



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
ENGENHARIA DE MATERIAIS



ENG 02298 TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO

Síntese e caracterização de Hidroxiapatita nanoestruturada obtidos por aspersão de solução em chama

Aluno:

Matheus Araujo da Cunha

129355

Professor Orientador:

Carlos Pérez Bergmann

Co-orientadores:

Juliane Vicenzi

Andrei Locatelli

Porto Alegre, Dezembro 2010

Sumário

RESUMO.....	4
1. INTRODUÇÃO	5
2. OBJETIVOS	6
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
3.1. BIOMATERIAIS	6
3.2. BIOCERÂMICAS	10
3.2.1. FOSFATOS DE CÁLCIO	12
3.2.2. HIDROXIAPATITA	15
3.3. PROCESSO DE ASPERSÃO DE SOLUÇÃO EM CHAMA.....	23
3.3.1. CHAMAS E COMBUSTÃO	26
3.3.2. ATOMIZAÇÃO	29
4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	30
4.1. FORMULAÇÃO DA SOLUÇÃO PRECURSORA.....	31
4.2. EQUIPAMENTO DE ASPERSÃO DE SOLUÇÃO NA CHAMA.....	33
4.2.1. SISTEMA ATOMIZADOR	33
4.2.2. CHAMA PILOTO E PRINCIPAL	36
4.2.2. SISTEMA DE COLETA DOS PÓS OBTIDOS	39
4.3. SECAGEM COM “ <i>SPRAY DRYER</i> ”	41
4.4. TRATAMENTO TÉRMICO	41
4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS	42
4.5.1. ANÁLISE DAS FASES CRISTALINAS	42
4.5.2. ANÁLISE MICROESTRUTURAL.....	43
4.5.3. MEDIDAS DE TAMANHO DE PARTICULAS	43
4.5.4. BIOCOMPATIBILIDADE	43
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	45
5.1. CRISTALOGRAFIA	45
5.2. MORFOLOGIA	47
5.3. GRANULOMETRIA	49

5.4. BIOCOMPATIBILIDADE	51
6. CONCLUSÕES	51
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	53

RESUMO

A hidroxiapatita (HA), um dos principais fosfatos de cálcio estudados em procedimentos cirúrgicos, foi obtida a partir da técnica da aspersão de solução em chama. Como sais precursores, empregaram-se acetato de cálcio e fosfato de amônio dissolvidos em álcool etílico, em uma razão molar Ca/P igual a 1,66; equivalente ao da hidroxiapatita biológica. Após a sua produção e coleta, o pó foi calcinado em 800°C com patamar de 3 horas para eliminação de matéria orgânica residual. Através de difração de raios X, identificou-se a fase cristalina hidroxiapatite fosfato tricálcico (β -TCP). Com o auxílio da microscopia eletrônica de varredura, observou-se que os pós apresentam uma estrutura esférica. Através da granulometria a laser, observou-se que os pós de HA apresentam um tamanho médio de partícula de aproximadamente 10 μ m. Foi possível obter pós de hidroxiapatita a partir da combustão de uma solução em uma chama.

1. INTRODUÇÃO

As propriedades físicas e químicas de materiais em escala nanométrica (ao menos uma dimensão menor que 100 nm) geram imenso interesse e têm crescente importância para futuras aplicações tecnológicas. Materiais nanoestruturados geralmente exibem propriedades diferenciadas com relação aos demais materiais [GLEITER, 2000].

A Nanotecnologia acena como a provável forma de mudança pelos quais materiais e dispositivos serão produzidos no futuro. A habilidade para sintetizar cristaltos, na escala nanométrica, com tamanho e composição controlados com precisão e, então, montados em estruturas maiores, com propriedades e funções únicas, irá revolucionar os segmentos de toda a fabricação de materiais [ROCO, WILLIAM e ALIVISATOS, 1999].

Dentre os biomateriais, as biocerâmicas têm sido utilizadas com sucesso no corpo humano por muitos anos. Estas são freqüentemente usadas em cirurgias ortopédicas e odontologia, mas apresentam um elevado potencial para importantes aplicações dentro da indústria de dispositivos médicos.

Tratando-se de biocerâmicas, os fosfatos de cálcio têm merecido um grande destaque, principalmente por apresentarem ausência de toxicidade local ou sistêmica. Dentre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita (HA), com fórmula química dada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é sem dúvida a mais estudada e a mais utilizada para finalidades clínicas, principalmente por se tratar do componente majoritário da fase mineral dos ossos e dentes. Uma das razões para o emprego da hidroxiapatita é a possibilidade de fornecer um local para o crescimento do tecido ósseo (osteocondução). Com isto, ocorre a fixação biológica do implante, visto que as células não distinguem a hidroxiapatita da superfície óssea, indicando uma grande similaridade química superficial entres ambos.

Em virtude da sua crescente aplicação, diversas técnicas têm sido mencionadas na literatura para a produção de pós de hidroxiapatita. A técnica de precipitação, que se baseia em reações via úmida de precursores de cálcio e fósforo com controle de temperatura e pH da solução, é um dos métodos mais utilizados. Merece destaque ainda a produção de HA por sol-gel, um método flexível e promissor que dispensa o uso de alto vácuo e temperaturas elevadas.

A tendência atual é o desenvolvimento de técnicas alternativas para a produção de HA, principalmente aquelas que apresentam um baixo custo, elevado rendimento e produtos finais puros.

A técnica de aspersão de solução em uma chama, pioneiramente descrita por Ulrich em 1971, tem sido intensamente utilizada pela indústria na produção de pigmentos de titania, sílica e alumina, por exemplo. Entretanto, pouco ou quase nada foi reportado na literatura em relação ao uso desta técnica na síntese de pós de fosfato de cálcio, em especial a hidroxiapatita. Assim, a viabilidade da produção de pós de hidroxiapatita através desta técnica é o alvo de estudo deste trabalho, visto que o método apresenta um enorme potencial, tanto economicamente quanto tecnologicamente.

Neste contexto, este trabalho tem por objetivo produzir pós de hidroxiapatita através da aspersão de uma solução em chama bem como a caracterização do produto obtido, visando aperfeiçoar as propriedades e microestrutura do pó.

2. OBJETIVOS

Este trabalho tem como objetivo geral a obtenção e a avaliação de pós de hidroxiapatita nanoestruturada. Para tanto, desenvolveu-se em laboratório o pó de HA nanoestruturada, através do preparo de uma solução precursora que emprega sais precursores específicos e solventes combustíveis, sendo posteriormente aspergida em uma chama. Como passo seguinte os pós de hidroxiapatita sintetizados foram caracterizados quanto a sua cristalografia, granulometria, morfologia e quanto a sua biocompatibilidade.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. BIOMATERIAIS

Biomaterial é definido como todo material utilizado para substituir no todo ou em parte sistemas biológicos [MIRTCHI *et al.*, 1989]. Assim, pode-se ter biomateriais metálicos, cerâmicos, poliméricos (sintéticos ou naturais), compósitos

[BYROM, 1991] ou recobrimentos. Dada às especificidades que os biomateriais apresentam, a tendência é que sejam considerados, hoje, uma classe especial de materiais.

Como característica imprescindível, estes materiais devem ser biocompatíveis, ou seja, devem atender ao requisito de funcionabilidade [VALLET-REGI, 1997] para o qual foram projetados, não estimulando ou provocando o mínimo de reações alérgicas ou inflamatórias. Embora este conceito seja algo não muito preciso, é consenso que a funcionabilidade esteja associada à aplicação a que se destina, de tal modo que um material biocompatível para uma dada função pode ser inadequado se usado em outras aplicações.

Com isso, é conveniente agrupar os materiais pelo campo de aplicação a que se destinam, ao invés de usar a classificação tradicional em termos de propriedades gerais que apresentam. Classicamente as aplicações são divididas em três grupos que se destinariam à substituição de: tecidos moles; tecidos duros e materiais para sistemas cardiovasculares.

A seleção de um material biocompatível deve iniciar com a identificação das propriedades requeridas para a aplicação em questão. Como essas propriedades são extremamente sensíveis às variações da estrutura do material em escala micro ou nanométrica, é fundamental que se tenha um entendimento de como se correlaciona a microestrutura com as propriedades desejadas. Fatores como tecnologia envolvida na produção da matéria-prima e do componente, disponibilidade e custo dos insumos, entre outros, influem no preço final da peça. Entretanto, na área biomédica, a exemplo do que ocorre em áreas que exigem elevada segurança, como a aeronáutica e a aeroespacial, o custo individual de uma peça não é, ou não deveria ser o fator primordial na escolha da mesma. Além disso, dois fatores são cruciais na avaliação de um biomaterial; sua biocompatibilidade e durabilidade [BYROM, 1991], uma vez que estes materiais devem sobreviver em contato com o tecido vivo sem ocasionar reações adversas ao organismo, além de manter sua função durante sua vida útil. Obviamente, o período de tempo é diferente para cada tipo de biomaterial, dependendo do seu propósito.

Desde a identificação das necessidades de um paciente até a produção e comercialização de componentes biomédicos, passando pelo projeto, fabricação e

testes, um longo caminho deve ser percorrido, participando neste processo engenheiros (projetistas e de materiais), médicos/dentistas, biólogos, bioquímicos e até profissionais com formação em desenho industrial e marketing. Essa é uma das razões pelas quais a área de biomateriais é considerada multidisciplinar [VALLET-REGI, 1997]. Além do mais, a otimização para cada parte ou componente do biomaterial em uso requer biomecânica e seu design adequados, tanto quanto etapas processuais, aos quais asseguram sua reprodutividade e confiabilidade [BYROM, 1991].

A caracterização do material não habilita o seu uso como biocomponente, mas pode (e deve) ser utilizada como uma pré-seleção de condições a serem testadas nas etapas seguintes. Os materiais “aprovados” nesta etapa terão que passar por testes laboratoriais (testes *in vitro*) e posteriormente por testes *in vivo* (em animais e testes clínicos). À medida que se percorre este caminho, os testes tornam-se mais caros e complexos, devendo ser restringidos ao menor número de condições possíveis.

A maioria das próteses e implantes reconstitui apenas parte das funções do original biológico. É o caso dos membros amputados ou do rim artificial. Mas há outros, como um cristalino de olho feito de resina acrílica, ou a articulação de titânio que substitui a estrutura óssea comprometida pela artrite, que restituem totalmente as funções originais.

O tratamento de muitas doenças humanas requer intervenção cirúrgica para ajudar, manter ou substituir um órgão doente, e tal procedimento envolve o uso de materiais estranhos ao corpo. Estes materiais, conhecidos como biomateriais, incluem polímeros sintéticos e biológicos, metais e cerâmicas. Aplicações específicas de biomateriais variam de produtos produzidos em grande volume como seringas e agulhas ou produtos com menor produção como os usados em aplicações cardiovasculares, ortopédicas e ortodônticas. Muitas dessas funções possibilitaram avanços clínicos notáveis. Com um grande aumento para aplicações médicas, a demanda por uma grande variedade de biomateriais cresce de 5 a 15% ao ano. Nos Estados Unidos, o mercado anual para implantes cirúrgicos ultrapassa US\$ 10 bilhões, aproximadamente 10% da demanda mundial.

Todavia, as aplicações dos biomateriais são limitadas pela biocompatibilidade [WILSON, 1997]. O problema de reação de corpo estranho aparece na junção entre o material e o tecido. A otimização das interações que ocorrem na superfície do material implantado representa o ponto mais significativo para os avanços futuros, e uma excelente base para estes avanços pode ser encontrada no conhecimento do funcionamento dos complexos materiais biológicos e no desenvolvimento de novos materiais projetados em nível molecular para aplicações médicas específicas.

As principais propriedades físicas, geralmente consideradas, incluem dureza, resistência à tração, módulo de elasticidade e alongação; resistência à fadiga, que é determinada pela resposta do material a carregamentos cíclicos; propriedades de impacto; resistência à abrasão e desgaste; estabilidade dimensional durável, que é avaliada pelas propriedades viscoelásticas do material; inchamento em meio aquoso e permeabilidade a gases, água e pequenas biomoléculas. Além disso, os biomateriais estão expostos aos tecidos e fluidos humanos, assim a predição dos resultados de possíveis interações entre hospedeiro e material é uma importante consideração no uso de materiais sintéticos na medicina. Na Tabela 3.1 é mostrada uma lista de íons presentes nos fluidos corpóreos, os quais podem entrar em contato com o material implantado. Pode-se notar que estes fluidos são soluções salinas altamente corrosivas. Duas questões importantes na biocompatibilidade são a trombose, que envolve a coagulação do sangue e a adesão de plaquetas e fibrinas à superfície do biomaterial, freqüentemente causando a obstrução do vaso, e o encapsulamento por tecido fibroso dos biomateriais que são implantados em tecidos moles.

Tabela 3.1: Íons presentes no plasma sanguíneo [VALLET-REGI, 1997].

Íon	Concentração em Mol/L
Na ⁺	142,0
K ⁺	5,0
Mg ²⁺	1,5
Ca ²⁺	2,5
Cl	103,0
HCO ₃ ⁻	27,0
HPO ₄ ²⁻	1,0
SO ₄ ²⁻	0,5

3.2. **BIOCERÂMICAS**

As cerâmicas utilizadas como biomateriais são consideradas biocompatíveis e frágeis. Em alguns casos são duras, com excelente resistência à compressão, alta resistência ao desgaste e pequeno coeficiente de atrito, o que é interessante para aplicação em articulações - principalmente no caso de próteses de quadril. Este baixo coeficiente de atrito está relacionado ao fato de que cerâmicas à base de óxido são hidrofílicas¹ e podem ser altamente polidas, o que as permite suportar altos carregamentos, seja em contato consigo mesmo ou com materiais poliméricos em meios fisiológicos [BEN-NISSAN, 2003].

Em termos gerais, as biocerâmicas podem ser classificadas como bioinertes ou bioativas [VALLET-REGÍ *et al.*, 2004]. Porém, a Conferência da Sociedade Européia para Biomateriais não considera o termo bioinerte adequado, pois quando um material é posto em contato com o corpo humano, induz algum tipo de resposta,

¹Composto que apresenta a tendência de ser solvatada por água.

mesmo que mínima [KAWACHI *et al.*, 2000]. No entanto, o termo ainda é comumente utilizado por diversos autores, e sua definição mais aceita é de um material que apresenta uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição do tecido hospedeiro, pela formação, por exemplo, de uma cápsula fibrosa ao redor do material. Já uma biocerâmica bioativa, termo bem aceito na comunidade científica, é conceituada como aquela que induz uma determinada atividade biológica por parte do tecido hospedeiro frente à presença do material.

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 1892, quando Dressman relatou o uso de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$) como um possível substituto para ossos, além de servir para o preenchimento de cavidades ósseas. Como este material possui uma resistência mecânica muito baixa, além de ser completamente reabsorvido pelo organismo, ocorre uma rápida fragmentação e degradação. Devido a estas propriedades pouco atrativas, a utilização do gesso como biocerâmica implantável foi praticamente excluída.

A primeira biocerâmica que teve um uso intenso foi a alumina, a qual é considerada bioinerte. Além da alumina, outras cerâmicas como a zircônia, o dióxido de titânio, os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, apresentam uso muito difundido.

As biocerâmicas têm sido empregadas tanto na forma densa quanto na forma porosa, bem como em grânulos. A forma em que a biocerâmica será empregada depende da finalidade em que esta vai ser empregada. A porosidade é um fator importante e que leva à melhor integração entre o tecido vivo e o implante. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material, a existência de poros com determinadas dimensões pode favorecer o crescimento de tecido através deles, fazendo com que exista um forte entrelaçamento do tecido com o implante. Com isto, aumenta a resistência do material *in vivo*.

