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

ENG 02298 TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA NANOMÉTRICA COM ADIÇÃO DE PRATA

Juliano Mazzarolo

119110

Professor Orientador: Dr. Luís Alberto dos Santos

Junho de 2013

RESUMO

A Hidroxiapatita, principal componente dos tecidos ósseos humanos, vem sendo estudada e utilizada como substituto ósseo e recobrimento em implantes por suas propriedades ótimas de osteocondução e biocompatibilidade, porém devido ao elevado número de casos de rejeição de implantes causados por ação de bactérias, que cada vez mais resistem a antibióticos, é necessário também o estudo de um material que possa vir a reduzir o número de casos de re-intervenções cirúrgicas causadas por infecções.

A prata é conhecida há séculos como agente bactericida e recentemente retomou-se seu uso devido ao desenvolvimento de variações e/ou resistência, por parte das bactérias, aos antibióticos. Contudo, é necessário analisar-se o teor ótimo para utilização da prata, uma vez que esta pode atuar como agente tóxico ao organismo humano se administrada em dosagem excessiva.

O presente trabalho visa sintetizar e caracterizar hidroxiapatita com adições de prata por precipitação via úmida, material este que poderá ser testado posteriormente quanto a sua efetividade como agente bactericida. As adições de prata se deram por substituição de $Ca(OH)_2$ por $AgNO_3$ visando-se obter hidroxiapatita estequiométrica, ou seja, razão (Ca+Ag)/P=1,67 e calcinou-se as amostras em 800 °C e 1000 °C. As análises feitas para viabilizar a caracterização foram microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios-x (DRX) e análise vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR). As análises feitas permitem afirmar que o método é eficaz e viável economicamente para produção e que a hidroxiapatita possui potencial uso em ortopedia como substituto ósseo e agente bactericida.

ABSTRACT

The hydroxyapatite, the main component of human bone tissue, has been studied and used as a bone substitute and coating for implants for their excellent osteoconductive properties and biocompatibility, but due to the high number of cases of graft rejection caused by the action of bacteria, each increasingly resistant to antibiotics is also necessary to study a material which may reduce the number of cases caused re-surgery infections.

Silver is known for centuries as a bactericidal agent and recently resumed its use is due to the development of variations and / or resistance by bacteria, antibiotics. However, it is necessary to analyze the concentration for optimal use of silver, since it can act as toxic to the human body if administered in excessive dosage.

The present work aims to synthesize and characterize hydroxyapatite with silver additions by wet precipitation, which material can be subsequently tested for effectiveness as a bactericidal agent. The silver additions were due to substitution of Ca (OH) 2 with AgNO3 in order to obtain stoichiometric hydroxyapatite, ie ratio (Ag + Ca) / P = 1.67 and the samples calcined at 800 ° C and 1000 ° C. The analysis done to enable the characterization were scanning electron microscopy (SEM), x-ray diffraction (XRD) analysis and vibrational infrared Fourier transform (FT-IR). These analyzes have revealed that the method is effective and economically viable for production and hydroxyapatite that has potential use as a bone substitute in orthopedic and antibacterial agent.

