

**UNESP – UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE ARARAQUARA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

***PLATAFORMA INORGÂNICA A
BASE DE APATITAS DE INTERESSE BIOLÓGICO VISANDO À
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS***

EDSON DE ALMEIDA FILHO

**Tese de Doutorado
2012**

EDSON DE ALMEIDA FILHO

***PLATAFORMA INORGÂNICA A
BASE DE APATITAS DE INTERESSE BIOLÓGICO VISANDO À
LIBERAÇÃO CONTROLADA DE FÁRMACOS***

Tese de Doutorado apresentado ao Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Química.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Guastaldi

**Araraquara
2012**

Nome Edson de Almeida Filho
 Nome em citações bibliográficas ALMEIDA FILHO, Edson de; Filho, Edson de Almeida; Filho, E.A.
 Sexo Masculino
 Filiação Edson de Almeida e Roseli Aparecida Mucin
 Nascimento 20/03/1984 - São Bernardo do Campo/SP - Brasil
 Carteira de Identidade 403558827 ssp - SP - 22/10/1996
 CPF 31149175850
 Endereço residencial AV. Santa Maria, 421
 Vila Xavier - Araraquara
 14810-045, SP - Brasil
 Telefone: 16 33371205
 Endereço profissional Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara, Departamento de Físico-Química
 Francisco Degni
 Quitandinha - Araraquara
 14800-800, SP - Brasil
 URL da home page: <http://>
 Endereço eletrônico e-mail para contato : edsonafilho@yahoo.com.br
 e-mail alternativo : edsonafilho@yahoo.com.br

Formação Acadêmica/Titulação

2008 Doutorado em Doutorado em Química.
 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
 Título: Plataforma Inorgânica a base de apatitas de interesse biológico visando à liberação controlada de fármacos.
 Orientador: Antonio Carlos Guastaldi 
 Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
 Palavras-chave: Biomateriais
 Áreas do conhecimento : Química
 Setores de atividade : Saúde humana e serviços sociais
 Mestrado em Físico-Química (Arar.).
 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
 Título: Biomateriais: Avaliação do Tratamento Térmico em Recobrimentos Cerâmicos Bioativos pelo Método Biomimético sobre Ti c.p. modificados pelo Laser Nd:YAG., Ano de obtenção: 2008
 2006 - 2008 Orientador: Antonio Carlos Guastaldi 
 Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
 Áreas do conhecimento : Química
 Setores de atividade : Saúde humana e serviços sociais
 2002 - 2005 Graduação em Bacharelado em Química Tecnológica.
 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil
 Orientador: Antonio Carlos Guastaldi

Formação complementar

2003 - 2005 Extensão universitária em Química.
 Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Sao Paulo, Brasil

Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

Áreas de atuação

1. Biomateriais
2. Química

Idiomas

Inglês	Compreende Razoavelmente , Fala Pouco, Escreve Razoavelmente, Lê Razoavelmente
Espanhol	Compreende Razoavelmente , Fala Pouco, Escreve Pouco, Lê Razoavelmente
Português	Compreende Bem , Fala Bem, Escreve Bem, Lê Bem

Produção em C, T& A

Produção bibliográfica

Artigos completos publicados em periódicos

- Filho, Edson de Almeida, Fraga, Alexandre F., Bini, Rafael A., Guastaldi, Antonio C.
Bioactive Coating on Titanium Implants modified by Nd: YVO4 laser. Applied Surface Science. , p.xxx -
1. xxx, 2010.
Referências adicionais : Inglês. Meio de divulgação: Meio digitalHome page:
[doi:10.1016/j.apsusc.2010.12.056]
- Fraga, Alexandre Félix, ALMEIDA FILHO, Edson de, Rigo, Eliana Cristina da Silva, Boschi, Anselmo Ortega. Synthesis of chitosan/hydroxyapatite membranes coated with hydroxycarbonate apatite for guided tissue regeneration purposes. Applied Surface Science. , p.xxxx - xxx, 2010.
2.
Referências adicionais : Inglês. Meio de divulgação: Meio digitalHome page:
[doi:10.1016/j.apsusc.2010.11.104]
-  Bini, R.A., Santos, M.L., Filho, E.A., Marques, R.F.C., Guastaldi, A.C.
Apatite coatings onto titanium surfaces submitted to laser ablation with different energy densities.
3. Surface & Coatings Technology. , v.204, p.399 - 403, 2009.
Referências adicionais : Inglês. Meio de divulgação: Meio digitalHome page:
[doi:10.1016/j.surfcoat.2009.07.013]
- Tavares, H., Faeda, R., Sartori, R., Marcantonio Junior, E., ALMEIDA FILHO, Edson de, GUASTALDI, Antônio Carlos
4. Avaliação de implantes modificados por feixe de laser Nd:YAG e implantes de superfície usinada empregando-se MEV e Torque reverso. Implant News. , v.6, p.381 - 985, 2009.
Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Impresso
ALMEIDA FILHO, Edson de, Fraga, A. F., Bini, Rafael A., Marques, R.F.C., GUASTALDI, Antônio Carlos
5. Influência do espaçamento do feixe de laser Nd:YAG na obtenção de óxidos e nitretos na superfície do titânio em pressão atmosférica. Matéria (UFRJ). , v.14, p.787 - 794, 2009.
Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Meio digital
- ★ ALMEIDA FILHO, Edson de, ASSIS, C. M., VERCIK, L. O., GUASTALDI, Antônio Carlos
BIOMATERIAIS: DEPOSIÇÃO DE HIDROXIAPATITA SOBRE SUPERFÍCIE DE Ti-cp MODIFICADA
6. POR ASPERSÃO TÉRMICA. Química Nova. , v.30, p.1229 - 1232, 2007.
Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: ImpressoHome page:
[http://quimicanova.sbq.org.br/qn/qn_online_geral.htm]
7. Fraga, A. F., Santos, M. L., ALMEIDA FILHO, Edson de, GUASTALDI, Antônio Carlos

Estudo Comparativo de Juntas Soldadas a TIG e Laser Empregando-se Ti-cp utilizado em Prótese sobre Implantes.. Soldagem & Inspeção. , v.12, p.124 - 132, 2007.

Referências adicionais : Português. Meio de divulgação: Impresso Home page: [http://www.mecanica.ufu.br/revistasj]

- ★ BRAGA, F. J. C., Marques, ALMEIDA FILHO, Edson de, GUASTALDI, Antônio Carlos
Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. Applied Surface Science. , 8. v.253, p.9203 - 9208, 2007.

Referências adicionais : Inglês. Meio de divulgação: Meio digital Home page: [http://www.sciencedirect.com/science/journal/01694332]

Artigos em jornal de notícias

Tavares, H., Faeda, R., Sartori, R., ALMEIDA FILHO, Edson de, GUASTALDI, Antônio Carlos, Marcantonio Junior, E.

1. Estudo de implantes submetidos a quatro tratamentos de superfície empregando-se MEV-EDS e teste biomecânico. Brazilian Oral Research. , p.59 - 59, 2007.

Referências adicionais : Brasil/Português. Meio de divulgação: Impresso

Produção Técnica

Demais produções técnicas

ALMEIDA FILHO, Edson de

1. **Laser: Uma Visão Geral**, 2007. (Outra produção técnica)

Referências adicionais : Brasil/Português.

Orientações e Supervisões

Orientações e Supervisões concluídas

Iniciação científica

Juliana Savioli. **MODIFICAÇÃO DA SUPERFÍCIE DO TITÂNIO E LIGA TI – 6AI – 4V PELO LASER Nd:YAG**, 2005. Iniciação científica (Bacharelado Em Química) - Universidade Estadual Paulista

1. Júlio de Mesquita Filho

Referências adicionais : Brasil/Português.

Eventos

Participação em eventos

Apresentação de Poster / Painel no(a) **BMIC - XIV - BRAZILIAN MEETING ON INORGANIC**

1. **CHEMISTRY**, 2008. (Congresso)

Bacterial Cellulose-Chitosan Composites.

2. Apresentação (Outras Formas) no(a) **V Evento de Educação em Química**, 2007. (Outra)
" Visão, Paladar, Olfato e drogas: Para o ensino, para o prazer ou para o ensino com prazer".

3. Apresentação (Outras Formas) no(a) **V Evento de Educação em Química**, 2007. (Outra)
"RPG como ferramenta ao ensino de química".

Apresentação de Poster / Painel no(a) **17 - CBECIMAT - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, 2006. (Congresso)

4. Caracterização de superfícies de titânio irradiadas com laser Nd:YAG e depositadas com hidroxiapatita.

5. Apresentação (Outras Formas) no(a) **XVII Congresso de Iniciação Científica**, 2005. (Congresso)

Comunicação Oral e Escrita.

6. Apresentação (Outras Formas) no(a) **XVI Congresso de Iniciação Científica**, 2004. (Congresso)
Acessos a Periódicos Científicos Eletrônicos - Portal CAPES.
Apresentação de Poster / Painel no(a) **XII Congresso de Iniciação Científica**, 2004. (Congresso)
7. Avaliação da Cristalinidade da HA pelo Método Biomimético Utilizando-se a Espectroscopia no Infravermelho.
8. Apresentação (Outras Formas) no(a) **XXXIV - Semana da Química**, 2004. (Outra)
Biotecnologia Anaeróbica no Tratamento de Resíduos Químicos.
Apresentação de Poster / Painel no(a) **IX Congresso de Odontologia do RN e I Congresso Brasileiro de Biomateriais em Odontologia**, 2004. (Congresso)
9. Caracterização da Superfície de Ti cp metálico Irradiada com Laser Nd:YAG para Aplicações em Implantes.
10. Apresentação (Outras Formas) no(a) **XVI Congresso de Iniciação Científica**, 2004. (Congresso)
O Desenvolvimento de Home Page para Divulgação de Pesquisa na Web.
11. Apresentação de Poster / Painel no(a) **XXXIV - Semana da Química**, 2004. (Outra)
Recobrimento de Hidroxiapatita sobre Superfície de Ti cp modificada por Plasma-Spray.
Apresentação (Outras Formas) no(a) **XXXIII-Semana da Química**, 2003. (Outra)
12. Células Combustíveis.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais, Eletroquímica
Setores de atividade : Energia
Apresentação (Outras Formas) no(a) **XXXIII-Semana da Química**, 2003. (Outra)
13. Os fenômenos de Superfícies: uma interface entre a química e a biotecnologia.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais, Eletroquímica, Química de Interfaces
Apresentação de Poster / Painel no(a) **SIICUSP- Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP**, 2003. (Simpósio)
14. SIICUSP- Simpósio Internacional de Iniciação Científica da USP.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais
Apresentação de Poster / Painel no(a) **Xi-CIC- Congresso de Iniciação Científica da UFSCar**, 2003. (Congresso)
15. XI CIC-Congresso de Iniciação Científica da UFSCar.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais, Eletroquímica, Química de Interfaces
Apresentação (Outras Formas) no(a) **XXXII-Semana da Química**, 2002. (Outra)
16. Metrologia em Química e ISO-Guia 17025.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais, Química de Interfaces, Eletroquímica
Apresentação (Outras Formas) no(a) **XXXII-Semana da Química**, 2002. (Outra)
17. Química Forense.
Áreas do conhecimento : Química Em Peritos Policiais
Setores de atividade : Desenvolvimento Urbano

Organização de evento

ALMEIDA FILHO, Edson de

1. **V EVEQ - Evento de Educação em Química**, 2007. (Outro, Organização de evento)
Referências adicionais : Brasil/Português.

Dedicatória

Dedico este trabalho a minha mãe Roseli ao meu irmão Gabriel aos meus sogros Zito e Gilmara ao meu cunhado Kaé e em especial a minha namorada Kellrye pelas

constantes demonstrações de carinho, amor, compreensão e apoio durante toda minha vida. *Minha eterna gratidão.*

AGRADECIMENTOS

- A Deus por tudo: pela oportunidade de enfrentar desafios, pela força, saúde para superar todas as barreiras.
- Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Guastaldi, pela orientação durante a realização deste trabalho.
- A minha mãe, meu irmão, meus tios e primos pela força e incentivo que me deram em todos os momentos e por encherem minha vida de felicidade.
- Aos meus sogros Gilmara e Zito por terem me acolhido como um filho em seu lar e ao meu cunhado Kaé pelas risadas e momentos de descontração.
- Em especial a minha namorada Kellrye, pelo carinho, paciência, conselhos, amor e dedicação. Linda dedico esse trabalho a você que é a minha inspiração e o meu orgulho, TE AMO MUITO, mil beijos.
- Aos meus amigos de graduação e de pós-graduação, que passaram diversos momentos difíceis comigo durante a nossa jornada.
- Aos meus amigo(a)s de laboratório, Anahi, Regina (Vó), Vinícius, Hewerson, Nilson, Rafael, Diego, Juliana, Aline e principalmente, ao Alexandre pela amizade, paciência e sugestões durante todo desenvolvimento deste trabalho.
- Aos técnicos dos departamentos, Ricardo, Irene, Sebastião pelos auxílios sem os quais este trabalho não seria possível.
- Aos professores do Instituto por tudo que me ensinaram e pela amizade adquirida.
- A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram na execução deste trabalho.
- A CNPq pelo suporte financeiro indispensável.

RESUMO

Recobrimentos de apatitas foram realizados em superfícies de titânio modificadas por feixe de laser Yb:YAG a pressão e atmosfera ambiente. As apatitas foram depositadas pelo método biomimético usando três soluções SBF (*Simulated Body Fluid*) diferentes que simulam a concentração de sais dos fluidos corpóreos para obtenção das apatitas. As superfícies de titânio submetidas ao processo de fusão e solidificação rápida (ablação) foram imersas na solução de SBF, as quais permaneceram por 4 dias a 37 °C. As amostras foram caracterizadas pelas técnicas de DRX, refinamento de Rietveld, FTIR, MEV e solubilidade. Os espectros de FTIR mostram bandas referentes às ligações químicas confirmadas pela análise de DRX e quantificadas pelo método de Rietveld. Os recobrimentos de apatitas foram submetidas ao teste de solubilidade em água destilada utilizando-se eletrodo de íons seletivos e titulação complexométrica a fim de estudar a cinética de liberação para as fases de apatitas.

Palavras chave: solubilidade das apatitas, apatitas nanométricas, fosfatos de cálcio, Laser Yb:YAG, biomateriais.

ABSTRACT

Apatite coatings were deposited on titanium surfaces modified by an Yb:YAG laser beam under ambient pressure and air. The apatites were deposited by a biomimetic method using three different SBF (simulated body fluid) solutions that mimic the concentration of salts in the body fluids to obtain the apatites. The titanium surfaces subjected to the process of rapid fusion and solidification (ablation) were immersed in the SBF solutions, remaining there for four days at 37°C. The samples were characterized by X-ray diffraction (XRD), Rietveld refinement, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM) and solubility. The FTIR spectra showed bands corresponding to chemical bonds, which were confirmed by the XRD analysis and quantified by the Rietveld method. The apatite coatings were subjected to a solubility test in distilled water using ion-selective electrodes and complexometric titration to study the kinetics of drug release through the apatite phases.

Keywords: solubility apatites, calcium phosphates, Laser Yb:YAG, biomaterials.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Aplicação dos biomateriais em diversas partes do corpo humano.	24
Figura 2: Modelo de estruturas cristalinas do titânio; posições dos átomos indicados pela localização das esferas.	30
Figura 3: Transições Radiativas entre Níveis de Energia.	32
Figura 4: Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C : isoterma de solubilidade mostrando $\log[\text{Ca}^{2+}]$ e pH de soluções em equilíbrio com vários sais.	37
Figura 5: Arranjo do colágeno no tecido ósseo e semelhança dos padrões de difração de raios X do componente inorgânico do tecido ósseo e da HA.	38
Figura 6: Estrutura da Hidroxiapatita	40
Figura 7: Morfologias características do ACP1(a) e ACP2(b).	42
Figura 8: Distribuição dos clusters de ACP.	42
Figura 9: Estrutura cristalina do OCP.	44
Figura 10: Regiões de pH e temperatura de formação do OCP.	44
Figura 11: Modelo da camada de cálcio proposto por Gramain para a dissolução de hidroxiapatita que representa um determinado instante da cinética de dissolução, onde temos uma camada de adsorção seguida da camada de Nernst. A linha inclinada representa a variação da concentração de íons cálcio ao longo desta camada de Nernst.	50
Figura 12: Perfis de liberação de drogas em função do tempo: convencional x controlada.	51
Figura 13: (a) Laser Ytterbium:YAG; (b) Irradiação com feixe de laser.	53
Figura 14: Relação Frequência de pulso/ Potência.	54

Figura 15: Diagrama esquemático do laser de rubi e da lâmpada de flash de xenônio.	60
Figura 16: Diagrama Esquemático da energia para o laser de rubi, mostrando as trajetórias para a excitação e o decaimento dos elétrons.	61
Figura 17: Representações esquemáticas da emissão estimulada e da amplificação da luz para um laser de rubi.	62
Figura 18: Condições de máximos e mínimos obtidos através da difração de raios-x empregando o esquema sugerido pelos Bragg.	64
Figura 19: a) Os três modos normais de vibração da H ₂ O. Dois desses modos envolvem principalmente os movimentos de estiramento das ligações, mas o modo 3 é primariamente dobramento. b) Os quatro modos vibracionais normais de CO ₂ .	67
Figura 20: Modelo de molécula diatômica homonuclear, mostrando momento de dipolo nulo (a), molécula diatômica heteronuclear, mostrando momento de dipolo diferente de zero (b) e tetracloreto de carbono, cujas ligações químicas são polares, mas a geometria anula as contribuições, originando momento de dipolo igual a zero (c).	67
Figura 21: Esquema da célula de difusão adaptada ao equipamento de dissolução. (a) abertura para coleta de amostra e reposição, (b) entrada do dispositivo para agitação do meio, (c) abertura para colocação do tubo com a membrana (à esquerda) e esquema da célula de difusão adaptada ao equipamento de dissolução (à direita)	70
Figura 22: Estrutura do EDTA complexando com o metal	71
Figura 23: (a) Interface eletrificada eletrodo-solução (b) Circuito eletrônico equivalente, quando $R \rightarrow \infty$ a interface é polarizável e para $R \rightarrow 0$, a interface é não-polarizável.	73
Figura 24: (a) Esquema de um capacitor de placas paralelas comumente usadas em aparelhos eletrônicos, que é capaz de armazenar cargas quando um potencial é aplicado com uma bateria ou fonte de energia; (b) Modelo de um eletrodo de membranas; (c) Representação de um eletrodo de vidro ou outro qualquer de membrana, o qual apresenta uma estrutura superficial zwitteriônica.	76
Figura 25: MEV e DRX da superfície do titânio usinado utilizado nesse trabalho.	78
Figura 26: MEV-DRX da superfície da amostra A (Fluência 280 J/cm ²) nos aumentos a) 200x, b) 500x, c) 1000x, d) 3000x e e) DRX.	79

Figura 27: MEV-DRX da superfície da amostra B (Fluência 56 J/cm ²) nos aumentos a) 200x, b) 500x, c) 1000x, d) 3000x e e) DRX.	80
Figura 28: Espectros de DRX após o refinamento por Rietveld das superfícies irradiadas por laser.	82
Figura 29: (a) Apresenta os defeitos de acordo com Kröger e Vink (1956) (b) Diagrama hipotético (μ , T, x) para um sistema de dois componentes a temperatura constante	83
Figura 30: Diagrama de fase do titânio e oxigênio	84
Figura 31: MEV e DRX da superfície do titânio c.p. após NaOH.	87
Figura 32: MEV e DRX das amostras A e B após NaOH, (a) Amostra A, (b) Amostra B.	88
Figura 33: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 4, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase ACP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	91
Figura 34: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 4, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase ACP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	93
Figura 35: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase OCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	95
Figura 36: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase OCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	96
Figura 37: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 1,5, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase HA depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	99
Figura 38: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 0, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase HA depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	100
Figura 39: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase β -TCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.	103

Figura 40: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase β -TCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos. 105

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Propriedades do titânio.	27
Tabela 2: Elementos que podem ocupar os sítios atômicos da apatita.	33
Tabela 3: Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio.	34
Tabela 4: Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.	37
Tabela 5: Estruturas cristalinas e parâmetros de rede das fases alotrópicas do TCP.	44
Tabela 6: Ti c.p. e suas composições máximas. ASTM F67-88.	52
Tabela 7: Propriedade Mecânicas de resistência de tração/tensão do Ti cp. ASTM F67-88	52
Tabela 8: Condições de ajuste do feixe de laser	54
Tabela 9: Parâmetros selecionados de aplicação do Feixe de laser.	55
Tabela 10: Concentrações iônicas das soluções utilizadas para o recobrimento de apatitas (mmol.dm^{-3}).	56
Tabela 11: Porcentagem das fases obtidas, após refinamento por Rietveld	83
Tabela 12: Referências de ângulos de contato e condições de molhamento	86
Tabela 13: Ângulo de contato das amostras experimentais	86
Tabela 14: Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio.	89
Tabela 15: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld	94
Tabela 16: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld	98
Tabela 17: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld	102
Tabela 18: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld	107
Tabela 19: Fases de Apatitas Obtidas nos Recobrimentos	107

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolos		Unidades
<i>eV</i>	unidade de medida de energia	1 eV=1,602177 x 10 ⁻¹⁹ J
<i>W</i>	Unidade de energia por tempo	J/s
<i>V</i>	Velocidade de Varredura	mm/s
<i>Å</i>	unidade de comprimento (Angström)	1 Å=10 ⁻¹⁰ m
<i>f</i>	Frequência	Hz
<i>ms</i>	milisegundo	s
<i>D</i>	diâmetro	cm
<i>ns</i>	nanosegundo	s
<i>λ</i>	Comprimento de onda	μm
<i>E_p</i>	Energia de Pulso	mJ
<i>Pa</i>	Unidade de pressão	1 atm = 10 ⁻⁵ Pa
<i>F</i>	Fluência	J.cm ⁻²

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<i>ACP</i>	Fosfato de Cálcio Amorfo
<i>DRX</i>	Difratometria de Raios X
<i>EDS</i>	Espectrometria de Energia Dispersiva de Raios X
<i>HA</i>	Hidroxiapatita
<i>HA_D</i>	Hidroxiapatita Deficiente Em Cálcio
<i>IV</i>	Análise No Infravermelho
<i>MEV</i>	Microscopia Eletrônica de Varredura
<i>OCP</i>	Fosfato Octacálcico
<i>β-TCP</i>	Fosfato Tricálcico
<i>Ti cp</i>	Titânio Comercialmente Puro
<i>FTIR</i>	Espectroscopia vibracional na região do Infravermelho com Transformada de Fourier

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	21
1.1 - Biomateriais	21
1.2 - Aplicações dos Biomateriais	24
1.3 – Titânio (Ti cp)	26
1.4 – Biocompatibilidade e Bioatividade	28
1.5 - Tratamentos de Superfície	29
1.6 - Laser Yb:YAG	30
1.7 - Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio – Apatitas	33
1.8 - Fosfatos de Cálcio de interesse biológico	37
1.8.1 – Hidroxiapatita	
1.8.2 - Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	
1.8.3 - Fosfato Octacálcico (OCP)	37
1.8.4 - Fosfato Tricálcico (TCP)	
1.9 – Método Biomimético	44
1.10 – Modelo da dissolução dos fosfatos de Cálcio	45
1.11 – Modelo da Camada de Cálcio	47
1.12 – Liberação Controlada de Fármacos	48
1.13 - JUSTIFICATIVA	49
1.14 - Estudo piloto dos parâmetros Laser	50
2 - OBJETIVOS	51
3 - METODOLOGIA	52
3.1 - Materiais	52
3.2 - Irradiação da superfície do titânio pelo Laser	53
3.3 - Seleção as superfícies irradiadas com feixe de laser	55
3.4- Caracterização das amostras irradiadas pelo laser	55
3.5 - Obtenção de Apatitas	55
3.6- Recobrimento de apatita pelo método biomimético sobre a superfície modificada	55
3.7 - Tratamento térmico das amostras recobertas com apatitas	56
3.8 - Caracterização das amostras recobertas pelo método biomimético	56
4 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO	58
5 – TÉCNICAS UTILIZADAS	60

5.1 - Irradiação a Laser	60
5.2 - Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução	62
5.3 - Difractometria de raios X - DRX	64
5.4 – Método de Rietveld	65
5.5 - Espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier – FTIR	66
5.6 - Tensão Superficial	68
5.7 - Espectroscopia Raman	69
5.8 - Estudo do perfil de dissolução in vitro	69
5.9 – Titulação	70
5.9.1 - Titulação complexométrica com EDTA	71
5.10 – Mecanismo de Resposta dos Eletrodos de Íons Seletivos de Cálcio	72
6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	78
6.1 – Obtenção e deposição das fases de apatitas sobre o titânio	78
6.1.1 - Superfícies Irradiadas por Laser	
6.1.2 - Medidas de ângulo de contato	
6.1.3 - Superfícies Irradiadas e submetidas ao tratamento com NaOH	
6.2 - Recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético	89
6.2.1 - Fases de Apatitas	
6.2.1.1 - Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	
6.2.1.2 - Fosfato Octacálcico (OCP)	
6.2.1.3 - Hidroxiapatita (HA)	
6.2.1.4 - Fosfato tricálcico (β -TCP)	
6.3 - Resumo dos Resultados Obtidos	107
7– CONCLUSÃO	109
8 – REFERÊNCIAS	110

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – Biomateriais

Num sentido amplo, um biomaterial pode ser definido como qualquer substância, excetuando-se as drogas, que pode ser usada, por qualquer período de tempo, como parte de um sistema que trata, aumenta ou substitua quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo. Este conceito é compatível com aqueles apresentados por Ratner, que aplica o conceito temporal de funcionalidade e por Willians que conduz o conceito mais relacionado ao grau de aceitabilidade pelo organismo receptor em cada período de sua permanência como um corpo estranho. Praticamente todos os biomateriais utilizados clinicamente na odontologia devem satisfazer certos requisitos essenciais como: (a) biocompatibilidade; (b) biofuncionalidade; (c) resistência à corrosão; (d) propriedades mecânicas semelhantes às do osso, tais como: módulo de elasticidade, resistência à tração e à fadiga; e (e) processabilidade. Ratner conceitua a biocompatibilidade como a capacidade de qualquer material (corpo estranho) de ser compatível com um tecido vivo, de modo que não ocorra interação adversa entre ambos. Este conceito sugere que os materiais que não promovam qualquer interação devam ser mais adequados. Atualmente este conceito tem sido reformulado levando a biocompatibilidade a um conceito firmemente atrelado à função de utilização do material, onde materiais absolutamente inertes e inócuos não são tão competitivos àqueles que induzem respostas controladas e de interesse ao organismo na sua aplicação. Vallet- Regi em seu esforço de conceituar biomateriais apresenta sua noção de materiais biocompatíveis fortemente ligada à aplicação, sugerindo a necessidade de haver interação intencional com o organismo receptor. Nos materiais que são utilizados em implantes intra-ósseos, a biocompatibilidade é avaliada principalmente pela reação do osso ao material, e o ideal é quando se obtêm a osteogênese total, na qual há uma união físico-química do osso ao implante. Esta interação se dá em tipos que se diferenciam entre si em cada estágio do fenômeno da osseointegração:

(a) Em um primeiro momento, a propriedade física “energia de superfície”, relacionada ao grau de molhabilidade da superfície do corpo pelo sangue, é de extrema importância e definirá o tipo e quantidade de contato que o novo tecido terá com o implante;

(b) no estágio seguinte, o potencial eletroquímico da superfície passa a determinar o grau de capacidade de adesão do implante ao novo tecido;

(c) no próximo estágio o tipo de troca iônica entre a superfície do implante e o organismo definirá o tipo de tecido (mineral e orgânico) ao redor do primeiro; e (d) finalmente, a topografia

da superfície do implante definirá a sua capacidade de retenção pelo novo tecido formado, pela área de superfície específica, e manutenção desta retenção quando sob carga mecânica, pela ausência de cantos vivos concentrando tensões pontualmente. (RATNER, 1996),(VALLET-REGÍ, 2004), (WILLIAMS, 1991).

Desta forma, biocompatibilidade e biofuncionalidade são propriedades que juntas atualmente conceituam os biomateriais, ou seja, a capacidade de desempenhar apropriadamente a função desejada com a necessária aceitação pelo organismo, dada as suas propriedades mecânicas, físicas, e químicas, o que compatibiliza o conceito apresentado por Willians. Os principais metais utilizados como biomateriais são ligas de ouro, ligas de prata, platina, ligas Ni-Cr, Ni-Co, aços inoxidáveis e titânio e suas ligas. Apesar de suas composições químicas básicas, as ligas metálicas possuem várias estruturas metalúrgicas que aliadas aos processos de fabricação, tratamento térmico e tipo de superfície, podem afetar a resistência à corrosão do material. Byrne e colaboradores demonstram que processos de corrosão, principalmente sob tensão mecânica, são susceptíveis de ocorrência em dispositivos de fixação óssea. Esta questão levou Meletis e colaboradores a oferecerem uma metodologia de ensaio de corrosão para prótese dentais. A metodologia envolve condições ambientais simulando o meio bucal e aplicação de carga mecânica compatível com àquela da mastigação.(RATNER, 1996),(VALLET-REGÍ, 2004), (WILLIAMS, 1991),(MELETIS, 1989),(BYRNE, 1973).

Os metais e ligas mais frequentemente usados como materiais de implante podem ser discutidos em termos de fatores metalúrgicos para se ter um melhor entendimento de seus efeitos na resistência à corrosão. Por exemplo, pequenas adições de certos elementos na liga, podem resultar em significativa mudança nas propriedades mecânicas e no comportamento de corrosão, de modo que mudanças na microestrutura, no tamanho de grãos, precipitados, local de precipitação e presença de impurezas podem ser muito importantes (vide ASM Handbook)

Na necessidade de se encontrar materiais confiáveis para serem utilizados como biomateriais, em especial em relação às propriedades mecânicas, a área dos biomateriais tem estudado novos materiais que apresentem um conjunto de propriedades que permitam aplicações não possíveis pelos materiais convencionais ou tradicionais. Esses materiais são confeccionados a partir de metais (aço inoxidável, Co-Cr, titânio e ligas de titânio), cerâmicas (fosfatos de cálcio), polímeros (polietileno), vidros (biovidros) e compósitos que devem apresentar requisitos essenciais como: biocompatibilidade (é a capacidade de um material substituir total ou parcialmente uma determinada função no organismo, sem desencadear reação inflamatória no hospedeiro), biofuncionalidade (capacidade de desempenhar uma função desejada, semelhante a qual está substituindo), e processabilidade (WILLIAMS, 1987;

KAWACHI, 2000). Dessa forma, materiais preparados pelo homem com o intuito de melhorar a qualidade de vida dos pacientes, os chamados **biomateriais**, do ponto de vista formal podem ser definidos como:

Qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, sintética ou natural em origem, que possa ser usada por um período de tempo, completo ou parcialmente, como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo. (SCHOEDER, 1997).

Para que assim possam ser considerados, os biomateriais devem estar de acordo com a norma ABNT NBR ISO 10993-1 (*Biological evaluation of medical devices – Part 1: Evaluation and testing*); essa norma é um guia para seleção e testes de materiais que serão usados na confecção dos dispositivos. Por meio dele, avaliam-se as características e propriedades do material, como: as mecânicas, químicas, toxicológicas, físicas, elétricas e as morfológicas (ISO, 2004). Atualmente, com o avanço da ciência, foram encontrados diversos materiais sintéticos utilizados para esse fim, nos quais incluem-se metais, polímeros, cerâmicas e, também, a combinação desses, os compósitos. As Tabelas referentes à norma **ISO 10993** serão encontradas na **Encyclopedic handbook of biomaterial and bioengineering** (1995) escrita por Helmus e Tweden.

Esse conjunto de testes obrigatórios pela norma ISO 10993-1 estabelece duas propriedades importantes para os biomateriais, a **biocompatibilidade** e a **biofuncionalidade**. A **biofuncionalidade** é o conjunto de propriedades que permite ao material desempenhar uma função desejada, sendo diretamente interligada com as propriedades físicas do material, por exemplo, a resistência mecânica. Enquanto que a **biocompatibilidade**, em um aspecto multidisciplinar, refere-se à compatibilidade entre o material e o meio biológico no qual ele deve permanecer, sendo as propriedades toxicológicas essenciais para que não ocorram reações adversas (BOSCHI, 1996). Ainda, segundo Willians (1991), a biocompatibilidade nada mais é que a habilidade de um material ter um desempenho satisfatório com uma resposta tecidual satisfatória em uma aplicação específica, pois, como dito, os materiais não podem produzir quaisquer respostas biológicas adversas, sejam locais ou sistêmicas.

A biocompatibilidade de um material para implante pode ser considerada ótima quando essa 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

(HENCH, 1993). A partir desse enfoque, os materiais chamados biocompatíveis podem ser classificados em **biotoleráveis, bioinertes, bioativos e bioreabsorvíveis** (VALLET, 1997).

Nenhum material implantado no corpo é totalmente inerte, todos induzem uma resposta do tecido hospedeiro (CAO, 1996). A resposta induzida pelos materiais chamados **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 dessa camada depende de muitos fatores, como: condições do implante, do tecido hospedeiro e da interface e das cargas mecânicas aplicadas sobre o implante (CAO, 1996). Nesse contexto, o titânio e suas ligas são definidos como bioinertes, enquanto que o aço inoxidável e ligas de Cr-Co, como biotoleráveis.

Os materiais **bioreabsorvíveis** 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 e poli-ácido glicólico são metabolizados a dióxido de carbono e água (por meio do ciclo de Krebs), e as 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 esses implantes, é que a velocidade de reabsorção deve ser proporcional à velocidade de reposição por tecido vivo.

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). Nesse caso, o tecido é capaz de interagir com o material, sem a intervenção de tecido fibroso. Dentre esses materiais, podem-se destacar as cerâmicas a base de fosfato de cálcio (em especial, a hidroxiapatita) e os biovidros.

1.2 – Aplicações dos Biomateriais

O número de pacientes nos hospitais em função principalmente da ocorrência de osteoporose e de acidentes oriundos de trabalho, transportes e esportes têm incentivado o desenvolvimento de materiais que possam ser utilizados como próteses e implantes no corpo humano. Em diversas situações, os biomateriais podem ser úteis para reconstituição ou substituição de tecidos naturais do corpo. Entretanto, nem sempre o organismo aceita os materiais implantados o que preocupa os médicos e faz com que muitos pacientes voltem à mesa de cirurgia.

