupados pelos elementos Ca e P, respectivamente, podendo o sítio X ser ocupado pelos íons  $\text{OH}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{Cl}^-$ .

Atualmente muitos trabalhos são realizados na parte da ciência dos materiais, em especial, o estudo do mineral hidroxiapatita (HAP),  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  [10], [20], [26]–[38]. Devido às diversas propriedades que apresentam estes materiais, tais como, elevada biocompatibilidade, bioatividade, intercâmbio iônico, adsorção, entre outras, comumente são muito utilizadas para substituir ossos humanos em implantes e próteses [26], [30], [31].

É conhecido que os ossos são constituídos por uma mistura química de fases inorgânicas (aproximadamente de 65 a 70%) e várias substâncias orgânicas (aproximadamente 30 a 35%) fornecendo dureza e elasticidade. A dureza dos ossos é procedente dos componentes minerais que o formam, sendo a apatita pouco cristalina, junto a pequenas quantidades de carbono, flúor, enxofre, cloro, entre outros, encontrados nas formas aniônicas  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{SO}_4^{2-}$ ,  $\text{Cl}^-$ , etc. (Tabela 4). Representando cerca de 65-70 % da composição de ossos, 96% da composição do esmalte dentário e 70% da dentina [6].

Tabela 4 - Composição inorgânica de ossos e dentes

Elementos	Dente		
	Osso (%)	Dentina (%)	Esmalte (%)
Ca	34	35	37
P	15	16	17
Mg	0,5	1	0,4
Na	0,8	0,4	0,6
K	0,2	0,1	0,2
C	1,5	1,1	0,8
Cl	0,2	Traços	0,3
F	0,08	0,03	0,01

Fonte: Adaptado da referência Guastaldi [6].

A elasticidade óssea deriva de substâncias orgânicas, como colágeno e pequenas quantidades de elastina, material celular e gorduras. Para que haja a fabricação de materiais a serem incorporados pela estrutura óssea, o ideal é que nos mesmos seja utilizada uma estrutura semelhante, onde o material de uma forma geral apresente propriedades análogas às do osso para diminuir a possível rejeição e uma rápida recuperação do paciente [6], [32], [39].

Na área terapêutica, uma das propriedades mais importantes das apatitas é o fato de se comportarem como fortes trocadores iônicos, permitindo seu uso como liberador controlado de drogas, e no tratamento de tumores ósseos. Também vem sendo utilizada na indústria química e na área de controle ambiental como catalisador e antipolvente, funcionando como peneiras iônicas e na remoção de metais pesados em águas e solos poluídos e em rejeitos industriais, devido a sua propriedade de intercâmbio iônico e da absorção de moléculas e íons metálicos [30], [31], [33], [34], [40].

De forma geral, as apatitas permitem que todos os seus íons sejam substituídos modificando as propriedades físico-químicas da amostra. A título de exemplo, a substituição dos íons hidroxilas ( $\text{OH}^-$ ) e fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) na hidroxiapatita por íons carbonatos ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) provoca diminuição na cristalinidade da amostra [10]. Em ambos os sítios, a incorporação deste íon origina hidroxiapatitas carbonatadas, que são denominadas de tipo A ou tipo B, dependendo do sítio ocupado pelo íon. Quando o íon  $\text{CO}_3^{2-}$  encontra-se ocupando o sítio X, a hidroxiapatita carbonatada é denominada do tipo A, porém, quando este íon substitui, parcialmente, o fosfato a apatita carbonatada é denominada do tipo B [26], [28], [41]–[43]. Daí o grande interesse em obter hidroxiapatitas sintéticas com propriedades específicas para cada necessidade.

Outro dos fatores importantes que influencia na cristalinidade das HACs é a temperatura de síntese [44]. Foi visto que as HAC,  $\text{Ca}_{10-x}[(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{CO}_3)_x][(\text{OH})_{2-2y}(\text{CO}_3)_y]$ , sintetizadas a baixas temperaturas podem ser incorporados maiores teores de íons carbonato no sítio do fosfato e apresentam menor cristalinidade [10]. Visando obter um material cujas propriedades requeridas possam permitir sua aplicação em grande escala, é necessário conhecer em detalhes o comportamento da estrutura com a temperatura e a composição de cada uma delas para poder correlaciona-las com propriedades do material. Para os materiais em escala nanométrica isto se intensifica ainda mais, já que o tamanho do cristalito modifica grandemente as propriedades do mesmo.

#### 2.1.1.2 Aplicações das HACs

A HAC tem sido extensivamente estudada, sendo considerada hoje, como um dos mais promissores materiais para a reintegração óssea. Isso pode ser compreendido devido a

suas elevadas propriedades de biocompatibilidade e sua similaridade química com a parte inorgânica de ossos e dentes, além de não ser tóxica e carcinogênica [33], [38], [45], [46]. Suas superfícies bioativas propiciam ligações químicas fortes com os ossos em contato [1]. Esta propriedade tem sido explorada para a rápida recuperação óssea após traumas ou cirurgias, permitindo o acompanhamento periódico através de exames [20]. Este material também tem sido usado como suporte no uso de drogas de ação prolongada para tratamento de câncer e tumores, devido a sua capacidade de absorver e adsorver moléculas [17]. Neste sentido, é adicionada a algumas pastas de dente como suave agente polidor ao invés do carbonato de cálcio, incluindo a utilização como selante para canais dentários.

Outras aplicações incluem a capacidade de reconstrução óssea alveolar defeituosa, reconstrução craniofacial, defeitos de fechamento de base cranial e temporal por efeitos de cirurgia e preenchimentos de defeitos ósseos de vários tipos [8]. Visando obter materiais de qualidade e pureza é de fundamental importância ter conhecimento dos processos de síntese, e caracterização estrutural para aplicações específicas nos ramos da medicina, ortopedia e odontologia.

### 2.1.1.3 Antecedentes de Invenção, Pesquisa e Desenvolvimento

Em uma busca pelo estado da técnica em literaturas científica e patentária foram encontradas patentes que tratam sobre hidroxiapatitas estequiométricas ou carbonatadas em diferentes formas e composições [7], [13], [14], [47]–[61].

Como descrito nestes trabalhos, vários tipos de morfologia podem ocorrer nestes materiais sejam hidroxiapatita estequiométrica ou carbonatada. De acordo com o método de síntese utilizado, podem-se gerar amostras nanométricas ou cristalinas. Um dos métodos muito utilizado é o método de precipitação em meio aquoso, de sais, bases ou ácidos dos precursores iônicos de  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  e  $\text{OH}^-$ , com pH controlado básico.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção, são descritos o procedimento de preparo das amostras bem como os equipamentos e técnicas de caracterização empregadas.

#### 3.1 PREPARO DAS AMOSTRAS

A seguir são descritos os reagentes utilizados e o processo de síntese empregado para obtenção das amostras. Também estão presentes o tratamento térmico empregado nas amostras e o estilo de nomenclatura utilizada durante o trabalho.

##### 3.1.1 Síntese das HACs nanométricas

A série de hidroxiapatitas carbonatadas  $[Ca_{10-x}(PO_4)_{6-x}(CO_3)_x(OH)_{2-x}]$ ,  $0 \leq x \leq 2$ , foi preparada pelo método de precipitação em meio aquoso, que consiste na adição controlada, gota a gota, de solução precipitante  $[(NH_4)_2HPO_4 + (NH_4)_2CO_3]$  ( $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich, EUA), sobre solução de  $Ca(NO_3)_2$  ( $\geq 99\%$ , Sigma-Aldrich, EUA). Foram utilizadas as molaridades requeridas para respeitar a estequiometria desejada em cada amostra seguindo as considerações de Araújo et al. [19] e Terra et al. [62]. A solução foi mantida em agitação e temperatura constantes e pH básico controlado pela adição de solução de KOH ( $\geq 85\%$ , Sigma-Aldrich, EUA). As amostras foram secas em estufa sem circulação de ar até obter peso constante. As amostras sintetizadas junto com seus respectivos  $\%CO_3^{2-}$  correspondentes, aparecem descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Amostras de HAC sintetizadas

<b>Amostras</b>	HC0.00	HC0.44	HC0.68	HC0.92	HC1.36	HC1.78	HC2.00
<b>%CO3 (teórico)†</b>	0,00	2,74	4,33	6,00	9,30	12,70	14,27

Fonte: Do autor.

Nota: †  $\%(m_{CO_3}/m_{total})$ , calculado com base na massa molar teórica.

### 3.1.2 Tratamento Térmico

De acordo com nossos resultados de DTA, para algumas amostras foram observados picos na faixa de temperatura de 500 a 800 °C. Visando compreender o que acontecia nestes eventos térmicos, decidimos aquecer as amostras a 500, 700 e 1000 °C e estudar detalhadamente cada uma destas séries de amostras. Para realização do tratamento térmico, as amostras foram pesadas, com massa média aproximada de 0.256 g. Deste modo, para cada série de amostras, as massas a temperatura ambiente foram submetidas ao aquecimento gradual até atingirem 500, 700 ou 1000 °C. O tratamento foi conduzido em um forno mufla 1800 3P-S (EDG, Brasil), com circulação de ar, em cadinhos de alumina, taxa de aquecimento de 5 °C.min<sup>-1</sup> e 5 minutos de permanência na temperatura final. O resfriamento foi realizado com taxa de resfriamento de 10 °C.min<sup>-1</sup> até 200 °C, quando a tampa do forno foi aberta e as amostras retiradas. Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Química da UNIFAL-MG.

### 3.1.3 Nomenclatura utilizada para as amostras

A fim de identificar as amostras, utilizou-se do seguinte padrão de nomenclatura: HCX-T, onde X é o número da estequiometria de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> nas HACs e T a temperatura de tratamento térmico à que foram submetidas. Na Tabela 6, aparecem sumarizados os parâmetros utilizados na nomenclatura em cada série de amostras.

Tabela 6 - Nomenclatura utilizada nas séries de HACs nanométricas

Nomenclatura Utilizada					HCX-T			
T					TA	500	700	1000
X	0.00	0.44	0.68	0.92	1.36	1.78	2.00	

Fonte: Do autor.

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DAS HACS

A seguir são listadas as técnicas de caracterização empregas para melhor conhecimento químico e microestrutural das amostras.

### 3.2.1 Análise Elementar (AE)

Os teores de carbono foram determinados em um Analisador Elementar modelo TruSpec CHNS-O (LECO Instruments, EUA), com forno em temperatura de trabalho de 1085 °C. Foi subtraído o valor de %C obtido na amostra HC0.00 em todas as amostras. Neste caso, é de esperar que o %C obtido nesta amostra seja atribuído ao carbono que se encontra no ar, por esta amostra não conter carbonato em sua estrutura. Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório Interdisciplinar de Química da UNIFAL-MG.

### 3.2.2 Difração de Raios-X (DRX)

A obtenção dos dados de difração de raios-x foi realizada no Laboratório de Cristalografia da UNIFAL-MG. As medidas foram realizadas em um difratômetro de pó modelo Ultima IV (Rigaku, Japão), usando radiação de  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) e monocromador de grafite. Os difratogramas foram obtidos no intervalo angular ( $2\theta$ ) de 10,00 a 90,00°, passo de 0,02°, com fenda de 5 mm e tempo de 5s.passo<sup>-1</sup>. Os dados do padrão de  $\text{LaB}_6$  foram obtidos nas mesmas condições instrumentais para obter a resolução instrumental e fazer o refinamento estrutural das amostras em estudo. A análise dos dados foi feita utilizando-se do método de refinamento de Le Bail [63], implementado no software FullProf Suite [64], [65].

### 3.2.2.1 Refinamento dos Difractogramas

O método de Le Bail [63] consiste em determinar o tamanho do cristalito e suas microdeformações de acordo com os perfis de difração. Este método foi escolhido nas amostras por apresentarem baixa cristalinidade, o que dificulta a utilização do método de Rietveld [66]. O arquivo CIF nº. 26204 [67] obtido da base de dados ICSD [68], foi utilizado para obtenção dos parâmetros de cela iniciais. Foram refinados os seguintes parâmetros: zero; fundo (background) (selecionando-se os pontos  $2\theta$  manualmente e utilizando-se de interpolação linear) e os parâmetros de cela: a, b, c. Para o ajuste do pico utilizou-se a função pseudo-Voigt Thompson-Cox-Hastings [66]. Foram refinados os parâmetros do perfil X e SZ, correspondentes à microestrutura, utilizando-se o método dos harmônicos esféricos. Neste caso foram refinados os coeficientes de anisotropia Y00, Y20, Y40, Y60 e Y66+ de acordo com o grupo de Laue 6/m.

### 3.2.3 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de infravermelho foram conduzidas em um espectrofotômetro com acessório de ATR, modelo Nicolet iS50 FT-IR (Thermo, EUA), na faixa espectral de 4000 a 425  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Cada espectro era registrado como resultado da média de 64 scans. Houve a presença de um acessório GladiATR (PIKE, EUA) de diamante, que permite a utilização da amostra diretamente na forma de pó, sem necessidade de pastilhas KBr. Todas as medidas foram realizadas no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos da UNIFAL-MG (LACFar).

### 3.2.4 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman foi realizada com o intuito de reforçar as evidências de substituição de  $\text{CO}_3^{2-}$  em sítios  $\text{PO}_4^{3-}$ . Este tipo de espectroscopia pode fornecer informações

complementares ao FTIR sobre a composição química estrutural. Os espectros Raman, foram obtidos de um Microscópio Confocal Raman CRM 200 (WITec, Alemanha) equipado com laser de 633 nm, ponto focal de 100  $\mu\text{m}$ , lentes objetivas de 60x (Nikon, Japão) e tempo de integração de 7 s. Esta etapa do trabalho foi realizada no Laboratório de Nanoestruturas e Interfaces do Instituto de Física “Gleb Wataghin”, Universidade Estadual de Campinas, Cidade Universitária Zeferino Vaz.

### **3.2.5 Análises Térmicas**

Os termogramas e curvas DTA, foram obtidos em uma balança termogravimétrica modelo TG-DTA 7300 (SII Nanotechnology, Japão), entre 30 e 1200 °C com razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, utilizando atmosfera inerte de N<sub>2</sub> a 50 mL.min<sup>-1</sup>. Utilizou-se massa média de 20 mg das amostras, em cadinhos de alumina. Todas as medidas foram realizadas no Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos da UNIFAL-MG (LACFar).

### **3.2.6 Microscopia Eletrônica de Varredura por Transmissão (STEM)**

As análises de microscopia eletrônica de varredura por transmissão, foram realizadas no LME/LNNano, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais – CNPEM, Polo II de Alta Tecnologia em Campinas/SP. Utilizou-se microscópio Inspect F50 (FEI, EUA), com aceleração de 20 kV e 400.000x de magnificação, operando em modo STEM. Foram utilizadas grades de suporte PELCO® Formvar/C/Cu 200 mesh (TED PELLA, EUA) para fixação das amostras.

### **3.2.7 Microscopia de Força Atômica (AFM)**

As análises de microscopia eletrônica de varredura por transmissão, foram realizadas no LCS/LNNano, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais – CNPEM, Polo II de Alta Tecnologia em Campinas/SP. O equipamento utilizado para a coleta das imagens foi um scanner Flex AFM (Nanosurf, Suíça), com cabeçote 10x10  $\mu\text{m}$  (x,y) e 3  $\mu\text{m}$  (z), operando em modo Tapping, com ponteiros modelo NCHR-W POINTPROBE-Sensor SPM-Silicone de 4x125x30  $\mu\text{m}$  (NanoWorld, Suíça). A umidade foi controlada em 15% com utilização de  $\text{N}_2$  proveniente do anel Síncrotron.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste tópico são mostrados e discutidos os dados referentes a microestrutura e conteúdo de  $\text{CO}_3^{2-}$  nas amostras de HAC estudadas.

### 4.1 ANÁLISE ELEMENTAR

O resultado do teor de carbono obtido por AE (Experimental) nas amostras a temperatura ambiente aparece resumido na Tabela 7, juntamente com o teor de carbono/carbonato experimental e o obtido pela estequiometria teórica da amostra (Teórico). O valor experimental para cada amostra foi obtido subtraindo o valor da amostra HC0.00 na coluna Experimental Corrigido, por esta amostra não apresentar  $\text{CO}_3^{2-}$  em sua estrutura.

Tabela 7 - Teores de carbono e carbonato para as HACs determinados teóricos e experimentalmente

Amostra	Teórico		Experimental Real		Experimental Corrigido	
	%C	% $\text{CO}_3^{2-}$	%C <sup>†</sup>	% $\text{CO}_3^{2-}$ <sup>‡</sup>	%C <sup>†</sup>	% $\text{CO}_3^{2-}$ <sup>‡</sup>
<b>HC0.00</b>	0,000	0,000	0,455	2,276	0,000	0,000
<b>HC0.44</b>	0,547	2,734	0,843	4,211	0,387	1,935
<b>HC0.68</b>	0,866	4,326	0,937	4,682	0,481	2,406
<b>HC0.92</b>	1,200	5,994	0,972	4,856	0,516	2,580
<b>HC1.36</b>	1,856	9,273	1,121	5,602	0,666	3,326
<b>HC1.78</b>	2,542	12,701	1,317	6,578	0,861	4,303
<b>HC2.00</b>	2,928	14,627	1,421	7,099	0,965	4,823

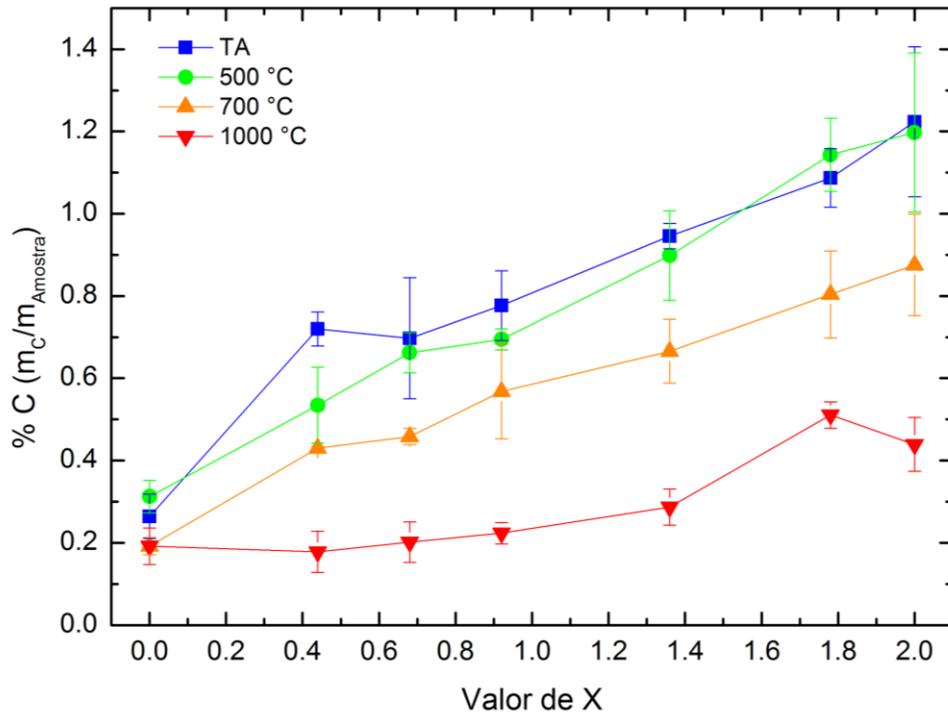
Fonte: Do autor.

Nota: †  $\%(\text{mCO}_3/\text{m}_{\text{total}})$ , calculado com base na massa molar teórica.

Os teores de carbonato determinados experimentalmente (no Experimental Corrigido) resultaram relativamente menores que os valores teóricos (ver Tabela 7). Acreditamos que isto se deva a que parte do conteúdo de carbonato presente inicialmente amostra possa ter ficado aprisionado na estrutura das HACs, após o aquecimento a 1085 °C; ou seja, a amostra não foi degradada completamente até 1085 °C. A Figura 1 ilustra os comportamentos dos valores experimentais de carbono para cada série de amostras. Nesta figura, é possível observar que, comparando-se as séries de amostras TA e 500 °C, não

mostram diferença significativa nos teores de carbono indicando que ainda não se iniciou a degradação das amostras. Quando as séries de amostras a 700 e 1000 °C são levadas em consideração é observada uma queda do conteúdo de carbono em ambas, indicando a perda gradual de  $\text{CO}_3^{2-}$ .

