ANAHI HERRERA APARECIDA

Recobrimento de Apatitas Empregando-se o Método Biomimético: Estudo da Influência dos Íons K^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e HCO_3^- na Formação de Hidroxiapatita.

Dissertação apresentada ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Guastaldi

Araraquara
2006

1. DADOS PESSOAIS

Nome: Anahí Herrera Aparecida
Filiação: Marcílio Aparecida e Ana Lúcia Herrera Aparecida
Nascimento: 14/10/1979, Boa Esperança do Sul – SP
Carteira de Identidade: 30.843.763-9 / SSP / SP / 03/03/1994
CP.F.: 284.717.518-01
Endereço residencial: Rua Rocco Basílio, 050
Jardim Paulista – Boa Esperança do Sul – SP
CEP: 14.930-000
Telefone: (16) 3346-5573

2. FORMAÇÃO ACADÊMICA/TITULAÇÃO

2004 – 2006 Mestrado em Química
Universidade Estadual Paulista - UNESP
Título: Recobrimento de Apatitas Empregando-se o Método Biomimético: Estudo da Influência dos Íons K^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e HCO_3^- na Formação de HA.
Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Guastaldi
Bolsista: Capes

1999 – 2003 Graduação em Licenciatura em Química
Universidade Estadual Paulista - UNESP

3. PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Artigos completos publicados em periódicos

APARECIDA, Anahí Herrera; FOOK, Marcus Vinícius Lia; SANTOS, Márcio Luis dos; GUASTALDI, Antonio Carlos. Influência dos íons K^+ e Mg^{2+} na obtenção de Apatitas Biomiméticas. Eclética Química. , v.30, n.4, 2005.

SANTOS, M. L., FLORENTINO, Ariovaldo, SAEKI, Margarida J., APARECIDA, Anahí Herrera ; FOOK, Marcus V. Lia; GUASTALDI, Antonio Carlos. Síntese de

hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. Eclética Química. , v.30, p.29 - 35, 2005.

3.2 Resumos publicados em anais de evento

1 APARECIDA, Anahí Herrera; FOOK, Marcus Vinícius Lia; SILVA, Leonardo de A. Ferreira e; SANTOS, Márcio L. dos; GUASTALDI, Antonio Carlos. Estudo da Influência dos Íons K^{+}, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e HCO_3^{-} na Formação de Apatitas Biomiméticas. In: 15° Encontro Regional de Química da Secretaria Regional Araraquara-Ribeirão Preto e São Carlos - SBQ-ARPSC, 2005, Ribeirão Preto.

2 APARECIDA, Anahí Herrera; FOOK, Marcus Vinícius Lia; OLIVEIRA, Luci Cristina de; GUASTALDI, Antonio Carlos; Avaliação das Fases da Liga Ti-Nb obtida Por Plasma-Skull em Variadas Concentrações. In: 2º SULMAT - Congresso em Ciência dos Materiais do Mercosul, 2004, Joinvile/Sc.

3 APARECIDA, Anahí Herrera; FOOK, Marcus Vinícius Lia; GUASTALDI, Antonio Carlos. Influência da Ozonização do PEUAPM na Formação de Filmes de Hidroxiapatita pelo Método Biomimético In: XVI CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 2004, PORTO ALEGRE/RS.

4 FOOK, Marcus Vinícius Lia; APARECIDA, Anahí Herrera; SOUZA, Antonio Gouveia de. Influência do Nível de Radiação Solar nas Propriedades Mecânicas do Polietileno Reciclado Coletado em Diversas Regiões do Nordeste do Brasil. In: XVI CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciências dos Materiais, 2004, PORTO ALEGRE/RS.

5 APARECIDA, Anahí Herrera; GUASTALDI, Antonio Carlos; FOOK, Marcus Vinícius Lia; SANTOS, Lucina dos; OLIVEIRA, Luci Cristina de;
Avaliação da Formação de Fases Alotrópicas em Ligas Ti-Nb para aplicação como Biomateriais. In: XV CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 2003, MARÍLIA.

6 MEIRA, Camila Roberta, APARECIDA, Anahí Herrera, GUASTALDI, Antonio Carlos. Comparação Microestrutural das Ligas Binárias de Ti-Al e Ti-Nb. In: 1º

Congresso Internacional de Inicicação Científica, 2003, São Paulo/SP.
7 APARECIDA, Anahí Herrera; FOOK, Marcus Vinícius Lia; SANTOS, Lucina dos; VERCIK, Luci Cristina de Oliveira; GUASTALDI, Antonio Carlos;
Estudo das Condições de Solubilidade do Nióbio na Liga com o Titânio Preparada Por Plasma Skull para Aplicação em Biomateriais. In: XI Congresso de Iniciação Científica da UFSCAR, 2003, São Carlos.

8 MEIRA, C. R., GUASTALDI, A. C., FOOK, M. V. L., HERRERA, A. A., SANTOS, M. L., VERCIK, L. C. O. Um Estudo Teórico sobre a Solubilidade de Metais em Ligas à base de Titânio aplicadas como biomateriais. In: XIV Congresso de Iniciação Científica, 2002, Presidente Prudente.

9 HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., PIMENTA, R. S. O., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Aplicação de Modelo Matemático no Estudo de Cinética Química de Fármacos no Organismo. In: 48ª Jornada Farmacêutica da Unesp, 2001, Araraquara.

10 MEIRA, C. R., HERRERA, A. A., PIMENTA, R. S. O., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Estudo da Cinética das Reações Químicas utilizando Métodos Numéricos. In: XIII Congresso de Iniciação Científica, 2001, Bauru.

11 HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., PIMENTA, R. S. O., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Estudo de Equações na Cinética Química utilizando Métodos Numéricos e Transformada de Laplace. In: XXIV Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, 2001, Belo Horizonte.

12 PIMENTA, R. S. O., HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Estudo Isocrônico da Variação da Microdureza das Ligas Cu-AL-Ag. In: XIII Congresso de Iniciação Científica, 2001, Bauru.

13 PIMENTA, R. S. O., HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Funções Sigmoidais utilizadas na Cinética de Transformação de Fase nas Liga Cu-Al-Ag. In: 28º Colóquio de Incentivo à Pesquisa, 2001, São José do Rio Preto.

14 CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V., MEIRA, C. R., HERRERA, A. A., PIMENTA, R. S. O. Métodos Matemáticos em Cinética Química. In: XIII Encontro Regional de Química da SOciedade Brasileira de Química e XXXI Semana da Química, 2001, Araraquara.

15 PIMENTA, R. S. O., HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Modelos não-lineares utilizados na cinética do estado sólido. In: XXIV Congresso Nacional de Matemática Aplicada e Computacional, 2001, Belo Horizonte.

16 HERRERA, A. A., MEIRA, C. R., PIMENTA, R. S. O., CAPELA, M. V., CAPELA, J. M. V. Utilização do Método Numérico de Euler e Transformada de Laplace na Resolução de Equações Envolvidas na Cinética Química. In: 28º Colóquio de Incentivo à Pesquisa, 2001, São José do Rio Preto.

4. VISITAS TÉCNICAS

1 - **Instituto de Ortopedia e Traumatologia "Prof. F. E. Godoy Moreira" - IOT**. Hospital das Clínicas – USP. São Paulo – SP. Visita realizada em 29 de Abril de 2005, no período das 14 às 18h.

2 – **Biomecânica Indústria e Comércio de Produtos Ortopédicos Ltda**. Jaú – SP. Visita em realizada 08 de Novembro de 2005, no período das 10 às 18h.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Ana Lúcia e Marcílio (*in memorian*), pelos frutos que plantaram em minha vida, em meu coração e em minha alma.

Aos meus avós e irmão, pelo amor, companheirismo e incentivo sempre dedicados em minha vida.

Ao meu grande amor e amigo, Leandro, pelo auxílio e incentivo nos momentos mais difíceis deste trabalho, e pelo verdadeiro amor dedicado em todos os dias das nossas vidas.

A Deus, por iluminar e orientar cada passo em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por iluminar, orientar e abençoar a minha vida, tornando-me capaz de realizar este e todos os meus sonhos.

Ao Prof.º Antonio Carlos Guastaldi, pela orientação durante a realização deste trabalho.

Ao meu amigo Marcus pelos ensinamentos acadêmicos e de vida e pelo companheirismo em todos os momentos.

Aos meus amigos e companheiros do Grupo de Biomateriais, Márcio, Luci e Lucina, pelo conhecimento, apoio e cooperação prestados.

Aos meus avós, Francisca e Antonio, por se tornarem meus pais e me apoiarem em todas as minhas escolhas.

Ao meu irmão, Mário Antonio, pela compreensão e paciência durante meus momentos de ausência.

Ao meu namorado e companheiro, Leandro, por me acalmar nos momentos difíceis da execução deste trabalho, e pelo verdadeiro amor dedicado em todos os momentos.

À todas as pessoas que sempre valorizaram e acreditaram no meu caminho acadêmico.

À todas as pessoas que, direta ou indiretamente contribuíram para a realização e conclusão deste trabalho.

À Capes, pelo apoio financeiro indispensável.

RESUMO

A atividade biológica do titânio comercialmente puro - Ti c.p. em relação aos tecidos duros é melhorada mediante a modificação de sua superfície empregando-se recobrimento com material bioativo. Um dos materiais bioativos mais utilizados é a Hidroxiapatita - HA, uma das fases das apatitas (fosfatos de cálcio de variadas razões Ca/P), principal constituinte mineral do tecido ósseo. Contudo, além da HA, vários outros fosfatos de cálcio também ocorrem em sistemas biológicos, tais como fosfato de cálcio amorfo – ACP, fosfato octacálcico – OCP e o fosfato tricálcico – TCP, aumentando o interesse nas possibilidades de uso destes materiais como biocerâmicas. Uma técnica de recobrimento muito utilizada nos últimos anos tem sido o Método Biomimético. Seu sucesso deve-se à utilização de uma solução similar ao fluido corpóreo, denominada *Synthetic Body Fluid – SBF*, que propicia a mimetização do processo biológico realizado para a formação dos tecidos duros. O crescimento da HA e de outras apatitas, tanto no meio biológico quanto em SBF, ocorre em meio contendo, além de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-}, íons-traços essenciais tais como: Mg^{2+}, HCO_3^-, K^+ e Na^+. Alguns destes íons são conhecidos como inibidores do crescimento da HA, como Mg^{2+} e HCO_3^-. Neste trabalho, estudou-se a influência dos íons K^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e HCO_3^- na formação de apatitas, principalmente HA, sobre substratos metálicos de Ti c.p. previamente tratados com NaOH 5M. Os efeitos destes íons nos recobrimentos obtidos foram analisados antes e após tratamento térmico a 800ºC por microscopia eletrônica de varredura - MEV, espectroscopia de energia dispersiva de raios X - EDX, difratometria de raios X - DRX e espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Os resultados mostraram que o crescimento de ACP foi favorecido pela presença dos íons Mg^{2+} e CO_3^{2-} na

solução, sendo também favorecida sua transformação a OCP antes do tratamento térmico. Após o tratamento térmico a 800ºC a hidrólise do OCP a HA foi inibida pela presença dos íons Mg^{2+}, devido à cristalização de $Mg_3(PO_4)_2$, e CO_3^{2-} na concentração de 3mM. Os íons K^+ e SO_4^{2-} não alteraram o período de indução necessário para a cristalização de ACP e, dessa forma, os recobrimentos obtidos pela imersão das amostras nas soluções que continham estes íons foram compostos, antes do tratamento térmico, majoritariamente por ACP. Após o tratamento térmico estes íons não inibiram a cristalização de HA. Além disso, foi observada a formação de apatita carbonatada mesmo utilizando-se soluções que não continham o íon HCO_3^- em sua composição.

Palavras-chaves: Biomateriais, Método Biomimético, Apatitas.

ABSTRACT

The biological activity of commercially pure titanium - c.p. Ti in relation to hard tissues is improved by modifying its surface using coating with bioactive materials. One of the bioactive materials most used is Hydroxyapatite - HA, one of the phases of the apatites (calcium phosphates of varied Ca/P reasons), main mineral constituent of the bone tissue. However, beyond the HA, several other calcium phosphates also occur in biological systems, such as amorphous calcium phosphate - ACP, octacalcium phosphate - OCP and tricalcium phosphate - TCP, increasing the interest in the possibilities of use of these materials as bioceramics. One technique of coating very used in the last years has been the Biomimetic Method. Its success must it the use of a similar solution to the corporeal fluid, called Synthetic Body Fluid - SBF, that propitiates the imitation of the carried through biological process for the formation of hard tissues. The growth of the HA and other apatites, as much in the biological environment as in aqueous solution as the SBF, occurs environment containing, beyond calcium and phosphate ions, essential ion-traces such as: Mg^{2+}, HCO_3^-, K^+ and Na^+. Some of these elements are known as inhibiting of the growth of the HA, as Mg^{2+} and HCO_3^-. In this work, it was studied it influence of íons K^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-} and HCO_3^- in the formation of apatites, mainly HA, on metallic substrate of Ti c.p. previously treated with NaOH 5M. The effects of these ions in the obtained coating, before and after the thermal treatment at 800ºC, were analyzed by scanning electron microscopy - SEM, energy dispersive X-rays - EDX, X-ray diffractometer - XRD and Fourier transformation infrared - FT-IR. The results had shown that the growth of ACP was favored by the presence of íons Mg^{2+} and CO_3^{2-} in the solution, being also favored its transformation the OCP before the thermal treatment. After the thermal treatment 800ºC the hydrolysis of the OCP the HA was inhibited by the

presence of íons Mg^{2+}, due to crystallization of $Mg_3(PO_4)_2$, and CO_3^{2-} in the concentration of 3mM. Íons K+ and SO_4^{2-} had not modified the necessary period of induction for the crystallization of the ACP and, of this form, the coverings gotten for the immersion of the samples in the solutions that contained these íons had been composites, before the thermal treatment, for the ACP. After the thermal treatment these íons had mainly not inhibited the crystallization of HA. Moreover, were observed the carbonated apatite formation exactly using solutions that did not contain the HCO_3^- ion in its composition.

Keywords: Biomaterials, Biomimetic Method, Apatites.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 19
1.1 Biomateriais 19
1.2 Estrutura e Propriedades do Tecido Ósseo Natural 28
1.3 Titânio e suas Ligas 33
1.4 Modificação de Superfície do Ti c.p. 37
1.5 Métodos de Recobrimento Bioativo 38
1.5.1 Recobrimento por Ion Sputtering 38
1.5.2 Recobrimento Eletrolítico 39
1.5.3 Recobrimento por Plasma Spray 40
1.5.4 Recobrimento pelo Método Sol-Gel 41
1.5.5 Recobrimento Biomimético 42
1.6 Biocerâmicas de Fosfato de Cálcio – Apatitas 45
1.6.1 Hidroxiapatita – HA 50
1.6.2 Fosfato de Cálcio Amorfo – ACP 52
1.6.3 Fosfato Octacálcico – OCP 55
1.6.4 Fosfato Tricálcico – TCP 58
2. JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS 61
3. FLUXOGRAMA 64
4. METODOLOGIA 65
4.1 Materiais 65
4.1.1 Caracterização Química e Microestrutural do Ti c.p. 65
4.1.2 Modificação da Superfície do Ti c.p. 66
4.1.3 Preparo das soluções SBF e recobrimento biomimético dos substratos 66
4.2 Métodos 68
4.2.1 Microscopia Óptica – MO 68
4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV 69
4.2.2.1 Espectrometria por Dispersão de Energia de raios X – EDX 70
4.2.3 Difratometria de Raios X – DRX 71
4.2.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR 72
5. RESULTADOS E DISCUSSÕES 74
5.1 Caracterização do Ti c.p. 74
5.1.1 Análise Química 74
5.1.2 Análise Metalográfica 74
5.2 Modificação de Superfície do Ti c.p. 77
5.3 Caracterização dos Recobrimentos 79
5.3.1 Recobrimento utilizando SBF 0 79
5.3.2 Recobrimento utilizando SBF 1 83
5.3.3 Recobrimento utilizando SBF 2 87
5.3.4 Recobrimento utilizando SBF 3 92
5.3.5 Recobrimento utilizando SBF 4 96
5.3.6 Recobrimento utilizando SBF 5 99

5.3.7 Recobrimento utilizando SBF 6..... 103
5.4 Resumo dos Resultados Obtidos..... 107
6. CONCLUSÕES 109
7. REFERÊNCIAS 111

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Comportamento biológico dos biomateriais: a) bioinertes e biotoleráveis e b) bioativos..... 23
Figura 2: Evolução do desenvolvimento dos Biomateriais..... 28
Figura 3: Estágios do crescimento cristalino da fase inorgânica do tecido ósseo: a) adsorção iônica, b) nucleação, c) e d) fusão dos cristais..... 31
Figura 4 – Formas alotrópicas do titânio..... 34
Figura 5: Mecanismo de formação de hidroxiapatita em substrato de CaO-SiO_2..... 44
Figura 6: Estrutura cristalina da HA: a) plano tridimensional e b) plano basal..... 51
Figura 7: Distribuição dos clusters do ACP..... 53
Figura 8: Estrutura cristalina do OCP..... 55
Figura 9: Regiões de pH e temperatura de formação do OCP..... 56
Figura 10: Fluxograma do desenvolvimento deste trabalho..... 64
Figura 11 – Microestrutura do Ti c.p. a) MO 200X e b) MO 500X..... 75
Figura 12 – Microestrutura do Ti c.p. a) MEV 500X e b) MEV 2000X..... 75
Figura 13 – EDX do Ti c.p..... 76
Figura 14: DRX do Ti c.p..... 76
Figura 15: MEV com aumento de 2000X da superfície do Ti c.p. após ataque alcalino com NaOH 5M e tratamento térmico a 60ºC..... 77
Figura 16: DRX do Ti c.p. após ataque alcalino com NaOH 5M e tratamento térmico a 60ºC 78
Figura 17: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX..... 79
Figura 18: a) DRX e b) espectro de IV do recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0..... 80
Figura 19: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0 após tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX..... 82
Figura 20: a) DRX e b) espectro de IV do recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0 e posterior tratamento térmico a 800ºC..... 83
Figura 21: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX..... 84
Figura 22: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1: a) DRX e b) espectro de IV..... 85
Figura 23: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1 e posterior tratamento

térmico a 800ºC : a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX..... 86
Figura 24: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) DRX e b) espectro de IV..... 87
Figura 25: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX..... 88
Figura 26: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2: a) DRX e b) espectro de IV..... 89
Figura 27: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 91
Figura 28: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 3: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 93
Figura 29: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 3 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 95
Figura 30: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 4: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 97
Figura 31: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 4 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 5000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 98
Figura 32: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 5: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 100
Figura 33: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 5 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro IV..... 102
Figura 34: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV..... 104
Figura 35: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 5000X e c) EDX..... 105
Figura 36: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) DRX e b) espectro de IV..... 106

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Aplicações clínicas dos Biomateriais..... 21
Tabela 2: Classificação dos Biomateriais de acordo com Cao et al. [1995] e respectiva ligação com o tecido vivo..... 24
Tabela 3: Mecanismos de formação da ligação de hidroxiapatita em biovidros..... 26
Tabela 4: Índice de Bioatividade (Ib) de diferentes biomateriais..... 27
Tabela 5 : Propriedades Mecânicas do Tecido Ósseo..... 30
Tabela 6: Exemplos de Biomateriais para reposição óssea 32
Tabela 7: Ti c.p. e suas composições máximas, segundo a norma ASTM F67-88 34
Tabela 8: Composição da solução de Hank e potenciais de ruptura de filmes nesta solução. 35
Tabela 9: Elementos que podem ocupar os sítios atômicos da apatita..... 46
Tabela 10: Composição inorgânica de ossos e dentes (%)..... 47
Tabela 11: Relação Ca/P das fases de apatita..... 48
Tabela 12: Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos..... 49
Tabela 13: Parâmetro de célula unitária das estruturas cristalinas das formas alotrópicas do TCP..... 59
Tabela 14: Seqüência de adição de sais para a preparação da solução SBF: seqüência inicial proposta por Abe et al. e a adotada neste trabalho..... 67
Tabela 15: Concentrações iônicas das soluções SBF utilizadas (mmol.dm^{-3})..... 67
Tabela 16: Freqüências de absorção no IV características dos grupos presentes nas apatitas 73
Tabela 17: Análise química do Ti c.p. utilizado e concentrações permitidas pela norma ASTM F67-88..... 74
Tabela 18: Número das fichas padrões da base de dados JCPDS utilizadas para a identificação das fases de apatita..... 107
Tabela 19: Fases de apatita obtidas nos recobrimentos para cada solução SBF utilizada..... 108

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACP – fosfato de cálcio amorfo

CA – apatita carbonatada do tipo A

CB – apatita carbonatada do tipo B

DCPD – monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado

DRX – difratometria de raios X

EDX – espectrometria de energia dispersiva de raios X

HA – hidroxiapatita

HA_D – hidroxiapatita deficiente em cálcio

IV – infravermelho

MEV – microscopia eletrônica de varredura

MgTCP – fosfato tricálcico substituído por magnésio

MO – microscopia óptica

OCP – fosfato octacálcico

SBF – synthetic body fluid

TCP – fosfato tricálcico

Ti c.p. – titânio comercialmente puro

Capítulo I

Introdução

1.1 Biomateriais

Por séculos, quando tecidos ou órgãos tornavam-se danificados, a única alternativa de médicos e especialistas era a remoção desta parte afetada, com óbvias limitações. A remoção de juntas, vértebras, dentes ou órgãos conduzia a somente uma ilusória melhora na qualidade de vida. Contudo, a expectativa de vida, decorrente destas intervenções, raramente ultrapassava a faixa etária da progressiva diminuição da qualidade dos tecidos, e dessa forma a necessidade de substituir as partes danificadas era pequena. Durante o último século a situação mudou acentuadamente. A descoberta de anti-sépticos, antibióticos, fornecimento de água tratada, melhoras nas condições de higiene e vacinação contribuíram para o aumento na expectativa de vida do homem, que em países mais desenvolvidos pode chegar aos oitenta anos. Dessa forma, surgiu a necessidade de desenvolvimento de materiais e técnicas cirúrgicas adequadas a fim de substituir e tratar órgãos e tecidos danificados, melhorando a qualidade de vida das pessoas.

Para acompanhar estes desenvolvimentos surgiram duas alternativas: os transplantes e os implantes. Além das limitações como morbidade, comprometimento das propriedades biomecânicas e limites éticos e religiosos, as vantagens significativas dos implantes sobre os transplantes são: disponibilidade, reprodutividade e confiabilidade. Estas características devem ser asseguradas por adequadas práticas de fabricação, normas internacionais e testes de qualidade.

Conceitualmente, os implantes são dispositivos colocados em contato direto com o interior do corpo, visando auxiliar no cumprimento de determinadas funções total ou parcialmente perdidas.

Há fundamentalmente dois aspectos a serem considerados na escolha dos materiais com os quais serão confeccionados os implantes: o funcional e o da aceitação pelo meio no qual o implante deve permanecer. De uma maneira genérica esses materiais são denominados *biomateriais* [Boschi, 1995].

Os dois grandes marcos no desenvolvimento dos biomateriais foram as duas grandes guerras. Durante esses eventos, na tentativa de evitar a amputação de membros que haviam perdido suas funções, buscava-se materiais que não fossem nocivos e não sofressem rejeição. Devido aos resultados inicialmente desastrosos, estabeleceu-se na época como objetivo a identificação de materiais que, além das propriedades estruturais e de não provocarem sérios danos à saúde do paciente, não fossem rejeitados pelo organismo. Dessa forma chegou-se, em 1947, a uma recomendação formal, por parte do Comitê Americano para o Tratamento de Fraturas do Colégio Americano de Cirurgiões, para que se usassem os aços inoxidáveis de Ni-Cr. Desde então, um considerável número de outros materiais foi desenvolvido, testado e considerado adequado para a utilização em implantes com as mais variadas funções [Boschi, 1995].

Os Biomateriais podem ser considerados como produtos aptos para serem utilizados nos seres humanos com a finalidade de tratamento ou alívio de uma enfermidade ou lesão, e também para a substituição e modificação de sua anatomia ou de um processo fisiológico. Por isso, incluem qualquer produto natural, sintético e natural modificado que pode ser utilizado como um dispositivo médico ou parte dele. Assim, compreendem os materiais empregados em implantes de qualquer tipo até

os utilizados na fabricação de instrumentos médicos e cirúrgicos que entram em contato com o organismo. Os materiais sintéticos utilizados para este fim incluem metais, polímeros e cerâmicas e também a combinação destes nos chamados compósitos [Biomateriales, 2005]. A tabela 1 apresenta alguns biomateriais sintéticos e relaciona algumas de suas aplicações [Kawachi, 2000].

Tabela 1: Aplicações clínicas dos Biomateriais.

Biomaterial	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Polímeros Polietileno PTFE Poliéster Poliuretano PMMA	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade.	Baixa resistência mecânica, degradação dependente do tempo.	Suturas, artérias, maxilofacial, cimento, tendão artificial, oftalmologia.
Metais e ligas Aço inoxidável Ligas de titânio Ligas de Co-Cr	Alta força de tensão, alta resistência ao desgaste, energia de deformação alta.	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, perda de propriedades mecânicas com tecidos conectivos moles, alta densidade.	Fixação ortopédica, implantes dentários.
Cerâmicas e vidros Alumina Zircônia Carbono Fosfatos de Cálcio Porcelana Vidros bioativos	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia química, alta resistência à compressão.	Baixa força de tensão, baixa resistência mecânica, baixa elasticidade, alta densidade.	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sangüíneos e artérias artificiais.
Compósitos Fibra de carbono Resina termofixa Fibra de carbono termoplástico Fosfato de cálcio-colágeno	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia química, alta força de tensão.	Material de difícil fabricação.	Válvula cardíaca artificial, implantes de junta de joelho.

Fonte: Kawachi, 2000.

Para que um material seja aceito para aplicação como Biomaterial deve ser submetido a uma série de ensaios, rigidamente controlados, que exige o cumprimento de normas relacionadas com o caráter não tóxico, não carcinogênico, biocompatível e não gerador de efeitos adversos no organismo. Por isso, quando se analisa as possibilidades de utilização de um produto como biomaterial, este deve apresentar biofuncionalidade e biocompatibilidade [Biomateriales, 2005].

A **Biofuncionalidade** é o conjunto de propriedades que permite ao material desempenhar uma função desejada, enquanto que a **Biocompatibilidade**, um aspecto multidisclipinar, se refere à compatibilidade entre o material e o meio biológico no qual ele deve permanecer [Boschi, 1995]. Segundo Hench [1993], a biocompatibilidade de um material para implante pode ser considerada ótima quando esta promover a formação de tecido normal na sua superfície, além de estabelecer com o meio biológico adjacente uma interface capaz de suportar as cargas normais ao local do implante. A partir deste enfoque os materiais biocompatíveis podem ser classificados em **biotoleráveis**, **bioinertes** e **bioativos** [Vallet, 1997].

Nenhum material implantado no corpo é inerte, todos induzem uma resposta do tecido hospedeiro [Cao, 1995]. A resposta induzida pelos materiais **bioinertes** e **biotoleráveis**, em relação ao tecido ósseo, é a encapsulação do implante por uma camada de tecido fibroso não aderente [Hanawa, 1991]. A espessura desta camada depende de muitos fatores como condições do implante, do tecido hospedeiro e da interface e das cargas mecânicas aplicadas sobre o implante [Cao, 1995].