Devido às distintas propriedades e formas que podem apresentar, os biomateriais podem ser aplicados em inúmeras partes do corpo humano (Figura 1):

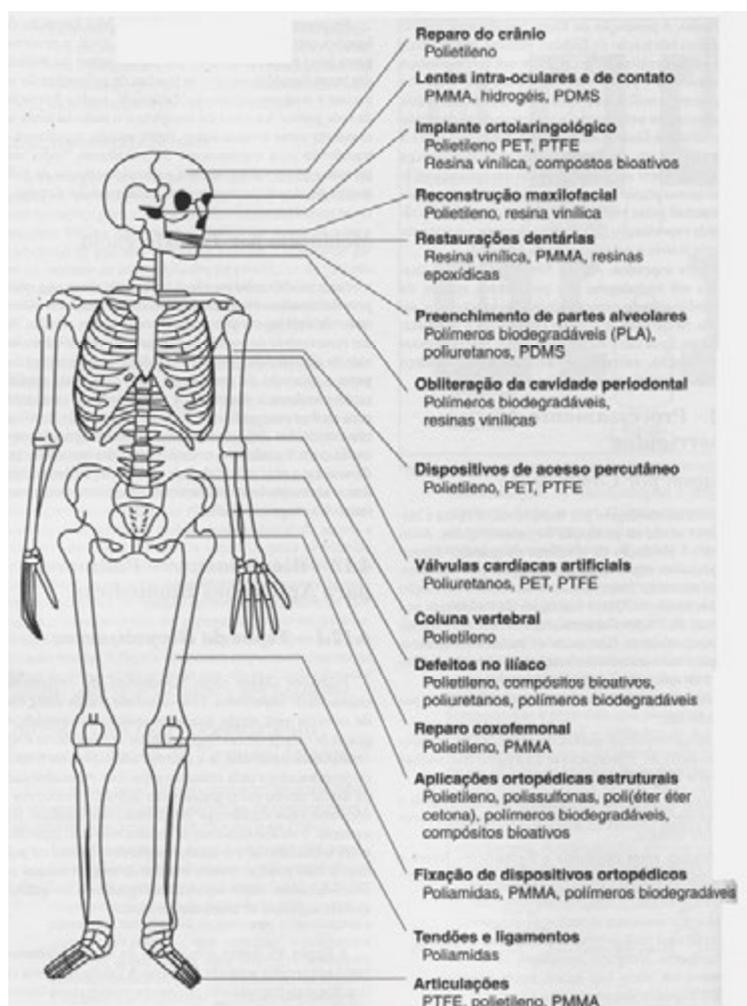


Figura 1: Aplicação dos biomateriais em diversas partes do corpo humano. (ORÉFICE. 2006)

De um modo geral, a aplicação dos biomateriais ocorre nos mais diversos campos da medicina como por exemplo, prótese em ortopedia ou cirurgia cardiovascular (válvulas cardíacas), órgãos artificiais, materiais para reparação de tecido ósseo (implantes endósseos), dispositivos cirúrgicos, sistemas de liberação controlada de fármacos, recobrimento de materiais metálicos e nos compósitos bioativos que nada mais são que a combinação de uma biocerâmica, na forma de partículas ou fibras, com um material polimérico, potencializando suas características para tomá-lo adequado a determinados tipos de implante (ELLIOT, 1994).

1.3 – Titânio

A primeira aplicação industrial do titânio foi no início dos anos 50, na indústria aeroespacial. Para essa aplicação, a alta resistência mecânica e baixa densidade (55% da densidade do aço) foram fatores atraentes. Embora a indústria aeronáutica ainda continue a utilizar titânio e suas ligas, a excelente resistência à corrosão em diversos meios incluindo os meios oxidantes ricos em cloretos tem levado à aplicação em outras áreas como na medicina e odontologia, em próteses e implantes endoósseos osteointegrados (ASM Handbook, 1992).

A importância em se estudar titânio é evidenciada pelo seu amplo uso. Em nossos dias mais de 90% desse mineral está relacionado com a utilização de pigmentos na indústria de tintas, na indústria do papel ou na indústria cerâmica. Apenas cerca de 10% encontra aplicação na indústria metalúrgica, na forma de ferro titanato para as adições a aços, ou para a elaboração de titânio metálico e suas ligas, que vai desde aplicações em implantes dentários e ortopédicos até na indústria aeroespacial (LEE, 1996). Na natureza encontra-se combinado quimicamente na forma da ilmenita (FeTiO_3) e rutilo (TiO_2). Com o último nível eletrônico incompleto ($1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 4s^2 3d^2$), torna-se elemento muito reativo podendo adotar as valências +2, +3, +4, além de formar soluções sólidas intersticiais e substitucionais com muitos elementos (LONG, 1998).

O titânio possui uma combinação de elevada resistência mecânica e resistência à corrosão eletroquímica e resposta biológica favorável, que fazem com que ele seja o metal mais utilizado como biomaterial. O titânio é um metal especial dentre os metais por apresentar uma baixa densidade (ρ) como alumínio e magnésio por sua elevada razão resistência/peso. A Tabela 1 apresenta algumas propriedades do titânio.

Tabela 1: Propriedades do titânio. (POLMEAR, 1995; LAMPMAN, 1992).

Densidade	$4,510 \text{ g.cm}^{-3}$
Estrutura eletrônica	$(Ar) 4s^2 3d^2$
Estados de oxidação	+2, +3, +4
Temperatura de fusão	1672°C
Coeficiente de dilatação	$8,64 \cdot 10^{-6} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$
Condutividade térmica (25°C)	$21,9 \text{ W (m K)}^{-1}$
Condutividade elétrica (20°C)	$2,38 \cdot 10^6 \text{ }(\Omega.m)^{-1}$
Suscetibilidade magnética	$1,25 \cdot 10^{-6}$

Além das propriedades descritas na Tabela 1, o titânio é um elemento alotrópico, isto é, existe em mais de uma forma cristalográfica. Em temperatura ambiente, possui uma estrutura hexagonal compacta, hcp, chamada fase (α), cujos parâmetros de rede são $a=b=0,295 \text{ nm}$ e $c=0,468 \text{ nm}$, Figura 2, a qual passa por uma transformação cristalina acima da temperatura de 882°C , tornando-se uma estrutura cúbica de corpo centrado, ccc, chamada fase β , sendo estável até o ponto de fusão do metal próximo de 1672°C (LAMPMAN, 1992; COLLINGS, 1994; LONG, 1998),.

Esta transformação alotrópica possibilita a realização de tratamentos térmicos com transformação total. O diferente comportamento frente à deformação dos tipos de redes permite dispor de um metal resistente e pouco deformável a temperatura ambiente (fase α) e facilmente deformável, mediante um aquecimento (fase β). No entanto, sua baixa condutividade térmica origina problemas de aquecimentos locais, e dificulta os tratamentos térmicos (LAMPMAN, 1992).

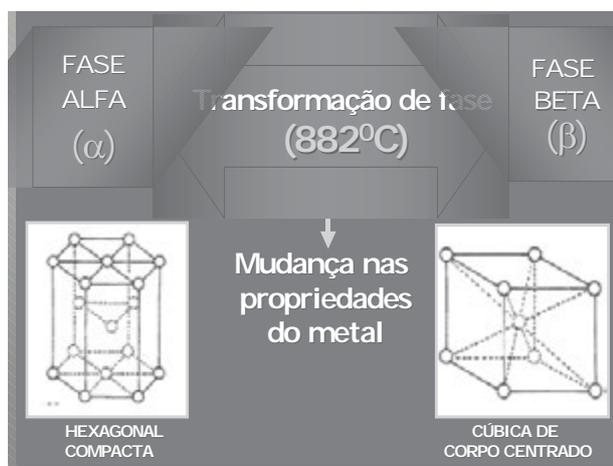


Figura 2: Modelo de estruturas cristalinas do titânio; posições dos átomos indicados pela localização das esferas.

1.4 – Biocompatibilidade e Bioatividade

O conceito de biocompatibilidade se transformou bastante nas últimas décadas. Inicialmente, biocompatível era considerado aquele material totalmente inerte ao corpo humano. Ou seja, o organismo não reconhece a presença do implante como um corpo estranho. Dessa forma, o implante seria tão bem “recebido” pelo organismo que se poderia imaginar a existência, para o organismo, de um tecido completamente homogêneo composto do próprio tecido mais o biomaterial.

Esse conceito de que um biomaterial deveria ser inerte foi deixado de lado a partir do momento em que se chegou a conclusão de que qualquer tipo de material sempre induz uma resposta do tecido vizinho. Além disso, visualizou-se que, para certas aplicações, havia a necessidade de alguma forma de interação entre o tecido e o material. Assim, para determinados casos, uma integração tecido-material seria mais importante para a atuação do biomaterial do que um total desconhecimento deste pelo meio vizinho. Contudo, além de classificar um material como biocompatível ou não, observou-se que um mesmo material poderia se mostrar biocompatível para uma aplicação ou para um tipo de paciente e incompatível para outra aplicação biomédica ou para pacientes de diferentes origens, faixas etárias, sexo, estado geral de saúde, etc.

Dessa forma, ficou claro que a biocompatibilidade de um determinado material só poderia ser definida através de um entendimento global sobre as várias formas de interação do organismo com o material, dando-se ênfase especial à interface tecido (ou meio circunvizinho)

material. Pode-se citar quatro aspectos mais importantes com relação às interações entre biomateriais e tecidos, que definem assim a biocompatibilidade:

- 1) Fenômenos físico-químicos de interface relacionados com os primeiros instantes de contato entre biomaterial, tecido e ambiente de implantação.
- 2) Resposta dos tecidos e meio orgânico à presença do material.
- 3) Mudanças ocorridas nos materiais como resultado da ação do meio (tecido, fluidos orgânicos) sobre o material: degradação e corrosão.
- 4) Reação de alguma parte do organismo, não diretamente em contato com o implante.

Dentre esses aspectos, a interação dos tecidos vivos e meio corpóreo, associada ao tipo de resposta do organismo à presença do material, é um dos pontos mais desafiadores no desenvolvimento de biomateriais. Os tipos de interação entre tecido-implante são fundamentalmente dependentes do tipo de material e podem ser reunidos nos seguintes grupos: tóxica, não-tóxica (muitas vezes chamada de bioinerte), bioativa e biodegradável. Ultimamente, o desenvolvimento de materiais considerados bioativos e biodegradáveis vem sendo enfatizado já que, além de substituir tecidos traumatizados, estes materiais também podem propiciar a recuperação do tecido danificado através da atuação em metabolismos intra e extracelulares responsáveis pela reprodução celular e propagação dos tecidos em crescimento.

Dessa forma, conclui-se que o conceito de biocompatibilidade de um material deve ser definido tendo em vista o estudo global dos quatro fenômenos citados anteriormente. Além disso, tal conceito é específico para cada sistema e depende não só das características intrínsecas dos materiais, mas também do ambiente de implantação e principalmente a aplicação a que o referido biomaterial se propõe. Nos itens a seguir, serão discutidos alguns fatores relacionados com a biocompatibilidade que podem ser manipulados através de alterações nos biomateriais para provocar interações específicas material-tecido ou para estabelecer novas rotas para o metabolismo intracelular (ORÉFICE, 2006)

1.5 – Tratamentos de Superfície

Com o objetivo do aumento da área de superfície e da qualidade de adesão da interface osso-implante, processos de modificação de superfície têm sido propostos, sendo muitos baseados no princípio de que uma melhor e mais rápida osseointegração pode ser alcançada por meio da alteração topográfica do implante. Um dos principais objetivos da atual pesquisa

em implantes é o desenvolvimento de propriedades que induzam à uma reparação óssea rápida, guiada e controlada. Mais especificamente, além de acelerar o fenômeno de reparação, os implantes deveriam influenciar na formação de uma matriz óssea interfacial, denominada de neo-óssea, com composição, estrutura e propriedades biomecânicas adequadas e semelhantes àquelas da matriz óssea original. Estas adequações permitiriam não somente a recuperação mais rápida do paciente, mas também a fixação estável entre o osso e o implante, a qual forneceria a possibilidade da aplicação de carga mecânica mastigatória de modo imediato sobre o implante. Isto induz a um grande diferencial na diminuição do tempo de tratamento, aumento da casuística de sucesso, melhor efeito psicológico no paciente além da diminuição dos custos clínicos. Segundo Kilpadi e colaboradores os diversos processos de modificação de superfície nos implantes de titânio levam a necessidade de se caracterizar estas superfícies, a fim de correlacioná-las às respostas biológicas correspondentes.(PULEO, 1999),(KIPALDI, 1998),(KLOKKEVOLD, 1997).

Para ocorrer a formação de tecido ósseo é necessário que haja a captação e a reprodução de células precursoras de osteoblastos, que as mesmas se diferenciem em osteoblastos e produzam matriz extracelular não mineralizada, que será posteriormente calcificada. Estes eventos são bastante influenciados por algumas propriedades dos implantes, tais como, as características físico-químicas, a energia de superfície e a topografia da superfície (SCHWARTZ,1994)

1.6 – Laser Yb:YAG

O primeiro material a demonstrar a emissão do laser foi o cristal sintético de rubí. O laser de rubi (laser de estado sólido) foi desenvolvido por Theodore Maiman em 1960 (MAIMAN, 1960). Rapidamente após isto, pesquisadores em todo o mundo desenvolveram uma vasta lista de materiais capazes de emitir feixe de laser. O primeiro laser gasoso foi de He-Ne, desenvolvido em 1961, sendo o primeiro laser de radiação contínua (não pulsada). Em 1964 foi inventado o primeiro laser líquido. Um laser que não se enquadra nestas três categorias mencionadas acima é o laser de elétron livre (FEL). O FEL converte energia elétrica em luz através da interação de um feixe de elétrons com campo magnético alternado periodicamente (ondulador). Tais lasers produzem densidades muito altas de fluxo em espectro ultravioleta.

O nome LASER significa “Light Amplification by Stimulated Emission Radiation”. O princípio de amplificação está na criação de uma população de elétrons estimulados a saírem do seu estado natural para um estado de maior energia. Quando retornam ao seu estado original, estes elétrons emitem fótons com uma energia correspondente a energia de transição

do átomo. Através de um processo em cadeia, uma avalanche de emissões estimuladas de fótons e a amplificação do fenômeno acontecem. O feixe de fótons criado pode ser transportado através de um espelho semi-transparente. Além disso, a luz emitida é altamente monocromática e direcional, permitindo assim se obter um foco extremamente preciso. A Figura 3 apresenta o modelo da emissão estimulada contrastando com a emissão espontânea, onde na primeira os fótons emitidos têm as mesmas propriedades como energia e direção de propagação do fóton absorvido, enquanto nesta última isto não ocorre (ATKINS, 1999).

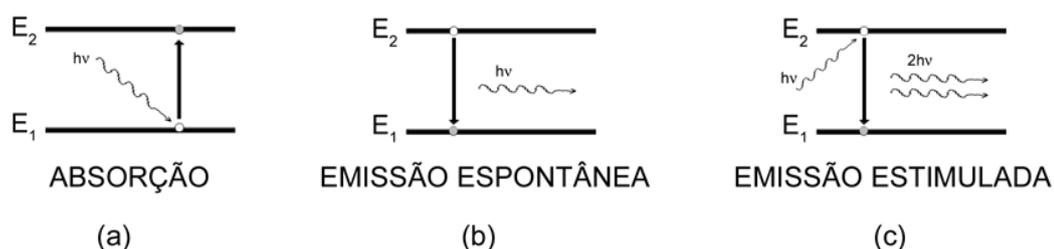


Figura 3: Transições Radiativas entre Níveis de Energia.

As interações de fótons com os elétrons em várias órbitas procedem-se principalmente por três processos: absorção, emissão espontânea e emissão estimulada. Um fóton pode ser absorvido por um átomo e, em consequência, um elétron passa de uma órbita para outra, de energia maior, Figura 3(a). O fóton só pode ser absorvido se a sua energia é igual à energia do estado final menos a energia do estado inicial. Esse processo é chamado de absorção e se diz que o átomo correspondente fica num estado excitado.

Um elétron pode passar espontaneamente de uma órbita para outra, de energia menor e, com isso, o átomo correspondente emite um fóton numa direção qualquer, Figura 3(b). O fóton emitido tem energia igual à energia do estado inicial menos a energia do estado final. Esse processo é chamado de emissão espontânea ou decaimento espontâneo e é o processo pelo qual a maioria dos átomos com excesso de energia passam a estados de menor energia. Diferentes materiais têm diferentes estruturas de órbitas e, portanto, irradiam fótons de diferentes comprimentos de onda.

Um elétron pode ser estimulado a passar de uma órbita para outra, de energia menor, por um fóton de energia igual à energia do estado inicial menos a energia do estado final, Figura 3(c). Esse processo é chamado de emissão estimulada. O fóton que estimulou a transição e o fóton emitido pelo átomo são coerentes, isto é, têm energias, freqüências, comprimentos de onda e fases iguais e, ainda, a mesma direção de propagação. Este é o processo básico de amplificação da radiação que origina o raio laser (ATKINS, 1999).

Os tipos de lasers mais empregados nos trabalhos de materiais são os gerados por uma mistura gasosa contendo gás carbônico e os gerados por Nd:YAG (*Neodymium – Yttrium Aluminum Garnet*) e Yb:YAG no estado sólido. Os lasers, de CO₂, Yb:YAG e Nd:YAG podem ser usados em aplicações de corte, solda e modificações de superfície. Até recentemente, somente laser de CO₂ era usado para modificar superfícies. Pelo advento do laser de alta potência de Nd:YAG e Yb:YAG no mercado esta limitação foi eliminada e existe uma tendência atual nas indústrias da troca do laser de CO₂ pelos de YAG. Isto se deve pela vantagem de transporte do feixe por fibras óticas flexíveis e maior absorção do laser pelo metal para este último tipo, o que compensa a sua menor eficiência com relação ao laser de CO₂ (WETTER, 2000).

No laser ativo de Yb:YAG, o YAG denota a matriz hospedeira *yttrium aluminum garnet* (estrutura granada de *yttrium* e alumínio), com fórmula Y₃Al₅O₁₂ (HENCHT, 1983). O *itrrio* Yb é o dopante (incorporado numa proporção de 0,725%), íon com valência Yb³⁺, elemento da família terra rara, incorporado à rede cristalina como substitucional ao *yttrium* Y. O cristal, que tem simetria cristalina cúbica, é crescido na forma de tarugo com eixo maior na direção [111]. Posteriormente, o tarugo é usinado na forma de um bastão cilíndrico com 6 mm de diâmetro e comprimento entre 50 e 200 mm. Ao ser estimulado por luz branca, o íon dopante Nd³⁺ emite radiação fluorescente com comprimento de onda $\lambda = 1,064 \mu\text{m}$ e largura espectral $\Delta\lambda \sim 4 \text{ \AA}$. Esta radiação pode se transformar em Laser se o elemento ativo apresentar ganho suficiente e estiver adequadamente alinhado no interior de um ressonador óptico (SILFVAST, 1996).

Desta forma se prosseguiram os estudos com o laser, Gyorgy et. al., estudaram a formação de óxidos durante a irradiação pelo laser pulsado de Nd:YAG e descobriram que existe uma maior concentração de oxigênio no sentido centro-borda e superfície-profundidade, isto associa-se que a altas temperaturas evita a difusão de oxigênio naquele local, assim migrando para as bordas, estas também apresentam um grau muito mais elevado de oxidação, isto deve-se o fato de que no centro e na superfície existe a formação de óxidos não-estequiométricos Ti_xO_{2x-1} devido a deficiência de átomos de oxigênio. Estes óxidos são de grande interesse e importância para o uso medicinal devido a sua biocompatibilidade e a sua bioinertilidade (GYORGY, 2002).

Lavisse et. al., estudaram a formação de diversos óxidos de titânio durante o processo de irradiação a laser sobre a superfície do titânio, onde os parâmetros fixados foram os seguintes, frequência de 5 kHz, velocidade de varredura de 500 mm.s⁻¹ e espaçamento de matriz que foi de 20 μm . Após a irradiação as amostras foram caracterizadas por XPS e EDS e com a ajuda

do diagrama de fases do Ti-O, observou-se a formação de Ti_6O , Ti_3O e Ti_2O para esses parâmetros do laser (LAVISSE, 2002).

Gyorgy et. al., estudaram a influência do feixe de laser sobre a superfície do titânio, onde eles variaram a distância da lente em relação à amostra e verificaram o que acontecia na superfície. Por testes de perfilometria observou-se uma maior irregularidade na superfície da amostra quando a lente está mais próxima, além de uma maior energia na irradiação da amostra. Assim causando superfícies mais irregulares e mais propícias para implantação, a fim de se obter a osseointegração de forma mais eficaz (GYORGY, 2004).

Cho et. al., estudaram a influência da rugosidade da superfície dos implantes, alguns apenas torneados e outros submetidos ao processo laser. Os implantes foram colocados na tíbia dos coelhos e após 8 semanas os implantes foram retirados e fez-se o teste de torque, onde constatou-se que os implantes com a superfície modificada pelo laser tiveram resultados mais expressivos, ou seja, os implantes com laser incrustaram melhor no osso, outra grande vantagem do processo laser é o baixo risco de contaminação devido as altas temperaturas alcançadas no processo (CHO, 2003).

1.7 - Biocerâmicas de Fosfatos de Cálcio – Apatitas

Apatita é um termo geral para minerais com composição $M_{10}(ZO_4)_6X_2$. Diferentes elementos podem ocupar os sítios M, Z e X, como mostra a Tabela 2. Particularmente, decorrente da posição ocupada na estrutura, podem ocorrer vacâncias no sítio referente a X (AOKI, 1991).

Tabela 2: 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 são 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^- .

Os fosfatos de cálcio têm merecido lugar de destaque entre os materiais utilizados para a reposição e regeneração óssea por apresentarem ausência de toxicidade local e sistêmica, ausência de respostas inflamatórias e habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro. Tais características são explicadas pela natureza química destes materiais que, por serem formados basicamente por íons cálcio e fosfato, participam ativamente do equilíbrio iônico com o fluido biológico. Os fosfatos de cálcio são hoje utilizados numa variedade de diferentes aplicações para o tratamento do sistema ósseo, incluindo o emprego do material isolado, como recobrimento de próteses e na associação com materiais poliméricos, tais como colágeno e polietileno (KAWACHI, 2000).

Uma forma conveniente de classificar os fosfatos de cálcio é através da razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo (razão Ca/P), a qual varia de 0,5 a 2,0, conforme mostra a Tabela 3 (AOKI, 1991).

Tabela 3: Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Ca/P
Fosfato Tetracálcico (TCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico (α, α', β, γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Monohidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	CaHPO_4	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio dihidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato Heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Dihidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5

Metafosfato de cálcio (α, β, γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5
---	----------------------------	-----

Fonte: AOKI, 1991.

Uma das propriedades mais importantes dos fosfatos de cálcio, a qual é explorada nas diversas aplicações e que pode predizer o seu comportamento in vivo, é a solubilidade em água. De forma geral, quanto maior a razão Ca/P, menor será a solubilidade. Observando-se as isotermas de solubilidade de sete fosfatos de cálcio, Figura 4, nota-se a inclinação negativa nas regiões neutras e ácidas do diagrama de fases. Isso reflete o fato de que todos os compostos são mais solúveis conforme o pH diminui. Na região alcalina, a concentração de cálcio aumenta com o aumento do pH (SANTOS, 2002). Dessa forma, em pH fisiológico, a solubilidade dos fosfatos de cálcio, e conseqüentemente sua degradação in vivo, é dada pela seguinte ordem:



A degradação do material é também afetada pela desintegração física em partículas menores e 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 ($A_{\text{pó}} > A_{\text{sólido poroso}} > A_{\text{sólido denso}}$), 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).

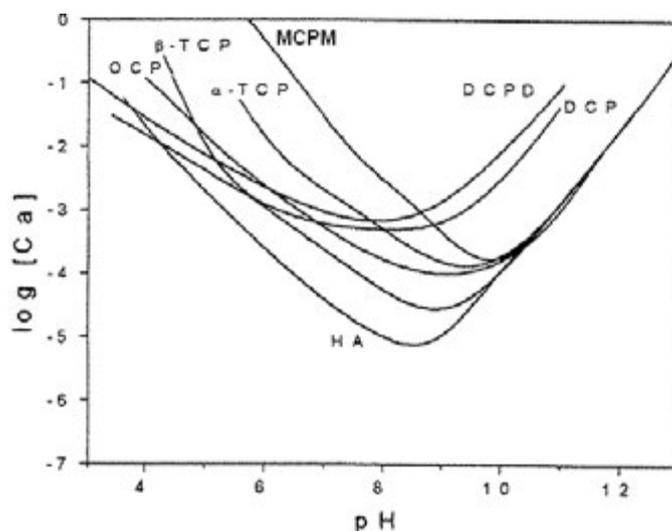


Figura 4: Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C : isoterma de solubilidade mostrando $\log[\text{Ca}]$ e pH de soluções em equilíbrio com vários sais. (FERNÁNDEZ, 1999)

Os ossos e dentes de todos os vertebrados são compósitos naturais formados por moléculas de colágeno ligadas em cadeias lineares arranjadas em fibras. Entre estas moléculas há pequenos compartimentos intersticiais regularmente espaçados onde estão presentes nanocristais de um sólido inorgânico, que representa cerca de 65% da massa total do osso, Figura 6. Em 1926 De Jong observou a semelhança entre os padrões de difração de raios X destes nanocristais inorgânicos e de um fosfato de cálcio. Apesar do componente mineral do tecido ósseo não apresentar composição definida e mostrar variações entre os estágios de maturação e envelhecimento, sua estrutura cristalina e razão Ca/P se assemelhavam as da HA, apresentando ainda a presença de íons Na^+ , Mg^{2+} e CO_3^{2-} e em menor quantidade K^+ , F^- e Cl^- , podendo ser caracterizada como uma HA carbonatada de composição representada por:



onde \square representa as possíveis substituições catiônicas. Desde então vários estudos foram conduzidos para testar os efeitos de diferentes fosfatos de cálcio em contato com o tecido ósseo vivo (VALLET-REGI, 2004).

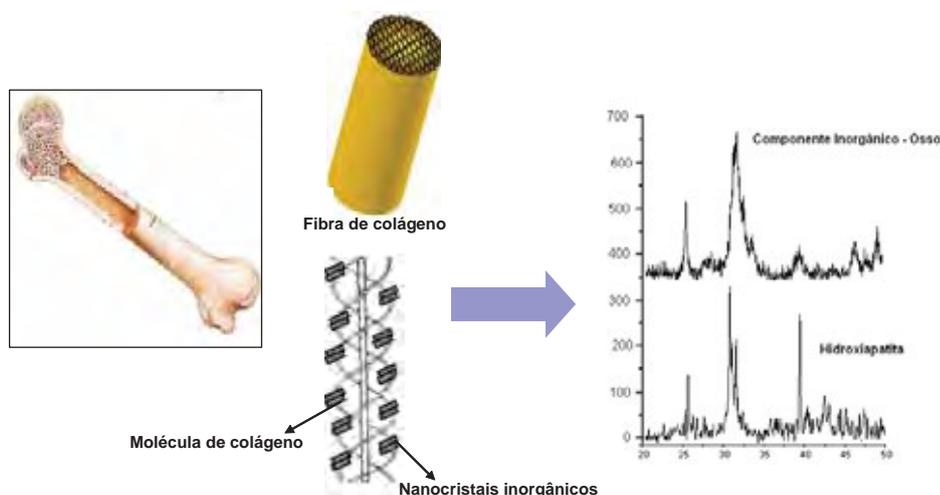


Figura 5: Arranjo do colágeno no tecido ósseo e semelhança dos padrões de difração de raios X do componente inorgânico do tecido ósseo e da HA. Fonte: VALLET-REGI, 2004; VERCIK, 2004.

A deposição do fosfato de cálcio nas moléculas de colágeno ocorre por um processo de biomineralização controlado envolvendo mais de 200 diferentes proteínas, que atuam como inibidores e nucleadores para o crescimento epitaxial e ancoragem ao colágeno. Por outro lado, a cristalização do fosfato de cálcio presente no tecido ósseo envolve a formação cineticamente

controlada de produtos intermediários metaestáveis. Dentro de condições *in vitro*, é observada a transformação de ACP a OCP, o qual se converte ao fosfato de cálcio com composição semelhante ao presente no tecido ósseo (VALLET-REGI, 2004).

Os fosfatos de cálcio apresentam-se hoje como os principais materiais estudados e empregados como biomaterial para a reposição e regeneração do tecido ósseo, pois apresentam como principais características:

- Semelhança com a fase mineral de ossos, dentes e tecidos calcificados;
- Excelente biocompatibilidade;
- Bioatividade;
- Ausência de toxicidade;
- Taxas de degradação variáveis;
- Osteocondutividade.

Devido às semelhanças química e estrutural com a fase mineral de ossos e dentes, a HA é o fosfato de cálcio mais pesquisado e utilizado como biomaterial. Contudo, outros fosfatos de cálcio também são considerados de interesse biológico, pois ocorrem em calcificações normais e patológicas e durante as diferentes etapas de desenvolvimento ósseo (KAWACHI, 2000). A Tabela 4 relaciona diversos fosfatos de cálcio e suas ocorrências em sistemas biológicos.

Tabela 4: Ocorrências de fosfatos de cálcio em sistemas biológicos.

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

Fonte: KAWACHI, 2000.

1.8 - Fosfatos de Cálcio de interesse biológico

1.8.1 - Hidroxiapatita

As apatitas são definidas pela fórmula química $M_{10}(Y)_6Z_2$ e formam uma gama variada de soluções sólidas como resultado da substituição de sítios M^{2+} , XO_4^{3-} ou Z^- . As espécies M^{2+} são

tipicamente cátions metálicos divalentes como Ca^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} ou Cd^{2+} . As espécies Y^{3-} são tipicamente um dos seguintes ânions trivalentes: PO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} , CrO_4^{3-} ou MnO_4^{3-} . Os ânions monovalentes Z^- são geralmente F^- , OH^- , Br^- ou Cl^- (DUCHEYNE, 1998). O ânion divalente CO_3^{2-} no lugar de Z_2 dá origem as carbonatoapatitas.

A hidroxiapatita (HA) é uma biocerâmica que tem uma estrutura similar a fase mineral de ossos e dentes (KAWACHI, 2000). Este material é um importante substituto do osso humano em implantes e próteses e isto se deve as suas propriedades de biocompatibilidade, bioatividade e osseointegração.

Hidroxiapatita (HA), especificamente hidroxiapatita de cálcio, é um composto de composição, estequiometria - $(\text{Ca})_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - e cristalografia definida. A hidroxiapatita de cálcio pertence ao sistema hexagonal, com grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$, que é caracterizado por uma simetria perpendicular a três eixos "a" equivalentes (a_1 , a_2 , a_3), formando ângulos de 120° entre si. A razão ideal Ca/P da hidroxiapatita estequiométrica é 10/6, ou seja, 1,67, e a densidade calculada é 3,219 g/mL (PARK, 1984).

A sua célula unitária contém uma representação completa do cristal de apatita, consistindo em grupos de Ca, PO_4 e OH empacotados juntos em um arranjo como visto na Figura 6.

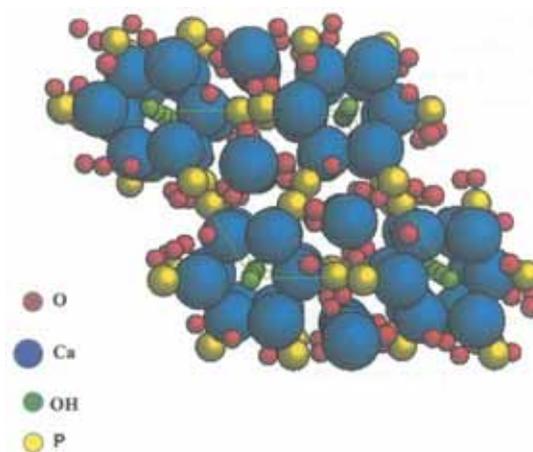


Figura 6: Estrutura da Hidroxiapatita

O carbonato, CO_3^{2-} , pode fazer substituições tanto no grupo da hidroxila OH^- quanto no do fosfato PO_4^{3-} , designadas como substituições do tipo A ou B, respectivamente. Estes dois tipos de substituições têm efeitos opostos nos parâmetros de rede (eixos "a" e "c"): A substituição do tipo A causa uma expansão no eixo "a" e uma contração no eixo "c", ao passo que a substituição do tipo B causa uma contração no eixo "a" e uma expansão no eixo "c". As substituições do tipo B associadas a substituições de Ca^{2+} por Na^+ causam mudanças

morfológicas nos cristais de apatita: de acicular para bastões e para equiaxiais com aumento do teor de carbonato (LEGEROS, 1993). A existência de cavidades na estrutura cristalina responde pela porosidade e conseqüente atividade superficial das apatitas (BRANEMARK, 1987). Várias substituições que também alteram as propriedades das apatitas ocorrem, além daquelas mencionadas até aqui. São elas: Ca^{2+} por Sr^{2+} e Ca^{2+} por Mg^{2+} , que causam uma maior solubilidade das apatitas; quando presentes simultaneamente, os substituintes podem ter efeitos sinérgicos ou antagônicos nas suas propriedades. O magnésio e o carbonato têm efeitos sinérgicos sobre a cristalinidade e sobre as propriedades de dissolução das apatitas sintéticas; magnésio e fluoreto ou carbonato e fluoreto têm efeitos antagônicos, o efeito do fluoreto sendo o mais dominante (LEGEROS, 1993). A parte inorgânica do tecido ósseo consiste em uma fase amorfa e uma fase cristalina, a primeira sendo fosfato tricálcico enquanto que a última é hidroxiapatita. A fase amorfa predomina em ossos novos e é parcialmente transformada em fase cristalina com a idade (BRANEMARK, 1987).

As propriedades químicas da HA podem ser modificadas através do método de sua preparação. Para implantes ósseos ou dentários, duráveis por muitos anos, utiliza-se um material pouco solúvel, constituído por hidroxiapatita pura. Quando se deseja que o biomaterial seja reabsorvido pelo corpo, cedendo lugar ao tecido ósseo novo, pode ser utilizado uma cerâmica mais solúvel, geralmente constituída por uma mistura de hidroxiapatita com outros fosfatos de cálcio (KANAZAWA, 1989). Estes fosfatos podem ser transformados em cerâmicas osteocondutoras (são capazes de induzir a proliferação de tecido ósseo sobre a superfície do implante) (RIGO, 1999).

1.8.2 - Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)

Embora não pareça existir em quantidade detectável nos tecidos duros dos vertebrados, o ACP tem sido encontrado em sistemas biológicos como composição de cálculos dentários e urinários. Apresenta interesse como biomaterial, pois ocorre como uma fase intermediária durante a formação de HA no meio biológico e em sistemas aquosos (JULIEN, 2007).

Apresenta fórmula química $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, com n variando de 3 a 4,5. Corresponde em composição a HA deficiente em cálcio de composição $\text{Ca}_9\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot n\text{H}_2\text{O}$.

Análises por Microscopia Eletrônica de Transmissão mostram que o ACP é formado por partículas esféricas com diâmetros de 20 a 120nm sem estrutura, que são aglomerados de pequenas partículas. Há a possibilidade que o ACP apresente uma estrutura semelhante a da HA, mas como os cristais são muito pequenos esta fase aparece como amorfa. Alguns autores descrevem a ocorrência de dois tipos de ACP, denominados de ACP1 e ACP2, os quais

apresentam a mesma composição, diferindo apenas em morfologia. As morfologias características para estes compostos são, respectivamente, grãos esféricos e morfologia flocular, apresentadas na Figura 7 (KIM, 2005).

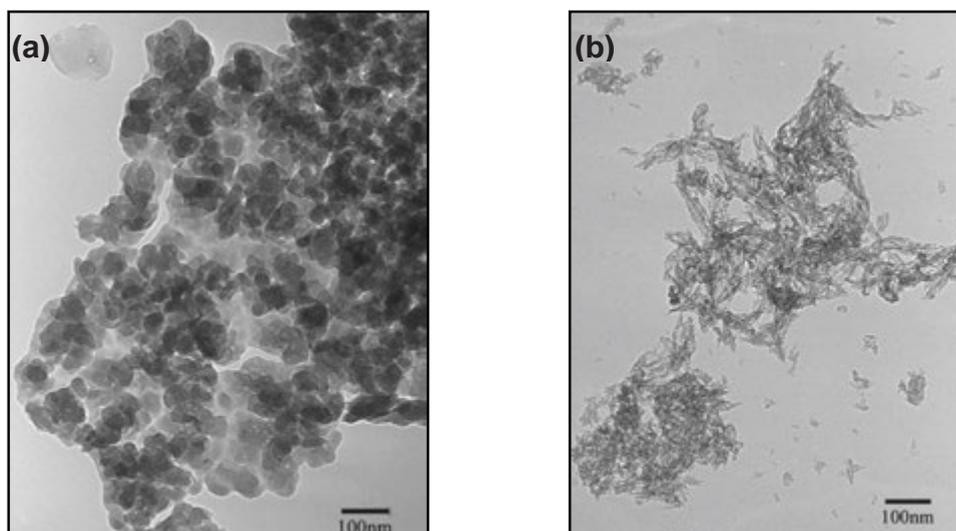


Figura 7: Morfologias características do ACP1(a) e ACP2(b). Fonte: KIM, 2005.