Figura 1 -Teores experimentais de carbono obtidos para as séries de amostras TA, 500, 700 e 1000 °C



Fonte: Do autor.

Observa-se que, as amostras HC1.78 e 2.00 apresentam divergência na série 1000 °C em comparação com as demais séries de amostras, acreditamos, que nestes casos, não tenha ocorrido degradação total, devido ao alto conteúdo de  $\text{CO}_3^{2-}$  presente. Acredita-se que a temperatura utilizada para o trabalho do forno analisador (1085 °C) não seja capaz de degradar totalmente a estrutura das HACs, a qual deve se decompor totalmente entre 1200-1450 °C [69]. Este fato seria válido para todas as amostras que apresentem a mesma composição. Também é conhecido que o carbonato total incorporado nas amostras pode estar localizado no sítio do  $\text{PO}_4^{3-}$  e no do  $\text{OH}^-$ , mesmo forçando-o a ficar somente no sítio do  $\text{PO}_4^{3-}$ . No caso do carbonato estar localizado no sítio do  $\text{OH}^-$ , deveria sair completamente até 700 °C, ficando só aquele ocupando o sítio do fosfato. Isto nos faz pensar que as amostras HC1.78 e HC2.00 possam apresentar maior quantidade de carbonato no sítio do  $\text{OH}^-$ , e ao aquecer ela a

1000 °C, tenha saído completamente, provocando deformações na estrutura. Estas deformações permitem que o carbonato que está no sítio do fosfato fique aprisionado na estrutura e precise de mais energia para sair que as outras amostras.

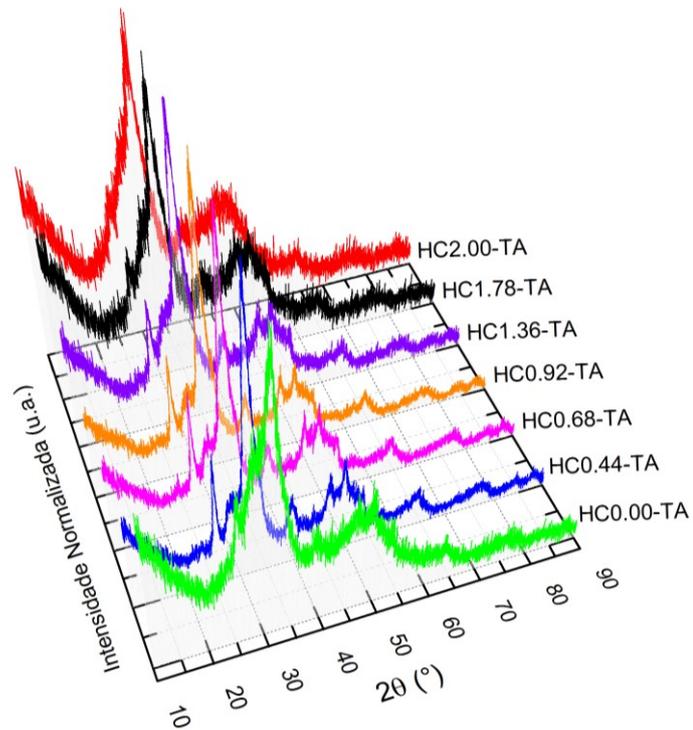
## 4.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os difratogramas obtidos para as amostras de HACs sintetizadas e tratadas termicamente são apresentados nas Figura 2 a 5.

É possível observar na Figura 2, através da lagura à metade da altura dos picos (FWHM) dos difratogramas, que as HACs sintetizadas e sem tratamento térmico apresentaram pouca cristalinidade [27]. Uma quantidade significativa de material amorfo também é visível nestas amostras através da linha de base dos difratogramas (fundo). Esta quantidade aumenta significativamente com o conteúdo de  $\text{CO}_3^{2-}$  introduzido na amostra. Como podemos ver na Tabela 8, as amostras HC0.00-TA, HC1.78-TA e HC2.00-TA apresentaram os menores valores de tamanho de cristalito. Comparando as Figura 3, 4 e 5, nota-se que com o tratamento térmico, a quantidade de material amorfo (observada pelo fundo, em cada difratograma) diminui gradualmente com o tratamento térmico. Tais resultados já eram esperados, visto que com o fornecimento de energia térmica para as amostras, o material amorfo presente terá energia suficiente para se cristalizar e os cristalitos já formados perdem a água não estrutural, favorecendo o crescimento do cristalito.

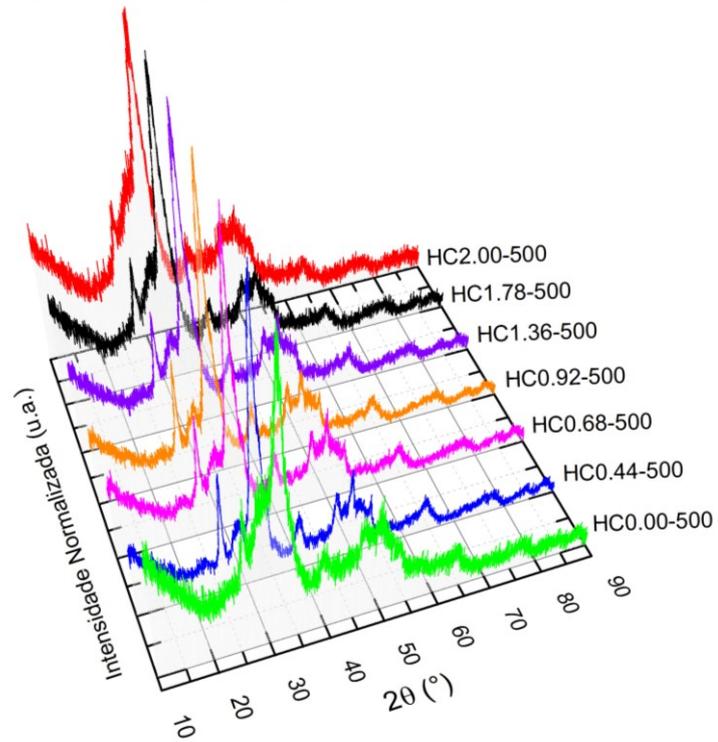
Outro fator que influencia no crescimento do cristalito pode estar relacionado com o fato dos cristalitos já presentes nas amostras funcionam como “sementes”, sofrendo o fenômeno de crescimento cristalino, a partir de cristalitos menores ou do material amorfo. Também podemos atribuir ao crescimento do cristalito a influência do tempo de resfriamento como contribuição para o processo de cristalização, uma vez que o resfriamento não foi realizado de modo instantâneo.

Figura 2 - Difratoformas para a série de amostras TA



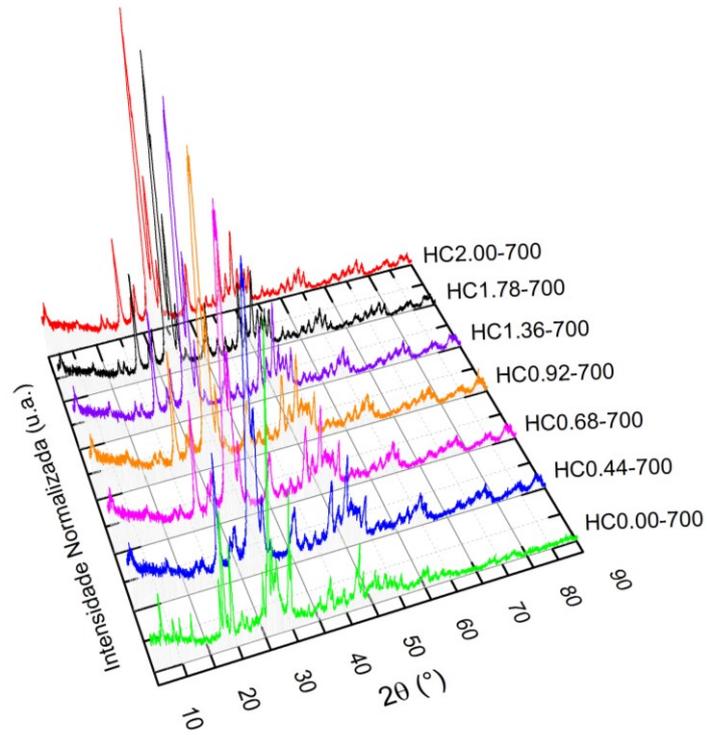
Fonte: Do autor.

Figura 3 - Difratoformas para a série de amostras a 500 °C



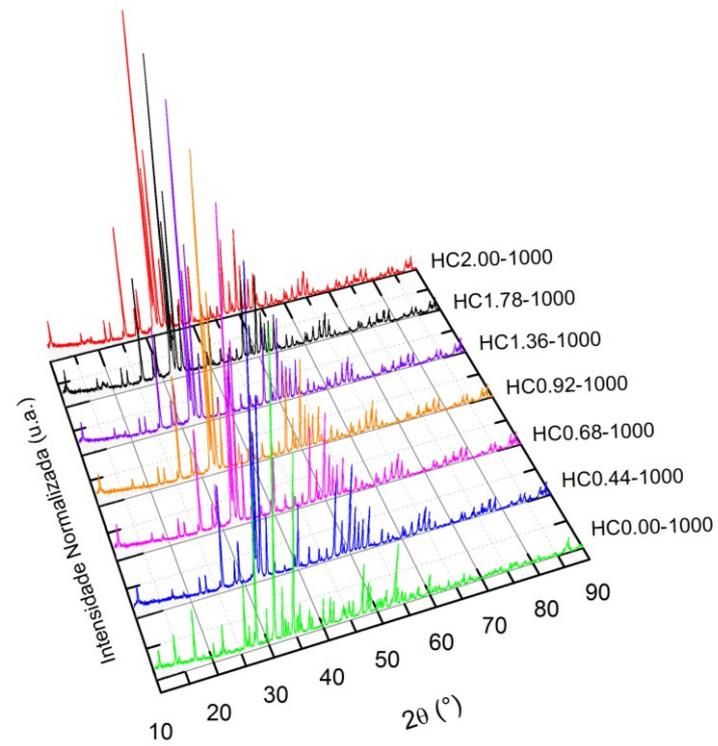
Fonte: Do autor.

Figura 4 - Difratoformas para a série de amostras a 700 °C



Fonte: Do autor.

Figura 5 - Difratoformas para a série de amostras a 1000 °C



Fonte: Do autor.

### 4.2.1 Refinamento dos difratogramas

O grupo espacial  $P6_3/m$ , foi o grupo que mais justificou a estrutura cristalina das HACs sintetizadas, cristalizando no sistema cristalino hexagonal. Nas Tabelas 8 a 11 são mostrados os dados do refinamento para as séries de amostras a temperatura ambiente (TA), 500, 700 e 1000 °C. É possível observar que o volume de cela diminui com o incremento de carbonato nas amostras, sugerindo a incorporação deste íon na estrutura cristalina em sítios do tipo B, visto que o raio iônico de  $\text{CO}_3^{2-}$  é menor que o de  $\text{PO}_4^{3-}$ , além de gerar vacâncias no cálcio na estrutura cristalina.

Tabela 8 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras TA

Amostra	Tamanho do		Chi <sup>2</sup>	R <sub>B</sub> (%)	R <sub>F</sub> (%)
	Cristalito <sup>†</sup>	Volume (Å <sup>3</sup> )			
	(Anisotropia <sup>‡</sup> ) (Å)				
HC0.00-TA	34,72 (11,35)	531 ± 0,4	1,06	0,273	0,167
HC0.44-TA	56,39 (20,05)	528 ± 0,2	1,07	0,257	0,181
HC0.68-TA	52,32 (19,56)	528 ± 0,2	1,05	0,306	0,209
HC0.92-TA	55,16 (18,76)	527 ± 0,2	1,00	0,306	0,220
HC1.36-TA	43,38 (14,81)	526 ± 0,3	1,08	0,326	0,204
HC1.78-TA	33,96 (10,35)	527 ± 0,6	1,04	0,415	0,248
HC2.00-TA	33,74 (08,83)	527 ± 0,6	1,05	0,276	0,228

Fonte: Do autor.

Nota: <sup>†</sup>Tamanho Médio Aparente do Cristalito; <sup>‡</sup>Desvio Padrão Médio Anisotrópico.

O fator de concordância Chi<sup>2</sup> indica a qualidade dos refinamentos, em cada caso. Espera-se que seu valor seja próximo a 1, revelando proximidade entre o fator do perfil ponderado do pico calculado e o esperado (ver ANEXO B). Neste caso, os fatores R<sub>B</sub> e R<sub>F</sub> estão relacionados com o modelo estrutural, através das intensidades integrais e fator de estrutura, respectivamente, (para mais detalhes ver ANEXO B).

Tabela 9 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 500 °C

<b>Amostra</b>	<b>Tamanho do Cristalito<sup>†</sup> (Anisotropia<sup>‡</sup>) (Å)</b>	<b>Volume (Å<sup>3</sup>)</b>	<b>Chi<sup>2</sup></b>	<b>R<sub>B</sub> (%)</b>	<b>R<sub>F</sub> (%)</b>
HC0.00-500	24,27 (07,50)	527 ± 0,3	1,10	0,404	0,371
HC0.44-500	59,07 (16,84)	528 ± 0,6	1,10	0,244	0,211
HC0.68-500	45,90 (09,66)	525 ± 0,3	1,09	0,421	0,342
HC0.92-500	50,62 (09,23)	526 ± 0,6	1,08	0,213	0,138
HC1.36-500	50,99 (13,41)	527 ± 0,1	1,10	0,264	0,241
HC1.78-500	31,51 (06,05)	524 ± 0,1	1,12	0,402	0,349
HC2.00-500	24,03 (00,03)	528 ± 0,3	1,08	0,537	0,606

Fonte: Do autor.

Nota: <sup>†</sup>Tamanho Médio Aparente do Cristalito; <sup>‡</sup>Desvio Padrão Médio Anisotrópico.

Constata-se, visualizando as Tabelas 8 e 9, que o tamanho médio do cristalito (T.C.), não sofreu alterações significativas de TA até 500 °C, ocorrendo apenas perda de água na amostra. O menor e maior TC, para as duas séries coincidiram, para as amostras HC2.00 e HC0.44, respectivamente. Os tamanhos de cristalitos ficaram distribuídos na faixa de  $33,74 \leq TC_{TA} \leq 56,39 \text{ \AA}$  e de  $24,03 \leq TC_{500} \leq 59,07 \text{ \AA}$ , evidenciando o tamanho nanométrico das amostras.

Tabela 10 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 700 °C

<b>Amostra</b>	<b>Tamanho do Cristalito<sup>†</sup> (Anisotropia<sup>‡</sup>) (Å)</b>	<b>Volume (Å<sup>3</sup>)</b>	<b>Chi<sup>2</sup></b>	<b>R<sub>B</sub> (%)</b>	<b>R<sub>F</sub> (%)</b>
HC0.00-700	1004,54 (0,53)	4317 ± 0,2	1,07	0,739	0,488
HC0.44-700	115,41 (21,74)	531 ± 0,1	1,24	0,349	0,245
HC0.68-700	122,52 (30,78)	530 ± 0,1	1,30	0,362	0,27
HC0.92-700	111,06 (26,39)	529 ± 0,1	1,34	0,396	0,276
HC1.36-700	166,45 (21,45)	529 ± 0,8	1,19	0,485	0,37
HC1.78-700	185,09 (19,05)	528 ± 0,8	1,24	0,562	0,432
HC2.00-700	177,69 (35,77)	529 ± 0,4	1,26	0,574	0,472

Fonte: Do autor.

Nota: <sup>†</sup>Tamanho Médio Aparente do Cristalito; <sup>‡</sup>Desvio Padrão Médio Anisotrópico.

Comparando os tamanhos dos cristalitos à 500 e 700 °C (Tabelas 9 e 10) respectivamente), nota-se que o tamanho médio das amostras, com exceção da amostra HC0.00, passou de  $\sim 41 \text{ \AA}$  para  $\sim 146 \text{ \AA}$ , sugerindo o crescimento dos cristalitos maiores, por

agregação de cristalitos menores e/ou material amorfo. Para as amostras carbonatadas, o crescimento do cristalito a 700 °C foi pouco acentuado. Já para amostra HC0.00 se evidenciou uma mudança de fase, transformando toda a HAP em  $\alpha$ -TCP, junto ao crescimento abrupto do cristalito (aproximadamente 10 vezes maior que o tamanho de cristalito médio para as amostras carbonatadas a 700 °C). O pouco crescimento do cristalito para as HACs sugere que os processos de perda de água e  $\text{CO}_3^{2-}$  recorrentes nesta temperatura, dificultam o crescimento do cristalito.

Tabela 11 - Tamanho do cristalito, volume e fatores de concordância do refinamento da série de amostras a 1000 °C

Amostra	Tamanho do Cristalito <sup>†</sup> (Anisotropia <sup>‡</sup> ) (Å)	Volume (Å <sup>3</sup> )	Chi <sup>2</sup>	R <sub>B</sub> (%)	R <sub>F</sub> (%)
HC0.00-1000	2087,67 (530,10)	3525 ± 0,9	2,04	1,810	0,964
HC0.44-1000	2312,36 (549,09)	(F1) 529 ± 0,5 (F2) 4322 ± 0,9	1,85	(F1) 1,33 (F2) 1,42	(F1) 0,85 (F2) 1,36
HC0.68-1000	2448,33 (558,41)	(F1) 528 ± 0,9 (F2) 4317 ± 0,5	1,57	(F1) 1,23 (F2) 1,49	(F1) 0,81 (F2) 1,19
HC0.92-1000	2636,83 (801,48)	(F1) 529 ± 0,8 (F2) 4322 ± 0,3	1,32	(F1) 0,82 (F2) 1,73	(F1) 0,72 (F2) 1,69
HC1.36-1000	1947,50 (833,20)	(F1) 529 ± 0,6 (F2) 4325 ± 0,1	1,35	(F1) 0,92 (F2) 1,51	(F1) 0,51 (F2) 1,16
HC1.78-1000	1969,51 (822,57)	(F1) 529 ± 0,3 (F2) 4324 ± 0,8	1,45	(F1) 1,00 (F2) 1,06	(F1) 0,47 (F2) 0,77
HC2.00-1000	1788,16 (731,82)	(F1) 529 ± 0,4 (F2) 4317 ± 0,6	1,45	(F1) 1,02 (F2) 1,99	(F1) 0,80 (F2) 1,98

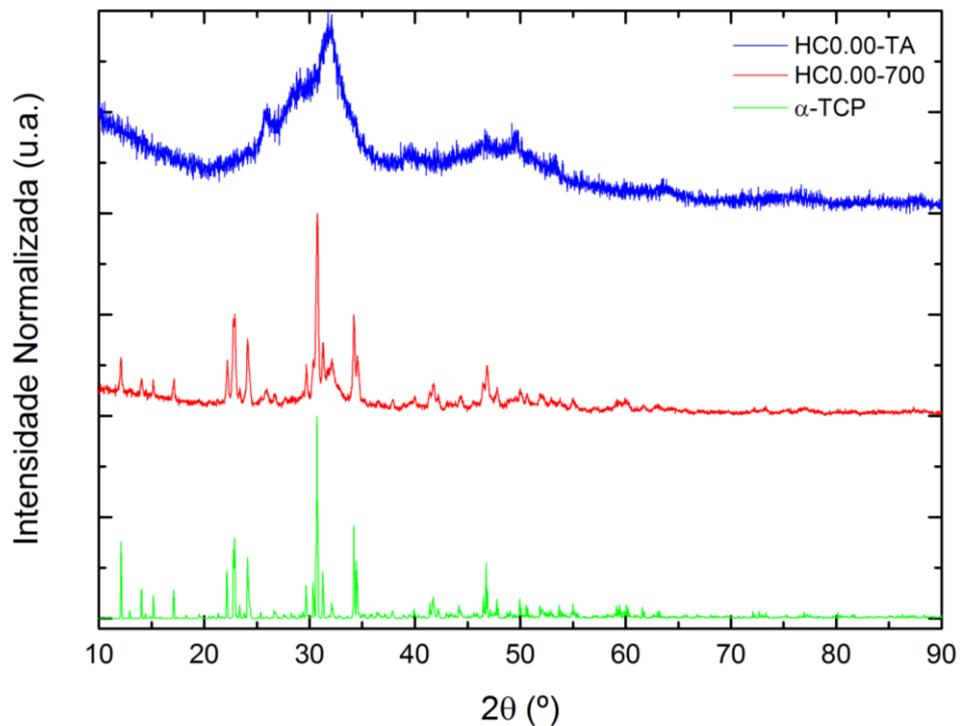
Fonte: Do autor.