Os materiais **bioativos** permitem uma resposta biológica específica na interface com o tecido vivo, possibilitando a formação de uma ligação química entre o tecido e o próprio material, também chamada por bioadesão [Hanawa, 1991].

Neste caso, o tecido é capaz de interagir intimamente com o material, sem a intervenção de tecido fibroso.

A figura 1 apresenta o comportamento das classes de biomateriais quando implantados em defeitos ósseos.

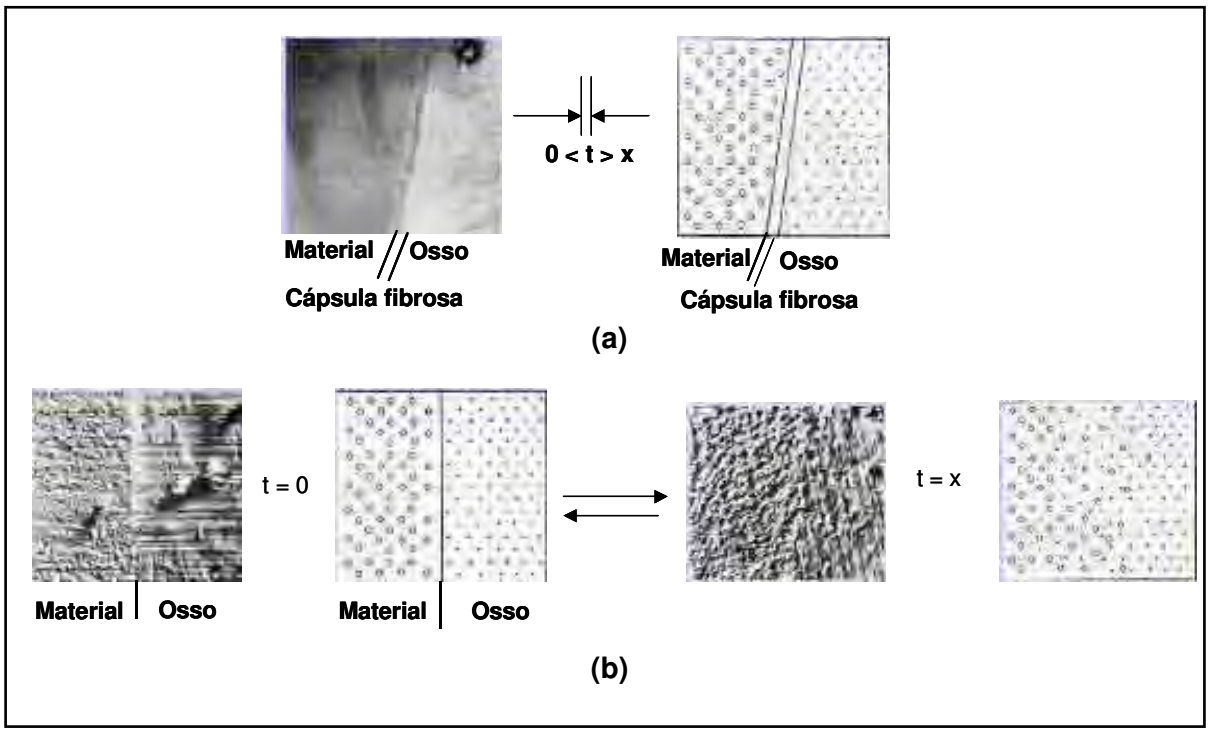


Figura 1: Comportamento biológico dos biomateriais: a) bioinertes e biotoleráveis e b) bioativos

Segundo Cao et al. [1995] os biomateriais são classificados em quatro tipos, também de acordo com a resposta induzida ao meio biológico, e são apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Classificação dos Biomateriais de acordo com Cao et al. [1995] e respectiva ligação com o tecido vivo.

Tipo de Biomateriais	Tipo de ligação com o tecido vivo	Exemplo
Quase Inerte	Ligação mecânica (fixação morfológica)	Alumina, Zircônia, polietileno (PE).
Poroso	Crescimento de tecido nos poros (fixação biológica)	Hidroxiapatita, Metais recobertos com hidroxiapatita.
Bioativo	Ligação interfacial (fixação bioativa)	Hidroxiapatita, Vitro-cerâmicas Bioativas.
Reabsorvível	Troca por tecido vivo	Fosfato Tricálcico, Ácido Poliláctico (PLA).

Fonte: Cao, 1995.

Da mesma forma que a classificação segundo Hench [1993], a resposta do meio biológico aos materiais quase inertes é a formação de tecido fibroso. Um material quimicamente estável como a alumina induz a formação de uma camada fibrosa muito fina, permitindo um ajuste mecânico do implante. Diferentemente, implantes metálicos apresentam-se mais reativos e, dessa forma, forma-se uma camada fibrosa interfacial mais densa. Devido a esta camada não estar quimicamente ou biologicamente ligada ao tecido hospedeiro, qualquer movimento pode ocasionar a deterioração da função do implante ou do tecido hospedeiro ou ainda da interface entre ambos.

Os biomateriais porosos proporcionam uma fixação por crescimento de tecido através dos poros por todo o implante. Esta ligação tecido/implante poroso é denominada Fixação Biológica e é capaz de suportar estados mais complexos de carga que a camada fibrosa formada nos implantes quase inertes, os quais proporcionam somente uma fixação morfológica. Uma boa fixação biológica requer poros com diâmetros de 100-150μm para propiciar uma adequada vascularização do tecido hospedeiro.

Os implantes reabsorvíveis se degradam gradualmente com o tempo, ocasionando a formação de tecido vivo no local antes ocupado pelo implante. Por exemplo, fios de sutura compostos de poli(ácido lático)-poli(ácido glicólico) são metabolizados a dióxido de carbono e água, e cerâmicas de fosfato tricálcico se degradam a sais de cálcio e fósforo. Devido à grande quantidade de material que deve ser trocado por células, os constituintes dos implantes reabsorvíveis devem ser metabolicamente aceitos. Outra característica que deve ser apresentada por estes implantes é que a velocidade de reabsorção do implante deve ser proporcional à velocidade de reposição por tecido vivo.

Da mesma forma que Hench [1993], Cao et al. [1995] descrevem que quando um material bioativo é implantado no organismo, uma série de reações biofísicas e bioquímicas ocorre na interface tecido/implante, resultando na formação de uma camada de hidroxiapatita biologicamente ativa sobre a superfície do implante, que possibilita uma ligação química interfacial entre o implante e o tecido vivo, ocasionando a denominada Fixação Bioativa. Este tipo de biomaterial tem atraído considerável atenção nas últimas décadas. Uma importante vantagem da fixação bioativa é que a ligação do implante com o tecido ósseo pode alcançar uma resistência igual ou superior a existente no próprio osso, num intervalo de 3 a 6 meses. A ligação bioativa formada em fibras de colágeno de tecidos moles conectivos apresenta resistência maior que a ligação coesiva entre as fibras do colágeno. A elevada força da fixação bioativa, tanto em tecidos duros quando em tecidos moles, é devido ao crescimento da camada densa, em escala nanométrica, de aglomerados de cristais de hidroxiapatita carbonatada [Hench, 1998]. Os mecanismos físico-químicos, etapas de 1 a 5, e celulares, etapas de 6 a 11,

envolvidos na formação de ligação bioativa entre o biovidro e o tecido ósseo, através da formação de hidroxiapatita, são esquematizados na tabela 3.

Tabela 3: Mecanismos de formação de hidroxiapatita em biovidros.

Etapas	Eventos Ocorridos
11	Cristalização da matriz óssea
10	Formação da matriz óssea
9	Diferenciação das novas células
8	Fixação de novas células
7	Ação dos macrófagos
6	Adsorção de fração biológica na camada de HCA
5	Cristalização de Apatita carbonatada (HCA)
4	Adsorção de íons Ca^{2+}, PO_4^{3-} e CO_3^{2-}
3	Reação de condensação SiOH+SiOH
1,2	Formação de ligação SiOH

Fonte: Hench, 1998.

A bioatividade dos materiais bioativos pode ser quantificada pelo índice de bioatividade (Ib), que é descrito como o tempo necessário para ocorrer 50% de ligação interfacial entre implante e tecido ósseo, ou o tempo necessário para a proliferação de tecido ósseo na presença de partículas bioativas, e é dado por:

$$I_b = 100/t_{0,5} \qquad \textbf{Equação 1}$$

Materiais que apresentam índice de bioatividade maior que oito são classificados como de classe A. Estes materiais são osteoprodutores e osteocondutores. Materiais com índice entre zero e oito são classificados como de classe B, exibindo somente osteocondutividade, ou seja, propiciam o crescimento ósseo ao longo de sua superfície. A tabela 4 apresenta exemplos de materiais de

cada classe de bioatividade, bem como o comportamento frente aos tecidos moles e ao osso.

Tabela 4: Índice de Bioatividade (I_b) de diferentes biomateriais.

Biomaterial	Ib	Classe de Bioatividade	Ligação com o Osso	Ligação com Tecido Mole
Vidro bioativo (4555)	12,5	A	Sim	Sim
Vidro Bioativo (5254)	10,5	A	Sim	Sim
Cerâmica Bioativa (AW)	6,0	B	Sim	Não
Hidroxiapatita sintética	3,1	B	Sim	Não
Alumina	0	-	Não	Não

Fonte: Hench, 1998.

Apesar dos grandes avanços ocorridos nos últimos anos, muitos implantes ainda apresentam problemas de estabilidade interfacial, liberação de partículas e deficiência na manutenção da irrigação sanguínea, carecendo de duas das mais importantes características dos tecidos vivos: capacidades de auto-reparação e modificação de suas estruturas e propriedades para responder a estímulos externos. Dessa forma, o desafio futuro é desenvolver novos biomateriais que sejam capazes de regenerar tecidos. A figura 2 apresenta a evolução e a expectativa futura do desenvolvimento dos biomateriais.

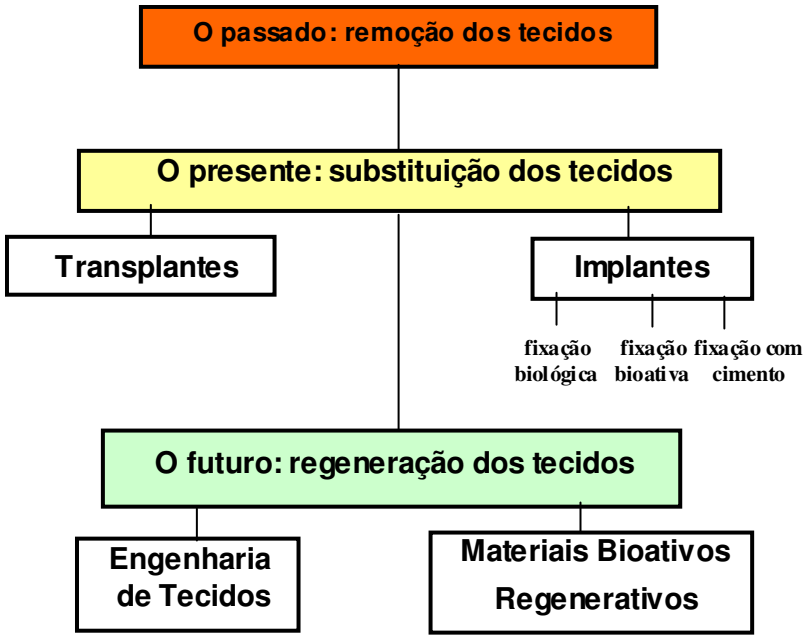


Figura 2: Evolução do desenvolvimento dos Biomateriais.
Fonte: Hench, 1998.

Sob o aspecto da função e do risco de morte aos pacientes, os biomateriais podem ser classificados em 3 classes. Os biomateriais de classe I apresentam risco mínimo aos pacientes e representam cerca de 40% deste mercado. Entre eles pode-se destacar produtos como gazes, esparadrapos e instrumental cirúrgico. Os biomateriais de classe II apresentam risco médio e representam 50% dos biomateriais utilizados. Incluem lentes de contato e próteses de cotovelo. Os biomateriais que apresentam alto risco aos pacientes são classificados como classe III e representam 10% deste mercado. Trata-se de dispositivos cuja ação representa manter a vida ou apresentam potencial para conduzir a cicatrização. Entre eles pode-se destacar dilatadores coronários e aparelhos de marca-passo.

1.2 Estrutura e Propriedades do Tecido Ósseo Natural

O osso natural é um material compósito composto de uma matriz orgânica enrijecida por cristais de hidroxiapatita, correspondentes a 69% do peso deste

tecido. A fase orgânica é composta principalmente por uma proteína, denominada colágeno do tipo I. Como todos os tipos de colágeno, esta proteína é uma tripla hélice com 260nm de comprimento, onde as moléculas são alternadas ao longo de um quarto de seu comprimento. Histologicamente, o osso é dividido em osso imaturo e osso lamelar. No osso imaturo, o colágeno é uma fibra fina com 0,1μm de diâmetro, orientado quase randomicamente. Consiste de células de osteoblastos e vasos sanguíneos. O colágeno no osso lamelar forma ramos de 2 a 3μm de diâmetro. A fase orgânica comporta-se como um material de elevada resistência à fratura. A fase inorgânica do osso é composta por cristais de hidroxiapatita de dimensão 5x20x40nm. A dureza deste material é cerca de dois terços da dureza do aço. É bastante quebradiço, tem pouca resistência ao desgaste e fratura facilmente. Os biomateriais baseados em colágeno são utilizados como fios de sutura, vasos sanguíneos, válvulas cardíacas e sistemas de liberação de drogas. Geralmente, módulo elástico, forças de tensão e compressão são propriedades investigadas para garantir o desempenho destes biomateriais.

As propriedades do osso são decorrentes da combinação da alta dureza da fase inorgânica e da alta resistência à fratura da fase orgânica. Esta superposição de dois materiais distintos com propriedades totalmente diferentes resulta na formação de um compósito em escala nanométrica, no qual as propriedades físicas superam às dos componentes individuais. A tabela 5 apresenta as propriedades mecânicas do osso. O osso pode remodelar-se e adaptar-se ao ambiente mecânico aplicado. Esta propriedade do osso, denominada lei de Wolff, resulta numa nova estrutura mais apropriada. A aplicação de uma força maior resulta num osso mais denso [Katti, 2004].

Tabela 5 : Propriedades Mecânicas do Tecido Ósseo.

Tecido Ósseo	Força de Compressão (MPa)	Força de Tensão (MPa)	Módulo Elástico (GPa)
Tíbia	159	140	18,1
Fêmur	167	121	17,2
Rádio	114	149	18,6
Húmero	132	130	17,2
Cervical	10	3,1	0,23
Lombar	5	3,7	0,16

Fonte: Katti, 2004.

Estudos *in vitro* sobre o mecanismo do crescimento ósseo cristalino, realizado utilizando-se microscopia eletrônica de alta resolução, nos quais os cristalitos foram analisados em diferentes estágios de desenvolvimento, mostraram um modelo de desenvolvimento em quatro estágios. O primeiro e segundo estágios da formação cristalina compreendem a adsorção iônica sobre a superfície do substrato, a qual leva à nucleação e formação de partículas nanométricas. Grupos iônicos individuais difundem-se randomicamente através da solução, formando *clusters* estáveis no terceiro estágio. Os núcleos estáveis aparecem e, então, desenvolvem-se por deposição iônica adicional. A morfologia dos cristais formados é equivalente à morfologia dos cristais no tecido ósseo de um humano adulto. A desorientação dos cristais indica que o substrato no qual ocorreu o crescimento cristalino é orgânico. Um precursor mineral atua como substrato guiado para a formação de cristais mais orientados. O último estágio observado para o crescimento ósseo cristalino é uma fusão lateral pelas faces dos cristais, mediado por um alto ângulo de ligação. Os estágios descritos são apresentados na figura 3 [Cuisinier, 1996].

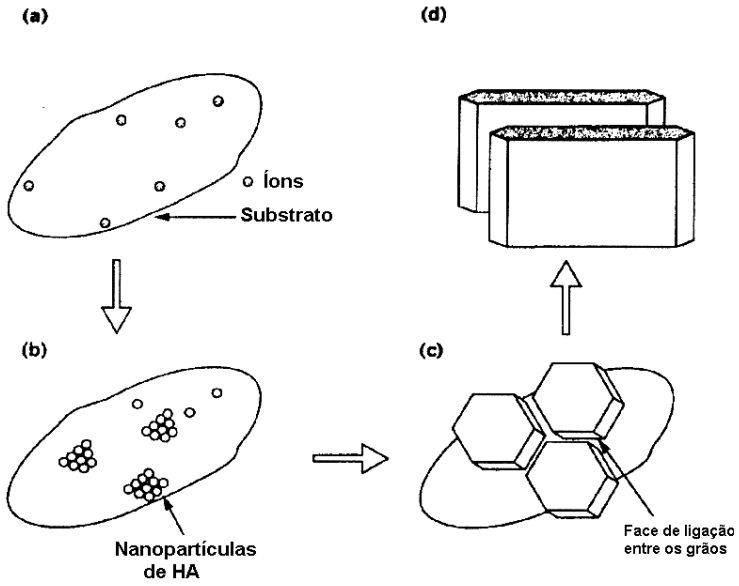


Figura 3: Estágios do crescimento cristalino da fase inorgânica do tecido ósseo: a) adsorção iônica, b) nucleação, c) e d) fusão dos cristais.
Fonte: Cuisinier, 1996.

A maioria dos estudos realizados sobre os processos de nucleação envolvidos no crescimento ósseo é incompleto, devido à ausência de estudos sobre a mineralização da matriz veículo. A matriz veículo inicializa a mineralização em cartilagens e tecidos rígidos como o osso. O centro da nucleação consiste de cálcio, fósforo e fosfatidilserina, necessária para a acumulação de cálcio nesta matriz [Cuisinier, 1996].

Os importantes avanços ocorridos nas últimas décadas, que levaram a um aumento significativo na expectativa de vida da população mundial, geraram, de certa forma, o problema da deterioração do tecido ósseo, pois na faixa etária compreendida pela chamada terceira idade, os ossos alcançam um grau elevado de deterioração. A principal conseqüência desta deterioração é a osteoporose, que apresenta os seguintes dados: nos homens, entre os 20 e 60 anos de idade, há perda de 25% de osso cortical e nas mulheres esta perda é de 35%. A perda na resistência dos ossos neste período é na ordem de 80 a 90% e o risco de fratura,

depois dos 50 anos, é de 13% para os homens e 40% para as mulheres. Como conseqüência, entre os 80 e 90 anos de idade 17% dos homens e 33% das mulheres terá sofrido de fratura de quadril. A reposição de articulações como o quadril representa um interesse sério de saúde. Somente nos Estados Unidos, cerca de 150 mil próteses de quadril são fabricadas por ano. A maioria destes implantes deve ser trocada após 15 anos de utilização. Uma estimativa mostra que 20% das cirurgias de quadril realizadas são para a reposição do implante original devido à falhas ocorridas após a implantação [Katti, 2004].

Os primeiros materiais utilizados para a substituição total ou parcial e reparação de tecidos ósseos foram os metais, devido às suas superiores propriedades mecânicas. Atualmente, todas as classes de materiais, além dos compósitos, são utilizadas para a fabricação de biomateriais para reposição/reparação do tecido ósseo. A tabela 6 apresenta alguns dos materiais mais utilizados como biomateriais para reposição e reparação do tecido ósseo.

Tabela 6: Exemplos de Biomateriais para Reposição Óssea.

Metais	Polímeros	Cerâmicas
Ti c.p.	Polietileno de Alta Densidade (PEAD)	Zircônia
Ti6Al4V	Polietileno de Ultra Alto Peso Molecular (PEUAPM)	Alumina
Ti6Al7Nb	Polimetilmetacrilato (PMMA)	Hidroxiapatita (HA)
Ti13Nb13Zr	Politetrafluoretileno (PTFE)	Biovidro
Ti15Mo5Zr3Al	Polietilenotereftalato (PET)	C-(grafite)
Aço inoxidável 316L	Poliestireno (SR)	C-(vítreo)
Cr-Co-Mo	Poliamida (PA)	Vitro-cerâmica (AW)

Fonte: Katti, 2004.

1.3 Titânio e Suas Ligas

O titânio é o material mais utilizado frequentemente em implantes odontológicos, e seu uso em próteses ortopédicas vêm crescendo continuamente. Este extensivo uso é baseado nas propriedades deste material, que incluem a combinação de elevada resistência à corrosão e excelente biocompatibilidade. As qualidades mecânicas deste metal incluem resistência à fratura ou resistência à deformação permanente, que constitui propriedade essencial. Estas qualidades combinadas com um módulo elástico que facilita a transferência de carga para os tecidos vizinhos, uma propriedade biomecânica, tornam o titânio um material apropriado para aplicações onde se requer tenacidade [Ellingsen, 2003].

O titânio é um metal de transição, com o último nível eletrônico (d) incompleto, pertencente ao subgrupo IVB. Forma soluções sólidas substitucionais e intersticiais de acordo com os critérios estabelecidos nos estudos pioneiros de Hume-Rotthery**.** É um elemento alotrópico, isto é, existe em mais de uma forma cristalográfica. À temperatura ambiente, o titânio metálico possui estrutura hexagonal compacta (hcp), chamada fase alfa (α), a qual passa por uma transformação cristalina por volta de 882°C, tornando-se uma estrutura cúbica de corpo centrado (ccc), chamada fase beta (β), como visto na figura 4, que torna-se estável até o ponto de fusão do metal em torno de 1660°C [Polmear, 1989].

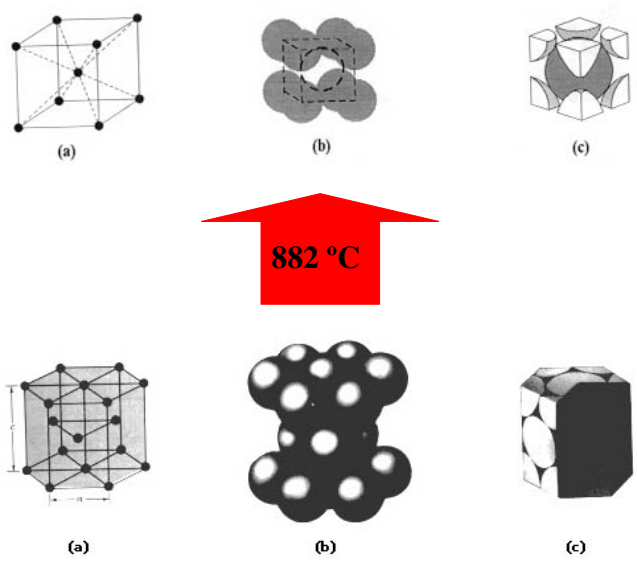


Figura 4 – Formas alotrópicas do titânio

O titânio c.p. normalmente é classificado em 4 graus, onde a principal diferença entre os graus é a quantidade de oxigênio, ferro, nitrogênio e hidrogênio existente no material, como apresentada na Tabela 6. Graus de alta pureza (baixa quantidade de elementos intersticiais) possuem baixos valores de resistência mecânica e dureza, além de baixas temperaturas de transformação comparados com aqueles com alta composição de elementos intersticiais.

Tabela 7: Ti c.p. e suas composições máximas, segundo a norma ASTM F67-88.

Elementos (% max)	G1	G2	G3	G4
N	0,03	0,03	0,05	0,05
C	0,10	0,10	0,10	0,10
H	0,015	0,015	0,015	0,015
Fe	0,20	0,30	0,30	0,50
O	0,18	0,25	0,35	0,40
Ti	balanço	balanço	balanço	balanço

O aquecimento do titânio ao ar a altas temperaturas resulta não somente na oxidação do metal, mas também no endurecimento da solução sólida na superfície

como resultado da difusão de O e/ou N. Uma zona de superfície endurecida, denominada alfa-case ou camada de ar-contaminante é formada e normalmente pode ser removida por trabalhos mecânicos ou tratamentos químicos.

O Ti c.p. geralmente é selecionado para trabalhos que requeiram alta resistência à corrosão, especialmente em aplicações onde a alta resistência mecânica não é necessária. A resistência mecânica do Ti c.p. varia simplesmente com a quantidade de impurezas e elementos intersticiais presentes no material [Brick, 1965].

A elevada resistência à corrosão do titânio e suas liga é conseqüência da formação de uma camada de óxido em sua superfície. A tabela 8 apresenta os potenciais de ruptura de filme de alguns biomateriais metálicos, medidos em meio eletrolítico de Hank, o qual reproduz as condições agressivas do meio fisiológico, bem como a composição deste meio [Biomateriales, 2005].

Tabela 8: Composição da solução de Hank e potenciais de ruptura de filmes nesta solução.

Composição Química		**Potenciais de Ruptura**	
Substância	**g/L**	**Metal**	**Potencial (V)**
NaCl	8.00	Aço inoxidável 316L	0.2 a 0.3
$CaCl_2$	0.14	Co-Cr-Mo	0.42
KCl	0.40	Co-Ni-Cr	0.42
$NaHCO_3$	0.35	Ti-Ni	1.14
$C_6H_{12}O_6$	1.00	Ti puro	2.40
$MgCl_2.H_2O$	0.10		
$Na_2HPO_4.H_2O$	0.06	Ti6Al4V	2.00
KH_2PO_4	0.06		
$MgSO_4.7H_2O$	0.06	Ag-Pd	0.45

Fonte: Biomateriales, 2005.

Destacam-se os mais altos valores ao titânio e suas ligas, devido à sua capacidade de passivação mediante a formação de uma camada protetora de óxido

em sua superfície. Pelo contrário, a resistência à corrosão neste meio pelo aço inoxidável 316L é o menor. Assim, o crescente uso de ligas à base de titânio como biomateriais é decorrência de sua biocompatibilidade superior e sua resistência à corrosão quando comparado às ligas convencionais à base de cobalto [Biomateriales, 2005; Long, 1997].

O filme de óxido se forma instantaneamente na superfície do titânio quando este é exposto ao ar, e tem de 3 a 7nm de espessura. O óxido naturalmente formado é frequentemente referido ser TiO_2, mas caracterizações revelam diferentes estados de oxidação para a superfície e para o interior do titânio metálico. O crescimento do óxido é suposto ser por difusão do oxigênio através do filme já existente em direção ao metal, com diminuição do gradiente de concentração do oxigênio. Diferentes óxidos têm sido identificados na superfície do titânio: TiO_2, Ti_2O_3 e TiO. O meio influencia a composição do filme e a incorporação de água e íons OH^- [Ellingsen, 2003].

A espessura do filme formado aumenta vagarosamente quando exposto ao ar por um período prolongado dentro de condições estáveis. A velocidade de formação e espessura do óxido são influenciadas por diferentes fatores, dentre eles temperatura e umidade.

O dióxido de titânio – TiO_2 – é um sólido com ponto de fusão em 1855ºC. É polimórfico, ou seja, existe em múltiplas modificações ou estruturas cristalinas. As seguintes estruturas cristalinas são reconhecidas para o TiO_2: rutilo (tetragonal), anatásio (tetragonal) e brookita (ortorrômbica). Contudo, dois óxidos adicionais foram descritos recentemente. Um possui uma estrutura ortorrômbica no qual o titânio tem número de coordenação sete, e o outro é um óxido no qual o titânio tem número de coordenação nove. O TiO_2 também existe num estado amorfo. Duas

outras formas notáveis de óxido de titânio são a ilmetita – $FeTiO_3$ – e a perovskita – $CaTiO_3$. Tecnicamente e comercialmente, somente as formas anatásio e rutilo são significantes. As densidades do rutilo, anatásio e brookita são, respectivamente, 4,23, 3,90 e 4,13g/mL. Estas diferenças nas densidades são explicadas pelas diferentes estruturas cristalinas e fatores de empacotamento.