AGRADECIMENTOS

- Ao meu orientador Professor Dr. Luís Alberto dos Santos pelos conhecimentos transmitidos durante o curso de graduação.
- A Mestre Caroline Pigatto pelo auxílio e companheirismo na execução da prática e análises deste trabalho.
- Ao LABIOMAT, pelos materiais e estrutura fornecidos que permitiram a realização das sínteses.
- Ao LAPOL e ao LDSM, pelos equipamentos emprestados para análises.
- A minha esposa Fátima que tanto me incentivou para que concluísse esse e muitos outros trabalhos.
- A minha família que sempre forneceu todas as condições para que estudasse.
- Enfim, a todos que de alguma maneira contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Compostos de fosfato de cálcio avaliados biologicamente [LE GEROS, 1991]..... 13
Tabela 2: Massas de Ca(OH)2 e AgNO3 de acordo com teor de Ag..... 19
Tabela 3: Classificação de amostras de acordo com teor de Ag e temperatura de calcinação.. 22
Tabela 4: Parâmetros de rede para HA, condizem com esperado pela literatura..... 33
Tabela 5: tamanho de cristalitos por fórmula de Scherrer. 33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura cristalina da hidroxiapatita [AOKI, 1991]. 14
Figura 2: Difratogramas adaptados obtidos por Sushma *et al.* para hidroxiapatita com adições de prata 1%, 3% e 5%, nota-se a presença do pico referente a prata metálica em 2theta ≈38°. 15
Figura 3: Representação adaptada de difratogramas de HA-Ag obtidos por Romeshbabu et al., 2005; pico referente à prata metálica (JCPDS 4-783) em 2ɵ≈38°. 16
Figura 4: Representação modificada de espectros das amostras de HA com teores de Ag variando entre 0.5% e 6.0% sem calcinação obtidos por Romeshbabu *et al*. 16
Figura 5: Sistema de agitação, aquecimento e controle de temperatura para síntese de hidroxiapatita com prata..... 20
Figura 6: Sistema de filtração/secagem da hidroxiapatita com prata. 21
Figura 7: Microscopias eletrônicas de varredura das seis amostras calcinadas a 800 °C; evidência de aglomerados de partículas nanométricas. 24
Figura 8: Microscopias eletrônicas de varredura das seis amostras calcinadas a 1000 °C; evidência de aglomerados de partículas nanométricas. 25
Figura 9: MEV da amostra 0.5% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata. 26
Figura 10: MEV da amostra 2.0% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata. 27
Figura 11: MEV da amostra 4.0% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata. 28
Figura 12: MEV da amostra 0.5% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata..... 29
Figura 13: MEV da amostra 2.0% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata..... 30
Figura 14: MEV da amostra 4.0% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata..... 31
Figura 15: DRX das seis amostras de HA com adição de prata, variando-se temperatura de calcinação e teor de prata adicionado. 32
Figura 16: FT-IR amostras calcinadas a 800 °C; todas bandas características de HA sintetizada por precipitação em meio aquoso. 34
Figura 17: FT-IR amostras calcinadas a 1000 °C; todas bandas características de HA sintetizada por precipitação em meio aquoso. 35

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO 8
2. OBJETIVOS 10
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 10
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA 11
3.1. Biomateriais 11
3.1.1. Definição 11
3.1.2. Classificação dos Biomateriais 11
3.2. Hidroxiapatita 13
3.3. Hidroxiapatita com prata como agente bactericida 14
3.4. Técnica de obtenção de hidroxiapatita dopada com prata via úmida 17
4. MATERIAIS E MÉTODOS 18
4.1. Materiais utilizados 18
4.2. Matérias-primas utilizadas 19
4.3. Etapas do procedimento de obtenção da hidroxiapatita com prata 19
4.3.1. Pesagem do $Ca(OH)_2$ e $AgNO_3$ 19
4.3.2. Medição de H_2O e mistura com $Ca(OH)_2$ 19
4.3.3. Medição de H_2O e mistura com $AgNO_3$ 20
4.3.4. Solução de H_3PO_4 e controle da temperatura e agitação 20
4.3.4. Lavagem e Secagem 21
4.3.5. Calcinação 22
4.3.6. Desaglomeração 22
4.4 Caracterização por DRX 22
4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS 23
4.6 Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR) 23
5. Resultados e Discussões 24
5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS 24
5.2. Difração de Raios-X (DRX) 32
5.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) 34
6. CONCLUSÕES 36

1. INTRODUÇÃO

A preocupação com aumento da expectativa e qualidade de vida tem sido o principal combustível para pesquisa e desenvolvimento de biomateriais, sejam eles metálicos, poliméricos, cerâmicos ou compósitos. Desde os primeiros estudos de materiais cerâmicos para uso como biomateriais, em 1930 por Albbe [AOKI, 1991], foram feitos diversos estudos com fosfatos de cálcio, iniciando com a aplicação odontológica de β-fosfato tricálcico no tratamento de doenças periodontais em 1974 [LEVIITT, 1969], [MONROE, 1971] e mais recentemente a análise de biocompatibilidade de cimento de fosfato de cálcio implantado em rádio de coelhos de 2004 [MORAES *et al,* 2004] e a síntese da hidroxiapatita e refinamento estrutural por difração de raios-x em 2007 [ARAÚJO *et al,* 2007].