Baseado no método de distribuição radial de raios X é proposto que o ACP é formado por clusters esféricos de aproximadamente 0,95 nm de diâmetro de composição $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$, denominados clusters de Posner, com moléculas de água nos interstícios, Figura 8.

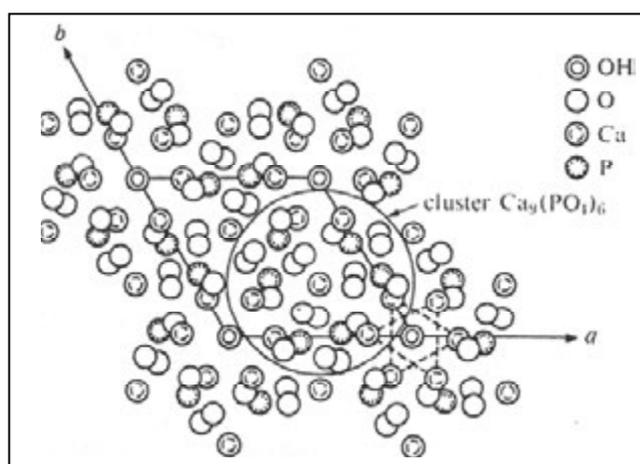
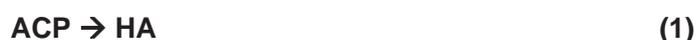


Figura 8: Distribuição dos clusters de ACP. Fonte: KANAZAWA, 1989.

As principais propriedades apresentadas pelo ACP incluem:

- *Possibilidade de substituições catiônicas e aniônicas*: apresenta tal propriedade semelhante a HA, porém com menor número de possibilidades de substituições, incluindo apenas os íons Mg^{2+} como substituinte do Ca^{2+} e CO_3^{2-} e F^- como substituintes do PO_4^{3-} .

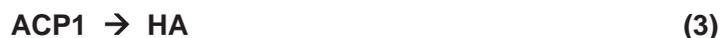
- *Habilidade de transformação a outros fosfatos de cálcio*: o ACP é reconhecido ocorrer como uma fase metaestável nos estágios iniciais da formação de fosfatos de cálcio à partir de soluções aquosas supersaturadas com pH neutro ou alcalino e também durante a mineralização dos tecidos vivos. Pode converter-se diretamente a HA ou tendo como fases intermediárias o fosfato octacálcico (OCP) e HA deficiente em cálcio (HA_D), conforme descrito (KANAZAWA, 1989):



ou



Alguns autores descrevem que a transformação de ACP a HA ocorre diretamente a partir de ACP1, enquanto que a sua transformação através da formação de intermediários ocorre tendo ACP2 como outro intermediário, conforme descrito abaixo (DEKKER, 2005; IJIMA, 1998):



- *Solubilidade*: a maior solubilidade do ACP em comparação a HA torna-se uma característica importante para a sua utilização como biomaterial, pois lhe confere maior velocidade de degradação no meio biológico. A velocidade de degradação de um material está fortemente relacionada à osteocondutividade e desempenha papel importante na fixação inicial de implantes com o tecido ósseo. Um material solúvel possibilita a troca de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} com o meio biológico, facilitando o crescimento ósseo.

1.8.3 - Fosfato Octacálcico (OCP)

Além de ocorrer como fase intermediária durante a formação de ossos e dentes, convertendo-se diretamente a HA, o OCP participa do processo de controle da morfologia dos cristais presentes no tecido ósseo através da sua adsorção na superfície da matriz proteica *amelogenina*, a qual é responsável por este processo (SUZUKI, 2006).

Apresenta fórmula química $Ca_8(HPO_4)_2(PO_4)_4 \cdot 5H_2O$ e estrutura cristalina pertencente ao sistema triclinico ($P \bar{1}$) com parâmetros de rede $a = 19,71\text{Å}$, $b = 9,53\text{Å}$ e $c = 6,83\text{Å}$ e $\alpha =$

$9,014^\circ$, $\beta = 92,52^\circ$ e $\gamma = 108,67^\circ$. Consiste de um arranjo alternado entre camadas com estrutura semelhante a da HA de composição $4[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}]$ e camadas hidratadas de composição $4[\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}]$, conforme apresentado na figura 9 (ELLIOT, 1984; KANAZAWA, 1989).

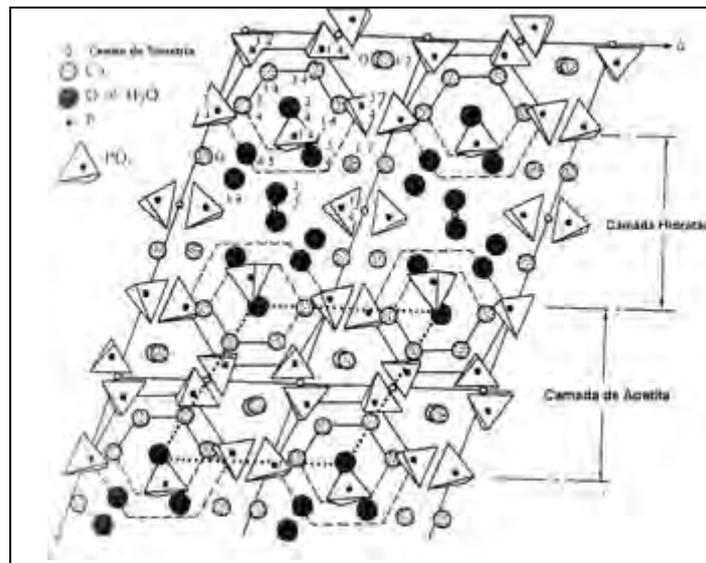


Figura 9: Estrutura cristalina do OCP. Fonte: KANAZAWA, 1989.

A Figura 10 mostra as regiões de pH e temperatura nas quais o OCP pode ser formado. Como pode ser visto, a formação do OCP ocorre numa região intermediária entre a HA e o $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (DCPD – Monohidrogênio fosfato de cálcio dihidratado) ou CaHPO_4 (DCP – Monohidrogênio fosfato de cálcio). Dessa forma, nota-se que o OCP apresenta estrutura e composição intermediárias entre o DCPD e a HA, explicando a similaridade de suas propriedades com a HA.

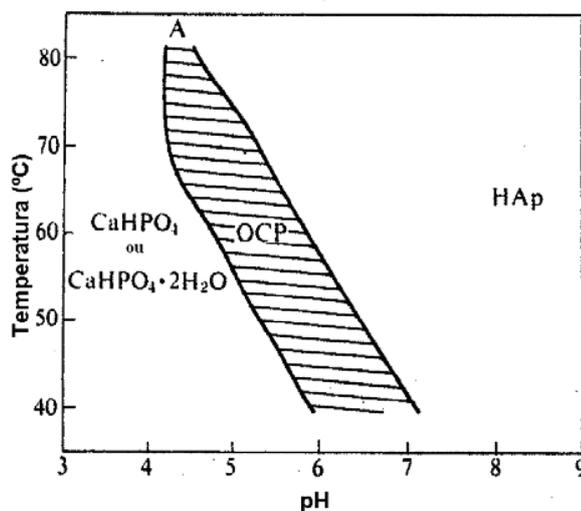


Figura 10: Regiões de pH e temperatura de formação do OCP. Fonte: KANAZAWA, 1989.

As principais propriedades do OCP incluem (DEKKER, 2005; IMAIZUMI, 2006):

- *Possibilidade de substituições catiônicas e aniônicas:* a estrutura do OCP permite a incorporação de íons Cd^{2+} , Cu^{2+} e F^- , este último levando à formação de fluorapatita $[\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}_2]$. A capacidade de adsorção destes íons pelo OCP é maior que a da HA e menor que do composto $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

- *Adsorção de proteínas:* o OCP adsorve proteínas em sua superfície tão bem quanto a HA.

- *Conversão a HA:* O OCP é uma fase metaestável e sua transformação a HA é termodinamicamente favorável, sendo espontânea e irreversível. Esta transformação ocorre por hidrólise do OCP, acompanhada pelo consumo de íons Ca^{2+} da solução ou do fluido biológico, segundo a reação 5 (SOMRANI, 2005):



- *Proliferação celular e osteocondutividade:* a utilização de OCP como biomaterial vem crescendo acentuadamente, pois estudos revelam que este composto apresenta as propriedades de proliferação celular e osteocondutividade mais acentuadas que da HA.

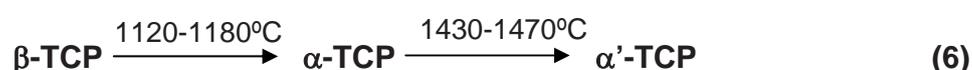
Dekker et al. (2005) analisaram o comportamento *in vitro*, mediante cultura de células da medula óssea, e *in vivo*, mediante implantação em ratos, de amostras de Ti recobertas com HA carbonatada e OCP. Os resultados mostraram que a proliferação e adesão celular foram maiores nas amostras recobertas por OCP. Além disso, o recobrimento de OCP ocasionou a

formação de maior volume de tecido ósseo na superfície do Ti, sendo este osso mais organizado que o formado sobre o recobrimento de HA carbonatada.

1.8.4 - Fosfato Tricálcico (TCP)

Este fosfato de cálcio ocorre em várias calcificações patológicas, como cálculos dentários e urinários e é o principal constituinte de cáries dentárias.

Pode ocorrer em 4 formas alotrópicas, onde as temperaturas de transição e sequência de ocorrência são:



a fase γ -TCP só ocorre em altas pressões.

A estrutura cristalina e os parâmetros de rede de cada fase são apresentados na Tabela 5. A estrutura cristalina da fase α' -TCP não é conhecida devido à dificuldade de preparação.

Tabela 5: Estruturas cristalinas e parâmetros de rede das fases 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 principais propriedades apresentada pelo TCP incluem (KAWACHI, 2000; KWON, 2003; CAMPBELL, 2003):

- *Possibilidade de substituições catiônicas:* a forma alotrópica β -TCP possibilita que até cerca de 15% dos íons Ca^{2+} sejam trocados por Mg^{2+} sem mudanças significativas em sua estrutura, originando o composto denominado de β -TCP substituído por magnésio.

- *Bioatividade e Osteocondutividade:* as formas alotrópicas α e β -TCP exibem a mesma habilidade de osteocondução, porém a fase α -TCP apresenta maior bioatividade, sendo este fato atribuído ao arranjo estrutural desta fase que possibilita que maior quantidade de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} sejam trocados com o meio biológico.

- *Biodegradação*: a utilização do TCP juntamente com a HA tem sido uma alternativa viável para aumentar a velocidade de reabsorção da HA. Nestes casos, a velocidade de dissolução da mistura HA/TCP é controlada pela quantidade de TCP utilizado. Devido ao seu comportamento biodegradável, o TCP na formas alotrópicas α e β , tem se tornado objeto de interesse na área de biomateriais, sendo utilizado na ortopedia e odontologia como material de preenchimento de cavidades e defeitos ósseos e fixação de tecidos moles.

1.9 - Método Biomimético

O processo de deposição biomimética se baseia na precipitação heterogênea sobre substratos de titânio ativados. A superfície do titânio é tratada em uma solução alcalina, geralmente NaOH, e posteriormente tratada termicamente. Esse procedimento ativa a superfície do metal, acelerando a nucleação e crescimento de fosfatos de cálcio. A nucleação e crescimento do recobrimento de apatita se dão após imersão em uma solução salina balanceada (solução de Hank's ou SBF), a 37°C por vários dias (DE GROOT, 1998). Esse processo se assemelha ao processo de biomineralização óssea (LAYROLLE, 1998).

1.10 – Modelos da Dissolução dos Fosfatos de Cálcio

Hidroxiapatita, fluorapatita e apatitas carbonatadas apresentam o fenômeno denominado “Equilíbrio Metaestável de Solubilidade” (MÊS) caracterizado pela não concordância do valor do produto de solubilidade iônica (K_{ps}), com o valor do produto das atividades iônicas para os íons presentes em uma solução mantida em contato com o sólido por um longo período. As discrepâncias entre o valor de K_{ps} teórico e experimental têm sido tratadas como função da quantidade de sólido que se dissolve até que o equilíbrio metaestável seja alcançado, do pH da solução e também da concentração inicial de Ca^{2+} , íons fosfato e outros íons presentes na solução.(CHANDER, 1984), (MAFE, 1996)

A solubilidade atípica de alguns fosfatos de cálcio segundo o seu comportamento têm sido atribuída a diversas causas. Uma destas causas têm sido as modificações na superfície destes fosfatos, que ocorrem pela ação da solução sobre a superfície destes.(LAMER, 1962)

Para investigar a ocorrência de MÊS e as modificações causadas pela solução na superfície dos fosfatos de cálcio, dois parâmetros têm sido determinados: as concentrações e as respectivas atividades dos íons presentes na solução em equilíbrio com o sólido e a quantidade de sólido que se dissolve até que o MÊS seja alcançado. De forma sucinta, a

metodologia utilizada para estes estudos pode ser descrita por: uma massa reduzida do fosfato de cálcio é suspensa em um tampão contendo íon Ca^{2+} e HPO_4^{2-} . Após um período suficiente para o equilíbrio ser alcançado, as concentrações de Ca^{2+} e PO_4^{3-} são determinadas por métodos analíticos clássicos. (BOCKRIS, 1977)

Além dos fatores acima relatados, recentemente tem-se investigado as relações entre propriedades da superfície dos fosfatos de cálcio sólido e o seu comportamento como Biomaterial. Os resultados destes estudos mostram que as características da superfície dos fosfatos de cálcio são uns dos principais fatores que determinam o sucesso ou falha dos implantes formados por estes materiais. (THOMANN, 1989),(BOCKRIS, 1977)

Tem-se estudado também a influência da composição destes fosfatos sobre o seu comportamento tanto *in vitro* como *in vivo*. Assim: cristalinidade, razão Ca/P, morfologia, porosidade, tamanho das partículas e a presença de íons como pirofosfato, carbonatos, fluoreto, etc, têm sido relacionados ao comportamento dos fosfatos de cálcio tanto em estudos "*in vitro*" como em estudos "*in vivo*". (THOMANN, 1993)

A partir do que foi exposto, é clara dependência das propriedades relacionadas à biocompatibilidade dos fosfatos de cálcio e o comportamento da superfície destes materiais sob a ação dos fluidos biológicos. Avançar, portanto, na compreensão destes comportamentos representa a possibilidade de controlá-lo e de estender este controle para amenizar situações adversas, como a cárie e a osteoporose ou estimular processos desejáveis, como a osteogênese.

Com o crescente aumento nos estudos da dissolução de apatitas Zhu e colaboradores estudaram a dissolução da hidroxiapatita sintética (HAP) e da fluorapatita do (FAP) em água pura a 25°C e a 45°C em uma série de experiências do grupo. As análises de DRX, de FT-IR e de MEV indicaram que as apatitas sintéticas HAP e as FAP, indicaram uma estrutura microcristalina quando comparadas com as apatitas nas experiências utilizadas. Nos resultados obtidos verificou-se não ter nenhuma variação óbvia depois que a dissolução salvo a existência de grupos do OH^- em espectros de FT-IR para FAP após uma dissolução de 2880 h. Durante a dissolução do HAP (0-4320 h), o fosfato de cálcio aquoso alcançou a máxima concentração após 120 h de processo. Para a dissolução de FAP na água pura, após um período de duração de 1440 h, as concentrações do elemento e o pH se tornaram constantes sugerindo a realização de um de estado estacionário entre a solução e o sólido. Durante o período inicial de reação da dissolução de FAP (120 h), os componentes minerais foram liberados em relações não estequiométricas na proporção de Ca: P, Ca: F e P: F. Zhu e colaboradores analisando os

resultados calcularam as energias livres de formação do ΔG_f o [HAP] e ΔG_f o (FAP) que são -6282.82 kJ/mol e -6415.87 kJ/mol, respectivamente.

O mecanismo geral da dissolução é baseado no nível atual do conhecimento e será modificado simultaneamente com aparência de dados experimentais novos. Pontos agora alguns faltantes e obscuros podem ser marcados para serem estudados no futuro:

1. Transformações do produto químico que acontecem com os íons durante a difusão com Camada de Nernst;
2. Composição química da superfície das apatitas durante a dissolução;
3. processos de absorção e de destacamento iônicos;
4. Processos de formação e de crescimento dos núcleos da dissolução;
5. estágios iniciais da formação dos poços gravura em água forte nas tomadas da deslocação;
6. Influência específica dos ânions na absorção iônica, à difusão de superfície, e ao destacamento. Os pontos acima devem ser investigados a fim ter a melhor compreensão de todos os processos envolvidos. As técnicas modernas da análise de estado de superfície puderam ser úteis na compreensão da estrutura de superfície e de sua composição química.

1.11 – Modelo da Camada de Cálcio.

Um dos principais modelos de dissolução para os fosfatos de cálcio é o modelo da camada de cálcio. Este modelo tem por objetivo explicar a dissolução dos fosfatos de cálcio, e têm o mérito de ser um dos poucos modelos matemáticos que, além de descrever a dissolução destes materiais, chega a resultados quantitativos relacionados à solubilidade e cinética de dissolução dos fosfatos de cálcio.(DONNAN, 1911)

Este modelo desenvolvido a partir de modelos matemáticos que descrevem a adsorção de íons em superfícies e modelos para a superfície, considera que ao longo da dissolução dos fosfatos de cálcio ocorre a adsorção de íons cálcio na superfície destes fosfatos, impedindo que a dissolução dos fosfatos de cálcio continue a ocorrer ao final do processo.

A Figura 11 representa a premissa básica do modelo proposto por Gramain.

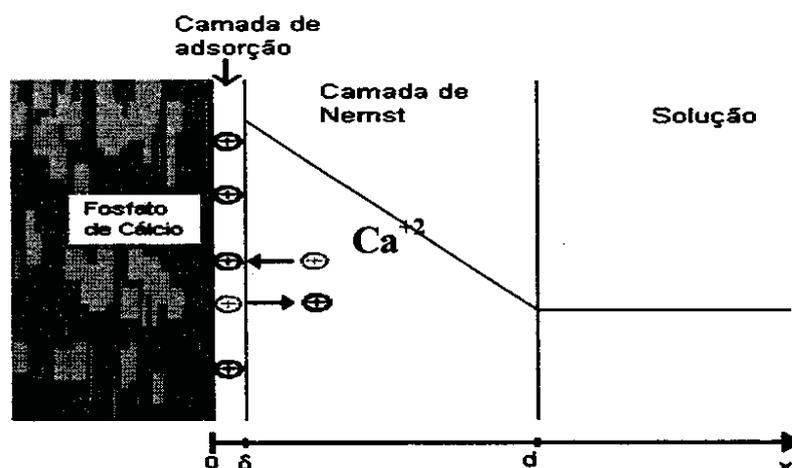


Figura 11: Modelo da camada de cálcio proposto por Gramain para a dissolução de hidroxiapatita que representa um determinado instante da cinética de dissolução, onde temos uma camada de adsorção seguida da camada de Nernst. A linha inclinada representa a variação da concentração de íons cálcio ao longo desta camada de Nernst.

A Figura 11 representa um instante qualquer ao longo da cinética de dissolução dos fosfatos de cálcio. Na figura 11 são mostradas a interface fosfato de cálcio e solução circundante, e a superfície do fosfato de cálcio com íons cálcio adsorvidos. Adjacentes à camada de adsorção existe a camada de Nernst, na qual ocorre a variação da concentração de íons cálcio ao longo da distância em relação à superfície do fosfato de cálcio, Como é possível observar na Figura 11, a concentração de íons cálcio diminui à medida que a distância da superfície do fosfato de cálcio aumenta.(DONNAN, 1911).

1.12 - Liberação Controlada de Fármacos

A tecnologia de liberação controlada de fármacos representa uma das fronteiras da ciência, a qual envolve diferentes aspectos multidisciplinares e pode contribuir muito para o avanço da saúde humana. Os sistemas de liberação, freqüentemente descritos como “drug delivery systems”, oferecem inúmeras vantagens quando comparados a outros de dosagem convencional.

O sistema de liberação apresenta vantagens como:

- Maior eficácia terapêutica, com liberação progressiva e controlada do fármaco, a partir da degradação da matriz;
- Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;

- Natureza e composição dos veículos variada e, ao contrário do que se poderia esperar, não há predomínio de mecanismos de instabilidade e decomposição do fármaco (bio-inativação prematura);
- Administração segura (sem reações inflamatórias locais) e conveniente (menor número de doses);
- Direcionamento a alvos específicos, sem imobilização significativa das espécies bioativas;
- Tanto substâncias hidrofílicas quanto lipofílicas podem ser incorporadas.

Devido ao sistema de liberação de fármacos se apresentar um método promissor e vantajoso quando comparados aos sistemas convencionais de administração de fármacos é que pesquisadores do mundo se empenham nos sistemas de liberação controlada (DUMITRIU, 1994). Nas formas de administração convencionais (spray, injeção, pílulas) a concentração da droga na corrente sangüínea apresenta um aumento, atinge um pico máximo e então declina. Desde que cada droga possui uma faixa de ação terapêutica acima da qual ela é tóxica e abaixo da qual ela é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas. Este fato é problemático se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica.

O objetivo dos sistemas de liberação controlada é manter a concentração do fármaco entre estes dois níveis por um tempo prolongado, utilizando-se de uma única dosagem (GHANDEHARI, 2003), (FARREL, 2003). A diferença de concentração plasmática efetiva em função do tempo, entre sistemas convencionais e de liberação controlada, pode ser melhor visualizado na Figura 12.



Figura 12: Perfis de liberação de drogas em função do tempo: convencional x controlada. (GHANDEHARI, 2003).

1.13 - JUSTIFICATIVA

A cada ano aumenta o número de pessoas que sofrem infarto nas veias que irrigam o sangue ao coração, gerando, um elevado risco de vida ao paciente, transtornos sociais e psicológicos. Os avanços na medicina moderna têm possibilitado o desenvolvimento de dispositivos que geram uma melhora na qualidade de vida dessas pessoas. No campo de cirurgias do coração, por exemplo, pacientes que sofrem infarto devido ao entupimento das veias do coração por gordura, para possibilitar o fluxo sanguíneo normal foi criado um dispositivo denominado stent. O desenvolvimento das cirurgias do coração no campo da medicina e de outras áreas têm dado incentivo à pesquisa de dispositivos no campo dos biomateriais a fim de melhorar a qualidade de vida da população.

Nos campos medicinais, ortopédicos e odontológicos, busca-se obter um dispositivo no qual, além de excelente resistência mecânica, ofereça boa bioatividade/compatibilidade quando em contato com o meio biológico.

Dentre essas técnicas, o processo de modificação de superfície por feixe de Laser vem ganhando destaque nos últimos anos, pois além de se obter morfologias parecidas com as demais técnicas, não deixa nenhum vestígio de contaminação (HALLGREN, 2003; CHO, 2003; GAGGL, 2000), característica importante para aplicações clínicas. Implantes com essa modificação já estão sendo inseridos no mercado.

Contudo, resultados comprovam que os materiais bioativos nas superfícies de stents favorecem uma recuperação mais rápida dos enfermos. Dentre esses materiais, os grupos das apatitas ganham destaque por possuírem elementos similares aos do tecido ósseo. Entre as técnicas de preparação das apatitas, podem-se destacar os processos sol-gel e biomimético. Nos últimos anos, recobrimentos pela rota sol-gel, utilizando-se os precursores nitrato de cálcio e ácido fosfórico, vêm sendo muito estudados. Pois, além de apresentarem resultados equivalentes aos alcóxidos de cálcio e fósforo, a preparação do sol é simples e de menor custo econômico em relação aos alcóxidos.

Nesse aspecto, stents de biocompósitos (titânio com apatitas bioativas) estão sendo estudados e obtendo bons resultados quanto à liberação de apatitas (CHENG, 2005; MANSO, 2003; LIU, 2002), assim, obtendo-se uma plataforma inorgânica propícia para a incorporação de fármacos. Entretanto, ainda, encontram-se alguns problemas, sendo um dos principais, a falta de adesão entre o substrato e o recobrimento. Nesse sentido, o uso do processo a Laser como modificação de superfície antes do depósito, pode ser utilizado para melhorar esse problema.

1.14 - Estudo Piloto dos Parâmetros do laser

Foram selecionadas 2 superfícies por microscopia eletrônica de varredura entre 81 condições irradiadas experimentalmente. Os critérios de exclusão envolveram a observação de falhas de área irradiada, trincas, ausência de padronização ou áreas excessivamente irradiadas. O grupo de superfícies mais homogêneas foi obtido utilizando a potência referenciada no equipamento entre 100 e 255 com variação da frequência entre 20 a 35 kHz.

2 - OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo:

- Modificar a superfície do titânio por feixe de Laser Yb:YAG, a fim de gerar propriedades físico-químicas adequadas para incorporação de apatitas;
- Sintetizar as fases de apatitas ACP, OCP, HA e β – TCP a fim de serem utilizadas como uma matriz inorgânica para uma possível incorporação de fármacos;
- Estudar a solubilidade das fases de apatitas a fim de possibilitar a utilização da mesma como uma possível matriz inorgânica.
- Estudar a composição de fase de apatitas em cada amostra.

3 - METODOLOGIA

3.1 - Materiais

O Ti cp é classificado em graus 1, 2, 3 e 4, de acordo com as normas ASTM F67-88 designadas para normatização de biomateriais. A principal diferença, entre os graus do Ti cp, é a composição de oxigênio, nitrogênio e ferro presente.

A Tabela 6 apresenta um comparativo entre a análise química das amostras recebidas da empresa TITANEWS e a composição química nominal de acordo com a ASTM F67-88 para biomateriais (ASM, 1992). A Tabela 6 apresenta as propriedades mecânicas limites para o Ti cp permitidas pela ASTM F67-88.

Tabela 6: Ti c.p. e suas composições máximas. ASTM F67-88 (ASM, 1992).

Elementos\ (% máx)	G 1	G 2	G3	G4	Amostra recebida
N	0,03	0,03	0,05	0,05	0,004
C	0,10	0,10	0,10	0,10	0,005
H	0,015	0,015	0,015	0,015	0,002
Fe	0,20	0,30	0,30	0,50	0,090
O	0,18	0,25	0,35	0,40	0,130
Ti	balanço	balanço	balanço	balanço	balanço

Tabela 7: Propriedade Mecânicas de resistência de tração/tensão do Ti cp. ASTM F67-88 (ASM, 1992).

Tensão/Tração(GPa)	G 1	G 2	G3	G4	Amostra recebida
Ti cp	240	340	450	550	547

Os corpos de prova de α -Ti foram cortados na máquina ISOMET 1000 – BUHLER, para se obter amostras com as seguintes dimensões 1,5 cm de diâmetro, 1,5 cm de largura e 0,2 cm de espessura foram polidas mecanicamente com lixas 180, 600 e 1000 mesh, respectivamente. Estes substratos após o polimento foram limpos com álcool etílico, acetona e água destilada, respectivamente, em um equipamento de ultra-som, por 10

minutos cada um. Posterior a limpeza as amostras foram caracterizadas por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) acoplada a um analisador de espectroscopia por espalhamento de energia dispersiva de raios X (EDS) e difratometria de Raios X.

3.2 - Irradiação da superfície do titânio pelo Laser

Foi realizada a calibração do aparelho que consistiu: Fixação da distância focal e delimitação da área de exposição ao feixe. As amostras foram posicionadas de maneira que o centro da área de irradiação apresentasse a mínima inclinação do feixe. O equipamento utilizado foi o Laser OmniMark 20 F Ytterbium:YAG (IQ-Unesp) em atmosfera ambiente. A Figura 13 (a) apresenta o Laser utilizado no presente trabalho, (b) apresenta a irradiação de uma das amostras trabalhadas.



Figura 13: (a) Laser Ytterbium:YAG; (b) Irradiação com feixe de laser.

O princípio de funcionamento do laser está na criação de uma população de elétrons estimulados, a saírem do seu estado natural para um estado de maior energia, que ao retornarem ao seu estado original, emitem fótons com uma energia correspondente a energia de transição do átomo. Este processo em cadeia gera uma avalanche de emissões estimuladas de fótons formando o feixe de fótons o qual pode ser transportado através de um espelho semitransparente como uma luz altamente monocromática e direcional, permitindo assim se obter um foco extremamente precisa.

3.3 - Seleção as superfícies irradiadas com feixe de laser

Das superfícies do Ti-cp avaliadas previamente foi escolhida uma condição de ajuste do feixe condições após caracterização por difração de raios X e deposição de apatitas.

Para a escolha das superfícies a serem avaliadas *in vitro* foi realizado um estudo inicial que utilizou a variação de parâmetros de aplicação do laser. Foram estabelecidos parâmetros fixos (Distância Focal, Velocidade de Varredura, Espaçamento entre as varreduras e Diâmetro do Feixe) variando-se somente freqüência de pulso e potência. Nesse estudo inicial foram obtidas **81 superfícies** irradiadas onde a freqüência variou de 20 a 35kHz e a potência nominal do aparelho variou de 100 a 255, a variação de aplicação do Laser está apresentado na Figura 14.

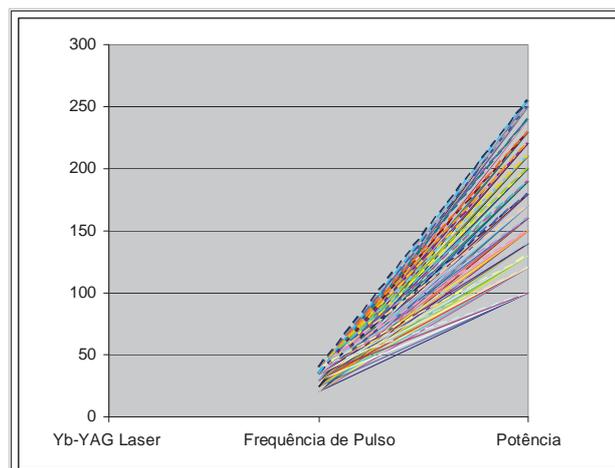


Figura 14: Relação Frequência de pulso/ Potência.

Tabela 8: Condições de ajuste do feixe de laser

PROPRIEDADE DO FEIXE	DEFINITIVO
POTÊNCIA DO FEIXE (%)	0-255
VELOCIDADE DE VARREDURA (mm/s)	100
ESPAÇO ENTRE VARREDURAS (mm)	0,01
PASSO (número)	único
FREQÜÊNCIA DE PULSO (kHz)	20-35
ÁREA MÉDIA DE EXPOSIÇÃO (mm ²)	16

Após a análise por MEV-EDS (Philips XL 30 *IPEN*) das **81 superfícies irradiadas** em diferentes parâmetros de ajuste do feixe de laser, foi observado que algumas amostras apresentavam zonas de excesso de irradiação, onde o substrato sofreu aquecimento e resfriamento rápido gerando trincas e falta de padronização. Das 81 superfícies irradiadas foram selecionadas **2**, por estas apresentarem condições de morfologia superficial padronizada e reproduzível com possibilidade para a aplicação *in vitro*. Os parâmetros selecionados estão apresentados na Tabela 8. Os parâmetros utilizados estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9: Parâmetros selecionados de aplicação do Feixe de laser.

Amostra	Fluência (J.cm ⁻²)
A	280
B	56

3.4- Caracterização das amostras irradiadas pelo laser

Todas as amostras irradiadas foram caracterizadas, por Microscopia Eletrônica de Varredura LEO, modelo 440, acoplado a um analisador dispersivo de energia de Si (Li) com janela de Be, modelo 760 e resolução de 133 eV espectroscópica por energia dispersiva – EDS do Instituto de Química – USP/São Carlos. A difração de raios X foi realizada no difratômetro de raios X Siemens D5000, varredura angular 20 a 80° com passo de 0,01 (2θ), sendo que o tempo de passo foi de 2 segundos para cada amostra, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu (Kα1), do Instituto de Química-Unesp Araraquara-SP. A análise de ângulo de contato foram realizadas afim de verificar o grau de molhabilidade da superfície irradiada por laser, tal análise foi realizada no Instituto de Química-Unesp Araraquara-SP

3.5 - Obtenção de Apatitas

As apatitas foram depositadas pelo método biomimético sobre a superfície do titânio modificada por laser.

3.6 - Recobrimento de apatita pelo método biomimético sobre a superfície modificada

O processo de tratamento de superfície do Ti-cp, antecedentes ao recobrimento de apatitas, passou por diversos testes com o único objetivo de aperfeiçoar o processo visando uma aplicação industrial.

Antes do recobrimento com apatitas os substratos foram lavados em álcool, acetona e água deionizada durante 10 minutos cada um em ultra-som a fim de retirar as impurezas adquiridas no contato da amostra com o local de irradiação pelo feixe de laser. Posterior a limpeza as amostras foram imersas em 50 mL de solução de NaOH (5,0 Mol.L⁻¹) e foram colocadas na estufa por um período de 24 horas a 60 °C, isto para a ativação da superfície de Ti c.p. e formação de uma camada de titanato de sódio. Após a solução alcalina as amostras foram submetidas à estufa por um período de 3 horas, com o objetivo de densificar a camada de titanato formada sobre a superfície modificada que induz a nucleação de apatitas (KOKUBO, 1996), (SHI, 2001).

Após serem submetidas à solução alcalina, essas foram divididas em 4 grupos e colocadas em soluções diferentes:

Ap SBF 1,5 – Fase majoritária de interesse HA.

Ap SBF 5 – Fase majoritária de interesse ACP.

Ap SBF 6 – Fase majoritária de interesse OCP.

Ap SBF 6 com T/T– Fase majoritária de interesse β -TCP.

Todos os grupos foram imersos em um volume de 100 mL, cada um em sua respectiva solução, com pH 7,25, onde ficarão na estufa durante 4 dias a 37 °C, a Tabela 10 ilustra as concentrações iônicas da solução utilizada. As soluções foram trocadas a cada 24 horas para se manter a quantidade de íons em solução (APARECIDA, 2010).

Tabela 10: Concentrações iônicas das soluções utilizadas para o recobrimento de apatitas (mmol.dm^{-3}). (APARECIDA, 2010).

	Na^+	K^+	Ca^{2+}	Mg^{2+}	HCO_3^{2-}	Cl^-	HPO_4^{2-}	SO_4^{2-}	SiO_3^{2-}
Plasma Sanguíneo	142,0	5,0	2,5	1,5	27,0	103,0	1,0	0,5	-
SBF 5	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	3,0	-
SBF 6	140,4	-	-	3,1	142,9	1,86	-	5,0	-
SBF 1,5	213,0	7,5	3,8	2,3	6,3	223,0	1,5	0,75	-

3.7 - Tratamento térmico das amostras recobertas com apatitas

Posterior ao recobrimento das amostras de Ti cp pelo processo biomimético, o grupo **Ap SBF 6 com T/T** foi submetido a um tratamento térmico a 700 °C por um período de 3 horas. A taxa de aquecimento utilizada foi de 5 °C/minuto, tanto para aquecimento quanto para resfriamento. O tratamento térmico foi utilizado em ambiente atmosférico. Esse tratamento é realizado para uma melhor densificação da camada e aderência da apatita ao metal além de uma melhor formação da fase de interesse.