Nota: <sup>†</sup>Tamanho Médio Aparente do Cristalito; <sup>‡</sup>Desvio Padrão Médio Anisotrópico.

Para as amostras após o último tratamento térmico a 1000 °C, (ver Tabela 11), todas apresentam tamanho de cristalito  $\text{TC}_{1000} \geq 1700 \text{ \AA}$ , evidenciando a continuidade dos processos de cristalização. A formação de uma segunda fase de  $\beta$ -fosfato tricálcico nas amostras (HAC) indica a degradação parcial das HACs. Na amostra HC0.00, se evidencia uma segunda transformação de fase passando de  $\alpha$ -TCP para  $\beta$ -TCP.

De modo geral, podemos dizer dos resultados obtidos dos refinamentos dos difratogramas, que as HACs iniciam a cristalização a temperaturas maiores que 700 °C. Além disso, foi evidenciado que em 700 °C ocorre uma transformação de fase cristalina na amostra HAC0.00 formando o  $\alpha$ -TCP, a qual é esperada a temperaturas mais elevadas para a HAP cristalina [70].

Figura 6 - Difratogramas de  $\alpha$ -TCP, HC0.00-TA e HC0.00-700



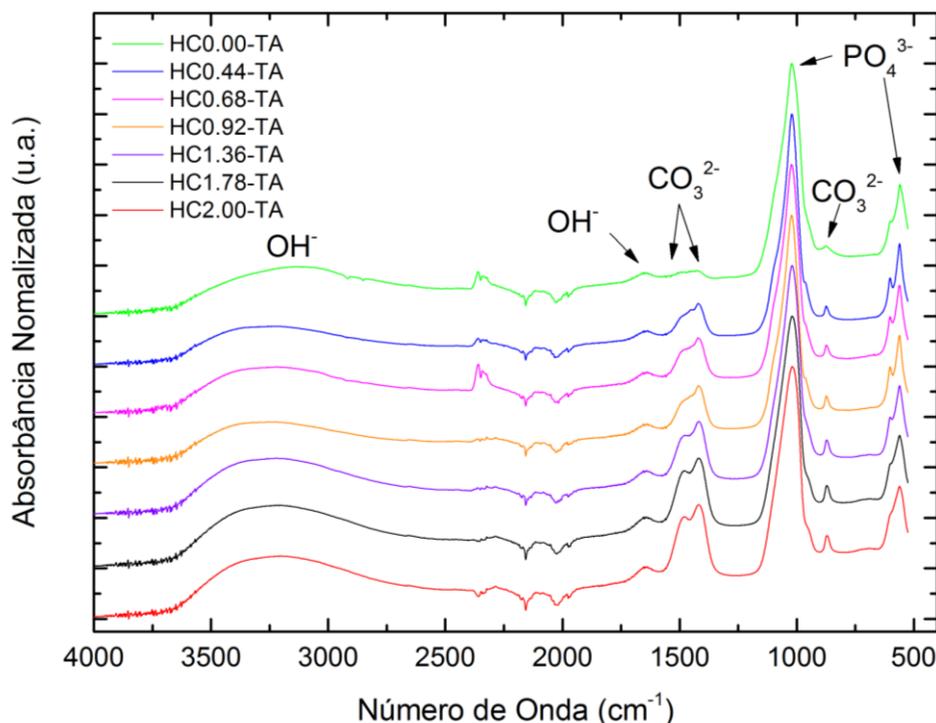
Fonte: Do autor.

Na temperatura de 1000 °C a fase anteriormente descrita para a HC0.00 se transformou em  $\beta$ -TCP duplicando o tamanho do cristalito na amostra. Ainda nesta série de dados a 1000 °C, nota-se que todas as hidroxiapatitas carbonatadas sofrem mudança parcial de fase cristalina, dando origem a uma nova fase,  $\alpha$ -Fosfato Tricálcico ( $\alpha$ -TCP).

#### 4.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

Os espectros de absorção obtidos foram plotados, para todas as amostras e agrupados de acordo com a temperatura de síntese e tratamento térmico, como mostrado nas Figuras de 7 a 10 para cada série de amostras.

Figura 7 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras TA

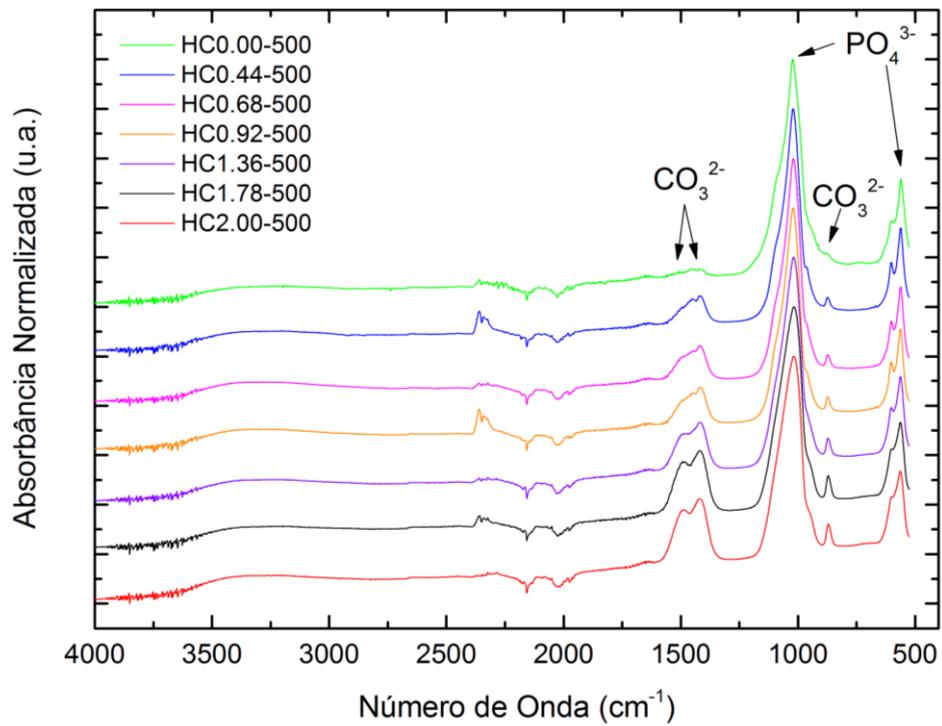


Fonte: Do autor.

A partir da Figura 7, dos espectros obtidos para as amostras à temperatura ambiente (TA), é possível verificar os modos vibracionais presentes, característicos das HACs. A banda e o pico com máximos em  $\sim 3500$  e  $1640\text{ cm}^{-1}$  respectivamente são atribuídos aos modos vibracionais do grupo  $\text{OH}^-$ . Para o grupo  $\text{CO}_3^{2-}$ , os modos vibracionais apresentam seus picos característicos em  $1418$  e  $1480\text{ cm}^{-1}$ , para a primeira região; e em  $\sim 873\text{ cm}^{-1}$  para a segunda região do espectro. Também podemos observar os modos vibracionais característicos do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ , apresentando um pico intenso em  $1018\text{ cm}^{-1}$  e estiramentos na faixa de  $\sim 560$ – $600\text{ cm}^{-1}$  [71]–[95].

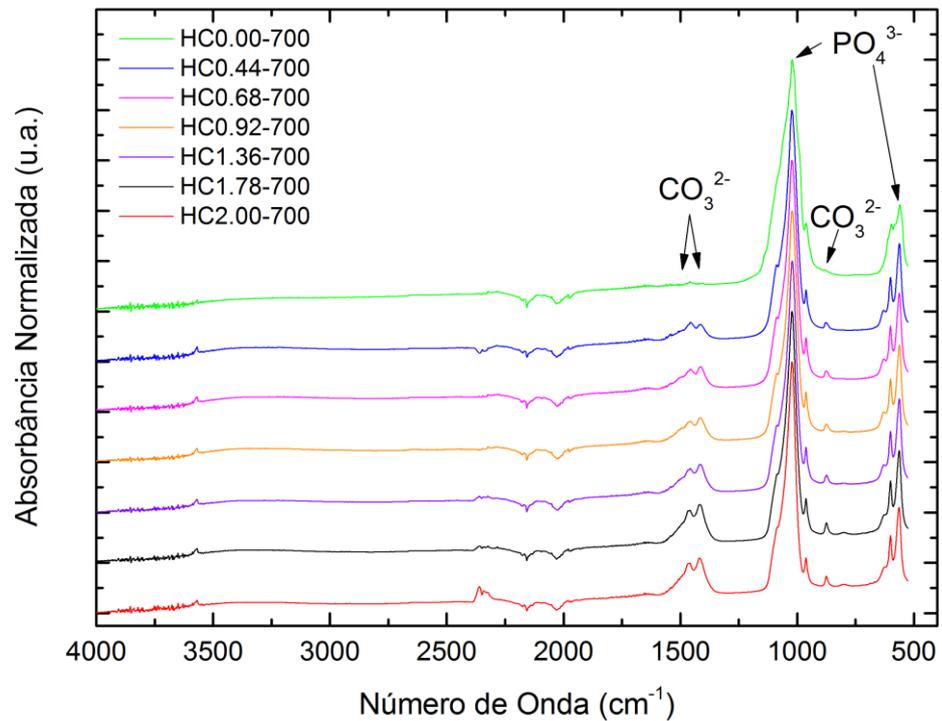
Nota-se, ainda na Figura 7, nos modos vibracionais correspondentes ao íon  $\text{CO}_3^{2-}$ , que a intensidade dos picos característicos em  $1418$  e  $1480\text{ cm}^{-1}$  se incrementa com o conteúdo de carbonato. O incremento da intensidade dos picos sugere a incorporação gradual do respectivo íon na estrutura das HACs, como esperado. Neste caso, por ser visivelmente sensível à quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$ , esta região do espectro será discutida detalhadamente na seção 4.3.1.

Figura 8 - Espectros de absorção FTIR para as séries de amostras a 500 °C



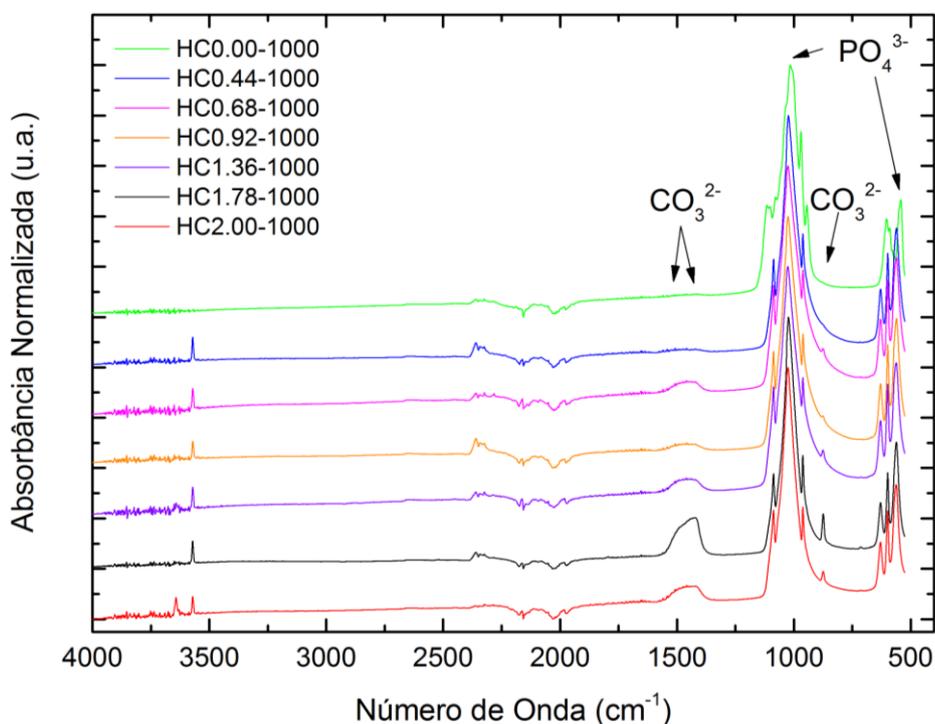
Fonte: Do autor.

Figura 9 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras a 700 °C



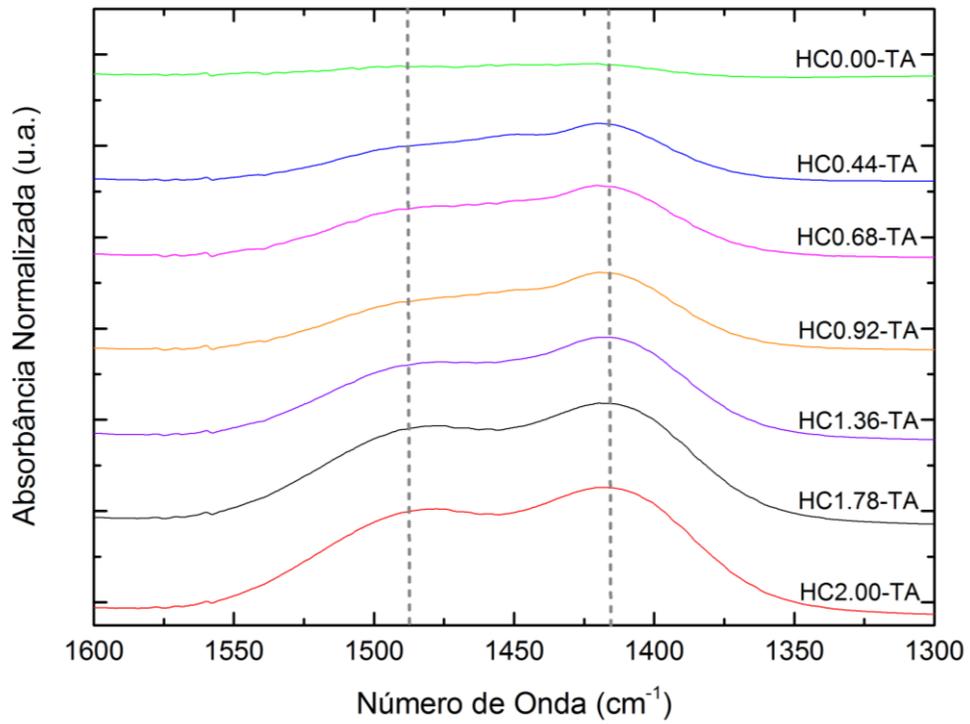
Fonte: Do autor.

Figura 10 - Espectros de absorção FTIR para a série de amostras a 1000 °C

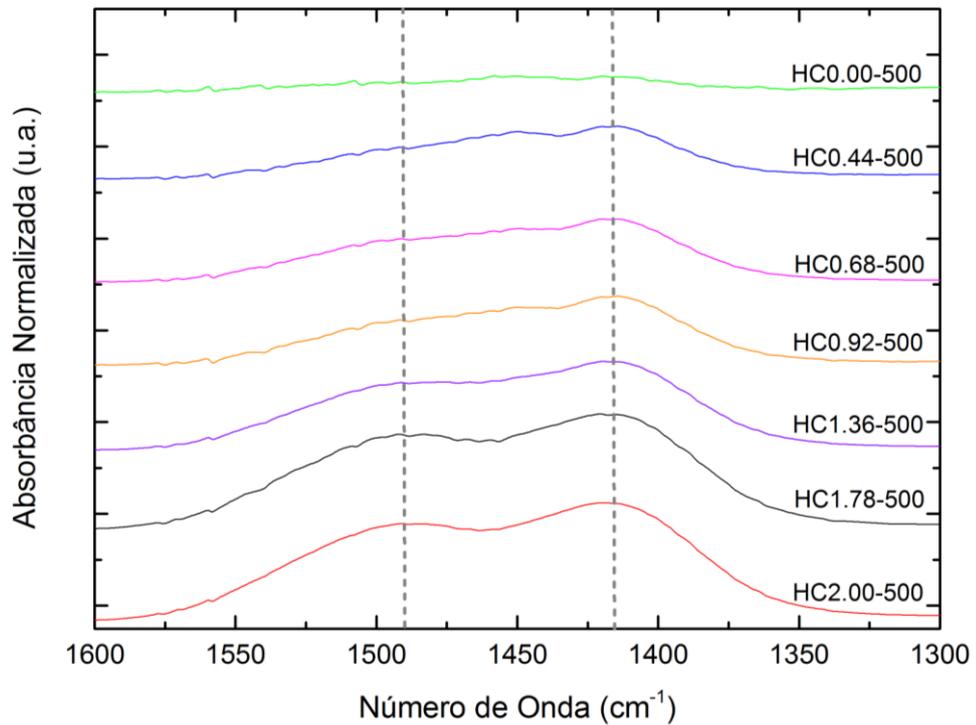


Fonte: Do autor.

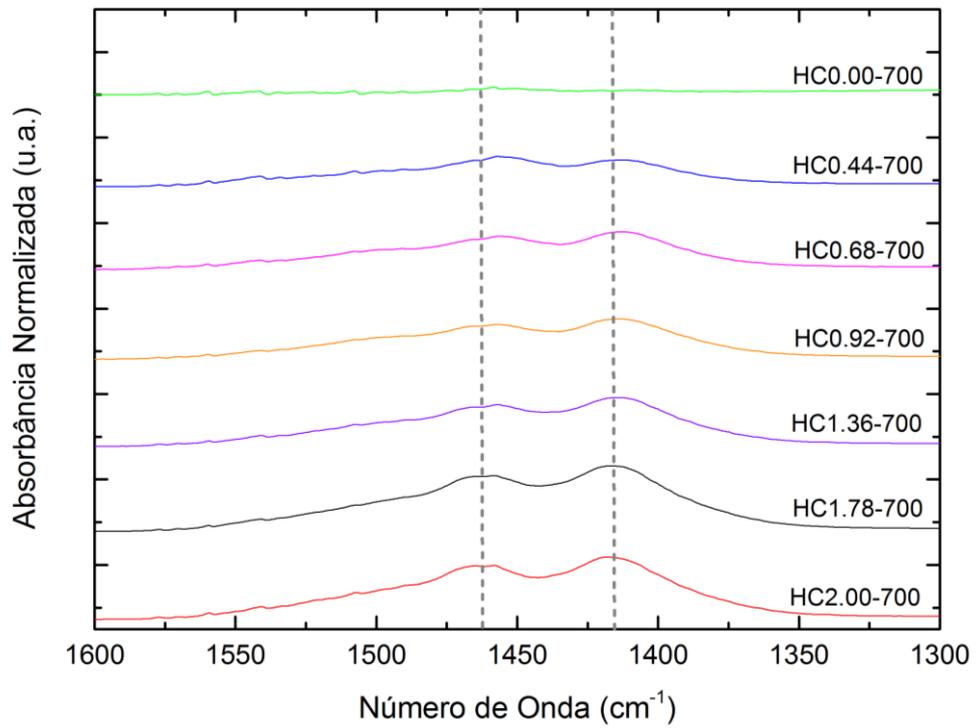
A partir da comparação dos espectros FTIR das HACs a diferentes temperaturas de tratamento térmico (Figuras 8, 9 e 10), podemos notar que o conteúdo de água (caracterizada pela ausência de banda em  $3500\text{ cm}^{-1}$  e pico com máximo em  $1640\text{ cm}^{-1}$ ) foi totalmente removido após aquecimento em  $500\text{ °C}$ . Os íons  $\text{CO}_3^{2-}$  fracamente ligados na estrutura sofreram leve diminuição a  $500\text{ °C}$ , sendo significativamente degradados a  $700\text{ °C}$  e  $1000\text{ °C}$ , observado pela diminuição dos picos em  $\sim 1422, \sim 1475\text{ cm}^{-1}$ , como mostrado em detalhes para esta faixa de número de onda nas Figuras 11, 12, 13 e 14. A partir da série de amostras aquecida a  $700\text{ °C}$ , próximo a  $\sim 3570\text{ cm}^{-1}$  podemos observar o aparecimento de pequenos picos característicos da degradação de HAC, ao liberar o  $\text{CO}_3^{2-}$  do tipo A e se transformar em HAP. Estes picos são característicos dos íons  $\text{OH}^-$  existentes nas HAP a elevadas temperaturas (estrutura com elevada cristalinidade). Para as amostras carbonatadas (HC0.44-HC2.00), estes picos são intensificados na série a  $1000\text{ °C}$ , corroborando a ideia da saída do íon  $\text{CO}_3^{2-}$  nas estruturas das HACs, surgindo a fase HAP nestas temperaturas. Isto sugere a presença de duas fases a  $1000\text{ °C}$ ; além de  $\alpha$ -TCP (obtido por DRX) está presente a fase HAP cristalina.