Muitos estudos apontam que o tamanho ótimo dos poros esteja entre as dimensões de 100 – 400 μm , o que favorece o crescimento do tecido ósseo através do material [CYSTERET *et al.*, 2005]. Este tamanho de poro também está relacionado à necessidade de fornecer um suprimento sanguíneo ao tecido conectivo em crescimento, fator que só ocorre em materiais com poros maiores que 100 μm , os quais permitem o desenvolvimento de um sistema de vasos capilares

entremeado com a cerâmica porosa [RAVAGLIOLI *et al.*, 1992]. Os poros também devem ser interconectados, onde normalmente estas interconexões devem ter dimensões maiores do que 50 μm [BOHNER *et al.*, 2005].

A presença de poros, além de promover o crescimento ósseo, pode ser utilizada para a inserção de drogas, o que torna as peças ou revestimentos porosos candidatos ainda mais fortes à utilização em implantes situados em locais de baixo carregamento [VALLET-REGÍ *et al.*, 2004]. A reduzida resistência mecânica em alguns casos e, principalmente, a sua fragilidade continuam sendo os principais empecilhos no emprego de biocerâmicas, o que restringe seu uso a regiões que não sofram esforços mecânicos elevados. Também se pode destacar a densidade de algumas biocerâmicas, como, por exemplo, a da alumina ($3,99 \text{ g/cm}^3$) como algo que poderia ser melhorado, como, por exemplo, em uso de implantes ósseos. Uma das formas de contornar tais adversidades é a utilização de metais, com menor densidade, revestidos com biocerâmicas.

3.2.1. FOSFATOS DE CÁLCIO

Compostos da família dos fosfatos de cálcio têm sido extensivamente estudados por serem, principalmente na forma cristalina de apatita, os principais componentes minerais dos ossos e dentes [LE GEROS *et al.*, 1990.].

Substâncias similares quimicamente as que ocorrem nos processos biológicos, os compostos de fosfato de cálcio podem ou não ser utilizados como biomateriais dependendo de sua resposta biológica. A Tabela 3.2, abaixo, mostra a resposta biológica de diversos compostos de fosfato de cálcio diferentes. Na terceira coluna, encontra-se a razão Ca/P de cada um destes compostos, forma tradicionalmente utilizada para classificá-los e, eventualmente, identificá-los em uma amostra (por exemplo, pelas intensidades relativas de Ca e P em análises de infravermelho).

Tabela 3.2: Compostos de fosfato de cálcio avaliados biologicamente [LE GEROS, 1991].

Composto	Fórmula	Resposta
Metafosfato de	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	Forte atividade
Pirofosfato de cálcio	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	Forte atividade
Fosfato dicálcico	CaHPO_4	Fraca atividade
Fosfato	CaHPO_4	Fraca atividade
Fosfato tricálcico	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	Reabsorvível
Fosfato tetracálcico	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2$	Sem relevância
Fosfato octacálcico	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6$	Reabsorvível
Oxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$	Reabsorvível
Hidroxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6$	Ativo

Fosfatos de cálcio são de grande interesse para biologia oral e medicina devido a sua ocorrência em calcificações normais e patológicas como: esmalte, dentina, osso, cálculo dentário, pedras, cálculo renal, calcificação de tecidos moles [LE GEROS, 1991].

Os fosfatos de cálcio de maior importância biológica são: fosfato de cálcio amorfo (ACP); brushita ou fosfato dicálcicodihidratado (DCPD); monetita ou fosfato dicálcico anidro (DCP); fosfato octocálcico (OCP); whitlockita ou fosfato tricálcico (β -TCP); pirofosfato de cálcio dihidratado(CPPD); e apatita (AP). Na

Tabela 3.3 pode-se verificar as propriedades cristalográficas dos fosfatos de cálcio sintéticos.

Tabela 3.3: Propriedades cristalográficas dos fosfatos de cálcio sintéticos [LE GEROS, 1991].

Fosfato de cálcio	Fórmula Molecular	Hábito Cristalino	Grupo Espacial	Ca/P ^a
Brushita, fosfatodicalcicodihidratado,	CaHPO ₄ ·2H ₂ O	Monoclínica a = 5,182 Å	C2/c	1,0
Monetita, DCP Fosfato octacálcico	CaHPO ₄ Ca ₈ H ₂ (PO ₄) ₆ ·5H ₂ O	Triclínico a = 6,91 Å Triclínico	PI PI	1,0 1,33
OCP Whitlockita, β-TCP, fosfato tricálcico	Ca ₃ (PO ₄) ₂	Hexagonal a = 10,428 Å	R3c	1,50
Hidroxiapatita, HAp	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	Hexagonal a = 9,422 Å	P6 ₃ /m	1,67
Fluorapatita FAP	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂	Hexagonal a = 9,377 Å c = 6,880 Å	P6 ₃ /m	1,67
Cloroapatita, CLAP	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ Cl ₂	Hexagonal a = 9,377 Å c = 6,880 Å	P6 ₃ /m	1,67

a = fração molar

b = (Ca + Mg)/P

O fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) é de grande uso em procedimentos cirúrgicos, sendo encontrado em duas fases, vitoclita- α e - β . Em altas temperaturas, normalmente superiores a 1000°C , prevalece a existência da fase mais estável vitoclita- β .

O β -TCP, ($\beta - \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), é um fosfato de cálcio que recebe grande destaque no campo das biocerâmicas e uma de suas principais aplicações é como cimento ósseo para o preenchimento de pequenos defeitos faciais. Além disso, sabe-se que os fosfatos de cálcio são compostos que apresentam excelente biocompatibilidade uma vez que apresentam composição química muito semelhante à parte mineral de ossos e dentes [ABDEL-FATTAH *et al.*, 2008].

Apesar de ser amplamente utilizado na formulação de cimentos ósseos o β - TCP pode também ser utilizado para a fabricação de compósitos cerâmicos densos e porosos a partir de sua mistura com outras cerâmicas como, por exemplo, a hidroxiapatita [GUHA *et al.*, 2009]. Tanto para a aplicação como cimento ósseo ou para a confecção de compósitos cerâmicos a distribuição granulométrica das matérias-primas é um fator crucial para a obtenção de materiais com propriedades químicas, biológicas e, principalmente, mecânicas satisfatórias.

3.2.2. HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita é o principal componente mineral de ossos e dentes humanos [AOKI, 1991], [LE GEROS, 1991], compondo cerca de 95% da fase mineral.

Devido a sua grande similaridade com a fase cristalina dos tecidos ósseos, a hidroxiapatita induz o crescimento de tecido ósseo na região em que se encontra. Esta instigação ao crescimento de tecido é denominada osteocondução. A regeneração do tecido também é induzida pela hidroxiapatita, pois sua superfície permite interações do tipo dipolo, fazendo com que moléculas de água, proteínas e

colágeno sejam adsorvidas na superfície. Isto faz com que ocorra uma forte ligação entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo na sua superfície sob condições in vivo [VARMA *et al.*, 1999]. Devido a não distinção, pelas células do organismo, entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo, proliferações de osteoblastos e outras células ósseas são permitidas [ISHIDA, 2003]. As principais aplicações da hidroxiapatita, em medicina e odontologia, são: reparo de defeitos ósseos em aplicações odontológicas e ortopédicas, aumento do rebordo alveolar, coadjuvante na colação de implantes metálicos, regeneração guiada de tecidos ósseos, reconstrução buco-maxilo-facial, equipamentos percutâneos, reparo e substituição de paredes orbitais, substituição do globo ocular, recobrimento de implantes metálicos, raízes dentárias, dentifrícios, etc [AOKI, 1991].

3.2.2.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DA HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio hidratado do grupo mineral das apatitas, de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e razão Ca/P de 1,67.

O termo geral apatita designa os minerais cristalinos com a composição genérica de $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$. Apatita é, portanto, uma definição de estrutura e não de composição [LE GEROS *et al.*, 1990], [LE GEROS, 1991]. Abaixo são mostrados alguns exemplos [AOKI, 1991].

M = Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, etc.

Z = P, V, As, S, Si, Ge, CO_3 , etc.

X = F, Cl, OH, O, Br, CO_3 , etc.

Minerais naturais de compostos de apatita são encontrados em rochas ígneas (especialmente pegmatitas) e em limenston metamórfico, já as apatitas biológicas são encontradas em ossos e dentes de vertebrados [AOKI, 1991]. As apatitas biológicas, que são denominadas de hidroxiapatita-cálcio, diferem da hidroxiapatita pura na estequiometria, composição e outras propriedades físicas e mecânicas. As hidroxiapatitas puras ou estequiométricas não estão presentes em sistemas biológicos. As hidroxiapatitas biológicas têm sido descritas como apatitas

deficientes de cálcio, não estequiométricas, impuras, ou apatitas contendo carbonatos [ISHIDA, 2003].

3.2.2.2. CARACTERÍSTICAS CRISTALOGRÁFICAS DA HIDROXIAPATITA

A estrutura da hidroxiapatita pertence ao sistema hexagonal, grupo espacial $P6_3/m$ (caracterizado por um eixo C de 6 unidades perpendiculares a 3 eixos equivalentes mantendo um triângulo de 120°), com dimensões de célula cristalina de $a = 9,423$ e $c = 6,875$ Å – valores válidos para hidroxiapatita mineral ou hidroxiapatita pura preparada por reação em estado sólido ou precipitação e sinterização a 1100°C . A célula unitária de hidroxiapatita tem seis grupos PO_4 e dois grupos OH. A estrutura cristalina da hidroxiapatita é mostrada na Figura 3.1. A Figura 3.2 apresenta os padrões de difração de diversas apatitas.

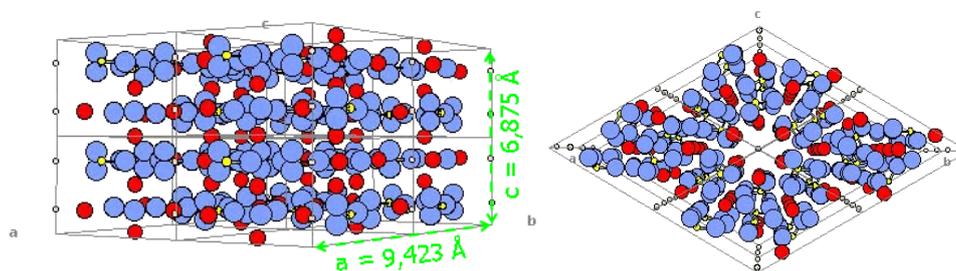


Figura 3.1: Estrutura cristalina da hidroxiapatita (azul: oxigênio; vermelho: cálcio; amarelo: fósforo; branco: hidrogênio) [THE JAPANESE SOCIETY FOR DENTAL MATERIALS AND DEVICES, 2004]

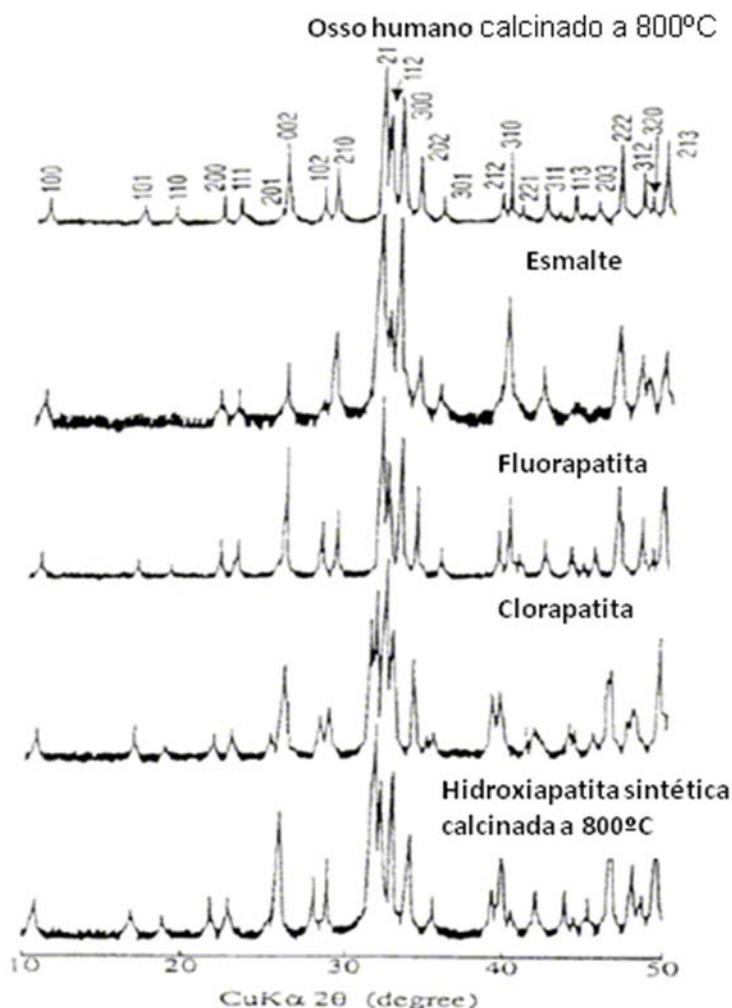


Figura 3.2: Padrões de difração de diversos fosfatos de cálcio [AOKI, 1991].

3.2.2.3. SOLUBILIDADE DA HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita é solúvel em soluções ácidas, enquanto que em soluções alcalinas ela se apresenta insolúvel, e fracamente solúvel em água destilada. Porém, a solubilidade da hidroxiapatita em água destilada aumenta com a adição de eletrólitos. Além disso, a solubilidade da hidroxiapatita modifica-se na presença de aminoácidos, proteínas, enzimas e outros compostos orgânicos. Contudo, a taxa de solubilidade depende diretamente da forma, porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade, defeitos, etc. Através dos diferentes métodos de preparo, podemos obter hidroxiapatita desde praticamente absorvível até não absorvível em meios fisiológicos [AOKI, 1991]. É importante ressaltar que a solubilidade da hidroxiapatita não cristalina – deficiente de cálcio - é menor que a hidroxiapatita pura – estequiométrica.

3.2.2.4. HIDROXIAPATITA NANOESTRUTURADA

O prefixo “nano” significa especificamente uma medida de 10^{-9} unidades. O SCENIHR (*Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks*) define nanoestrutura como qualquer estrutura composta de partes funcionais discretas, seja internamente ou na superfície, que possui uma ou mais dimensões na ordem de 100 nm ou menos. Este mesmo comitê menciona que nanopartícula é uma entidade discreta que possui três dimensões na ordem de 100 nm ou menos.

Holister *et al.* (2003) menciona que nanopartículas têm sido usadas há muito tempo, provavelmente em esmaltes de porcelana nas primeiras dinastias chinesas. Uma taça Romana, denominada Taça de Licurgo, foi fabricada usando *clusters* nanoestruturados de ouro com o objetivo de criar cores diferentes de acordo com a iluminação de frente ou de trás.

A crescente dedicação ao estudo das nanopartículas ou partículas nanoestruturadas, nos últimos anos, tem como principal motivo o fato de que essas entidades apresentam propriedades diferentes dos materiais usuais. A nanociência tem apresentado um rápido aumento no investimento por parte dos Governos e empresas em todo o mundo. Holister *et al.* (2003) citam que a transição de micro para nano pode levar à inúmeras mudanças nas propriedades físicas do material, uma vez que conforme as partículas ficam suficientemente menores elas começam a apresentar um comportamento mecânico quântico. Tok *et al.* (2006) ainda mencionam que as nanopartículas têm atraído esta especial atenção devido as suas únicas propriedades físicas e químicas, que são significativamente diferentes da sua microestrutura dita usual. Isto se refere também a sua superior relação entre área superficial e volume, ou seja, uma alta fração de átomos que estão próximo ou na superfície, conforme apresenta a Figura .