3.8 - Caracterização das amostras recobertas pelo método biomimético

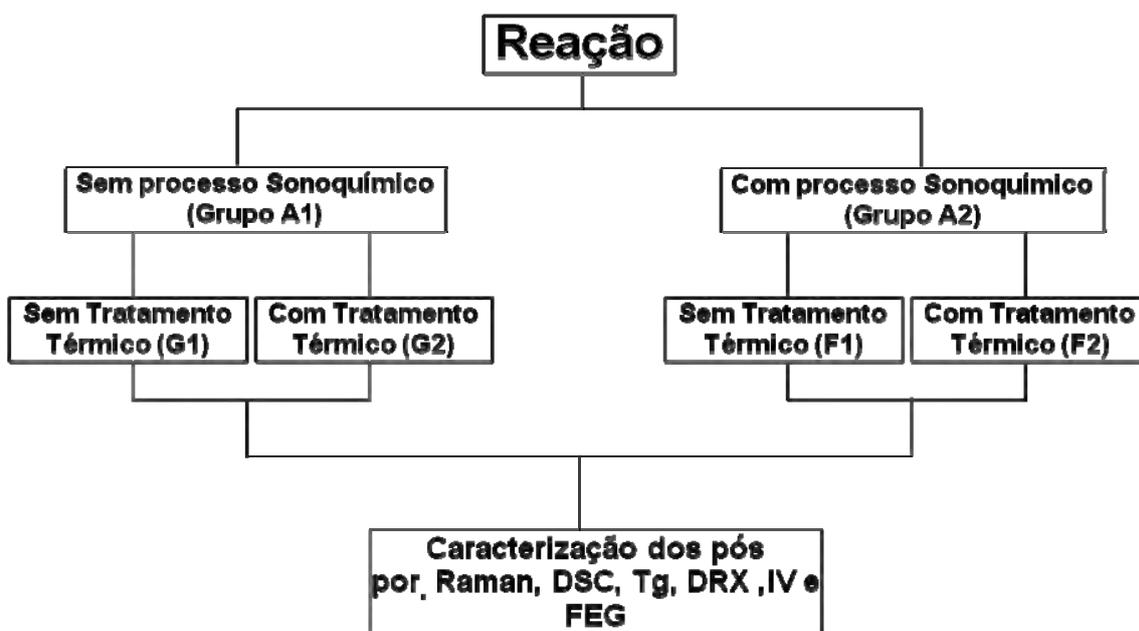
Todas as amostras recobertas com e sem tratamento térmico foram caracterizadas, por Microscopia Eletrônica de Varredura LEO, modelo 440, acoplado a um analisador dispersivo de energia de Si (Li) com janela de Be, modelo 760 e resolução de 133 eV espectroscópica por energia dispersiva – EDS do Instituto de Química – USP/São Carlos. A difratometria de

Raios X foi realizado no equipamento Siemens D5000, varredura angular 10 a 80° com passo de 0,02 (2θ), sendo que o tempo de passo foi de 10 segundos para cada amostra, na montagem de Bragg-Brentano, utilizando-se radiação de Cu ($K\alpha_1$), do Instituto de Química-Unesp Araraquara-SP. Todas as amostras submetidas ao recobrimento biomimético foram caracterizadas pelo método de Rietveld no equipamento de Anodo rotatório Rigaku RINT2000 nas condições experimentais de 42KV, 120mA, com fendas de Divergência e espalhamento de 0,5 graus, Abertura horizontal da fenda de divergência de 5mm, Recepção de 0,3 mm, Soller de 5°, Anodo de cobre e Comprimento de onda $K\alpha_1 = 1.55056 \text{ \AA}$ e $K\alpha_2 = 1.5444 \text{ \AA}$, $I_{\alpha_2}/I_{\alpha_1} = 0,5$

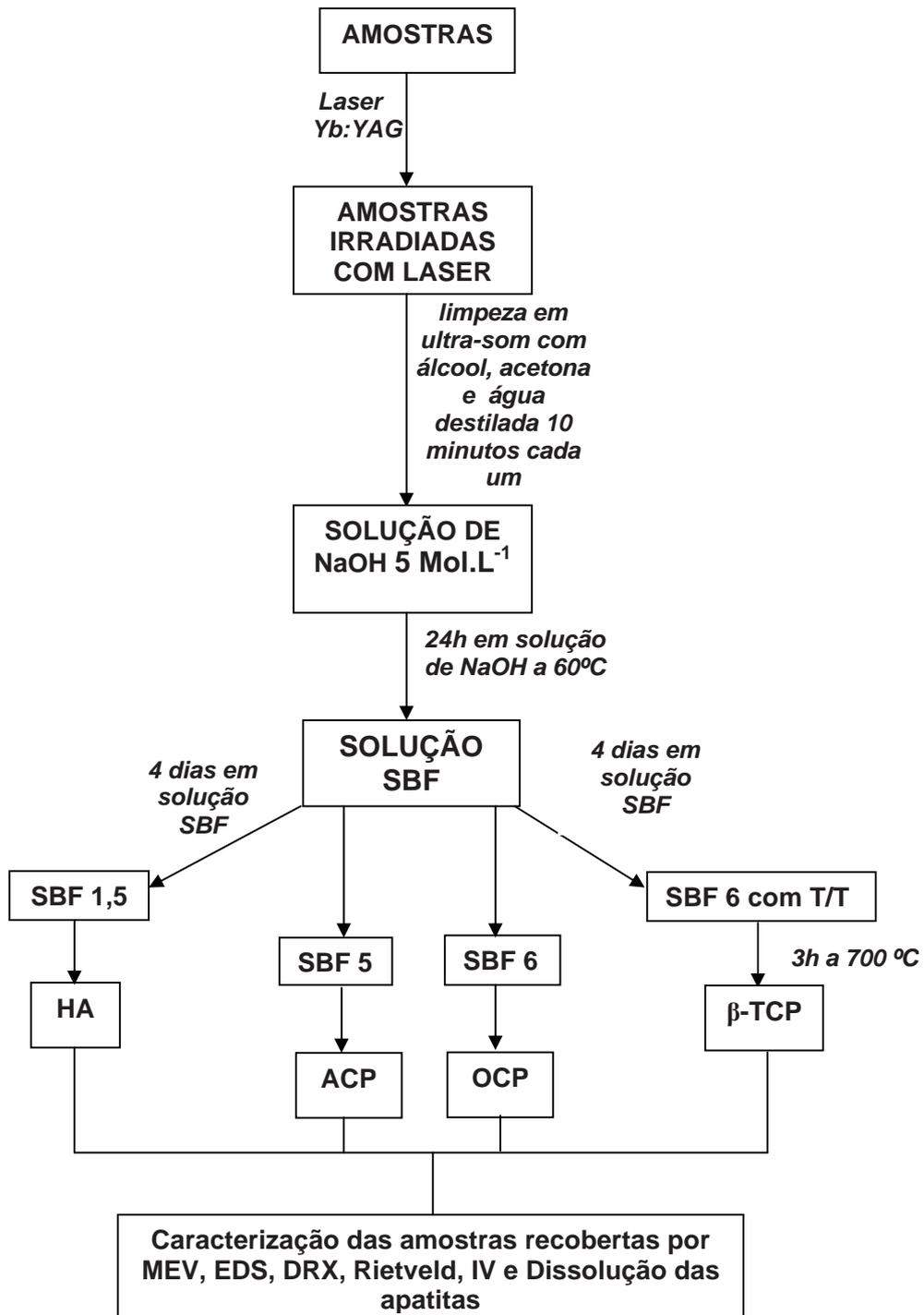
A espectroscopia no infravermelho – IV, com espectrômetro Perkin elmer spectrum 6x FT-IR, com acessório para reflectância difusa Drift Collector no intervalo de 400 a 4000 cm^{-1} , do DEMA – UFSCar – São Carlos. As fases cristalinas presentes foram comparadas com as fichas padrões do JCPDS. A análise de solubilidade das apatitas foram realizadas por dissolução in vitro e avaliadas por duas metodologias, titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

4 - Fluxograma

Estudo das apatitas nanométricas



Fluxograma Geral do Processo



5 – TÉCNICAS UTILIZADAS

5.1 - Irradiação a Laser

Uma luz coerente é gerada por transições eletrônicas que são iniciadas por um estímulo externo; de fato, “laser” significa simplesmente o acrônimo em inglês para amplificação da luz por emissão estimulada de radiação (*Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation*).

Embora existam vários tipos diferentes de laser, os princípios de operação serão explicados utilizando-se como referência um laser de rubi em estado sólido. O rubi é simplesmente um monocristal de Al_2O_3 (safira) ao qual foi adicionado um teor de íons Cr^{3+} de aproximadamente 0,05%. Esses íons conferem ao rubi a sua coloração vermelha característica; ainda mais importante, eles proporcionam estados eletrônicos essenciais para o funcionamento do laser. O laser de rubi encontra-se na forma de um bastão, cujas extremidades são planas, paralelas, e altamente polidas. Ambas as extremidades são feitas prateadas, de modo tal que uma das extremidades é totalmente refletiva, enquanto a outra extremidade é parcialmente transmissora (MAIMAN, 1960).

O rubi é iluminado com a luz proveniente de uma lâmpada de flash de xenônio (Figura 15).

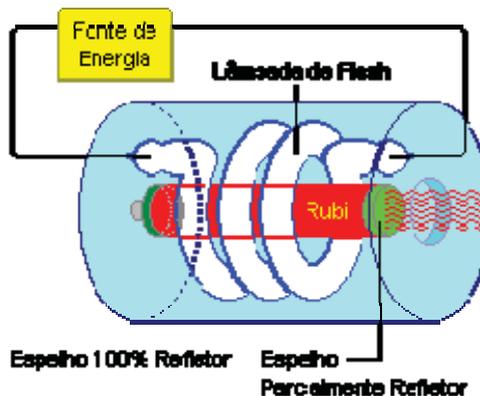


Figura 15: Diagrama esquemático do laser de rubi e da lâmpada de flash de xenônio.

Antes dessa exposição, virtualmente todos os íons Cr^{3+} encontram-se em seus estados fundamentais; isto é, os elétrons preenchem os níveis de energia mais baixos, como está representado esquematicamente na Figura 16.

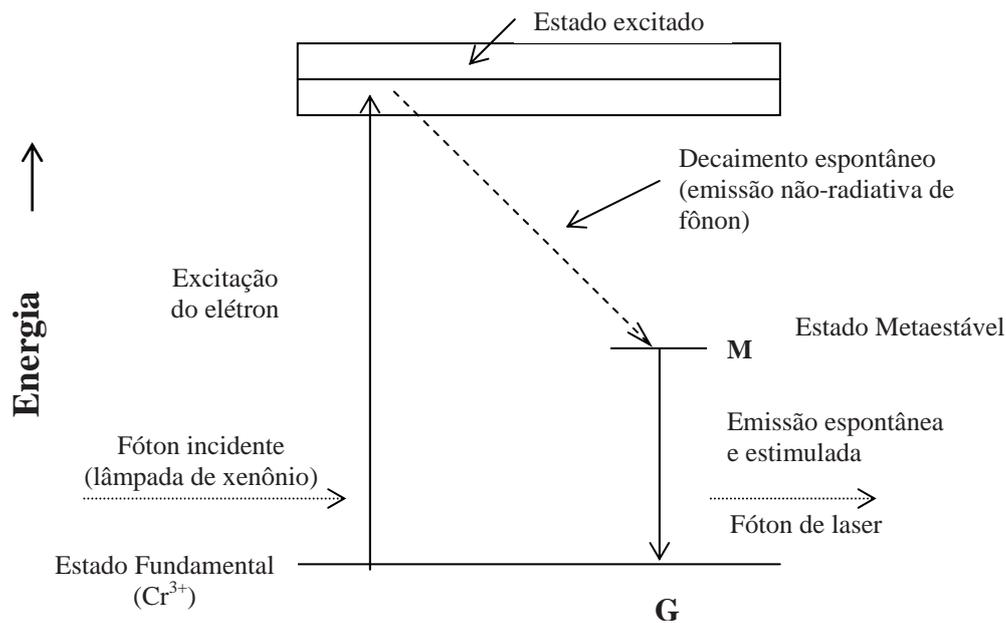


Figura 16: Diagrama Esquemático da energia para o laser de rubi, mostrando as trajetórias para a excitação e o decaimento dos elétrons.

Entretanto, os fótons da lâmpada de xenônio, com comprimento de onda de $0,56\mu\text{m}$, excitam os elétrons dos íons Cr^{3+} para estados de energia mais altos. Esses elétrons podem decair novamente para o seu estado fundamental conforme duas trajetórias diferentes. Alguns decaem diretamente; as emissões de fótons que estão associadas com esse tipo de decaimento não fazem parte do feixe de laser. Outros elétrons decaem para um estado intermediário metaestável (trajetória EM, na Figura 16), onde eles podem ficar por até 3 ms antes de haver uma emissão espontânea (trajetória MG). Em termos de processos eletrônicos, 3 ms é um tempo relativamente longo, o que significa que grandes números desses estados metaestáveis podem ficar ocupados. Essa situação está indicada na Figura 16.

A emissão espontânea inicial de fótons por uns poucos desses elétrons e o estímulo que dispara uma avalanche de emissões dos demais elétrons no estado metaestável (Figura 17). Dos fótons direcionados paralelamente ao longo do eixo do bastão de rubi, alguns são transmitidos através da extremidade parcialmente prateada; outros que incidem contra a extremidade totalmente prateada, são refletidos. Os fótons que não são emitidos nessa direção axial são perdidos. O feixe de luz viaja repetidamente para frente e para trás ao longo do comprimento do bastão, e a sua intensidade aumenta na medida em que mais emissões são estimuladas. Ao final, um feixe de alta intensidade, coerente e altamente colimado de luz laser, de curta duração e, transmitido através da extremidade parcialmente prateada do bastão (Figura 17) (CALLISTER, 1994).

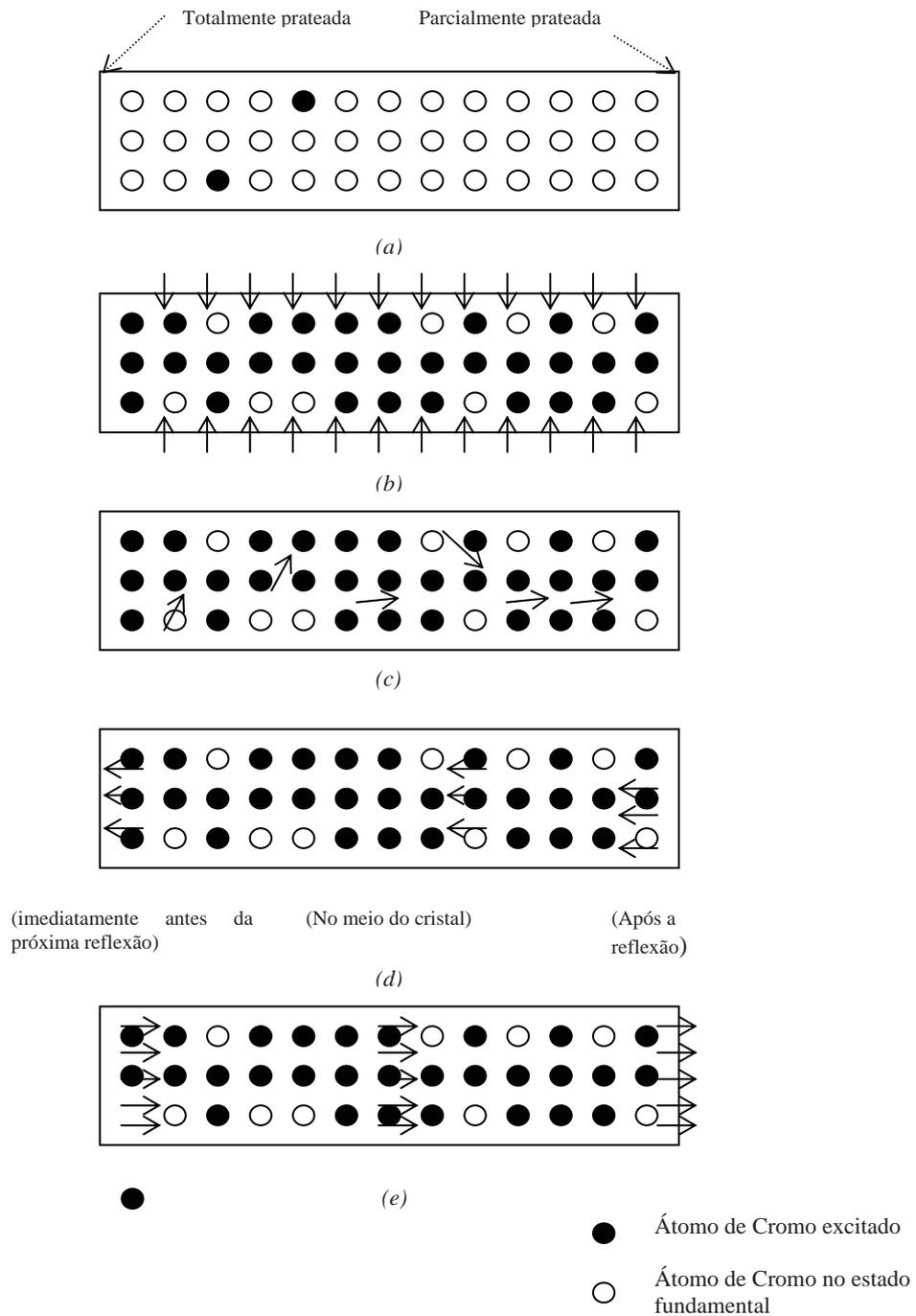


Figura 17: Representações esquemáticas da emissão estimulada e da amplificação da luz para um laser de rubi.

- a) Os íons cromo antes da excitação;
- b) Os elétrons em alguns átomos de cromo são excitados para estados de energia mais elevados pela luz de flash de xenônio;

- c) A emissão dos estados eletrônicos metaestáveis é iniciada ou estimulada por fótons que são emitidos espontaneamente;
- d) Com a reflexão das extremidades prateadas, fótons continuam a estimular emissões à medida que eles atravessam o comprimento do bastão;
- e) O feixe coerente e intenso é finalmente emitido através da extremidade parcialmente prateada.

5.2 - Microscopia Eletrônica de Varredura de Alta Resolução

O MEV consiste basicamente de uma coluna óptico-eletrônica, uma câmara para a amostra, sistema de vácuo, controle eletrônico e sistema de imagem. As imagens no MEV 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 profundidade com que o feixe de elétrons penetra é diretamente dependente da magnitude de sua energia (voltagem aceleradora) e inversamente dependente do número atômico dos átomos da amostra. A penetração do feixe de elétrons produz uma excitação dos elétrons dos átomos da amostra. A porção da amostra que sofre essa excitação é chamada zona de excitação primária. Espécimes com átomos de alto número atômico terão mais partículas disponíveis para bloquear a penetração de elétrons que um com elementos de baixo número atômico.

O 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 por feixe de elétrons. A imagem formada seria composta pelo sinal (elétrons secundários) emitido pela superfície fina da amostra e pela superfície do suporte onde ele foi fixado. Uma voltagem aceleradora alta demais poderá ainda, ter outra consequência: o feixe de elétrons primário penetrará profundamente, abaixo da superfície, aumentando a zona de excitação primária em profundidade e diâmetro. Isso resulta 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. (KESTENBACH, 1994).

No presente trabalho a Microscopia Eletrônica de Varredura foi realizada em um microscópio JEOL-JSM, modelo T-330 A, com sistema de análise espectroscópica por energia dispersiva – EDX acoplado, permitindo mapeamento de elementos e análises localizadas semiquantitativas e qualitativas.

5.3 - Difratomia de raios X - DRX

Laue propôs em 1912 que os cristais, por apresentarem periodicidade e distâncias interatômicas da ordem de ângstrons, poderiam funcionar como uma rede de difração para os raios-X, cujos comprimentos de onda são da mesma ordem de grandeza das distâncias interatômicas que formam os planos de átomos.

Considera-se um feixe de raios X paralelo, monocromático, incidindo num conjunto de átomos regularmente arranjados em planos paralelos de átomos num cristal. Seja d a distância entre os planos de átomos e θ o ângulo entre o plano de átomo e o raio incidente. Verifica-se que os raios espalhados estão em fase e a interferência é construtiva quando a direção dos raios difratados coincidir com o plano de átomos considerado, e quando a diferença de caminho entre as ondas refletidas por planos diferentes for igual a um número inteiro de comprimentos de onda λ , conforme a equação de Bragg:

$$n\lambda = 2d \sin \theta \quad (11)$$

com n (número inteiro) igual à ordem da difração.

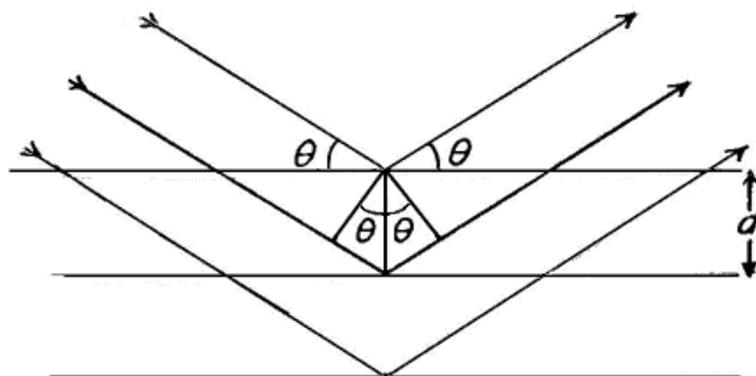


Figura 18: Condições de máximos e mínimos obtidos através da difração de raios-x empregando o esquema sugerido pelos Bragg.

A equação de Bragg pode ser simplificada fazendo-se $d = d'/n$, ou seja:

$$\lambda = 2d \sin \theta \quad (12)$$

O difratograma de raios X consiste na representação da intensidade dos raios difratados em função do ângulo de difração 2θ . A partir dos ângulos de difração (θ) pode-se obter as distâncias interplanares (d). Essas distâncias são características para cada arranjo cristalino de átomos permitindo inferir e relacionar propriedades físicas e químicas dos materiais (GIACOVAZZO, 1994).

5.4 - Método de Rietveld

Em 1969, Rietveld propôs um método de refinamento de estruturas cristalinas com dados de difração de nêutrons, baseado nas intensidades dos perfis dos picos. O método diferia dos outros até então utilizados e que faziam uso das intensidades dos picos como as observações. Nesse caso, as observações são as intensidades dos pontos obtidos num processo de varredura passo a passo, com incremento e tempo de contagem constante, e os perfis de picos de difração eram ajustados durante o refinamento utilizando uma função de Gauss. Daqui para frente, as funções usadas no ajuste do perfil dos picos serão chamadas de funções de perfil (RIETVELD, 1969).

Posteriormente, o método foi adaptado para a sua utilização com dados de difração de raios X, e várias funções de perfil foram testadas, como por exemplo, as funções de Lorentz, Voigt e Pearson entre outras.

O método de Rietveld – MR produz valores refinados dos parâmetros da estrutura cristalina. O perfil é ajustado, ponto a ponto, ao obtido experimentalmente através do refinamento de vários parâmetros (largura a meia altura dos picos, fator de escala, posições atômicas, radiação de fundo, etc...) pelo método de mínimos quadrados.

O MR possui algumas vantagens sobre o método da decomposição de picos, que se baseia nas intensidades integradas dos picos, entre as quais podemos citar:

- a) Possibilidade de análise simultânea de várias fases presentes em uma amostra.
- b) A grande precisão obtida nos parâmetros de rede, mesmo quando ocorre uma severa superposição de picos no difratograma.
- c) Possibilidade de refinar os parâmetros de vibração anisotrópicos dos átomos.
- d) Permite realizar a análise quantitativa das fases presentes na amostra sem a necessidade de um padrão interno ou curva de calibração. Permite, também, a determinação da proporção de amorfo se um padrão interno for utilizado.
- e) Permite a determinação de tamanho médio de cristalito e micro-deformações na rede.
- f) Correção de orientação preferencial.

g) Possibilidade de determinar a estequiometria do material estudado.

5.5 - Espectroscopia vibracional no infravermelho - FTIR

A radiação infravermelha (IR) corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas. A porção de maior utilidade para o químico orgânico está situada entre 4.000 e 400 cm^{-1} .

Uma correlação pico a pico é uma excelente evidência para a identidade das amostras. É muito pouco provável que duas substâncias que não sejam enantiômeras, dêem exatamente o mesmo espectro de infravermelho. Embora o espectro de infravermelho seja característico da molécula como um todo, certos grupos de átomos dão origem as bandas que ocorrem mais ou menos na mesma frequência independente da estrutura da molécula. É a presença destas bandas características de grupos que permite ao químico a obtenção, através de simples exame do espectro e consulta à tabelas, de informações estruturais úteis, e é neste caso que se baseia para fazer a identificação de estruturas.

A radiação no infravermelho em frequência menor do que aproximadamente 100 cm^{-1} , quando absorvida por uma molécula orgânica, converte-se em energia de rotação molecular. O processo de absorção é quantizado e, em consequência, o espectro de rotação das moléculas consiste em uma série de linhas.

A radiação infravermelha na faixa aproximada de 10.000 a 100 cm^{-1} quando absorvida, converte-se em energia de vibração molecular. O processo é também quantizado, porém, o espectro vibracional costuma aparecer como uma série de bandas ao invés de linhas, porque a cada mudança de nível de energia vibracional corresponde a uma série de mudanças de níveis de energia rotacional. As linhas se sobrepõem dando lugar às bandas observadas. As intensidades das bandas podem ser expressas como transmitância (T) ou absorbância (A). A frequência ou o comprimento de onda de uma absorção depende das massas relativas dos átomos, das constantes de forças de ligações e da geometria dos átomos.

Todas as moléculas, compostas por dois ou mais átomos ligados quimicamente, pode interagir com radiação eletromagnética e apresentar vibrações envolvendo ligações químicas, seja através do movimento rítmico ao longo do eixo da ligação, de forma que a distância interatômica aumente e diminua alternadamente, (este tipo de movimento é chamado de deformação axial ou "estiramento"), seja através da deformação de ângulos específicos formados pelos átomos (deformação angular). Estes movimentos estão representados na Figura 19. Movimentos de estiramento tendem a ser mais fortes que a deformação angular das moléculas, assim, as vibrações de deformação angular normalmente absorvem frequências menores que as vibrações de estiramento.

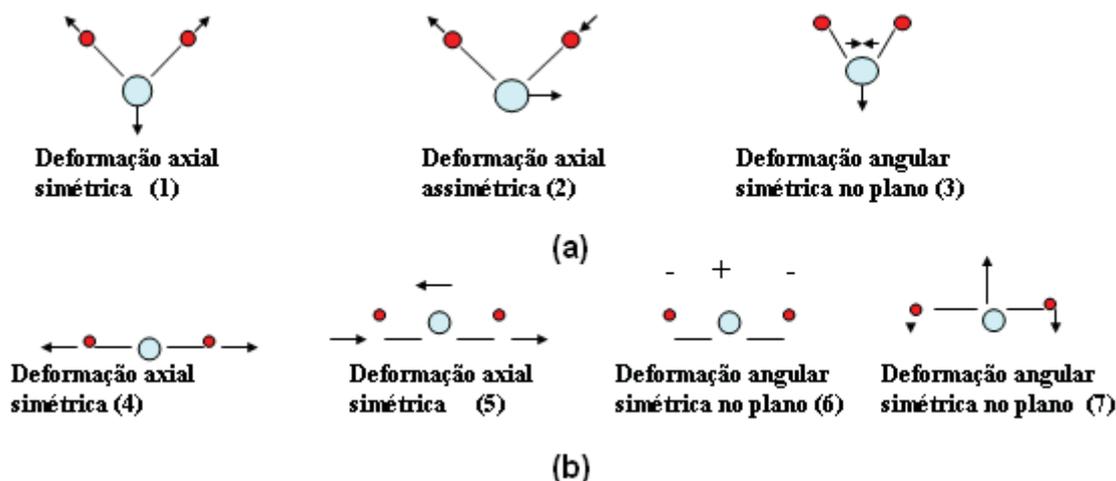


Figura 19: a) Os três modos normais de vibração da H₂O. Dois desses modos envolvem principalmente os movimentos de estiramento das ligações, mas o modo 3 é primariamente dobramento. b) Os quatro modos vibracionais normais de CO₂.

A deformação axial simétrica Figura 19 (4) não é ativa no infravermelho, pois não produz alteração no momento dipolar da molécula. As deformações angulares simétricas no plano (6) e (7) são equivalentes e são componentes cartesianas dos movimentos de deformação angular simétrica em qualquer dos planos que contêm o eixo internuclear. Estas deformações têm a mesma freqüência e são ditas duplamente degeneradas.

Somente as vibrações que resultam em uma alteração rítmica do momento dipolar da molécula são observadas no infravermelho, para vibrações moleculares que não causam mudança no momento de dipolo a transição vibracional não será observada, ou seja, a intensidade desta absorção será nula como mostrado na Figura 20.

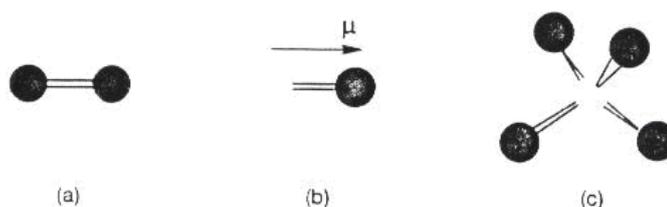


Figura 20: Modelo de molécula diatômica homonuclear, mostrando momento de dipolo nulo (a), molécula diatômica heteronuclear, mostrando momento de dipolo diferente de zero (b) e tetracloro de carbono, cujas ligações químicas são polares, mas a geometria anula as contribuições, originando momento de dipolo igual a zero (c).

Pode-se estimar a freqüência aproximada das deformações axiais pela aplicação da lei de Hooke. Neste caso, os dois átomos são tratados como oscilador harmônico composto por duas massas ligadas por uma mola.

$$\bar{\nu} = \frac{1}{2\pi c} \left[\frac{f}{(M_x M_y)/(M_x + M_y)} \right]^{1/2} \quad (13)$$

em que

$\bar{\nu}$ = frequência vibracional (cm^{-1})

c = velocidade da luz (cm/s)

f = constante da força da ligação (N/m)

M_x e M_y = massa (g) do átomo x e do átomo y , respectivamente.

Moléculas diatômicas apresentam apenas um movimento vibracional, e moléculas poliatômicas (com mais de 2 átomos) apresentam $3N-5$ ou $3N-6$ modos, de acordo com a geometria molecular. Para moléculas diatômicas, é fácil atribuir qual o modo vibracional observado; entretanto, para as demais moléculas esse fato não é tão trivial assim. Na prática, o que se faz é separar a molécula poliatômica em várias partes como se fossem moléculas diatômicas, e analisar cada pedaço de forma independente. A análise do processo de interação entre radiação eletromagnética e a matéria é o que chamamos de espectroscopia, e o espectro é o registro dessa interação.

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho detecta as frequências vibracionais provenientes das ligações químicas no sólido dando informações complementares às obtidas por difração de raios X. A técnica é muito importante para detecção de fases adicionais e evidência de substituintes, como por exemplo, aminas, carbonato e cloreto. A análise foi executada em um espectrofotômetro FTIR Nicolet Magna 550 com reflectância difusa DRIFT Collector™ (SILVERSTEIN, 1994).

5.6 - Tensão Superficial

A análise da Tensão Superficial nas superfícies irradiadas do Ti cp por laser foi obtida via medida do ângulo de contato, o qual pode variar de 0° a 180° onde menor que 90° caracteriza-se como “molhável” e maior que 90° como “não-molhável”, em gota de soro fisiológico depositada sobre as mesmas, para as nove condições de ajuste com os parâmetros definitivos do feixe laser. A condição de equilíbrio da energia interfacial é dada por:

$$\gamma_{sl} = \gamma_{lv} + \gamma_{sv} \cos \theta \quad (14)$$

onde: γ_{sl} = energia interfacial da interface sólido-líquido;

γ_{lv} = energia interfacial da interface líquido-vapor;

γ_{sv} = energia interfacial da interface sólido-vapor; e

θ = ângulo de contato.

Desde que a molhabilidade seja dependente das condições físico-químicas da superfície do material, a utilização desta técnica é procedente para a verificação das condições de molhabilidade oferecida pela superfície irradiada com laser nas diversas condições paramétricas do feixe aplicado. (KENNEDY, 2006; RUPP, 2004).

5.7 - Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica fotônica de alta resolução que proporciona, em poucos segundos, química Informação e estrutural de qualquer material quase, composto orgânico inorgânico ou sua assim permitindo identificação. Sua análise se baseia na luz, e monocromática de determinada freqüência, dispersada ao incidir sobre o material a ser estudado, cuja maior parte da luz dispersada também Apresenta uma mesma freqüência daquela incidente. Somente Uma pequena porção da luz e dispersada inelasticamente como rápidas Frente Mudanças de freqüência, devido a interação da luz com uma Matéria, e é uma característica intrínseca do material analisado e independe da freqüência da luz incidente. A luz que manteve um mesma da freqüência incidente não revela qualquer Informação sobre o material e é chamada de dispersão Rayleigh, mas aquela que mudou revela uma composição mesmo deste molecular e é conhecido como dispersão Raman (SKOOG, 1992).

5.8 - Estudo do perfil de dissolução in vitro

Todas as amostras foram submetidas ao perfil de dissolução in vitro. Para o estudo de dissolução *in vitro* utilizou-se o modelo da célula de difusão em sistema estático do tipo Franz adaptada ao equipamento de dissolução (Figura 21).

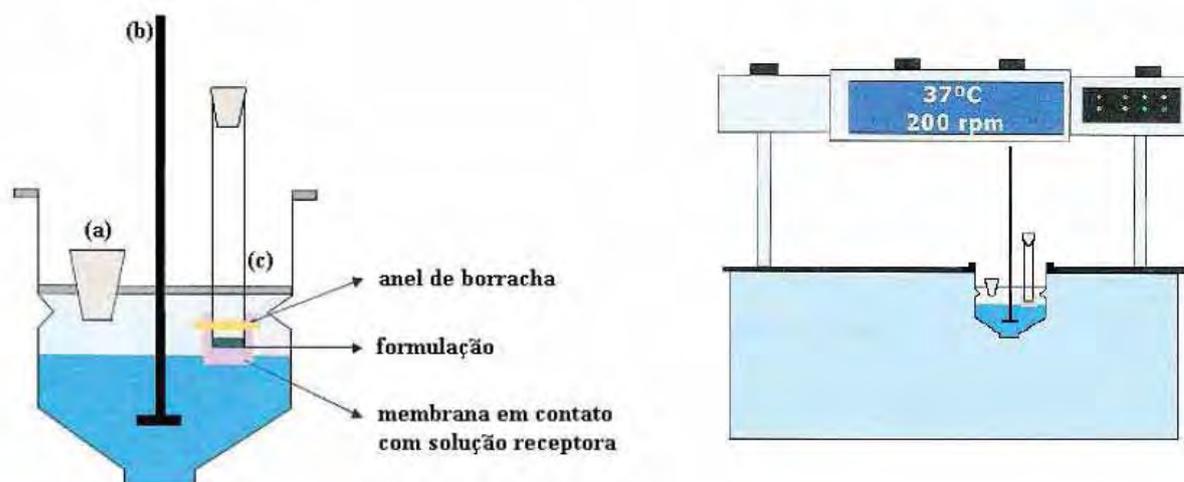


Figura 21: Esquema da célula de difusão adaptada ao equipamento de dissolução. (a) abertura para coleta de amostra e reposição, (b) entrada do dispositivo para agitação do meio, (c) abertura para colocação do tubo com a membrana (à esquerda) e esquema da célula de difusão adaptada ao equipamento de dissolução (à direita) (URBAN, 2004).