Figura 11 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras TA

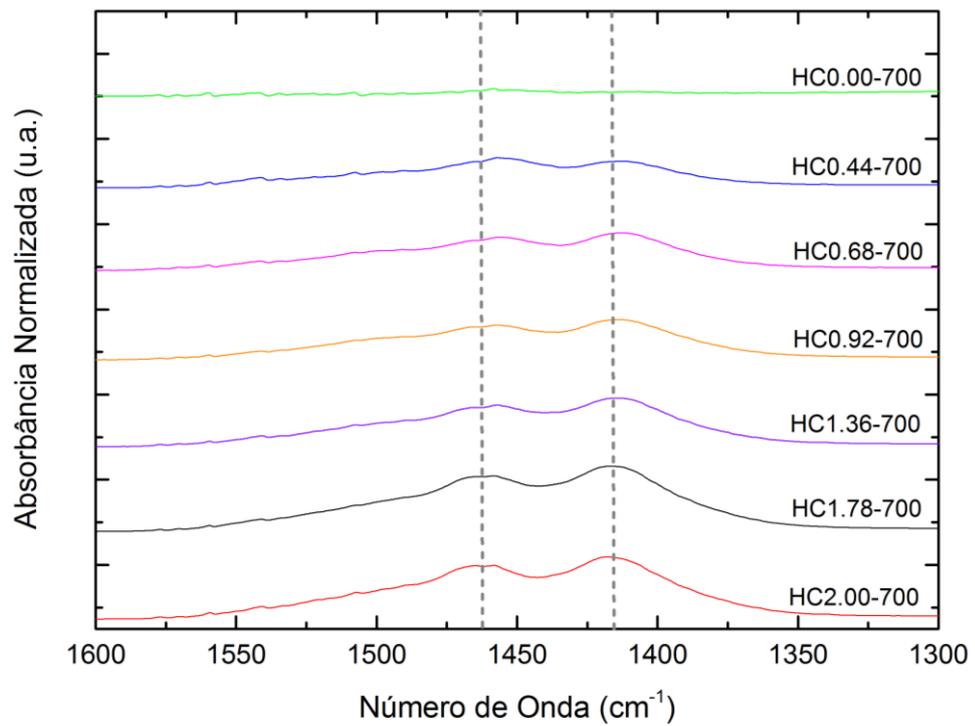
Fonte: Do autor.

Figura 12 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 500 °C

Fonte: Do autor.

Figura 13 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 700 °C

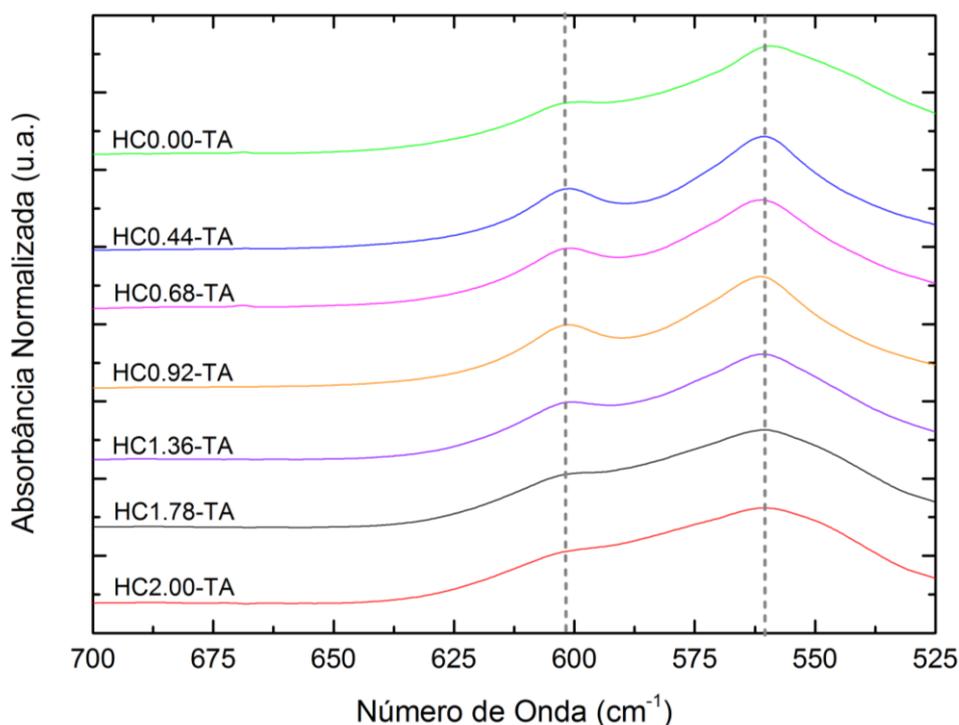
Fonte: Do autor.

Figura 14 - Modos vibracionais de carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) para a série de amostras a 1000 °C

Fonte: Do autor.

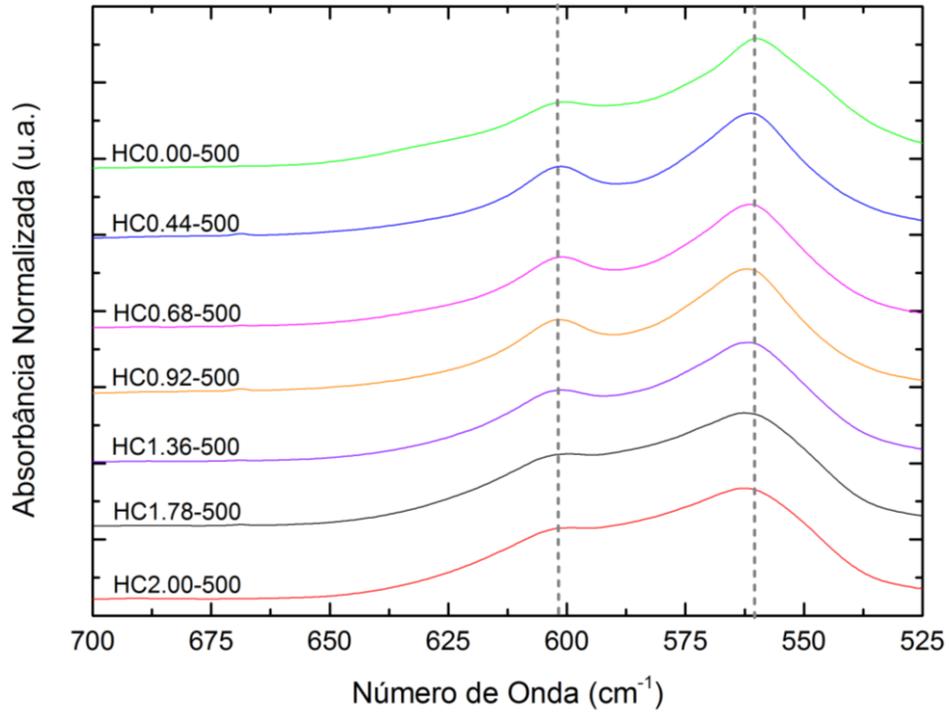
A separação do triplete (aproximadamente 561, 598 e 629  $\text{cm}^{-1}$  na Figura 18) e estreitamento dos picos característicos para  $\text{PO}_4^{3-}$  (Figuras 15, 16, 17 e 18) é sugerido por alguns autores como característicos de HAP deficiente em cálcio [96]–[106]. Em nosso caso, as HC0.44-HC2.00 são ricas em cálcio, o que foi corroborado com dados de DRX a TA, apresentando só uma fase cristalina correspondente com a carboapatita. O DRX nestas amostras, após aquecimento à 1000  $^\circ\text{C}$ , mostra uma transição de fase cristalina parcial, para  $\alpha$ -fosfato tricálcico ( $\alpha$ -TCP). Os picos observados por FTIR em 630  $\text{cm}^{-1}$  (formando parte do triplete) a 1000  $^\circ\text{C}$ , já foi sugerido por outros autores como correspondentes ao  $\alpha$ -TCP [107], [108].

Figura 15 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras TA



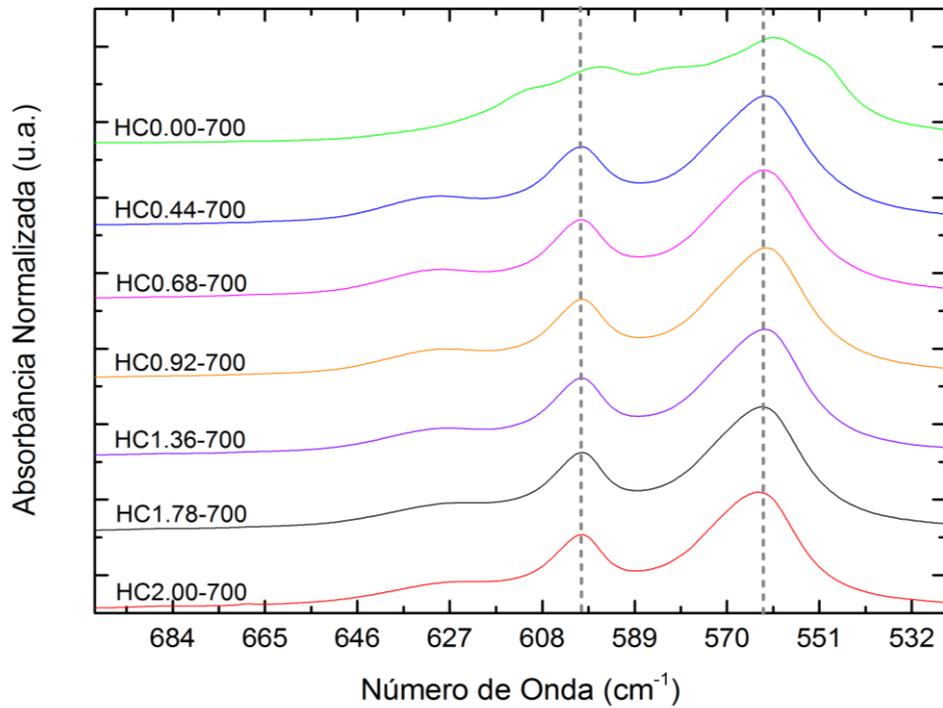
Fonte: Do autor.

Figura 16 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 500 °C



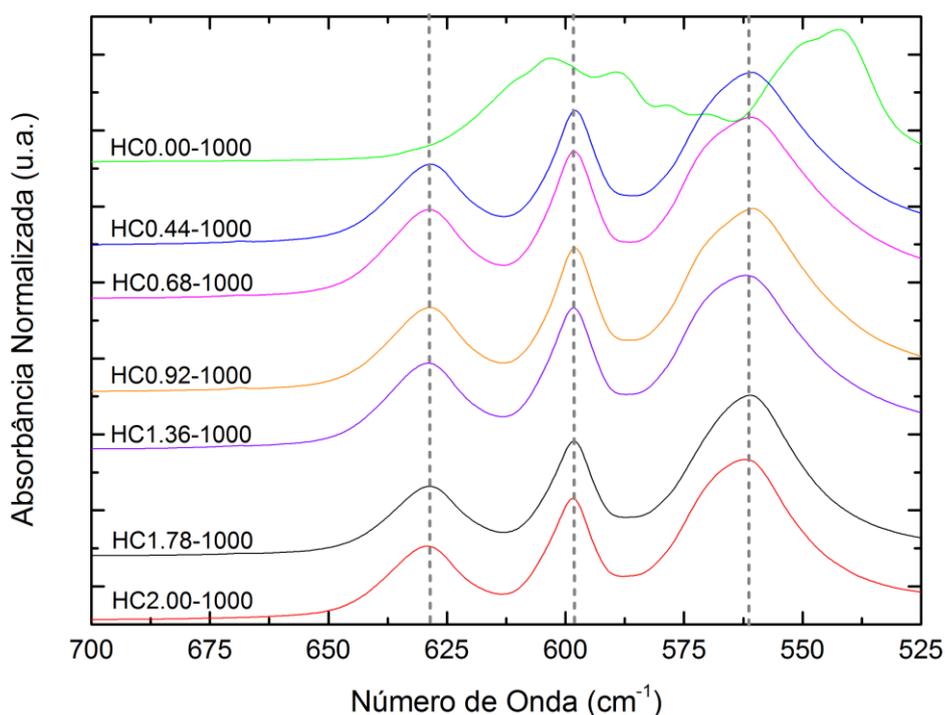
Fonte: Do autor.

Figura 17 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 700 °C



Fonte: Do autor.

Figura 18 - Modos vibracionais de fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) para a série de amostras a 1000 °C



Fonte: Do autor.

#### 4.3.1 Deconvolução e Análise dos Picos de FTIR

A partir do levantamento realizado sobre os modos vibracionais característicos das HACs (ANEXO A), analisaram-se os intervalos espectrais de  $1570\text{-}1320\text{ cm}^{-1}$  e  $800\text{-}900\text{ cm}^{-1}$ , para todas as amostras, calculando-se suas áreas mediante o ajuste dos picos, com uso de um software gráfico [109]. As Tabela 12 e 13 mostram o valor obtido para a série TA, das áreas dos picos centrados em  $878$ , e  $1418$  e  $1480\text{ cm}^{-1}$ . Também aparece resumida a área total média utilizada na correlação com  $\text{CO}_3^{2-}$  teórico total, inserido na amostra, assim como os parâmetros de confiabilidade das medidas.

Tabela 12 - Áreas médias dos modos vibracionais centrados em  $878\text{ cm}^{-1}$  para a série de amostras TA

Amostras	HC0.00	HC0.44	HC0.68	HC0.92	HC1.36	HC1.78	HC2.00
Área Média $878\text{ cm}^{-1}$ (u.a.)	0,67933	0,85633	1,00500	1,12000	1,34367	1,69700	1,67233
Desvio Padrão	0,016258	0,046458	0,026963	0,063553	0,044467	0,137772	0,004933

Fonte: Do autor.

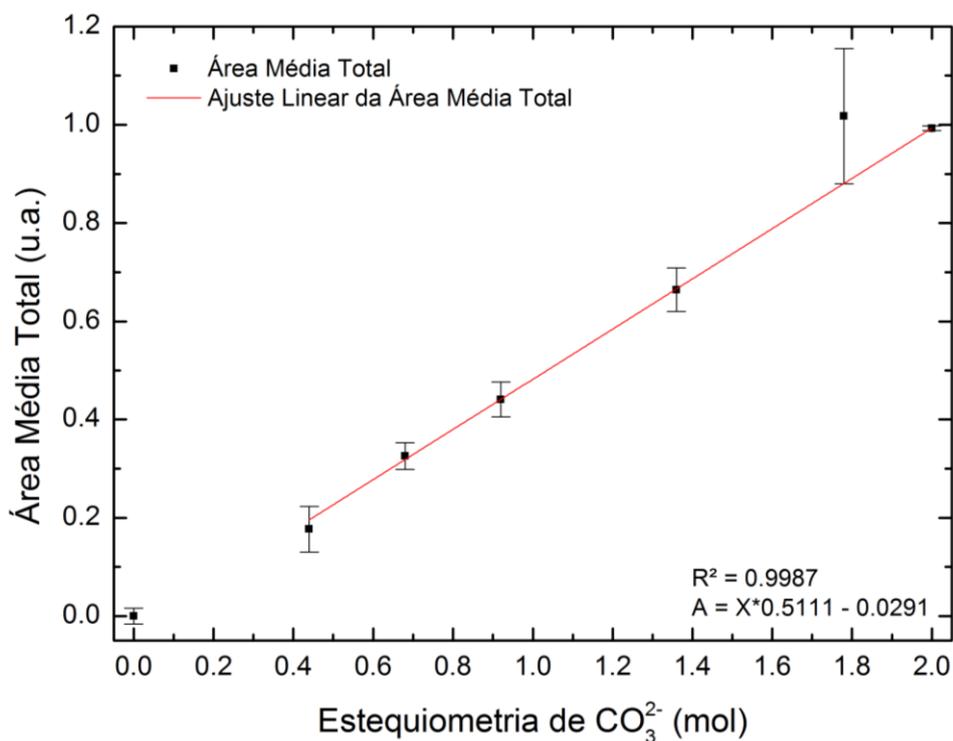
Tabela 13 - Áreas médias para os modos vibracionais centrados em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  para a série de amostras TA

Amostra	Área Média 1418 $\text{cm}^{-1}$ (u.a.)	Desvio Padrão	Área Média 1480 $\text{cm}^{-1}$ (u.a.)	Desvio Padrão	Área Total Média (u.a.)
HC0.00	0,907543	0,015516	2,718030	0,119850	3,625573
HC0.44	5,348627	0,181726	7,265693	0,340854	12,614320
HC0.68	8,591180	0,192590	8,776490	0,72635	17,367670
HC0.92	9,129487	0,560740	9,213700	0,47981	18,343190
HC1.36	12,296863	0,278000	12,561937	0,61450	24,858800
HC1.78	16,374603	1,22251	17,489240	1,83564	33,863840
HC2.00	17,085093	0,09856	17,751193	0,33780	34,836290

Fonte: Do autor.

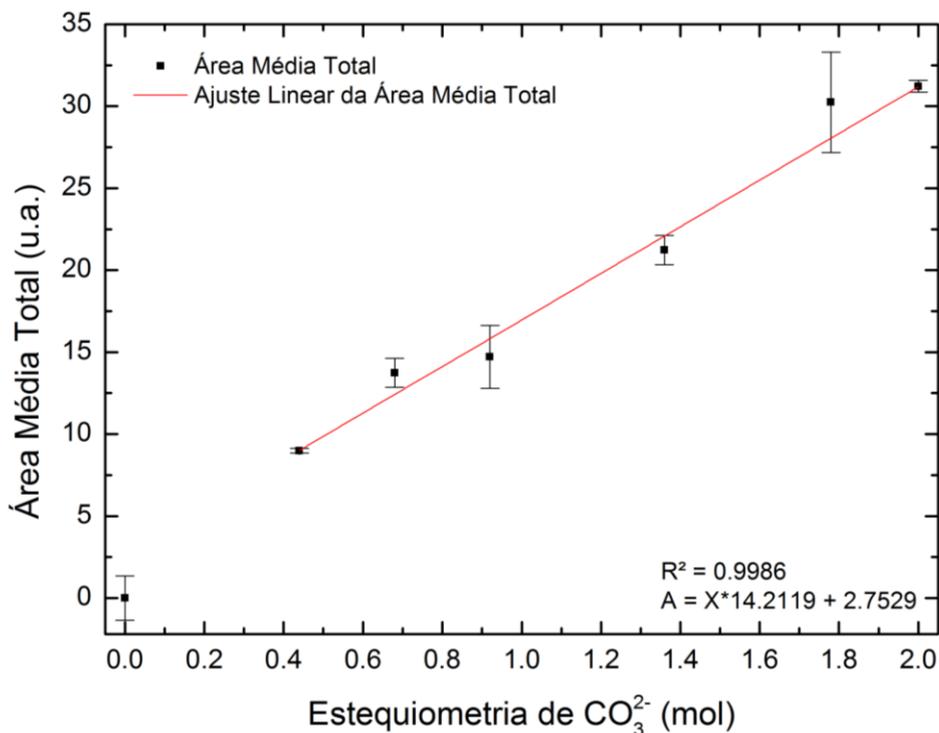
Nas Figuras 19 e 20, aparecem os valores obtidos para a estequiometria teórica de  $\text{CO}_3^{2-}$  propostos para a série TA vs a área total média dos picos em 878  $\text{cm}^{-1}$  e 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$ , bem como um ajuste destes pontos a uma reta. Para o cálculo dos picos centrados em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  foi realizado o ajuste com 2 picos, na tabela reportamos como uma primeira aproximação a soma matemática da área dos picos.