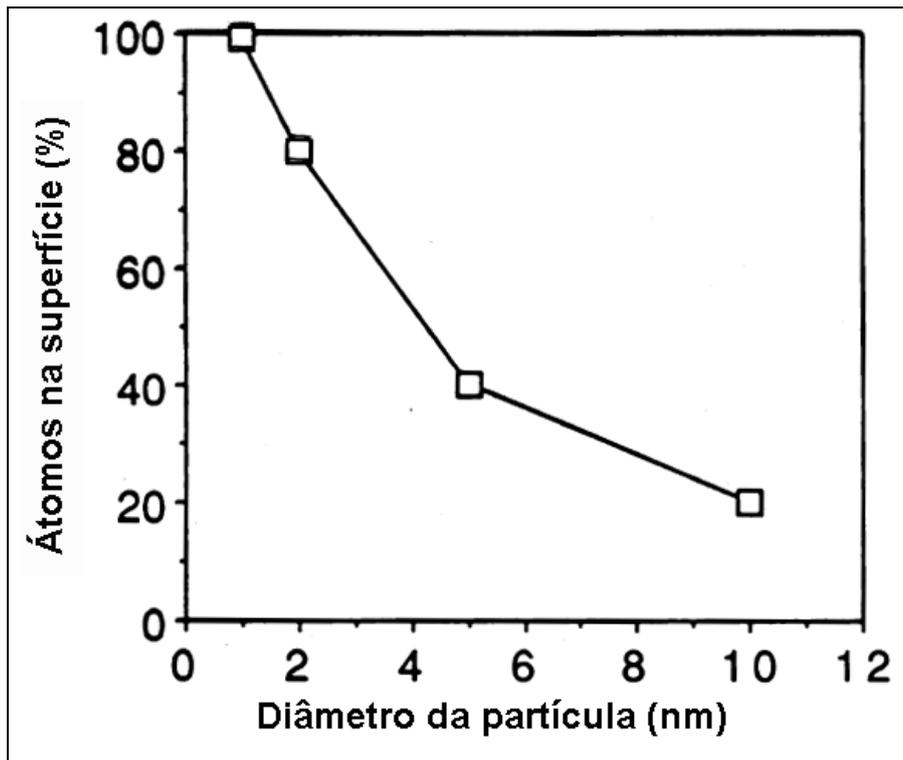


Figura 3.3: Número de átomos na superfície de acordo com o diâmetro da partícula [Adaptado de PRATSINIS, 2008].

O osso humano apresenta uma organização hierárquica através de diferentes escalas de tamanho, desde dimensões macro até nano, conforme apresenta a Figura . Os cristalitos de hidroxiapatita no corpo humano são tão pequenos que são considerados materiais nanoestruturados [RAJABI-ZAMANI *et al.*, 2008]. As primeiras pesquisas feitas com a HA estavam focadas principalmente no controle da estequiometria da HA sintética produzida [GOPI *et al.*, 2008]. Atualmente, com o avanço da nanotecnologia, um considerável interesse tem sido feito para o controle da morfologia e tamanho da hidroxiapatita.

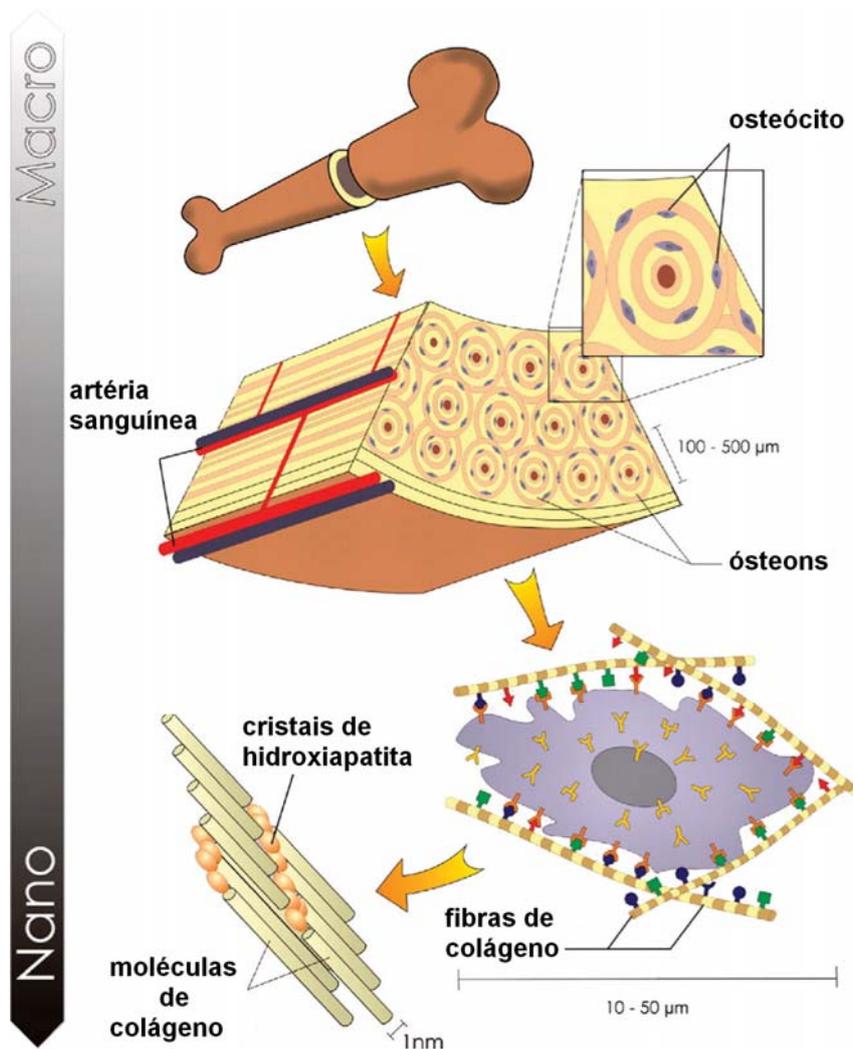


Figura 3.4: Estrutura óssea apresenta a composição do osso em diferentes escalas de tamanho [Adaptado de STEVENS, 2008].

Alguns experimentos de proliferação celular L929 têm demonstrado que nanopartículas esféricas de HA são mais biocompatíveis do que a hidroxiapatita disponível comercialmente, e que usualmente apresenta uma forma irregular [FU *et al.*, 2008]. Narayanan *et al.* (2007) descrevem que a hidroxiapatita sintética tem sua osteocondutividade aprimorada se esta contiver cristais nanoestruturados. Já Cai *et al.* (2007) mencionam que a hidroxiapatita nanoestruturada aumenta as funções do osteoblasto e nanocristais de HA aumentam a biocompatibilidade do endotélio microvascular.

Como um biomaterial, materiais nanocristalizados têm-se provado de grande eficácia do ponto de vista biológico [KHOR *et al.*, 2004]. Acredita-se que os

biomateriais cerâmicos nanoestruturados possam ser desenvolvidos de acordo com exigências clínicas, associadas com diferenças de idade e anatômicas do paciente [WEBSTER *et al.*, 2000]. Stuppe Ciegler (1992) mencionam que é esperado que a hidroxiapatita nanométrica tenha uma melhor bioatividade do que a hidroxiapatita em sua forma padrão.

Considerando revestimentos de HA, estes apresentam uma ausência de resistência mecânica e durabilidade para seu uso em aplicações em locais de elevada solitação mecânica. Assim, o uso de partículas nanométricas pode minimizar este problema, devido às propriedades mecânicas superiores [XU *et al.*, 2004].

3.2.2.5. PROCESSOS CONVENCIONAIS DE SÍNTESE DE HIDROXIAPATITA

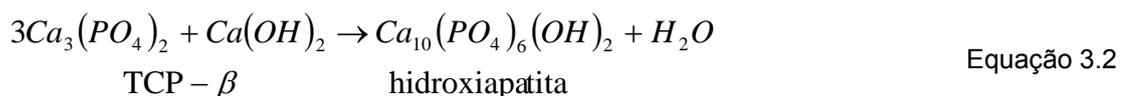
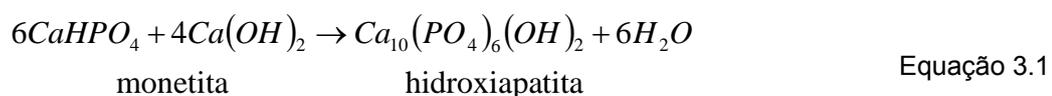
Um pó de hidroxiapatita pura pode ser obtido a partir de reações e sistemas hidrotérmicos ou por reações em estado sólido. Entretanto, quando preparado a partir de um sistema aquoso, seja pelo método de precipitação ou hidrólise, a apatita obtida é usualmente deficiente em cálcio [HENCH E WILSON, 1993]. Os métodos comerciais de precipitação normalmente utilizados para preparar HA se baseiam nos métodos de Rathje e também no de Hayek e Newesely. O primeiro consiste em uma adição gota a gota de ácido fosfórico (H_3PO_4) em uma suspensão sob agitação de hidróxido de cálcio ($Ca(OH)_2$) em água. O precipitado formado é posteriormente filtrado, lavado, seco e então moído até ficar um pó fino de alta pureza. Este método tem como grande atrativo para a obtenção de HA o fato de gerar como subproduto da reação somente água. Já o método de Hayek e Newesely consiste na reação entre nitrato de cálcio ($Ca(NO)_3$) e fosfato de amônio ($(NH_4)_2HPO_4$), com adição de hidróxido de amônio (NH_4OH). A técnica de precipitação é considerada extremamente vantajosa quando comparada a outros métodos, devido a seu baixo custo e simplicidade [RIGO, 2007].

Entretanto, a produção de HA pelo método de precipitação exige o controle de inúmeras variáveis, que afetam a formação da mesma [HENCH e WILSON, 1993]. Dentre os parâmetros do processo que merecem especial atenção, pode-se citar o pH, temperatura de obtenção, concentração molar dos reagentes, taxa de

adição de reagentes, tempo de agitação, tempo de envelhecimento e temperatura de calcinação. O tempo de envelhecimento e a cinética de reação são variáveis críticas para a pureza e características cristalográficas do material obtido. A rápida precipitação durante a titulação da solução de fosfato em solução de cálcio pode levar a uma falta de homogeneidade química no material obtido. Já uma titulação lenta e com soluções diluídas garante um produto final estequiométrico e mais homogêneo quimicamente. Hench e Wilson (1993) ainda mencionam que o produto obtido pelo método de precipitação não é puro, visto que normalmente também está presente a fase β -TCP, e com isto deve-se usar o termo apatita para o material produzido.

Já no método por hidrólise tem-se a obtenção da apatita pela hidrólise de fosfatos de cálcio ácidos (como monetita, fosfato octacálcico, fosfato dicálcico anidro ou dihidratado) em amônia, hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonato, entre outros, dependendo da composição que se deseja na apatita final.

As reações de síntese de HA por reações no estado sólido basicamente são:



Já as reações hidrotérmicas são basicamente as mesmas descritas no processo por estado sólido com a diferença que é realizada hidrotérmicamente a 275°C e com pressão de 12.000 psi.

A técnica de sol-gel tem sido objeto de estudo para muitos pesquisadores, uma vez que esse método químico via úmida não exige o uso de alto vácuo e elevadas temperaturas, tornando este processo flexível e promissor. Este processo ainda permite a preparação de um pó altamente puro, através de um minucioso controle dos parâmetros do processo. Entretanto, Kalita *et al.* (2007) cita que a

hidroxiapatita produzida pelo método de sol-gel é sempre acompanhada de uma segunda fase de óxido de cálcio.

3.3. PROCESSO DE ASPERSÃO DE SOLUÇÃO EM CHAMA

A tecnologia envolvendo a aspersão de uma solução em uma chama está associada à formação de finas partículas a partir da fase gasosa ou vapor em uma chama. Acredita-se que esta tecnologia tem sido praticada desde os tempos pré-históricos, conforme descrições observadas em pinturas nas paredes de cavernas na China [PRATSINIS, 1998]. Esta técnica foi pioneiramente descrita por Ulrich em 1971, através da combustão de SiCl_4 em uma chama para obter pós de sílica. Como um processo de fabricação de partículas cerâmicas esféricas de tamanho micrométrico e com estreita distribuição de tamanho, a técnica de aspersão de solução em uma chama não tem seus princípios completamente conhecidos [KANG *et al.*, 2002]. Assim, poucos trabalhos foram reportados na literatura em relação ao uso desta técnica na síntese de pós de fosfato de cálcio, em especial a hidroxiapatita.

O recente interesse no desenvolvimento e estudo do processo de aspersão de solução em chama deve-se principalmente ao enorme potencial que esta técnica apresenta na produção de nanopartículas bem como devido ao baixo custo na obtenção de tais produtos [PRATSINIS, 1998 e ROTH, 2007]. Stark e Pratsinis (2002) citam que esta técnica é largamente empregada para a produção de negro de fumo, onde hidrocarbonetos aromáticos (óleos) são aspergidos em uma chama à base de gás natural onde metade deste óleo é queimado para que ocorra a pirólise da outra metade e assim obter o negro de fumo. Atualmente, este processo é amplamente utilizado pela indústria com o intuito de produzir em grande escala pigmentos de titânia, sílica e alumina, por exemplo. Destacam-se grandes empresas como DuPont, Cabot, Degussa, Kemira, Tioxide, Corning Glass, General Electric entre tantas outras líderes no setor químico.

Apesar de ser considerada uma técnica industrialmente consolidada, os princípios e fundamentos da síntese de partículas em um chama ainda não são completamente compreendidos. Isto se deve principalmente ao fato de que as reações químicas e a formação das partículas ocorrem em curtíssimos espaços de

tempo no processo, algo em torno de segundos ou até menos. Consideram-se ainda as altas temperaturas envolvidas no processo, o que dificulta a obtenção de amostras para sua caracterização bem como desenvolvimento de modelos teóricos.

De acordo com a literatura atual, a técnica de aspersão de solução em chama envolve a formação de vapores ou um aerossol dos compostos precursores, onde estes reagem em altas temperaturas (chama) levando à formação de um pó cerâmico, tipicamente na forma de agregados. Agregado pode ser definido como um grupo de partículas que se mantém unidas devido à fortes ligações como aquelas associadas com ligações covalentes ou metálicas. As partículas primárias que compõem os agregados podem variar em diâmetro desde poucos até centenas de nanômetros, dependendo do material e dos parâmetros do processo.

Devido à elevada densidade de energia na chama, pode-se utilizar soluções precursoras em elevadas concentrações. Além disto, a temperatura na chama pode atingir valores entre 1000 a 2400°C.

O tempo de residência da partícula na região de maior temperatura é muito curto, algo entre 10 a 100ms. Soma-se a isto o fato de que esta região de alta temperatura é crucial para a formação das partículas primárias que neste processo podem variar desde poucos nanômetros até acima de 500nm.

O controle das características das partículas durante a síntese por chama é essencial, uma vez que as propriedades dos materiais posteriormente conformados com estas partículas dependem do tamanho, distribuição de tamanho, morfologia, grau de agregação, composição química e cristalinidade das mesmas. QIN *et al.* (2005) citam que a temperatura da chama, tamanho da partícula e estrutura cristalina é fortemente afetado pela solução precursora utilizada.