O dispositivo apresenta uma tampa com três aberturas, sendo uma para coleta e reposição do meio de dissolução, uma, no centro, para a entrada do dispositivo de agitação e a terceira para a introdução de um cilindro de vidro que fica em contato com o meio receptor no qual é colocada uma membrana de acetato de celulose, fixada por meio de um anel de borracha, sobre a qual é adicionada a amostra.

A concentração de soluto no meio não deve alcançar mais de 10 a 15% de sua solubilidade máxima. Para isso é utilizado grande volume de meio de dissolução, que é repostado a cada alíquota retirada. Pode-se dizer então que a concentração de fármaco dissolvido em um tempo t é muito menor que sua solubilidade no meio receptor. Se tal parâmetro é mantido, diz-se que o teste está sendo conduzido sob a *sink condition*, o que permite a difusão do fármaco através de um gradiente de concentração (GENNARO, 2000).

5.9 – Titulação

A **Titulação** (ou Volumetria) é uma técnica comum de laboratório em análise química quantitativa, usado para determinar a concentração de um reagente conhecido. O método consiste em reagir completamente um volume conhecido de uma amostra com um volume determinado de um reagente de natureza e concentração conhecida (solução padrão). A substância de interesse em qualquer determinação recebe o nome de analito. A espécie química com concentração definida recebe o nome de titulante, que é, em geral, uma solução obtida a partir de um padrão primário, podendo ser um sal ou uma substância

gerada na solução que se deseja valorar. A solução a ter sua concentração determinada recebe o nome de *titulado*. (SKOOG, 1992).

5.9.1 - Titulação complexométrica com EDTA

O EDTA, ácido etilenodiaminotetracético, tem quatro grupos carboxila e dois grupos amina que podem atuar como doadores de pares de elétrons, ou bases de Lewis. A habilidade do EDTA para potencialmente doar estes seis pares de elétrons para a formação de ligações covalentes coordenadas a cátions metálicos faz do EDTA um "ligante hexadentado". Entretanto, na prática o EDTA é usualmente somente parcialmente ionizado, e então ele forma menos que seis ligações covalentes coordenadas com cátions metálicos. O EDTA dissódico, comumente usado na padronização de soluções aquosas de cátions metálicos de transição, somente forma quatro ligações covalente a cátions metálicos em valores de pH menores ou iguais a 12 como nesta faixa de valores de pH os grupos amina mantem-se protonados e então inábeis para doar elétrons para a formação de ligações covalentes coordenadas.

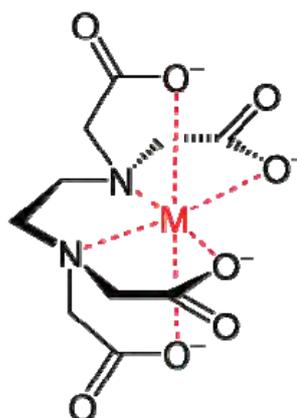
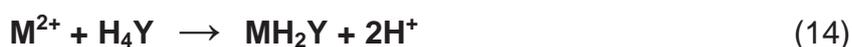


Figura 22: Estrutura do EDTA complexando com o metal.

Em química analítica a abreviatura " $\text{Na}_2\text{H}_2\text{Y}$ " é tipicamente usada para designar EDTA dissódico. Esta abreviatura pode ser usada para denominar qualquer espécie de EDTA. O "Y" representa a molécula de EDTA, e o " H_n " designa o número de prótons ácidos ligados à molécula de EDTA.

EDTA forma um complexo octaédrico com a maioria do cátions metálicos $2+$, M^{2+} , em solução aquosa. A principal razão pela qual o EDTA é usado tão extensivamente em padronização de cátions metálicos é que a constante de formação para muitos complexos de cátion metálico-EDTA é muito alta, mantendo que o equilíbrio para a reação:



tenda para a direita.

Realizar a reação em uma solução tampão básica remove H^+ assim que ele é formado, o que favorece a formação de complexo EDTA-cátion metálico como produto da reação. Para a maioria dos propósitos pode ser considerado que a formação do complexo EDTA-cátion metálico chegará ao término, e isto é o principal motivo pelo que EDTA é usado em titulações / padronização deste tipo. (SKOOG, 1992).

5.10 – Mecanismo de Resposta dos Eletrodos de Íons Seletivos de Cálcio

Os modelos de interface eletrodo-solução, apesar de não estarem inteiramente elucidados, contribuem para compreensão do mecanismo de funcionamento dos eletrodos íon-seletivos. Processos eletroquímicos, freqüentemente se dividem em processos parciais caracterizados por suas velocidades, as quais são limitadas pela resistência ao processo. Nesses processos, ocorrem acúmulo de cargas em camadas, que podem ser representadas como capacitores. Então, o circuito eletrônico equivalente para uma interface eletrificada é um capacitor associado em paralelo com um resistor (Figura 23)(BOCKRIS, 1977). Para uma interface idealmente polarizável a resistência tende ao infinito, enquanto para a interface não-polarizável a resistência tende a zero. Quando o circuito é conectado à uma fonte de tensão, se a resistência é muito elevada, o capacitor se carrega até o valor de potencial da fonte. Este é o comportamento da interface polarizável. Caso a resistência em paralelo com o capacitor seja baixa, então qualquer tentativa para mudar o potencial que passa através do capacitor é compensada pelo escoamento de cargas através do caminho de baixa resistência, que nada mais é que o comportamento da interface não-polarizável. O que faz com que a interface decida resistir (interface não-polarizável) ou aceitar mudanças de potencial (interface polarizável) é a velocidade com que a transferência de cargas ocorre através da mesma (BOCKRIS, 1977). O exemplo clássico de interface não-polarizável é o eletrodo de Calomelano, ou melhor, os eletrodos utilizados como referência. Contudo, este modelo simplificado de circuito eletrônico, também deve levar em consideração os processos estáticos e dinâmicos que ocorrem em uma célula eletroquímica. Assim, Buck propôs que, um circuito equivalente para uma célula eletroquímica potenciométrica corresponderia a cinco circuitos RC paralelos ligados em série (BUCK, 1980). Cada circuito RC seria devido as seguintes características: ao volume do eletrodo, a reação superficial, as reações de adsorção na superfície do eletrodo, a geração e recombinação das cargas carregadas e ao processo de difusão dos íons. Na prática, nas medidas potenciométricas, não é possível medir a diferença de potencial (ddp) absoluta que cruza uma interface eletrodo-solução e somente a ddp de um sistema de interfaces ou célula eletroquímica. Isto

acontece porque na medida de potencial, o processo por si mesmo, isto é, a imersão dos eletrodos na solução, introduz diferenças de potencial, as quais são também medidas, e esta soma não pode representar a ddp desejada, daí a necessidade nas medidas potenciométricas serem realizadas com um eletrodo de referência (BOCKRIS, 1977). Não se pode esquecer também, do potencial de junção líquida que ocorre nas interfaces com concentrações diferentes de eletrólito de mesma natureza. Por exemplo, no caso de duas soluções de HCl, uma 0,1 e a outra 0,01 mol L⁻¹ separadas por uma membrana porosa, haverá tendência de difusão dos íons H⁺ e Cl⁻ da solução mais concentrada para a mais diluída. Como a mobilidade dos íons H⁺ é cerca de cinco vezes maior que a dos íons cloreto, eles se difundem mais rapidamente, fazendo com que a transferência de cargas da solução mais concentrada para a mais diluída resulte no aparecimento de um potencial de junção da ordem de + 40 mV. Daí os eletrodos de referência serem preenchidos com solução de KCl saturado (4,2 mol L⁻¹ à 25 °C), pois a mobilidade dos íons cloreto é apenas ligeiramente maior do que a dos íons potássio e assim, o potencial de junção é apenas da ordem de -1 mV. Outro fator é o potencial de assimetria devido a irregularidade na construção da membrana (GIOLITO,1980). Além disto, é importante lembrar que as medidas de potencial não podem ser realizadas com simples voltímetros. Estes aparelhos drenam uma quantidade de corrente substancial ($\cong 1$ mA), e desde que o potencial na interface depende da corrente que passa através dela, esta situação pode originar um efeito no qual a medida do instrumento afeta e muda a quantidade que está sendo medida. Esta medida é então realizada com milivoltímetros eletrônicos que requerem correntes da ordem de 10⁻¹⁴ A e apresentam impedância de entrada de 10⁸ Ω. Alternativamente, um simples circuito de compensação, um galvanômetro ligado em série com uma resistência elevada ($\cong 1$ MΩ), onde o potencial da célula eletroquímica é balanceado contra uma fonte de potencial externa até que a corrente que atravessa o galvanômetro seja nula(BOCKRIS, 1977), (GIOLITO,1980) pode também ser utilizado na medida do potencial de células eletroquímicas com eletrodos íon-seletivos.

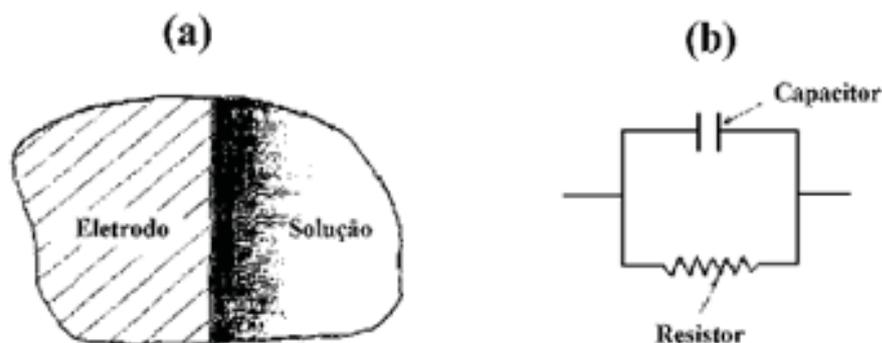


Figura 23: (a) Interface eletrificada eletrodo-solução (b) Circuito eletrônico equivalente, quando $R \rightarrow \infty$ a interface é polarizável e para $R \rightarrow 0$, a interface é não-polarizável.

O mecanismo de trabalho dos sensores íon-seletivo podem ser interpretados à luz dos conceitos citados anteriormente, sobre as medidas potenciométricas e modelos de interface eletrodo-solução. Para os eletrodos de primeira espécie (metal), a transferência de elétrons era a etapa da reação determinante do potencial, porém esta explicação não era aplicável para os eletrodos de membrana, como por exemplo, o de vidro. A resposta veio alguns anos depois com os estudos realizados por Donnan (DONNAN, 1911). Ele separou duas soluções de haleto de metal alcalino por uma membrana semi-permeável. Se o eletrólito de um lado da membrana contém um íon que pode difundir através dela, uma distribuição desigual de íons permeáveis é observada, estabelecendo desta forma um equilíbrio eletroquímico e conseqüentemente, um potencial elétrico era estabelecido entre os dois lados da membrana. Apesar desta explicação ser plausível e clara para o fenômeno observado por Donnan, o conceito de difusão através da membrana de vidro por íons hidrogênio foi definitivamente contestada por Haugaard, através de análise química e por Schwabe e Dahms com experimentos utilizando tritium (HAUGAARD, 1941). Em tais casos, nenhum fenômeno de difusão através da membrana de vidro foi observado. Outra proposta para o mecanismo de resposta do eletrodo de vidro foi então baseado na teoria de troca iônica. Neste caso, os íons Na^+ na camada de gel da membrana de vidro eram substituídos pelos íons H^+ na solução entrando em um equilíbrio químico (HOROVITZ, 1923)(EISENMAN, 1962)(LENGYEL, 1931). Contudo, tal conceito não foi suportado pelos resultados experimentais. Primeiramente, se tal fenômeno de troca iônica ocorresse, não poderia causar uma mudança nas cargas interfaciais, e conseqüentemente uma ddp não poderia ser desenvolvida. Por outro lado, os íons sódio na camada gel da membrana deveriam se esgotar depois de um longo tempo de uso do eletrodo de vidro, resultando no colapso do sensor (STOCK, 1989). Outros trabalhos nesta área (HORVÁTH, 1993) (PUNGOR, 1997)(PUNGOR, 1992), mostraram definitivamente que o fenômeno de transporte por difusão através de uma membrana semi-permeável não poderia ser aplicado para explicar o potencial desenvolvido em uma membrana de vidro. Pungor (PUNGOR, 1998),(PUNGOR, 1992), com o objetivo de examinar se o transporte de íons realmente poderia ser responsável pelo desenvolvimento do potencial, investigou as características físico-químicas de eletrodos de membrana contendo diferentes compostos. Ele observou que para transdutores metálicos (Pt, Al, Ag), as quais suas faces eram recobertas com uma membrana de borracha de silicone contendo iodeto de prata, o potencial desenvolvido não dependia do metal. Logo, uma lâmina de prata coberta com iodeto de prata, não poderia tomar parte no transporte de íons Ag^+ como era anteriormente suposto. Com o desenvolvimento de instrumentos adequados para a medida do tempo de resposta real de um eletrodo, os estudos realizados com o método de perturbação da concentração,

mostraram que eletrodos de lâmina de prata, haletos de prata ou de potássio, onde este último contém um componente complexante para potássio incorporado numa membrana polimérica, apresentavam tempos de resposta em torno de 20 ms. Isto indicava que o processo de difusão não deveria contribuir para a formação do potencial, uma vez que a difusão de íons através de uma membrana é muito menor que em solução, e o tempo para estabelecer o potencial deveria ser muito maior que aquele observado. Além disto, os eletrodos íon-seletivos para potássio, preparados a partir de diferentes agentes complexantes, valinomicina ou bis-éter-coroa, apresentavam o mesmo potencial para a mesma concentração de íons potássio na solução, indicando que somente o soluto era responsável pelo desenvolvimento do potencial elétrico.

Antes de definir o mecanismo baseado na teoria do capacitor é importante ter-se em mente alguns conceitos fundamentais para sua melhor compreensão. É bem conhecido que uma bateria ou pilha gera uma ddp através de uma reação redox. A bateria é um dispositivo que não contém isolante e possui um anodo e um catodo que estão imersos em um meio eletrolítico. Quando o anodo é conectado ao catodo por um circuito externo uma corrente elétrica flui até que a reação química cesse, sendo em sua maioria reações reversíveis, seguindo os princípios de equilíbrio termodinâmico, ou seja, a equação de Nernst. Contudo, é bem conhecido que nenhuma reação redox está envolvida no desenvolvimento do potencial em um eletrodo de vidro, pois caso isto ocorresse hidrogênio gasoso teria que ser produzido (STOCK, 1989),(HAUGAARD, 1941). Por outro lado, um capacitor eletrolítico é um dispositivo capaz de armazenar cargas elétricas, através de duas placas paralelas entre as quais há um isolante ou dielétrico, onde nenhuma reação redox reversível ocorre. Além disto, quando as placas carregadas são conectadas nenhuma corrente significativa flui, condição básica para a medida de ddp com eletrodos íon-seletivos. A ddp é proporcional a carga e uma constante denominada de capacitância. Assim, um eletrodo de vidro, ou melhor, de membrana é mais comparável a um capacitor do que uma bateria, sendo este conceito, o do capacitor eletrolítico, a base para compreensão do funcionamento dos ISE(STOCK, 1989),(CHENG, 1985). A Figura 24 apresenta um modelo esquemático de um eletrodo de membrana baseado neste conceito. Quando um eletrodo de vidro é imerso em uma solução eletrolítica, uma dupla camada é formada, contendo cargas na superfície(STOCK, 1989). Desde que ambas as camadas, interna e externa, da membrana estão em contato com uma solução eletrolítica, duas dupla camadas são formadas, uma em cada lado da membrana. Considerando os modelos de interface eletrodo-solução apresentados anteriormente, em que uma dupla camada foi considerada como um capacitor, duas dupla camadas constituem um duplo-capacitor. A ddp é obtida pela diferença entre os potenciais na interface externa e interna. Um eletrodo capacitor pode ser considerado como uma membrana feita de qualquer material dielétrico ou semicondutor, o

qual pode adsorver cátions e ânions em seus sítios ativos. O potencial de membrana é desenvolvido a partir das duas interfaces que armazenam cargas sobre a superfície através da adsorção na dupla camada. O eletrodo de vidro segue a Lei da Capacitância, onde as características da membrana de vidro são dadas pela constante de permissividade (ϵ), a área (A), a espessura (d), e a capacitância (C) da membrana. Quando estes fatores são constantes para uma mesma membrana de vidro, o potencial será proporcional a carga (q) adsorvida sobre a membrana, de acordo com:

$$\phi = K(\sum q_+ - \sum q_-) \tag{15}$$

onde K é uma constante que engloba todos os parâmetros citados anteriormente (STOCK, 1989).

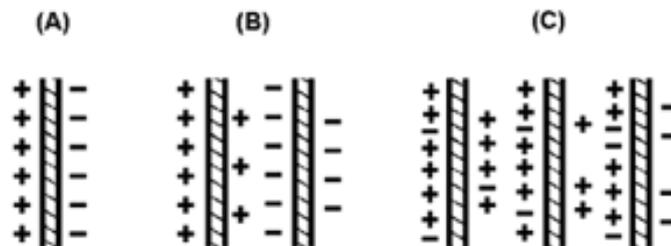


Figura 24: (a) Esquema de um capacitor de placas paralelas comumente usadas em aparelhos eletrônicos, que é capaz de armazenar cargas quando um potencial é aplicado com uma bateria ou fonte de energia; (b) Modelo de um eletrodo de membranas; (c) Representação de um eletrodo de vidro ou outro qualquer de membrana, o qual apresenta uma estrutura superficial zwitteriônica.

Caso, somente cátions estejam adsorvidos sobre a superfície da membrana, a $q = 0$, resultando no aumento do potencial com o aumento das cargas positivas. O inverso ocorre quando somente ânions estão adsorvidos, isto é, ocorre o decréscimo no potencial com o aumento das cargas negativas. Se ambas as cargas estão adsorvidas simultaneamente, o resultado é a soma das cargas positivas e negativas na superfície (STOCK, 1989). Tais evidências foram demonstradas por Cheng com simples experimentos (STOCK, 1989). Ele elaborou um sensor cilíndrico de vidro sensível ao pH onde o tubo foi selado contendo tampão fosfato pH 7,0 e um eletrodo de referência Ag/AgCl. Então, a superfície externa do eletrodo cilíndrico foi exposta a diferentes soluções de pH. Dependendo da área do eletrodo imersa na mesma solução de pH, em soluções ácidas era observado um aumento do potencial com o aumento da área do eletrodo imersa, ocorrendo o fenômeno oposto em soluções alcalinas, onde ocorria um decréscimo no potencial com o aumento da área do eletrodo imersa. Assim, em meio ácido o potencial aumenta para valores mais positivos

como função do aumento dos íons H^+ adsorvidos sobre a superfície do vidro, enquanto que em meio alcalino o potencial aumenta para valores mais negativos como função dos íons OH^- . Esta é a diferença fundamental entre a teoria do eletrodo-capacitor com as teorias do passado, as quais não consideravam os íons OH^- como regra no desenvolvimento do potencial. Similar experimento realizado com um eletrodo cilíndrico de vidro sensível aos íons Na^+ observou-se que o potencial deslocava para valores mais negativos em soluções diluídas (10^{-2} - 10^{-5} mol L^{-1}) de nitrato de sódio em tampão de etilenodiamina, em pH 10,5; com o aumento da área imersa do eletrodo. Contudo, para as medidas realizadas com o mesmo tampão para concentrações de íon sódio acima de 1 mol L^{-1} , o potencial permanecia praticamente constante ou aumentava para valores mais positivos com o aumento da área do eletrodo imersa. Isto mostra que o eletrodo de vidro para sódio também responde para H^+ e OH^- e a sua superfície, é então, zwitteriônica podendo adsorver ao mesmo tempo os íons Na^+ e OH^- . Então, o potencial desenvolvido é o resultado da diferença de cargas positivas e negativas adsorvidas como descrito na Eq. 11(STOCK, 1989).

Baseado nos conceitos e nas observações mencionadas anteriormente, de maneira geral, o potencial desenvolvido num sensor potenciométrico é causado pela separação de cargas na superfície do eletrodo. Esta interpretação está diretamente associada com processos de quimissorção do íon primário proveniente da solução para a superfície do eletrodo. No caso dos contra-íons, estes se acumulam na fase líquida, a solução, ocorrendo à separação de cargas. Assim, o potencial químico do soluto é o responsável pelo sinal eletroquímico (CHENG, 1985).

6 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 – Obtenção e deposição das fases de apatitas sobre o titânio

6.1.1 - Superfícies Irradiadas por Laser

As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura das diversas superfícies irradiadas (Figuras 25 a 27) apresentam o efeito da irradiação utilizando 2 condições paramétricas pré selecionadas de ajuste do feixe de laser, com variação de frequência entre 20 e 35 KHz e potência referenciada no equipamento de 100 a 255. Observa-se que a variação da potência associada à diferentes frequências produz variação morfológica (Figuras 26 a 27) e química das superfícies resultante da fusão e solidificação rápidas, com zonas irradiadas homogêneas sem trincas ou rachaduras.

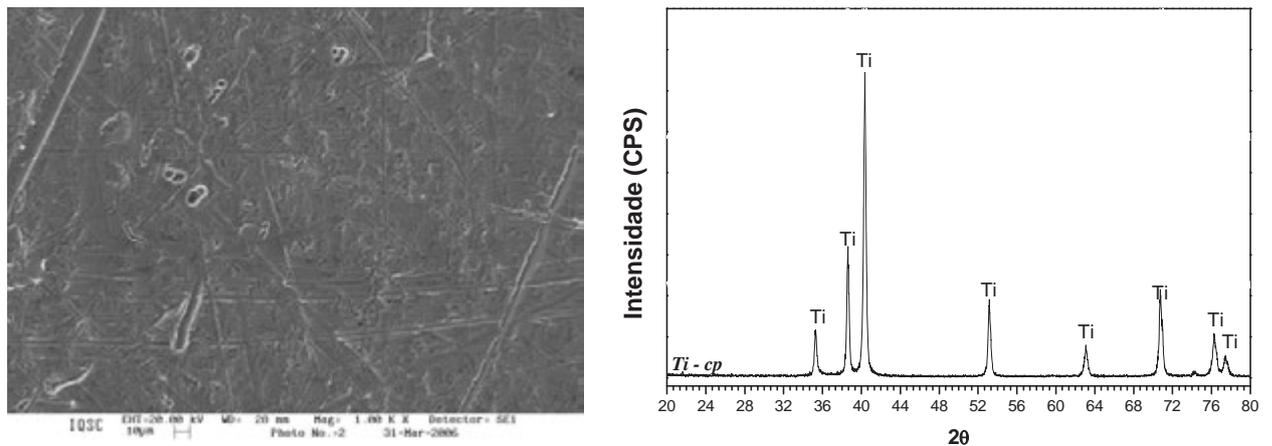
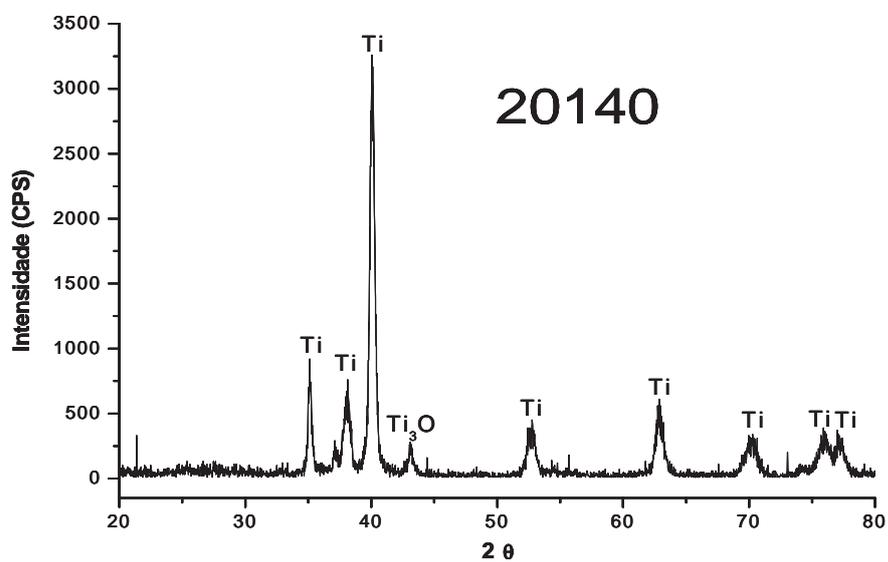
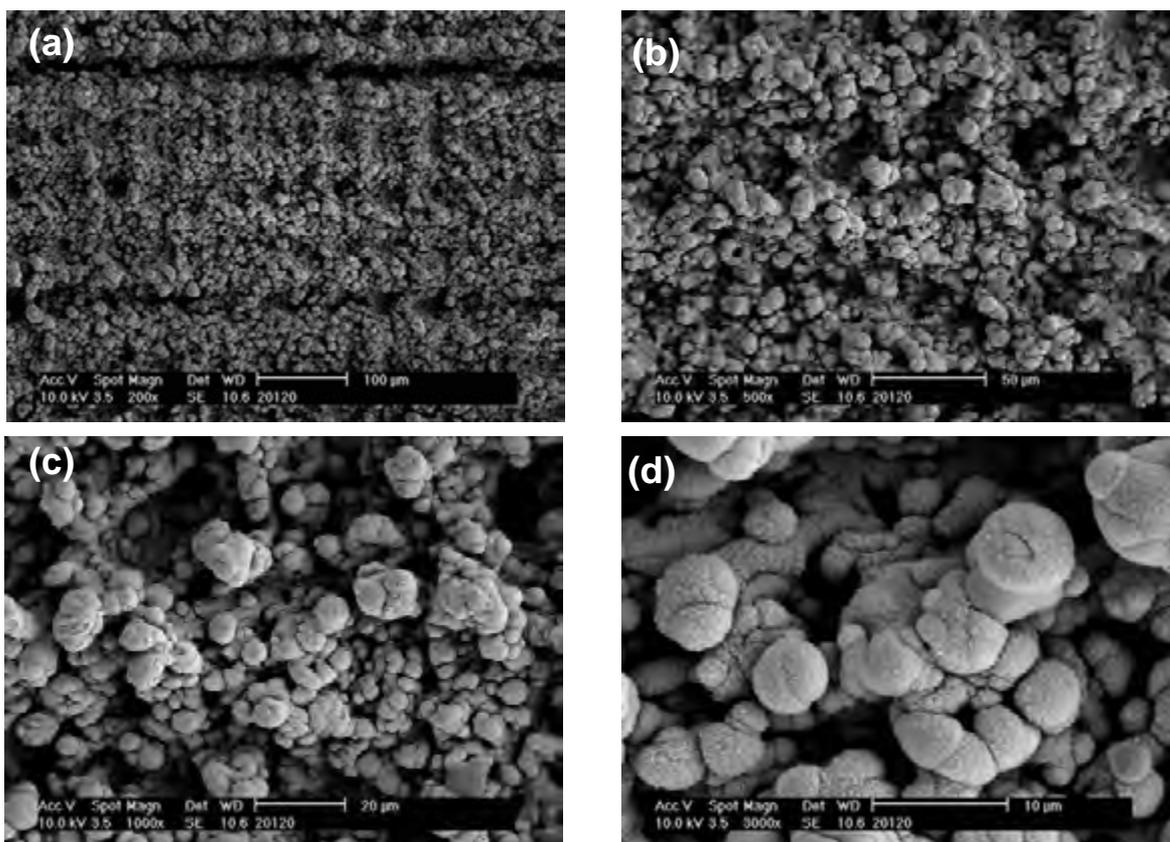


Figura 25: MEV e DRX da superfície do titânio usado utilizado nesse trabalho.

A Figura 26 apresenta as micrografias da Amostra A após a irradiação.



(e)

Figura 26: MEV-DRX da superfície da amostra A (Fluência 280 J/cm²) nos aumentos a) 200x, b) 500x, c) 1000x, d) 3000x e e) DRX.

A Figura 27 apresenta as micrografias da Amostra B.

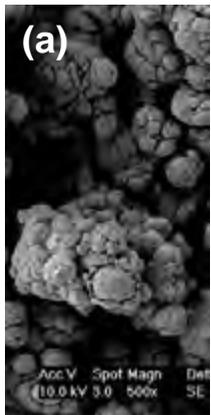
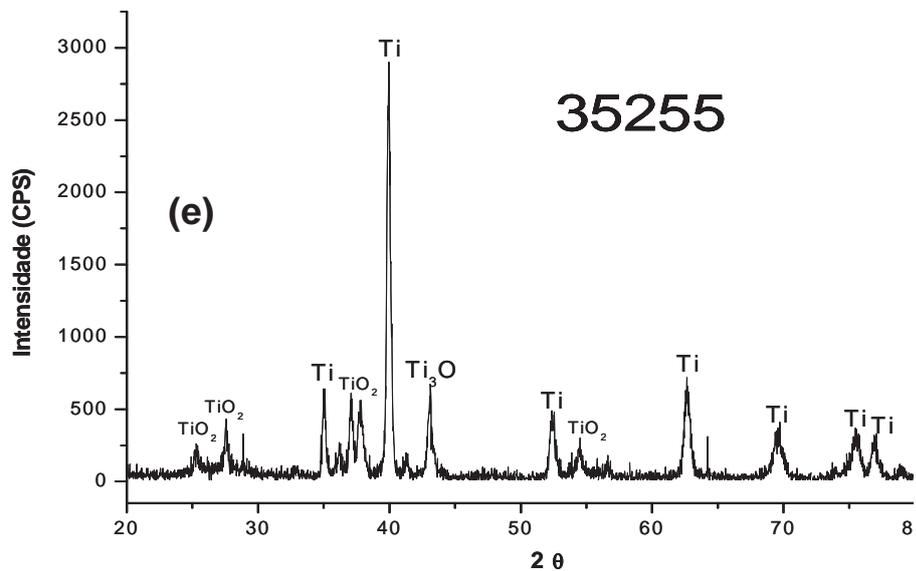


Figura 27: MEV-DRX da superfície da amostra B (Fluência 56 J/cm^2) nos aumentos a) 200x, b) 500x, c) 1000x, d) 3000x e e) DRX.

Pode-se observar nas Figuras 26 e 27, as micrografias comparativas entre as superfícies irradiadas pelo laser, essas demonstram uma variação na rugosidade devido a ablação do substrato, nesse processo ocorre a fusão e a solidificação rápida, em atmosfera ambiente, esse procedimento proporciona a formação de óxidos de titânio com diferentes graus de oxidação, indicando que a energia do laser favorece a difusão de átomos de oxigênio, bem como a solidificação rápida que proporciona a formação dessas fases não convencionais (PEREZ DEL PINO, 2002).

György e colaboradores estudaram a oxidação de superfícies metálicas através da irradiação por laser em ar e em pressão atmosférica (GYÖRGY, 2004) e também estudaram a nitretação de superfícies metálicas de titânio mediante irradiação por laser em atmosfera de nitrogênio (GYÖRGY, 2002). As estruturas formadas foram estudadas pela técnica de espectroscopia micro-Raman. Observou-se que a menor proporção O/Ti, ou seja, o maior desvio da estequiometria TiO_2 (rutilo e anatásio) encontra-se nas regiões do centro e na superfície da zona de irradiação.

Observando-se que o laser causava a formação de uma diversidade de óxidos na superfície do metal. György e colaboradores, em estudo sobre a influência da atmosfera na topografia de Ti-cp sob irradiação de laser pulsado de Yb:YAG com a fluência de $3 \times 10^7 \text{ W/cm}^2$ e frequência de pulso em 30 kHz, obtiveram uma superfície irradiada ao ar sob pressão normal semelhante à obtida nesse trabalho para as condições com frequência de pulso semelhante.

Diversos trabalhos têm sido publicados nos últimos anos (SELEMAT, 2001; GARCÍA, 2002; PÉREZ del PINO, 2002; BRAGA, 2007; ALMEIDA FILHO, 2011) correlacionando os parâmetros do feixe de laser, a atmosfera utilizada e as fases formadas, bem como a morfologia da superfície.

A Figura 26 apresenta a topografia da amostra A, onde se observa uma maior rugosidade quando comparado com a topografia da amostra B, essa característica é consequência da fluência e está intimamente ligado à frequência e a velocidades utilizadas.

Uma densidade de energia maior propiciará uma maior difusão do oxigênio através do material fundido, a qual foi constatada pela análise de difração de raios X. Sendo assim, as medidas de DRX (Figura 28) revelaram em adição aos picos de α -Ti, (100), (002), (101), (102), (110), (103), (112), segundo JCPDS, ficha n° 89-5009 (JCPDS, 2003), a possível presença de TiO_2 e Ti_3O ou Ti_6O . A presença dos óxidos não estequiométricos Ti_3O ou Ti_6O pode ser explicada pelas suas semelhanças estruturais. As fases Ti_3O ou Ti_6O pertencem ao mesmo sistema cristalino, hexagonal, e grupo espacial P-31c, diferenciando-os pelos parâmetros de rede que são muito próximos (Ti_3O $a = 5,1418 \text{ \AA}$ e $c = 9,5354 \text{ \AA}$; Ti_6O $a = 5,13000 \text{ \AA}$ e $c = 9,48000$), segundo JCPDS fichas n° 73-1583 e 72-1807, respectivamente. (JCPDS, 2003).

Entretanto, sabe-se que o titânio quando exposto ao ar é rapidamente recoberto com camadas nanométricas entre 4 e 6 nm de TiO_2 , sendo assim, fica difícil a não detecção de TiO_2 nas superfícies irradiadas pela técnica DRX, isso pode ser justificado, também, pela maior profundidade de análise da técnica (THOMAS, 1987). Esses resultados estão de acordo com Pérez Del Pino (2002), os quais após irradiar titânio com laser Nd:YAG em atmosfera normal, obtiveram diferentes camadas de óxidos, sendo que através de análise por DRX foi observado que as camadas eram compostas predominantemente por Ti_2O e Ti_3O , e por espectroscopia micro-Raman das micro-zonas identificou-se a presença de Ti_2O_3 e TiO_2 , não presentes por análise de DRX.

A Figura 28 apresenta o refinamento de Rietveld referente às superfícies das amostras A e B, como representado a seguir;

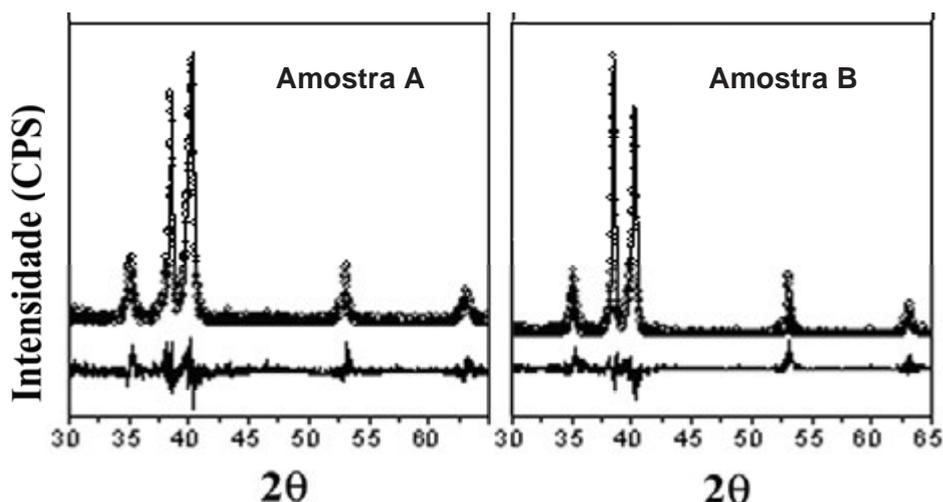


Figura 28: Espectros de DRX após o refinamento por Rietveld das superfícies irradiadas por laser.

Tabela 11: Porcentagem das fases obtidas, após refinamento por Rietveld (RIETVELD, 1969).