Figura 19 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 878  $\text{cm}^{-1}$  vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras TA



Fonte: Do autor.

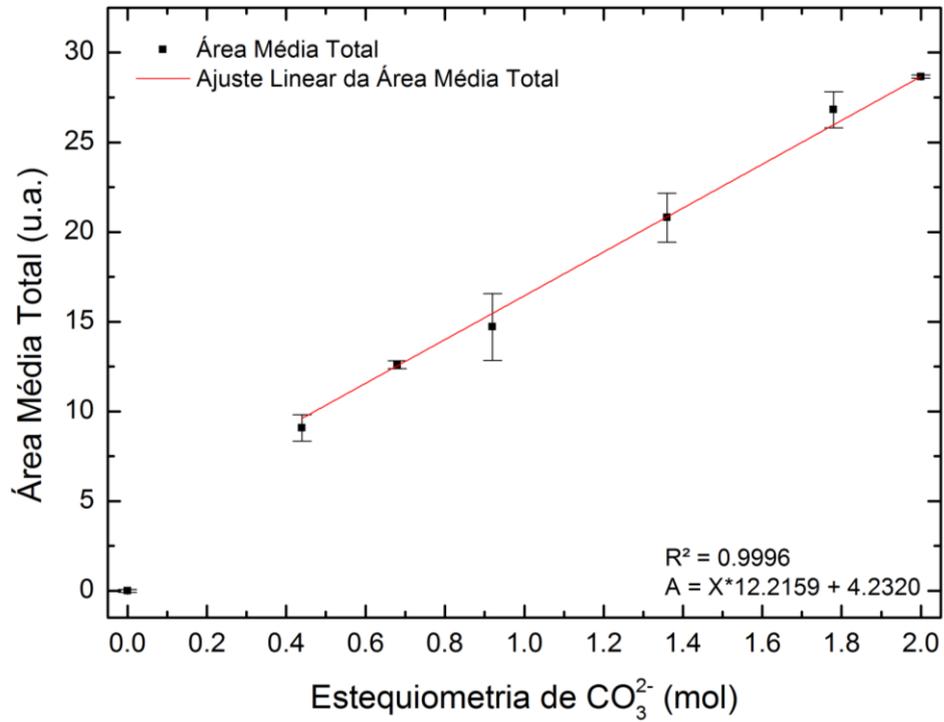
Figura 20 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras TA



Fonte: Do autor.

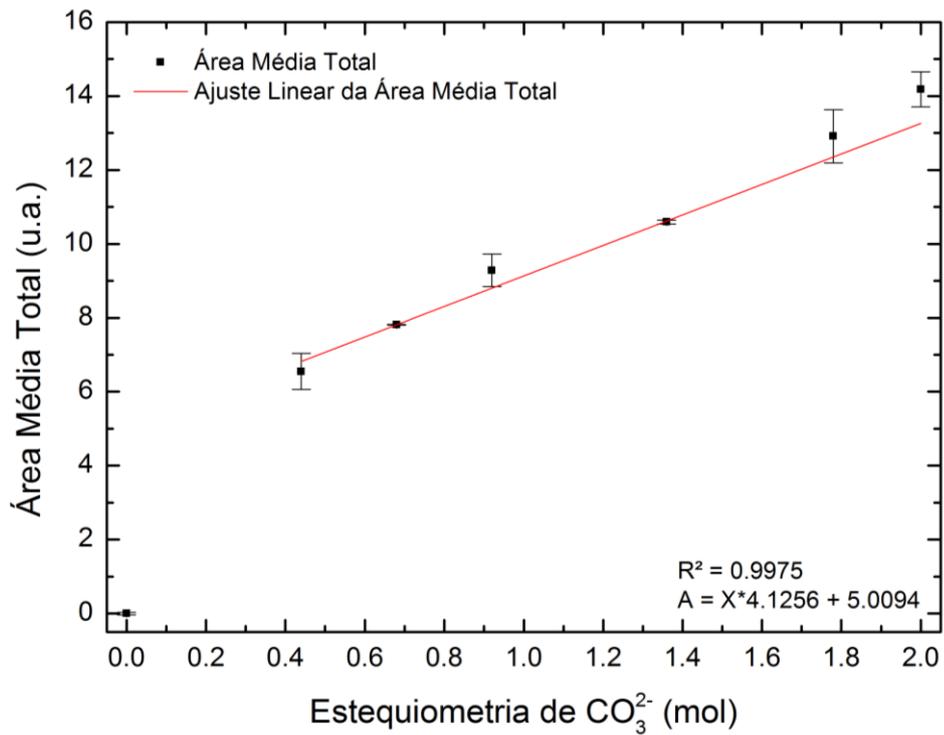
A partir das Figuras 19 e 20, podemos notar a alta correlação linear ( $R^2 = 0,9987$  e  $0,9986$ , respectivamente) entre a área dos modos vibracionais com o conteúdo teórico proposto para as amostras da série a TA. Nas amostras a 500 e 700  $^{\circ}\text{C}$  foi realizada a mesma correlação para os picos centrados em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$ , e os resultados podem ser observados nas Figuras 21 e 22. Para as amostras a 1000  $^{\circ}\text{C}$  não foi feita esta correlação pelo fato de ter observado em DRX uma transformação de fase nesta temperatura. Não seria correto atribuir os picos ao  $\text{CO}_3^{2-}$  na estrutura das HACs.

Figura 21 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras a 500  $^{\circ}\text{C}$



Fonte: Do autor.

Figura 22 - Correlação linear entre os modos vibracionais em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  vs estequiometria de carbonato, para a série de amostras a 700  $^{\circ}\text{C}$



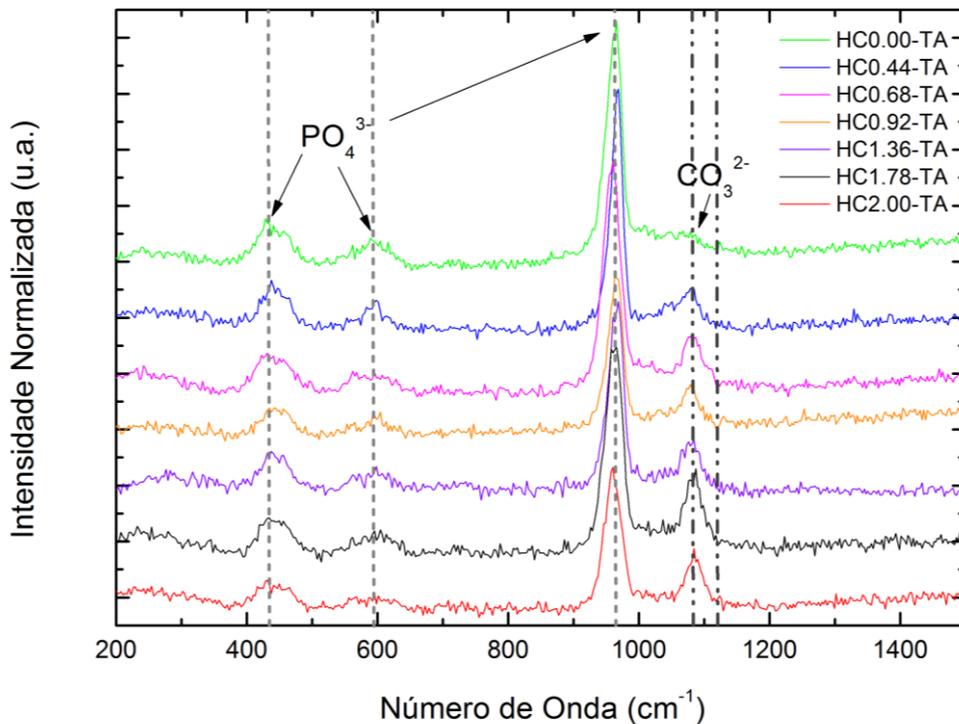
Fonte: Do autor.

A partir da Figura 21, também foi possível observar elevada correlação linear ( $R^2 = 0,9996$ ) da estequiometria de  $\text{CO}_3^{2-}$  com a área média total dos picos, após o tratamento térmico, sugerindo que a quantidade de carbonato perdida é constante para as amostras de HAC-500. Para a série de amostras a 700 °C (Figura 22) os processos de decomposição e cristalização das amostras começam a ocorrer simultaneamente, interferindo levemente no comportamento de perda de  $\text{CO}_3^{2-}$  ( $R^2 = 0,9975$ ). Já para as amostras a 1000 °C não há correlação linear significativa, tal comportamento pode estar relacionado com a aparição de uma nova fase nesta temperatura.

#### 4.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Os espectros para a série de amostras TA são mostrados na Figura 23. Os modos típicos para o fosfato nas HACs são apresentados em  $\sim 430$ ,  $\sim 594$  e  $\sim 960$   $\text{cm}^{-1}$ .

Figura 23 - Espectros Raman para a série de amostras TA



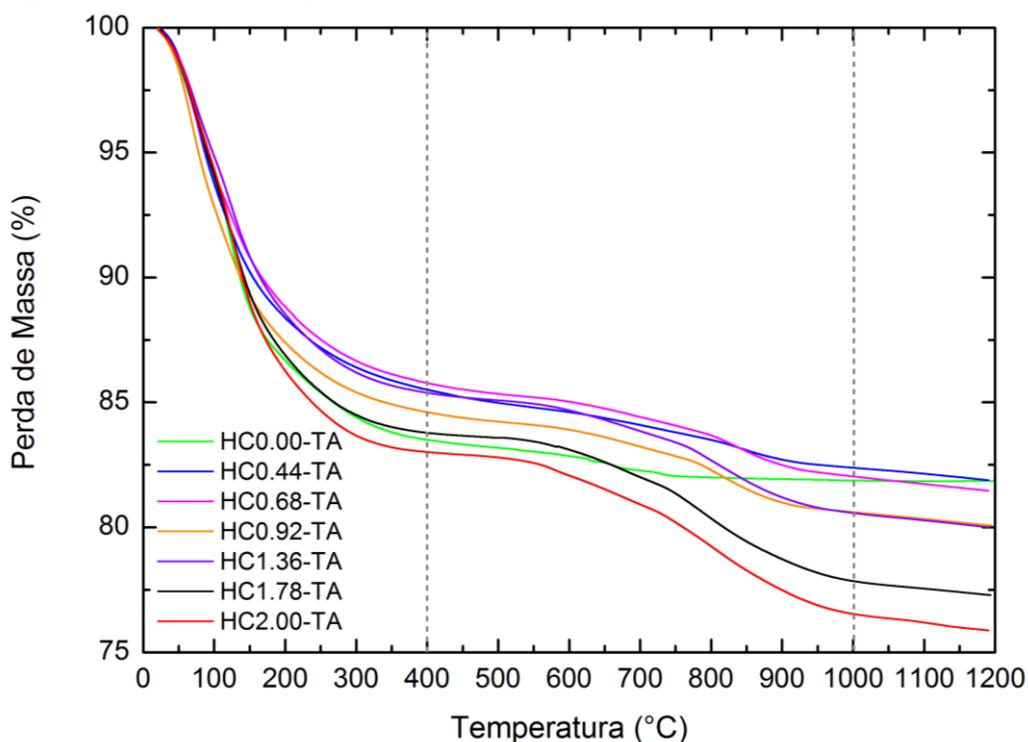
Fonte: Do autor.

A banda em  $\sim 1075\text{ cm}^{-1}$  é associada predominantemente ao íon  $\text{CO}_3^{2-}$ , com pouca contribuição do modo vibracional de  $\text{PO}_4^{3-}$ . O modo correspondente ao  $\text{CO}_3^{2-}$  geralmente é associado com a substituição do tipo B [79], [87], [110], [111]. Nestas amostras não foi observada a banda Raman em  $\sim 1107\text{ cm}^{-1}$ , características de substituição do tipo A [110]. Imaginamos que isso pode ser devido que a quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$ , presente no sítio A, seja pequena para ser detectada por esta técnica. Estes resultados, associados com os obtidos nos espectros FTIR em  $\sim 873\text{ cm}^{-1}$ , sugerem a substituição majoritária do  $\text{CO}_3^{2-}$  no sítio B das HACs [112]–[120].

#### 4.5 ANÁLISES TÉRMICAS

Da análise de perda de massa, vemos que a quantidade de massa perdida se incrementa com o aumento do conteúdo de carbonato, (Figura 24). De acordo com Krajewski et al. Nas carboapatitas a perda do carbonato, localizado no sítio do  $\text{OH}^-$ , ocorre entre  $600\text{--}800\text{ }^\circ\text{C}$  [121].

Figura 24 - Perda de massa para a série de amostras TA



Fonte: Do autor.

Ivanova et al. [28] atribui a faixa de temperatura de 400-1000 °C (na Figura 24) como exclusiva para a degradação de carbonato. Para esta série de amostras as quantidades e massa perdidas referentes a este íon na faixa de 400-1000 °C são mostradas na Tabela 14. Como pode-se ver, para  $X > 0.92$  a quantidade de massa perdida se incrementa de ~2,4 % até 4,8% em massa para a amostra HC2.00. Isto sugere que a quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$  no sítio  $\text{OH}^-$  se incrementa com a quantidade de carbonato para as amostras com  $X > 0.92$ . Acredita-se que isto se deva ao fato da estrutura apresentar uma saturação da quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$  que pode substituir o  $\text{PO}_4^{3-}$  nestas condições de síntese.

Tabela 14 - Perda de massa atribuída a degradação de carbonato

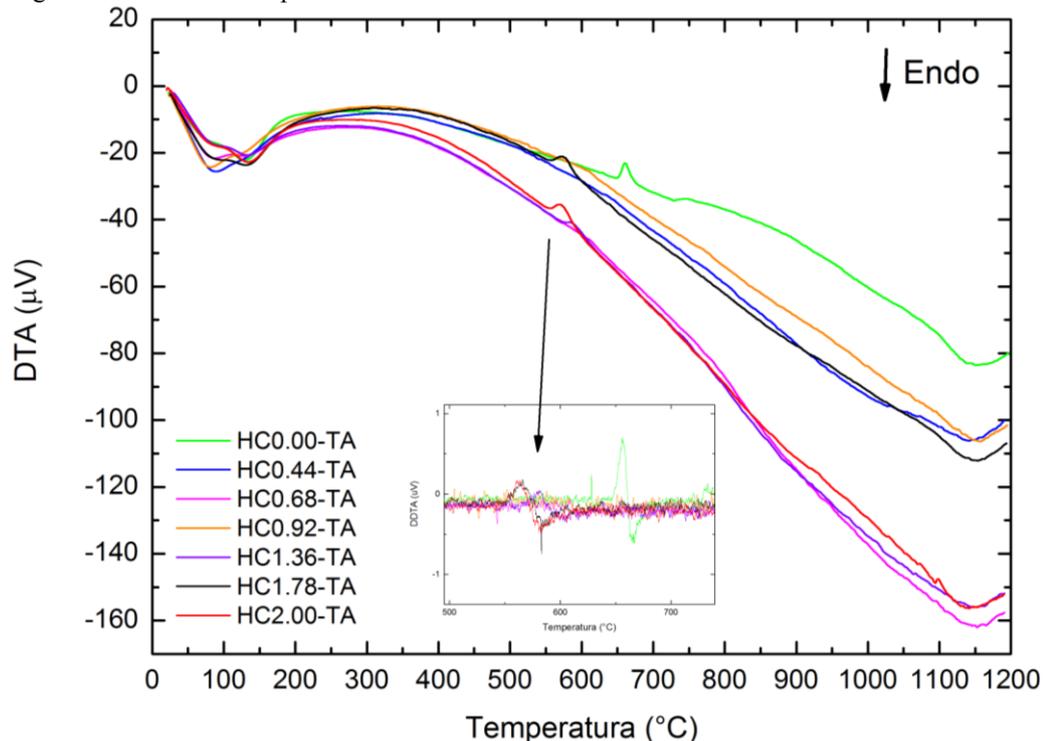
Amostras	HC0.00	HC0.44	HC0.68	HC0.92	HC1.36	HC1.78	HC2.00
%m perdido <sup>†</sup>	0,000 <sup>‡</sup>	1,470	2,080	2,390	3,130	4,310	4,850

Fonte: Do autor.

Notas: <sup>†</sup>% $m_{\text{CO}_3}/m_{\text{total}}$  atribuído a perda de  $\text{CO}_3$  no intervalo de temperatura de 400-100 °C. <sup>‡</sup>Foi descontado o valor da amostra HC0.00, por não conter carbonato.

Na Figura 25, são mostradas as curvas de Análise Térmica Diferencial (DTA) para estas amostras. É possível visualizar pequenos picos entre 500-600 °C, para as amostras com  $X \geq 0.92$ , sugerindo também substituição do  $\text{CO}_3^{2-}$  do tipo A [121].

Figura 25 - Curvas DTA para a série de amostras TA



Fonte: Do autor.

Nota-se que com o aumento de carbonato na estrutura, o pico se desloca para temperaturas menores (Tabela 15), em concordância com o que diz Krajewski et al., para as carboapatitas [121]. De acordo com este autor, estes picos se deslocam para temperaturas mais próximas de zero com o incremento da quantidade de  $\text{CO}_3^{2-}$  na estrutura das HACs. Neste gráfico também é possível observar que a transformação de HAP acontecesse depois de 1100 °C, evento que começa a se evidenciar por DRX a 1000 °C, como visto anteriormente. Esta diferença de temperatura pode ser devido à taxa de aquecimento que não foi a mesma (10 °C.min<sup>-1</sup> para a análise de DTA e 5 °C.min<sup>-1</sup> para os tratamentos térmicos na obtenção das amostras), já que é conhecido que a taxa de aquecimento influencia na temperatura da transição de fase.

Tabela 15 - Temperatura de ocorrência de picos para a substituição do tipo A

<b>Amostras</b>	HC0.92	HC1.36	HC1.78	HC2.00
<b>T<sub>pico</sub> (°C)</b>	600	574	551	550

Fonte: Do autor.

#### 4.6 DETERMINAÇÃO SEMI-QUANTITATIVA DE $\text{CO}_3^{2-}$

A determinação semiquantitativa de carbonato presente nas amostras foi realizada e correlacionada por diferentes técnicas complementares como: Análise Elementar, Termogravimetria e Infravermelho. Os resultados obtidos destas técnicas foram diferentes dos valores esperados pelo cálculo estequiométrico para cada amostra (ver Tabelas 16 a 18). Devido às divergências entre os valores absolutos experimentais e teóricos, optou-se pela análise das relações da quantidade de carbonato presente em cada par de amostras consecutivas, para cada técnica utilizada. Estes resultados foram comparados com as mesmas relações teóricas. Os valores obtidos para cada amostra são mostrados nas Tabelas de 16 a 18.

Na Tabela 16 aparece um resumo das razões dos valores médios para cada par de amostras, obtidos por AE, TG e FTIR, assim como a razão teórica da estequiometria de  $\text{CO}_3^{2-}$ , para a série TA.