A aplicação comercial mais importante do TiO_2 é como pigmento para fornecer brilho a produtos como tintas e recobrimentos, plásticos, papéis, fibras, alimentos e cosméticos. O TiO_2, nas estruturas rutilo e anatásio, é o pigmento branco mais utilizado no mundo [Ellingsen, 2003].

É conhecido que a resposta biológica e o sucesso do implante dependem das propriedades químicas e físicas da superfície. Dessa forma, apesar das propriedades mecânicas superiores do titânio e suas ligas e das excelentes resistência à corrosão e biocompatibilidade conferidas pelo filme de óxido, estes materiais são bioinertes frente ao tecido ósseo. Assim, torna-se necessária a utilização de métodos de modificação de superfície para melhorar a atividade biológica destes materiais e favorecer a formação óssea [Ellingsen, 2003].

1.4 Modificação de Superfície do Ti c.p.

A interação dos implantes de titânio com o tecido ósseo pode ser melhorada e acelerada pela presença de íons cálcio e fosfato na superfície destes materiais, pois, o processo de osseointegração é iniciado pela troca destes íons entre o material sintético e o meio biológico.

Para combinar a resistência mecânica dos materiais bioinertes ou biotoleráveis com a bioatividade dos materiais bioativos existem duas possibilidades: a primeira consiste na preparação de materiais compósitos, nos quais o material

bioativo é homogeneamente disperso em uma matriz resistente do material bioinerte ou biotolerável; a segunda possibilidade consiste em recobrir o material bioinerte ou biotolerável de boa resistência mecânica com uma camada bioativa através da deposição de um material bioativo [Rigo, 1999]. As duas possibilidades apresentam como principal dificuldade a necessidade de obter uma boa união interfacial entre o componente bioativo e a matriz bioinerte (ou biotolerável) para evitar a concentração de defeitos na interface que conduziria à falha do material.

A preparação e modificação de superfícies com recobrimentos bioativos têm despertado o interesse em explorar o potencial de métodos simples, que utilizam soluções aquosas e baixa temperatura (<100ºC) [Feng, 2000]. O material bioativo amplamente utilizado como recobrimento é a hidroxiapatita – HA, uma cerâmica do sistema dos fosfatos de cálcio e principal componente mineral do tecido ósseo. Esta e outras cerâmicas bioativas deste sistema serão discutidas oportunamente.

1.5 Métodos de Recobrimento Bioativo

1.5.1 Recobrimento por Ion Sputtering

Essa técnica tem sido estudada para a deposição de recobrimento de HA sobre ligas de Ti e Co, utilizando como alvo um disco de hidroxiapatita sinterizado. O estudo da cristalinidade dos recobrimentos obtidos mostrou variabilidade, detectando-se em algumas amostras hidroxiapatita cristalina e em outras uma fase amorfa. Esta variação na cristalinidade influencia o comportamento biológico das diferentes amostras. Além disso, uma outra desvantagem da técnica é o alto custo de montagem do equipamento. Não se conhecem registros de implantes metálicos comerciais recobertos com HA por esta técnica [Fischer, 1986; Vossen, 1990].

1.5.2 Recobrimento Eletrolítico

As técnicas de eletrólise são habitualmente empregadas para recobrimentos com metais, com propriedades especiais, sobre substratos metálicos. De maneira semelhante à eletrólise convencional, pode-se empregar o método para a deposição de filmes de fosfato de cálcio sobre substratos metálicos, baseando-se na redução catódica da água:

$$H_2O + e^- \rightarrow \frac{1}{2}H_2\uparrow + OH^-$$

A reação eletrolítica acima produz um aumento local de pH nas imediações do eletrodo que atua como cátodo que pode ser aproveitado para a precipitação de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} presentes na solução eletrolítica, na forma de uma camada insolúvel e aderente.

O método eletrolítico requer equipamento de baixo custo e os conhecimentos científicos e tecnológicos são bem dominados, em decorrência pode ser um método promissor para a aplicação de recobrimentos bioativos de hidroxiapatita sobre substratos metálicos, porém são evidentes as seguintes desvantagens:

- a deposição de HA não condutora sobre o cátodo aumentam a resistência da cuba, estabelecendo-se uma limitação sobre a espessura do recobrimento. Na literatura existente não se menciona as espessuras obtidas no recobrimento.
- a liberação de hidrogênio sobre o cátodo, devido à reação eletrolítica, pode afetar a adesão da camada de HA e contribuir para a presença de poros.

O método eletrolítico merece atenção e oferece perspectivas imediatas na obtenção de uma camada intermediária de HA, que posteriormente poderá ser recoberta por uma camada definitiva através de outros métodos [Rigo, 1999].

1.5.3 Recobrimento por Plasma Spray

De todos os métodos de recobrimento de hidroxiapatita sobre metais, o método de *plasma spray* é o único utilizado para fins comerciais, em decorrência da disponibilidade do equipamento tecnológico a um preço acessível e com produtividade adequada.

O processo de recobrimento por plasma consiste, em uma primeira fase, da preparação da superfície do substrato, na qual cria-se certa rugosidade superficial para aumentar a superfície disponível e efetuar a ligação mecânica com o filme de hidroxiapatita a ser depositado. Depois injeta-se o pó de hidroxiapatita em um gás inerte transportador, o qual se ioniza, alcançando o estado de plasma ao passar por um arco elétrico estabelecido entre dois eletrodos. Neste estado o gás alcança temperaturas de até 20000 K dentro do arco, que diminui rapidamente até cerca de 2000 à 3000 K a 6 cm do arco. Nestas condições, o pó de hidroxiapatita é projetado neste estado sobre o substrato metálico, onde sofre um rápido resfriamento. O recobrimento vai sendo produzido mediante a deposição de várias camadas. As espessuras finais dos recobrimentos oscilam em geral entre 40 a 100μm.

A natureza da ligação hidroxiapatita-metal por este método é puramente mecânica e os recobrimentos obtidos se comportam como uma cerâmica frágil, falhando quando submetidos às cargas de tração devido à grande diferença entre os coeficientes de expansão térmica do substrato e da hidroxiapatita. Além disso, a hidroxiapatita se decompõe parcialmente ao atingir as altas temperaturas do plasma, alterando sua bioatividade. Diversos produtos de decomposição têm sido registrados em recobrimentos comerciais e experimentais, sendo os mais comuns a oxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6O$], o fosfato tricálcico (nas fases α e β) e uma fase vítrea amorfa. Estes produtos da decomposição são mais solúveis que a hidroxiapatita, e em decorrência

disso pode-se ter uma dissolução e biodegradação do recobrimento, ficando então a superfície metálica exposta ao meio fisiológico. Estas desvantagens têm limitado, de certa forma, as esperanças inicialmente depositadas nesta técnica, mas ainda sendo válidas a osteocondutividade e a osseointegração demonstradas a curto prazo [Vossen, 1990; Klein, 1993; Lacefield, 1993]**.**

1.5.4 Recobrimento pelo Método Sol-Gel

No método sol-gel, materiais inorgânicos podem ser preparados a partir de soluções contendo compostos metálicos tais como alcóxidos metálicos, acetilacetonatos metálicos, sais, etc, como fontes de cátion, água como agente de hidrólise e álcoois como solventes. Na solução os compostos metálicos sofrem fenômenos de hidrólise e policondensação, formando inicialmente pequenos polímeros ou partículas tornando-se assim um sol. As reações continuam, e pouco a pouco interligam às partículas solidificando o sol em um gel. Os géis, após secagem podem ser em alguns casos produtos finais e a temperatura de processamento geralmente não ultrapassa 150°C. Neste caso os produtos orgânicos, adicionados obrigatoriamente para o processo, não são decompostos. Aquecendo em temperatura maior, o gel transforma-se em vidro ou cerâmica com formas pré-determinadas.

Na preparação de filmes finos ou espessos, técnicas como *dip coating, spin coating* e *spray coating* são comumente usadas para recobrir substratos vítreos, cerâmicos, metálicos e poliméricos. Estes filmes sol-gel são bastante promissores para recobrimento de substratos de superfícies pequenas ou grandes. O método sol-gel de fabricação de filmes finos oferece vantagens potenciais sobre as técnicas convencionais, tais como baixa temperatura de processamento, recobrimento fácil

de grandes superfícies, possibilidade em obter filmes com espessuras de 10 Å até alguns micrômetros e baixo custo de instalação.

As desvantagens encontradas quanto à aderência e espessura da camada obtida são decorrentes da interação substrato/camada afetada diretamente pela diferença de coeficiente de expansão térmica. Este método parece ser promissor devido à simplicidade do equipamento tecnológico empregado, baixo custo para a instalação, baixas temperaturas no processo e um bom controle nas características da camada depositada [Russel, 1996; Breme, 1995; Pechini, 1967].

1.5.5 Recobrimento Biomimético

A HA biológica presente no tecido ósseo vivo se diferencia da obtida por métodos sintéticos por sua menor cristalinidade e a presença de substituição iônicas em sua estrutura, considerando-se que estas particularidades desempenham um papel importante em seu comportamento biológico [Kawachi, 2000]. Em 1990, foi desenvolvido um procedimento que permite recobrir praticamente qualquer substrato com uma camada uniforme de hidroxiapatita similar à biológica com até 15μm de espessura. O procedimento originalmente foi empregado sobre Ti c.p., ligas de Ti-6Al-4V, aço inoxidável SUS 316, Pt e Cu, além da Al_2O_3, ZrO_2, vidro de sílica, polimetacrilato de metila e polietileno; posteriormente foi aplicado com êxito a poli(etilenotereftalato), poli(etersulfona), poliamida 6, poli(tetrafluoretileno) e poli(alcoolvinílico), sendo que a única limitação aparente é a natureza do substrato que deve ser estável no meio utilizado e não liberar substâncias inibidoras da nucleação da hidroxiapatita [Vossen, 1990; Tanahashi, 1994].

O método de Abe e colaboradores [1990] consiste em colocar o substrato a ser recoberto em uma solução sintética, denominada *Synthetic Body Fluid – SBF*, de

composição iônica semelhante ao do plasma sanguíneo. Conjuntamente com o substrato coloca-se uma placa de vidro G bioativo distante cerca de 0,5 mm deste substrato. Depois de mantido o sistema durante 7 dias à 36,5°C, forma-se sobre o substrato uma camada contínua e homogênea de 1μm de espessura composta por cristalitos de hidroxiapatita semelhante à biológica muito finos e de aparência fibrosa. Por reimersão durante mais 7 dias em uma solução 1,5 vezes mais concentrada que a primeira, obtém-se um aumento na espessura da camada de até 15 μm. A caracterização do recobrimento demonstrou que se tratava da hidroxiapatita carbonatada de baixa cristalinidade, muito semelhante à da hidroxiapatita biológica presente no tecido ósseo natural. Abe e colaboradores propuseram o seguinte mecanismo de recobrimento:

1. Os íons silicatos presentes no vidro G dissolvem-se e adsorvem-se sobre o substrato.
2. Ocorre a nucleação de hidroxiapatita sobre os íons silicatos adsorvidos.
3. Os núcleos de hidroxiapatita crescem às custas da SBF supersaturada com relação a hidroxiapatita, produzindo-se o recobrimento do substrato (1μm de espessura).
4. A espessura da camada aumenta (até 15 μm) às custas da SBF 1,5 vezes mais concentrada.

O mecanismo de formação de hidroxiapatita sobre substrato de $CaO\text{-}SiO_2$ pelo método bimimético é ilustrado na figura 5.

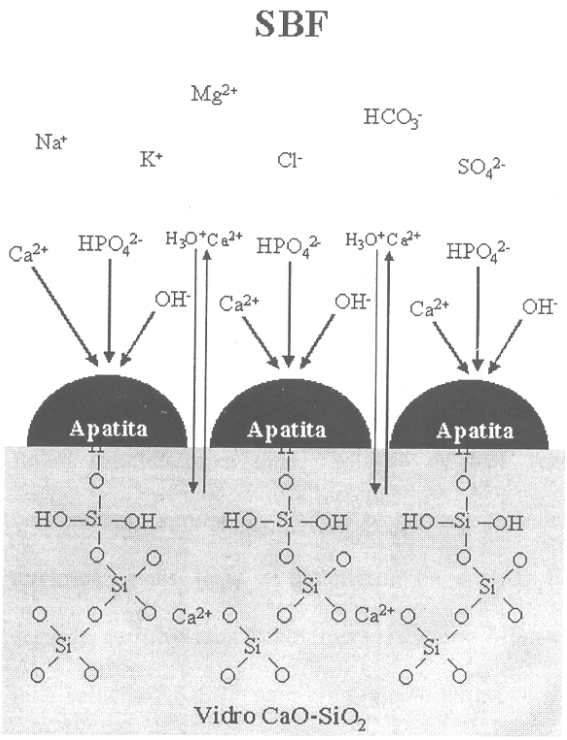


Figura 5: Mecanismo de formação de hidroxiapatita em substrato de $CaO\text{-}SiO_2$. Fonte: Abe, 1990.

Este mecanismo parece concordar com estudos sobre a formação de hidroxiapatita sobre sílica gel, no qual se atribui um papel fundamental aos grupos silanol (SiOH) presentes na superfície do gel.

Desde a sua primeira formulação, o método e a solução Biomimética sofreram significantes variações, visando acelerar o processo de deposição e alterar a cristalinidade do recobrimento, incluindo pré-tratamentos ácidos, alcalinos e térmicos, e a utilização de soluções com composição e concentração variadas [Bigi, 2005; Chou, 2004; Barrere, p. 1921, 2002; Barrere, 1999; Mayer, 1997; Barrere, p.2211, 2002; Maeyer, 1996].

Vercik et al. [2003] substituíram a placa de vidro G por um pré-tratamento químico do substrato com solução de NaOH 5M e posterior tratamento térmico. Neste trabalho a composição da solução SBF e a deposição em duas etapas não

foram alteradas. Os resultados revelaram a obtenção de uma camada densa e uniforme de hidroxiapatita. A cristalinidade desta camada tornou-se similar à cristalinidade da hidroxiapatita presente na mandíbula humana submetendo-se os recobrimentos obtidos a tratamentos térmicos de 400 a 600ºC.

Barrère et all. [1999] depositaram HA pelo método biomimético utilizando variações da solução SBF. Amostras da liga metálica Ti6Al4V foram primeiramente colocadas na SBF padrão e, logo após, colocadas em outra SBF com concentrações diferentes dos íons Mg^{2+} e HCO_3^-. Diferentes soluções SBF foram utilizadas para investigar a influência dos íons Mg^{2+} e HCO_3^-. Da SBF contendo somente os íon Ca^{2+} e HPO_4^{2-} observou-se o desenvolvimento de cristais de fosfato octacálcico sobre o substrato. Quando Mg^{2+} foi adicionado à SBF, o recobrimento passou a ser composto de cristais de HA deficiente em íons cálcio, enquanto que a adição de íons HCO_3^- à SBF levou à formação de apatita carbonatada.

1.6 Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio - Apatitas

Apatita é um termo geral para minerais com composição $M_{10}(ZO_4)_6X_2$. Este nome foi dado por Werner em 1790 e tem origem da palavra grega *apato*, que significa engano, por ter sido confundida com a pedra preciosa turmalina [Aoki, 1991].

Diferentes elementos podem ocupar os sítios M, Z e X, como mostra a tabela 9. Particularmente, decorrente da posição ocupada na estrutura, pode ocorrer vacâncias no sítio referente a X [Aoki, 1991].

Tabela 9: Elementos que podem ocupar os sítios atômicos da apatita.

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: Aoki, 1991.

Na natureza, as apatitas podem ser encontradas em rochas ígneas. 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 OH^-, F^-, CO_3^{2-} e Cl^-. Particularmente referente ao íon CO_3^{2-}, este pode ocupar também o sítio Z das apatitas. Em ambos os sítios, a incorporação deste íon origina apatitas carbonatadas, que são denominadas de tipo A ou tipo B, dependo do sítio ocupado por este íon. Quando o íon CO_3^{2-} encontra-se ocupando o sítio X, a apatita carbonatada é denominada do tipo A; já, quando este íon substitui, total ou parcialmente, o elemento P, presente no sítio Z, a apatita carbonatada é denominada do tipo B [Aoki, 1991; Kanazawa, 1989].

A tabela 10 apresenta a composição de elementos inorgânicos em ossos e dentes.

Tabela 10: Composição inorgânica de ossos e dentes (%).

Elementos	Osso	Dente	
		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: Aoki, 1991.

Durantes as décadas passadas, as biocerâmicas de fosfato de cálcio têm sido amplamente utilizadas em aplicações médicas, ortopédicas e odontológicas, como recobrimentos ou materiais densos para a reposição e reparação do tecido ósseo, devido à similaridade química e estrutural com a apatita biológica, que propicia a interação direta com este tecido [Campbell, 2003]. Uma forma conveniente de classificar os fosfatos de cálcio é através da razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo - Ca/P, a qual varia de 0,5 a 2,0, conforme mostra a tabela 11. Os fosfatos de cálcio podem ser sintetizados por precipitação a partir de soluções contendo íons Ca^{2+} e PO_4^{3-}, sob condições alcalinas ou ácidas.

Tabela 11: Relação Ca/P das fases de apatita.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Ca/P
Fosfato Tetracálcico (TeCP)	$Ca_4O(PO_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$Ca_3(PO_4)_2 \cdot nH_2O$	1,5
Fosfato tricálcico (α, α´, β, γ) (TCP)	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	1,33
Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	$CaHPO_4.2H_2O$	1,0
Monohidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	$CaHPO_4$	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$Ca_2P_2O_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	$Ca_2P_2O_7.2H_2O$	1,0
Fosfato Heptacálcico (HCP)	$Ca_7(P_5O_{16})_2$	0,7
Dihidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$Ca_4H_2P_6O_{20}$	0,67
Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$Ca(H_2PO_4)_2.H_{2O}$	0,5
Metafosfato de cálcio (α, β, γ) (CMP)	$Ca(PO_3)_2$	0,5

Fonte: Aoki, 1991.

A hidroxiapatita – HA, por constituir o principal componente mineral dos ossos, é o fosfato de cálcio mais amplamente utilizado como biocerâmica [Campbell, 2003]. Contudo, além da HA, vários outros fosfatos de cálcio também ocorrem em calcificações normais e patológicas, o que vem despertando interesse significativo nas possibilidades de uso destes materiais como biocerâmicas [Kawachi, 2000]. A

tabela 12 relaciona diversos fosfatos de cálcio e suas ocorrências em sistemas biológicos.

Tabela 12: Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.

Fosfato de Cálcio	Ocorrências
Hidroxiapatita (HA)	Esmalte, dentina, osso, cálculo dentário e urinário, pedras, calcificação de tecido mole.
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	Cálculo dentário e urinário.
Fosfato octacálcico (OCP)	Cálculo dentário e urinário.
Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	Cálculo dentário, ossos decompostos.
Fosfato tricálcico (TCP)	Cálculo dentário e urinário, pedras salivares, cáries dentárias. Calcificação de tecido mole.
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	Depósitos de pseudo-gotas em fluidos.

Fonte: Kawachi, 2000.

Das fases de apatita citadas, a HA é a fase mais estável termodinamicamente no meio fisiológico. Lu et al. [2005], baseados na teoria clássica de cristalização e utilizando diferentes soluções SBF, observaram que a velocidade de nucleação do OCP é substancialmente mais alta que da HA, porém esta é termodinamicamente mais estável em SBF, e a velocidade de nucleação destas fases torna-se comparável em pH 10. Além disso, a precipitação da fase DCPD só é termodinamicamente possível com o aumento da concentração iônica de cálcio e fosfato na solução.

De forma genérica, as biocerâmicas de fosfato de cálcio degradam com uma velocidade dada pela ordem: $CaHPO_4.2H_20$ > $CaHPO_4$ > $Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$ > $Ca_3(PO_4)_2$ > $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. A reabsorção do material, que representa esta

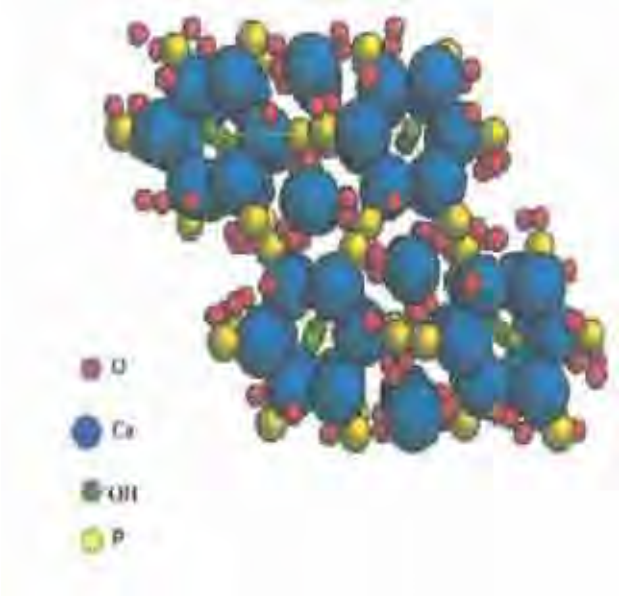
degradação, é causada pela dissolução, que depende do produto de solubilidade do material e do pH local no meio fisiológico, pela desintegração física em partículas menores e, ainda, por fatores biológicos como fagocitose e a presença de leucocitose de mediadores químicos que causam a redução do pH local. A velocidade de reabsorção pode aumentar com o aumento da área específica ($A_{pó} > A_{sólido\ poroso} > A_{sólido\ denso}$), com o decréscimo da cristalinidade e, no caso da HA, pela substituição de CO_3^{2-} nos sítios de PO_4^{3-} e por Mg^{2+} e Sr^{2+} nos sítios de Ca^{2+} [Kanazawa, 1989; Aoki, 1991].

1.6.1 Hidroxiapatita - HA

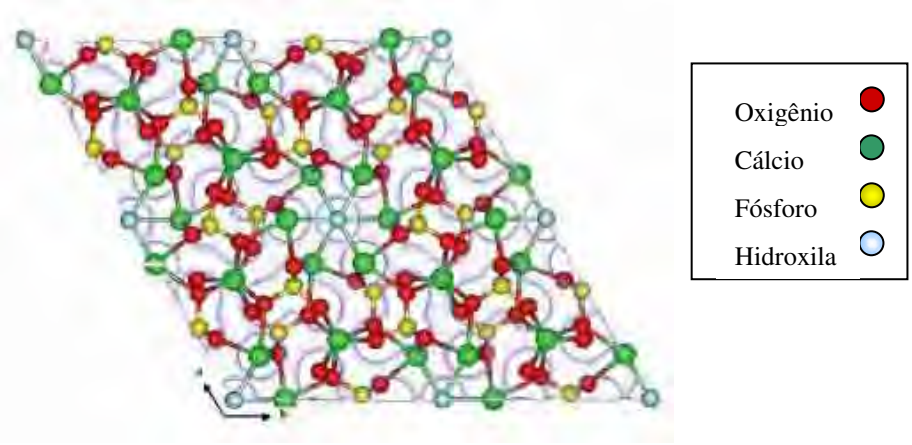
A hidroxiapatita – HA representa a fase mineral dos ossos e dentes e é responsável por fornecer estabilidade estrutural ao corpo, protegendo órgãos vitais como pulmões e coração, funcionando como um depósito regulador de íons. Tal fase de apatita representa aproximadamente 5% do peso total de um indivíduo adulto. Apresenta a fórmula química $Ca_5(PO_4)_3OH$ e razão molar Ca/P de 1,67.

De Jong foi o primeiro a observar a semelhança entre os padrões de difração de raios X da fase mineral dos ossos e da HA, em 1926. Entretanto, a fase mineral dos ossos não possui uma composição muito bem definida, além de mostrar variações durante os estágios de maturação e envelhecimento dos tecidos duros. Sendo assim, a maior diferença entre a HA sintética e a apatita óssea está na cristalinidade. A presença de íons Na^+, Mg^{2+}, CO_3^{2-} e citratos e, em menores quantidades, K^+, Cl^- e F^- são semelhantes para ambas [Kawachi, 2000; Kay, 1992].

A HA apresenta estrutura cristalina hexagonal com dimensões de célula unitária a = 0,9432nm e c = 0,6881nm, apresentada na figura 6, que foi determinada em 1930 por Nàray-Szabó e Mehmel, em investigações independentes [Aoki, 1991].



(a)



(b)

Figura 6: Estrutura cristalina da HA: a) arranjo tridimensional e b) plano basal.

A posição do íon OH^- na estrutura cristalina da HA possibilita a sua troca deste por outros íons, tais como F^-, Cl^- e CO_3^{2-}.

A utilização de HA em recobrimentos tornou-se popular em implantes dentários e ortopédicos devido às seguintes vantagens: rápida adaptação óssea, não formação de tecido fibroso, íntima adesão implante/tecido, tempo de cicatrização reduzido e maior tolerância à imprecisões cirúrgicas. Estas vantagens, relativamente de curto prazo, podem propiciar outros fatores que aumentam a

estabilidade a longo prazo dos implantes. O recobrimento de HA pode fornecer maior tolerância às mudanças ósseas naturais inevitáveis e um sistema de manutenção do osso ao redor da área recoberta [Kay, 1992].

Apesar de todas estas vantagens, o uso clínico da HA é limitado devido à sua lenta biodegradação. Estudos efetuados por longos períodos de tempo têm mostrado que a HA começa a ser reabsorvida gradualmente após 4 a 5 anos de implantação. A reabsorção é uma característica desejada para biomateriais nos quais o processo de degradação é concomitante com a reposição do osso em formação [Kawachi, 2000].

1.6.2 Fosfato de Cálcio Amorfo – ACP

Quando fosfatos de cálcio são precipitados a partir de soluções aquosas supersaturadas, com pH neutro ou alcalino, uma fase amorfa metaestável forma-se rapidamente nos estágios iniciais da reação [Kim, 2005; Abbona, 1996]. Esta fase é denominada fosfato de cálcio amorfo – ACP a qual corresponde composicionalmente a hidroxiapatita deficiente em cálcio - HA_D com composição $Ca_9H_2(PO_4)_6.n'H_2O$. Sua fórmula é dada por $Ca_3(PO_4)_2.nH_2O$, com n = 3 a 4,5. Forma partículas esféricas de 30 a 100nm, que são aglomerados de pequenas partículas, e apresenta área superficial de 30 a 120 m^2/g [Kanazawa, 1989; Christoffersen, 1989; Abbona, 1996]. Baseado no método de distribuição radial de raios X, o ACP é considerado ser composto por clusters de composição $Ca_9(PO_4)_6$ com diâmetro de 0,95nm, denominados clusters de Posner, com moléculas de água nos interstícios, como mostra a figura 7 [Kanazawa, 1989; Kim, 2005].

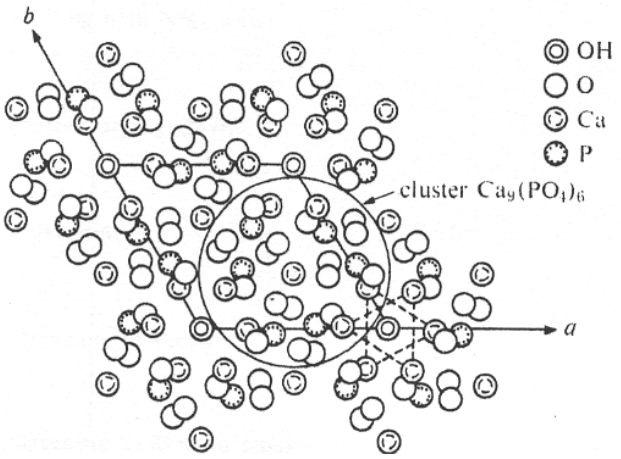


Figura 7: Distribuição dos clusters do ACP.
Fonte: Kanazawa, 1989.