	280 J/cm ²	56 J/cm ²
Fases	Amostra A (%)	Amostra B (%)
α -Ti	24,2	63,5
Ti ₃ O	52,4	1,0
Ti ₆ O	4,6	18,8
β -Ti	13,4	16,2
β -TiO	5,4	0,5

Estes resultados sugerem que os processos de fusão e solidificação rápida mediante irradiação por feixe de laser, em atmosfera normal, induzem a formação de óxidos de titânio com diferentes graus de oxidação, indicando que a energia do laser favorece a difusão de átomos de O (ou N, dependendo da atmosfera utilizada) bem como a solidificação rápida que forma essas fases em condição de não-equilíbrio, uma vez que o estado mais estável é a fase TiO₂ (rutilo) (NANAI, 1997; VAJTAI, 1996). Observando-se a Tabela 11, verifica-se que com o aumento da fluência existe um aumento na porcentagem de óxidos sobre a sua superfície, desta forma a amostra que apresenta um maior número de óxidos é a A devido a sua fluência ser de 280 J/cm².

Os óxidos Ti₃O e Ti₆O são classificados como óxidos não-estequiométricos deficientes em oxigênio, ou seja, possuem vacâncias de oxigênios (V_{O}) – Figura 29a. Essas vacâncias são defeitos, sendo desvios da composição estequiométrica dos compostos (SØRENSE, 1981).

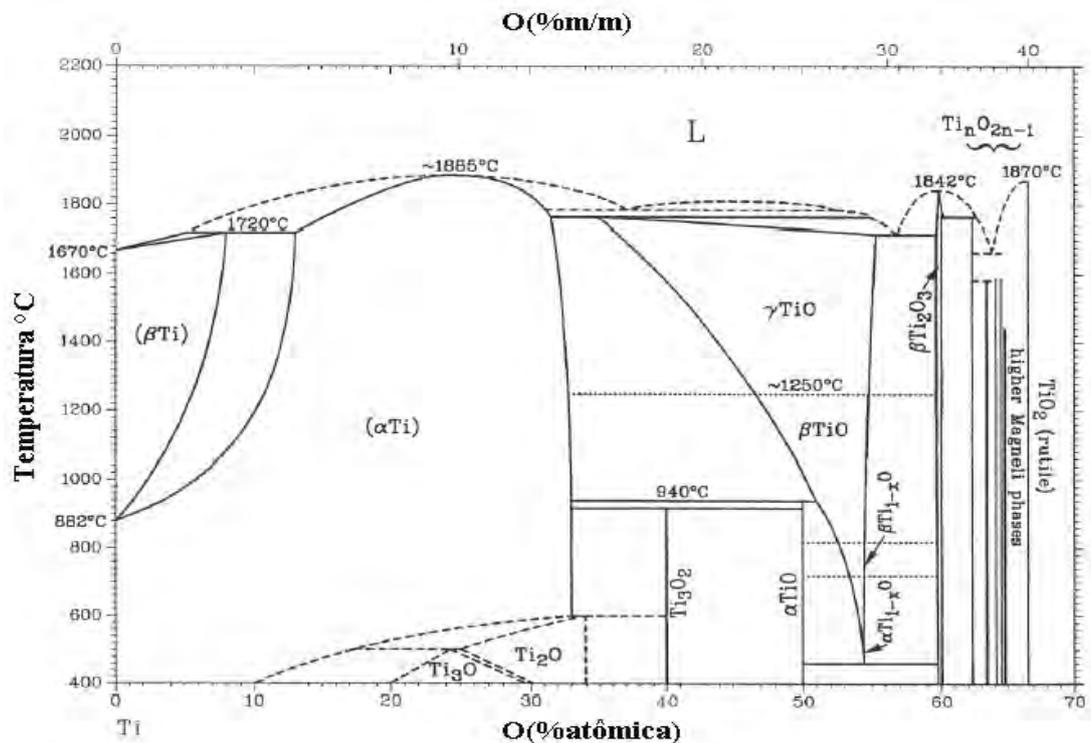


Figura 30: Diagrama de fase do titânio e oxigênio (MURRAY, 1994).

Conforme o diagrama de fase do Ti–O, o titânio metálico quando aquecido entre 400 °C e 600 °C, em ar e pressão atmosférica, transforma-se em compostos com estruturas pertencentes às fases TiO_{2-x} . Entre as quais, pode-se destacar as fases Ti_3O , Ti_6O , Ti_2O e Ti_3O_2 (~8 a ~18% m/m). Essas são os estados de menor oxidação do titânio.

Segundo o diagrama de fases de Ti – O, a fase β-Ti ocorre a altas temperaturas e baixa concentração de oxigênio. Assim, a presença da fase cúbica β-Ti na superfície obtida pode ser entendida em termos do baixo teor de oxigênio na zona central do feixe laser, devido à difusão das moléculas (GYÖRGY, 2004). Um outro fator que contribui para a formação da fase cúbica é a solidificação rápida da superfície. Sendo assim, a fase cúbica do Ti é estabilizada, contudo, esta fase encontra-se em menor presença. A formação da fase β-TiO pode estar relacionada a fase β-Ti. (GYÖRGY, 2004)

Os picos característicos de TiO_2 (rutile e anatásio) não foram observados, indicando que uma fluência máxima de 280 J/cm^2 , não foi suficiente para formar a fase mais oxidada do titânio (TiO_2). Isto está de acordo com estudos similares, realizados por (PEREZ, 2002; LAVISSE, 2002; GYÖRGY, 2002) que obtiveram rutile e anatásio somente com fluência superior de 294 J/cm^2 . O titânio é capaz de absorver no seu retículo cristalino cerca de 40% de oxigênio atômico (~18% m/m) em solução sólida intersticial.

A este tipo de estrutura pertencem todas as fases TiO_x com $x < 0,7$, entre as quais se destacam Ti_3O , Ti_2O e Ti_3O_2 (~8 a ~18% m/m). A primeira fase intermediária, TiO , corresponde a todas as formas TiO_x com $0,7 < x < 1,3$ (~18-29,4% m/m). A próxima fase intermediária está baseada na composição Ti_2O_3 (~33 a ~34% m/m). Antes da região de formação do TiO_2 (~40% m/m) forma-se uma fase com menor teor de oxigênio, a série de óxidos de titânio, Ti_nO_{2n-1} , que engloba, o intervalo de $n = 3-10$ (~36% m/m), e compreende uma grande variedade de espécies. As fases denominadas Magnéli com $n = 4-10$ (~37 a ~39% m/m) corresponde a uma série homóloga de óxidos, desde Ti_4O_7 até $Ti_{10}O_{19}$ (MURRAY, 1994).

Sendo assim, a presença das fases sub-estequiométricas Ti_3O e Ti_6O pode ser explicada pela difusão do oxigênio nos interstícios da rede do Ti cp (GYÖRGY, 2004; LAVISSE, 2002).

Devido à grande solubilidade apresentada pelo oxigênio no titânio, esta propriedade conduz à formação de uma grande quantidade de óxidos como pode ser observado pelo diagrama de fases Ti-O, Figura 30, com uma relação O/Ti no intervalo de 0-2.

6.1.2 - Medidas de ângulo de contato

A medida do ângulo de contato de uma gota de um líquido de interesse numa superfície tem sido usada para caracterizar a molhabilidade desta superfície, conforme apresentado na Tabela 12. A molhabilidade da superfície de um implante pode descrever a interação deste com as biomoléculas, células e organismos presentes no meio biológico (RATNER, 1996)

Tabela 12: Referências de ângulos de contato e condições de molhamento

$\theta = 0$	molhamento completo
$0 < \theta < 90^\circ$	molhamento parcial
$\theta > 90^\circ$	não há molhamento

(RATNER, 1996, PARK 1984)

A Tabela 13 mostra as medidas de molhabilidade das superfícies em estudo; observa-se que estas apresentaram molhamento total e instantâneo em água destilada com exceção da superfície usinada.

Tabela 13: Ângulo de contato das amostras experimentais

Superfície	ângulo / grau
Usinada	2
Amostra A (280 J/cm ²)	0
Amostra B (56 J/cm ²)	0

Pode-se observar pela Tabela 13 que independente dos dois materiais estudados e das duas condições paramétricas do feixe de laser aplicado, todas as superfícies irradiadas apresentaram total molhabilidade com exceção da superfície usinada acusando baixa tensão superficial e conseqüentemente, apesar da elevada taxa de energia transferida pelo processo laser de modificação de superfície, esta não foi retida em níveis que pudessem afetar a molhabilidade e desta forma não interferindo no processo de adesão celular à superfície conforme citado na literatura (BAIER, 1988)(LAWRENCE , 2005)(LAWRENCE, 2006) onde a teoria que prevalece é a de que a energia de superfície tem um efeito seletivo sobre a configuração e conformação das proteínas que são adsorvidas durante o processo de adesão celular à superfície do implante.

6.1.3 - Superfícies Irradiadas e submetidas ao tratamento com NaOH

As amostras após a irradiação por feixe de laser foram limpas (conforme descrito anteriormente em materiais e métodos) e posteriormente submetidas ao processo de ativação da superfície. A camada passiva de óxido de titânio que se forma espontaneamente reage com uma solução de NaOH formando um hidrogel de titanato alcalino sobre a superfície (KOKUBO, 1996). Esta camada é desidratada e estabilizada como um titanato de sódio parcialmente cristalizada após o tratamento a 60°C por 3 horas. Tal procedimento é realizado com o objetivo de ativar o substrato, tornando a superfície reativa para a deposição de materiais inorgânicos como as apatitas (ALENCAR, 2002). As amostras foram colocadas em uma solução de NaOH 5 mol.L⁻¹ por um período de 24 horas.

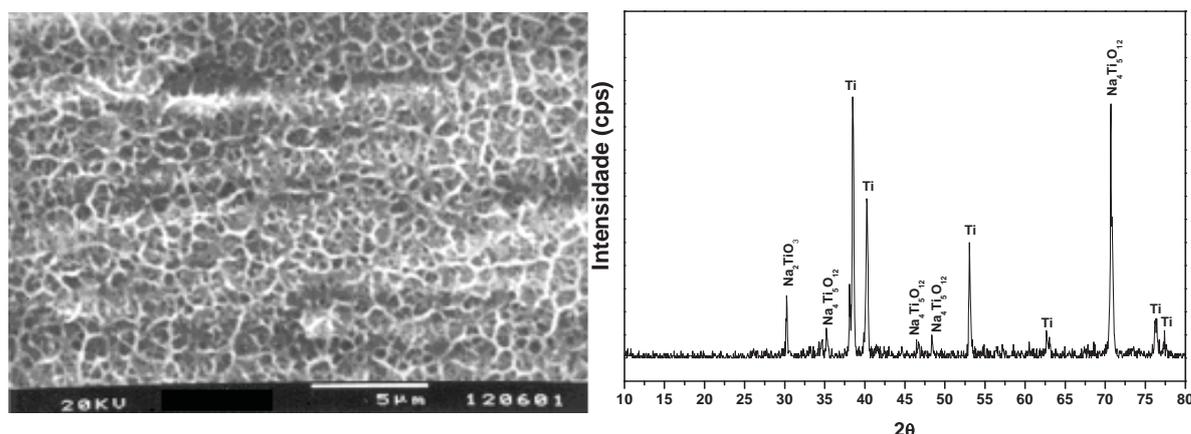


Figura 31: MEV e DRX da superfície do titânio c.p. após NaOH.

A Figura 32, apresentam as micrografias do titânio e das amostras A e B após NaOH.

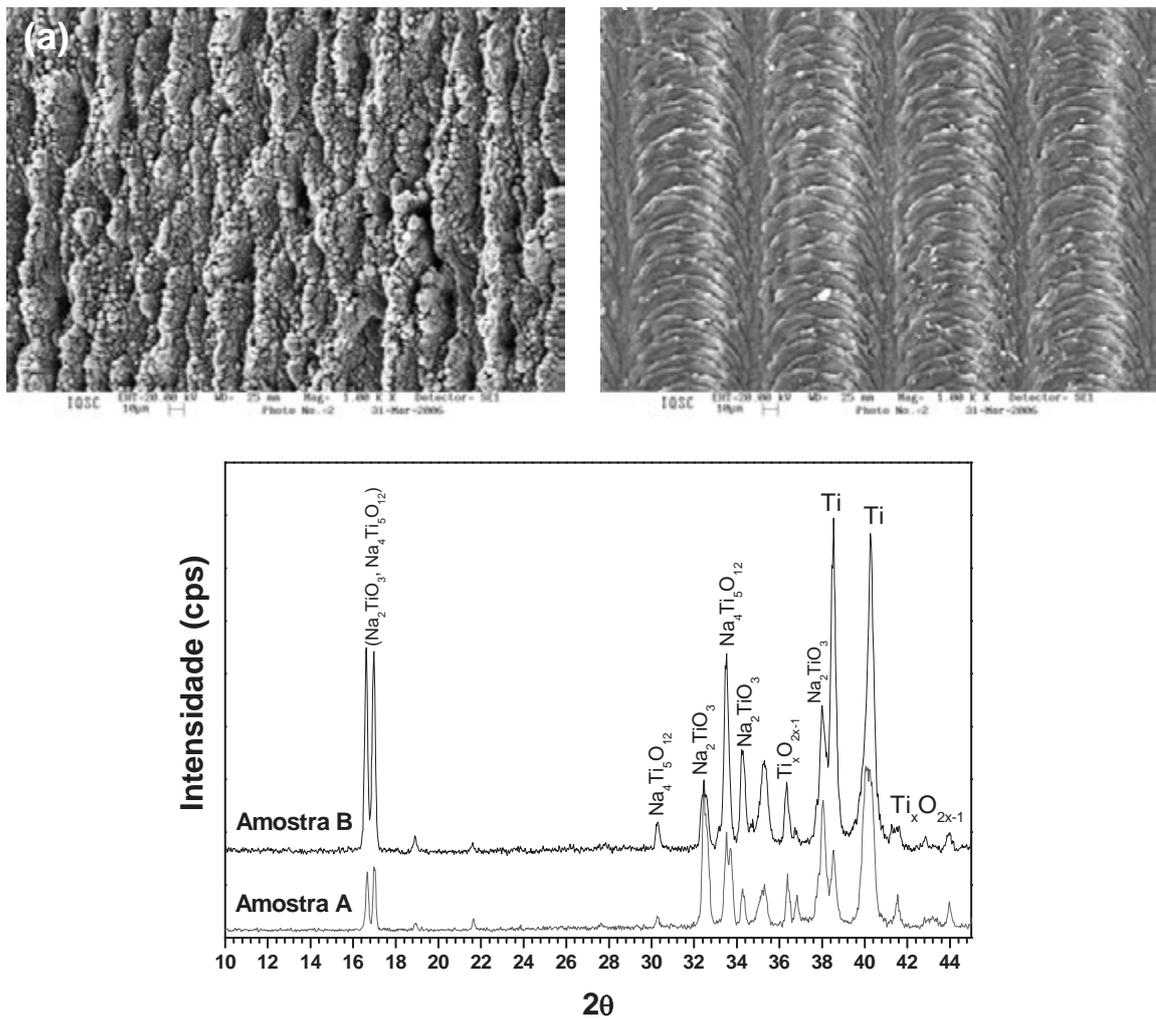
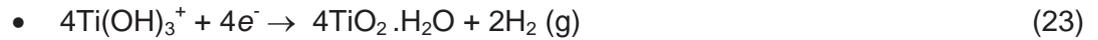


Figura 32: MEV e DRX das amostras A e B após NaOH, (a) Amostra A, (b) Amostra B.

As reações químicas que acontecem no processo de formação da camada de hidrogel sobre a superfície do titânio durante o tratamento com NaOH, estão apresentadas a seguir.





Durante esse processo, os óxidos de titânio que se formam sobre a superfícies provenientes da ablação em atmosfera ambiente é dissolvido parcialmente para formar uma solução alcalina devido a reação de oxidação dos grupos hidroxila, reação 22. A hidratação do Ti metálico ocorre simultaneamente com o ataque químico, reações 20, 21 e 22. Um ataque adicional de uma hidroxila a um TiO_2 hidratado produzirá hidratos com cargas negativas sobre a superfície do substrato, reação 23 (KOKUBO, 1996).

Observando-se o difratograma do Ti cp referente à Figura 46, em comparativo com as amostras irradiadas, Figura 32, verifica-se que houve uma diminuição no número de picos de titanatos, isso se deve ao fato de ter ocorrido uma menor oxidação da superfície da amostra em questão e assim formando uma quantidade menor de titanato de sódio.

Todas as amostras analisadas apresentaram as mesmas fases, as fases identificadas foram $\text{Na}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$ (n.52-1814) e Na_2TiO_3 (n.37-0345), conforme as fichas padrões do JCPDS. Os picos identificados correspondentes às fases α -Ti (n.89-5009) e óxidos não-estequiométricos ($\text{Ti}_x\text{O}_{2x-1}$) provavelmente estando relacionadas com esses elementos no substrato. Analisando-se os difratogramas referentes às figuras 45 e 46, observa-se que as amostras que foram submetidas a solução de NaOH, apresentou picos como o de titanato de sódio para todas as amostras próximo de $2\theta = 17^\circ$, $2\theta = 30^\circ$ e $2\theta = 36^\circ$, além de óxidos não-estequiométricos. Encontrou-se também para ambas as amostras o $\text{Na}_4\text{Ti}_5\text{O}_{12}$, por volta de $2\theta = 34^\circ$, que também auxilia na ativação da superfície.

6.2 - Recobrimento de apatitas pelo Método Biomimético

Todas as amostras de titânio modificadas por feixe de laser foram recobertas pelo método biomimético por três tipos de SBF (*Simulated Body Fluid*) diferentes a fim de obter as fases ACP, OCP, HA e β -TCP, como apresentado na Tabela 14.

Tabela 14: Razão Ca/P dos fosfatos de cálcio.

Fosfato de Cálcio	Fórmula Química	Ca/P
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5

Fosfato tricálcico (α, α', β, γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33

Fonte: AOKI, 1991.

O teste de solubilidade das apatitas foram todos realizados em triplicata e em meio de água destilada com pH = 7,35, o pH da mesma foi acertado com um solução Tris, esta apresenta um caráter básico.

O meio de água destilada foi escolhido como um teste preliminar para a dissolução de apatitas, a normativa não especifica um meio padrão para a dissolução das fases de apatitas.

MEIO DE DISSOLUÇÃO - Normativa

Utiliza-se o meio de dissolução especificado na monografia do produto, previamente degaseificado por procedimento conveniente, quando necessário, para evitar a formação de bolhas que possam interferir na velocidade de dissolução a ser medida. Quando o meio de dissolução for solução tampão, o pH deve ser ajustado a $\pm 0,05$ unidades do valor do pH especificado na monografia do produto. (FARMACOPÉIA, 2010).

6.2.1 - Fases de Apatitas

6.2.1.1 - Fosfato de Cálcio Amorfo (ACP)

	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	-

Na imersão da amostra A em SBF 4 obteve-se um recobrimento composto por grãos esféricos característicos da fase ACP, figuras 33(a). O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas, figura 33(c). Os resultados do DRX confirmaram a presença majoritária ACP e também de apatita carbonatada do tipo B, figura 33(b). O espectro de IV exibiu bandas características dos grupos PO_4 (em 575 cm^{-1}), P-OH (em 1114 cm^{-1}) e apatita carbonatada do tipo B (em 1411 e 1463 cm^{-1} , respectivamente), figura 33(d). A curva de solubilidade da amostra A referente a

fase ACP foi avaliada por duas metodologias (titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos) e são apresentadas na figura 33(e).

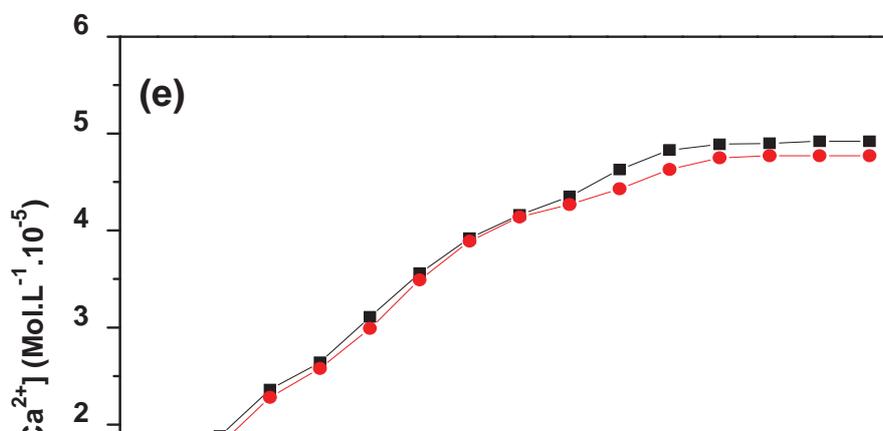
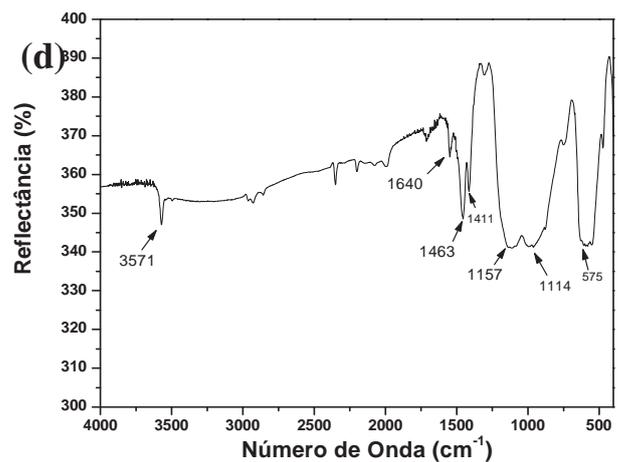
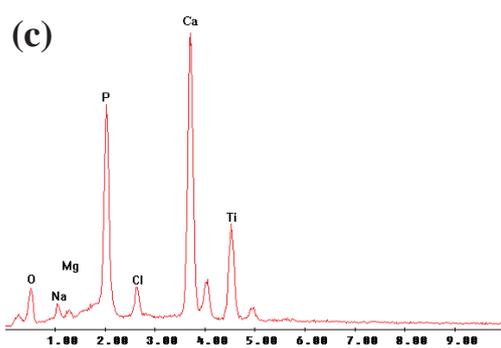
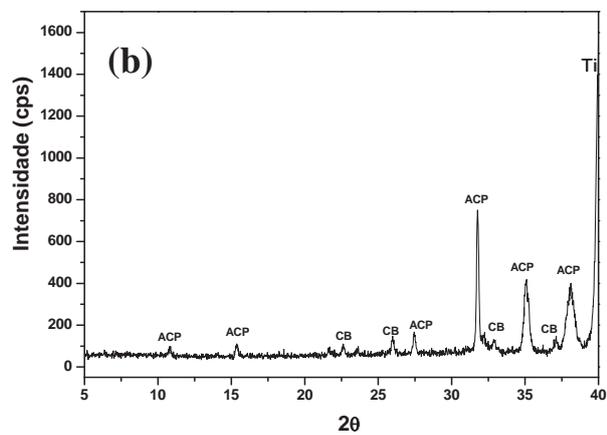
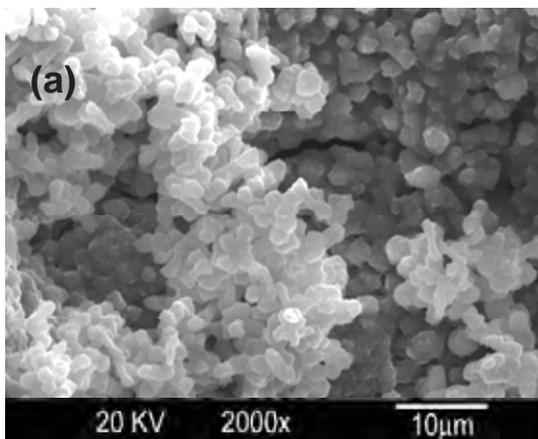


Figura 33: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 4, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase ACP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a curva de solubilidade da fase ACP em água destilada sob o $\text{pH} = 7,35$ e a $37,5^\circ\text{C}$ para a amostra A ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente ao longo desse período. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação de apatitas ao longo dos 30 dias, próximos dos últimos 5 dias a quantidade liberada em solução tornou-se quase que desprezível como é possível se observar o perfil da curva apresentada. As metodologias utilizadas para a determinação quantitativa de cálcio em solução se mostraram adequadas, pois ambas as curvas apresentaram valores muito próximos uma da outra.

Na imersão da amostra B em SBF 4 obteve-se um recobrimento composto por grãos pequenos e esféricos característicos da fase ACP, figuras 34(a). O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas, figura 34(c). Os resultados do DRX confirmaram a presença majoritária ACP, figura 49(b). O espectro de IV exibiu bandas características dos grupos PO_4 (em 557 cm^{-1}), P-OH (em 1056 cm^{-1}) e apatita carbonatada do tipo A (1514 cm^{-1}), figura 34(d). A curva de solubilidade da fase ACP referente a amostra B é apresentada na figura 34(e). A Figura 34 apresenta o recobrimento da Amostra B pela solução SBF 4.

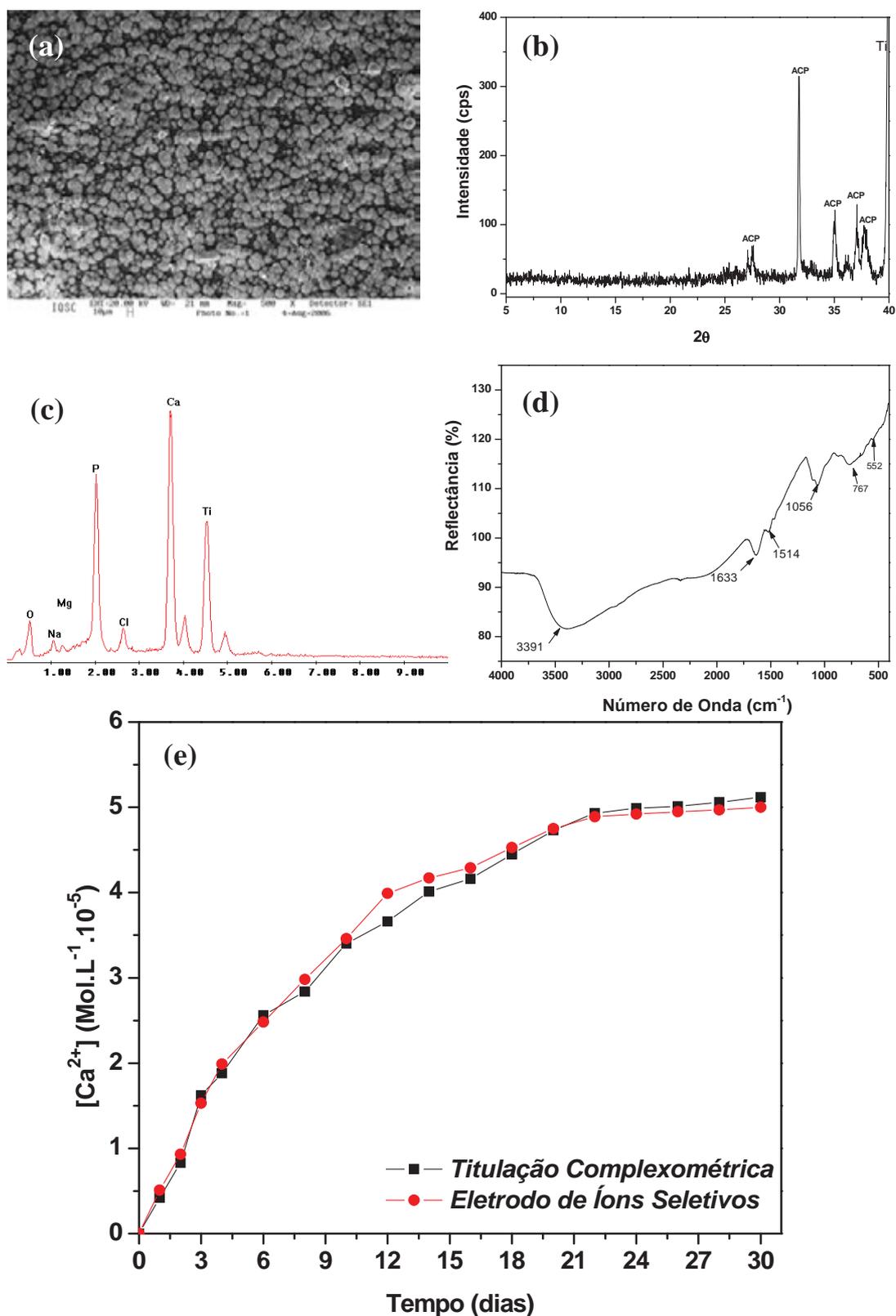


Figura 34: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 4, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase ACP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

O recobrimento obtido apresentou morfologia característica da fase ACP, composta por grãos esféricos (KANAZAWA, 1989), figuras 49(a) e 49(b). O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas. 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 34(a). O espectro de IV confirmou os resultados obtidos por DRX, pois apresentou bandas características dos grupos PO_4 (em 767 cm^{-1}), P-OH (em 1056 cm^{-1}) e da fase amorfa de fosfato de cálcio (em 552 cm^{-1}). Além destas bandas, o recobrimento apresentou bandas referentes à apatita carbonatada tanto do tipo A (em 1514 cm^{-1}) caracterizando então uma apatita carbonatada (VERCIK, 2004).

Analisando-se a figura 49(e) referente a curva de solubilidade da fase ACP para a amostra B em água destilada sob o $pH = 7,35$ e a $37,5^\circ\text{C}$, ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente ao longo de todo período. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação de apatita praticamente estabilizando nos últimos 3 dias para a fase ACP na amostra B.

Comparando-se as curvas de solubilidade para as amostras A e B, observa-se que ambas as amostras apresentaram um mesmo perfil na cinética de liberação, em que existe uma grande liberação ao longo de 30 dias. Analisando-se as concentrações em solução observa-se que a amostra B apresentou uma maior liberação de apatitas em um mesmo intervalo de tempo, isto se deve a diferença na modificação da superfície do titânio pelo laser. A amostra B apresenta uma menor densidade de energia inserida sobre a superfície da amostra e conseqüentemente uma menor deformação da mesma, assim apresenta uma menor distância entre a superfície e a parte funda da amostra o que auxilia em uma liberação mais rápida e fácil das apatitas em solução.

Analisando-se pelo método de Rietveld as fases de apatitas depositadas sobre as superfícies modificadas por laser, observamos na Tabela 15, em que a fase majoritária em ambas as superfícies é a ACP (Fosfato de Cálcio Amorfo). A amostra B (80,65%) apresentou uma maior quantidade da fase ACP quando comparada com a amostra A (56,71%). Tal resultado mostra que devido à amostra B apresentar um percentual da fase ACP maior, a liberação da mesma se mostrou mais rápida quando comparada com a amostra A em um mesmo período. Assim além da menor modificação superficial (Amostra B) auxiliar em uma liberação mais rápida e de uma quantidade maior para a solução, a mesma apresenta majoritariamente a fase ACP o que auxilia ainda mais tal processo.

Tabela 15: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld (RIETVELD, 1969).

Fases	280 J/cm ²	56 J/cm ²
	Amostra A (%)	Amostra B (%)
ACP	56,71	80,65
Apatita Carbonatada	43,29	19,35

6.2.1.2 - Fosfato Octacálcico (OCP)

	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 OCP e agulhas características do OCP, Figura 35(a). O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas, e nota-se também ausência do pico de Ti, mostrando que a camada é espessa, figura 35(b). Os resultados de DRX confirmaram as observações anteriores, pois apresentou picos característicos somente da fase OCP e de apatita carbonatada AB, figura 35(b). Dessa forma, nota-se que nesta concentração (5mM) os íons CO₃²⁻ apresentam maior eficiência na diminuição do período de indução da cristalização do OCP (CHRISTOFFERSEN, 1978).

As bandas exibidas por espectroscopia de IV foram características dos grupos PO₄ (552 cm⁻¹), P-OH (1043 cm⁻¹) e apatita carbonatada dos tipos B (em, respectivamente, 1411 e 1462 cm⁻¹), figura 35(d). A curva de solubilidade da amostra A referente a fase OCP foi avaliada por duas metodologias (titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos) e se encontram na figura 35(e).