A hidroxiapatita, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$, maior constituinte de ossos e dentes humanos (entre 30% e 70%) e representa 95% da composição mineral dos ossos, tem sido sintetizada por diversas técnicas, dentre elas por via úmida, objeto deste estudo, tendo suas aplicações e variações estudadas com a finalidade de explorar e melhorar suas propriedades biocompatíveis e osteointegradoras quando em contato com tecidos humanos. Dentre as principais características desejadas estão o fato de sua grande similaridade com a fase cristalina dos tecidos ósseos [DE JONG, 1926], [POSNER, 1969], induzir o crescimento de tecido ósseo na região onde se encontra (osteocondução) e a indução da regeneração tecidual devido a sua superfície permitir interações tipo dipolo, fazendo que moléculas de água, proteínas e colágeno sejam adsorvidas na superfície, gerando forte ligação entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo *in vivo* [VARMA *et al*, 1999].

A utilização de prata como agente bactericida nos remete a antiguidade onde gregos e romanos já faziam uso de suas propriedades antibacterianas. Em 1893, a efetividade de vários metais como agente antibacteriano foi nomeado de efeito oligodinâmico (do grego *oligos*, pouco). Durante a primeira guerra mundial já eram utilizados curativos contendo prata, para evitar o desenvolvimento de bactérias em feridas de soldados. Mais tarde, descobriu-se que de todos os metais com propriedade antimicrobianas, a prata tem a ação mais eficaz e a menor toxicidade para células animais [Guggenbichler *et al*., 1999]. Com a descoberta de antibióticos, o uso de prata como agente bactericida decresceu. Entretanto com a descoberta de antibióticos descobriu-se o surgimento de bactérias resistentes a antibióticos e a partir disto renovou-se o interesse no uso da prata como agente antibacteriano. A disponibilidade de novas tecnologias laboratoriais permitiu investigar o mecanismo antibacteriano da prata nos últimos anos [FOX and MODAK, 1974; FENG *et al*., 2000]. Nos dias de hoje a utilização da prata por suas propriedades antibacterianas é vista em diversos produtos que vão desde desodorantes contendo íons de prata até embalagens de alimentos.

O método de ação antibacteriana da prata ainda não é totalmente entendido, mas existem diversos apontamentos na literatura dentre eles a atração entre células de bactérias carregadas negativamente e partículas carregadas positivamente [KHAYDAROV, *et al*., 2008], [HAMOUDA e BAKER, 2000]. Outros apontam a interação da prata com macromoléculas biológicas como enzimas, DNA através de mecanismo de liberação de elétrons [SHARMA, 2009]. Acredita-se que o DNA perde sua capacidade de replicação e proteínas celulares são inativadas pelo tratamento com íons Ag^+ [FENG *et al*., 2000] e também que os íons Ag^+ se ligam a grupos funcionais das proteínas, resultando na desnaturação desta [RASTOGI *et al*., 2011].

A fim de obterem-se materiais com elevada biocompatibilidade e propriedades antibacterianas ótimas, tem-se associado prata a materiais biocompatíveis como a hidroxiapatita [CIOBANU, et al., 2011].