Tabela 16 - Razões experimentais da quantidade  $\text{CO}_3^{2-}$  e suas razões teóricas estequiométricas para os pares consecutivos obtidos por AE, TG e FTIR das amostras a TA

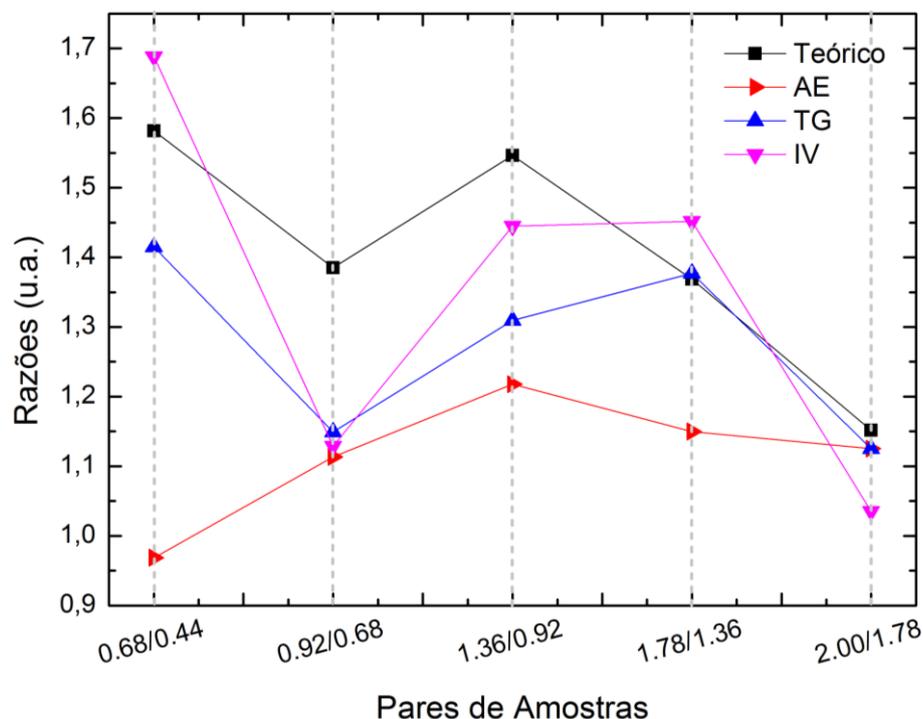
<b>Razões</b>	<b>Teórico</b>	<b>AE</b>	<b>TG</b>	<b>FTIR</b>
<b>0.68/0.44</b>	1,581599	0,96859333	1,41496599	1,687944
<b>0.92/0.68</b>	1,385272	1,11337534	1,14903846	1,128800
<b>1.36/0.92</b>	1,546409	1,21764074	1,30962343	1,445035
<b>1.78/1.36</b>	1,368966	1,14966631	1,37699681	1,452043
<b>2/1.78</b>	1,151370	1,12503272	1,12529002	1,035269

Fonte: Do autor

As razões teóricas foram calculadas utilizando os valores teóricos de  $\text{CO}_3^{2-}$  para cada amostra, obtidos pela estequiometria. As razões, para cada análise experimental foram obtidas a partir dos resultados de cada técnica, da seguinte forma: em AE, ao resultado do teor %C foi subtraído o valor obtido para a amostra HC0.00, como mostrado anteriormente; para TG o cálculo foi realizado pela massa perdida no intervalo entre 400-1000 °C, como sugerido por Ivanova et al. [18]; e para FTIR foi levando em conta a área total média dos modos vibracionais do  $\text{CO}_3^{2-}$  do ajuste dos picos centrados em 1418 e 1480  $\text{cm}^{-1}$  (Tabela 13).

Para melhor visualização do conjunto de dados, foi plotado o resultado na Figura 26. Como se pode observar no gráfico, o comportamento obtido para cada técnica segue o mesmo padrão que o resultado teórico. Estes resultados apresentam pequenos desvios pontuais, podendo ser atribuído a particularidades de cada técnica. Pelo fato dos valores experimentais, para as relações destas amostras, se correlacionarem bem com os dados teóricos sugere-se para cada caso, que as amostras apresentem os teores de carbonato esperados.

Figura 26 - Razões teórica estequiométrica e experimental de  $\text{CO}_3$ , para os pares consecutivos das amostras da série TA.



Fonte: Do autor.

O mesmo procedimento de análise foi feito para as séries de amostras a 500 e 700 °C. Os resultados aparecem resumidos nas Tabela 17 e Tabela 18.

Tabela 17 - Razões experimentais de carbonato para pares de amostras a 500 °C

Razões	AE	FTIR
<b>0.68/0.44</b>	1,23953864	1,572916
<b>0.92/0.68</b>	1,04941699	1,218536
<b>1.36/0.92</b>	1,29266945	1,515788
<b>1.78/1.36</b>	1,27263829	1,336567
<b>2/1.78</b>	1,04743515	1,076945

Fonte: Do autor.

Comparando-se as razões mostradas para as amostras a 500 °C com as razões teóricas obtidas pela estequiometria (Tabela 17) evidencia-se que os valores estão bastante próximos, mantendo o mesmo comportamento. Estes resultados corroboram com os obtidos por DTA (Tabela 15) e TG (Figura 24), sugerindo que as temperaturas inferiores a 500 °C não provocam perdas significativas de  $\text{CO}_3^{2-}$  nas amostras estudadas, como era de se esperar.

Tabela 18 - Razões experimentais de carbonato para pares de amostras a 700 °C

<b>Razões</b>	<b>AE</b>	<b>FTIR</b>
<b>0.68/0.44</b>	1,06659345	2,075750
<b>0.92/0.68</b>	1,23902395	1,602755
<b>1.36/0.92</b>	1,17242452	1,333569
<b>1.78/1.36</b>	1,20743207	1,444311
<b>2/1.78</b>	1,08946761	1,168408

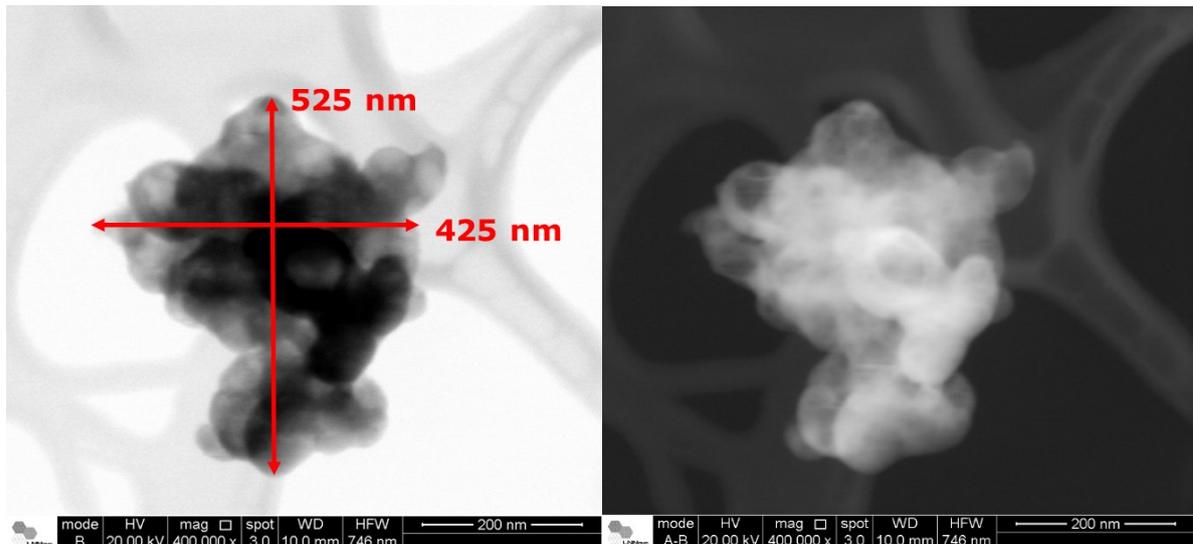
Fonte: Do autor.

Todos os valores para todas as técnicas para 700 °C foram maiores que 1, o que mostrou que as amostras com maior composição apresentam mais  $\text{CO}_3^{2-}$ , como esperado. Entre as temperaturas de 500 e 700 °C, para AE, nas relações **1.36/0.92** e **1.78/1.36**, diminuiu-se sua razão. Isto dá a entender que o  $\%\text{CO}_3^{2-}$  que existe na amostra com composição superior é menor que a inferior em 700 °C comparada com 500 °C. Isto pode ser atribuído ao fato de que entre 500 e 700 °C as amostras 1.36 e 1.78 apresentam  $\text{CO}_3^{2-}$  no sítio  $\text{OH}^-$ , o qual foi eliminado a 700 °C. Isto praticamente não se vê na relação **2.00/1.78**, sugerindo que as quantidades de  $\text{CO}_3^{2-}$  que entrou no sítio  $\text{OH}^-$ , nestas duas amostras seja equivalente.

#### 4.7 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA POR TRANSMISSÃO

As amostras HC0.00-TA, HC0.92-TA e HC2.00-TA foram selecionadas para as medidas de STEM. Na Figura 27, observamos um grão oriundo de um aglomerado de nanocristalitos de HACs, para a amostra HC0.92-TA. O aglomerado possui dimensões de 425 nm e 525 nm em seus maiores lados, correspondentes a largura e altura, respectivamente. Podem ser observados também partículas menores na ordem de 50 nm.

Figura 27 - Imagem STEM de aglomerados de HAC.

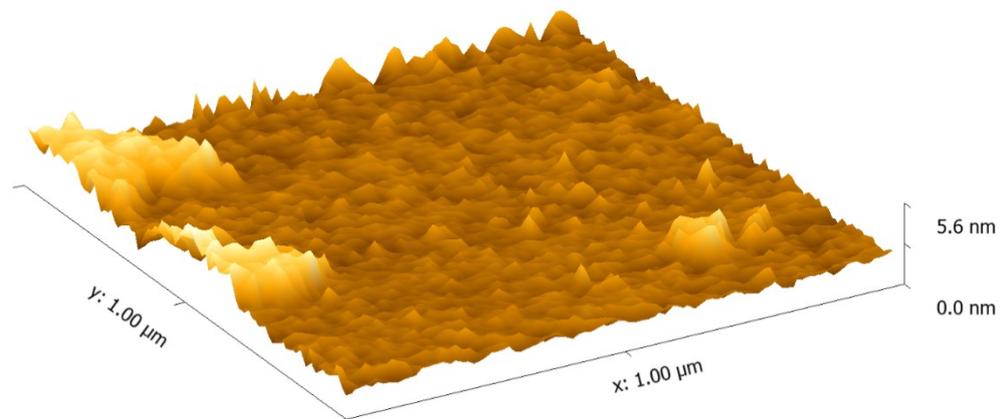


Fonte: Do autor.

#### 4.8 MICROSCOPIA DE FORÇA ATÔMICA

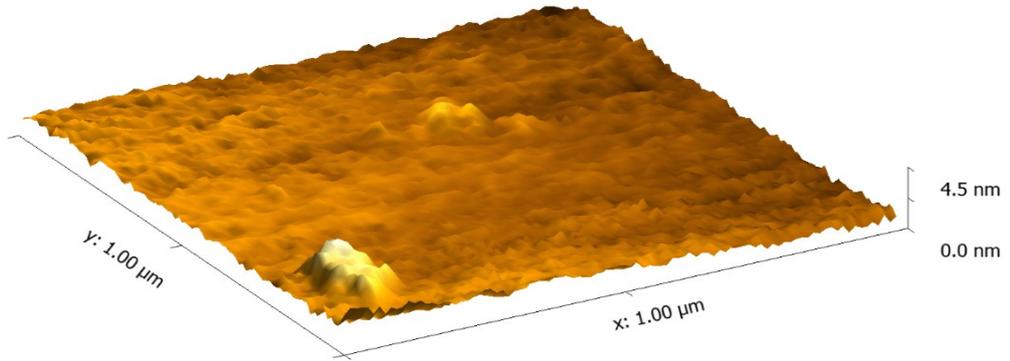
Foram medidas as amostras HC0.00-TA, HC0.92-TA e HC2.00-TA, por elas serem representativas da série TA e estarem equidistantes em composição (Figuras 28, 29 e 30), bem como a matriz de mica (Figura 31) obtida para comparar com o resultado das amostras. Todas as imagens foram coletadas em uma área de  $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ .

Figura 28 - Topografia da amostra HC0.00-TA



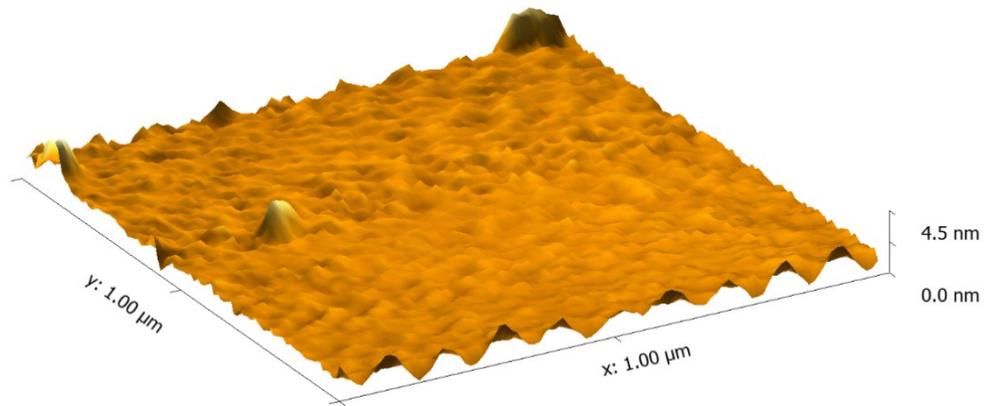
Fonte: Do autor.

Figura 29 - Topografia da amostra HC0.92-TA



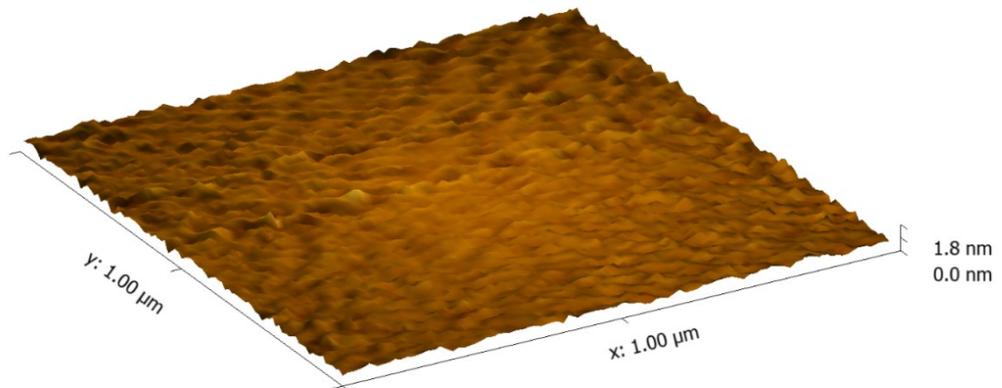
Fonte: Do autor.

Figura 30 - Topografia da amostra HC2.00-TA



Fonte: Do autor.

Figura 31 - Topografia da matriz de mica utilizada

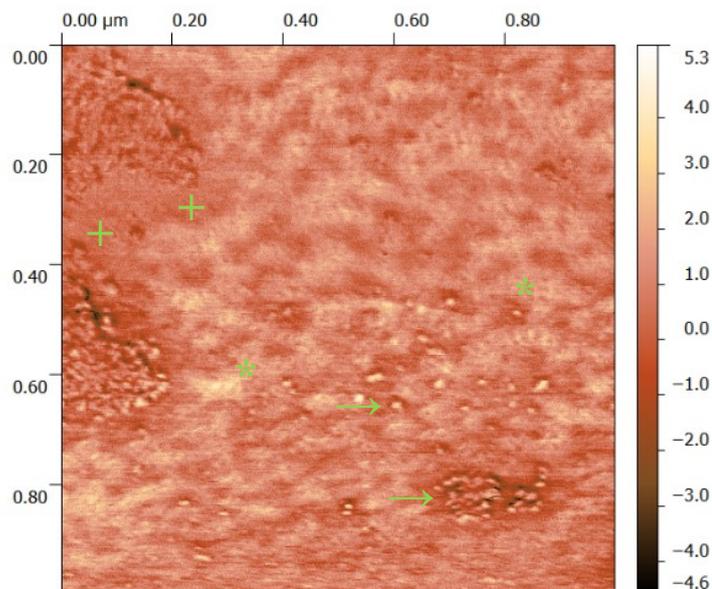


Fonte: Do autor.

A partir das imagens de topografia das amostras é possível notar que a altura máxima dos aglomerados ou grãos de HAC foi de 5,6; 4,5 e 4,5 nm, para as amostras HC0.00-TA, HC0.92-TA e HC2.00-TA, respectivamente. Os resultados obtidos por esta técnica corroboram com os dados obtidos por difração de raios-x, com valor médio de  $\sim 44 \text{ \AA}$  ( $\sim 4,4 \text{ nm}$ ). Para esta interpretação, foi assumido que os cristalitos apresentam formato ligeiramente agulhado na direção “c” e “deitam” sobre a matriz de mica, de modo que a medida realizada traz informações do valor na direção “ab” do cristalito nestas amostras. Por DRX o valor médio obtido para estas amostras na direção [020] foi: 27,79; 38,22 e 22,26  $\text{\AA}$ , respectivamente.

Para melhor visualização dos grãos de HAC, foram realizadas medidas de fase, das mesmas regiões utilizadas para as imagens de topografia, uma região de  $1 \mu\text{m} \times 1 \mu\text{m}$ . As imagens de fase (Figuras 32, 33, 34 e 35) são obtidas através da monitorização da diferença de fase entre o sinal aplicado ao cantilever e sua real oscilação. Esta diferença de fase resulta do amortecimento da vibração por interação da ponta com a superfície da amostra, e depende das propriedades da superfície da mesma, tais como as propriedades mecânicas de fricção e adesão.

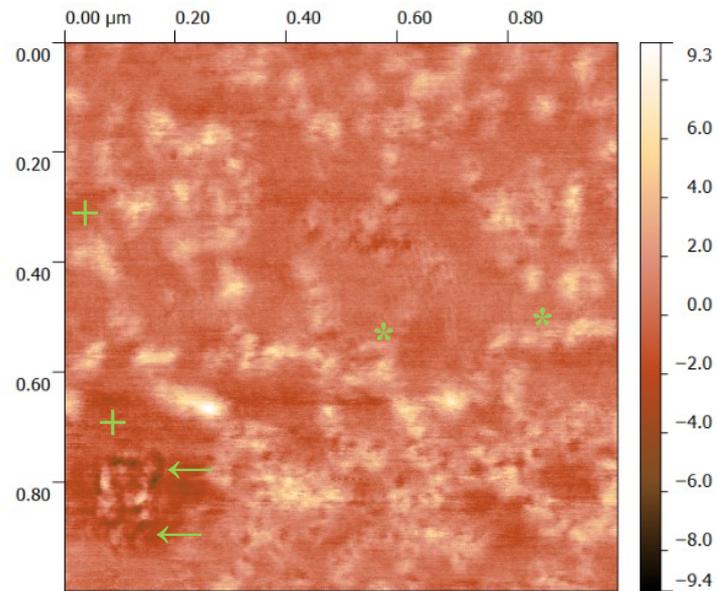
Figura 32 - Imagem de fase da amostra HC0.00-TA



Fonte: Do autor.

Nota: Na imagem os símbolos correspondem: (→) cristalitos isolados e/ou aglomerados de cristalitos; (\*) material amorfo disperso; (+) matriz de mica.