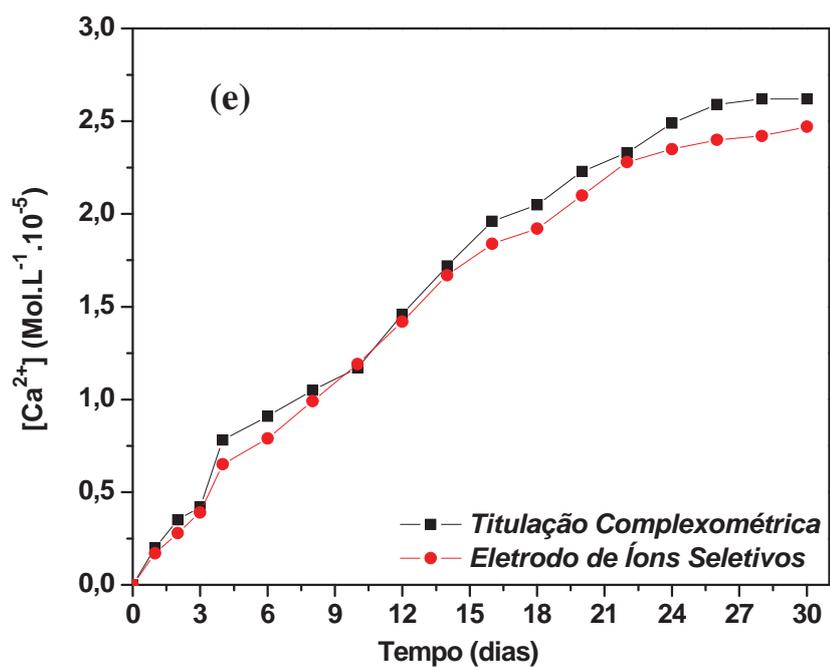
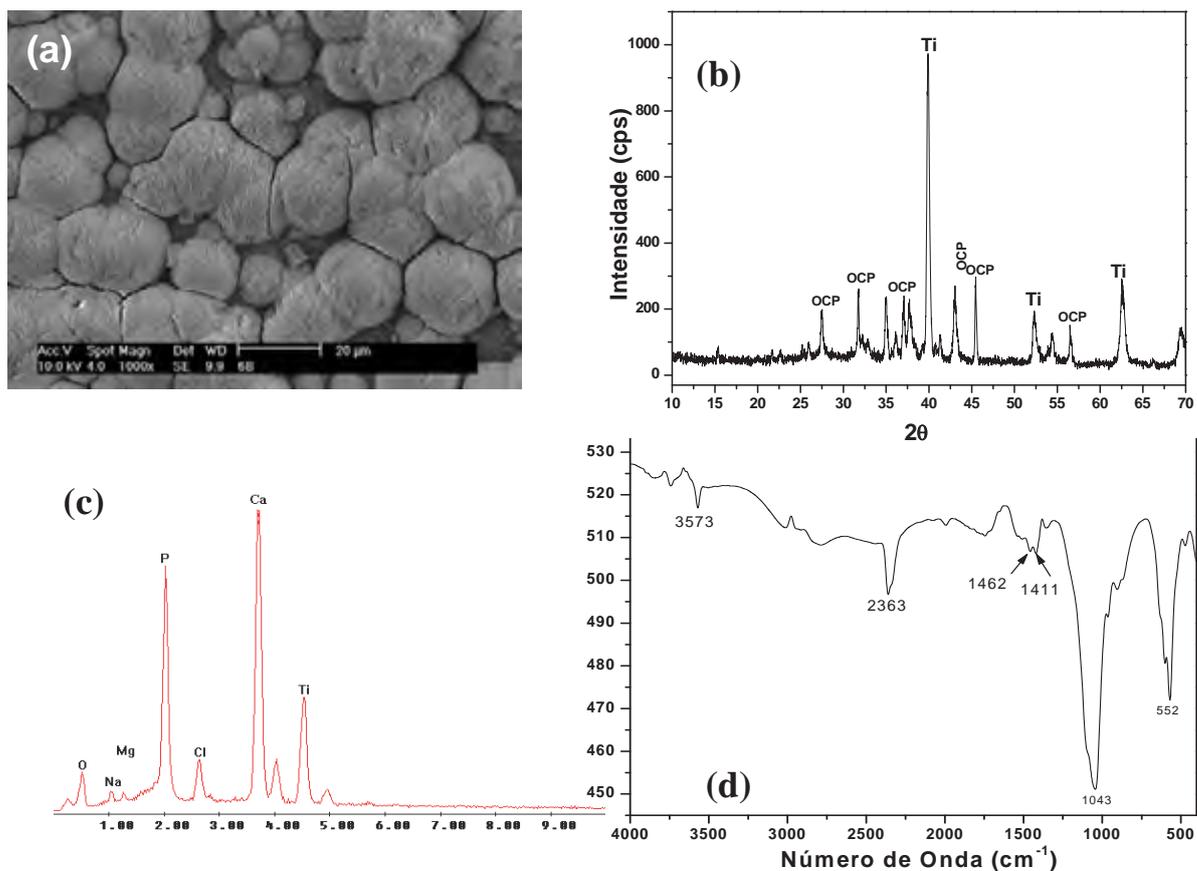
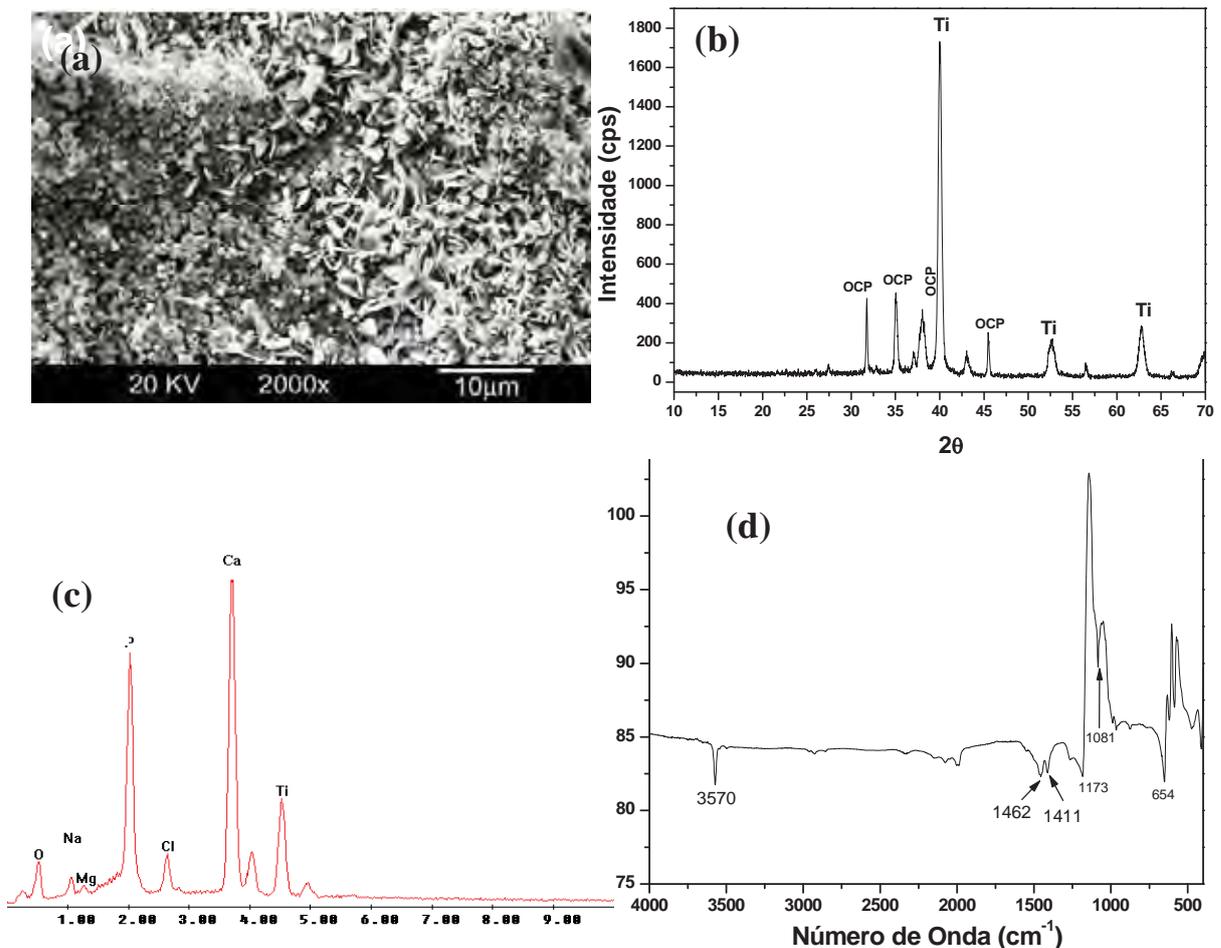


Figura 35: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase OCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a curva de solubilidade da fase OCP em água destilada sob o $\text{pH} = 7,35$ e a $37,5^\circ\text{C}$ para a amostra A ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente ao longo desse período. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação de apatitas ao longo dos 30 dias, próximos dos últimos 3 dias de análise a quantidade liberada em solução tornou-se quase que desprezível como é possível se observar o perfil da curva apresentada. As metodologias utilizadas para a determinação quantitativa de cálcio em solução se mostraram adequadas, pois ambas as curvas apresentaram valores muito próximos uma da outra. Estando dentro do erro experimental.

A Figura 36 apresenta o recobrimento da Amostra B pela solução SBF 6.



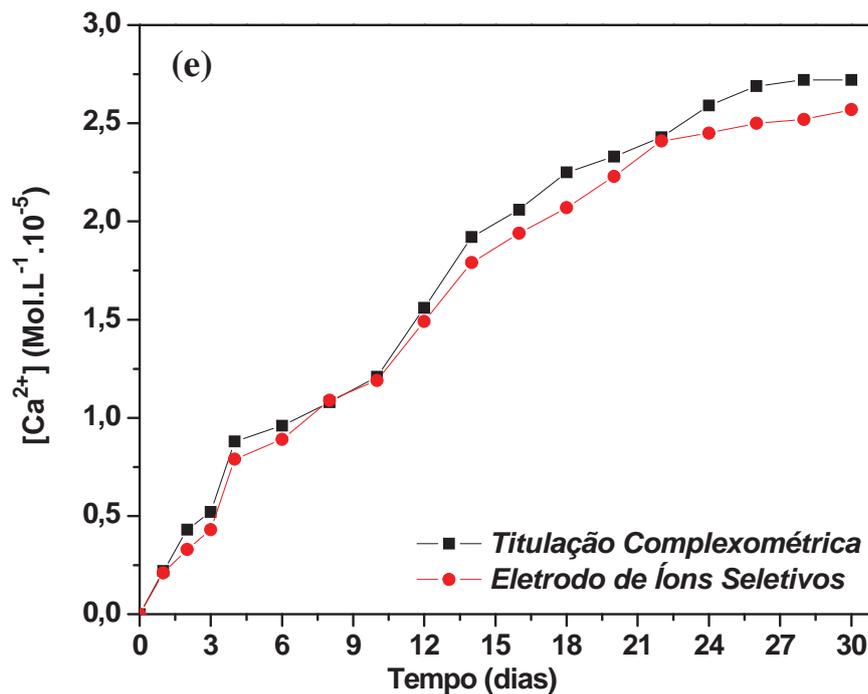


Figura 36: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase OCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a figura 36(e) referente a curva de solubilidade da fase OCP para a amostra B em água destilada sob o pH = 7,35 e a 37,5°C, ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente por todo o período analisado. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação da fase OCP por todo o período.

Comparando-se as curvas de solubilidade para as amostras A e B, observa-se que ambas as amostras apresentaram um mesmo perfil na cinética de liberação, em que existe uma grande liberação ao longo de 30 dias. Analisando-se as concentrações em solução observa-se que a amostra B apresentou uma maior liberação de apatitas em um mesmo intervalo de tempo, isto se deve a diferença na modificação da superfície do titânio pelo laser. A amostra B apresenta uma menor densidade de energia inserida sobre a superfície da amostra e conseqüentemente uma menor deformação da mesma, assim apresenta uma menor distância entre a superfície e a parte funda da amostra o que auxilia em uma liberação mais rápida e fácil das apatitas em solução. (KANAZAWA, 1996).

Analisando-se pelo método de Rietveld as fases de apatitas depositadas sobre as superfícies modificadas por laser, observamos na Tabela 16, em que a fase majoritária em ambas as superfícies é a OCP (Fosfato Octacálcico). A amostra B (96,14%) apresentou uma maior quantidade da fase OCP quando comparada com a amostra A (92,31%). Tal

resultado mostra que devido à amostra B apresentar um percentual da fase OCP maior, a liberação da mesma se mostrou mais rápida quando comparada com a amostra A em um mesmo período. Assim além da menor modificação superficial (Amostra B) auxiliar em uma liberação mais rápida e de uma quantidade maior para a solução, a mesma apresenta majoritariamente a fase OCP o que auxilia ainda mais tal processo.

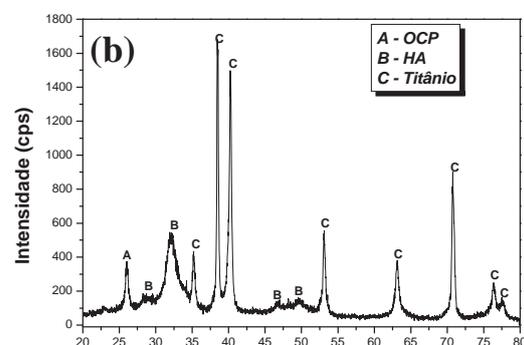
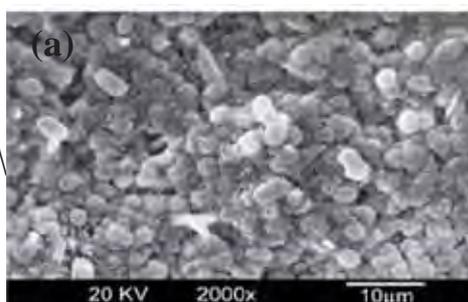
Tabela 16: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld (RIETVELD, 1969).

	280 J/cm ²	56 J/cm ²
Fases	Amostra A (%)	Amostra B (%)
OCP	92,31	96,14
Apatita Carbonatada	7,69	3,86

6.2.1.3 - Hidroxiapatita (HA)

	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 da Amostra A um recobrimento espesso, compacto e de grãos esféricos, com trincas de aproximadamente 10 μm. O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas. A figura 37 apresenta a morfologia e o EDX deste recobrimento. Os resultados do DRX confirmaram a presença majoritária da fase HA, figura 37(b). O espectro de IV exibiu bandas características dos grupos PO₄ (em 653 cm⁻¹), P-OH (em 1083 cm⁻¹) e apatita carbonatada do tipo B (1406 e 1459 cm⁻¹), figura 37(d). A curva de solubilidade da amostra A referente a fase HA foi avaliada por duas metodologias (titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos) e se encontram na figura 37(e).



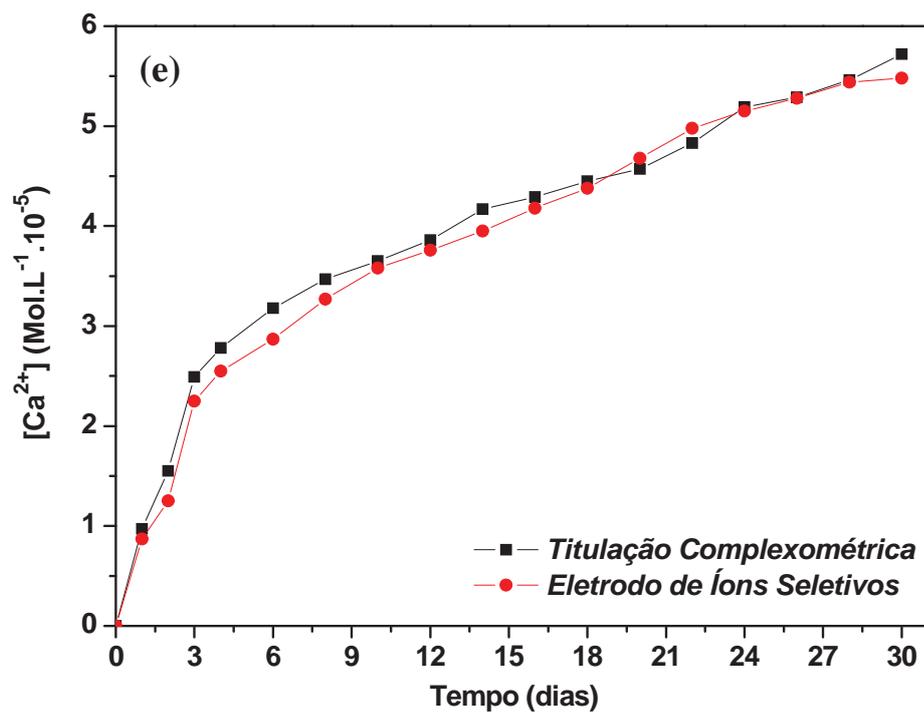
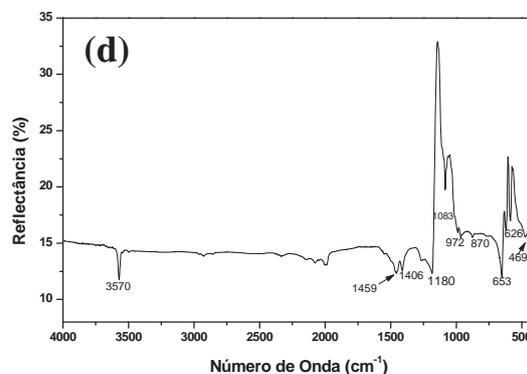
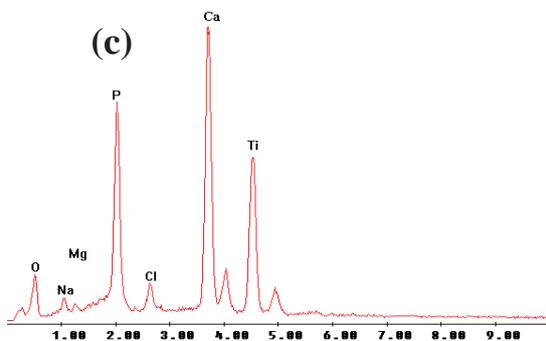
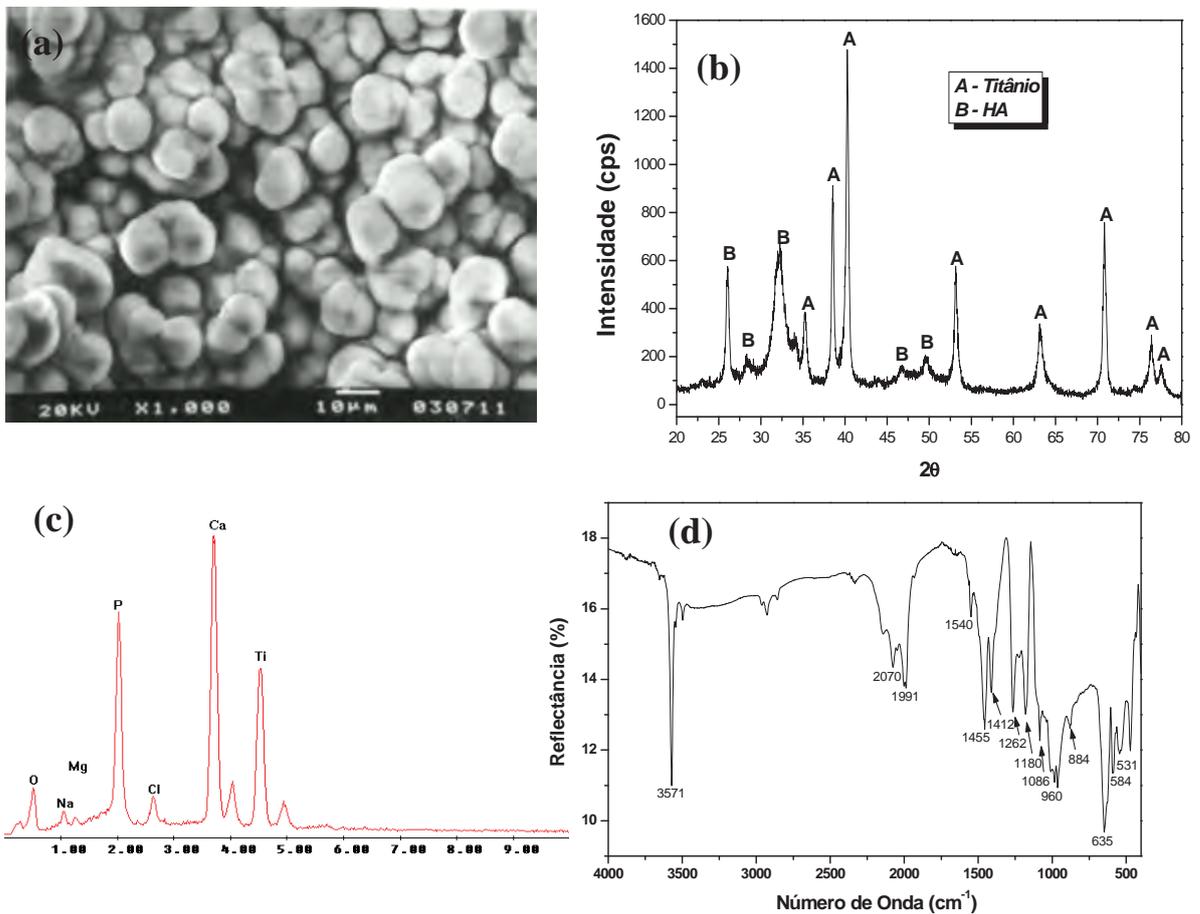


Figura 37: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 1,5, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase HA depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a figura 37(e) referente a curva de solubilidade da fase HA para a amostra B em água destilada sob o pH = 7,35 e a 37,5°C, ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente por todo o período, sendo mais acentuado até o quarto dia. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação da fase HA por todo o período. A Figura 38 apresenta o recobrimento da Amostra B pela solução SBF 1,5.



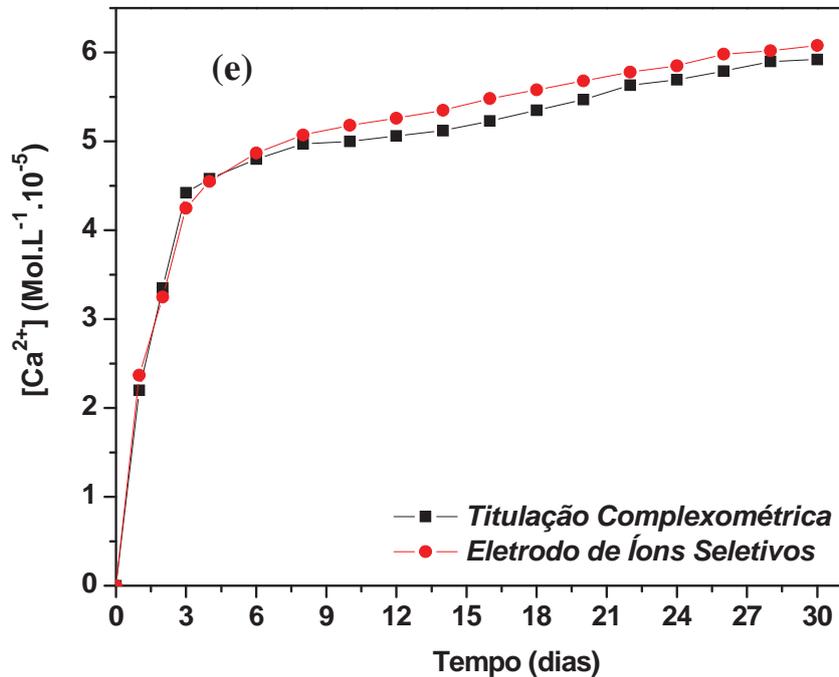


Figura 38: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 1,5, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase HA depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a curva de solubilidade da fase HA para a amostra B em água destilada sob o $\text{pH} = 7,35$ e a $37,5^\circ\text{C}$ ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente em todo o período analisado, atingindo uma grande liberação até o quarto dia, posterior a esse período a liberação se mostrou quase que constante até o término do experimento no trigésimo dia. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação da apatita tendendo a ficar constante posterior ao período de 4 dias como observado na amostra B.

Comparando-se as curvas de solubilidade para as amostras A e B, observa-se que ambas as amostra apresentaram um mesmo perfil na cinética de liberação, em que existe uma grande liberação ao longo de 30 dias. Analisando-se as concentrações em solução observa-se que a amostra B apresentou uma maior liberação até o quarto dia, atingindo uma concentração de íons cálcio em solução de aproximadamente de $4,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ em quanto que a amostra A em um mesmo intervalo de tempo atingiu $2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, isto se deve a diferença na modificação da superfície do titânio pelo laser. A amostra B apresenta

uma menor densidade de energia inserida sobre a superfície da amostra e conseqüentemente uma menor deformação da mesma, assim apresenta uma menor distância entra a superfície e a parte funda da amostra o que auxilia em uma liberação mais rápida e fácil das apatitas em solução.(AKAZAWA, 1996)

Analisando-se pelo método de Rietveld as fases de apatitas depositadas sobre as superfícies modificadas por laser, observamos na Tabela 17, em que a fase majoritária em ambas as superfícies é a HA (Hidroxiapatita). A amostra B (88,21%) apresentou uma maior quantidade da fase HA quando comparada com a amostra A (84,79%). Tal resultado mostra que devido à amostra B apresentar um porcentual da fase HA maior, a liberação da mesma se mostrou mais rápida quando comparada com a amostra A em um mesmo período. Assim além da menor modificação superficial (Amostra B) auxiliar em uma liberação mais rápida e de uma quantidade maior para a solução, a mesma apresenta majoritariamente a fase HA o que auxilia ainda mais tal processo.

Tabela 17: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld (RIETVELD, 1969).

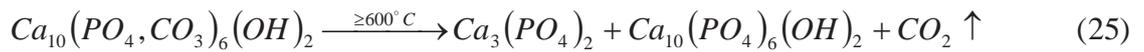
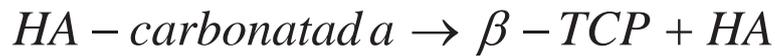
	280 J/cm ²	56 J/cm ²
Fases	Amostra A (%)	Amostra B (%)
HA	84,79	88,21
OCP	12,86	10,34
Apatita Carbonatada	2,35	1,45

6.2.1.4 - Fosfato tricálcico (β -TCP)

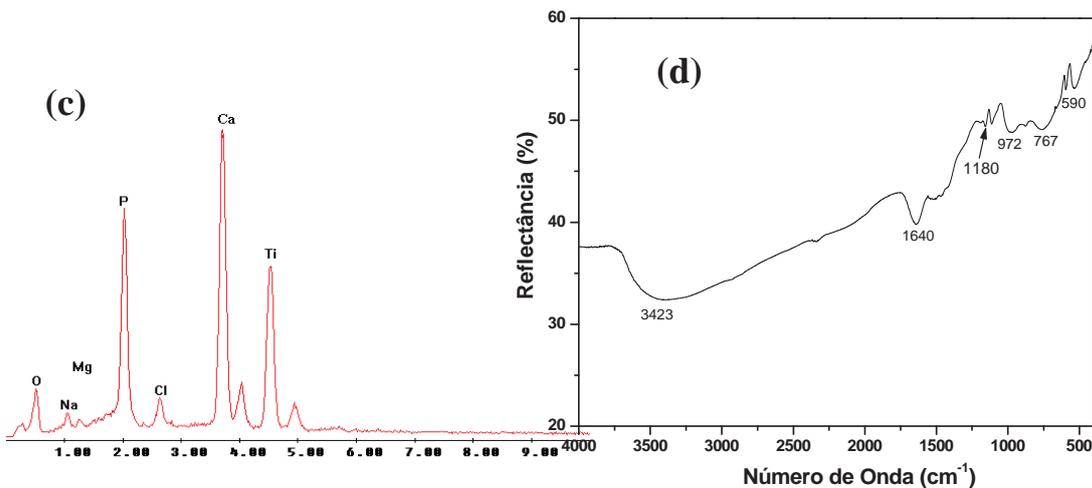
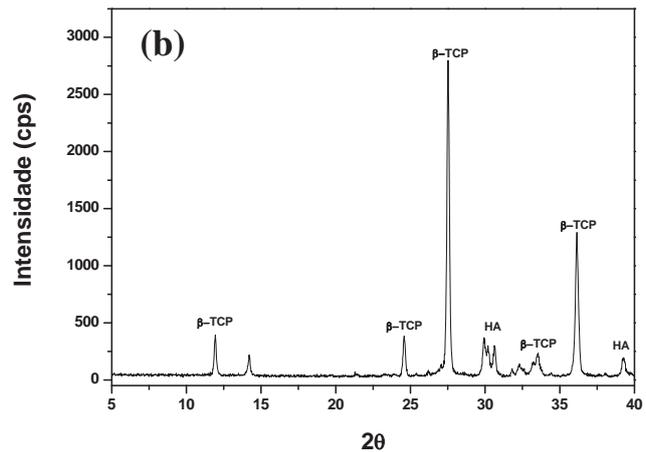
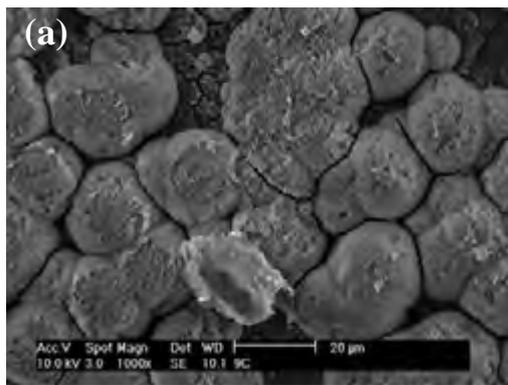
	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻	HCO ₃ ⁻
SBF 6	140.4	-	-	3.1	142.9	1.86	-	5.0

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 39a e 39b. O EDS confirmou a presença de átomos de cálcio e fósforo, como era esperado para a obtenção das fases de apatitas, figura 39c.

Os resultados de DRX confirmaram as observações anteriores, pois apresentaram picos característicos somente da fase β -TCP e de HA, figura 54b. Dessa forma, nota-se que o tratamento térmico realizado sobre a fase HA foi muito efetivo, pois possibilitou a conversão da mesma em β -TCP através da saída de água e do rearranjo estrutural sofrido, segundo a reação:



As bandas exibidas por espectroscopia de IV foram características dos grupos PO_4 (em 590 cm^{-1}), P-OH (em 767 e $972\text{--}1180\text{ cm}^{-1}$) e uma banda de apatita carbonatada do tipo B (em 1640 cm^{-1}), todas as bandas apresentadas são características da fase β -TCP, figura 39d.



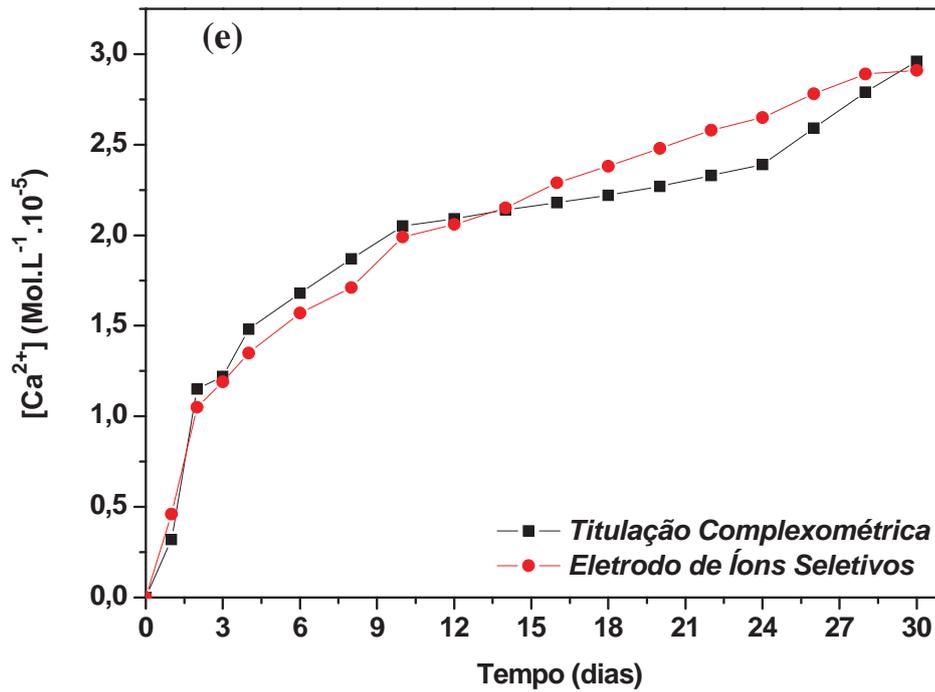
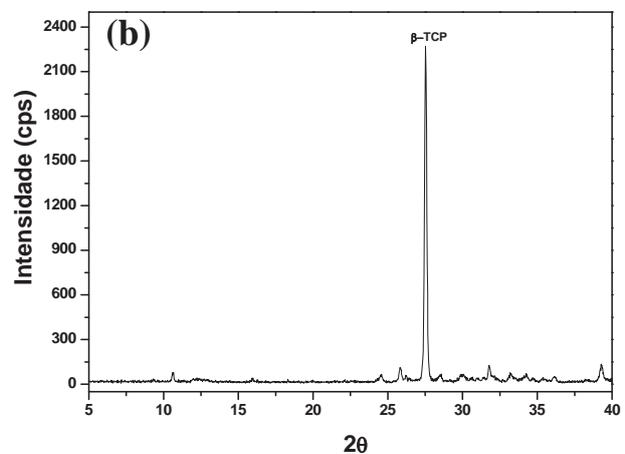
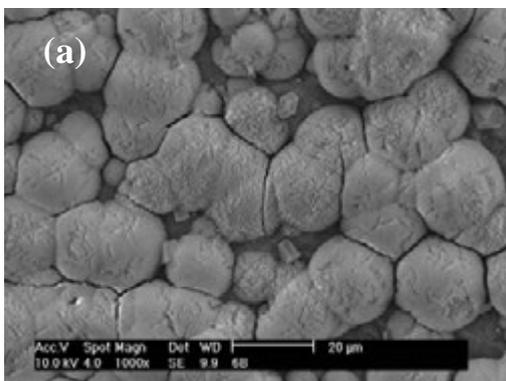


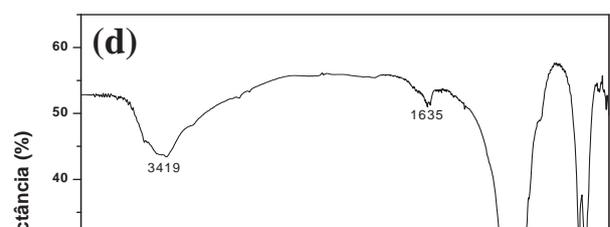
Figura 39: Caracterização da amostra A recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase β -TCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a curva de solubilidade da fase β -TCP para a amostra A em água destilada sob o $\text{pH} = 7,35$ e a $37,5^\circ\text{C}$ ao longo de 30 dias, observa-se que a liberação de cálcio teve uma crescente ao longo de todo o período estudado.

A Figura 40 apresenta o recobrimento da Amostra B pela solução SBF 6 e tratamento térmico.



(c)



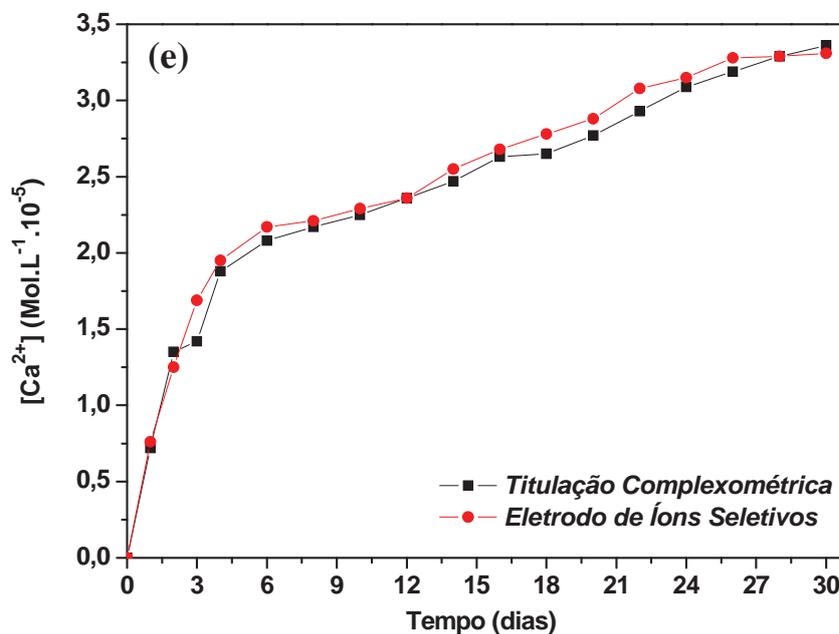
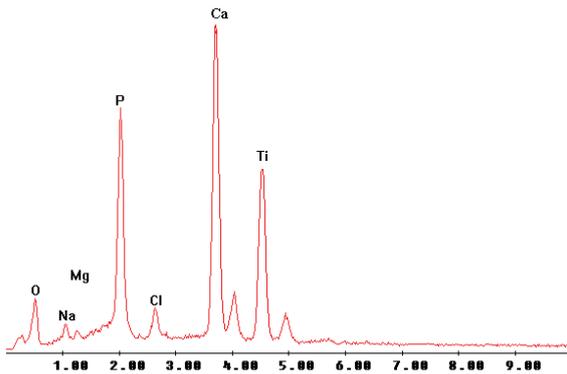


Figura 40: Caracterização da amostra B recoberta pela SBF 6, (a) MEV, (b) DRX, (c) EDS, (d) FTIR, (e) Curvas de Solubilidade da fase β -TCP depositada sobre a superfície do titânio analisadas pelas técnicas de titulação complexométrica e por eletrodo de íons seletivos.

Analisando-se a curva de solubilidade da fase β -TCP para a amostra B em água destilada sob o pH = 7,35 e a 37,5°C ao longo de 30 dias, observa-se que a concentração de cálcio em solução teve uma crescente até o 4º dia e depois um pequeno declive até o final do período analisado. Tal resultado nos leva a concluir que acontece uma grande liberação da apatita no início da liberação e depois continua em uma crescente mas de forma menos acentuada. (AKAZAWA, 1996).