Alguns autores descrevem que ACP converte-se diretamente a HA, contudo, a formação de fosfato octacálcico – OCP como fase intermediária é descrita por outros autores [Abbona, 1996; Kanazawa, 1989].

Christoffersen et al. [1989] descreveram a ocorrência de dois tipos de fosfato de cálcio amorfo, os quais foram denominados de ACP1 e ACP2. A formação de HA ocorre diretamente a partir de ACP1, diferentemente, ACP2 converte-se a HA com a formação de OCP como intermediário cristalino. Tais fases, ACP1 e ACP2, apresentam a mesma composição, diferindo apenas em morfologia e solubilidade. As morfologias características para estas fases são, respectivamente, grãos esféricos e morfologia flocular [Christoffersen, 1989; Abbona, 1996].

A formação de ACP de uma solução aquosa envolve um período de indução, o qual é descrito ser influenciado pela presença de íons Mg^{2+}, CO_3^{2-}, F^-, $P_2O_7^{4-}$ e poliacrilatos [Kanazawa, 1989]. Contudo, Abbona et al. [1996] descrevem que o íon Mg^{2+} não afeta a formação de ACP1, somente sua conversão a ACP2, aumentando a cristalinidade da HA sequencialmente formada.

A conversão de ACP a HA é descrita ocorrer por um processo de dissolução-nucleação [Kim, 2005; Abbona, 1996].

Estudo do tratamento hidrolítico do ACP em suspensão mostrou um aumento progressivo da razão Ca/P do sólido, designando um processo de dissolução-reprecipitação, relativo à alta solubilidade da fase amorfa comparada à fase cristalina. Durante este processo, a fase de apatita também pode absorver íons presentes na solução como CO_3^{2-}. Este modelo foi sugerido representar o que ocorre no osso durante a mineralização da matriz colágena. O mecanismo de conversão de ACP a HA depende do pH da solução. Em pH fisiológico (7,4) a hidrólise do ACP é descrita por um processo em duas etapas. Na primeira etapa, uma diminuição da razão Ca/P da fase sólida é observada (menor que 1,5) associada ao aumento do pH e razão Ca/P da solução (superior a 1,5). O produto iônico nesta solução aproxima-se do produto iônico do OCP. Na segunda etapa, um aumento na razão Ca/P da fase sólida é observado com consumo de íons OH^- da solução, e uma diminuição da razão Ca/P desta solução. Este estágio tem sido interpretado como a hidrólise do OCP a HA [Somrani, 2005].

Embora não pareça existir em quantidade detectável nos tecidos duros dos vertebrados, o ACP tem sido encontrado em muitos sistemas biológicos e como parte da composição de recobrimentos obtidos por *plasma-spray*. Esta fase de apatita tem sido reportada como responsável pela otimização das propriedades mecânicas destes recobrimentos, especialmente a adesão a superfícies metálicas, e das propriedades biológicas. O aumento da quantidade de ACP em recobrimentos ocasiona melhora na propriedade osteocondutiva, contudo pode ocasionar a degradação do material, danificando sua integração biológica com o tecido vivo [Somrani, 2005].

1.6.3 Fosfato Octacálcico – OCP

O fosfato octacálcico – OCP apresenta a fórmula $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4.5H_2O$, embora a quantidade de água seja variável. De acordo com Bjerrum, um fosfato de cálcio com a composição do OCP foi primeiramente descrito por Berzelius em 1836, contudo sua existência somente foi aceita em meados do século XX e sua importância só foi reconhecida no final da década de 50 [Elliot, 1984].

A estrutura cristalina do OCP, apresentada na figura 8, cujas dimensões de célula unitária são a = 1,971, b = 0,953 e c = 0,689nm, consiste de um arranjo alternado entre camadas de apatita com composição $4[Ca_3(PO_4)_2.5H_2O]$, camada A, e camadas hidratadas de composição $4[CaHPO_4.2H_2O]$ – DCPD, camada B [Kanazawa, 1989].

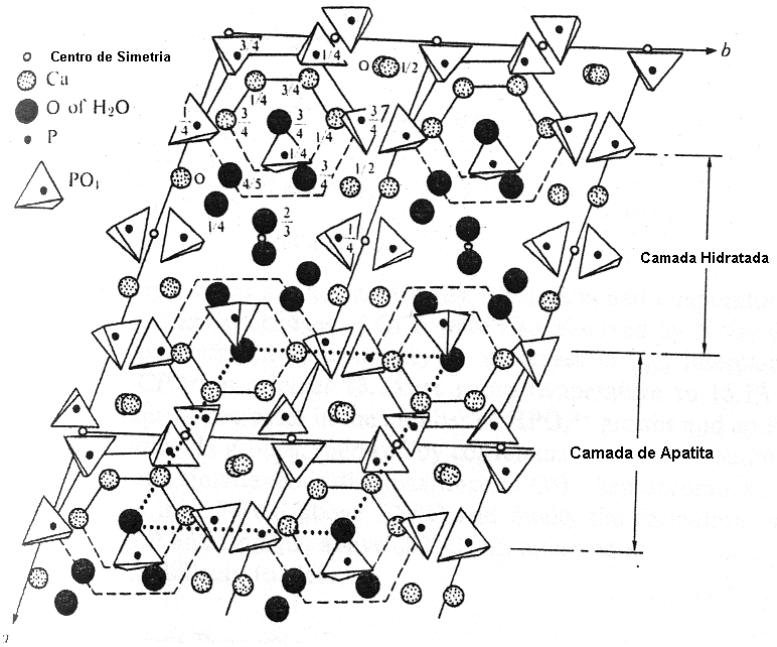


Figura 8: Estrutura cristalina do OCP.
Fonte: Kanazawa, 1989.

A figura 9 mostra as regiões de pH e temperatura nas quais o OCP pode ser formado a partir da hidrólise do TCP - $Ca_3(PO_4)_2$. Como pode ser visto, a formação do OCP ocorre numa região intermediária entre a HA e o DCPD ou $CaHPO_4$.

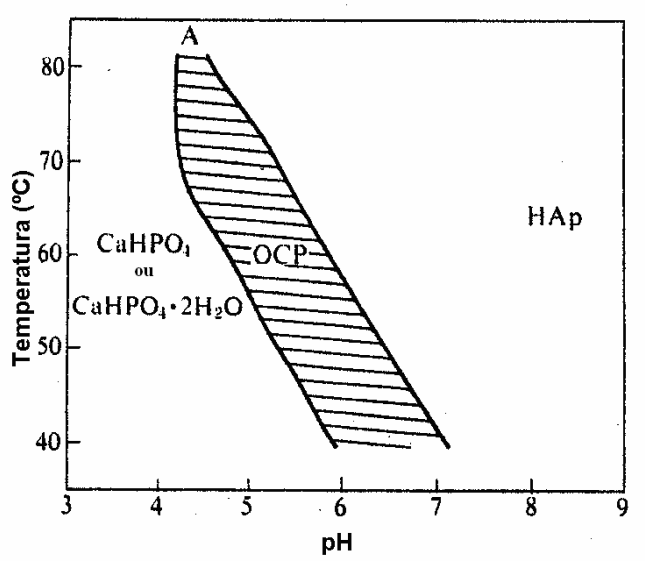


Figura 9: Regiões de pH e temperatura de formação do OCP.
Fonte: Kanazawa, 1989.

Dessa forma, nota-se que o OCP é estrutural e composionalmente um complexo de estrutura de apatita (camada A) e composição de DCPD (camada B). A camada B contém quatro grupos HPO_4^{2-}, onde dois deles formam pilares [Ca-HPO_4-Ca] e os outros dois estão ligados à camada A através do oxigênio [Kanazawa, 1989].

O OCP frequentemente ocorre como uma fase intermediária na precipitação de HA sintética e na formação de apatitas biológicas, pois nucleia e cresce mais facilmente que HA [Elliot, 1984]. No mecanismo de formação de esmalte dentário, o OCP é proposto participar como um precursor da HA. O OCP é uma fase termodinamicamente metaestável e se transforma espontaneamente a HA, mantendo a morfologia e o parâmetro c da estrutura cristalina originais. Análises de

matriz veículo e esmalte dentário sugerem a existência de OCP durante a mineralização [Iijima, 1998].

Durante a formação da HA do esmalte dentário, íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} são transportados para dentro da matriz onde a mineralização acontece. O fluxo destes íons é moderado no estágio inicial. No estágio de maturação, íons Ca^{2+} são ativamente transportados para a região de mineralização, provocando um acentuado progresso deste processo. A razão Ca/P sofre alteração durante a mineralização. Dessa forma, é deduzido que a precipitação inicial dos cristais de OCP e sua conversão a HA são controladas pelo modo de transporte dos íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} para os sítios de calcificação [Iijima, 1994].

Estudo do efeito da adição de cálcio na formação de OCP e conversão a HA, realizado por Iijima et all. [1998], utilizando soluções de fosfato de cálcio com variadas razões Ca/P, todas com pH 7,4 e temperatura de 37ºC, mostrou que a razão OCP/HA do produto formado diminuiu conforme a velocidade de adição de Ca^{2+} também diminuiu, e este comportamento tornou-se acentuado quando a razão Ca/P da solução aumentou. A adição de cálcio numa velocidade apropriada foi crucial para manter o grau de supersaturação do OCP durante a reação e, desse modo, regulou a formação e transformação do OCP a HA. A estabilidade do OCP aumentou e a transformação a HA tornou-se baixa com o aumento na duração de adição de Ca^{2+}.

Young e Brown [Graham, 1996] propuseram dois mecanismos pelos quais OCP se converte a HA. No primeiro mecanismo, HA é formada por hidrólise *in situ* do OCP, sendo formada de cristalitos pseudomorfos do OCP de origem. No segundo mecanismo proposto, uma camada densa de OCP de única célula unitária se hidrolisa a HA, formando uma camada densa de duas células unitárias. Neste

mecanismo, uma camada de OCP precipita da solução e então hidrolisa. Dependendo da velocidade relativa de formação destas fases, o fosfato de cálcio final pode ser OCP ou HA. Dessa forma, a fase final depende da composição e das condições da solução. A composição da HA formada depende da habilidade do OCP absorver impurezas. É estabelecido que alguns íons influenciam a hidrólise do OCP, e esta fase tem sido mostrada capaz de absorver grande número de espécies orgânicas e inorgânicas em sua estrutura, tais como íons CO_3^{2-}, $P_2O_7^{4-}$ e dicarboxilatos [Graham, 1996].

As reações de hidrólise do OCP a HA foram estudadas por Graham et all. [1996], misturando-se suspensões de OCP com proporções de fosfato tetracálcico ou hidróxido de cálcio necessárias para formar HA estequiométrica. Os resultados mostraram que a conversão de OCP a HA ocorre mais rapidamente em temperaturas elevadas e na presença de fosfato tretracálcico. Diferentemente, na presença de hidróxido de cálcio a velocidade de hidrólise foi diminuída, senão totalmente parada.

1.6.4 Fosfato Tricálcico – TCP

O fosfato tricálcico – TCP, cuja fórmula é dada por $Ca_3(PO_4)_2$ com razão Ca/P de 1,5, também pode ser denominado de fosfato tricálcico anidro, onde o adjetivo anidro é utilizado para distinguir este composto dos precipitados hidratados que possuem razão Ca/P similar [Elliot, 1984].

Esta fase de apatita pode ocorrer nas formas alotrópicas α, α', β e γ. As formas alotrópicas α e β foram primeiramente reportadas por Trömel em 1972. As temperaturas de transição e seqüência de ocorrência destas formas são apresentadas abaixo [Elliot, 1984; Kanazawa, 1989]:

$$\beta\text{-TCP} \xrightarrow{1120\text{-}1180^{\circ}C} \alpha\text{-TCP} \xrightarrow{1430\text{-}1470^{\circ}C} \alpha'\text{-TCP}$$

A forma alotrópica γ só ocorre em altas pressões.

Os dados cristalográficos das formas α, β e γ são apresentados na tabela 13. A estrutura cristalina da fase alotrópica α'-TCP não foi determinada, provavelmente devido à dificuldade de preparação [Kanazawa, 1989].

Tabela 13: Parâmetro de célula unitária da estrutura cristalina das formas alotrópicas do TCP.

	Sistema	a (nm)	b (nm)	c (nm)
α-TCP	Monoclínico	1,287	2,728	1,521
β-TCP	Romboédrico	1,043	1,043	3,737
γ-TCP	Romboédrico	0,524	-	1,867

Fonte: Kanazawa, 1989.

As cerâmicas de TCP têm se tornado objeto de interesse na área de Biomaterias tanto quanto as cerâmicas de HA. São classificadas como biodegradáveis e são utilizadas clinicamente na ortopedia e odontologia [Kanazawa, 1989].

Kokubo et al. [Abe, 1990] demonstraram sistematicamente que a bioatividade dos materiais *in vivo* pode ser diretamente relacionada com a velocidade na qual o material forma apatita *in vitro* quando imerso em SBF.

Xin et al. [2005] avaliaram a formação de apatitas na superfície de várias biocerâmicas, sinterizadas como sólidos porosos, tais como Biovidro, vitro-

cerâmicas, HA, α-TCP, β-TCP e HA/TCP, quando imersas em SBF (*in vitro*) e quando implantadas em coelhos (*in vivo*). Os resultados mostraram que a formação de apatita *in vitro* foi similar para todas as biocerâmicas, exceto para β-TCP. A bicerâmica β-TCP exibiu a menor habilidade de indução de formação de apatita tanto *in vitro* como *in vivo*. A fase de apatita formada em todas as biocerâmicas *in vivo* e *in vitro* foi identificada como sendo OCP. A habilidade de formação de apatita na superfície da biocerâmica HA/TCP foi atribuída à presença de TCP na forma alotrópica α. A apatita α-TCP tem sido considerada favorável a osteoindução devido à quantidade de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-}, os quais são trocados no meio biológico. Apesar da pouca habilidade de formação de apatita em sua superfície, β-TCP exibiu boa habilidade de osteoindução [Xin, 2005].

Capítulo II

Justificativa e Objetivos

Tanto em sistemas biológicos quanto em solução SBF, o crescimento cristalino de apatitas ocorre em meio contendo, além de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-}, íons-traço essenciais tais como Na^+, K^+, Mg^{2+} e CO_3^{2-}, os quais desempenham funções diferentes e necessárias.

O íon Mg^{2+} é um dos íons-traços mais abundantes nos tecidos duros biológicos. No esmalte dentário, a concentração deste íon é de aproximadamente 0,4%, enquanto que na dentina esta concentração é cerca de 1% e no osso 0,5%. A quantidade de Mg^{2+} no esmalte dentário aumenta da superfície para a área de junção esmalte/dentina. As propriedades das apatitas biológicas podem ser afetadas, entre outros fatores, pela presença de Mg^{2+}. Este íon tem sido reportado como responsável pelo distúrbio na cristalização de apatitas, especialmente HA, quando presente na solução em quantidades suficientes para competir com os íons Ca^{2+}. Le Geros et al. [Mayer, 1997] mostraram que quando a razão molar Mg/Ca da solução for superior a 0,05, ocorrerá a formação de TCP substituído por Mg^{2+}. Mayer et al. [1997] estudaram a precipitação de HA em soluções com diferentes razões Ca/P e quantidades de Mg^{2+}. Os resultados obtidos mostraram que a transformação a TCP ocorreu efetivamente em soluções com porcentagem de Mg^{2+} de 1,46 a 1,52%, mostrando que este íon foi incorporado na estrutura cristalina do TCP, acarretando, dessa forma, sua estabilização, após tratamento térmico a 700ºC [Mayer, 1997]. Kanzaki et al. [2000], em estudo realizado para avaliar o efeito dos

íons Mg^{2+} e Zn^{2+} na cinética de crescimento de HA de face (0001) em condições fisiológicas, mostraram que a velocidade de crescimento desta face da HA foi inibida pela presença destes íons, contudo, o efeito inibitório do Zn^{2+} foi cerca de 1000 vezes mais efetivo que do Mg^{2+}.

Outro íon que ocorre em quantidade significativa nos tecidos biológicos é o CO_3^{2-}. Sua concentração no osso é cerca de 3,5%, enquanto que nos processos de formação e maturação do esmalte dentário é de 5 e 3%, respectivamente. Os fluidos biológicos como o sangue contém de 20 a 25mM deste íon. O íon CO_3^{2-} é um dos íons-impurezas que são incorporados nas apatitas biológicas durante o processo de hidrólise do OCP a HA, podendo afetar o processo de formação da última fase. Iijima et al. [1994] investigaram o efeito deste íon na formação de OCP em condições fisiológicas e concluíram que em concentrações de 5 a 10mM, a presença deste íon tornou a formação de OCP energeticamente favorável, enquanto que em concentrações de 10 a 20mM o crescimento cristalino desta fase foi perturbado, tornando-se predominante a formação de HA carbonatada.

Comparando-se os efeitos inibitórios dos íons Mg^{2+} e HCO_3^- na cristalização de apatitas, Barrére et. al [p. 2211-2220, 2002], utilizando-se diferentes soluções SBF com e sem adição destes íons, e substratos metálicos de Ti6Al4V, observaram que o período de formação de recobrimento foi mais elevado em soluções com elevadas concentrações de Mg^{2+} que em soluções de mesma concentração de HCO_3^-, mostrando que o Mg^{2+} apresenta efeito inibitório mais acentuado que o íon HCO_3^-. Outros estudos realizados por estes mesmos autores, mostraram que ambos os íons, Mg^{2+} e HCO_3^-, apresentam efeito inibitório na cristalização de OCP [Barrere, 1999; Barrere, p. 1921-1930, 2002].

Além dos íons Mg^{2+} e CO_3^{2-}/HCO_3^-, outros íons também são reportados como inibidores do crescimento cristalino de apatitas, tais como pirofosfato, citrato, flúor e cobalto [Fleisch, 1981].

Tendo em vista que cada fase de apatita apresenta propriedades químicas e biológicas diferenciadas, e que a formação e estabilidade destas fases dependem da composição da solução utilizada, como mostrou o estudo prévio da literatura, o objetivo deste trabalho foi investigar a influência dos íons K^+, Mg^{2+}, SO_4^{2-} e HCO_3^- na deposição de fases de apatita, pelo método biomimético,sobre substratos metálicos de Ti c.p. Esta influência foi avaliada antes e após tratamento térmico dos recobrimentos a 800ºC por 1 hora.

Capítulo III

Fluxograma

A figura 10 apresenta o fluxograma da metodologia desenvolvida neste trabalho.

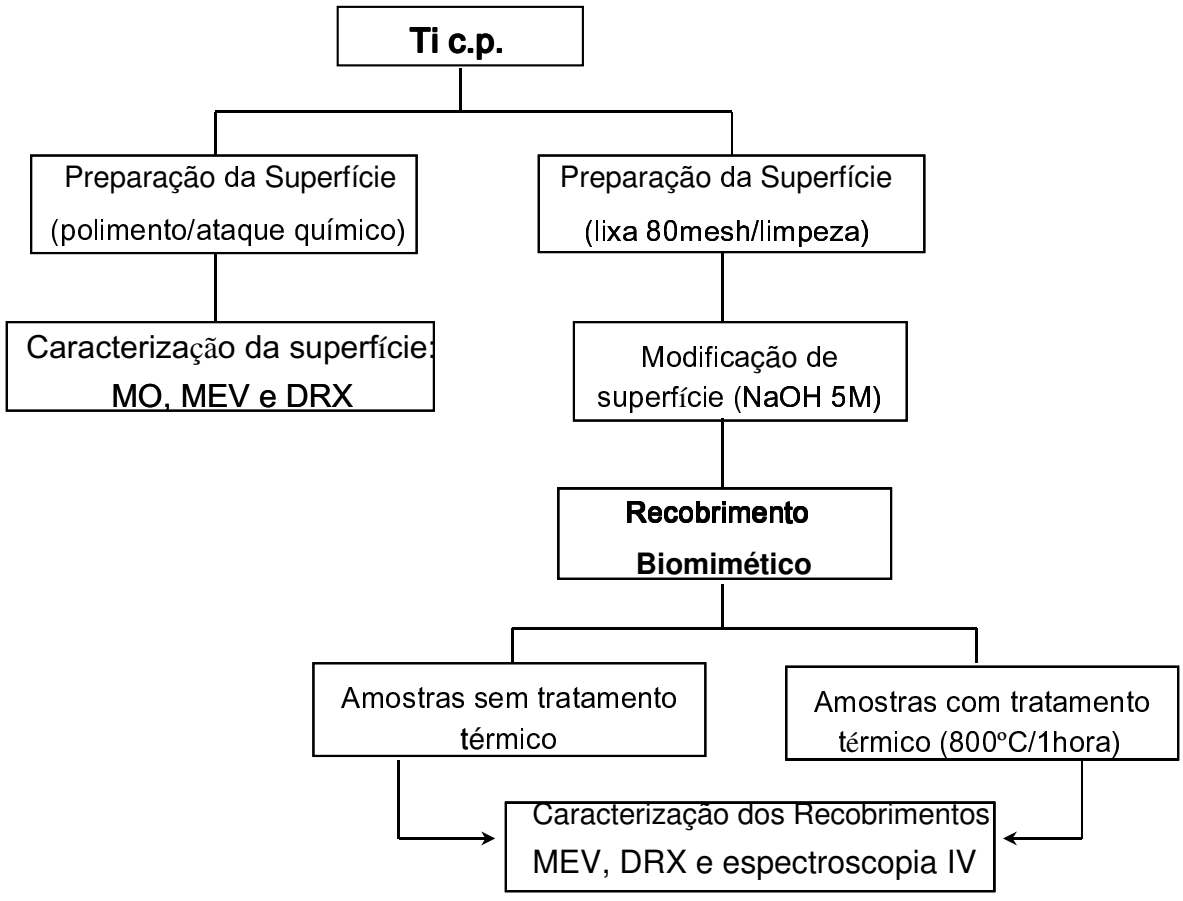


Figura 10: Fluxograma do desenvolvimento deste trabalho.

Capítulo IV

Metodologia

4.1 Materiais

Os corpos de prova de Ti c.p. utilizados neste trabalho foram cortados, utilizando-se a máquina ISOMET 1000 – BUEHLER, nas dimensões 0,5 x 1,0 x 0,3 cm. Estes materiais foram submetidos aos seguintes procedimentos:

4.1.1 Caracterização Química e Microestrutural do Ti c.p.

A caracterização química e microestrutural do Ti c.p. foi efetuada utilizando-se as técnicas: análise química, microscopia óptica – MO, microscopia eletrônica de varredura – MEV, microanálise semi-quantitativa por energia dispersiva de raios X – EDX e difratometria de raios X – DRX.

Os corpos de prova de Ti c.p. foram primeiramente lixados com lixas d'água de granulometria 400, 500, 600, 1000 e 1200 mesh, e então submetidos ao polimento mecânico em uma politriz Maxiplan, utilizando-se óxido de alumínio (alumina) de granulação 1 e 0,3 μm como abrasivo, com o intuito de se obter uma superfície plana e polida, adequada para se proceder os ensaios da maneira mais criteriosa possível. Em seguida foi realizado ataque químico para a revelação da microestrutura utilizando-se reagente de Kroll (1-3 mL de HF e 3-6 mL de HNO_3). A solução de ataque foi preparada em diluição para 100 mL de água destilada. Os materiais foram imersos e retirados imediatamente desta solução e em seguida foram lavados em água corrente e secos.

4.1.2 Modificação da Superfície do Ti c.p.

Anterior à deposição do filme biocerâmico pelo método biomimético, as amostras de Ti c.p. foram submetidas ao tratamento químico com solução de NaOH 5M, a fim de se obter uma superfície com atividade iônica adequada para induzir a deposição do filme biocerâmico.

Antes do tratamento químico superficial, as amostras de Ti c.p. foram submetidas ao polimento com lixa de granulometria 180 mesh, produzindo uma superfície rugosa, proporcionando o aumento na área superficial. Esta característica é necessária para favorecer a precipitação de apatitas. Vercik [2004] descreve que a obtenção de um recobrimento uniforme e sua aderência ao substrato são desfavorecidas quanto mais polida (lisa) for a superfície deste substrato.

Em seguida as amostras foram limpas em ultra-som com acetona, para a eliminação de impurezas orgânicas, e então foram submetidas ao tratamento com solução de NaOH 5M por 24 horas a 60ºC. Após este período, as amostras foram lavadas com água deionizada e secas por 3 horas também a 60ºC. A superfície obtida foi analisada pelas técnicas de microscopia eletrônica de varredura – MEV e difratometira de raios X - DRX.

4.1.3 Preparo das soluções SBF e recobrimento biomimético dos substratos

A metodologia de preparação da solução SBF, quanto à ordem de adição dos sais utilizados, foi modificada pelo Grupo de Biomateriais, a fim de minimizar a possibilidade de perda de solução, ocasionada por sua precipitação. A tabela 14 apresenta a seqüência de adição dos sais inicialmente proposta por Abe et al. [1990] e a adotada neste trabalho.

Tabela 14: Seqüência de adição de sais para a preparação da solução SBF: seqüência inicial proposta por Abe et al. e a adotada neste trabalho.

Abe et al.			Grupo de Biomateriais		
Ordem	**Substância**	**Quantidade**	**Ordem**	**Substância**	**Quantidade**
1	NaCl	7,996g	1	NaCl	**8,003g**
2	$NaHCO_3$	0,335g	2	$NaHCO_3$	0,335g
3	KCl	0,224g	3	KCl	0,224g
4	K_2PO_4	0,174g	4	K_2PO_4	0,174g
5	$MgCl_2.H_20$	0,305g	5	**Na_2SO_4**	0,071
6	HCl	40,0mL	6	HCl	40,0mL
7	$CaCl_2.2H_2O$	0,368g	7	$CaCl_2.2H_2O$	0,368g
8	Na_2SO_4	0,071g	8	**$MgCl_2.H_20$**	0,305g
9	$NH_2C(CH_2OH)_3$	6,057g	9	$NH_2C(CH_2OH)_3$	6,057g

Para analisar o efeito da composição da solução SBF sobre a fase de apatita depositada, sete diferentes soluções foram preparadas com reagentes de grau analítico e água deionizada. A composição das soluções utilizadas é apresentada na tabela 15.

Tabela 15: Concentrações iônicas das soluções SBF utilizadas (mmol.dm^{-3}).

	Na^+	**K^+**	**Mg^{2+}**	**Ca^{2+}**	**Cl^-**	**HPO_4^{2-}**	**SO_4^{2-}**	**HCO_3^-**
SBF 0	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	1,0	0,5	4,2
SBF 1	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	-
SBF 2	140,4	-	**1,0**	3,1	142,9	1,86	-	-
SBF 3	140,4	**1,0**	-	3,1	142,9	1,86	-	-
SBF 4	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	**1,0**	-
SBF 5	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	**3,0**
SBF 6	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	**5,0**

As amostras de Ti c.p., depois de submetidas à modificação de superfície, foram imersas em solução SBF 1,5M e mantidas a 37ºC pelo período de 7 dias. Efetuou-se a troca da solução a cada 48 horas com o propósito de favorecer as condições de super-saturação da solução e, conseqüentemente, induzir a formação do recobrimento.