A chama desempenha um papel fundamental neste processo, onde recentemente uma grande atenção tem sido dada a esta, principalmente em termos da solução precursora, configuração da chama, tipo de precursor, temperatura e composição do oxidante. A forma da chama pode ser influenciada pelo tipo de combustível utilizado bem como pelo modo de injeção de ar. A temperatura de chama é um dos parâmetros que afeta fortemente o processo e características dos pós obtidos. Consideram-se ainda fatores como composição do gás oxidante, presença de aditivos ou dopantes, gradiente de temperatura na chama bem como

existência de campo elétrico. O tempo de residência da partícula na chama é outro fator importante no processo, afetando a cristalinidade, morfologia, coalescência ou sinterabilidade do produto final.

Materiais obtidos através de síntese em chama usualmente são finas partículas primárias que se mantêm unidas por fortes ligações químicas (fusão, sinterização ou coalescência). Tipicamente, o número de partículas primárias que compreendem um agregado de partícula varia desde poucas até centenas, com tamanhos entre 1 a 500µm. Nucleação homogênea a partir de uma fase gasosa produz partículas muito pequenas em uma elevada concentração. Inicialmente estas partículas coalescem devido à colisão. Conforme ocorre o resfriamento, o processo de coalescimento da partícula esférica propriamente dita se encerra. Entretanto, as entidades individuais permanecem fixas e na presença de mais material produzido a partir da fase gasosa, tornam-se permanentemente unidas. O processo aleatório de chegada de mais partículas aumenta até um agregado, que é uma cadeia não-linear de esferas, que podem conter centenas de esferas unidas. Com o decorrer do processo, diminui a densidade de partículas e com declínio da temperatura, a colisão e fixação continuam, mas não há mais deposição que levam à união de partículas. Estas entidades transientes são chamadas de aglomerados. Aglomerado é um grupo de partículas que se mantêm unidas por ligações fracas, como forças de van der Waals, forças eletrostáticas ou tensão superficial. A Figura apresenta os aglomerados, agregados e partícula.

As reações entre os gases precursores, na fase gasosa, resultam em inúmeras espécies que incluem radicais, intermediários e produtos. Assim, um posterior tratamento térmico pode ser necessário para remoção de carbono, nitrogênio e oxigênio.

Acredita-se que esta técnica pode suprir tanto economicamente quanto tecnologicamente o atual processo de obtenção de pós de hidroxiapatita. Riman *et al.* (2002) citam que é de grande importância o desenvolvimento de métodos de baixo custo para a produção de hidroxiapatita, principalmente focados no controle preciso do tamanho de partícula, morfologia e composição química.

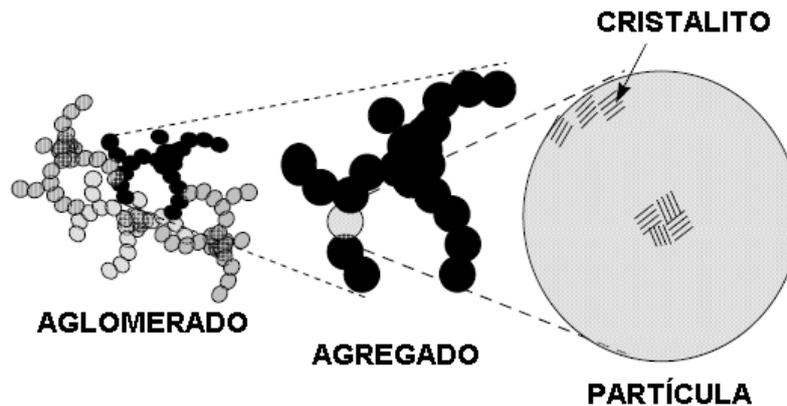


Figura 3.5: Esquema simplificado dos aglomerados, agregados e cristalito nos pós cerâmicos obtidos pela aspersão de uma solução em chama [GOPI, 2008].

Além disto, tem-se como vantagem do processo de aspersão de solução em chama o fato de que as partículas produzidas no fluxo gasoso não envolvem subprodutos líquidos gerados pelos processos químicos e, as partículas podem ser facilmente separadas do fluxo gasoso, sem nenhum processamento posterior e resultando num material de elevada pureza [PRATSINIS, 1996].

O pó nanoestruturado de hidroxiapatita também pode ser empregado como matéria-prima na produção de revestimentos sobre substratos metálicos, utilizando principalmente a técnica de aspersão térmica. Este campo apresenta diversas referências bibliográficas, entretanto pouco se sabe sobre o comportamento de pós nanoestruturados neste processo, e muito menos sobre a utilização dos produtos obtidos com a técnica de síntese contínua em chama.

3.3.1. CHAMAS E COMBUSTÃO

Geralmente a chama é associada à emissão de luz por parte de gases superaquecidos, ainda que certos tipos de chamas não emitam luz no visível. Desde antigamente o homem tem se encantado com a ocorrência de uma chama visível, sendo que esta é ocorrência da luz produzida pelo decaimento radioativo de espécies químicas formadas em um estado eletrônico excitado [BENVENUTTI, 1999]. Marques (1996) menciona que no caso de chamas de hidrocarbonetos, a emissão luminosa da zona de reação se deve principalmente à emissão dos radicais OH, CH e C₂.

O conhecimento detalhado, microscopicamente embasado, dos fenômenos que ocorrem em uma chama representa um grande desafio, uma vez que nela coexistem inúmeros processos químicos e físicos, produzindo o que se denominam processos de combustão.

O que se sabe com segurança é que uma chama envolve uma grande seqüência de reações a partir das quais se produz energia, da qual uma fração pequena é de energia luminosa visível, resultando em gradientes tanto de temperatura como de concentração de moléculas e átomos [JUNIOR, 2006].

As chamas são geralmente associadas a processos de oxidação. Entretanto, algumas reações, como por exemplo, a da fluorita e outros halogênios com hidrogênio e hidrocarbonetos, não envolvem oxigênio e são consideradas chamas.

Veríssimo (2006) cita que a combustão é considerada completa quando os produtos de oxidação são completamente estáveis, como no caso da combustão de hidrocarbonetos (C_xH_y) em que os produtos são CO_2 e H_2O . Entretanto, isto está associado a certas condições de queima (quantidade de combustível e de oxidante a serem utilizados e da situação em que se encontram no instante da queima). Para a situação de ocorrência de combustão completa, os produtos não estáveis participam de reações intermediárias chegando, finalmente, aos produtos estáveis.

Em linhas gerais, as chamas podem ser classificadas como explosivas (ou de propagação) e estacionárias. As primeiras caracterizam-se por serem produzidas ao longo de tubos ou de vasos fechados. As chamas estacionárias são aquelas de maior interesse industrial, seja como fonte de aquecimento ou outros propósitos, como meio reativo. As chamas estacionárias podem ser subdivididas em dois grandes grupos: chamas difusivas e pré-misturadas [MARQUES, 1996; BENVENUTTI, 1999; SANTOS, 2005; JUNIOR, 2006]. A principal característica das chamas difusivas é a queima do combustível à medida que este entra em contato com o oxidante, em geral o ar atmosférico. As chamas pré-misturadas são aquelas em que o combustível e o comburente são misturados antes que a combustão ocorra. A estrutura de uma chama pré-misturada é apresentada na Figura 3.6.

A primeira é conhecida por cone interno, que se caracteriza por ser a frente de queima inicial, devido à reação do combustível com o comburente primário [BENVENUTTI, 1999]. Em oposição, o cone externo é resultante em parte da

combustão com o oxigênio presente na atmosfera que circunda a chama (comburente secundário), possuindo, portanto, características de uma chama difusiva. Os gases provenientes do cone interno servirão de combustível para o cone externo. Segundo Gaydon e Wolfhard (1953), em uma chama típica de hidrocarboneto, os gases interconais apresentam os seguintes constituintes: CO, H₂, CO₂, H₂O e N₂. Assim, radicais e moléculas diatômicas são formados como produtos intermediários ou finais das reações químicas que ocorrem durante a queima, como OH, NO, NH e CH.

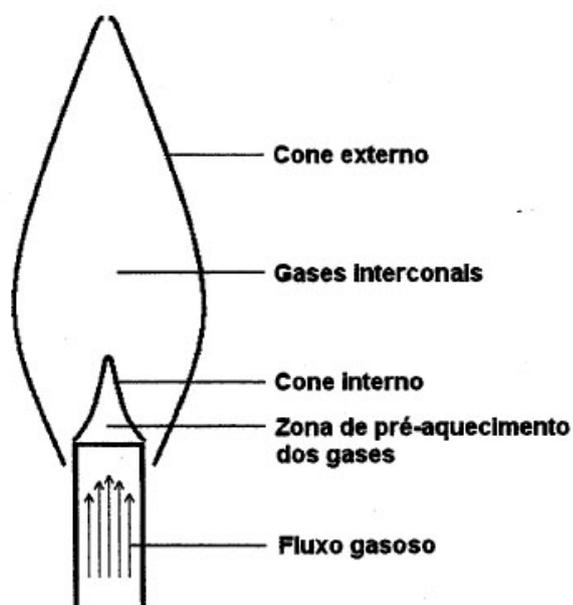


Figura 3.6: Regiões de uma chama, identificando o cone interno e cone externo [Adaptado de BENVENUTTI, 1999].

O exemplo mais conhecido de chamas pré-misturadas foi primeiramente descrito por Bunsen em 1855, através de um dispositivo então denominado bico de Bunsen. Neste tipo de queimador, os gases pré-misturados ascendem pelo tubo do queimador em uma taxa superior à velocidade de queima da mistura, mantendo, assim, uma chama estacionária na extremidade daquele.

Entretanto, o queimador de Bunsen apresenta certas limitações, principalmente relacionadas à sua inadequada captação de ar e tendência a extinção da chama no caso de grandes diâmetros. Outro tipo de queimador, denominado Meker, possibilita uma maior captação de ar, aumentando assim a temperatura na chama e permitindo um queimador de diâmetro maior [GAYDON e

WOLFHARD, 1953]. Este tipo de queimador tem princípios semelhantes ao de Bunsen, porém apresenta uma tela na sua saída que previne a extinção da chama. Além disto, usualmente o queimador do tipo Meker tem uma abertura acima do orifício de gás, aumentando assim a captação de ar.

Santos (2005) e Junior (2006) mencionam que em função da proporção entre o combustível e o oxidante, as chamas podem ser classificadas em chamas ricas ($\phi > 1$), chamas estequiométricas ($\phi = 1$) e chamas pobres ($\phi < 1$), em que ϕ é denominado razão de equivalência, definido por:

$$\Phi = R_{\text{exp}} / R_{\text{est}} \quad \text{Equação 3.3}$$

em que R_{exp} é a razão molar combustível/oxidante experimental e R_{est} é a razão molar combustível/oxidante para a reação estequiométrica.

Esta classificação das chamas ainda permite expressar a temperatura de chama, usualmente expressa em *handbooks* como temperatura adiabática de chama. Esta se refere à temperatura que poderia ser atingida durante a combustão se todo o calor proveniente das reações químicas fosse utilizado para o aquecimento dos produtos gerados, correspondendo então à máxima temperatura que pode ser atingida pelos produtos da combustão. Assim, a temperatura pode ser expressa em função do excesso de combustível, ou seja, chama rica ou chama pobre.

3.3.2. ATOMIZAÇÃO

A transição de um volume compacto de líquido para um conjunto de pequenas gotas dispersas é denominado de atomização [BREMONT *et al.*, 2007]. Lacava (2007) descreve atomização como o rompimento de um filme líquido em gotas, aumentando sua área superficial e aumentando as taxas de vaporização e combustão. Para Hickey (1996) a atomização é descrita como o processo de produção de um aerossol ou *spray*. Hinds (1982) menciona que o termo aerossol foi descrito e tornou-se de 1920, como um termo análogo à hidrossol e que compreende uma suspensão líquida estável de partículas sólidas.

Um aerossol, o *spray*, é freqüentemente observado no dia-a-dia em diversas formas, como as gotas da chuva, tinta de impressoras, injeção de combustível em

automóveis, etc. Além disto, um *spray* ou aerossol é freqüentemente usado em produtos cosméticos (creme de barbear, perfumes, desodorantes, etc) e pesticidas.

A maioria dos processos industriais busca o controle da natureza do *spray* para então utilizar em uma determinada aplicação. Exemplo disto é a bioengenharia terapêutica de aerossol, baseada principalmente no desenvolvimento de fármacos como a insulina inalada. O uso de fármacos na forma de aerossol envolve o desenvolvimento de partículas e aerossol, que é criado pela atomização de uma solução líquida ou suspensão que contém o fármaco [EDWARDS e DUNBAR, 2002].

O processo de atomização necessita de energia para a produção de uma área maior (a partir de um líquido) e transporte do fluido atomizado. Usualmente a energia disponível pelo fluido ejetado de um bico é ineficiente para a conversão deste jato em pequenas gotas (aerossol), o que justifica o uso de um fluxo de gás de certa velocidade para pneumáticamente desintegrar o líquido que emerge do bico. Assim também é possível controlar o aerossol para sua utilização industrial.

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O fluxograma da Figura 4.1 apresenta a metodologia proposta para obter pós de HA a partir da aspersão de uma solução em chama.

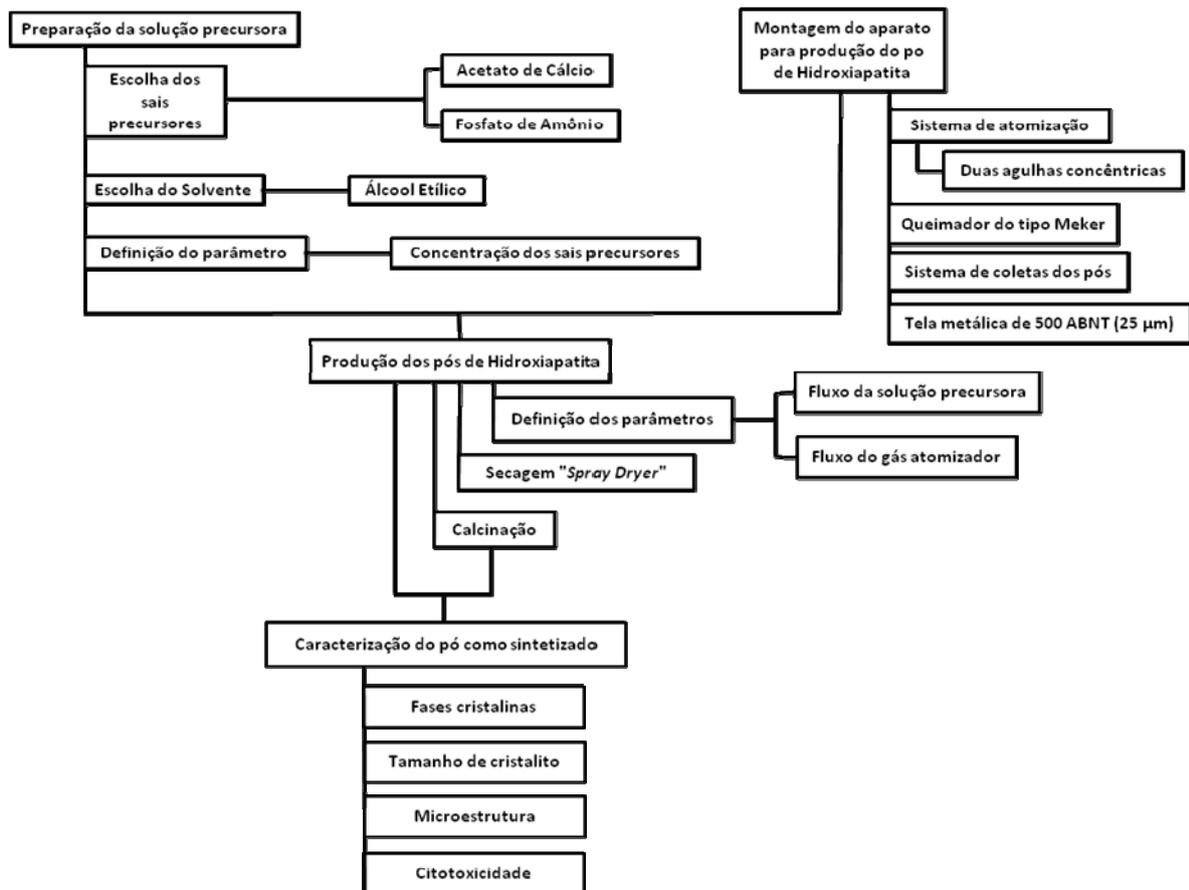


Figura 4.1: Fluxograma da metodologia adotada para a obtenção de pós de hidroxiapatita.