Comparando-se as curvas de solubilidade para as amostras A e B, observa-se que ambas as amostras apresentaram uma liberação até o 30º dia, ambas as amostras apresentaram uma concentração de cálcio muito similar em todo o período. Analisando-se as curvas de solubilidade das amostras conclui-se que a amostra B liberou uma quantidade maior de cálcio atingindo uma concentração de aproximadamente $3,3 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ de íons

em solução no último dia de análise, já a amostra A atingiu uma concentração de aproximadamente $2,8 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$, tal diferença se dá devido a diferença na modificação da superfície do titânio pelo laser. A amostra B apresenta uma menor densidade de energia inserida sobre a superfície da amostra e conseqüentemente uma menor deformação da mesma, assim apresenta uma menor distância entre a superfície e a parte funda da amostra o que auxilia em uma liberação mais rápida e fácil das apatitas em solução. (DUCHEYNE, 1999)

Analisando-se pelo método de Rietveld as fases de apatitas depositadas sobre as superfícies modificadas por laser, observamos na Tabela 18, em que a fase majoritária em ambas as superfícies é a β -TCP (Fosfato tricálcico). A amostra B (81,11%) apresentou uma maior quantidade da fase β -TCP quando comparada com a amostra A (74,19%). Tal resultado mostra que devido à amostra B apresentar um percentual da fase β -TCP maior, a liberação da mesma se mostrou mais rápida quando comparada com a amostra A em um mesmo período. Assim além da menor modificação superficial (Amostra B) auxiliar em uma liberação mais rápida e de uma quantidade maior para a solução, a mesma apresenta majoritariamente a fase β -TCP o que auxilia ainda mais tal processo.

Tabela 18: Porcentagem das fases de apatitas obtidas, após refinamento por Rietveld (RIETVELD, 1969).

	280 J/cm ²	56 J/cm ²
Fases	Amostra A (%)	Amostra B (%)
β -TCP	74,19	81,11
HA	22,36	21,52
Apatita Carbonatada	3,45	2,63

6.3 - Resumo dos Resultados Obtidos

A tabela 19 apresenta, de forma resumida, a composição dos recobrimentos obtidos para cada solução SBF utilizada, a fim de facilitar a observação e análise dos resultados obtidos neste trabalho.

Tabela 19: Fases de Apatitas Obtidas nos Recobrimentos

SBF	Fases Obtidas
SBF 1,5	OCP, HA, HA - carbonatada
SBF 4	ACP, HA - carbonatada
SBF 6	OCP, HA - carbonatada
SBF 6/TT	β -TCP, HA, HA - carbonatada

Desta forma analisando-se todos os resultados obtidos concluímos que a modificação superficial pelo método laser foi satisfatória para as duas fluências utilizadas. A ativação da superfície modificada pelo laser por NaOH foi positiva tendo em vista a formação de titanatos estequiométricos e não-estequiométricos que por fim auxiliaram na deposição das fases de apatitas pelas soluções SBF.

Assim é possível a formação majoritária das fases de apatitas de interesse biológico apenas controlando-se os íons presentes em solução.

7 – CONCLUSÃO

Nas amostras submetidas ao processo laser, constatou-se que nas duas condições paramétricas pré-estabelecidas do laser as amostras sofreram o processo de ablação, ou seja, fusão e solidificação rápidas por feixe de laser induzindo a formação de óxidos estequiométricos e não-estequiométricos sobre a superfície.

Os resultados obtidos das superfícies modificadas por feixe de laser quando submetidas à solução de NaOH, apresentaram a formação de titanatos de sódio estequiométricos e não-estequiométricos que por sua vez ativa a superfície para a recepção de apatitas.

Os recobrimentos biocerâmicos realizados com diferentes soluções SBF, observou-se a ocorrência majoritária das fases de interesse em suas respectivas soluções, como caracterizado pelo método de Rietveld. Em todas as fases a amostra B apresentou-se mais promissora do ponto de vista de formação e estabilização de fases de apatitas.

Analisando-se as curvas de solubilidade referentes às fases ACP, OCP, HA e β -TCP observa-se que em todas as fases e pelas duas técnicas empregadas (eletrodos de íons seletivos e titulação complexométrica), as amostras que apresentaram uma melhor liberação ao longo do período de estudo foi amostra B.

Desta forma conclui-se que ambas as metodologias empregadas para a síntese das apatitas biológicas pelo método biomimético apresentaraou-se promissora. O processo de liberação de apatitas em água destilada mostrou-se satisfatório para todas as fases sintetizadas.

Proposta de Trabalhos Futuros

- **IRRADIAÇÃO POR LASER:**
 - Aderência entre a superfície metálica e cerâmica;
 - Como a energia de superfície influencia essa interação;

- **PROCESSO DE LIBERAÇÃO**
 - Estudar a possibilidade de interação do Fármaco com as apatitas;
 - Cinética de liberação de apatitas em solução tampão.
 - Cinética de liberação do Fármaco adsorvido nas apatitas.

REFERÊNCIAS

- ABE, Y.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Apatite coatings on ceramics, metals and polymers utilising a biological process. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 1, n. 4, p. 233-238, 1990.
- AKAZAWA, T.; KOBAYASHI, M. Surface characteristics of hydroxyapatite controlling albumin adsorption behaviour. **Journal of Materials Science Letters**, v. 15, p. 1319-1320, 1996.
- ALENCAR, A. C. **Estudo das modificações na superfície do Ti cp e da liga Ti-6Al-4V usados como biomateriais utilizando-se deposição por plasma-spray**. 2002. 73 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2002.
- ALMEIDA FILHO, E.; FRAGA, A. F.; BINI, R. A.; GUASTALDI, A. C. Bioactive coating on titanium implants modified by Nd:YVO₄ laser. **Applied Surface Science**, v. 257, p. 4575-4580, 2011.
- AOKI, H. **Science and medical applications of hydroxyapatite**. Tokyo: Takayama Press System Center, 1991. 230 p.
- APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33 n. 6, p. 1352-1358, 2010.
- ARIAS, J. L.; MAYOR, M. B.; POU, J.; LENG, Y.; LEÓN, B.; PEREZ-AMOR, M. Micro and nano-testing of calcium phosphate coatings produced by pulsed laser deposition. **Biomaterials**, v. 24, n. 20, p. 3403-3408, 2003.
- ASM INTERNATIONAL. **Metals handbook**. 9th ed. Materials Park, 1992. v. 8.
- ATKINS, P. W. **Físico-química**. 6. ed. Rio de Janeiro: LTC, 1999. v. 2, 382 p.
- BAIG, A. A.; FOX, J. L.; HSU, J.; WANG, Z.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W. I.; LEGEROS, R. Z. Effect of carbonate content and crystallinity on the metastable equilibrium solubility behavior of carbonated apatite. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 179, p. 608-617, 1996.
- BAIG, A. A.; FOX, J. L.; YOUNG, R. A.; WANG, Z.; HSU, J.; HIGUCHI, W. I.; CHHETTRY, A.; ZHUANG, H.; OTSUKA, M. Relationships amount carbonated apatite solubility, crystallite size, and Microstrain Parameters. **Calcified Tissue International**, v. 64, p. 437-449, 1999.
- BAIER, R. E.; MEYER, A. E. Implant surface preparation. **International Journal of Oral Maxillofacial Implants**, v. 3, n. 1, p. 9-20, 1988.
- BARRERE, F.; LAYROLLE, P.; VAN BLITTERSWIJK, C. A.; DE GROOT, K. Biomimetic calcium phosphate coatings on Ti-6Al-4V: a crystal growth study of octacalcium phosphate and inhibition by Mg²⁺ and HCO₃⁻. **Bone**, v. 25, n. 2, p. 107S-111S, 1999.

- BENHAYOUNE, H.; JALLOT, E.; LAQUERRIERE, P.; BALOSSIER, G.; BONHOMME, P.; FRAYSSINET, P. Integration of dense HA rods into cortical bone. **Biomaterials**, v.21, p. 235-242, 2000.
- BERTAZZO, S.; ZAMBUZZI, W. F.; CAMPOSA, D. D. P.; OGEDAA, T. L.; FERRERIA, C. V.; BERTRANA, C. A. Hydroxyapatite surface solubility and effect on cell adhesion. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 78, p. 177-184, 2010.
- BOCKRIS, J. O'M.; REDDY, A. K. N. Modern electrochemistry: an introduction to an interdisciplinary area. 3rd ed. New York: Plenum Press, 1977. v.1-2.
- BORGES, S. S.; KORN, M.; Geração sonoquímica de oxidantes em solução aquosa saturada de tetracloreto de carbono. **Química Nova**, v. 25, p. 558-562, 2002.
- 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.
- BRAGA, F. J. C.; MARQUES, R. F. C.; ALMEIDA, E. F.; GUASTALDI, A. C. Surface modification of Ti dental implants by Nd:YVO4 laser irradiation. **Applied Surface Science**, v. 253, p. 9203-9208, 2007.
- BRANEMARK, P. I.; ZARB, G. A.; ALBREKTSSON, T. **Prótesis tejido – integradas: la oseointegración en la odontología clínica**. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH, 1987. 350 p.
- BROWNE, M.; GREGSON, P. J. Surface modification of titanium alloy implants. **Biomaterials**, v. 15, p. 894-898, 1994.
- BYRNE, J. E.; LOVASKO, J. H.; LASKIN, D. M. Corrosion of metal fracture fixation appliances. **Journal of Oral Surgery**, v. 31, n. 8, p. 639-647, 1973.
- CALLISTER, W. D. **Materials science and engineering: an introduction**. 3rd ed. New York: John Wiley, 1994. 811 p.
- CAMPBELL, A. A. Bioceramics for implant coatings. **Materials Today**, v. 6, n. 11, p. 26-31, Nov. 2003.
- CAO, W.; HENCH, L. Bioactive materials. **Ceramics International**, v. 22, n. 6, p. 493-507, 1996.
- CLÈRIES, L.; MARTÍNEZ, E.; FERNANDÉZ-PRADA, J. M.; SARDIN, G.; ESTEVE, J.; MORENZA, J. L. Mechanical properties of calcium phosphate coatings deposited by laser ablation. **Biomaterials**, v. 21, n. 9, p. 967-971, 2000.
- COLLINGS, E. W. Physical metallurgy of titanium alloys. In: BOYER, R.; WELSCH, G.; COLLINGS, E. W. **Materials properties handbook: titanium alloys**. Materials Park: ASM International, 1994. p. 1-24.

CHANDER, S.; FUERSTENAU, D. W. Solubility and interfacial properties of hydroxyapatite: a review. In: MISRA, D. N. (Ed.). **Adsorption on and surface chemistry of hydroxyapatite**. New York: Plenum Press, 1984. p. 129-149.

CHENG, G. J.; PIRZADA, D.; CAI, M.; MOHANTY, P.; BANDYOPANDHYAY, A. Bioceramics coating of hydroxyapatite on titanium substrate with Nd-YAG laser. **Materials Science and Engineering C**, v. 25, p. 541-547, 2005.

CHHETTRY, A.; WANG, Z.; FOX, J. L.; BAIG, A. A.; ZHUANG, H.; HIGUCHI, W. I. Metastable equilibrium solubility distribution of carbonated apatite as a function of solution composition. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 218, p. 57 - 67, 1999.

CHINAGLIA, C. R. **Introdução à microscopia eletrônica de varredura e microanálise**. São Carlos: Ed. UFSCar, 1999. 31 p.

CHO, S. A.; JUNG, S. K. A removal torque of the laser-treated titanium implants in rabbit tibia. **Biomaterials**, v. 24, n. 26, p. 4859-4863, 2003.

CHRISTOFFERSEN, J.; CHRISTOFFERSEN, M. R.; KJAERGAARD, N. The Kinetics of dissolution of calcium hydroxyapatite in water at constant pH. **Journal of Crystal Growth**, v. 43 p. 501-511, 1978.

DE GROOT, K. Plasma sprayed coatings of hydroxyapatite. **Journal Biomedic Materials Research**, v. 21, p. 1375-1381, 1987.

DEKKER, R. J.; DE BRUIJN, J. D.; STIGTER, M.; BARRERE, F.; LAYROLLE, P.; VAN BLITTERSWIJK, C. A. Bone tissue engineering on amorphous carbonated apatite and crystalline octacalcium phosphate-coated titanium discs. **Biomaterials**, v. 26, n. 25, p. 5231-5239, Sept. 2005.

DONNAN, F. G. The theory of membrane equilibria. **Electrochemical**, v. 17, p. 572, 1911.

DOROZHKIN, S. V. A review on the dissolution models of calcium apatites. **Progress in Crystal Growth and Characterization**, v. 44, p. 45-61, 2002.

DUCHEYNE, P. Titanium and calcium phosphate ceramic dental implants, surfaces coatings and interfaces. **Journal Oral Implantology**, v. 14, n. 3, p. 325-340, 1998.

DUCHEYNE, P.; QIU, Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. **Biomaterials**, v. 20, p. 2287-2303, 1999.

ELLIOT, J. C. **Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates**. Amsterdam: Elsevier, 1994. 389 p.

FARREL, S. HESKETH, R. P. **An introduction to drug delivery for chemical engineers**.

Disponível em:

<<http://engineering.eng.rowan.edu/~hesketh/hesketh/cee%20drug%20delivery.pdf>> Companies involved in polymeric drug delivery.htm>. Acesso em: 10 jul. 2011.

FAEDA, R. S. **Avaliação de implantes de titânio com modificação da superfície por ablação a laser e recobrimento por hidroxiapatita biomimética**: estudo biomecânico em tibia de coelhos. 2006. 90 f. Dissertação (Mestrado em Periodontia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2006.

FARMACOPÉIA brasileira. 5. ed. Brasília,DF: ANVISA, 2010. v.1.

FENG, Q. L.; CUI, F. Z.; WANG, H.; KIM, T. N.; KIM, J. O. Influence of solution conditions on deposition of calcium phosphate on titanium by NaOH-treatment. **Journal of Crystal Growth**, v. 210, n. 4, p. 735-740, 2000.

FERNÁNDEZ, E.; GIL, J. F.; GINEBRA, M. P.; DRIESSENS, F. C. M.; PLANELL, J. A. Production and characterization of new calcium phosphate bone cements in the CaHPO_4 - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ system: pH, workability and setting times. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 10, p. 223-230, 1999.

FRANCIS, M. D. Solubility behavior of dental enamel and other calcium phosphates. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 131, n. 2, p. 694-712, 1965.

GHANDEHARI, H. **Phar 535**: controlled drug release. Disponível em: <https://rxsecure.umaryland.edu/courses/PHAR535/lecture_handouts/Intro_CR/Introduction%20to%20Controlled%20Drug%20Delivery.pdf>. Acesso em: 10 jul. 2011.

GAGGL, A.; SCHULTES, G.; MÜLLER, W. D.; KÄRCHER, H. Scanning electron microscopical analysis of laser-treated titanium implant surfaces: a comparative study. **Biomaterials**, v. 21, n. 10, p. 1067-1073, 2000.

GARCÍA, J.; DE LA FUENTE, J.; DAMBORENEA, J. J. (Ti/Al)/(Ti,Al)N coatings produced by laser surface alloying. **Materials Letters**, v. 53, p. 44-51, 2002.

GENNARO, A. R. (Ed.). **Remington**: the science and the practice of pharmacy. 20th ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2000. p. 335-343.

GIACOVAZZO, C. **Fundamentals of crystallography**. Oxford: Oxford University Press, 1994. 432 p.

GROSS, K. A.; BERNDT, C. C.; GOLDSCHLAG, D. D.; IACONO, V. *In vitro* changes of hydroxyapatite coatings. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v. 12, n. 5, p. 589-597, 1997.

GYÖRGY, E.; PÉREZ DEL PINO, A.; SERRA, P.; MORENZA, J. L. Chemical composition of dome-shaped structures grown on titanium by multi-pulse Nd:YAG laser irradiation. **Applied Surface Science**, v. 222, p. 415-422, 2004.

GYÖRGY, E.; MIHAILESCU, I. N.; SERRA, P.; PÉREZ DEL PINO, A.; MORENZA, J. L. Single pulse Nd:YAG laser irradiation of titanium: influence of laser intensity on surface morphology. **Surface & Coating Technology**, v. 154, n. 1 p. 63-67, 2002.

HALLGREN, C.; REIMERS, H.; CHAKAROV, D.; GOLD, J.; WENNERBERG, A. An *in vivo* study of bone response to implants topographically modified by laser micromachining. **Biomaterials**, v. 24, n. 5, p. 701-710, 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.
- HELMUS, M. N.; TWEDEN, E. **Encyclopedic handbook of biomaterial and bioengineering**. New York: Marcel Dekker, 1995. 550 p.
- HENCH, L. L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, n. 16, p. 1419-1423, 1998.
- HENCH, L. L.; WILSON, J. **An introduction to bioceramics**. London: World Scientific, 1993. v. 1, 386 p.
- HENCHT, J. The neodimium laser: a tutorial on the most widely used solidstate laser. **Laser and Applications**, v. 2, n. 11, p. 57-62, 1983.
- HSU, J.; FOX, J. L.; POWELL, G. L.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W. I.; BAIG, A. A.; LEGEROS, R. Z. Metastable equilibrium solubility behavior of carbonate apatite. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 167, p. 414-423, 1994.
- HSU, J.; FOX, J. L.; POWELL, G. L.; OTSUKA, M.; HIGUCHI, W. I.; YU, D.; WONG, J.; LEGEROS, R. Z. Quantitative relationship between carbonated apatite metastable equilibrium solubility and dissolution kinetics. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 168, p. 356-372, 1994.
- IJIMA, M.; KAMEMIZU, H.; WAKAMATSU, N.; GOTO, T.; DOI, Y.; MORIWAKI, Y. Effects of Ca addition on the formation of octacalcium phosphate and apatite in solution at pH 7.4 and at 37°C. **Journal of Crystal Growth**, v. 193, p. 182-188, Nov. 1998.
- IMAIZUMI, H. Comparative study on osteoconductivity by synthetic octacalcium phosphate and sintered hydroxyapatite in rabbit bone marrow. **Calcified Tissue International**, v. 78, p. 45-54, Jan. 2006.
- INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARD. **ISO 10993**: biological evaluation of medical devices. Disponível em: <<http://www.iso.org/iso/en/ISOOnline.frontpage>>. Acesso em: 18 maio 2011.
- ISHISAWA, H.; OGINO, M. Formation and characterization of anodic titanium oxide films containing Ca and P. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, p. 65-72, 1995a.
- ISHISAWA, H.; OGINO, M. Characterization of thin hydroxyapatite layers formed on anodic titanium oxide films containing Ca and P by hydrothermal treatment. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, p. 1071-1079, 1995b.
- ISHISAWA, H.; FUJINO, M.; OGINO, M. Mechanical and histological investigation of hydrothermally treated and untreated anodic titanium oxide films containing Ca and P. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, p. 1459-1468, 1995c.
- JOINT COMMITTEE POWDER DIFFRACTION STANDARD. **Diffraction data base**. Newton Square: International for Diffraction Data, 2003. 1 CD-ROM.

- JULIEN, M.; KHAIROUN, I.; LEGEROS, R. Z.; DELPLACE, S.; PILET, P.; WEISS, P.; DACULSI, G.; BOULER, J. M.; GUICHEUX, J. Physico-chemical–mechanical and *in vitro* biological properties of calcium phosphate cements with doped amorphous calcium phosphates. **Biomaterials**, v. 28, p. 956-965, Feb. 2007.
- KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. 2nd ed. Tokyo: Kodansha, 1989. 288 p.
- KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.
- KAWAHARA, A.; YAMAKAWA, J.; YAMADA, T.; KOBASHI, D. Synthetic magnesium sodium hydrogen monophosphate: $MgNa_3H(PO_4)_2$. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 51, p. 22210-22222, 1995.
- KELLER, U.; HIBST, R.; GEURTSSEN, W.; SCHILKE, R.; HEIDEMANN, D.; KLAIBER, B.; RAAB, W. H. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. **Journal of Dentistry**, v. 26, p. 649-656, 1998.
- KENNEDY, S. B.; WASHBURN, N. R.; SIMON, C. G. Jr.; AMIS, E. J. Combinatorial screen of the effect of surface energy on fibronectin-mediated osteoblast adhesion, spreading and proliferation. **Biomaterials**, v. 27, n. 20, p. 3817-3824, July 2006.
- KESTENBACH, H. J.; BOTA FILHO, W. J. **Microscopia eletrônica: transmissão e varredura**. São Paulo: Associação Brasileira de Materiais, 1994. 104 p.
- KILPADI, D. V.; WEIMER, J. J.; LEMONS, J. E. Effect of passivation and dry heatsterilization on surface energy and topography of unalloyed titanium implants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 135, p. 89-101, 1998.
- KIM, H. M.; MIYAJI, F.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. Effect of heat treatment on apatite-forming ability of Ti metal induced by alkali treatment. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 8, n. 6, p. 341-347, 1997.
- KIM, H. M.; MIYAJI, F.; KOKUBO, T.; OHTSUKI, C.; NAKAMURA, T. Bioactivity of Na_2O - CaO - SiO_2 glasses. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 78, n. 9, p. 2405-2411, 1995.
- KIM, S.; RYU, H. S.; SHIN, H.; JUNG, H. S.; HONG, K. H. *In situ* observation of hydroxyapatite nanocrystal formation from amorphous calcium phosphate in calcium-rich solutions. **Materials Chemistry and Physics**, n. 91, p. 500-506, June 2005.
- KLEIN, C. P. A. T.; WOLKE J. G. C.; GROOT, K. Stability of calcium phosphate ceramics and plasma sprayed coating. In: HENCH, L. L. **An introduction to bioceramics: advanced series in ceramics**. Singapore: World Scientific, 1993, v. 1, cap. 11, p. 199-223.
- KLEIN, C. P. A. T.; PATKA, P.; VAN DER LUBBE, H. B. M.; WOLKE, J. G. C.; DE GROOT, K. Plasma-spray coatings of tetracalcium phosphate on titanium alloy: an interface study. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 25, n. 1, p. 53-65, 1991.

KLOKKEVOLD, P. R.; NISHIMURA, R. D.; ADACHI, M.; CAPUTO, A. Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface: a torque removal study in the rabbit. **Clinical Oral Implants Research**, v. 8, n. 6, p. 442-447, 1997.

KOKUBO, T. Formation of biologically active bone-like apatite on metals and polymers by a biomimetic process. **Thermochimica Acta**, v. 280, n. 1, p. 479-490, 1996.

KWEH, S. W. K.; KHOR, K. A.; CHEANG, P. Plasma-sprayed hydroxyapatite (HA) coatings with flame-spheroidized feedstock: microstructure and mechanical properties. **Biomaterials**, v. 21, n. 12, p. 1223-1234, 2000.

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

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

LAMER, V. K. The solubility behavior of hydroxylapatite. **Journal of Physical Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 973-978, 1962.

LAMPMAN, S. R. Wrought titanium and titanium alloys. In: ASTM INTERNATIONAL HANDBOOK COMMITTEE. **Properties and selection**: nonferrous alloys and special-purpose materials. 2nd ed. Materials Park: ASM International, 1992. p. 592-633. (ASM Handbook, v. 2).

LASERVALL NORTH AMERICA. **Manual geral**: violin. Pawtucket, 2003. v. 1-3.

LAVISSE, L.; GREVEY, D.; LANGLADE, C.; VANNES, B. The early stage of the laser-induced oxidation of titanium substrates. **Applied Surface Science**, v. 186, p. 150-155, 2002.

LAYROLLE, P.; BLITTERSWIJK, V.; CLEMENS, A.; DE GROOT, K. Biomimetic hydroxyapatite coating on Ti6Al4V induced by pre-calcification. **Bioceramics**: Proceedings of the International Symposium on Ceramics in Medicine, v. 11, p. 465-468, 1998.

LAWRENCE, J.; HAO, L.; CHEW, H. R. On the correlation between Nd:YAG laser-induced wettability characteristics modification and osteoblast cell bioactivity on a titanium alloy. **Surface and Coating Technology**, v. 200, p. 5581-5589, 2006.

LAWRENCE, J.; HAO, L.; PHUA, Y. F.; CHIAN, K. S.; LIM, G. C.; ZHENG, H. Y. Enhanced human osteoblast cell adhesion and proliferation on 316 LS stainless steel by means of CO₂ laser surface treatment. **Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials**, v. 73, n. 1, p. 148, 2005.

LEE, J. D. **Química inorgânica**. 4. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 1996. 452 p.

LEGEROS, J. P. Dense hydroxyapatite. In: HENCH, L. L.; WILSON, J. (Ed.). **An introduction to bioceramics**. Singapore: World Scientific, 1993. p. 139-180.

- LEGEROS, R. Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v. 395, p. 81-98, 2002.
- LEVINSKAS, G. J.; NEUMAN, W. F. The solubility of bone mineral. I. Solubility studies of synthetic hydroxylapatite. **Journal of Physical Chemistry**, v. 59, p. 164-168, 1955.
- LIU, D. M.; YANG, Q.; TROCZYNSKI, T. Sol-gel hydroxyapatite coatings on stainless steel substrates. **Biomaterials**, v. 23, n. 3, p. 691-698, 2002.
- LOFFER, F. Methods to investigate mechanical properties of coatings. **Thin Solid Films**, v. 339, n. 1/2, p. 181-186, 1999.
- LONG, M.; RACK, H. J. Review. Titanium alloys in total joint replacement – a materials science perspective. **Biomaterials**, v. 19, n. 18, p. 1621-1639, 1998.
- LU, J. X.; GALLUR, A.; FLAUTRE, B.; ANSELME, K.; DESCAMPS, M.; THIERRY, B.; HARDOUIN, P. Role of interconnections in porous bioceramics on bone recolonization *in vitro* and *in vivo*. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 10, p. 111-120, 1999.
- MAFE, S.; MANZANARES, J. A.; REISS, H.; THOMANN, J. M.; GRAMAIN, P. Model for the dissolution of calcium hydroxyapatite powder. **Journal of Physical Chemistry**, v. 96, p. 861-866, 1996.
- MAIMAN, T. H. Stimulated optical radiation in ruby masers. **Nature**, v.187, p. 493-494, 1960.
- MANSO, M.; OGUETA, S.; GARCIA, P.; PÉREZ-RIBEIRO, J.; JIMÉNEZ, C.; MARTINEZ-DUART, J. M.; LANGLET, M. Mechanical and *in vitro* testing of aerosol-gel deposited titania coatings for biocompatible applications. **Biomaterials**, v. 23, n. 2, p. 349-356, 2002.
- MELETIS, E.; GIBBS, C. LIAN, K. A new dynamic corrosion test for dental materials. **Dentistry Materials**, v. 5, p. 411-418, 1989.
- METIKOS-HUKOVIC, M.; TKALCEC, E.; KWOKAL, A.; PILJAC, J. An *in vitro* study of Ti and Ti-alloys coated with sol-gel derived hydroxyapatite. **Surface & Coatings Technology**, v. 165, n. 1/3, p. 40-50, 2003.
- MURRAY, J. L.; WRIEDT, H. A. Ti-O phase diagram. In: BOYER, R.; WELSCH, G.; COLLINGS, E. W. **Materials properties handbook: titanium alloys**. Materials Park: ASM International, 1994. p. 130.
- NAKAMOTO, K. **Infrared spectra of inorganic and coordination compounds**. New York: John Wiley, 1970. 338 p.
- NÁNAI, L.; VAJTAI, R.; GEORGE, T. F. Laser-induced oxidation of metals: state of the art. **Thin Solid Films**, v. 298, p. 160-164, 1997.
- NEUMAN, W. F.; BAREHAM, B. J. Evidence for the presence of secondary calcium phosphate in bone and its stabilization by acid production. **Calcified Tissue International**, v.18, p.161-172, 1975.

ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais**: fundamentos e aplicações. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 538 p.

PARK, J. B. **Biomaterials science and engineering**. New York: Plenum Press, 1984. 326 p.

PECHEVA, E. V.; LILIANA, D.; PRAMATAROVA, M. F. M.; PHAN, M. T.; ALEXEY V. K. Kinetics of hydroxyapatite deposition on solid substrates modified by sequential implantation of Ca and P ions. **Applied Surface Science**, v. 235, p. 176-181, 2004.

PÉREZ DEL PINO, A.; SERRA, P.; MORENZA, J. L. Oxidation of titanium through Nd:YAG laser irradiation. **Applied Surface Science**, v. 197/198, p. 887-890, 2002.

PHAM, M. T.; MAITZ, M. F.; MATZ, W.; REUTHER, H.; RICHTER, H.; STEINER, G. Promoted hydroxyapatite nucleation on titanium ion-implanted with sodium. **Thin Solid Films**, v. 379, n. 1-2, p. 50-56, 2000.

PIVETEAU, L. D.; GASSER, B.; SCHLAPBACH, L. Evaluating mechanical adhesion of sol-gel titanium dioxide coatings containing calcium phosphate for metal implant application. **Biomaterials**, v. 21, n. 21, p. 2193-2201, 2000.

POLMEAR, I. J. **Light alloys**: metallurgy of the light metals. 3rd ed. London: Arnold, 1995. (Metallurgy and Materials Science Series).

PULEO, D. A.; NANJI, A. Understanding and controlling the bone-implant interface. **Biomaterials**, v. 20, n. 23-24, p. 2311-2321, 1999.

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

RIGO, E. C. S.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; CARRODÉGUAS, R. G.; BOSCHI, A. O. Biomimetic method for obtaining of hydroxyapatite. **Advanced Powder Technology Materials Science Forum**, n. 299, p. 99-103, 1999.

RIETVELD, H. M. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 2, p. 65-71, 1969.

ROOTARE, H. M.; DEITZ, V. R.; CARPENTER, F. G. Solubility product phenomena in hydroxyapatite- water systems. **Journal of Colloid Science**, v. 17, p. 179-206, 1962.

SANTOS, L. A. **Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica**. 2002. 247 f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2002.

SANTOS, M. L. **Aplicação do processo sol-gel na produção de recobrimentos de hidroxiapatita sobre ligas a base de Ti empregadas em implantes odontológicos**. 2005. 120 f. Tese (Doutorado em Química) - Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2005.

- SCHNEIDER, D.; SCHWARZ, T. A photoacoustic method for characterizing thin films. **Surface & Coatings Technology**, v. 91, n. 1/2, p. 136-146, 1997.
- SCHNEIDER, D.; TUCKER, M. D. Non-destructive characterization and evaluation of thin films by laser-induced ultrasonic surface waves. **Thin Solid Films**, v. 290/291, p. 305-311, 1996.
- SCHOEDER, A.; SUTTER, F.; KREKELER, G. **Implantologia dental**. São Paulo: Médica Panamericana, 1997. Cap. 1, p. 4.
- SCHWARTZ, Z.; BOYAN, B. D. Underlying mechanisms at the bone-biomaterial interface. **Journal of Cell Biochemistry**, v. 56, n. 3, p. 340-347, 1994.
- SELEMAT, M. S.; BAKER, T. N.; WATSON, L. M. Study of the surface layer formed by the laser processing of Ti-6Al-4V alloy in a dilute nitrogen environment. **Journal of Materials Processing Technology**, v. 113, p. 509-515, 2001.
- SILFVAST, W. T. **Laser fundamentals**. Cambridge: Cambridge University Press, 1996. 449 p.
- SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRIL, T. C. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1994. 460 p.
- SKOOG, D. A.; LEARY, J. J. **Principles of instrumental analysis**. 4th ed. New York: Saunders, 1992. p. 995.
- SOMRANI, S.; BANU, M.; JEMAL, M.; REY, C. Physico-chemical and thermochemical studies of the hydrolytic conversion of amorphous tricalcium phosphate into apatite. **Journal of Solid State Chemistry**, n. 178, p. 1337-1348, May 2005.
- SORENSEN, O. T. **Nonstoichiometric oxides**. New York: Academic Press, 1981. 441 p.
- SPIEKERMANN, H. **Implantology, color atlas of dental medicine**. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1995. p. 388.
- STOCH, A.; JASTRZEBSKI, W.; BROZEK, A.; STOCH, J.; SZARANIEC, J.; TRYBALSKA, B.; KMITA, G. FTIR absorption-reflection of biomimetic growth of phosphates on titanium implants. **Journal of Molecular Structure**, v. 555, n. 1/3, p. 375-382, 2000.
- SUNNY, M. C.; SHARMA, C. P. Plasma surface modification of biomaterials. **Journal of Biomaterial Applications**, v. 6, n. 89-93, 1991.
- SUZUKI, O.; KAMAKURA, S.; KATAGIRI, T. Surface chemistry and biological responses to synthetic octacalcium phosphate. **Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 77B, p. 201-212, Apr. 2006.
- SYARIF, D. G.; MIYASHITA, A.; YAMAKI, T.; SUMITA T.; CHOI, T.; ITOH, H. Preparation of anatase and rutile thin films by controlling oxygen partial pressure. **Applied Surface Science**, v. 193, p. 287-292, 2002.

THOMANN, J. M.; VOEGEL, J. C.; GRAMAIN, P. H. Quantitative model for the dissolution of calcium hydroxyapatite with a permselective ionic interface. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 157, p. 369-374, 1993.

THOMANN, J. M.; VOEGEL, J. C.; GUMPPER, M.; GRAMAIN, P. H. Dissolution kinetics of human enamel powder: II. A model based on the formation of a self-inhibiting surface layer. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 132, n. 2, p. 403-412, 1989.

THOMAS, K. A.; JAY, J. F.; COOK, S. D. The effect of surface macrotexture and hydroxylapatite coating on the mechanical strengths and histologic profiles of titanium implant materials. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 21, p.1395-1400, 1987.

TORENSMA, R.; TER BRUGGE, P. J.; JANSEN, J. A.; FIGDOR, C. G. Ceramic hydroxyapatite coating on titanium implants drives selective bone marrow stromal cell adhesion. **Clinical Oral Implants Research**, v. 14, n. 5, p. 569-577, 2003.

TSUI, Y. C.; DOYLE, C.; CLYNE, T. W. Plasma sprayed hydroxyapatite coatings on titanium substrates – Part 1: mechanical properties and residual stress levels. **Biomaterials**, v. 19, n. 22, p. 2015-2029, 1998.

UEHARA, T.; TAKAOKA, K.; ITO, K. Histological evidence of osseointegration in human retrieved fractured hydroxyapatite-coated screw-type implants: a case report. **Clinical Oral Implants Research**, v. 15, n. 5, p. 540-545, 2004.

URBAN, M. C. C. **Desenvolvimento de sistemas de liberação micro e nanoestruturados para administração cutânea de acetato de dexametasona**. 2004. 137 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)- Faculdade de Ciência Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2004.

VAJTAI, R.; BELEZNAI, C.; NÁNAI, L.; GINGL, Z.; GEORGE, T. F. Nonlinear aspects of laser-driven oxidation of metals. **Applied Surface Science**, v. 106, p. 247-257, 1996.

VALLET-REGI, M. Introduction to the world of biomaterials. **Anales de Quimica International Edition**, v. 93, p. S6-S14, 1997.

VALLET-REGÍ, M.; CALBET-GONZÁLEZ, J. M. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 32, n. 1/2, p. 1-31, 2004.

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

WEN, H. B.; DE WIJN, J. R.; CUI, F. Z.; DE GROOT, K. Preparation of calcium phosphate coatings on titanium implant materials by simple chemistry. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 41, p. 227-236, 1998.

WENNEBERG, A. Design and surface characteristics of 13 commercially available oral implant systems. **Internacional Journal Oral Maxillofacial Implants**, v. 8, n. 6, p. 1375-1381, 1993.

WETTER, N. U.; DE ROSSI, W. **ICS Lectures: on industrial applications of laser**. Viena: UNIDO, 2000. v. 1, 60 p.

WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials**: proceeding of a consensus conference of the european society for biomaterials, Chester. Progress in biomedical engineering. Amsterdam: Elsevier, 1987. 72 p.

WILLIAMS, D. F. **Concise encyclopedia of medical and dental materials**. Oxford: Pergamon Press, 1991. 52 p.

YINIAN, Z.; XUEHONG, Z.; YUDAO, C.; QINGLIN, X.; JUNKANG, L.; MEIFANG, Q.; NA, H. A comparative study on the dissolution and solubility of hydroxylapatite and fluorapatite at 25 °C and 45 °C. **Chemical Geology**, v. 268, p.89-96, 2009.

ZHANG, C. G.; LENG, Y.; CHEN, J. Elastic and plastic behavior of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings on a Ti-6Al-4V substrate. **Biomaterials**, v. 22, n. 11, p. 1357-1363, 2001.