Após o período para a obtenção dos recobrimentos, as amostras foram secas ao ar e submetidas a tratamento térmico à temperatura de 800ºC por 1 hora, sem controle atmosférico. A taxa de resfriamento utilizada foi a taxa usual do forno utilizado. A temperatura utilizada foi selecionada respeitando a temperatura de transição de fase do Ti c.p., que ocorre aproximadamente em 882ºC.

A análise dos recobrimentos foi realizada antes e após o tratamento térmico utilizando-se as técnicas: microscopia eletrônica de varredura – MEV, microanálise semi-quantitativa por energia dispersiva de raios X – EDX, difratometria de raios X – DRX e espectroscopia no infravermelho – IV.

4.2 Métodos

4.2.1 Microscopia Óptica – MO

Muitos métodos são utilizados na determinação da estrutura interna dos metais, mas o exame metalográfico por meio de microscópio óptico de reflexão constitui um dos mais importantes.

A microscopia óptica é utilizada na metalurgia, possibilitando análises microestruturais de metais e ligas metálicas em geral servindo como ponto de referência para a microscopia eletrônica.

Nos materiais metálicos, os limites de grãos podem ser identificados numa amostra preparada do material, como linhas escuras. As amostras são, em primeiro lugar, polidas de modo a obter uma superfície lisa e em seguida, atacadas quimicamente (contrastadas); os limites de grão são corroídos mais rapidamente que o próprio grão, originando assim, pequenos sulcos ao longo dos limites de grão. Quando examinadas num microscópio óptico, a luz incidente não será tão intensamente refletida pelos limites de grão e, como conseqüência, estes aparecerão como linhas escuras na lente ocular do microscópio [Exner, 1985].

Neste trabalho, a microscopia óptica foi realizada em um microscópio óptico Leica DMR, acoplado a uma estação de captura e análise de imagens com software Leica Qwin, do Instituto de Química – Unesp – Araraquara.

4.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV

O microscópio eletrônico de varredura consiste basicamente de coluna óptico-eletrônica, câmara para a amostra, sistema de vácuo, controle eletrônico e sistema de imagem. As imagens são construídas ponto a ponto, de modo similar à formação de uma imagem de televisão. Um feixe de elétrons de alta energia é focalizado num ponto da amostra, o que causa emissão de elétrons com grande espalhamento de energia, que são coletados e amplificados para fornecer um sinal elétrico. Este sinal é utilizado para modular a intensidade de um feixe de elétrons num tubo de raios catódicos (TRC). Para construir a imagem completa, o feixe de elétrons é varrido sobre uma área da superfície da amostra enquanto que um feixe no TRC é varrido sincronicamente sobre um Lastro geometricamente similar.

A microscopia eletrônica de varredura - MEV, possibilita a observação e registro de imagens tridimensionais de uma amostra a ser examinada, quando a

amostra é irradiada com a emissão de um fino feixe de elétrons primários. Superfícies finas seriam atravessadas pelo feixe de elétrons. A imagem formada seria composta pelo sinal (elétrons secundários) emitido pela superfície fina da amostra e pela superfície do suporte onde ela foi fixada. Uma voltagem aceleradora alta demais pode ainda ter outra conseqüência: o feixe de elétrons primário pode penetrar profundamente, abaixo da superfície, aumentando a zona de excitação primária em profundidade e diâmetro. Isso resultaria em uma perda de detalhes estruturais da superfície observada, dada ao aumento na geração adicional de sinais. A voltagem aceleradora, portanto, é um dos fatores de grande importância para a resolução em MEV. Além disso, salienta-se o fato de que alta voltagem aceleradora pode ser danosa para amostras delicadas, pois pode promover seu aquecimento. Uma conseqüência comum, nesse caso, é o aparecimento de rachaduras na superfície da amostra, se bem que este problema pode também ter outras causas [Louthan Jr., 1992; Chinaglia, 1999].

No presente trabalho a Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada num microscópio JEOL-JSM, modelo T-330 A, acoplado a um sistema de análise espectroscópica por energia dispersiva de raios X - EDX e a uma câmara fotográfica, do Instituto de Química – Unesp - Araraquara.

4.2.2.1 Espectrometria por Dispersão de Energia de raios X - EDX

O espectrômetro de EDX trabalha sobre o princípio de que a energia de um fóton (E) está relacionada com a freqüência da onda eletromagnética (ν), pela relação $E = h\nu$, onde h é a constante de Planck. A equação de Moseley, $\nu^{1/2} \alpha$ Z-C pode ser formulada em termos de energia $(E/h)^{1/2}$ = Z-C e portanto a medida da

energia de um fóton identifica o elemento considerado; na relação, C é uma constante.

O EDX possibilita a observação do espectro inteiro de raios X de modo simultâneo, o que permite a análise qualitativa rápida dos constituintes principais da amostra. Para a análise de elementos leves, o EDX tem condições de detectar raios X de elementos de número atômico acima de 5.

4.2.3 Difratometria de Raios X – DRX

Quanto à natureza e geração dos raios X, pode-se dizer que estes são uma porção do espectro eletromagnético com comprimento de onda de 10^{-10} a 10^{-8} m (1 a 100 Å), embora somente o intervalo de 0,3 a 2,5 Å seja utilizado para a difração de raios X. Como uma radiação eletromagnética, os raios X têm propriedades de ondas e de partículas. A derivação de todos os fenômenos de dependências angulares baseia-se nas características de suas ondas. Todavia, detectores eletrônicos medem as propriedades dos fótons, cujas medidas das intensidades são registradas como contagem por segundo.

As técnicas de difração de raios X são muito utilizadas na caracterização de materiais cristalinos, tais como metais, compostos intermetálicos, cerâmicas, minerais, polímeros, plásticos ou outros compostos orgânicos ou inorgânicos. As técnicas de difração podem ser usadas para identificar as fases presentes nas amostras de materiais inicialmente não-refinados a produtos acabados e fornecer informações sobre o estado físico das amostras, tais como o tamanho de grão, textura e perfeição cristalina. Muitas das técnicas de difração de raios X são rápidas e não destrutivas; alguns instrumentos são portáteis e podem ser transportados com as amostras.

Em geral, as análises por raios X são restritas a materiais cristalinos, embora algumas informações possam ser obtidas em sólidos amorfos e líquidos.

As amostras são aceitáveis sob muitas formas, dependendo da disponibilidade do material e do tipo de análise a ser desempenhada.

Esta técnica cobre várias investigações, incluindo análises de fases qualitativas e quantitativas, determinação da cristalinidade, micro-identificação, determinação de parâmetros de rede, caracterização de filmes finos, e em alguns casos, análise da estrutura do cristal [Cullity, 1978; Dieter, 1961].

Neste trabalho, utilizou-se um difratômetro de raios X SIEMENS D5000 com varredura angular entre 10 e 70º, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu ($k\alpha 1$) com passo de 0,05 (2θ), sendo que o tempo de passo foi de 1.0 segundos para cada amostra. A identificação das fases presentes foi realizada comparando-se os dados obtidos com as fichas padrões da base de dados mantidas pelo JCPDS – International Center for Diffraction Data [Joint, 2003].

4.2.4 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier - FTIR

O espectro de infravermelho se estende do limite superior da faixa do micro-ondas até o começo da região visível, em um comprimento de onda compreendido entre 0,7μm e 500 μm (14000 cm^{-1} e 20 cm^{-1}, respectivamente). A banda espectral mais utilizada corresponde ao infravermelho médio que cobre as freqüências de 50 μm e 2,5 μm (200 cm^{-1} e 4000 cm^{-1}) [Williard, 1979; Taddei, 2001].

A caracterização por infravermelho envolve radiação que promove transições nas moléculas, entre os níveis de energia rotacional e vibracional, a partir do menor estado de energia atômica. Em uma molécula diatômica tem-se apenas vibração de estiramento (simétrico ou assimétrico), e em moléculas com mais de dois átomos

não-lineares, tem-se 3n graus de liberdade, sendo: 3 rotacionais, 3 translacionais e 3n-6 vibracionais. Cada grau tem uma banda de freqüência fundamental característica, e cada modo vibracional está dividido em dois tipos distintos: vibração de estiramento, a qual ocorre quando há uma mudança na distância interatômica entre dois átomos, e de deformação, que ocorre quando existe uma mudança no ângulo de ligação entre dois átomos [Nakamoto, 1999].

O equipamento utilizado neste trabalho foi o fabricado pela empresa Perkin Elmer, FT-IR Spectrometer-Spectrum 2000 de reflectância difusa Drift Collector, instalado no Instituto de Química – Unesp - Araraquara.

Para a interpretação das bandas de absorção obtidas para os grupos presentes nos recobrimentos de apatitas, utilizou-se dados da literatura [Barrere, 1999; Silverstein, 1994; Stoch, 2000; Vercik, 2004], os quais são apresentados na tabela 16.

Tabela 16: Freqüências de absorção no IV características dos fosfatos de cálcio.

Grupos	Número de Ondas (cm^{-1})
PO_4^{3-}	474, 562, 580, 640 e 960-1200.
P-OH	527, 870 e 910-1040.
CO_3^{2-} (substituição do tipo A)	880, 1450 e 1514.
CO_3^{2-} (substituição do tipo B)	870, 1412 e 1465.
OH^- (livre)	630 e 3569.
OH^- (H_2O)	1600-1650 e 3000-3700.

Capítulo V

Resultados e Discussões

5.1 Caracterização do Ti c.p.

5.1.1 Análise Química

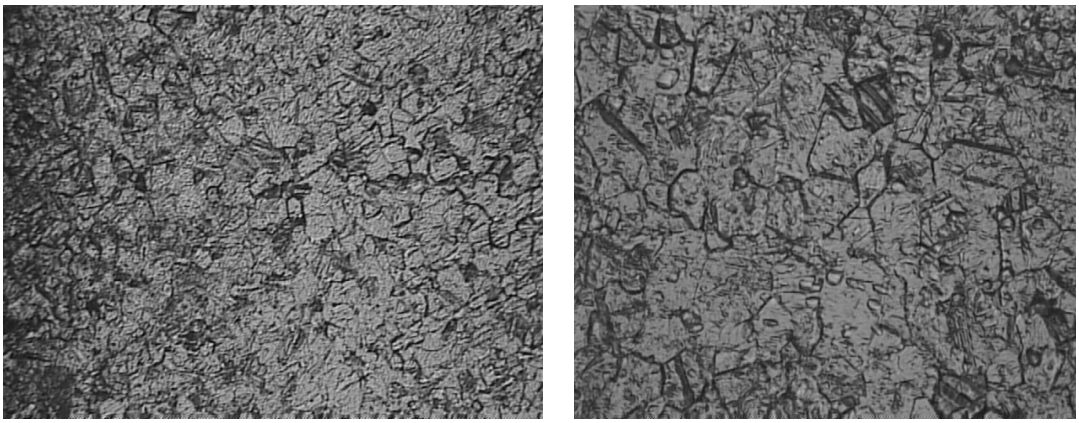
A tabela 17 apresenta a concentração máxima permitida de elementos intersticiais no Ti c.p., estabelecida pela norma ASTM F67 – 88 para biomateriais, e a composição química do Ti c.p. utilizado neste projeto. Conforme composição química, o Ti c.p. utilizado está dentro da especificação desta norma e pode ser empregado como biomaterial.

Tabela 17: Análise química do Ti c.p. utilizado e concentrações permitidas pela norma ASTM F67-88 (%m/m).

Elemento	N	C	H	Fe	O	Ti
ASTM F67 – 88 (%m/m)	0,03	0,10	0,015	0,30	0,25	balanço
Ti c.p. utilizado	0,005	0,013	0,003	0,08	0,13	balanço

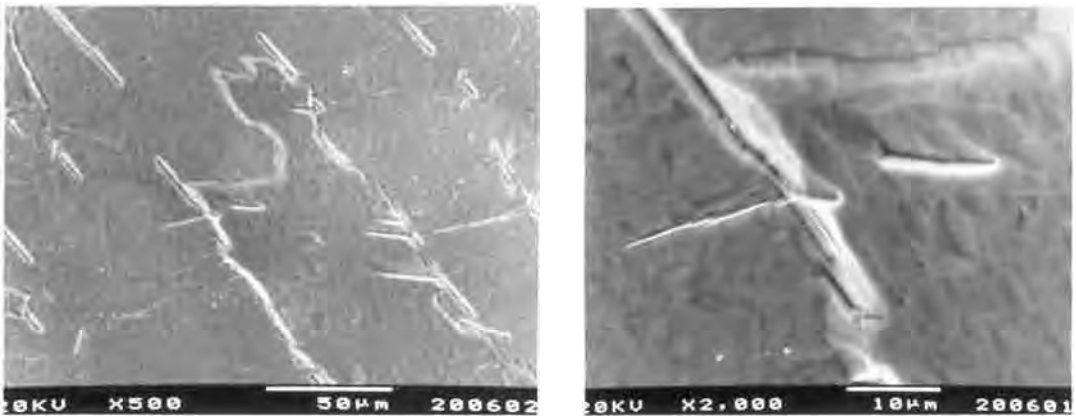
5.1.2 Análise Metalográfica

As figuras 11 e 12 apresentam a microestrutura do Ti c.p., após ser submetido a polimento e ataque químico com reagente de Kroll. Observa-se que o Ti c.p. apresenta uma estrutura granular equiaxial característica da fase alfa deste material.



a) **b)**

Figura 11 – Microestrutura do Ti c.p. a) MO 200X e b) MO 500X



a) **b)**

Figura 12 – Microestrutura do Ti c.p. a) MEV 500X e b) MEV 2000X

A figura 13 apresenta o espectro de energia dispersiva (EDX) obtido na região da figura 12a mostrando somente a presença do elemento Ti, pois os outros elementos intersticiais detectados por análise química estão abaixo do limite de detecção desta técnica.

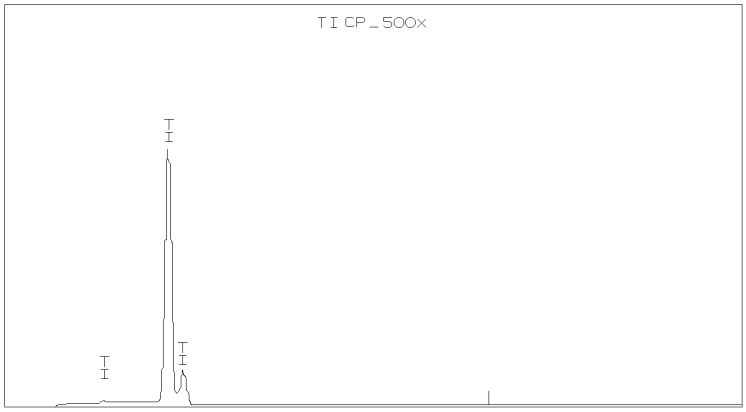


Figura 13: EDX do Ti c.p.

A figura 14 apresenta a comparação entre o DRX obtido para o Ti c.p. utilizado neste trabalho e o difratograma teórico do Ti de fase alfa, ficha padrão 44-1294 [Joint, 2003).

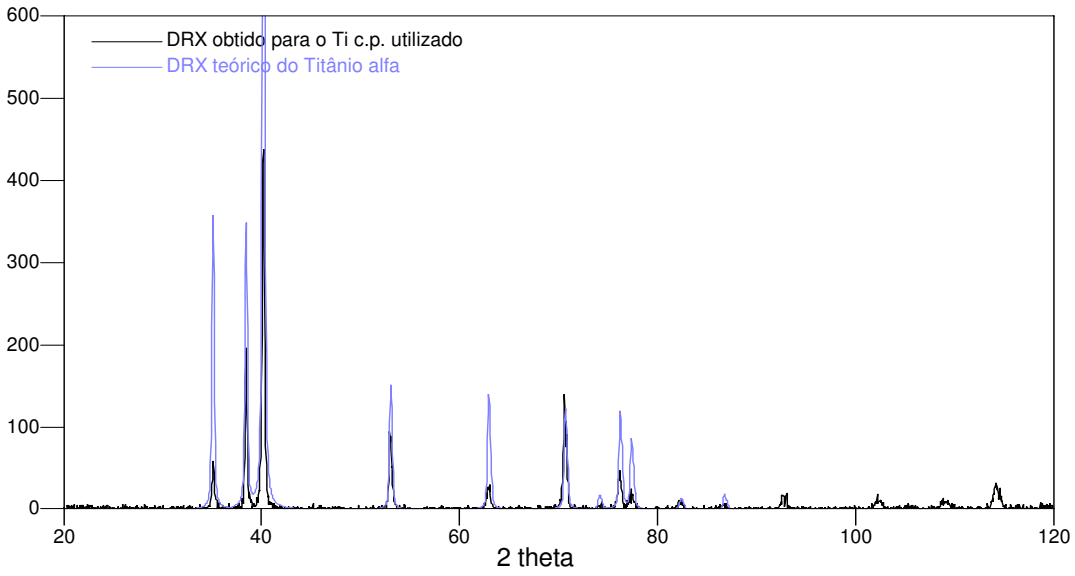


Figura 14: DRX do Ti c.p.

Pela análise das micrografias e do DRX obtidos, é possível concluir que o Ti c.p. apresenta em sua microestrutura predominantemente a fase alfa, como era esperado.

5.2 Modificação de Superfície do Ti c.p.

A modificação da superfície do Ti c.p. utilizando-se solução de NaOH 5M foi necessária devido à existência da camada protetora de óxido, TiO_2, que torna a superfície deste metal pouco reativa à deposição de apatitas.

A figura 15 apresenta a superfície do Ti c.p. após o tratamento químico com solução de NaOH 5M.

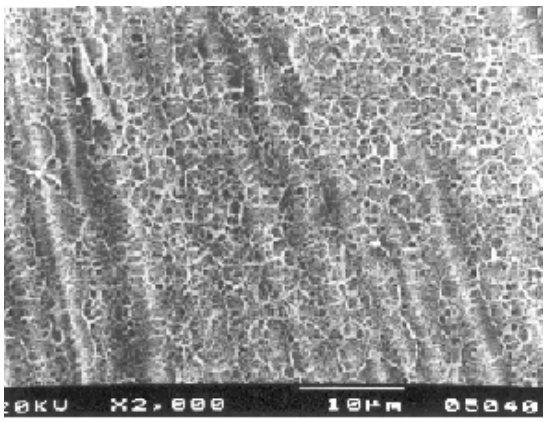


Figura 15: MEV com aumento de 2000X da superfície do Ti c.p. após ataque alcalino com NaOH 5M e tratamento térmico a 60ºC.

O tratamento alcalino do Ti c.p. leva à formação de uma camada de hidrogel de titanato de sódio, de acordo com as reações abaixo, que após o tratamento térmico a 60ºC por 3 horas, resulta em titanato de sódio amorfo, tornando a superfície do metal termodinamicamente estável e com atividade iônica adequada para induzir a deposição do filme biocerâmico.

Durante o tratamento alcalino, a camada de TiO_2 reage devido ao ataque químico do grupo OH^-, da seguinte forma:

$$TiO_2 + OH^- \rightleftharpoons HTiO_3^-$$

Esta reação ocorre simultaneamente com a hidratação do Ti c.p.:

$$Ti + 3OH^- \rightleftharpoons Ti(OH)_3^+ + e^-$$

$$4Ti(OH)_3^+ + 4e^- \rightleftharpoons 4TiO_2.H_2O + 2\ H_2\uparrow$$

Um ataque adicional do grupo OH^- ao TiO_2 hidratado produz hidratos negativamente carregados sobre a superfície do Ti c.p.:

$$TiO_2.nH_2O + OH^- \rightleftharpoons HTiO_3^-.nH_2O$$

Estas espécies carregadas negativamente combinam com os íons alcalinos da solução, resultando na formação de uma camada de hidrogel de titanato de sódio, que após tratamento térmico resulta em titanato de sódio amorfo [Kokubo, 1998; Vercik, 2003; Vercik, 2004]:

$$HTiO_3^-.nH_2O + Na^+ \rightleftharpoons NaHTiO_3.nH_2O$$

A figura 16 apresenta o DRX da superfície do Ti c.p. após tratamento alcalino e posterior tratamento térmico a 60ºC/3h, mostrando a presença de titanato de sódio sobre sua superfície.

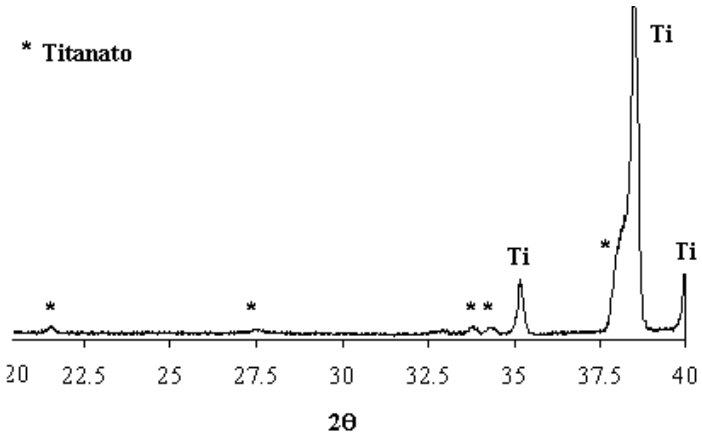


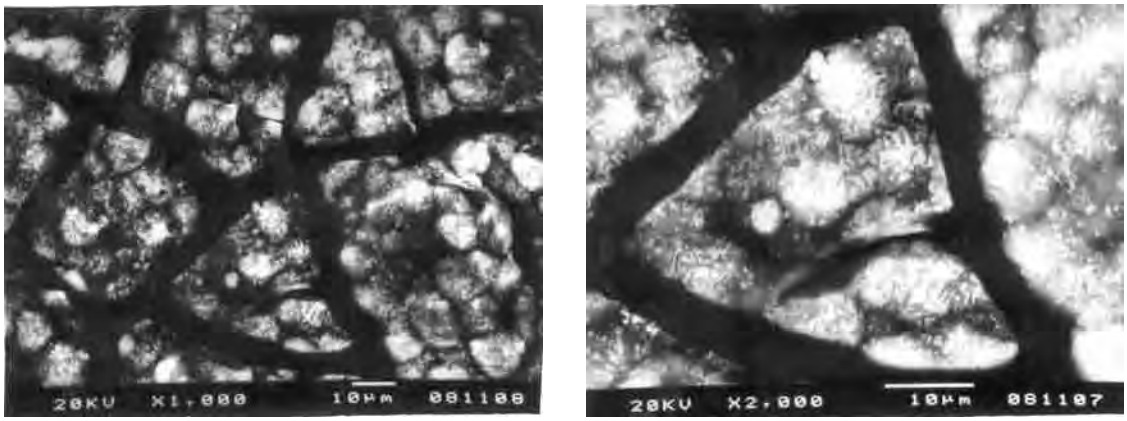
Figura 16: DRX do Ti c.p. após ataque alcalino com NaOH 5M e tratamento térmico a 60ºC.

5.3 Caracterização dos Recobrimentos:

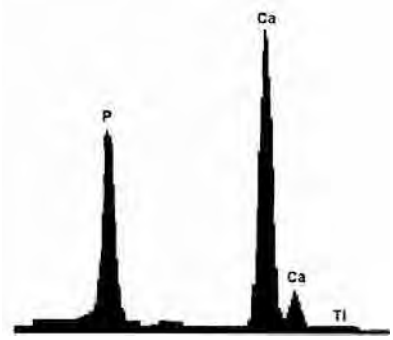
5.3.1 Recobrimento utilizando SBF 0:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 0	142.0	5.0	1.5	2.5	147.8	1.0	0.5	4.2

Por imersão em SBF 0, obteve-se sobre a superfície do Ti c.p. um recobrimento espesso, compacto e de grãos esféricos, com trincas de aproximadamente 10 μm. No EDX pode-se notar somente a presença dos elementos Ca e P numa razão de 1,45. A ausência do pico referente ao Ti indica que a camada formada é espessa. A figura 17 apresenta a morfologia e o EDX deste recobrimento.



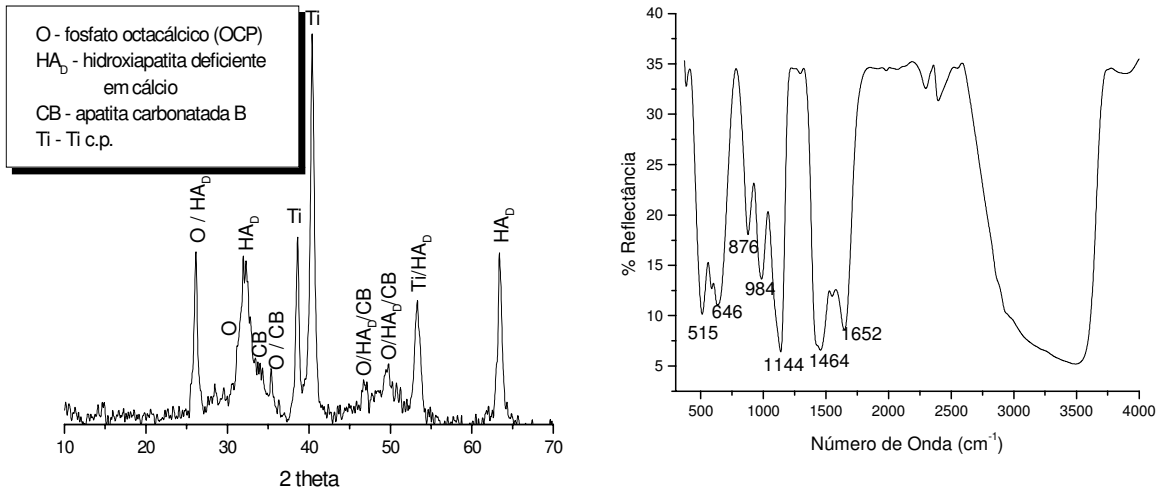
(a) **(b)**



(c)

Figura 17: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX.

A caracterização por DRX mostrou que o recobrimento é composto por uma mistura de fases correspondentes ao fosfato octacálcico (OCP) e à hidroxiapatita deficiente em cálcio (HA_D) – $Ca_{9,04}(PO_4)_6(OH)_{1,68}$, figura 18a. O espectro de IV mostrou bandas características de grupos PO_4 em 646, 984 e 1144 cm^{-1} e P-OH em 515 cm^{-1}. Além destas bandas, bandas características de apatita carbonatada do tipo B apareceram em 1464cm^{-1} além da banda em 876 cm^{-1} que pode ser atribuída também ao grupo P-OH, figura 18b. A banda em 1652cm^{-1} é devido à incorporação de moléculas de água.



(a) **(b)**

Figura 18: a) DRX e b) espectro de IV do recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0.