4.1. FORMULAÇÃO DA SOLUÇÃO PRECURSORA

A primeira etapa para a obtenção de um pó de hidroxiapatita é o desenvolvimento de uma solução precursora que será aspergida na chama. Basicamente, para o desenvolvimento desta solução, têm-se as seguintes exigências:

- conter os íons necessários para a formação de hidroxiapatita como produto final;
- permitir a sua atomização;
- ser combustível na chama;
- ser de fácil preparação e de baixo custo.

Assim, a solução precursora é basicamente a mesma proposta por Trommer *et al.* (2007), uma vez que esta apresenta todas as exigências básicas impostas

pelo processo. Porém, a concentração da solução precursora é maior, uma vez que se busca um maior rendimento do processo. Os sais e reagentes utilizados na preparação da solução precursora, bem como sua função, são listados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Substâncias a serem utilizadas e sua função principal.

SUBSTÂNCIAS	FUNÇÃO
Acetato de cálcio	Fornecer íon cálcio
Fosfato de amônio bibásico	Fornecer íon fosfato
Álcool etílico	Diluição e combustível na chama
Acido nítrico	Evitar precipitação do fosfato
Água deionizada	Diluição

O acetato de cálcio ($\text{Ca}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e fosfato de amônio bibásico ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) são os sais responsáveis por fornecer os íons cálcio e fosfato respectivamente, que compõe basicamente a hidroxiapatita. O uso destes precursores, além do fornecimento dos íons desejados, se justifica também pelo seu custo relativamente baixo e alta pureza.

O álcool etílico ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) é utilizado como solvente dos sais precursores. Entretanto, a sua utilização se deve principalmente ao fato do mesmo ser combustível na chama piloto, fornecendo assim mais energia para as reações químicas.

O ácido nítrico (HNO_3) é utilizado com o intuito de evitar a precipitação do fosfato de amônio na solução, mantendo a solução homogênea e sem precipitados.

Na obtenção da hidroxiapatita pelos diversos métodos conhecidos até hoje, inúmeros precursores são utilizados. Por exemplo, utilizando a técnica de *spray* pirólise em chama para a obtenção de pós de fosfato de cálcio, Loher *et al.* (2005)

empregaram uma solução precursora constituída basicamente dos sais precursores óxido de cálcio (CaO) e tributil fosfato, dissolvidos em ácido 2-etil hexanóico. Em 2007 Hammari *et al.* preparam um pó de hidroxiapatita utilizando hidróxido de cálcio e fosfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) como sais precursores, em um meio de água e etanol.

Entretanto, a maioria dos trabalhos descritos na literatura, e que envolvem a combustão de uma solução, empregam algum nitrato como precursor. Empregando a técnica de *spray* pirólise em chama, Cho e Kang (2008) utilizaram nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e fosfato de amônio para a obtenção de HA. Entretanto, os autores utilizaram polietilenoglicol como aditivo orgânico. Han *et al.* (2005) e Sasikumar e Vijayaraghavan (2008) empregaram nitrato de cálcio, ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$) e fosfato de amônio dissolvidos em água deionizada para obter hidroxiapatita através da técnica de combustão de sol-gel. Santos *et al.* (2005), utilizando o método de sol-gel para a obtenção de HA, empregaram precursores alternativos para este método: nitrato de cálcio e ácido fosfórico.

4.2. EQUIPAMENTO DE ASPERSÃO DE SOLUÇÃO NA CHAMA

O aparato desenvolvido em laboratório para aspergir uma solução em chama é um tanto simples. Este basicamente é formado por três componentes: o sistema atomizador, as chamas piloto e principal e por fim o sistema de coleta de pós. Destaca-se novamente que um dos objetivos durante a montagem do equipamento foi utilizar dispositivos de baixo custo, permitindo assim obter um produto final também de baixo custo.

4.2.1. SISTEMA ATOMIZADOR

Objetivando desenvolver um processo rápido e de baixo custo para a produção de pós nanoestruturados de hidroxiapatita, o sistema atomizador utilizado é um dispositivo simples, que emprega duas agulhas concêntricamente dispostas, conforme apresenta a Figura 4.2.

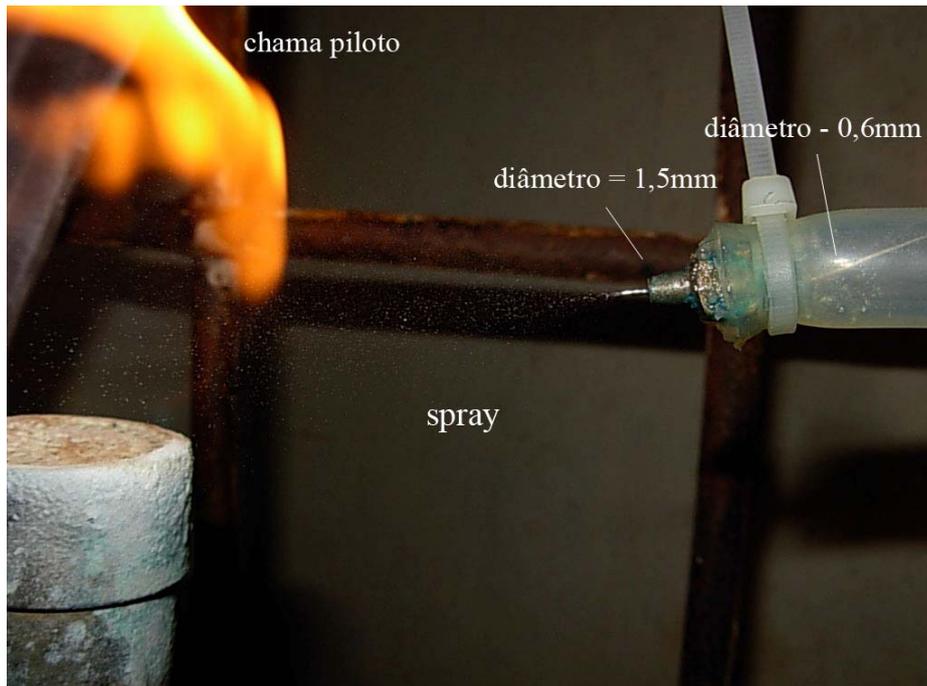


Figura 4.2: Sistema atomizador composto por duas agulhas dispostas concêntricamente, formando um *spray* que intercepta a chama piloto.

Santos (2005) cita que na queima de combustíveis líquidos a atomização é um estágio crítico, uma vez que este passo aumenta a superfície do combustível facilitando a sua vaporização, condição indispensável à sua mistura com o comburente.

Assim, durante o processo de atomização, através da agulha menor (diâmetro interno de 0,6mm) passa a solução precursora, e o gás atomizador (ar comprimido em uma vazão de 2L/min) flui através da agulha maior (diâmetro interno de 1,5mm). O controle do fluxo da solução precursora que chega até o sistema atomizador é determinado por uma bomba peristáltica (COLE-PARMER INSTRUMENT COMPANY modelo Masterflex L/S).

O tamanho da gota bem como a sua uniformidade depende de fatores como: características da solução (viscosidade, tensão superficial, etc), desenho do bico atomizador, fluxo através do bico e pressão do ar (quando dois fluidos são utilizados).

Entretanto, as técnicas empregadas para medir tamanho de gota (imagem óptica e difração de laser, por exemplo) necessitam de equipamentos de alto custo, usualmente utilizam lasers, o que inviabiliza a sua medição neste trabalho. Como o bico atomizador e a solução serão constantes, será avaliada a influência do fluxo da

solução e pressão do ar de atomização sobre a morfologia das partículas de hidroxiapatita, através da medida do tamanho das partículas por microscopia eletrônica de varredura.

Sabe-se que o fluxo da solução apresenta uma relação direta com o tamanho de gota. Assim, um aumento no fluxo da solução irá aumentar o tamanho da gota. Similarmente, uma diminuição no fluxo irá diminuir o tamanho da gota. Já a pressão do gás atomizador apresenta uma relação inversa, ou seja, um aumento na pressão irá reduzir o tamanho da gota. Analogamente, se a pressão for reduzida o tamanho da gota será aumentado.

Outro ponto importante na atomização é o conhecimento do ângulo do *spray* ou aerossol, que indica aproximadamente a cobertura do mesmo a uma determinada distância, conforme apresenta a Figura 4.3. O ângulo do *spray* possui uma relação inversamente proporcional com o tamanho de gota, ou seja, o aumento no ângulo do aerossol reduz o tamanho da gota.

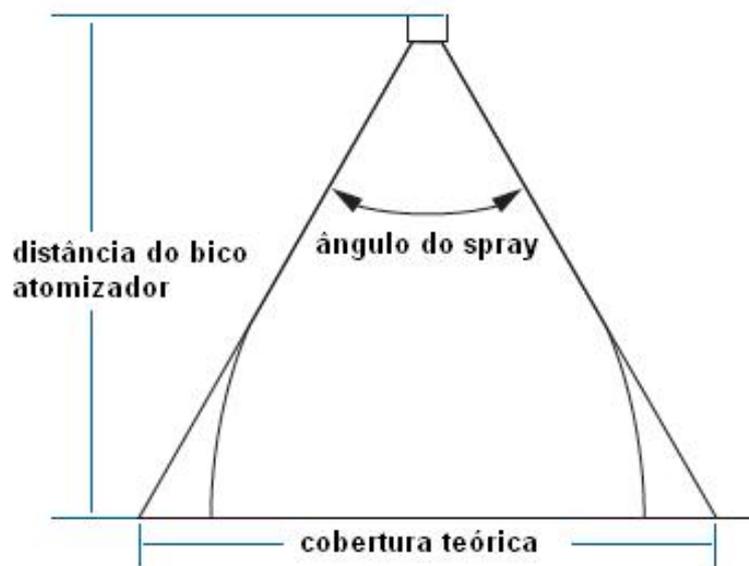


Figura 4.3: Desenho esquemático do aerossol apresentando o ângulo do *spray*, cobertura teórica e distância do bico atomizador.

5.2.2. CHAMA PILOTO E PRINCIPAL

Um dos aparatos mais importantes do processo de obtenção da hidroxiapatita é a chama. No processo descrito neste trabalho, duas chamas são obtidas. A primeira é a chama piloto, que emprega um bico de Bunsen-Meker, tendo GLP como combustível e oxigênio do ar atmosférico como comburente. A Figura apresenta a chama piloto. O controle da vazão de GLP que chega até o queimador será feito com o auxílio de um rotâmetro, de modo a manter os parâmetros da chama constantes.

Roth (2007) cita que especificamente na síntese de partículas de óxidos por aspersão de solução, são utilizados queimadores com chamas pré-misturadas e outros com chamas difusas.

O objetivo do uso de um queimador do tipo Bunsen-Meker é minimizar o custo do equipamento, uma vez que normalmente é necessária uma configuração especial e de alto custo do sistema queimador [BENFER e KNÖZINGER, 1999]. Por exemplo, Ifeacho *et al.* (2005) uma chama pré-misturada de hidrogênio, argônio e oxigênio para produzir uma mistura de partículas de SnO₂/ TiO₂. Jang *et al.* (2006), na produção de óxido de estanho-índio, um queimador difuso desenhado de tal forma que a chama fosse formada a partir da combustão de argônio+precursor, argônio, hidrogênio, oxigênio e ar introduzidos a partir de 5 entradas concêntricas.

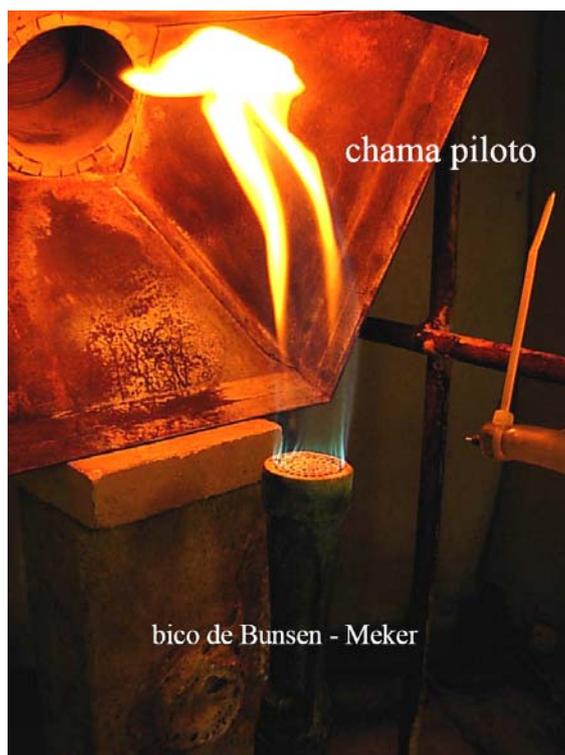


Figura 4.4: Bico de Bunsen-Meker utilizado como chama piloto.

Já Mueller *et al.*(2004) empregaram na produção de sílica um queimador de aço inoxidável constituído de três tubos concêntricos. Através de um tubo fluiu o precursor e gás de arraste (nitrogênio), pelo tubo central fluiu metano e por fim através do terceiro tubo fluiu oxigênio. Em especial na produção de HA utilizando uma chama, Cho *et al.* (2008) utilizaram um sistema queimador complexo comparado ao descrito neste trabalho, conforme apresenta a Figura . O aparato possui basicamente um gerador de gotas ultrassônico, uma chama, um reator de quartzo e um coletor de pós. Para criar a chama, propano e oxigênio são utilizados. Assim, as gotas geradas a partir da solução precursora são direcionadas para a chama difusiva através de um orifício central, utilizando oxigênio como gás de arraste.