No presente trabalho buscou-se sintetizar, caracterizar e avaliar as variações ocorridas pela calcinação da hidroxiapatita dopada com prata obtida por via úmida, bem como analisar a ação antibacteriana da prata. Os testes de difração de raios-x, espectroscopia de infravermelho e análise em microscopia ótica de varredura com espectroscopia de energia dispersiva foram utilizados para caracterização das amostras.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho visa obter e caracterizar hidroxiapatita sintética nanométrica com adição de prata, utilizada como biomaterial para substituição óssea e potencial agente bactericida.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Sintetizar a hidroxiapatita com prata utilizando-se de técnica de precipitação via úmida, analisando-se o comportamento químico (constitucional) e morfológico em relação à variação da temperatura de calcinação e teor de prata adicionado.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Biomateriais

3.1.1. Definição

Ao longo do tempo os biomateriais foram definidos diversas vezes de acordo com a variação de interpretações sobre o tema e também fruto de surgimento de novos materiais que tornavam necessária atualização desta, até que em 1982 na Conferência de Consenso em Biomateriais para Aplicações Clínicas fez-se um apanhado geral definindo biomaterial como: "Toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregado como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais".

O objetivo principal de um biomaterial é substituir órgãos ou tecidos e as características mais importantes deste são biocompatibilidade, ausência de efeitos nocivos ou tóxicos ao organismo e propriedades biomecânicas capazes de responderem às solicitações dinâmicas e estáticas a que estará sujeito durante sua vida útil [AFONSO, 1998].

3.1.2. Classificação dos Biomateriais

Os biomateriais podem ser classificados quanto a sua composição química e quanto ao seu comportamento biológico, sendo o primeiro baseado nas propriedades intrínsecas e o segundo quanto à resposta orgânica gerada após sua utilização como biomaterial.

3.1.2.1. Quanto à composição Química

a) Metais e suas ligas

Utilizados principalmente por suas propriedades mecânicas, os principais representantes são ligas de aço inoxidável, titânio comercialmente puro e a liga de titânio-alumínio-vanádio (Ti6Al4V) e as ligas de cromo-cobalto. Os principais problemas relacionados ao uso de metais como biomateriais estão relacionados à liberação de íons que podem provocar metaloses, reações inflamatórias e encapsulação fibrótica [RAVAGLIOLI *et al*, 1992], [TAVARES, 1993], [JOHN, et al, 1993], [KENNEY, et al, 1988].

b) Materiais cerâmicos

A principal razão da utilização de cerâmicos como biomateriais reside em sua elevada estabilidade e serem praticamente não reativos. Em termos físico químicos, de modo geral, pode-se dizer que estes são frágeis, duros, resistentes ao desgaste, altamente resistentes a ataques ácidos, estáveis a altas temperaturas e isolantes térmicos e elétricos [AFONSO, 1998]. Os principais representantes desta classe são fosfatos tricálcicos, óxidos de alumina e zircônia e biovidros.

c) Materiais poliméricos

Caracterizados por cadeias extensas de unidades monoméricas repetidas, unidas por ligações covalentes, com peso molecular elevado, possuem propriedades desejadas para implantes como a possibilidade de degradação no caso de fins absorvíveis e mecânicas como, por exemplo, em uso como espaçador vertebral em PEEK, onde é exposto a esforços compressivos elevados. Os monômeros geralmente são constituídos de ligações químicas C-C, contendo por vezes átomos de N, O, S, Si e etc. Os principais fatores que afetam o comportamento físico-químico dos polímeros giram em torno de sua composição química, estrutura, extensão de cadeia, distribuição de peso molecular entre outras [HIGASHI, *et a*l, 1986].

d) Materiais compósitos

Com finalidade de aumentar propriedades mecânicas e físico-químicas, podem-se combinar os materiais acima citados, obtendo-se materiais compósitos. Normalmente são sintetizados para fins específicos com a finalidade de obtenção de propriedades que não obtêm-se com os materiais utilizados separadamente. Como exemplo natural de compósito tem-se o tecido ósseo, que é constituído de fibras de colágeno e diferentes minerais, que acarretam em propriedades biomecânicas excelentes.