A cristalização de ACP em solução envolve um período de indução (t_{ACP}), o qual pode ser alterado mediante as condições de temperatura, pH e composição da solução. Traços dos íons Mg^{2+} e CO_3^{2-} reduzem significantemente este período. Após a cristalização, ocorre a hidrólise do ACP originando HA ou OCP, segundo o mecanismo [Kanazawa, 1989]:

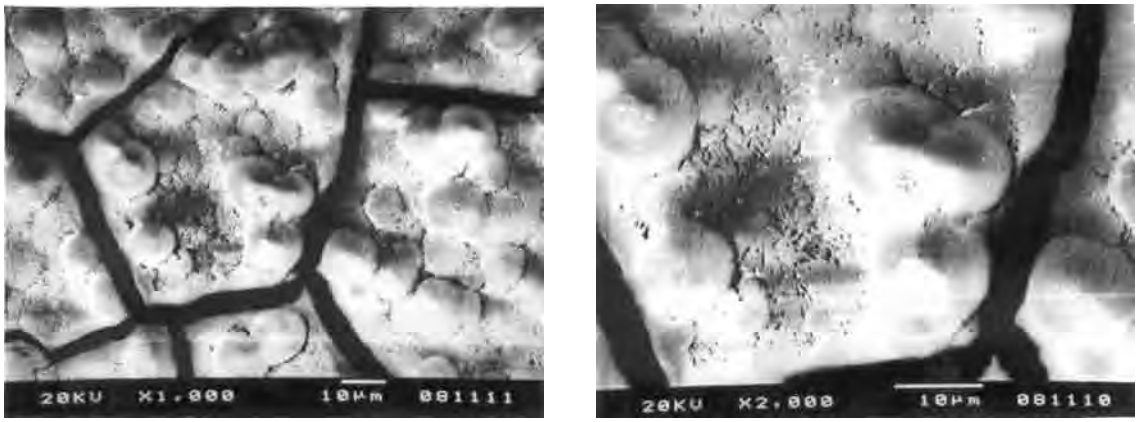
ACP → HA ou

ACP → OCP → HA_D (Ca/P < 1,67) → HA (Ca/P = 1,67)

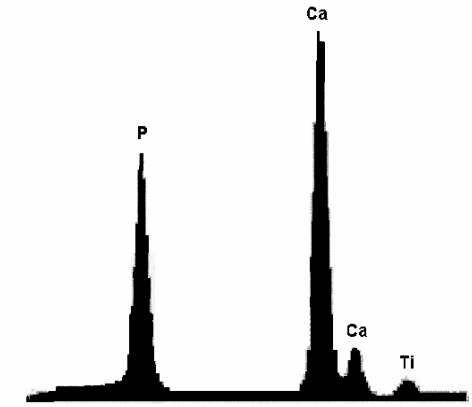
Desta forma, nota-se que a composição da solução SBF 0 possibilitou a completa cristalização do ACP e, conseqüentemente, sua completa conversão a OCP e HA deficiente em cálcio.

A morfologia, composição e espessura do recobrimento não foram significantemente alteradas pelo tratamento térmico a 800ºC, como pode ser visto nas figuras 19a e 19b. Por DRX observou-se picos referentes a HA, β-fosfato tricálcico (β-TCP), apatita carbonatada do tipo A e também do composto β-$Ca_{2,81}Mg_{0,19}(PO_4)_2$, denominado de TCP substituído por magnésio, figura 20a. De acordo com Mayer et al. [1997], a formação de TCP substituído por Mg^{2+} ocorre quando a razão molar Mg/Ca da solução é superior a 0,05, e após tratamento térmico do recobrimento. A formação de β-TCP ocorreu a partir da transformação de HA deficiente em cálcio [Kanazawa, 1989].

O espectro de IV mostrou além das bandas referentes aos grupos PO_4 (em 466, 581, 960 e 1182 cm^{-1}) e P-OH (em 890 e 1104 cm^{-1}), bandas referentes à apatita carbonatada do tipo A (em 1500 cm^{-1}) e do grupo OH da HA (em 630 e 3579 cm^{-1}). O aparecimento destas últimas bandas mostra que a substituição do íon OH^- pelo carbonato não foi completa, figura 20b .

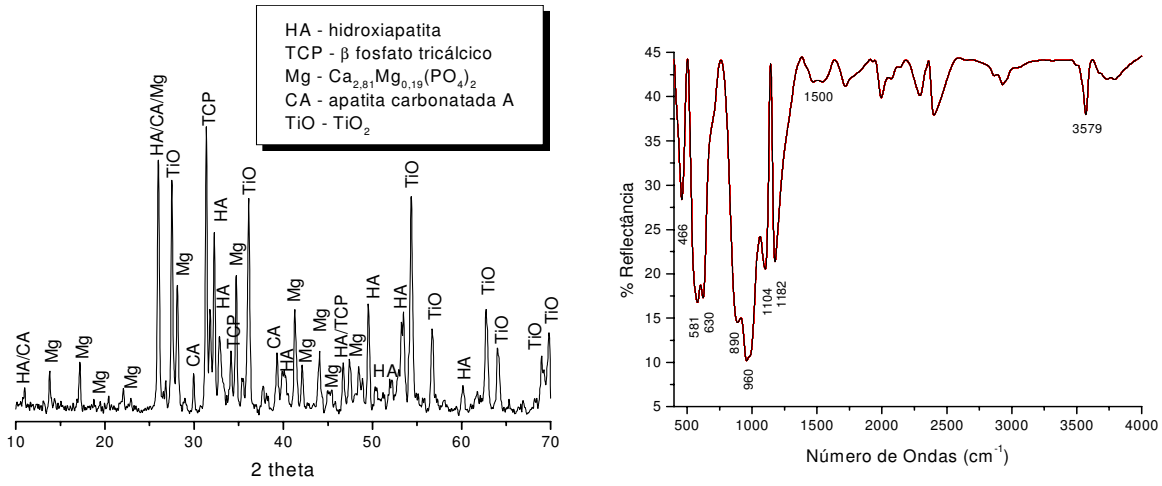


(a) **(b)**



(c)

Figura 19: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0 após tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX.



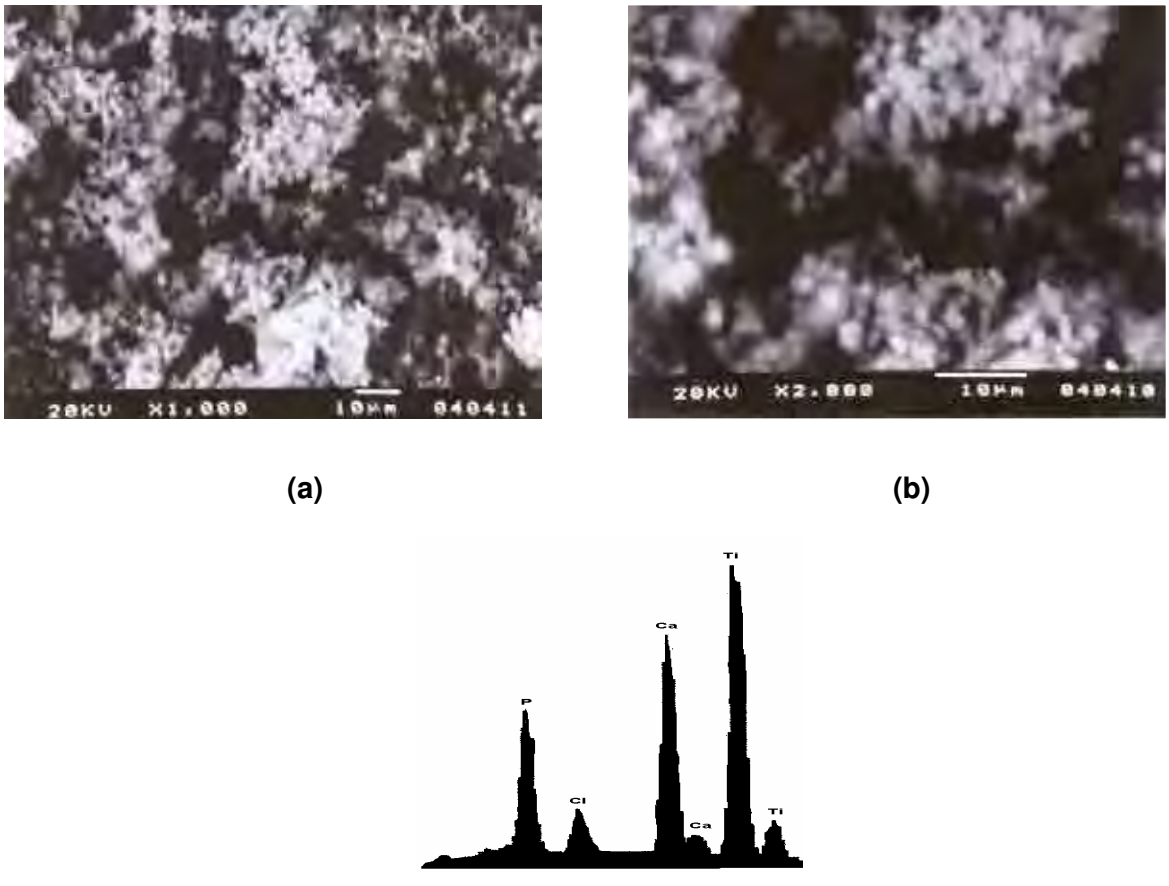
(a) **(b)**

Figura 20: a) DRX e b) espectro de IV do recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 0 e posterior tratamento térmico a 800ºC.

5.3.2 Recobrimento utilizando SBF 1:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 1	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	-	-

O recobrimento obtido por imersão em SBF 1 apresentou morfologia característica do ACP, composta por grãos esféricos [Kanazawa, 1989], figuras 21a e 21b. Por EDX, nota-se que a presença dos elementos Ca e P se deu numa razão de 1,4. A presença de picos de Ti mostra que a espessura deste recobrimento é inferior à obtida por imersão em SBF 0, figura 21c.



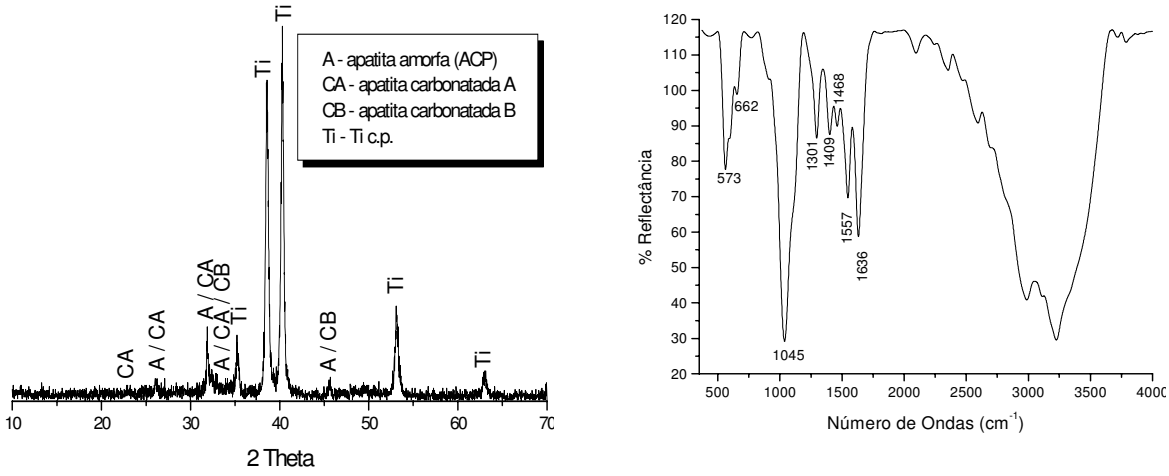
(a) **(b)**

(c)

Figura 21: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX.

Por DRX observou-se que somente a fase ACP estava presente no recobrimento, devido à composição da solução que não possibilitou a diminuição do período de indução (t_{ACP}) necessário à cristalização completa desta fase e, conseqüentemente, sua posterior conversão, figura 22a. O espectro de IV confirmou os resultados obtidos por DRX, pois apresentou bandas características dos grupos PO_4 (em 662 e 1301 cm^{-1}), P-OH (em 1045 cm^{-1}) e da fase amorfa de fosfato de cálcio (em 573 cm^{-1}). Além destas bandas, o recobrimento apresentou bandas referentes à apatita carbonatada tanto do tipo A (em 1557 cm^{-1}) quanto do tipo B (em

1409 e 1468 cm^{-1}), caracterizando então uma apatita carbonatada do tipo AB [Vercik, 2004], figura 22b.

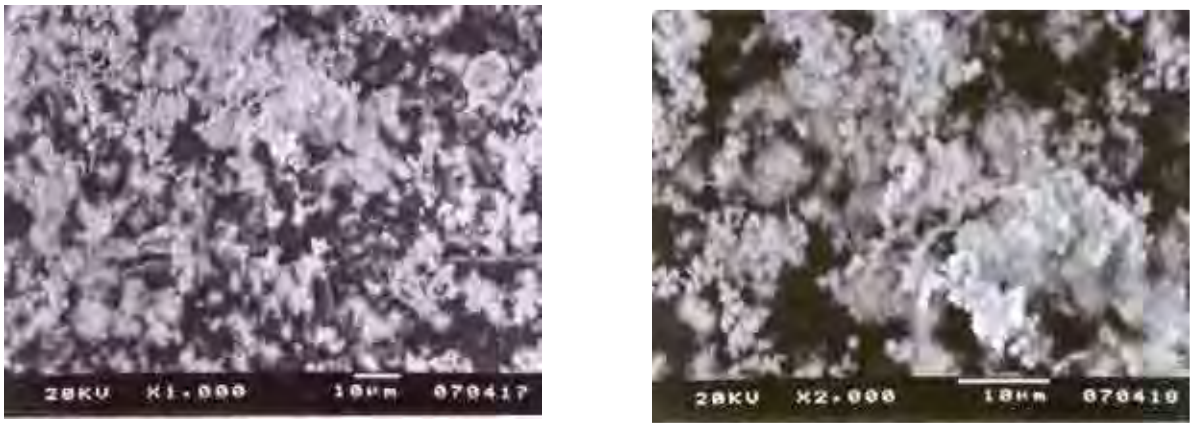


(a) **(b)**

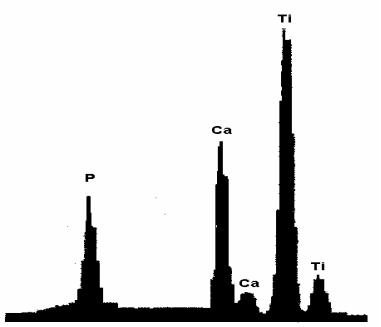
Figura 22: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1: a) DRX e b) espectro de IV.

Mesmo a solução SBF 1 não contendo o íon CO_3^{2-} em sua composição, a presença de apatita carbonatada no recobrimento é possível pela reação entre os íons OH^- da apatita com CO_2 do ar, durante o período de imersão, segundo à seguinte reação: $2OH^-_{(apatita)} + CO_{2(ar)} \rightarrow CO_3^{2-}{}_{(apatita)} + H_2O$ [Kanazawa, 1989].

A morfologia do recobrimento após o tratamento térmico a 800ºC apresentou alteração quanto ao tamanho e compactação dos grãos, figuras 23a e 23b. A razão Ca/P foi de 1,4 e a espessura da camada também não foi alterada, como pode ser visto pela presença do pico de Ti no EDX, figura 23c.



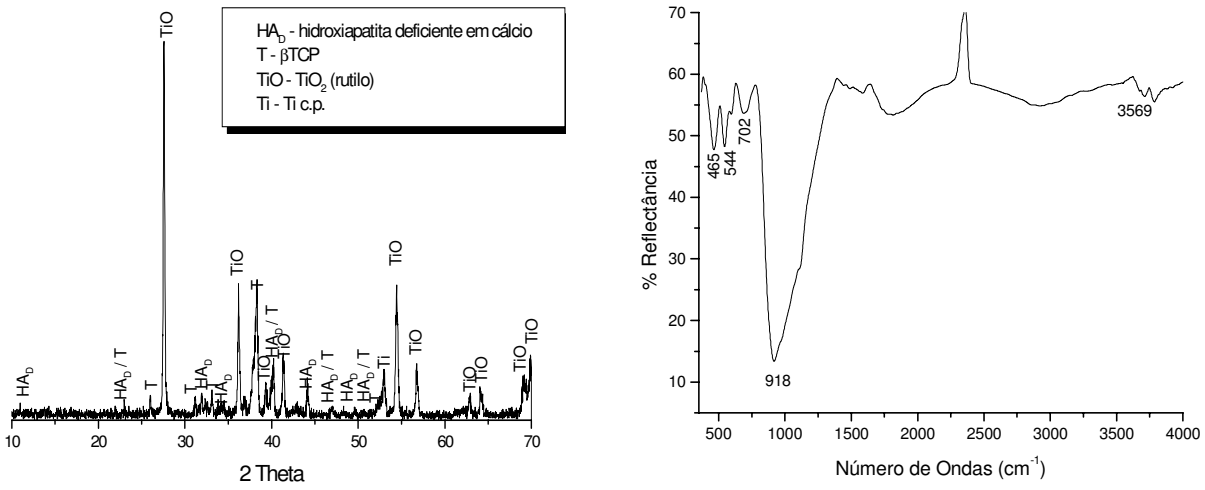
(a) **(b)**



(c)

Figura 23: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1 e posterior tratamento térmico a 800ºC : a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX.

Por análise de DRX, figura 24a, observou-se que o recobrimento é composto de HA deficiente em cálcio e β-TCP, pois o tratamento térmico possibilitou a transformação ACP → OCP → HA deficiente em cálcio e HA deficiente em cálcio → β-TCP [Kanazawa, 1989]. O espetro de IV apresentou bandas referentes aos grupos PO_4 (em 465 e 544 cm^{-1}) e P-OH (em 918 cm^{-1}), figura 24b. A banda em 3569 cm^{-1} é referente ao OH^- da apatita.



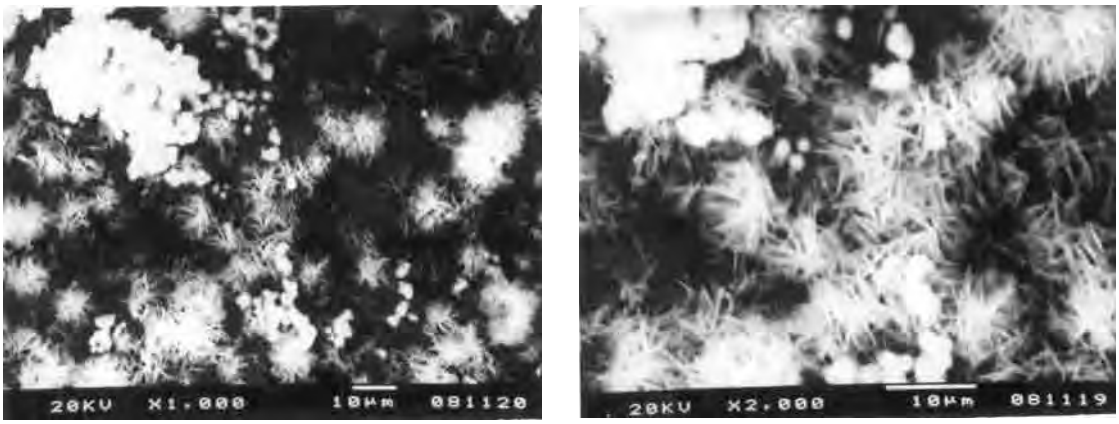
(a) **(b)**

Figura 24: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 1 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) DRX e b) espectro de IV.

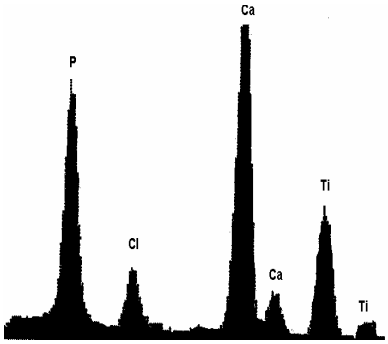
5.3.3 Recobrimento utilizando SBF 2:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 2	140.4	-	1.0	3.1	142.9	1.86	-	-

Por imersão em SBF 2, obteve-se um recobrimento com morfologia característica das fases ACP e OCP, este último caracterizado por cristais orientados perpendicularmente semelhante à agulhas, figuras 25a e 25b [Barrere, 1999; Graham, 1996; Dekker, 2005]. A razão Ca/P foi de 1,35, podendo-se notar ainda por EDX, que a espessura desta camada é superior à obtida por imersão em SBF1, figura 25c.



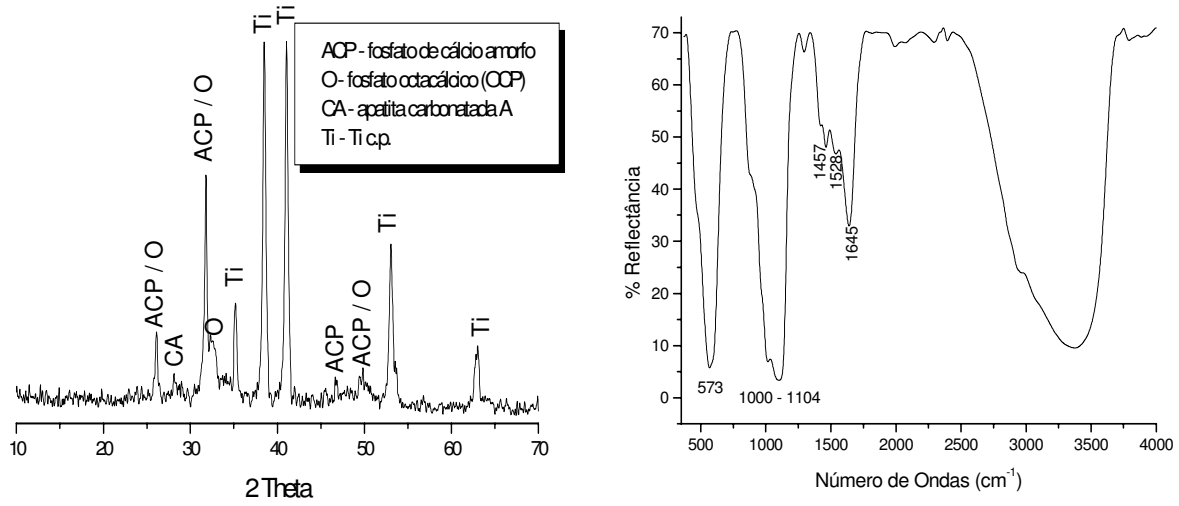
(a) **(b)**



(c)

Figura 25: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X e c) EDX.

Por DRX, observou-se somente a presença das fases ACP e OCP, figura 26a. O espectro de IV apresentou bandas características dos grupos P-OH no intervalo de 1000-1104 cm^{-1} e PO_4 em 573 cm^{-1}, que pode ser também atribuída à fase amorfa de fosfato de cálcio, confirmando os resultados obtidos por DRX. Bandas de apatita carbonatada do tipo A apareceram em 1457 e 1528 cm^{-1}, figura 26b. A banda em 1645 cm^{-1} é referente às moléculas de água incorporadas.



(a) **(b)**

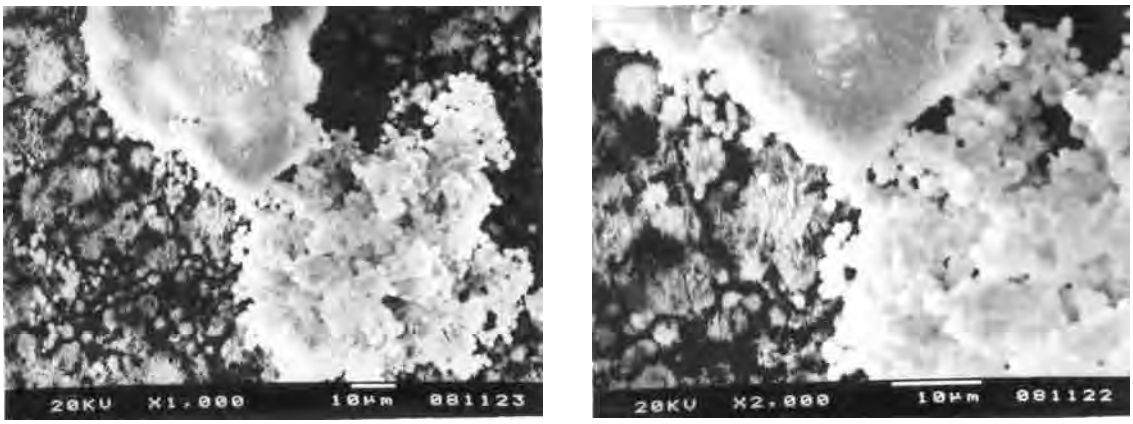
Figura 26: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2: a) DRX e b) espectro de IV.

Utilizando-se esta solução, a formação de OCP foi ocasionada pela presença do íon Mg^{2+} o qual possibilitou a cristalização completa do ACP e sua transformação parcial a OCP.

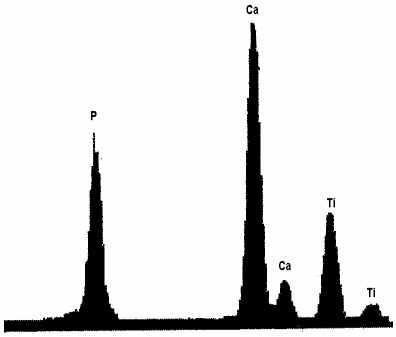
Os resultados obtidos por DRX do recobrimento após o tratamento térmico mostram uma mistura de fases de β- TCP, TCP substituído por magnésio - $Ca_{2,59}Mg_{0,41}(PO_4)_2$, fosfato de magnésio [$Mg_3(PO_4)_2$] e OCP, figura 27d, podendo-se notar por MEV a permanência dos cristais característicos desta última fase, figuras 27a e 27b. O aparecimento de fosfato de magnésio acarretou a ausência de HA ou HA deficiente em cálcio, pois este composto, que possui temperatura de cristalização a partir de 600ºC [Vercik, 2003], apresenta o papel de inibidor da conversão de fosfatos de cálcio a HA, atuando como inibidor da hidrólise do OCP [Kanzaki, 2000; Kanzawa, 1989]. De acordo com Barrère et all. [1999], Mg^{2+} inibe o

crescimento de HA, pois complexa mais facilmente com os íons PO_4^{3-} que os íons Ca^{2+}.

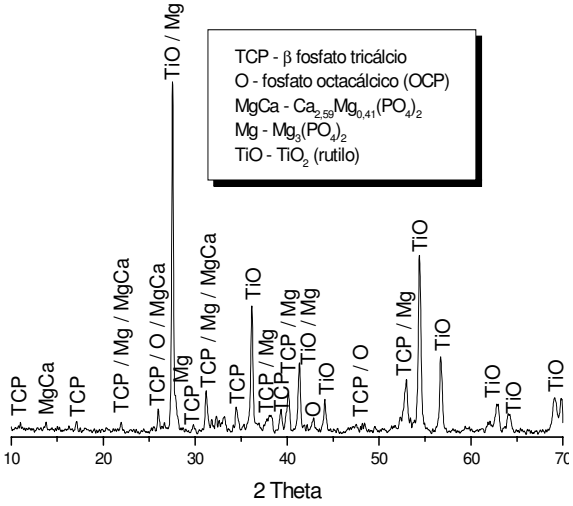
A razão Ca/P foi de 1,50, figura 28c. O espectro de IV apresentou bandas referentes aos grupos PO_4 em 475 e 554 cm^{-1}, P-OH em 1055 cm^{-1} e apatita carbonatada do tipo B em 1468 cm^{-1}, figura 27e.