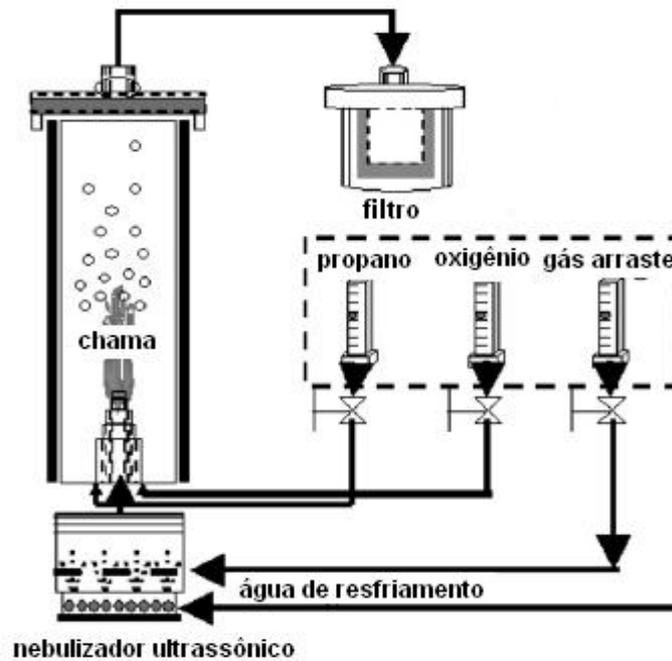


Figura 4.5: Diagrama esquemático do aparato utilizado para produzir pós de HA [Adaptado de Cho *et al.*(2008)].

O GLP propriamente dito, distribuído em larga escala, é composto por uma mistura de hidrocarbonetos parafínicos (propano, n-butano e iso-butano) e olefínicos (propeno, n-butenoeiso-buteno), nas mais variadas proporções. Pode ocorrer também a presença de traços de etano, eteno, iso-pentano e butadieno-1,3. Existem quatro tipos de GLP comercializados no Brasil:

a) Propano comercial: é a mistura de hidrocarbonetos contendo predominantemente propano e/ou propeno;

b) Propano especial: é a mistura de hidrocarbonetos contendo no mínimo 90% de propano por volume e no máximo 5% de propeno por volume;

c) Butano comercial: é a mistura de hidrocarbonetos contendo predominantemente butanos e/ou butenos;

d) Propano-butano: é a mistura de hidrocarbonetos contendo predominantemente misturas de propano e/ou propeno com butanos e/ou butenos.

Além desses componentes, o GLP inclui também traços de substâncias chamadas de mercaptanas, que são responsáveis pelo odor característico.

A chama principal é formada quando a solução precursora, após ser atomizada, intercepta a chama piloto. Como a solução precursora é diluída em álcool etílico, ocorre sua combustão quando entra em contato com a chama piloto, conforme apresenta a Figura . Isto provoca a formação da chama principal. Combustão ou queima basicamente se refere à rápida oxidação de alguma substância, sendo que esta oxidação é uma reação química exotérmica (EDWARDS, 1974). Isto justifica a função da chama principal, ou seja, fornecer a energia necessária para que ocorram as reações químicas que levam à formação do pó.

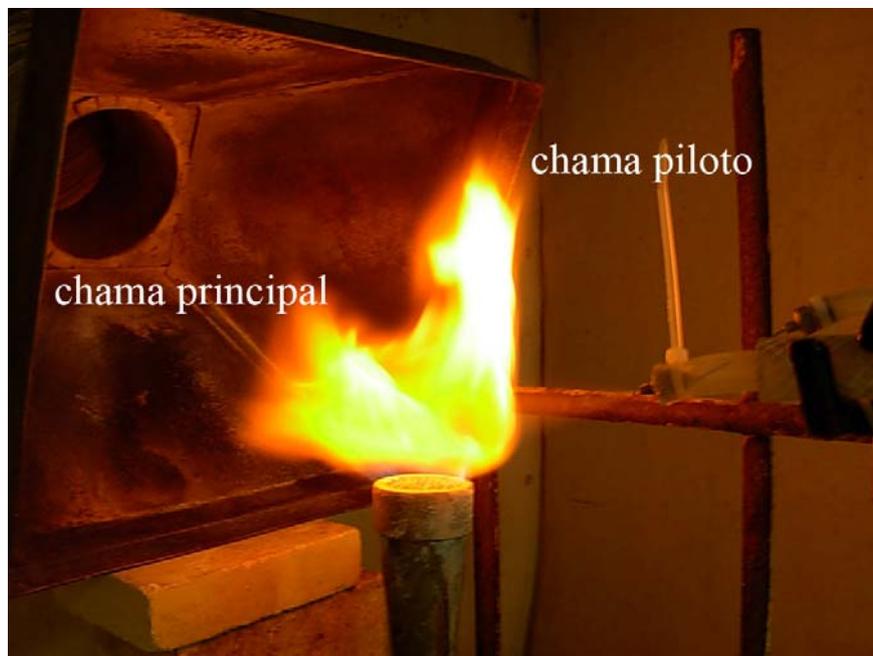


Figura 4.6: Formação da chama principal devido à combustão da solução precursora na chama piloto.

Pratsinis (1998) menciona que, considerando todos os parâmetros do processo, a temperatura é a que tem maior efeito sobre o processo e características do produto formado.

4.2.2. SISTEMA DE COLETA DOS PÓS OBTIDOS

O sistema de coleta de pós consiste basicamente de uma câmara onde uma tela metálica de malha 500 ABNT (25 μ m) é acoplada transversalmente, conforme indicado pela linha vermelha tracejada na Figura .

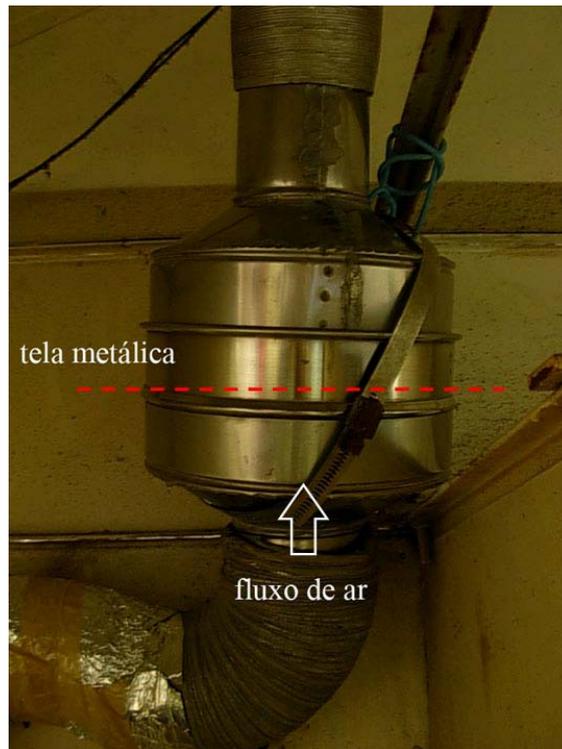


Figura 4.7: Sistema de coleta de pós que emprega uma tela metálica.

Uma coifa capta as partículas que deixam a chama principal e as conduz até o sistema de coleta de pós, através de uma tubulação. Como o fluxo de ar passa pela tela metálica, ocorre a retenção do pó na própria tela. Quando ocorre a saturação da tela com as partículas (Figura), o equipamento é interrompido para a coleta do pó aglomerado obtido.



Figura 4.8: Tela metálica saturada com o pó de hidroxiapatita.

4.3. SECAGEM COM “SPRAY DRYER”

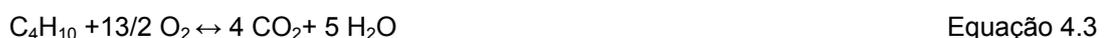
O “*spray dryer*” (secador por aspersão) é um equipamento que admite a alimentação somente em estado fluido (solução, suspensão ou pasta) e a converte em uma forma particulada seca pela aspersão do fluido em um agente de secagem aquecido (usualmente o ar). A secagem por aspersão produz esferas relativamente uniformes apresentando a mesma proporção de compostos não voláteis que a alimentação líquida homogênea. Portanto, a mesma pode ser utilizada para preparar misturas complexas de sólidos que não podem ser produzidas por métodos mecânicos. Por exemplo, pós cerâmicos. Para tal procedimento será usado um *Mini Spray Dryer*, modelo B – 290 da marca BUCHI.

4.4. TRATAMENTO TÉRMICO

Pratsinis (1998) menciona que as reações na fase gasosa entre os gases precursores normalmente resultam em um número de espécies, como radicais, intermediários e o produto final. Sabe-se que processos de obtenção de HA realizados em atmosfera aberta usualmente incorporam carbonato (CO_3^{2-}), devido ao CO_2 presente no ambiente e que reage com a hidroxila presente na solução ou umidade [LEEJWENBURGH *et al.*, 2006], [CENGIZ *et al.*, 2008]. Equação 4.1 apresenta a reação de formação de carbonato.



Além disto, deve-se considerar o uso de propano e butano na chama piloto, que têm como produto de combustão CO_2 e água, conforme apresentam as Equações 4.2 e 4.3. Isto pode contribuir significativamente para o aumento do CO_2 disponível no ambiente do processo e posterior incorporação de carbonato nos pós.



Assim, os pós obtidos pelo processo de aspersão de solução em chama serão calcinados para remover algum subproduto das reações químicas que ainda possa estar presente. Para tal, será utilizado um forno elétrico do tipo mufla (modelo Sanchis) para temperaturas de até 1200°C.

4.5. CARACTERIZAÇÃO DOS PÓS

Hench e Wilson (1993) citam que para garantir se as propriedades finais de um biomaterial são atingidas antes de sua implantação é necessário que ocorra a sua caracterização. Além disso, os autores citam que qualquer hidroxiapatita preparada, comercialmente ou não, deve ser caracterizada quanto as fases cristalinas presentes e análise química antes de ser utilizada para fins específicos. Isto porque condições de preparação acima de 800°C usualmente levam a uma mistura de β -TCP e HA. Entretanto uma desvantagem apresentada pelo β -TCP é a sua reduzida resistência mecânica, o que restringe sua utilização a regiões que não requeiram altos esforços mecânicos. Esta limitação está relacionada a baixa temperatura de transformação para a fase polimórfica α , que ocorre por volta de 1200°C. Isto ocasiona trinca no material, reduzindo sua resistência mecânica [ENDERLE *et al.*, 2005].

4.5.1. ANÁLISE DAS FASES CRISTALINAS

Os pós obtidos a partir da aspersão da solução precursora na chama serão avaliados em relação às fases cristalinas presentes. Para tal, a técnica de difração de raios X (DRX) será empregada como método de análise. Usou-se um difratômetro de raios x marca comercial PHILLIPS®, modelo X'pert MPD. O limite mínimo de detecção de fases cristalinas dispersas capazes de serem detectadas no equipamento utilizado está na faixa de 4%. Para a realização da análise utilizou-se um programa com um intervalo de varredura angular de 5 a 60°, com avanço gradual de 0,05° a cada intervalo de tempo de 1s. Para a avaliação do tamanho de cristalito fez-se uma varredura restrita entre os ângulos 23° e 28° usando uma fenda de recepção de 0,02° a cada intervalo de tempo de 4s. O cálculo do tamanho de cristalitos foi realizado com o auxílio do software WinFit 1.0.

4.5.2. ANÁLISE MICROESTRUTURAL

Os pós de HA obtidos pela aspersão de solução em chama serão caracterizados quanto a sua microestrutura com o auxílio de um microscópio eletrônico de varredura Jeol (modelo JSM 5800). Sabe-se que a hidroxiapatita biológica encontra-se na forma de cristais nanométricos. Vallet-Regí e González-Calbet (2004) mencionam que os cristais apresentam um comprimento médio de 50nm, largura de 25nm e espessura somente de 2 a 5nm, espalhados na matriz orgânica. É importante identificar partículas nanométricas de HA, pois estas podem apresentar microporosidade favorecendo a osseointegração, havendo assim a formação de um novo tecido ósseo.

4.5.3. MEDIDAS DE TAMANHO DE PARTÍCULA

A maioria das análises do tamanho de partículas tem por objetivo obter um único parâmetro geométrico geralmente associado ao tamanho da partícula esférica equivalente. Neste trabalho, a distribuição do tamanho de partícula será inicialmente medida através da técnica de espalhamento de laser. Para tal, será utilizado um analisador de tamanho de partícula por difração de laser, fabricado pela Cilas (modelo 1180). A faixa de detecção deste equipamento situa-se entre 0,04 a 2500 µm. As amostras analisadas por esta técnica são inicialmente dispersas em álcool isopropílico e então submetidas à agitação por ultra-som durante 180 segundos para desaglomeração.

4.5.4. BIOCOMPATIBILIDADE

A compreensão e medida da biocompatibilidade são únicas para a ciência dos biomateriais. Entretanto, não existem definições precisas ou medidas exatas da biocompatibilidade [RATNER *et al.*, 1996]. Os testes de citotoxicidade representam o primeiro estágio para testar a biocompatibilidade de um material que apresenta elevado potencial para uso médico, sendo utilizado como uma pré-seleção para avaliar se o material provoca a morte das células ou outros efeitos deletérios nas funções celulares [MALMONGE *et al.*, 1999]. Além disto, a avaliação sob condições

in vitro pode fornecer dados rápidos e de baixo custo sobre a interação biológica do biomaterial. Considera-se ainda que o uso de ensaios *in vitro* reduz ou até mesmo elimina o uso de animais em laboratório [CRUZ, 2003]. Entretanto, sempre resta a dúvida se realmente o teste *in vitro* é realmente confiável para predizer o que irá ocorrer no meio *in vivo*, sabidamente um sistema muito mais complexo.

Assim, para avaliar a biocompatibilidade dos pós de hidroxiapatita obtidos, será realizado o método de citotoxicidade *in vitro* - método de difusão em Agar, de acordo com a norma ASTM F-895-84 (Método de difusão em agar de cultura de células para seleção de materiais por citotoxicidade), brevemente representado na Figura .

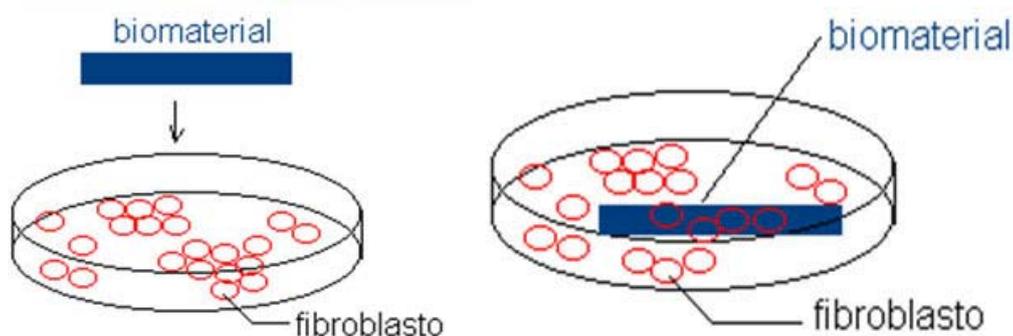


Figura 4.9: Esquema simplificado do método de difusão em agar, descrito pela norma ASTM F-895-84.

O ensaio consiste em células de tecido conjuntivo de camundongo semeadas em placas de Petri e incubadas por 48 horas para formação da monocamada celular. O meio de cultura líquido é substituído pelo meio de cobertura sólido, que é composto de partes iguais de meio 2x concentrado e Agar com vermelho neutro. As amostras são colocadas sobre esse meio de cobertura e as placas novamente incubadas por 24 horas. Observa-se macro e microscópicamente o índice de zona (IZ) que é a área não corada pelo corante vital. As amostras são testadas em quadruplicatas em placas separadas. Os resultados são dados conforme apresenta a

Tabela .2. O material será considerado biocompatível quando os dados de IZ forem iguais a zero, ou seja, quando a amostra não apresenta qualquer efeito tóxico para o material em estudo.

Tabela 4.2: Classificação dos resultados de citotoxicidade.