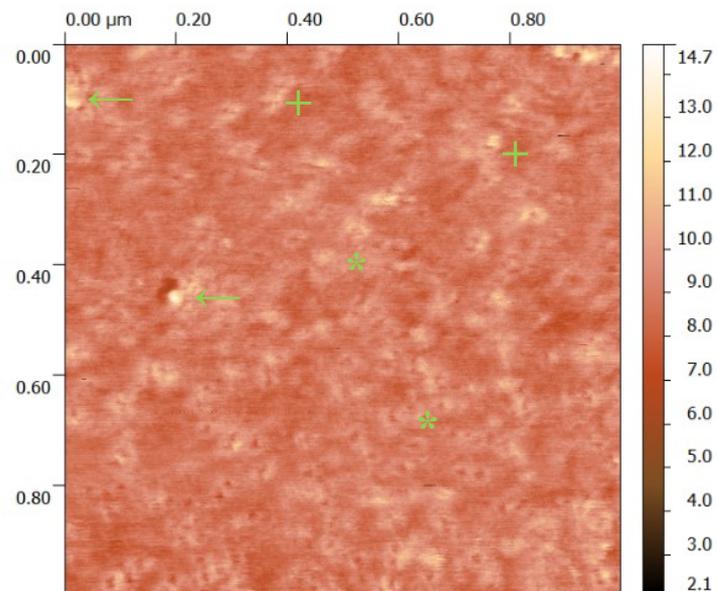
Figura 33 - Imagem de fase da amostra HC0.92-TA



Fonte: Do autor.

Nota: Na imagem os símbolos correspondem: (→) cristallitos isolados e/ou aglomerados de cristallitos; (\*) material amorfo disperso; (+) matriz de mica.

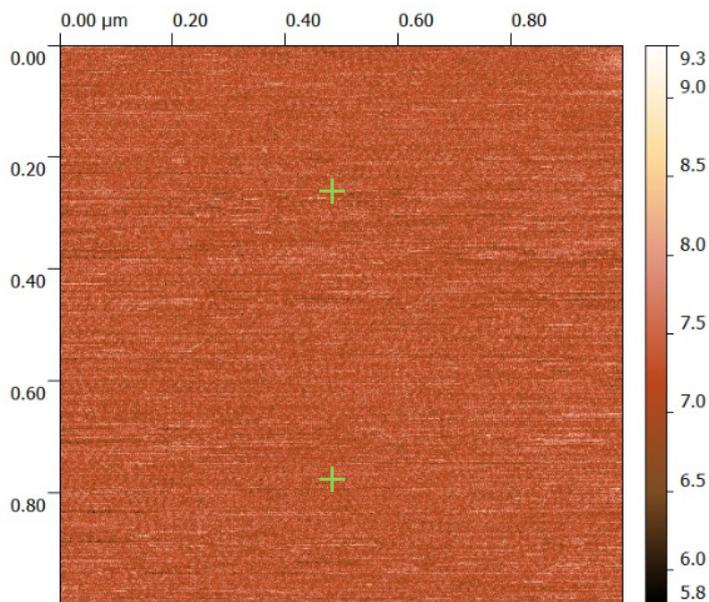
Figura 34 - Imagem de fase para a amostra HC2.00-TA



Fonte: Do autor.

Nota: Na imagem os símbolos correspondem: (→) cristallitos isolados e/ou aglomerados de cristallitos; (\*) material amorfo disperso; (+) matriz de mica.

Figura 35 - Imagem de fase da matriz de mica utilizada



Fonte: Do autor.

Nota: Na imagem os símbolos correspondem: (+) matriz de mica.

A partir das imagens de fase é possível distinguir três tipos de informações: i) regiões destacadas por pequenos pontos: correspondem a aglomerados de grãos e/ou pequenos cristalitos e/ou grãos isolados das HACs. ii) regiões esbranquiçadas: correspondem a presença de material amorfo, disperso sobre a mica. iii) regiões avermelhadas: correspondem à matriz de mica, como mostrado na imagem de referência.

Nota-se ainda que, como o tamanho de cristalito para as amostras HC0.00-TA ~HC2.00-TA (~34 Å) é levemente menor que o tamanho do cristalito para a HC0.92-TA (~55 Å), não é de se esperar diferença significativa por microscopia, obtendo-se resultados da mesma ordem de grandeza. Observando-se as imagens de fase, pôde-se evidenciar que as amostras são grãos nanométricos, formados por aglomerados de partículas menores de 50 Å e que a amostra apresenta elevada quantidade de material amorfo.

Correlacionando os resultados obtidos por STEM, AFM e DRX, sugerem que as amostras estão formadas por nanocristalitos que se aglomeram formando grãos maiores. O fato dos resultados obtidos por STEM serem maiores que os obtidos por AFM pode ser atribuído a forma de preparação da amostra em cada tipo de análise. Para o caso do STEM, na preparação das amostras os aglomerados foram menos dissociados que no caso do AFM.

## 5 CONCLUSÕES

### *Da estrutura cristalina:*

- a) Foram sintetizadas HACs nanométricas, fato comprovado pelo refinamento dos difratogramas de DRX e pelas imagens de AFM;
- b) O tamanho nanométrico dos cristalitos foi comprovado pelas imagens de AFM, adotando-se a ideia de que ao serem dispersas sobre a matriz, as “agulhas” de HAC revelam seu diâmetro máximo de 4.5 a 5.6 nm;
- c) Para as amostras a TA, os valores de tamanho de cristalito obtidos por AFM se mostram próximos aos valores na direção “ab” obtidos por DRX;
- d) A HAC0.00 após tratamento térmico a 700°C, sofreu mudança de fase cristalina, formando-se  $\alpha$ -TCP como fase única. Após o tratamento térmico a 1000 °C esta amostra sofreu uma segunda mudança de fase cristalina, para  $\beta$ -TCP;
- e) Para as amostras carbonatadas (HAC) a mudança de fase cristalina ocorreu após o tratamento a 1000 °C, formando-se  $\alpha$ -TCP parcialmente.

### *Do conteúdo de carbonato:*

- a) Foram sintetizadas nano HACs com diferentes %CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>;
- b) Foi desenvolvido um modelo de análise semiquantitativa para obter o %CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> utilizando a técnica de FTIR;
- c) Foi sugerido por DTA e AE, que para amostras com  $X < 0.92$  o carbonato encontra-se no sítio PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>; e nas amostras com  $X \geq 0.92$  o carbonato foi encontrado tanto no sítio do PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> quanto no sítio do OH<sup>-</sup>;
- d) Da comparação dos resultados semiquantitativos obtidos por FTIR, TG e AE, utilizando as razões entre pares de amostras, foi inferida a quantidade de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> em cada caso. Os resultados obtidos das três técnicas foram equivalentes aos resultados teóricos, sugerindo que as amostras contem a quantidade de CO<sub>3</sub><sup>2-</sup> esperada.

## 6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- a) As HACs sintetizadas possuem potencial para aplicação em enxertos ósseos. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, sugere-se realizar testes *in vivo* e em pacientes, para comprovar o efeito regenerativo destes materiais;
- b) A variedade composicional das amostras possibilita aplicações para ossos com diferentes especificações, como são em conteúdo de carbonato e em cristalinidade do material;
- c) É sugerido realizar Análises Térmicas acoplados com Espectroscopia de Massas com o objetivo de investigar o mecanismo de perda de  $\text{CO}_3^{2-}$  na estrutura cristalina, associado à temperatura.

## REFERÊNCIAS

- [1] ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M. P.; MANSUR, H. S. *Biomateriais: fundamentos e aplicações*. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.
- [2] GUTIERRES, M. et al. “Substitutos Ósseos: conceitos gerais e estado actual” *Arq. Med.*, v. 19, n. 4, p. 153–162, 2005.
- [3] OLSZTA, M. J. et al., “Bone structure and formation: A new perspective” *Mater. Sci. Eng. R Reports*, v. 58, n. 3–5, p. 77–116, 2007.
- [4] FATHI, M. H.; HANIFI, A.; MORTAZAVI, V. “Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder” *J. Mater. Process. Technol.*, v. 2, n. 202, p. 536–542, 2007.
- [5] MARKOVIC, S. et al. “Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology” *Biomed. Mater.*, v. 6, n. 4, p. 045005, 2011.
- [6] GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, H. A. “Fosfatos de Calcio de Interesse Biológico: Impotância como Biomateriais, Propriedades e Métodos de Obtenção de Recobrimentos,” *Quim. Nov.*, v. 33, n. 6, p. 1352–1358, 2010.
- [7] GODBER, J.; LEITE, L. *Fosfatos de Cálcio de Hidroxiapatita, seu Método de Preparação e suas Aplicações*. BR n. PI 0510632-0A, 06 mai. 2005, 13 nov. 2007.
- [8] MAIA, M. “Reconstrução da estrutura facial por biomateriais: revisão de literatura” *Rev. Bras. Cir. Plástica*, v. 25, n. 3, p. 566–572, 2010.
- [9] APARECIDA, A. H. et al. “Estudo da Influência dos íons  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $SO_4^{2-}$  e  $CO_3^{2-}$  na Cristalização Biomimética de Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP) e Conversão a Fosfato Octacálcico (OCP)” *Quim. Nov.*, v. 30, n. 4, p. 892–896, 2007.
- [10] COSTA, A. C. F. M. et al. “Hidroxiapatita : Obtenção, caracterização e aplicações,” *Rev. Eletr. Mater. Proc.*, v. 4, n. 3, p. 29–38, 2009.
- [11] REY, C.; et al. “Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: Implications for biominerals and biomaterials” *Mater Sci. Eng., C*, v. 27, n. 2, p. 198–205, 2007.
- [12] RIBEIRO, C. *Processamento e caracterização de cerâmicas à base de hidroxiapatita e fosfato-tricálcico*. 2003. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares. São Paulo, 2003.
- [13] NING, C. et al. *Preparation of nanometric hydroxyapatite with oriented particles by mixing mixture of polyvinyl-pyrrolidone, dispersing agent and modifier, and calcium*

*salt and phosphate solution in alkaline solution controlling system* CN 101585523-A, 20 mai. 2009, 20 mai. 2012.

- [14] BALDI, G.; BITOSSI, M. *Nanometric Hydroxyapatite and Suspensions Thereof, its Preparation and use*. WO 2007141324A1. 08 jun. 2007, 13 dez. 2007.
- [15] HAYAKAWA, S. et al. "Preparation of nanometer-scale rod array of hydroxyapatite crystal" *Acta Biomater.*, v. 5, n. 6, p. 2152–2160, 2009.
- [16] WANG, P. et al. "Effects of synthesis conditions on the morphology of hydroxyapatite nanoparticles produced by wet chemical process" *Powder Technol.*, v. 203, n. 2, p. 315–321, 2010.
- [17] AL-KATTAN, A. et al., "Medical Potentialities of Biomimetic Apatites through Adsorption, Ionic Substitution, and Mineral/Organic Associations: Three Illustrative Examples" *Adv. Eng. Mater.*, v. 12, n. 7, p. 224–233, 2010.
- [18] GOMES, L. C. et al. "Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio a partir da casca de ovo de galinha" *Cerâmica*, v. 58, p. 448–452, 2012.
- [19] ARAUJO, J. C.; DULCE, G.; SOARES, D. A. "Síntese da Hidroxiapatita e Refinamento Estrutural por Difração de Raios-X" *Quim. Nova.*, v. 30, n. 8, p. 1853–1859, 2007.
- [20] AZEVEDO, V. V. C. et al. "Materiais cerâmicos utilizados para implantes," *Rev. Eletrônica Mater. e Process.*, v. 1, p. 31–39, 2008.
- [21] KUMTA, P. N. et al., "Nanostructured calcium phosphates for biomedical applications: novel synthesis and characterization" *Acta Biomater.*, v. 1, n. 1, p. 65–83, 2005.
- [22] VALLET-REGÍ, M.; GONZÁLEZ-CALBET, J. M. "Calcium phosphates as substitution of bone tissues" *Prog. Solid State Chem.*, v. 32, n. 1–2, p. 1–31, 2004.
- [23] LIN, K.; WU, C.; CHANG, J. "Advances in synthesis of calcium phosphate crystals with controlled size and shape" *Acta Biomater.*, v. 10, p. 4071–4102, 2014.
- [24] DE BRUIJIN, J. D.; VAN BLITTERSWIJK, C. A.; DAVIES J. E. "Initial bone matrix formation at the hydroxyapatite interface in vivo" *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 29, p. 89–99, 1995.
- [25] REY, C. et al. "The Carbonate Environment in Bone Mineral: A Resolution-Enhanced Fourier Transform Infrared Spectroscopy Study" *Calcif. Tissue Int.*, v. 45, p. 157–164, 1989.
- [26] AOKI, H. *Science and Medical Applications of Hydroxyapatite*, 1st ed. Tokyo: Jap. Assoc. Apat. Sci., 1991.
- [27] GROSS, K. A.; GROSS, V. BERNDT, C. C. "Thermal Analysis of Amorphous Phases in Hydroxyapatite Coatings" *J. Am. Ceram. Soc.*, v. 81, n. 1, p. 106–112, 1998.

- [28] IVANOVA, T. I. et al. "Crystal Structure of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite. Thermal Decomposition" *J. Solid State Chem.*, v. 160, n. 2, p. 340–349, 2001.
- [29] WONG, L. H.; TIO, B. MIAO, X. "Functional graded tricalcium phosphate/fluorapatite composites" *Mater Sci. Eng., C*, v. 20, p. 111–115, 2002.
- [30] PIELICHOWSKA, K.; BLAZEWICZ, S. "Bioactive Polymer/Hydroxyapatite (Nano)composites for Bone Tissue Regeneration" in *Biopolymers*, v. 232, ABE, A. DUSEK, K.; KOBAYASHI, S. Springer Berlin Heidelberg, p. 97–207, 2010.
- [31] SADJADI, M. S. et al. "In situ biomimetic synthesis, characterization and in vitro investigation of bone-like nanohydroxyapatite in starch matrix" *Mater. Chem. Phys.*, v. 124, n. 1, p. 217–222, 2010.
- [32] ZHANG, J. et al. "Synthesis of dental enamel-like hydroxyapatite through solution mediated solid-state conversion" *Langmuir*, v. 26, n. 5, p. 2989–94, 2010.
- [33] MAVROPOULOS, E. et al. "Studies on the mechanisms of lead immobilization by hydroxyapatite" *Environ. Sci. Technol.*, v. 36, n. 7, p. 1625–1629, 2002.
- [34] FULMER, M. T.; MARTIN, R. I.; BROWN, P. W., "Formation of Calcium Deficient Hydroxyapatite at Near-physiological Temperature" *J. Mater. Sci. - Mater. M.*, v. 3, n. 4, p. 299–305, 1992.
- [35] LEE, Y. J. "Spectroscopic Investigation of Arsenate and Selenate Incorporation into Hydroxyapatite" *J. Curr. Appl. Phys.*, v. 10, p. 158–163, 2009.
- [36] TARI, N. E.; MOTLAGH, M. M. K. "Effect of poly (sodium 4-styrene sulfonate) on the morphology of hydroxyapatite particles" *Bioinorg. Chem. Appl.*, v. 2009, p. 3, 2009.
- [37] MAYER, I.; SCBLAM, R.; FEATBERSTONE, J. D. B. "Magnesium-Containing Carbonate Apatites" *J. Inorg. Biochem.*, v. 66, p. 1–6, 1997.
- [38] ROCHA, N. C. C. et al. "Cadmium Uptake by hydroxyapatite synthesized in different conditions and submitted to thermal treatment" *Environ. Sci. Technol.*, v. 36, p. 1630–1635, 2002.
- [39] AZEVEDO, V. V. C. et al. "Materiais cerâmicos utilizados para implantes" *Biomaterials*, v. 3, p. 35–42, 2007.
- [40] MA, Q. Y.; LOGAN, T. J.; TRAINA, S. J. "Lead Immobilization from Aqueous Solutions and Contaminated Soils Using Phosphate Rocks" *Environ. Sci. Technol.*, v. 29, p. 1118–1126, 1995.
- [41] KANAZAWA, T. *Inorganic Phosphate Materials*. Tokyo: Elsevier Inc., 1989.

- [42] FLEET, M. E.; LIU, X. “Coupled substitution of type A and B carbonate in sodium-bearing apatite” *Biomater.*, v. 28, p. 916–926, 2007.
- [43] REY, C. et al. “Physico-chemical properties of nanocrystalline apatites: Implications for biominerals and biomaterials” *Mater. Sci. Eng., C*, v. 27, p. 198-205, 2007.
- [44] SUETSUGU, Y. et al. “Structure Analysis of A-Type Carbonate Apatite by a Single-Crystal X-Ray Diffraction Method” *J.Solid State Chem.*, v. 155, n. 2, p. 292–297, 2000.
- [45] DELIGIANNI, D. D. et al. “Effect of surface roughness of hydroxyapatite on human bone marrow cell adhesion, proliferation, differentiation and detachment strength” *Biomaterials*, v. 22, p. 87–96, 2001.
- [46] NING, C. Q.; ZHOU, Y. “In vitro bioactivity of a biocomposite fabricated from HA and Ti powders by powders metallurgy method” *Biomaterials*, v. 23, p. 2909–2915, 2002.
- [47] DANTAS, F. M. L. *Processo para Produção de Nanopartículas de Hidroxiapatita e Hidroxiapatita Obtida* BR n PI 1020120273454A2, 25 out. 2012, 23 set. 2014.
- [48] HERMANSSON, L. et al. *Sistema para Produção de um Material de Obtenção Dentária ou Material de Implante, e Material em Pó, Líquido de Hidratação, Material de Implante e Método de Obtenção de uma Ligação* BR n. PI 0311971-8A, 11 jun. 2003, 22 mar. 2005.
- [49] LEE, D. et al. *Processo para a Preparação de um Fosfato de Cálcio Amorfo Reativo VE de Hidroxiapatita francamente Cristalina e para a Promoção de Crescimento de Osso, Material de Fosfato de Cálcio, Fosfato de Cálcio Amorfo Reativo, Material Substituto de Osso Reabsorvível* BR n 9698409-0A, 20 mai. 1996, 17 ago. 1999.
- [50] LI, P. *Bioactive Ceramic Coating and Method for Producing It* EP 0984799-B1, 15 mar. 2000, 25 jan. 2006.
- [51] RUDIN, V. N. *Preparation ‘OSTIM APATITE’ for Stimulating Growth in Bone Tissue* EP 0664133B1, 14 jul. 1994, 23 set. 1998.
- [52] YU, H. S.; HONG, K. S.; JUNG, H. S. *Toothpaste abrasive containing nano-sized carbonated apatite which is physically and chemically identical to inorganic components in teeth, and toothpaste composition by using the same* KR 2006104095-A, 29 mar. 2005, 09 out. 2006.
- [53] KORNEYCHUK, S. A. et al., *Method of preparing mixture for ceramic material based on carbonated hydroxyapatite (Rus)* RU 2391317-C, 15 mar. 2007, 10 jun. 2010.
- [54] CONSTANTZ, B. R. *Paste Compositions Capable of Setting Into Carbonated Apatite* US 005952010-A1, 09 dez. 1997, 14 set. 1999.
- [55] BONFIELD, W.; GIBSON, I. R. *Method for the Preparation of Carbonated Hydroxyapatite Compositions* US 006582672-B1, 17 dez. 1998, 24 jun. 2003.