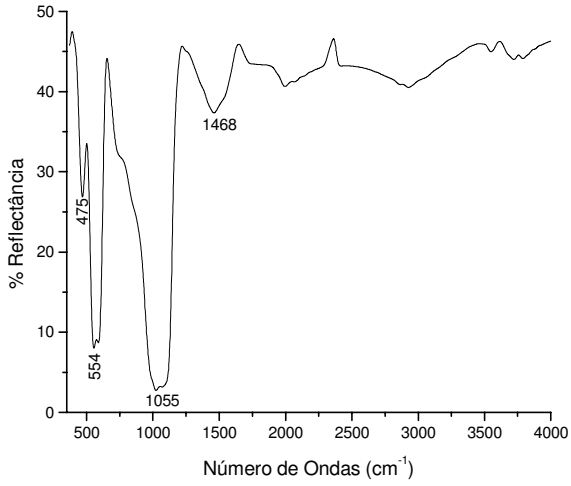


(a) **(b)**



(c)





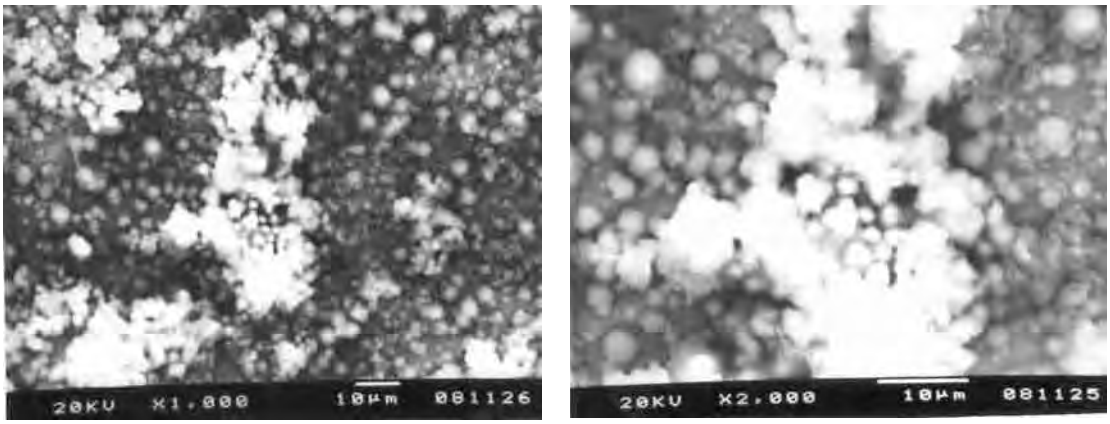
(d) **(e)**

Figura 27: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 2 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

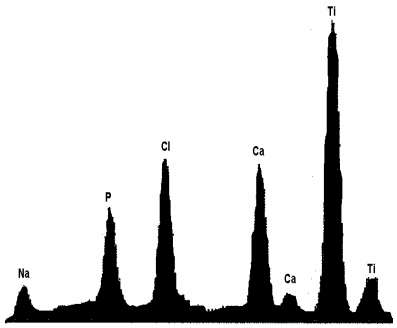
5.3.4 Recobrimento utilizando SBF 3:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 3	140.4	1.0	-	3.1	142.9	1.86	-	-

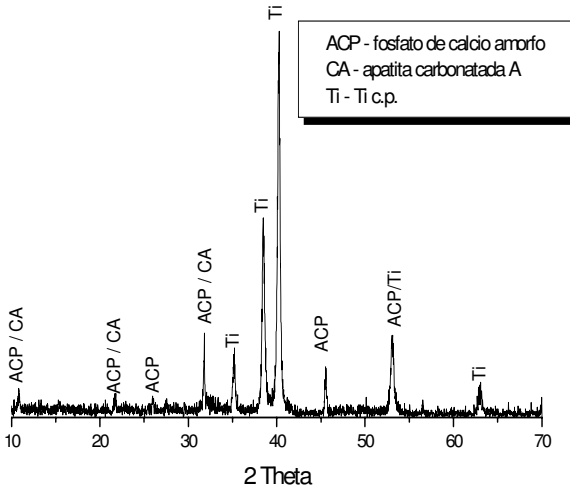
O recobrimento obtido por imersão em SBF 3 apresentou morfologia predominante da fase ACP, apresentada na figuras 28a e 28b, resultado este confirmado por DRX, figura 28d. A razão Ca/P foi de 1,42, figura 28c. O espectro de IV apresentou bandas características dos grupos P-OH em 1016 cm^{-1}, PO_4 em 562 cm^{-1}, que pode ser atribuída também à fase amorfa de fosfato de cálcio, e apatita carbonatada do tipo A em 1457 e 1528 cm^{-1}, figura 28e. A banda em 1636 cm^{-1} é devido à incorporação de moléculas de água.



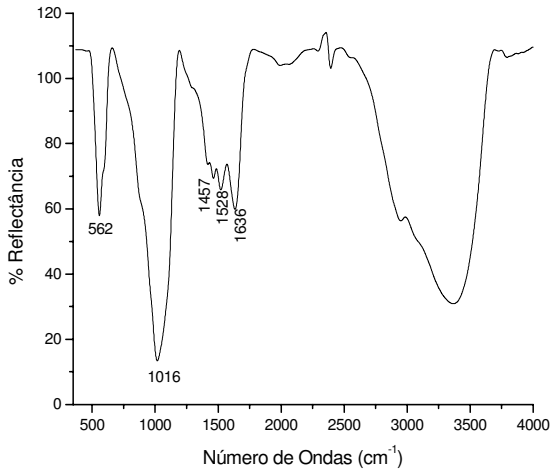
(a) **(b)**



(c)



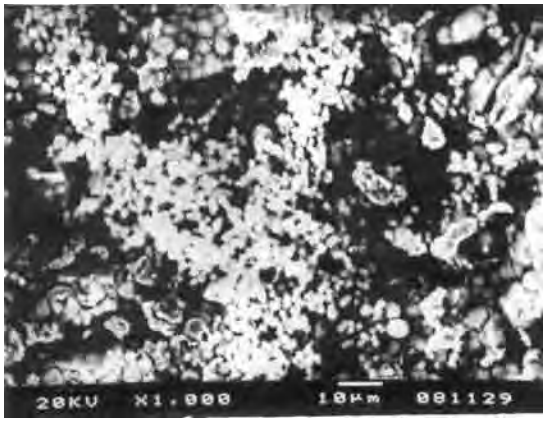
(d)



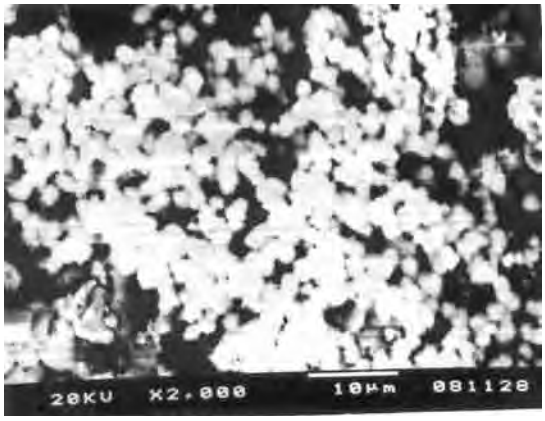
(e)

Figura 28: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 3: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

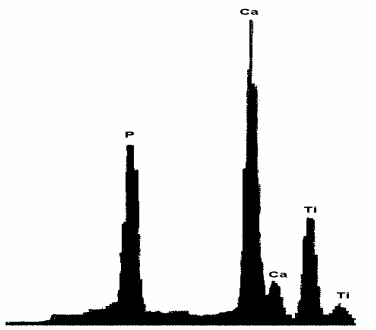
A morfologia do recobrimento após tratamento térmico apresentou alteração quanto ao tamanho e compactação dos grãos, figuras 29a e 29b. A razão Ca/P obtida foi de 1,53, figura 29c. Os resultados de DRX mostraram a presença de HA deficiente em cálcio, ACP e β-TCP, devido à transformação parcial de ACP a HA deficiente em cálcio e desta última a β-TCP possibilitada pelo tratamento térmico, figura 29d. O espectro de IV apresentou bandas características dos grupos PO_4 em 475 cm^{-1}, P-OH em 918 cm^{-1} e OH da HA em 635 cm^{-1}, figura 29e.



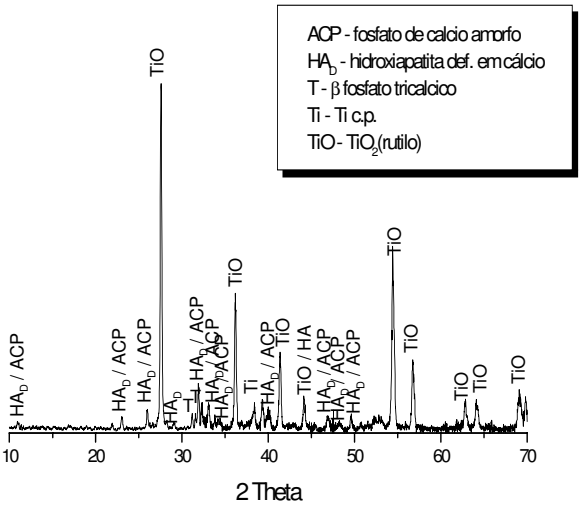
(a)



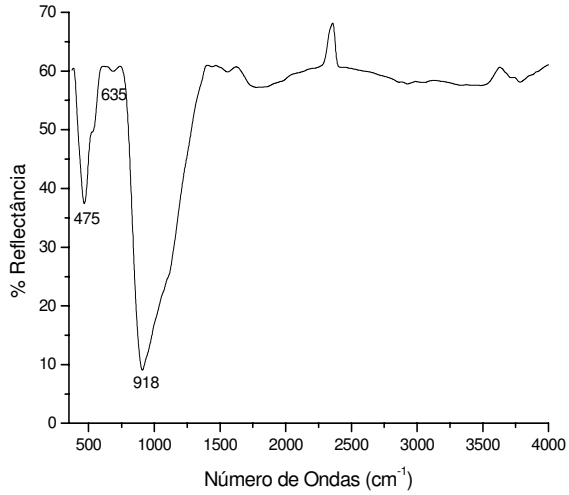
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 29: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 3 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

5.3.5 Recobrimento utilizando SBF 4:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 4	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	1.0	-

Por imersão em SBF 4 obteve-se um recobrimento composto por grãos esféricos característicos da fase ACP, figuras 30a e 30b. A razão Ca/P foi de 1,5, figura 30c. Os resultados do DRX confirmaram a presença majoritária ACP e também de apatita carbonatada AB, figura 30d. O fenômeno de formação destas fases é semelhante ao ocorrido pela imersão das amostras em SBF 1, ou seja, a composição da solução não possibilitou a redução do período de indução (t_{ACP}) necessário para a cristalização completa de ACP e subseqüente transformação a outras fases. O espectro de IV exibiu bandas características dos grupos PO_4 (em 564 cm^{-1}), P-OH (em 1054 cm^{-1}) e apatita carbonatada do tipo A e B (em 1536 e 1468 cm^{-1}, respectivamente), figura 30e.

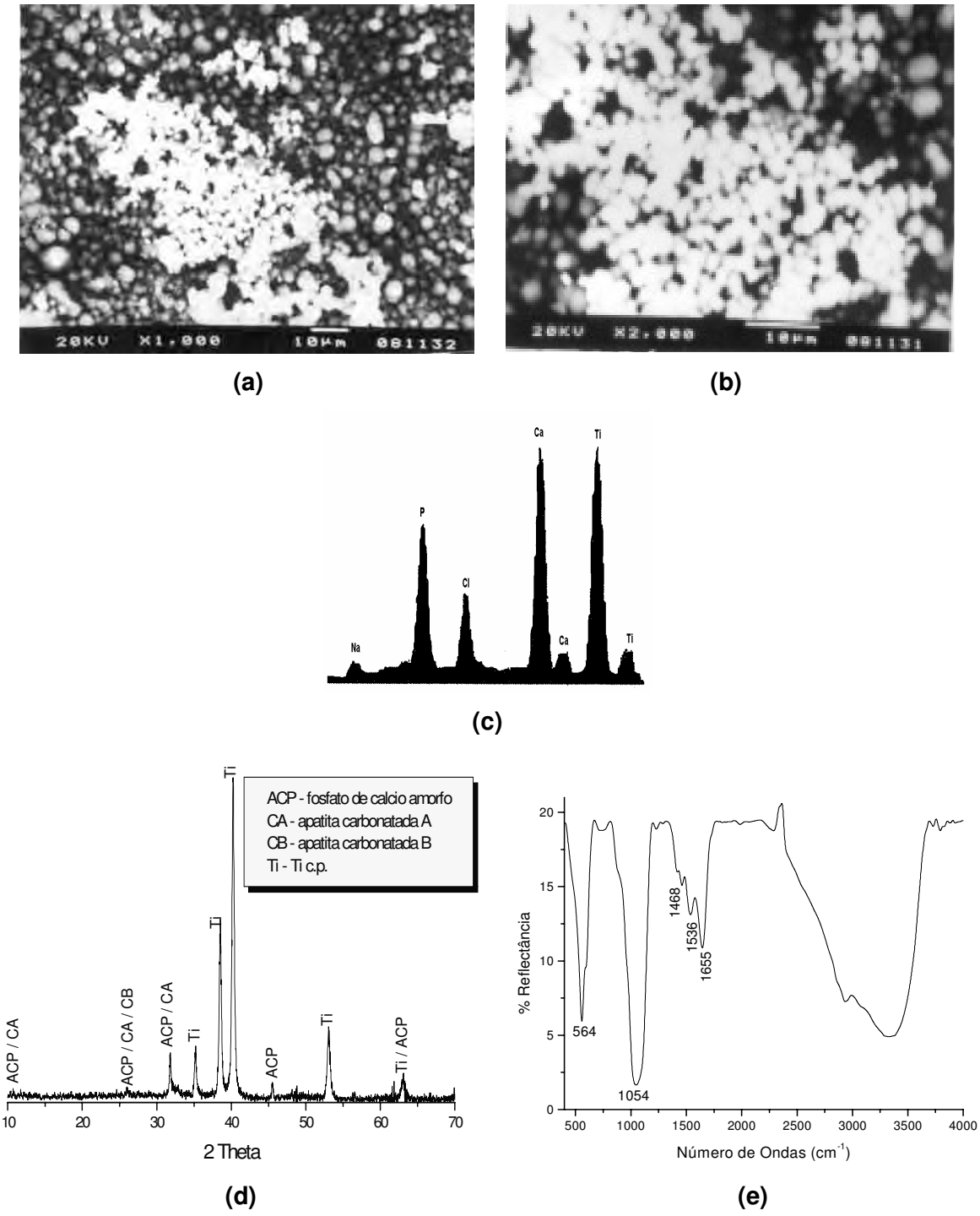


Figura 30: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 4: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

Após o tratamento térmico a 800ºC, ocorreu alteração na morfologia do recobrimento, o qual passou a ser composto pelas fases HA deficiente em cálcio e β-TCP, devido às transformações ACP → OCP → HA deficiente em cálcio e HA

deficiente em cálcio → β-TCP, propiciadas pela elevada temperatura. O espectro de IV apresentou bandas de PO_4 em 475 cm_{-1}, P-OH em 908 cm^{-1} e OH em 690cm^{-1}, figura 31.

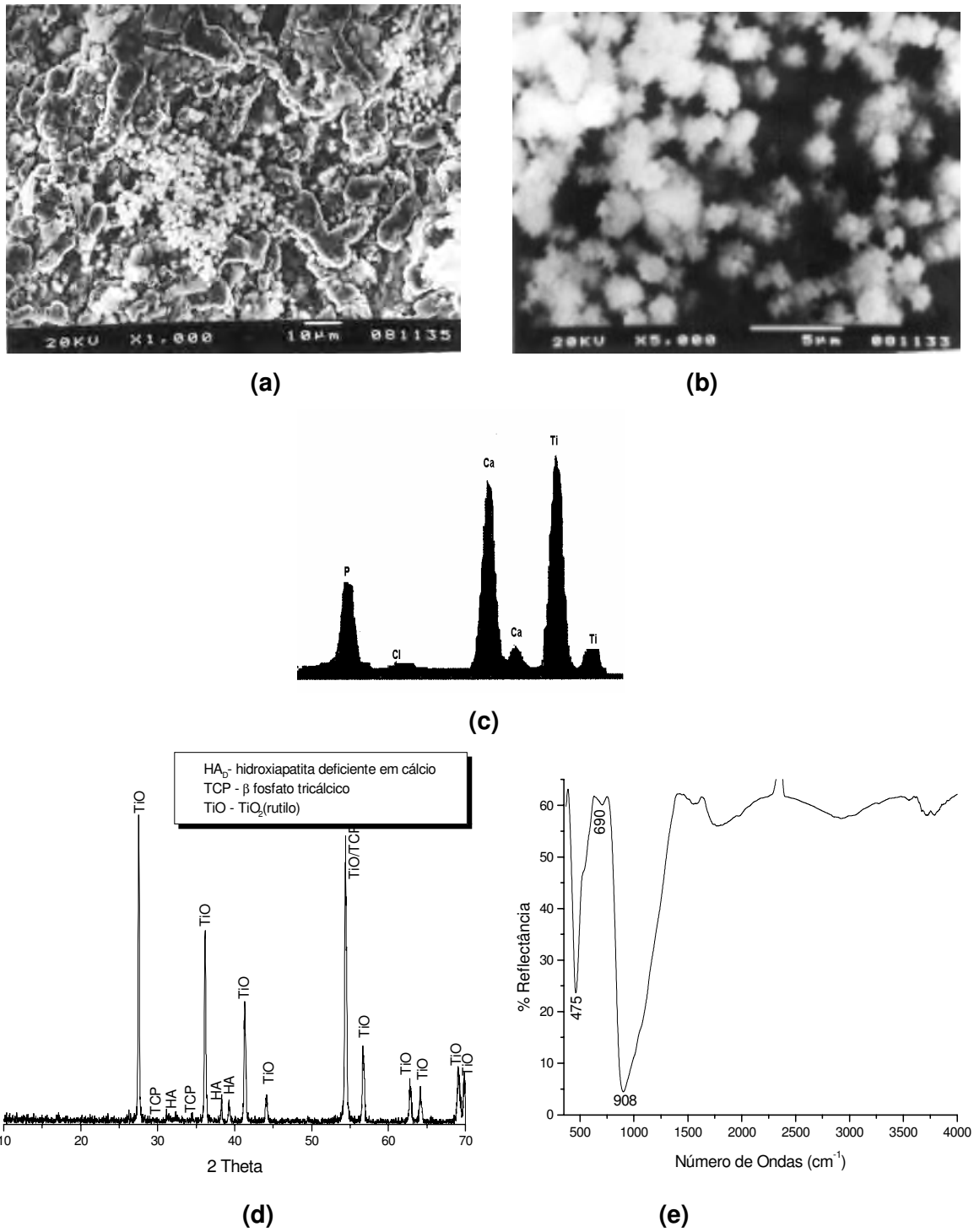


Figura 31: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 4 e posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 5000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

5.3.6 Recobrimento utilizando SBF 5:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 5	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	-	3.0

O recobrimento obtido pela imersão em SBF 5 apresentou morfologia características das fases ACP e OCP, ou seja, composto por grãos esféricos e cristais em forma de agulhas, figuras 32a e 32 Estas observações foram confirmadas pela análise do DRX, o qual apresentou picos característicos destas fases, figura 32d. A presença dos elementos Ca e P se deu numa razão de 1,46, figura 32c. O espectro de IV apresentou bandas dos grupos PO_4 em 465 e 593 cm^{-1}, P-OH em 944-1119 cm^{-1}, apatita carbonatada do tipo A em 1457 cm^{-1} e apatita carbonatada do tipo B em 870 cm^{-1}, que pode também ser atribuída ao PO_4, figura 32e.

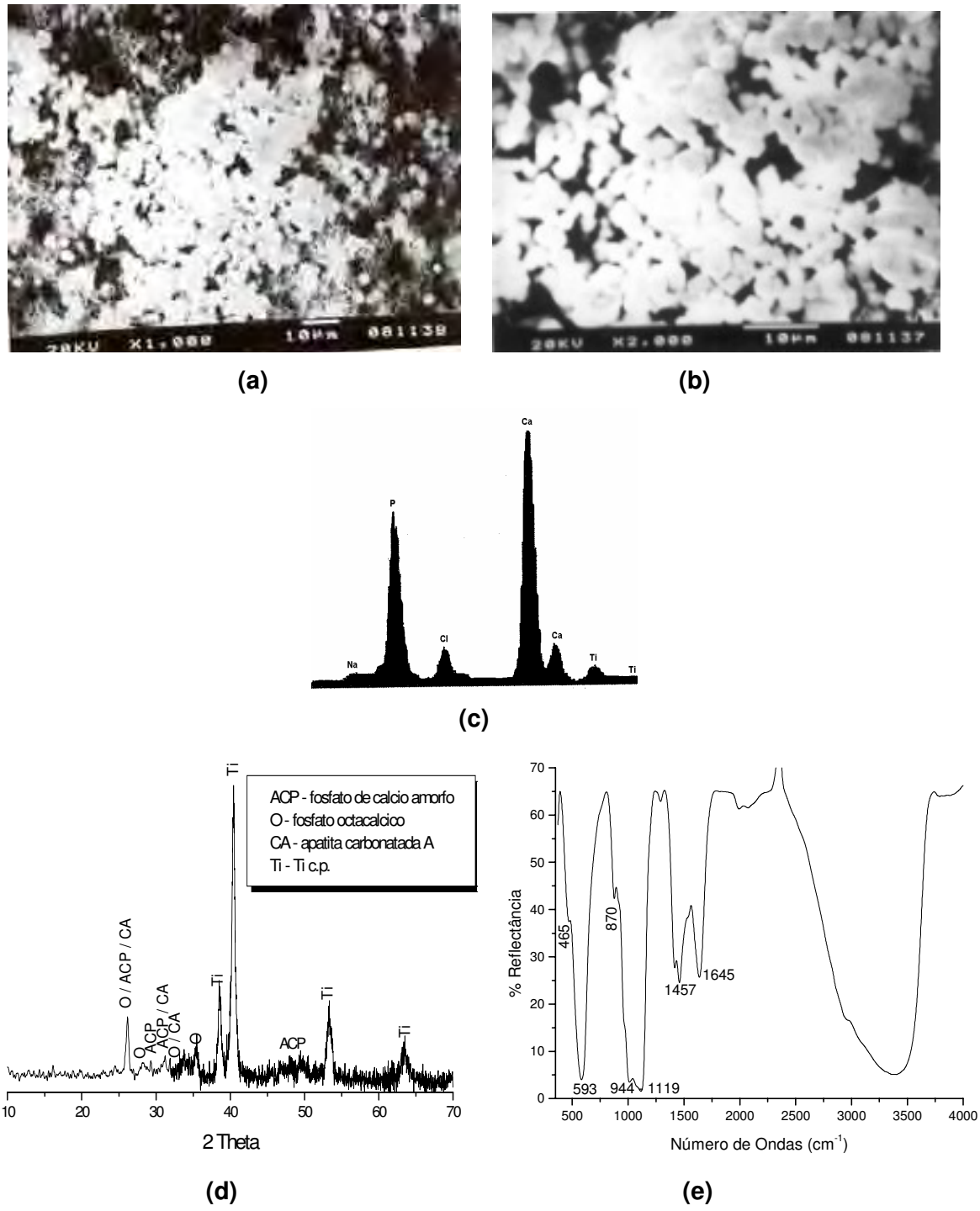


Figura 32: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 5: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

Além do Mg^{2+}, o íon CO_3^{2-} também diminui significantemente o período de indução (t_{ACP}) necessário para a cristalização do ACP e, dessa forma, também possibilita a transformação desta fase a OCP [Kanazawa, 1989].

Após o tratamento térmico, nota-se, pela análise da morfologia, que o recobrimento passa a ser composto majoritariamente pela fase OCP, contudo ainda apresentando partículas características da fase ACP, figuras 33a e 33b. Por EDX pode-se notar que o recobrimento obtido é espesso, devido ao pequeno pico referente ao Ti, figura 33c. Os resultados de DRX apresentam picos característicos das fases OCP, ACP e apatita carbonatada do tipo AB, figura 33d. Dessa forma, nota-se que a elevada temperatura possibilitou a transformação ACP → OCP, contudo não completamente. Além disso, a hidrólise do OCP a HA foi inibida pela presença do íon CO_3^{2-}, outro íon conhecido como inibidor do crescimento de HA [Fleisch, 1981].

O espectro de IV confirmou os resultados anteriores exibindo bandas características dos grupos PO_4 em 475 e 573 cm^{-1}, P-OH em 944-1095 cm^{-1} e apatita carbonatada do tipo A e B em, respectivamente, 880 e 1468 cm^{-1}, figura 33e.

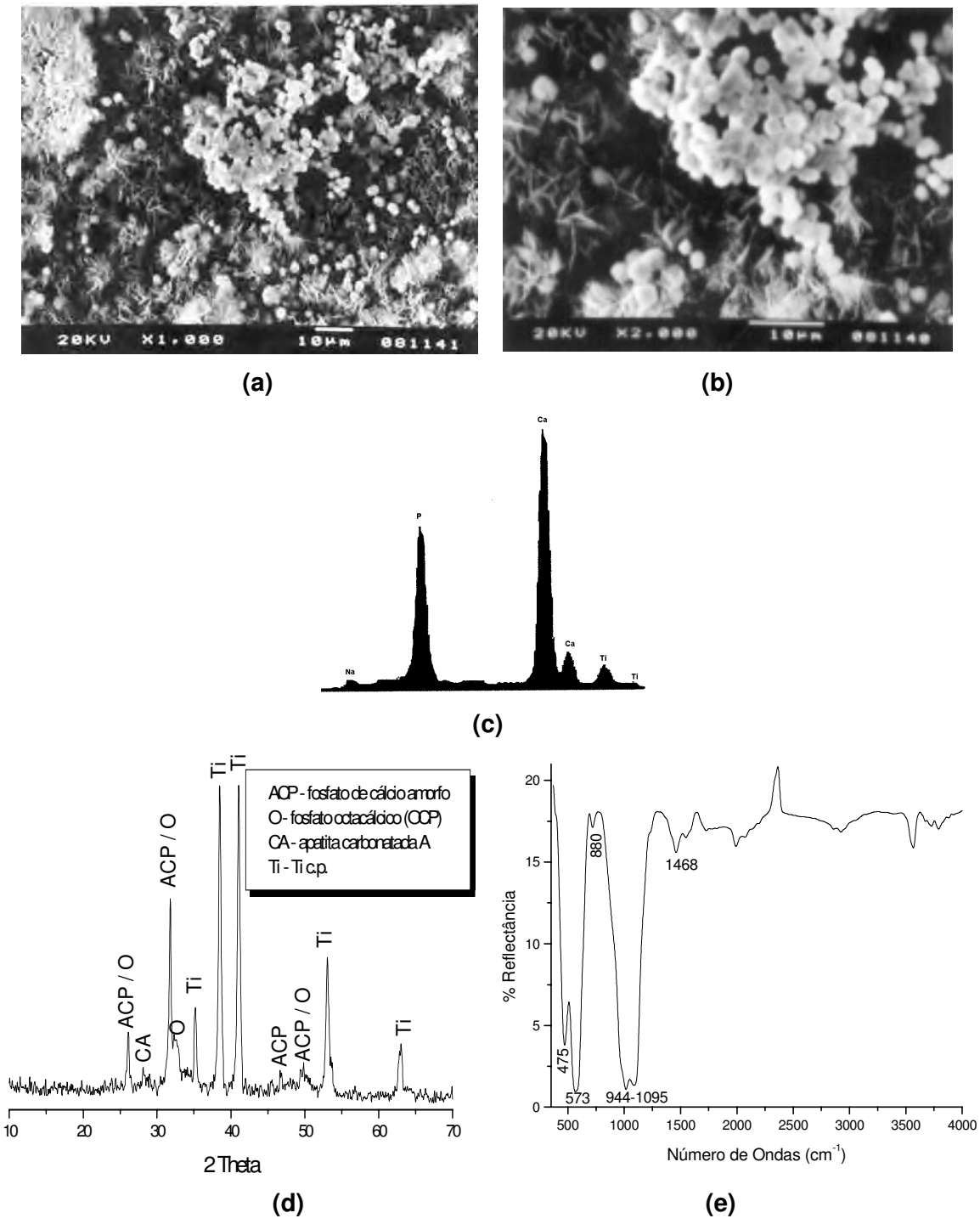


Figura 33: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 5 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

5.3.7 Recobrimento utilizando SBF 6:

	Na^+	K^+	Mg^{2+}	Ca^{2+}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	HCO_3^-
SBF 6	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	-	5.0

O recobrimento obtido por imersão nesta solução apresentou em sua morfologia aglomerados entre partículas esféricas maiores que aquelas características da fase ACP e agulhas características do OCP, figuras 34a e 34b. Por EDX, contatou-se que a presença dos elementos Ca e P se deu numa razão de 1,53, e nota-se também ausência do pico de Ti, mostrando que a camada é espessa, figura 34c. Os resultados de DRX confirmaram as observações anteriores, pois apresentou picos característicos somente da fase OCP e de apatita carbonatada AB, figura 34d. Dessa forma, nota-se que nesta concentração (5mM) os íons CO_3^{2-} apresentam maior eficiência na diminuição do período de indução da cristalização do ACP.