IZ	Descrição	Classificação
0	Nenhuma zona sob e ao redor da amostra	Nenhuma
1	Alguma alteração ou degeneração celular sob a amostra	Fraca
2	Zona limitada sob a amostra	Leve
3	Zona entre 0,5 - 1,0 cm ao redor da amostra	Moderada
4	Zona maior que 1,0 cm ao redor da amostra	Severa

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

5.1. CRISTALOGRAFIA

A análise das fases mineralógicas por difração de raios X, após a etapa de calcinação identificou a fase cristalina hidroxiapatita no pó, bem como o fosfato tricálcico (β -TCP), conforme apresenta a Figura 5.1.

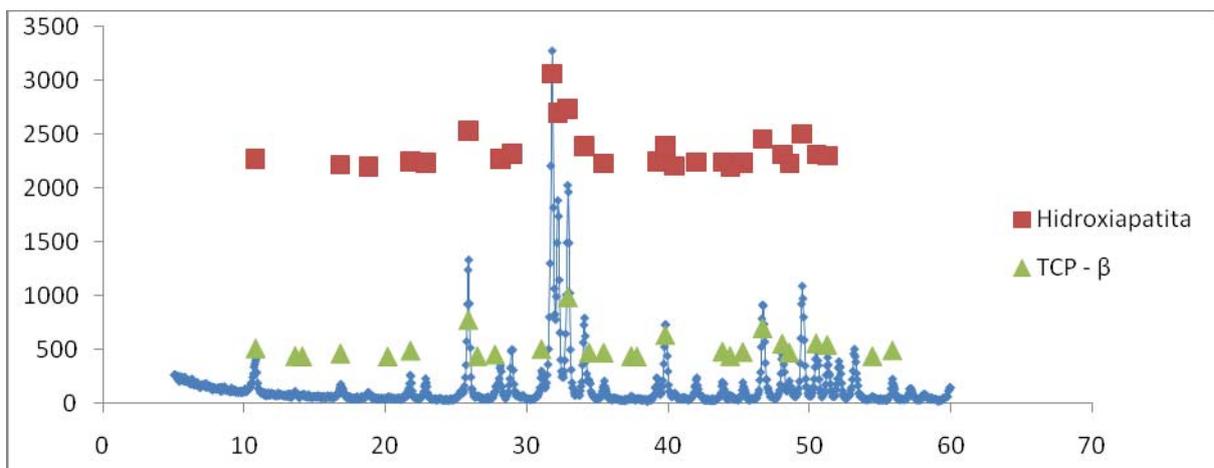


Figura 5.1: Análise mineralógica do pó após calcinação a 800°C identificando a fase cristalina hidroxiapatita e β -TCP.

Observa-se após a calcinação do pó na temperatura de 800°C a presença da hidroxiapatita, juntamente com o fosfato tricálcico β . Pode-se notar, também que trata-se de um material cristalino.

Acredita-se que a solução precursora seja a única responsável pelas fases cristalinas presente nos pós produzidos pela aspersão de solução em chama. Isto porque a razão molar Ca/P foi determinada durante o preparo da solução precursora através das quantidades - em massa - dos sais precursores.

Apesar de ser amplamente utilizado na formulação de cimentos ósseos o β -TCP pode também ser utilizado para a fabricação de compósitos cerâmicos densos e porosos a partir de sua mistura com outras cerâmicas como, por exemplo, a hidroxiapatita [GUHA *et al.*, 2009]. Li *et al.* (2007), Grandi (2007) citam que o β -TCP possui propriedades como biocompatibilidade e osteocondução. Esta fase não era esperada inicialmente, mas como não possui características de degradação do tecido vivo não foi necessário realizar qualquer procedimento que buscasse a eliminação desta fase.

A difração de raios X (DRX) é uma técnica utilizada mundialmente na análise e caracterização de materiais. Inicialmente, usada apenas para determinação da estrutura cristalina dos compostos, hoje em dia, já é possível, através da análise dos difratogramas, determinar a composição, o número de fases cristalinas presentes, a existência de fase amorfa, determinação dos parâmetros de rede, tensões residuais e tamanho de cristalito.

A determinação do tamanho de cristalito, juntamente com o cálculo da deformação de rede, é feita pelo método *single line* através da aproximação de uma função matemática ao perfil de um pico representativo do difratograma. As duas funções que melhor se ajustam a estes perfis são de *Lorentz* e a de *Gauss*. A função de *Gauss* representa melhor as deformações de pico oriundas da deformação de rede, enquanto a função de *Lorentz* retrata mais adequadamente a influência do tamanho de cristalito sobre o pico. Assim, o ideal é que se utilize uma mistura das duas funções,

A largura dos picos de difração de raios X observados é uma junção de fatores como a imprecisão do instrumento e fatores físicos, como tamanho dos

domínios cristalinos e a presença de defeitos cristalinos que levam a uma microdeformação da rede cristalina [WARREN, 1969].

Assim, imperfeições cristalinas da rede cristalina como discordâncias, vacâncias, elementos intersticiais, elementos substitucionais e defeitos similares deformam a rede, levando ao alargamento do pico de difração.

Pelo uso de um *software* (WinFit 1.0) é possível aproximar uma função *Voigt* ou *Pearson VII* ao perfil do pico, como visto na. Após isso, é possível quantificar as contribuições do tamanho de cristalito e da deformação de rede através da determinação da influência da função de *Lorentz* e *Gauss*, respectivamente, chegando a dois coeficientes β_l e β_g . Ainda é utilizado um material com grãos grandes e isento de deformações na rede para servir de padrão, de modo a ser eliminada da função a influência do equipamento sobre o pico.

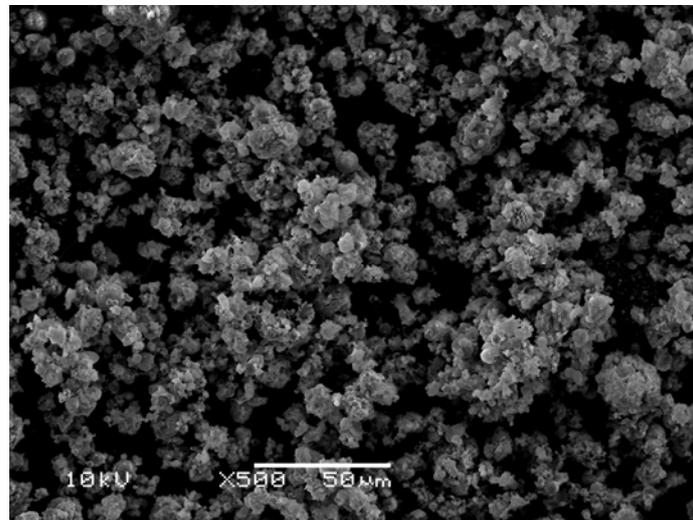
Na análise do tamanho de cristalito, utilizando o *software* WinFit 1.0, observou-se que a amostra possui cristalitos da ordem de 30nm. Stupp e Ciegler (1992) mencionam que é esperado que a hidroxiapatita nanométrica tenha uma melhor bioatividade do que a hidroxiapatita em sua forma padrão. A transição micro para nano pode levar à inúmeras mudanças nas propriedades físicas do material, uma vez que conforme as partículas ficam suficientemente menores elas começam a apresentar um comportamento mecânico quântico [HOLISTER *et al.* 2003].

5.2. MORFOLOGIA

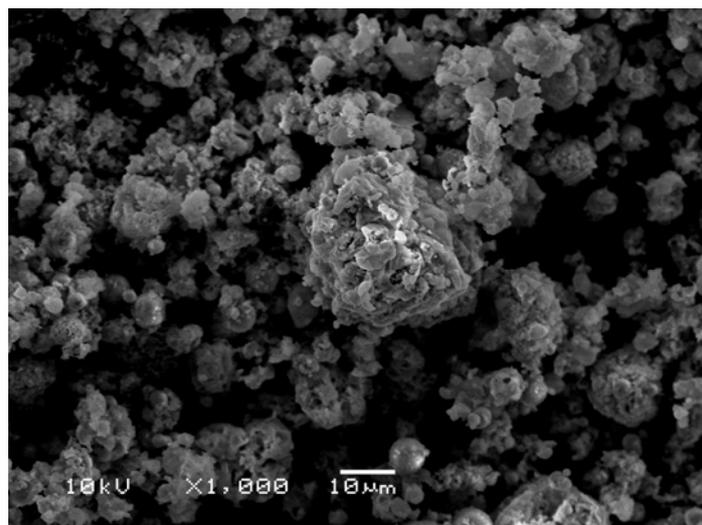
A morfologia do pó obtido após a calcinação é observada através das micrografias apresentadas na Figura . Observa-se que o pó apresenta partículas esféricas, que estão agregadas. Pratsinis (1998) menciona que geralmente pós obtidos a partir de uma chama são usualmente agregados de finas partículas, não-porosas, que se mantêm unidos devido às fortes ligações químicas (fusão, sinterização ou coalescência). Também se observa que há uma distribuição no tamanho das partículas, com diâmetros aproximadamente entre 1 a 3 μ m. Partículas finas, particularmente na escala nanométrica, possuem grandes áreas superficiais e freqüentemente aglomeram formando partículas secundárias, a fim de minimizar a superfície total ou a energia interfacial do sistema [EDELSTEIN, 1996].

A morfologia esférica das partículas pode ser um bom indicativo de que a atomização em “*Spray-Dryer*” após obtenção do pó pela aspensão de solução em

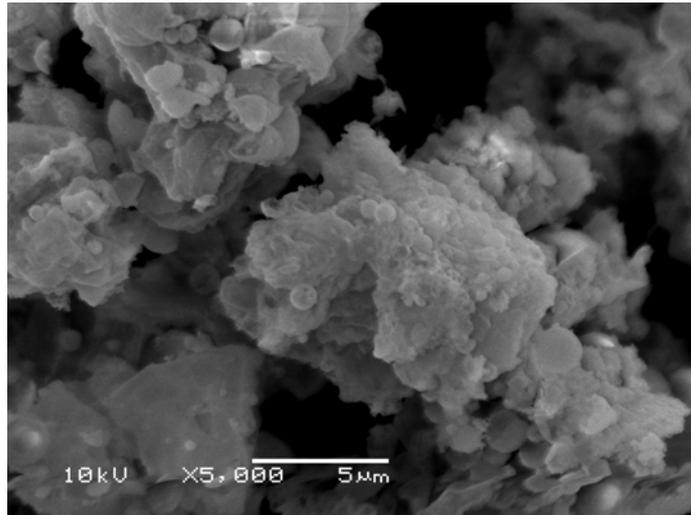
chama é eficiente. Após a calcinação, observa-se que as partículas de hidroxiapatita ainda apresentam uma geometria esférica, e ainda permanecem agregadas.



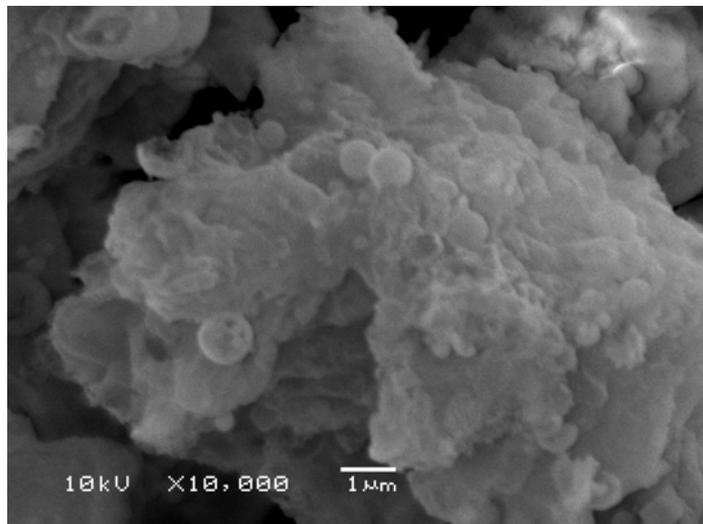
(a)



(b)



(c)



(d)

Figura 5.2: Micrografias por microscopia eletrônica de varredura dos pós de HA em aumentos de (a) 500x, (b) 1.000x, (c) 5.000x e (d) 10.000x.

Através da análise das micrografias pode-se observar a existência de vazios entre os aglomerados. Além disso, a medida que há um incremento no aumento das micrografias, constata-se que estes aglomerados são compostos por outros agregados de menor tamanho.

5.3. GRANULOMETRIA

A distribuição de tamanho de partícula é apresentada na Figura . Para o pó de HA a etapa de calcinação, tem-se que 10% das partículas possuem diâmetro de

até 1,70 μm , 50% das partículas possuem diâmetro de até 8,80 μm e 90% das partículas possuem diâmetro de até 20,19 μm . As partículas possuem um diâmetro médio de 10,12 μm .

Analisando os resultados obtidos com a granulometria a laser, percebe-se que o tamanho de partícula é maior do que aquele observado nas micrografias obtidas por MEV. Acredita-se que isto se deve ao fato de que as partículas de HA estão aglomeradas, conforme observado na Figura , e conseqüentemente têm-se valores superiores na análise de distribuição de tamanho de partícula por laser, pois o equipamento não possibilita a total desaglomeração do pó.

Tanto para a aplicação como cimento ósseo ou para a confecção de compósitos cerâmicos a distribuição granulométrica das matérias-primas é um fator crucial para a obtenção de materiais com propriedades químicas, biológicas e, principalmente, mecânicas satisfatórias.

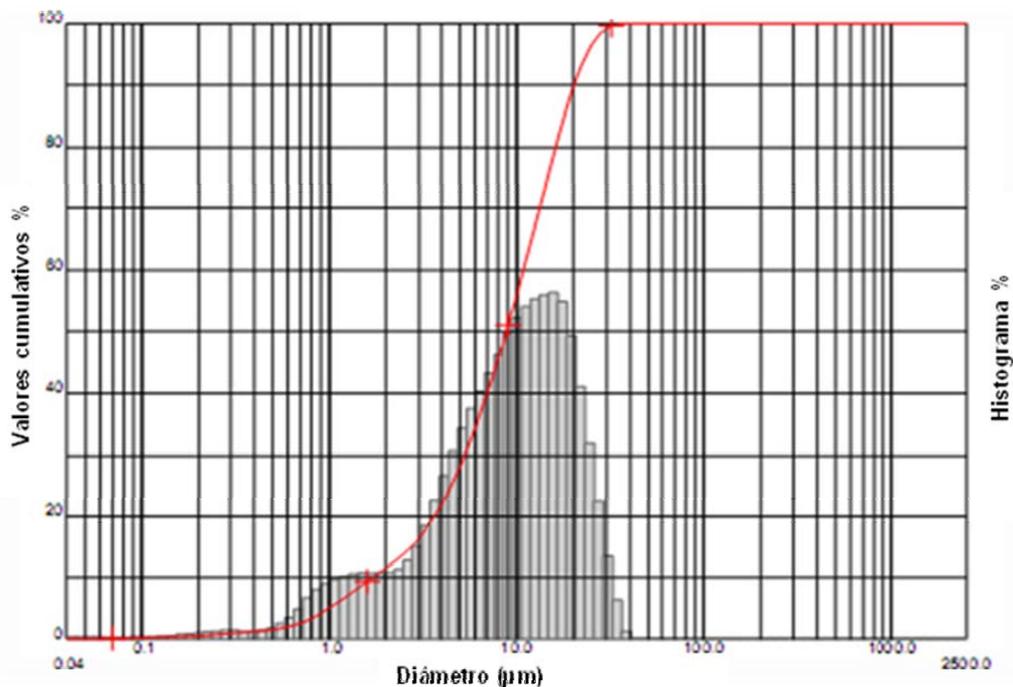


Figura 5.3: Distribuição de tamanho de partícula do pó de hidróxiapatita após etapa de calcinação a 800°C

5.4. BIOCOMPATIBILIDADE

A amostra de hidroxiapatita não apresentou nenhuma zona sob e ao redor da amostra, conforme mostrado na Tabela .1. O teste de citotoxicidade, não foi constatado nenhum tipo de evidência de citotoxicidade do pó de HA. Acredita-se que exista uma correlação bastante razoável entre os testes de curta duração in vivo e os testes de citotoxicidade para materiais implantáveis. Porém estes últimos são apenas indicadores primários de biocompatibilidade biológica e não eliminam a necessidade dos testes in vivo, formulados para interações específicas [PASCHOAL, 2003].