- [56] ASGARY, S. *Medical and Dental Biomaterial and method of use for the same* US 008105086-B2, 01 abr. 2011, 31 jan. 2012.
- [57] GAZZANIGA, G. et al., *Biologically Active Nanoparticles A Carbonate-Substituted Hydroxyapatite, Process for Their Preparation and Compositions Incorporating the same* US 008367043-B2, 30 mai. 2006, 05 fev. 2013.
- [58] YING, J. Y.; AHN, E. S.; NAKAHIRA, A. *Nanocrystalline Apatites and Composites, Prostheses Incorporating them, and Method for their Production* US 00RE41584-E, 07 jun. 2004, 24 ago. 2010.
- [59] BONFIELD, W.; GIBSON, I. *Process for the Preparation of Magnesium and Carbonate Substituted Hydroxyapatite* WO 1999032400-A1, 17 dez. 1998, 01 jul. 1999.
- [60] DOLCI, G. et al., *Odontostomatologic use of Apatite-based Nanostructured Materials* WO 2000003747-A2, 16 jul. 1999, 27 jan. 2000.
- [61] ROVERI, N. et al., *Biomimetic Compounds Containing Hydroxyapatites Substituted with Magnesium and Carbonate, and the Processes used to obtain them* WO 2005082780-A1, 25 fev. 2005, 09 set. 2005.
- [62] TERRA, J. et al., "Theoretical and experimental studies of substitution of cadmium into hydroxyapatite" *Phys. Chem. Chem. Phys.*, v. 12, n. 3, p. 15490–15500, 2010.
- [63] LE BAIL, A.; DUROY, H.; FOURQUET, J. L. "Ab-Initio Structure Determination of LiSbWO by X-ray Powder Diffraction" *Mart. Res. Bull.*, v. 23, p. 447–452, 1988.
- [64] RODRÍGUEZ-CARVAJAL, J. "FullProf: A program for Rietveld refinement and Pattern matching analysis" in *Abstracts of satellite meeting on powder diffraction of the XV congress of the UICr*, version: j, p. 127, 1990.
- [65] RODRÍGUEZ-CARVAJAL, J. "Guide to Program FULLPROF for Rietveld Analysis of X-Ray and Neutron Powder Diffraction Patterns with a 'PC' and various other computers" 2001.
- [66] THOMPSON, P.; COX, D. E.; HASTINGS, J. B. "Rietveld Refinement of Debye-Scherrer Synchrotron X-Ray Data from Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>" *J. Appl. Crystallogr.*, v. 20, n. 2, p. 79–83, 1987.
- [67] SUDARSANAN, K.; YOUNG, R. A. "Significant precision in crystal structural details. Holly Springs hydroxyapatite" *Acta Crystallogr. B.*, v. 25, n. 8, p. 1534–1543, 1969.
- [68] BELSKY, A. et al. "New developments in the Inorganic Crystal Structure Database (ICSD): accessibility in support of materials research and design" *Acta Crystallogr., B.*, v. 58, n. 3, p. 364–369, 2002.
- [69] CARAYON, M. T.; LACOUT, J. L. "Study of the Ca/P atomic ratio of the amorphous phase in plasma-sprayed hydroxyapatite coatings" *J. Solid State Chem.*, v. 172, n. 2, p. 339–350, 2003.

- [70] ELLIOT, J. C. *Structure and Chemistry of the Apatites and Other calcium Orthophosphates*. Amsterdam: Elsevier 1994.
- [71] SHEMESH, A. “Crystallinity and diagenesis of sedimentary apatites” *Geochim. Cosmochim. Acta*, v. 54, p. 2433–2438, 1990.
- [72] NORDSTROM, E. G.; KARLSSON, K. H. “Carbonate-doped hydroxyapatite” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v. 1, p. 182–184, 1990.
- [73] REHMAN, I.; BONFIELD, W. “Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy” *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v. 8, n. 1, p. 1–4, 1997.
- [74] LANDI, E. et al., “Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite” *Biomaterials*, v. 25, n. 10, p. 1763–1770, 2004.
- [75] COREÑO, J. et al., “Mechanochemical synthesis of nanocrystalline carbonate-substituted hydroxyapatite” *Opt. Mater.*, v. 27, n. 7, p. 1281–1285, 2005.
- [76] WILSON, R. M.; DOWKER, S. E. P.; ELLIOT, J. C. “Rietveld refinements and spectroscopic structural studies of a Na-free carbonate apatite made by hydrolysis of monetite” *Biomaterials*, v. 27, n. 27, p. 4682–92, 2006.
- [77] BARINOV, S. M. et al., “Carbonate loss from two magnesium-substituted carbonated apatites prepared by different synthesis techniques” *Mater. Res. Bull.*, v. 41, n. 3, p. 485–494, 2006.
- [78] FLEET, M. E.; LIU, X. “Coupled substitution of type A and B carbonate in sodium-bearing apatite” *Biomaterials*, v. 28, n. 6, p. 916–926, 2007.
- [79] ANTONAKOS, A.; LIAKORAPIS, E.; LEVENTOURI, T. “Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites” *Biomaterials*, v. 28, n. 19, p. 3043–54, 2007.
- [80] SHU, C. et al., “Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by gelatin-based precipitation method” *Ceram. Int.*, v. 33, n. 2, p. 193–196, 2007.
- [81] ZAMAN, C. T. et al., “Fabrication of B-type carbonate apatite blocks by the phosphorization of free-molding gypsum-calcite composite” *Dent. Mater. J.*, v. 27, n. 5, p. 710–5, 2008.
- [82] LI, Y.; LI, D. WENG, W. “Preparation of Nano Carbonate-Substituted Hydroxyapatite from an Amorphous Precursor” *Int. J. Appl. Ceram. Technol.*, v. 5, n. 5, p. 442–448, 2008.
- [83] YUSUFOGLU, Y.; AKINC, M. “Effect of pH on the Carbonate Incorporation into the Hydroxyapatite Prepared by an Oxidative Decomposition of Calcium-EDTA Chelate” *J. Am. Ceram. Soc.*, v. 91, n. 1, p. 77–82, 2008.
- [84] FLEET, M. E. “Infrared spectra of carbonate apatites:  $\nu_2$ -Region bands” *Biomaterials*, v. 30, n. 8, p. 1473–1481, 2009.

- [85] TONEGAWA, T. et al., "Crystal structure refinement of A-type carbonate apatite by X-ray powder diffraction" *J. Mater. Sci.*, v. 45, n. 9, p. 2419–2426, 2010.
- [86] PETKOVA, V.; YANEVA, V. "Thermal behavior and phase transformations of nanosized carbonate apatite (Syria)" *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 99, n. 1, p. 179–189, 2009.
- [87] MARKOVIC, S. et al., "Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: a comparative study of crystal structure and morphology" *Biomed. Mater.*, v. 6, n. 4, p. 045005, 2011.
- [88] KOLMAS, J. et al., "Incorporation of carbonate and magnesium ions into synthetic hydroxyapatite: The effect on physicochemical properties" *J. Mol. Struct.*, v. 987, n. 1–3, p. 40–50, 2011.
- [89] YODER, C. H. et al., "Structural Water in Carbonated Hydroxylapatite and Fluorapatite: Confirmation by Solid State H NMR" *Calcif. Tissue Int.*, v. 90, n. 1, p. 60–67, 2012.
- [90] KEE, C. C.; ISMAIL, H.; MOHD NOOR, A. F. "Effect of Synthesis Technique and Carbonate Content on the Crystallinity and Morphology of Carbonated Hydroxyapatite" *J. Mater. Sci. Technol.*, v. 29, n. 8, p. 761–764, 2013.
- [91] PHAM MINH, D. et al., "Thermal behavior of apatitic calcium phosphates synthesized from calcium carbonate and orthophosphoric acid or potassium dihydrogen orthophosphate" *J. Therm. Anal. Calorim.*, v. 112, n. 3, p. 1145–1155, 2012.
- [92] WANG, M. C. et al., "Process Parameters on the Crystallization and Morphology of Hydroxyapatite Powders Prepared by a Hydrolysis Method" *Metall. Mater. Trans. A*, v. 44, n. 7, p. 3344–3352, 2013.
- [93] PAJCHEL, L. et al., "Comprehensive structural studies of ultra-fine nanocrystalline calcium hydroxyapatite using MAS NMR and FT-IR spectroscopic methods" *Mater. Res. Bull.*, v. 48, n. 11, p. 4818–4825, 2013.
- [94] CHIATTI, F. et al., "Revealing Hydroxyapatite Nanoparticle Surface Structure by CO Adsorption: A Combined B3LYP and Infrared Study" *J. Phys. Chemistry*, v. 117, n. 10, p. 25526–25534, 2013.
- [95] JAMUNA-THEVI, K. et al., "The influence of new wet synthesis route on the morphology, crystallinity and thermal stability of multiple ions doped nanoapatite" *Ceram. Int.*, v. 40, n. 1, p. 1001–1012, 2014.
- [96] TONKOVIC, M.; SIKIRIC, M.; BABIC-IVANCIC, V. "Controversy about  $\beta$ -tricalcium phosphate" *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, v. 170, p. 107–112, 2000.
- [97] SAYER, M. et al., "Structure and composition of silicon-stabilized tricalcium phosphate" *Biomaterials*, v. 24, n. 3, p. 369–382, 2003.

- [98] SUCHANEK, W. L. et al., "Preparation of magnesium-substituted hydroxyapatite powders by the mechanochemical-hydrothermal method" *Biomaterials*, v. 25, n. 19, p. 4647–4657, 2004.
- [99] REID, J. W. et al., "Synthesis and characterization of single-phase silicon-substituted  $\alpha$ -tricalcium phosphate" *Biomaterials*, v. 27, n. 15, p. 2916–25, 2006.
- [100] KANNAN, S. et al., "Synthesis and structural characterization of strontium- and magnesium-co-substituted  $\beta$ -tricalcium phosphate" *Acta Biomater.*, v. 6, n. 2, p. 571–576, 2010.
- [101] SANOSH, K. P. et al., "Sol–gel synthesis of pure nano sized  $\beta$ -tricalcium phosphate crystalline powders" *Curr. Appl. Phys.*, v. 10, n. 1, p. 68–71, 2010.
- [102] CHEN, J. et al., "A simple sol-gel technique for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic powders" *Mater. Lett.*, v. 65, n. 12, p. 1923–1926, 2011.
- [103] SHA, L. et al., "Microwave-assisted co-precipitation synthesis of high purity  $\beta$ -tricalcium phosphate crystalline powders" *Mater. Chem. Phys.*, v. 129, n. 3, p. 1138–1141, 2011.
- [104] ALSHEMARY, A. Z. et al., "Synthesis, characterization and optical properties of chromium doped  $\beta$ -Tricalcium phosphate" *Ceram. Int.*, p. 1–7, 2014.
- [105] ZHAO, J. et al., "Rietveld refinement of hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by solution combustion method" *Ceram. Int.*, v. 40, p. 3379–3388, 2014.
- [106] FRANÇA, R. et al., "Nanoscale surface characterization of biphasic calcium phosphate, with comparisons to calcium hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate bioceramics" *J. Colloid Interface Sci.*, v. 420, p. 182–188, 2014.
- [107] MESTRES, G.; LE VAN, C.; GINEBRA, M. P. "Silicon-stabilized  $\alpha$ -tricalcium phosphate and its use in a calcium phosphate cement: characterization and cell response" *Acta Biomater.*, v. 8, n. 3, p. 1169–1179, 2012.
- [108] RADIN, S. R.; DUCHEYNE, P. "The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vivo behavior. II. Precipitation" *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 27, p. 35–45, 1993.
- [109] GERLACH, S. "LabPlot User Manual," 2006. Disponível em: <http://labplot.sourceforge.net/documentation/>. Acessado em: 15 nov. 2014.
- [110] PENEL, G. et al., "MicroRaman Spectral Study of the PO<sub>4</sub> and CO<sub>3</sub> Vibrational Modes in Synthetic and Biological Apatites" *Calcif. Tissue Int.*, v. 63, p. 475–481, 1998.
- [111] NAKAMOTO, K. *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds*, 4th ed. John Wiley & Sons Ltd, 1986.

- [112] AWONUSI, A.; MORRIS, M. D.; TECKLENBURG, M. M. J., “Carbonate assignment and calibration in the Raman spectrum of apatite” *Calcif. Tissue Int.*, v. 81, p. 46–52, 2007.
- [113] KHAN, A. F. et al., “Raman Spectroscopy of Natural Bone and Synthetic Apatites” *Appl. Spectrosc. Rev.*, v. 48, p. 329–355, 2013.
- [114] KOUTSOPOULOS, S. “Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods” *J. Biomed. Mater. Res.*, v. 62, p. 600–612, 2002.
- [115] LEILEI, Z. et al., “Preparation and characterization of carbon/SiC nanowire/Na-doped carbonated hydroxyapatite multilayer coating for carbon/carbon composites” *Appl. Surf. Sci.*, v. 313, p. 85–92, 2014.
- [116] LI, H. et al., “Raman spectroscopy determination of phases within thermal sprayed hydroxyapatite splats and subsequent in vitro dissolution examination” *Acta Mater.*, v. 52, p. 445–453, 2004.
- [117] PINHEIRO, A. L. B. et al., “Raman ratios on the repair of grafted surgical bone defects irradiated or not with laser ( $\lambda 780$  nm) or LED ( $\lambda 850$  nm)” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, v. 138, p. 146–154, 2014.
- [118] SOARES, L. G. P. et al., “Raman spectroscopic study of the repair of surgical bone defects grafted or not with biphasic synthetic micro-granular HA +  $\beta$ -calcium triphosphate irradiated or not with  $\lambda 850$  nm LED light” *Lasers Med Sci*, v. 29, p. 1927–1936, 2014.
- [119] SOFRONIA, A. M. et al., “Thermal and structural characterization of synthetic and natural nanocrystalline hydroxyapatite” *Mater. Sci. Eng. C*, v. 43, p. 153–163, 2014.
- [120] XU, C. et al., “The distribution of carbonate in enamel and its correlation with structure and mechanical properties” *J. Mater. Sci.*, v. 47, p. 8035–8043, 2012.
- [121] KRAJEWSKI, A. et al., “Synthesis of carbonated hydroxyapatites: efficiency of the substitution and critical evaluation of analytical methods” *J. Mol. Struct.*, v. 744–747, p. 221–228, 2005.

## APÊNDICES

### APÊNDICE A - PARTICIPAÇÕES EM CONGRESSOS E PUBLICAÇÕES

#### *Artigos Publicados em Periódicos.*

1. PEREIRA, M. A.; GEONMONOND, R. S.; OLIVEIRA, U.S.; ARAUJO, T.H.; ROSSI, W.C.; MIR. M. Uso de Hidroxiapatita Nanométrica em Enxertos na Fíbula de Ratos. *Ciência et Praxis (Online)*, vol.6, pp. 21-24, 2013.

#### *Artigos Submetidos para Publicações em Periódicos.*

1. GEONMONOND, R. S.; HYPÓLITO, C. E. O.; FERREIRA, M. S.; MIR. M. Biomaterial Nanométrico Similar ao Osso para Aplicação em Enxertos. *Química Nova*, 2015.

#### *Trabalhos Completos em Anais de Congressos.*

1. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. Modelos de composição versus relação Ca/P, em nanoapatitas carbonatadas sintéticas, para aplicações de enxerto ósseo. Águas de Lindóia, 36<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013.
2. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. Microestrutura de Carboapatitas Nanométricas. Poços de Caldas, XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2014.
3. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. SEM and AFM in synthetic nano-crystal of carbonate apatite human bone similar. ID: 578-2, Foz do Iguaçu, XXXVIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, 2015.

#### *Resumos em Anais de Congressos.*

1. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. Modelos de composição versus relação Ca/P, em nanoapatitas carbonatadas sintéticas, para aplicações de enxerto ósseo. Águas de Lindóia, 36<sup>a</sup> Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2013.
2. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. Microestrutura de Carboapatitas Nanométricas. Poços de Caldas, XXVIII Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2014.

3. GEONMONOND, R. S.; MIR. M. SEM and AFM in synthetic nano-crystal of carbonate apatite human bone similar. ID: 578-2, Foz do Iguaçu, XXXVIII Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada, 2015.

## ANEXOS

**ANEXO A – REGIÕES DE OCORRÊNCIA DOS PRINCIPAIS MODOS  
VIBRACIONAIS NO FTIR PARA AS HIDROXIAPATITAS CARBONATADAS**

<b>Referência</b>	<b><math>\nu\text{PO}_4^{3-}</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\nu\text{CO}_3^{2-}</math> (A) (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\nu\text{CO}_3^{2-}</math> (B) (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b><math>\nu\text{OH}^-</math> (cm<sup>-1</sup>)</b>
[71]	1045, 600-500	1545, 1450, 890	1465, 1412, 873	
[72]			1460, 1410, 872	3630, 1650-1640
[73]	1090, 1040, 966, 601, 563, 473		1460, 1425, 878	3572, 633
[74]	1100-980, 600-500		1450, 1410, 873	
[75]	1090-1030, 960, 602, 571, 472	1480-1420, 879	3560	
[76]			1485, 1446, 1420, 873	3570, 630
[77]	1080-1030, 962-960, 660-520	1540, 1450, 880	1450, 1430, 870	3570, 630
[78]	1100-1000	1545, 1460-1450, 880-878	1455-1450, 1420- 1410, 873-871	3600-3300, 1700-1600
[79]	1092, 1060, 1029	1525, 1495, 1472	1450, 1409	3567
[80]	1092, 1043, 962, 567, 403	1460, 1422, 880	3571, 633	
[81]	1050, 600, 570		1540, 1443, 1410, 876, 716	
[82]		880	860	3570, 630
[83]	1095-1050, 965, 635, 602, 565, 470	1546, 1458, 880	1475, 1420, 871	3450, 1630
[84]		1545, 1450, 878	1455, 1410, 873	
[85]	1130, 1075, 1055, 1039, 1029	1540, 1460, 878	1470-1420, 871	3572, 630
[87]	1150-1000, 960, 603, 565, 473			
[88]	1090, 1038, 958, 601, 567, 540	1545, 1450	1465, 1414, 873	3572, 630
[90]	1047-1035, 604, 566	880-878	1480, 1418, 872	3450-3430, 1648-1638
[92]	1120-1000, 980, 612, 560, 472		1486, 1419, 875	
[93]	602, 574, 563, 552, 535			
[95]	1090, 1023, 963, 602, 561			3600-2800, 1647, 631

## ANEXO B – ABORDAGEM MATEMÁTICA DO MÉTODO DE RIETVELD – FATORES DE CONCORDÂNCIA

No programa Fullprof Suite, o qual foi utilizado para fazer os refinamentos pelo método de Rietveld, a qualidade da concordância entre o padrão observado e o calculado é dada por um conjunto de fatores, através deles é possível avaliar o andamento do refinamento. A seguir se apresentarão alguns deles, os quais foram utilizados como critério da qualidade do refinamento neste trabalho [64], [65].

O fator que leva em conta o perfil ponderado do pico é dado pela equação (1) [64], [65]:

$$R_{wp} = 100 \cdot \left[ \frac{\sum_{i=1}^N w_i (y_i - y_{ci})}{\sum_{i=1}^N w_i y_i^2} \right]^{1/2} \quad (1)$$

Onde:

$w_i = 1/\sigma_{ci}^2$  : é peso das observações que são calculadas em cada ciclo;

$\sigma_{ci}$  : é a variância;

$Y_{ci}$ : é a contagem calculada

$Y_i$ : a contagem observada;

N: o número de pontos utilizados no refinamento.

A função no denominador é a função de minimização, que ao diminuir a cada novo ciclo de refinamento indica que o refinamento vai bem; caso contrário, significa que há algo de errado nos parâmetros refinados.

O fator de perfil ponderado esperado é expresso através da equação (2) [64], [65]:

$$R_{exp} = 100 \left[ \frac{N - p}{\sum_i w_i y_i^2} \right]^{1/2} \quad (2)$$

Onde:

N-p: é número de graus de liberdade;

N: o número de pontos;

p: número de parâmetros refinados.

O indicador de qualidade do ajuste ao final do refinamento deve ser próximo a 1, e é dado pela equação (3) [64], [65]:

$$\chi_v^2 = \left[ \frac{R_{wp}}{R_{exp}} \right]^2 = S^2 \quad (3)$$

O fator de Bragg avalia a qualidade do modelo estrutural refinado da estrutura cristalina por meio das intensidades integradas, dado pela equação (4) [64], [65]:

$$R_B = 100 \frac{\sum_h |I_{obs,h} - I_{cal,h}|}{\sum_h |I_{obs,h}|} \quad (4)$$

Onde  $I_{obs}$  e  $I_{cal}$  é a intensidade integral observada do pico e calculada, respectivamente. O fator Cristalográfico  $R_F$ -Factor é dado pela equação (5) [64], [65]:

$$R_F = 100 \frac{\sum_h |F_{obs,k} - F_{calc,h}|}{\sum_h |F_{obs,h}|} \quad (5)$$

Onde:

F: fator de estrutura observada e calculada.