As bandas exibidas por espectroscopia de IV foram características dos grupos PO_4 (em 454, 544 e 595 cm^{-1}), P-OH (em 879 e 944-1095 cm^{-1}) e apatita carbonatada dos tipos A e B (em, respectivamente, 1547 e 1311, 1468 cm^{-1}), figura 34e.

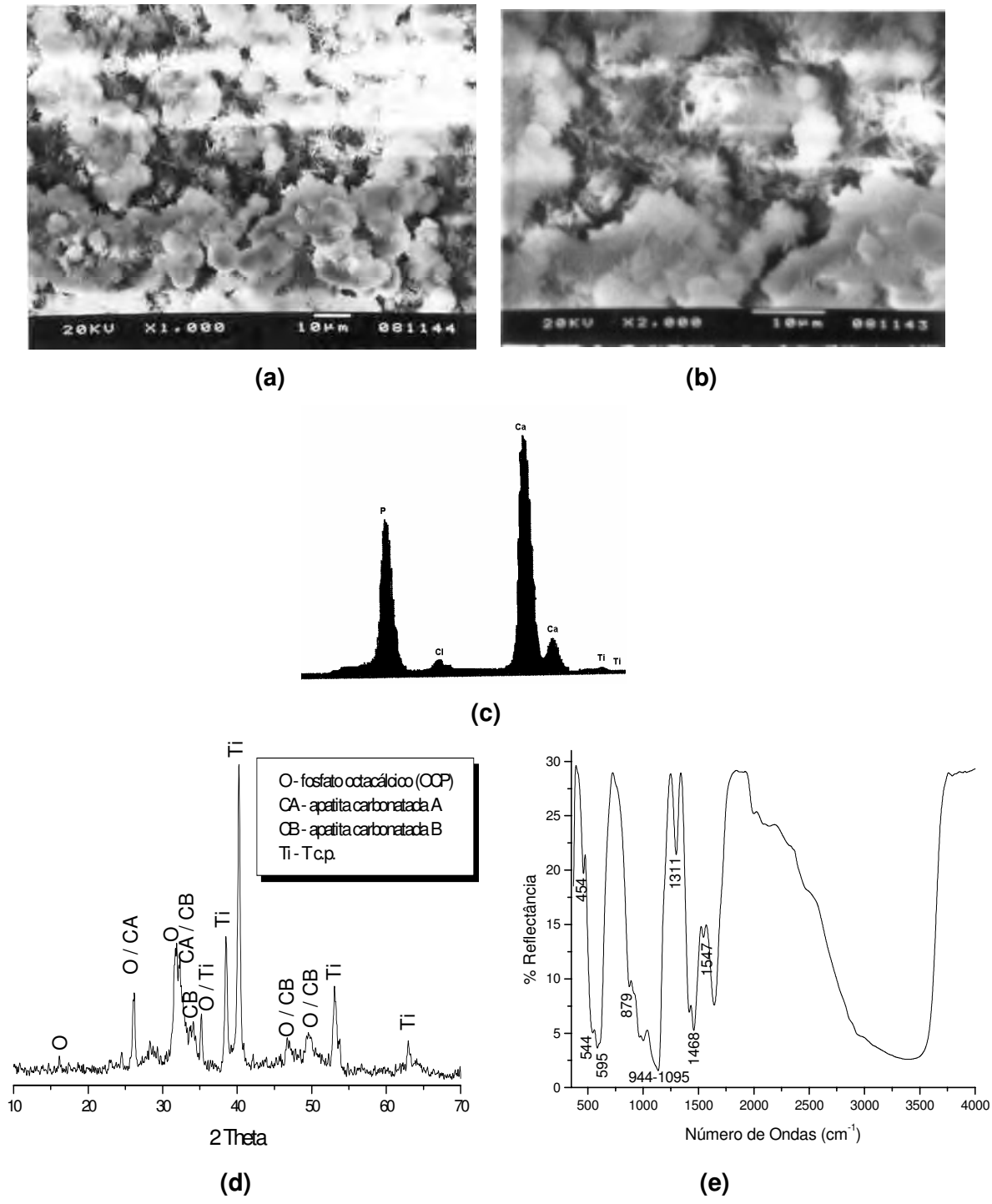
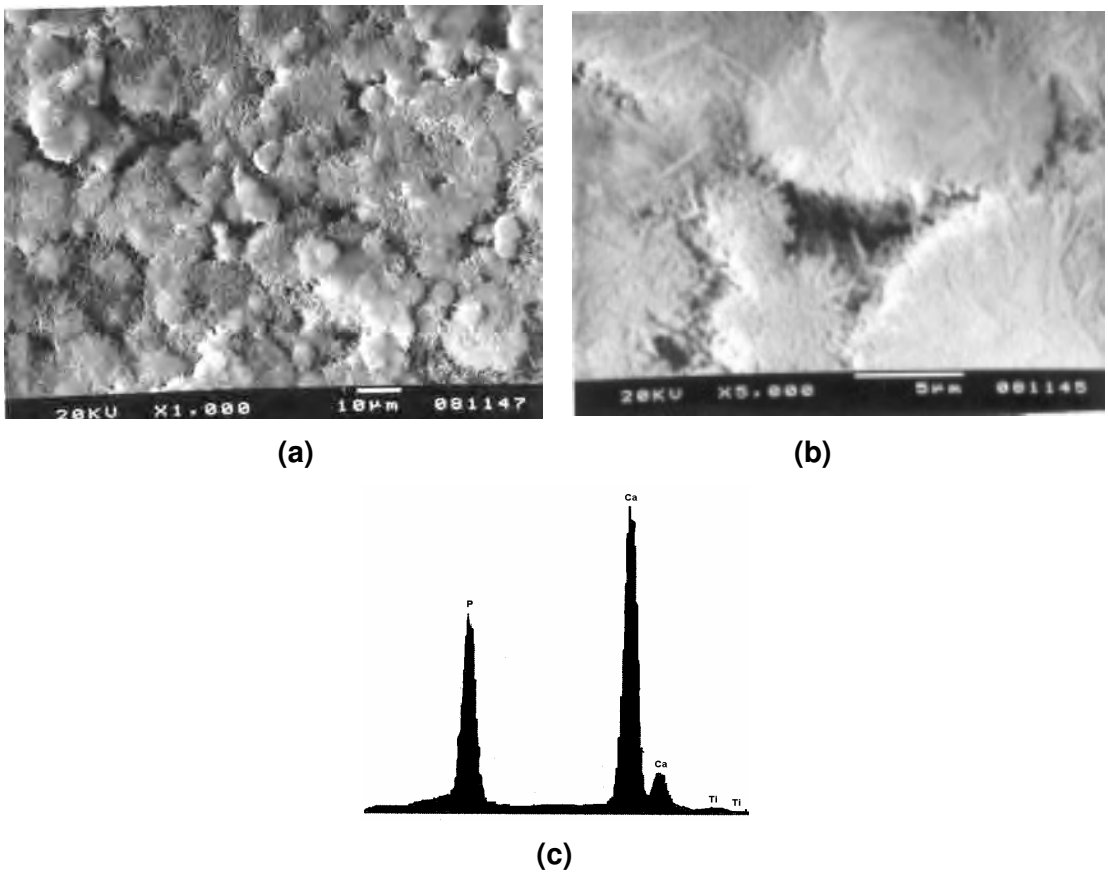


Figura 34: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6: a) MEV 1000X, b) MEV 2000X, c) EDX, d) DRX e e) espectro de IV.

O tratamento térmico alterou a morfologia do recobrimento somente quanto a compactação dos aglomerados, sendo ainda presentes os cristais em forma de agulhas característicos do OCP, figuras 35a e 35b.



(a) **(b)**

(c)

Figura 35: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) MEV 1000X, b) MEV 5000X e c) EDX.

A análise dos resultados de DRX possibilitou caracterizar o recobrimento como sendo composto pelas fases OCP, HA deficiente em cálcio e β-TCP, figura 36a. Sendo assim, nesta concentração, apesar do acentuado papel da diminuição do período de indução da cristalização do ACP, os íons CO_3^{2-} não atuaram como inibidores da hidrólise do OCP. Iijima et. all. [1994] mostram que na presença de íons CO_3^{2-}, na concentração de 5 a 10mM, a formação de HA é perturbada e a nucleação do OCP torna-se mais energeticamente favorável. Ao contrário, nas concentrações de 10 a 20mM de CO_3^{2-}, o crescimento cristalino do OCP passa a ser perturbado, tornando predominante a formação de apatita carbonatada. Apesar das concentrações descritas por Iijima serem diferentes das utilizadas neste trabalho,

nota-se que o comportamento dos íons CO_3^{2-} nas SBF 5 e 6 , cujas concentrações foram de 3 e 5 mM respectivamente, assemelhou-se ao descrito pelo autor.

O espectro de IV, após o tratamento térmico, apresentou bandas características dos grupos PO_4 (em 465, 562, 604 e 960-1110 cm^{-1}), apatita carbonatada do tipo B (em 1468 cm^{-1}) e OH da hidroxiapatita (em 3570 cm^{-1}), figura 36b.

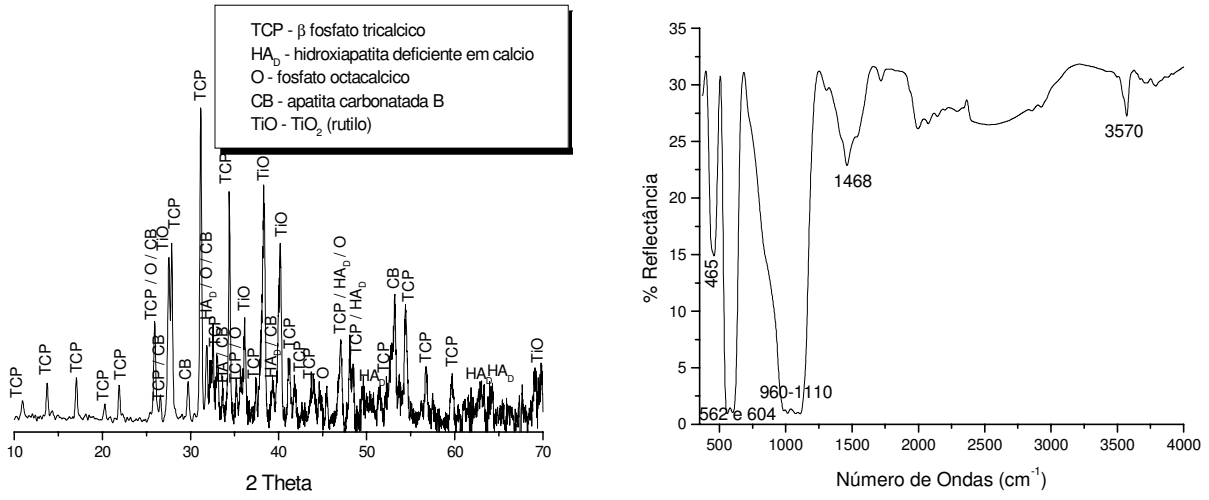


Figura 36: Recobrimento de apatita obtido por imersão em SBF 6 com posterior tratamento térmico a 800ºC: a) DRX e b) espectro de IV.

Como descrito anteriormente, a interpretação dos difratogramas de raios X, quanto à caracterização das fases de apatita presentes nos recobrimentos, foi realizada comparando-se estes difratogramas com fichas padrões de cada fase presentes na base de dados mantidas pelo Joint Commitee for Powder Diffraction Studies [2003]. A tabela 18 apresenta os números das fichas padrões utilizadas neste trabalho.

Tabela 18: Número das fichas padrões da base de dados JCPDS utilizadas para a identificação das fases de apatita.

Fases de apatita	Número das fichas padrões
Hidroxiapatita - HA	74-0565
Hidroxiapatita deficiente em cálcio - HA_D	86-0740
Fosfato de cálcio amorfo – ACP	18-0303
Fosfato octacálcico – OCP	26-1056
β Fosfato tricálcico - βTCP	70-2065
$Ca_{2,59}Mg_{0,41}(PO_4)_2$	70-0682
$Mg_3(PO_4)_2$	48-1167
Apatita carbonatada do tipo A	35-0180
Apatita carbonatada do tipo B	19-0272

5.4 Resumo dos Resultados Obtidos

A tabela 19 apresenta, de forma resumida, a composição dos recobrimentos obtidos para cada solução SBF utilizada, bem como os íons presentes nestas soluções, a fim de facilitar a observação e análise dos resultados obtidos neste trabalho.

Tabela 19: Fases de apatita obtidas nos recobrimentos para cada solução SBF utilizada.

	Fase de Apatita Obtida no Recobrimento	
SBF / Íons Presentes	**Antes do tratamento térmico**	**Após tratamento térmico (800ºC/1h)**
SBF 0 / todos	OCP, HA_D, CB.	HA, β-TCP, β-MgTCP, CA.
SBF 1 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}	ACP, CA, CB.	HA_D, β-TCP.
SBF 2 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}, Mg^{2+}	ACP, OCP, CA.	OCP, β-TCP, β-MgTCP, $Mg_3(PO_4)_2$.
SBF 3 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}, K^+	ACP, CA.	ACP, HA_D, β-TCP.
SBF 4 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}, SO_4^{2-}	ACP, CA, CB.	HA_D, β-TCP.
SBF 5 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}, CO_3^{2-}(3mM)	ACP, OCP, CA.	ACP, OCP, CA, CB.
SBF 6 / Ca^{2+}, PO_4^{3-}, CO_3^{2-}(5mM)	OCP, CA, CB.	OCP, HA_D, β-TCP, CB.

Capítulo VI

Conclusões

Recobrimentos obtidos sem o tratamento térmico:

Antes do tratamento térmico os recobrimentos obtidos tiveram em sua composição as fases ACP e OCP, como mistura ou não, determinadas pela composição da solução utilizada.

Os íons Mg^{2+} (SBF 2) e CO_3^{2-} (SBF 5), por diminuírem o período de indução necessário à formação de ACP e, conseqüentemente, favorecerem sua transformação, levaram à formação de mistura entre ACP e OCP.

A concentração elevada do íon CO_3^{2-} na solução SBF 6 tornou o fenômeno descrito acima mais acentuado, sendo, dessa forma, observada a presença majoritária de OCP no recobrimento obtido, fato este avaliado pela uniformidade da morfologia e picos de DRX característicos desta fase.

A presença dos íons K^+ (SBF 3) e SO_4^{2-} (SBF 4) não interferiram no período de indução de formação de ACP e, dessa forma, os recobrimentos obtidos por imersão nestas soluções foram compostos majoritariamente por esta fase.

A presença conjunta dos íons Mg^{2+} e CO_3^{2-} na solução SBF 0 tornou a diminuição no período de indução de formação de ACP ainda mais acentuada, sendo sua transformação a OCP favorecida. Contudo, o efeito inibitório destes íons na hidrólise desta fase não foi observado, pois o recobrimento obtido por imersão nesta solução foi composto pela mistura entre as fases OCP e HA deficiente em cálcio.

Recobrimentos obtidos após tratamento térmico a 800ºC:

Após o tratamento térmico as fases ACP e OCP transformaram-se à HA deficiente em cálcio somente na presença dos íons K^+, SO_4^{2-} e CO_3^{2-} na concentração de 5mM (SBF 6).

O efeito da não interferência no período de indução da formação de ACP foi mais acentuado na presença do íon K^+ que do íon SO_4^{2-}, pois, mesmo após o tratamento térmico, o recobrimento obtido por imersão em SBF 3 foi composto por ACP.

A presença de Mg^{2+} (SBF 2) inibiu a formação de HA deficiente em cálcio, por inibição da hidrólise do OCP, devido à formação preferencial de $Mg_3(PO_4)_2$.

As investigações realizadas neste trabalho possibilitarão, a partir dos resultados obtidos, a elaboração de soluções biomiméticas que propiciarão a obtenção de variadas fases de apatita de acordo com a aplicação e atividade esperada do recobrimento, tornando possível a otimização e o planejamento das atividades química e biológica da superfície do implante e do meio no qual este for implantado.

Capítulo VII

Referências

ABBONA, F. et al. A XRD and TEM study on the transformation of amorphous calcium phosphate in the presence of magnesium. **J. Cryst. Growth**, n. 165, p. 98-105, 1996.

ABE, Y. et al. Apatite coating on ceramics, metals and polymers utilising a biological process. **J. Mater. Sci.: Mat. Med.**, n. 1, p. 536-540, 1990.

AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. Tokio: JAAS, 1991. 230 p.

BARRERE, F. et al. Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti6Al4V: a crystal growth of octacalcium phosphate and inhibition by Mg^{2+} and HCO_3^-. **Bone**, v. 25, p. 107S-111S, 1999.

BARRERE, F. et al. Influence of ionic strength and carbonate on the Ca-P coating formation from SBFX5 solution. **Biomaterials**, n. 23, p. 1921-1930, 2002.

BARRERE, F. et al. Nucleation of biomimetic Ca-P coatings on Ti6Al4V from a SBFX5 solution: influence of magnesium. **Biomaterials**, n. 23, p. 2211-2220, 2002.

BIGI, A. et al. Nanocrystalline hydroxyapatite coatings on titanium: a new fast biomimetic method. **Biomaterials**, n. 26, p. 4085-4089, 2005.

BIOMATERIALES de naturaleza inorgânica: metales, aleaciones y cerâmicas. Disponível em: <www.raf.es/pdf/acadcorresp_recepcion>. Acesso em: 4 jan. 2005.

BOSCHI, A. O. O que é necessário para que um material possa ser considerado um biomaterial? In: CONGRESSO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE METALURGIA, 50., 1995, São Pedro. **Anais ...** São Paulo: ABM, 1996. v. 6, p. 43 – 53.

BREME, J. et al. Development of a titanium alloy suitable for optimized with hydroxyapatite. **Biomaterials**, n. 16, p. 239-244, 1995.

BRICK, R. M. et al. **Structure and properties of alloys**. New York: McGraw-Hill Book, 1965. 485 p.

CALVO, F. A. **Metalografia práctica**. Madrid: Alhambra, 1972. 119 p.

CAMPBELL, A. A. Bioceramics for implant coatings. **Mater. Today**, p. 26-31, Nov. 2003.

CAO, W. et. al. Bioactive materials. **Ceram. Int.**, n. 22, p. 493-507, Sept. 1996.

CHINAGLIA, C. R. Introdução. In: _____. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura e micro-análise.** São Carlos: Centro de caracterização e desenvolvimento de materiais. São Carlos: UFSCar, 1999. cap. 1, p. 1-31.

CHOU, Y. F. et al. The effect of pH on the structural evolution of accelerated biomimetic apatite. **Biomaterials**, n. 25, p. 5323-5331, 2004.

CHRISTOFFERSEN, J. A contribuition to the understanding of the formation of calcium phosphate. **J. Cryst. Growth**, n. 94, p. 767-777, 1989.

CUISINIER, F. J. G. Bone mineralization. **Solid State & Mater. Sci.,** n. 1, p. 436-439, 1996.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray difraction**. 2nd ed. Reading: Addison-Wesley, 1978. 555 p.

DEKKER, R. J. et al. Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate-coated titanium discs. **Biomaterials**, n. 26, p. 5231-5239, 2005.

DIETER JR., G. E. **Mechanical mettalurgy**. 2nd ed. Tokyo: Mc Graw-Hill, 1961. 774 p.

DONACHIE JR., M. J. **Titanium:** a technical guide**.** Manchester: ASM International, 1987. 469 p.

ELLINGSEN, J. E. et al. **Bio-implant interface**. New York: CRC, 2003. p. 380.

ELLIOT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates**. New York: Elseiver, 1984. p. 389.

EXNER, H. E. Scanning electron microscopy. In: ASM Handbook Committee. **Metallography and microstructures.** Metals Park, 1985. p. 89-102. (ASM Handbook, v. 9).

FENG, Q. L. et al. Influence of solution conditions on deposition of calcium phosphate on titanium by NaOH-treatment. **J. Cryst. Growth**, n. 210, p. 735-740, 2000.

FISCHER, G. Ceramic coating enhance performance engineering. **Ceram. Bull**, v. 2, n. 65, p. 283-285, 1986.

FLEISCH, H. Inhibitors of calcium phosphate precipitation and their role in biological mineralization. **J. Cryst. Growth**, n. 53, p. 120-134, 1981.

GRAHAM, S. et al. Reactions of octacalcium phosphate to form hydroxyapatite. **J. Cryst. Growth**, n. 165, p. 106-115, 1996.

GUASTALDI, A. C. Engenharia de superfície do Ti para aplicações biomédicas. **Rev. Metal. & Mater.**, v. 59, n. 535, p. 442-444, 2003.

HANAWA, T. Titanium and its oxide film a substrate for formation of apatite. In: DAVIES, J. E. **The bone-biomaterial interface.** Toronto: University of Toronto Press, 1991. cap. 2. p. 49-61.

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

HENCH, L. L. et al. **An introduction to bioceramics.** Londres: World Scientific, 1993. 386 p.

IIJIMA, M. et al. Effects of Ca addition on the formation of octacalcium phosphate and apatite in solution at pH 7.4 and at 37ºC. **J. Cryst. Growth**, n. 193, p. 182-188, 1998.

IIJIMA, M. et al. Effects of CO_3^{2-} ion on the formation of octacalcium phosphate at pH 7.4 and at 37ºC. **J. Cryst. Growth**, n. 135, p. 229-234, 1994.

JOINT COMMITTEE FOR POWDER DIFFRACTION STUDIES – Diffraction Data Base. Newton Square: International for Diffraction Data, 2003. 1 CD-ROM.

KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Tokio: Elsevier, 1989. 289 p.

KANZAKI, N. et al. Inhibitory effect of magnesium and zinc on crystallization kinetics of hydroxyapatite (0001) face. **J. Phys. Chem.**, n. 104, p. 4189-4194, 2000.

KATTI, K. S. Biomaterials in total joint replacement. **Colloids Surf.,** n. 39, p. 133-142, Feb. 2004.

KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Quim. Nova**, v. 23, p. 518-522, 2000.

KAY, J. F. Calcium phosphate coatings for dental implants. **Dental Clin. North Am.**, v. 36, n. 1, p. 01-25, Jan. 1992.

KIM, S. et al. In situ observation of hydroxyapatite nanocrystal formation from amorphous calcium phosphate in calcium-rich solutions. **Mater. Chem. Phys.**, n. 91, p. 500-506, 2005.

KLEIN, C. P. T. et al. Stability of calcium phosphate ceramics and plasma sprayed coating. In: HENCH, L. L. et al. **An introduction to bioceramics:** advanced series in ceramics. Singapore: World Scientific, 1993. v. 1, cap. 11, p. 199-223.

KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Mater.**, v. 46, n. 7, p. 2519-2527, 1998.

LACEFIELD, W. R. Hydroxyapatite coating. In: HENCH, L. L. et al. **An introduction to bioceramics:** advanced series in ceramics. Singapore: World Scientific, 1993. v. 1, cap. 12, p. 223-239.

LONG, M. et al. Titanium alloys in total joint replacement – a materials science perspective. **Biomaterials,** n. 19, p. 1621–1639, 1997.

LOUTHAN JR., M. R. Optical metallography. In: ASM Handbook Committee. **Materials characterization**. Metals Park, 1992. p. 297-320. (ASM Handbook, v. 10).

LU, X. et al. Theoretical analysis of calcium phosphate precipitation in simulated body fluid. **Biomaterials**, n. 26, p. 1097-1108, 2005.

MA, J. et al. Biomimetic processing of nanocrystallite bioactive apatite coating on titanium. **Nanotecnology**, n. 14, p. 619-623, 2003.

MAEYER, E. A. P. et al. Influence of the solution composition on the stoichiometry of Na^+ and of K^+ containing carbonated apatites obtained by the hydrolysis of monetite. **J. Cryst. Growth**, n. 169, p. 539-547, 1996.

MAYER, I. et al. Magnesium – containing carbonate apatites. **J. Inorg. Biochem.**, n. 66, p. 1-6, 1997.

NAKAMOTO, K. **Infrared and raman spectra of inorganic and coordination compounds**. 4th ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 484 p.

ONUMA, K. et al. Cluster growth model for hydroxyapatite**. Chem. Mater**, v. 10, p. 3346-3351, 1998.

ONUMA, K. et al. Precipitation kinetics of hydroxyapatite revealed by the continuous-angle laser light-scattering technique. **J. Phys. Chem.**, **B**, v. 104, p. 10563-10568, 2000.

PECHINI, M. P. **Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same to form a capacitor.** US n. 3330697, 1967.

POLMEAR, I. J. **Light alloys:** metallurgy of the light metals**.** 2nd ed. London: Edward Arnold, 1989. 278 p.

RIGO, E. C. S. et al. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Rev. Bras. Eng. Biomed.**, v. 15, n. 1/2, p. 21-29, 1999.

RUSSELL, S. W. et al. Chemical and structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite thin films under rapid thermal processing. **J. Am. Cer. Soc.**, v. 79,

n. 4, p. 837-842, 1996.

SILVERSTEIN, R. M. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos.** 5th ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1994. 387 p.

SOMRANI, S. et al. Physico-chemical and thermochemical studies of the hydrolytic conversion of amorphous tricalcium phosphate into apatite. **J. Solid State Chem.**, n. 178, p. 1337-1348, 2005.

STOCH, A. et al. FTIR absorption-relection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants. **J. Mol. Struct.**, n. 555, p. 375-382, 2000.

TADDEI, P. et al. Vibrational spectroscopy of polymeric biomaterials. **J. Raman Spectrosc.**, v. 32, p. 619-629, 2001.

TANAHASHI, M. et al. Apatite coating on organic polymers by a biomimetic process. **J. Am. Ceram. Soc.**, v. 77, n. 11, p. 2805-2808, 1994.

VALLET–REGI, M. Introduction to the world of biomaterials. **Anal. Quim. Int. Ed.**, v. 93, p. S16-S14, 1997.

VERCIK, L. C. de O. et al. Recobrimento de apatitas “in vitro” sobre titânio – influência do tratamento térmico. **Eclet. Quim.**, v. 28, n. 1, p. 25-31, 2003.

VERCIK, L. C. O. **Estudo do recobrimento de hidroxiapatita sobre superfície de Ti c.p. e liga Ti-6Al-4V, sem e com deposição de TiO_2 por plasma-spray**. 2004. 127 f. Dissertação (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

VOSSEN, J. L. et al. **Thin film processes.** San Diego: Academic Press, 1990. 888 p.

WILLARD, H. H. et al. **Análise instrumental**. 2nd ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979. 986 p.

XIN, R. et al. A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics in vitro and in vivo. **Biomaterials**, n. 26, p. 6477-6486, 2005.