3.1.2.2. Quanto ao comportamento biológico

a) Biotoleráveis

Materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por formação de camada envoltória de tecido fibroso. Esta é induzida pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. A espessura da camada é inversamente proporcional a tolerabilidade dos tecidos ao material, ou seja, quanto maior a camada, menor a tolerabilidade [ISHIDA, 2004].

b) Bioinertes

Materiais também tolerados pelo organismo, mas a formação de envoltório fibroso é mínimo, praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, o faz em quantidades mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima. A resposta fagocitária será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos, esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônia, titânio, ligas de titânio e carbono [ISHIDA, 2004].

c) Bioativos

Materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo (osteointegração), em função da similaridade química entre estes materiais e a parte mineral óssea. Os tecidos ósseos se ligam a estes materiais, permitindo a osteocondução através do recobrimento por células ósseas. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitro-cerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio [ISHIDA, 2004].

d) Reabsorvíveis

Materiais que após certo período de tempo em contato com os tecidos acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de ser desnecessária nova intervenção cirúrgica para a retirada do material de implante. Os principais exemplos destes materiais são o fosfato tricálcico (TCP) e o ácido poliláctico [ISHIDA, 2004].

3.2. Hidroxiapatita

A hidroxiapatita é um biomaterial do grupo dos cerâmicos bioativos, com fórmula química $C_{10}(PO_4)_6(OH)_2$. É parte integrante de um grupo de materiais identificados como apatitas, estes com fórmula característica $M_{10}(XO_4)_6(Z)_2$. As apatitas constituem um grande leque de biomateriais sólidos, que podem apresentar variações na sua composição química através da substituição iônica de todos os alguns elementos M, (XO_4) e Z [DUCHEYNE, 1987].

Os compostos de fosfato de cálcio, na maioria das vezes, se apresentam na forma cristalina da apatita e são os principais componentes minerais dos ossos [LE GEROS *et al*, 1990], [TEIXEIRA, 1992]. Eles são substâncias quimicamente similares as que ocorrem nos processos biológicos, sendo sua utilização como biomateriais definida de acordo com sua resposta biológica (Tabela 1).

Tabela 1: Compostos de fosfato de cálcio avaliados biologicamente [LE GEROS, 1991].

Composto	Sigla	Fórmula Química	Ca/P	Resposta Biológica
Metafosfato de cálcio	CMP	$Ca(PO_3)_2$	0,5	Forte atividade macrofágica
Pirofosfato de cálcio	CPP	$Ca_2P_2O_7$	1,0	Forte atividade macrofágica
Fosfato dicálcico anidro	DCP	$CaHPO_4$	1,0	Fraca atividade macrofágica
Fosfato dicálcico dihidratado	DCPD	$CaHPO_4\ 2H_2O$	1,0	Fraca atividade macrofágica
Fosfato tricálcico	TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1,5	Reabsorvível
Fosfato tetracálcico	TeCP	$Ca_4(PO_4)_2$	2,0	Sem relevância clínica
Fosfato octacálcico	OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6\ 5H_2O$	1,33	Reabsorvível
Oxiapatita	OHA	$Ca_{10}(PO_4)_6$	1,67	Reabsorvível
Hidroxiapatita	HA	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1,67	Ativo biologicamente

A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio hidratado com razão Ca/P de 1,67, sendo o principal componente mineral dos ossos e dentes humanos [AOKI, 1991], [LE GEROS, 1991], [VALLET-REGÍ, 1997], [LE GEROS *et al*, 1990], [SECKLER *et al*], cerca de 95%, o que corresponde a uma composição total entre 30% e 70% destes.

Devido a sua grande similaridade com a fase cristalina dos tecidos ósseos [DE JONG, 1926, [POSNER, 1969], a hidroxiapatita induz o crescimento de tecido ósseo na região em que se encontra, esta instigação ao crescimento é denominada osteocondução. A regeneração do tecido também é induzida pela hidroxiapatita, pois sua superfície permite interações do tipo dipolo, fazendo com que as moléculas de água, proteínas e colágeno sejam absorvidas na superfície, ocorrendo, a partir disto, forte ligação entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo na sua superfície sob condições *in vivo* [VARMA *et al*, 1999]. As hidroxiapatitas encontradas biologicamente não são estequiométricas, ou seja, são deficientes em cálcio e apatitas deficientes de cálcio sintéticas não são encontradas em sistemas biológicos.