Tabela 5.1: Resultado do ensaio de citotoxicidade para amostra do pó obtido.

AMOSTRA	INDICE DE ZONA OBTIDO APÓS A LEITURA DAS PLACAS DE CULTURAS CELULARES			
	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4
	IZ	IZ	IZ	IZ
Hidroxiapatita	0	0	0	0
Controle negativo	0	0	0	0
Controle positivo	4	4	4	4

6. CONCLUSÕES

Foi possível a obtenção de pós através da aspensão de solução em chama. Foi identificada a fase cristalina hidroxiapatita juntamente com o fosfato tricalcico β (β -TCP) nos pós após calcinação a 800°C. Os cristalitos apresentam tamanhos na ordem de 30nm. Os pós de HA apresentam uma morfologia de partículas esféricas e aglomeradas, mantendo sua estrutura após a calcinação. O ensaio de citotoxicidade mostrou que o material obtido não apresentou nenhum efeito tóxico

para a linhagem celular em teste. O diâmetro médio das partículas é da ordem de 10 μ m.

A técnica de aspersão de solução em chama mostrou-se eficaz para a obtenção de hidroxiapatita nanoestruturada, porém a maneira no qual ela foi utilizada para realizar este trabalho precisa de algumas modificações e melhorias e determinados pontos, visando uma coleta do material em maior quantidade e em menor tempo.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-FATTAH, W.I., Reicha, F.M., Elkhoory, T. A. (2008), "Nano-beta-tricalcium phosphates synthesis and biodegradation: 1.Effect of microwave and SO₄²⁻ ions on beta-TCP synthesis and its characterization". *Biomedical Materials*, 3, 1-13.
- AOKI, H. *Science and Medical Application of Hidroxiapatita*, Japan, 1991.
- BENFER, S.; KNÖZINGER, E. Structure, morphology and surface properties of nanostructured ZrO₂ particles. *Journal of Material Chemistry*, v.9, p.1203-1209, 1999.
- BEN-NISSAN, B. Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, v.7, p.283-288, Out. 2003.
- BENVENUTTI, L.H. Mapeamento de radicais excitados e cinética de reação para chamas de etanol. Tese de doutorado. 1999.
- BOHNER, M. et al. Synthesis and characterization of porous beta-tricalcium phosphate blocks. *Biomaterials*, v.26, p.6099-6105, Mai. 2005.
- BREMOND, N. CLANET, C., VILLERMAUX, E. Atomization of undulating liquid sheets, v.585, p.421-456, 2007.
- BYROM, D.- *Biomaterials, Novel Materials from Biological Sources*, 1991.
- CAI, Y. et al. Role of hydroxyapatite nanoparticle size in bone cell proliferation. *Journal of Materials Chemistry*, v.17, p.3780-3787, 2007.
- CENGIZ, B. et al. Synthesis and characterization of hydroxyapatite nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, v.322, p.29-33, 2008.
- CHO, J.S., KANG, Y.C. Nano-sized hydroxyapatite powders prepared by flame spray pyrolysis. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 464, p. 282-287, 2008.
- CRUZ, A.S. Teste de citotoxicidade in vitro como alternativa ao teste in vivo de draize na avaliação de produtos cosméticos. Tese de Doutorado, 2003.

- CYSTER, L.A. et al. The influence of dispersant concentration on the pore morphology of hydroxyapatite ceramics for bone tissue engineering. *Biomaterials*, v.26, p.697-702, Mar. 2005.
- EDELSTEIN, A.S., CAMMARATA R.C., *Nanomaterials: Synthesis, Properties and Applications*, Physics Publishing, London, 1996.
- EDWARDS, D.A., DUNBAR, C. Bioengineering of therapeutic aerosols. *Annual Review in Biomedical Engineering*, v.4, p.93-107, 2002.
- EDWARDS, J.B. *Combustion: the formation and emission of trace species*. Ann Arbor Science, Michigan, USA, 1974, 240p.
- EL HAMMARI, L. et al. Mesoporous hydroxyapatites prepared in ethanol–water media: Structure and surface properties. *Materials Chemistry and Physics*, v.104, p.448-453, 2007.
- ENDERLE, R., GOTZ-NEUNHOEFFER, F., GOBBELS, M., MULLER, F.A. E GREIL, P., Influence of a magnesium doping on the phase transformation temperature of β -TCP ceramics examined by Rietveld refinement, *Biomaterials* Vol. 26 (2005) p. 3379-3384.
- FU, Q. et al. In Vitro Study on Different Cell Response to Spherical Hydroxyapatite Nanoparticles. *Journal of Biomaterials Applications*, v.23, p.37-50, 2008.
- GAYDON, A.G. *Flames: their structure, radiation and temperature*. Chapman & Hall, London, England, 1953, 340p.
- GLEITER H., *Nanostructured materials: basic concepts and microstructure*, *Acta Mater.*, 2000, p. 1-29.
- GOPI, D. et al. Spectroscopic investigations of nanohydroxyapatite powders synthesized by conventional and ultrasonic coupled sol–gel routes. *Spectrochimica Acta Part A*, v.70, p.1243-1245, 2008.
- GRANDI, G. Análise histomorfométrica comparativa entre α -TCP e β -TCP/HA no reparo ósseo de calotas cranianas de ratos. *Dissertação (Mestrado)*. Faculdade de Odontologia, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

- GUHA, A.K., Singh, S., Kumaresan, R., Nayar, S., Sinha, A. (2009), "Mesenchymal cell response to nanosized biphasic calcium phosphate composites". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 73, 146-151.
- HENCH, L. L., Wilson, J. *An Introduction to Bioceramics*, Advanced Series in Ceramics, vol. 1, World Scientific, London, UK, 1993.
- HICKEY, A. J., *Inhalation aerosols – Physical and biological basis for therapy*, 2 ed. Marcel Dekker, New York, USA, 1996, 273 p.
- HINDS, W.C. *Aerosol Technology: properties, behavior, and measurement of airborne particles*. John Wiley & Sons, New York, 424p, 1982.
- HAN, Y. et al. Synthesis and sintering of nanocrystalline hydroxyapatite powders by citric acid sol–gel combustion method. *Materials Research Bulletin*, v.39, p.25-32, 2004.
- HOLISTER, P. et al. *Nanoparticles*. Científica, 2003. <http://www.cientifica.eu/>.
- IFEACHO, P.; WIGGERS, H.; ROTH, P. SnO₂/TiO₂ mixed oxide particles synthesized in doped premixed H₂/O₂/Ar flames. *Proceedings of the Combustion Institute*, v.30 p.2577–2584, 2005.
- ISHIDA, M. A. Síntese de biomaterial hidroxiapatita. 2003. 78f. Trabalho de Conclusão de Curso – Escola de Engenharia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- JANG, H.D. et al. Synthesis and characterization of indium–tin oxide (ITO) nanoparticles. *Current Applied Physics*, v.6, p.1044-1047, 2006.
- JUNIOR, D.C. Determinação de temperatura de chama por espectroscopia de emissão. Tese de doutorado. 2006.
- KALITA, S.J., BHARDWAJ, A., BHATT, H.A., *Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering*. *Materials Science and Engineering C*, v.27, p. 441-449, 2007.
- KANG, Y.C. et al. Direct synthesis of strontium titanate phosphor particles with high luminescence by flame spray pyrolysis. *Materials Research Bulletin*, v.37, p.263-269, 2002.

- Kawachi, E. Y. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Química Nova, São Paulo, n.23, p.4, 2000.
- KHOR, K.A.; LI, H.; CHEANG, P. Significance of melt-fraction in HVOFsprayed hydroxyapatite particles, splats and coatings. Biomaterials, v.25, p.1177-1186, 2004.
- LACAIVA, P.T. Combustão de Líquidos – Aplicações. I Escola de combustão, 2007.
- LE GEROS, R.Z.; Le Geros, J.P. Dense Hydroxyapatite in Handbook of Bioactive Ceramics, vol. II, CRC Press, 1990.
- LE GEROS, R.Z. Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine, USA, 1991.
- LEEUWENBURGH, S.C.G. et al. In vitro and in vivo reactivity of porous, electrosprayed calcium phosphate coatings. Biomaterials, v.27, p. 3368 – 3378, feb.2006.
- Li, Y. et al. Biological performance in goats of a porous titanium alloy-biphasic calcium phosphate composite. Biomaterials, 28: 4209-421, 2007.
- LI, J. et al. Effect of nano- and micro-hydroxyapatite/chitosan-gelatin network film on human gastric cancer cells. MaterialsLetters, 2008. In press.
- LIMA, R.S.; HVOF spraying of nanostructured hydroxyapatite for biomedical applications. Materials Science andEngineering A, v.396, p.181-187, jan.2005.
- LOHER, S. et al. Fluoro-apatite and calcium phosphate nanoparticles by flame synthesis. ChemicalMaterials, v.17, p.36-42, 2005.
- MALMONGE, S.M. et al. Revista Brasileira de Engenharia Biomédica, v.15, p.49-54, 1999.
- MARQUES, C.S.T. Distribuição de espécies luminescentes em chamas explosivas de C₂H₂/O₂. Dissertação de mestrado. 1996.
- MIRTCHI, A.; LEMAITRE, J.; TERAQ, N.- Calcium Phosphate Cements: Study of β -Tricalcium Phosphate – Monocalcium Phosphate System, Biomaterials, 1989, 10, 475 – 480.

- MUELLER, R. et al. Non-agglomerated dry silica nanoparticles. *Powder Technology*, v.140, p.40-48, 2004.
- NARAYANAN, R., KWON, T.-Y., KIM, K.-H. Direct nanocrystalline hydroxyapatite formation on titanium from ultrasonated electrochemical bath at physiological pH. *Materials Science and Engineering C*, 2007. In press.
- PASCHOAL, A.L. (2003). Estudo da viabilidade de aplicação do polímero piezelétrico fluoreto de polivinilideno (PVDF) entre osso cortical e placa de osteossíntese para estimulação de crescimento ósseo. São Carlos, 2003. 112 Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- PRATSINIS, S.E. Flame aerosol synthesis of ceramic powders. *Progress in Energy Combustion. Science*, v. 24, p.197-219, 1998.
- PRATSINIS, S.E. Nanotechnology: Overview of Aerosol Manufacture of Nanoparticles. <http://nanoparticles.org/primers/>. Acessado em março de 2008.
- RAJABI-ZAMANI, A.H.; BEHNAMGHADER, A.; KAZEMZADEH, A. Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nonalkoxide sol-gel method. *Materials Science and Engineering C*, 2008. In press.
- RATNER, B.D. et al. *Biomaterials science: an introduction to materials in medicine*. United States of America: Academic Press, 1996. 497p.
- ROCO M.C., WILLIAMS R. S. e ALIVISATOS P., *Nanotechnology Research Directions: IWGN Workshop Report*, WTEC, 1999.
- QIN X.; JU YG.; BERNHARD S.; YAO N. Flame synthesis of Y₂O₃:Eu nanophosphors using ethanol as precursor solvents. *Journal of Materials Research*, v.20, p. 2960-2968, 2005.
- RAVAGLIOLI, A., KRAJEWSKI, A. *Bioceramics: Materials, Properties, Applications*. Chapman & Hall, New York, USA, 1992.
- RIGO, E.C.S.; GEHRKE, S.A.; CARBONARI, M. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. *Revista Dental Press de Periodontia e Implantologia*, v.1, p.39-50, 2007.

- RIMAN, R.E. et al. Solution synthesis of hydroxyapatite designer particulates. *Solid State Ionics*, v.151, p.393-402, 2002.
- ROTH, P. Particle synthesis in flames. *Proceedings of the Combustion Institute*, v.31, p.1773-1788, 2007.
- SANTOS, M.L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos; nitrato de cálcio e ácido fosfórico. *Eclética química*, v.30, p.29-35, 2005.
- SANTOS, L.R. Medições de temperatura de chamas de etanol utilizando fluorescência induzida por laser. Tese de doutorado. 2005.
- SASIKUMAR, S.; VIJAYARAGHAVAN, R. Solution combustion synthesis of bioceramic calcium phosphates by single and mixed fuels - A comparative study. *Ceramics International*, v.34, p.1373-1379, 2008.
- STARK, W.J.; PRATSINIS, S.E. Aerosol flame reactors for manufacture of nanoparticles. *Powder Technology*, v.126, p. 103-108, 2002.
- STUPP, S.I.; CIEGLER, G.W. Organoapatites: Materials for artificial bone. I. Synthesis and microstructure. [Journal of Biomedical Materials Research](http://www.hal.kagoshima-u.ac.jp/dental/riko/HAPcryStr.jpg), v.26, p.169-183, 1992.
- The Japanese Society for Dental Materials and Devices. Disponível em <http://www.hal.kagoshima-u.ac.jp/dental/riko/HAPcryStr.jpg>. Acessado em 20 de setembro de 2004.
- TOK, A.I.Y. et al. Flame spray synthesis of ZrO₂ nano-particles using liquid precursors. *Materials Science and Engineering B*, v.130, p.114-119, 2006.
- TROMMER, R.M.; SANTOS, L.A.; BERGMANN, C.P. Alternative technique for hydroxyapatite coatings. *Surface and Coatings Technology*, v. 201, p.9587-9593, 2007.
- ULRICH, G. D., *Combustion Science and Technology*, v. 4, p.47-54, 1971.
- VALLET-REGÍ, M.- Introduction to the World of Biomaterials, *Analises de Química*, Jor. of the Span. Roy. of Chem., vol. 93, number 1, Spain, 1997.

- VALLET-REGÍ, M; González-Calbet, M.J. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. *Progress in SolidStateChemistry*, v.32, p. 1 – 31, Jul. 2004.
- VARMA, H.K.; Yokogawa, Y.; Espinosa, F.F.; Kawamoto, Y.; Nishizawa, K.; Nagata, F.; Kameyama, T. In-vitro Calcium Phosphate Growth Over Functionalized Cotton Fibers, *Jor. of Materials. Science: Materials in Medicine*, KlumwerAcademic Publishers Chapman & Hall., vol. 10, number 10-11, USA, 1999.
- VERÍSSIMO, A.S. Aplicação de Métodos Tomográficos na Reconstrução Bidimensional de Propriedades de Chamas. *Dissertação de mestrado*. 2006.
- XU, J.L. et al. Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite powders produced in a radio frequency (rf) thermal plasma. *Materials Science andEngineering A*, v.374, p.101-108, 2004.
- WARREN B. E., X-ray diffraction, Addison-Wesley, 1969, p. 254.
- WEBSTER, T.J. et al., Enhanced functions of osteoblasts on nanophase ceramics. *Biomaterials*, v.21, p.1803-1810, 2000.
- WILSON, J.- Biocompatibility and Tissue Response to Implants, *Analises de Química, Jor. of the Span. Roy. of Chem.*, vol. 93, number 1, Spain, 1997.