Quanto à estrutura cristalina, a 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 unitária cristalina de a=9,423 e c=6,875 Å. Estes valores são válidos para hidroxiapatita mineral ou pura preparada por reação em estado sólido ou precipitação e sinterização a 1100°C. A Figura 1, ilustra a estrutura cristalina da hidroxiapatita.

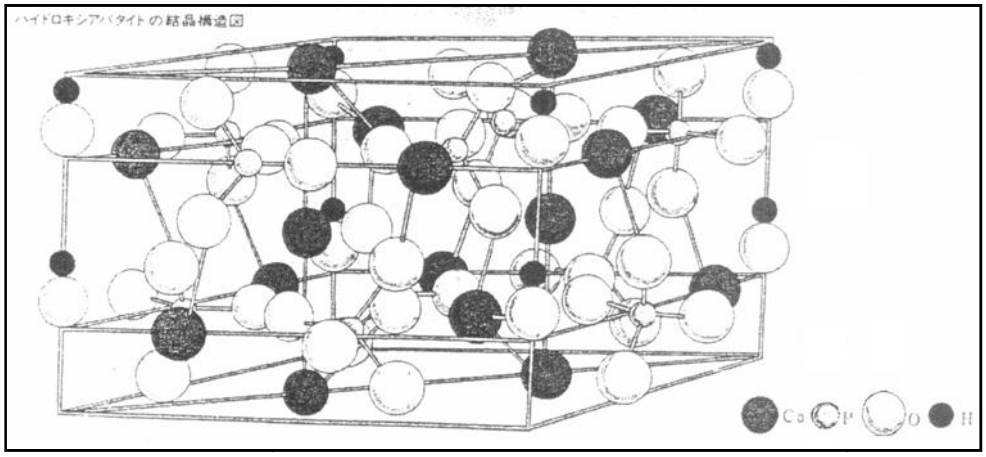

Figura 1: Estrutura cristalina da hidroxiapatita [AOKI, 1991].

Em termos de solubilidade, a hidroxiapatita apresenta-se solúvel em soluções ácidas e insolúvel em soluções alcalinas sendo fracamente solúvel em água destilada. A presença de aminoácidos, proteínas, enzimas e outros compostos orgânicos, altera a solubilidade da hidroxiapatita, mas os principais fatores a se considerar para taxa de solubilidade são forma, porosidade, tamanho de cristal, cristalinidade, defeitos e etc., sendo assim, possível obter-se hidroxiapatita desde praticamente absorvível até não absorvível em meios fisiológicos, variando-se o método de preparo [AOKI, 1991].

3.3. Hidroxiapatita com prata como agente bactericida

Recentemente diversos estudos, variando-se a técnica de síntese, teor de substituição de cálcio por prata e temperaturas de calcinação, têm sido feitos para quantificar, qualificar e descrever os efeitos causados pela dopagem de HA com prata quando utilizada para fins de substituição óssea e efeitos bactericidas.

Dentre os principais estudos, cita-se o de atividade antimicrobial e de hemocompatibilidade de nanopartículas de hidroxiapatita dopada com prata sintetizada por método sol-gel [Sushma *et al.*, 2012]. Tal estudo analisou amostras de HA com substituição de cálcio por prata em teores 1%, 3% e 5%, sintetizadas por método sol-gel modificado em temperatura de 100 °C e testes de atividade antimicrobial em bactérias *E.Coli* (MTCC 2345) e *S. aureus* (MTCC737).

Todas as amostras sintetizadas e analisadas por Sushma *et al.,* apresentaram formato de barra com comprimento médio entre 110 e 180 nm e diâmetro de 20-25 nm. Tais amostras também apresentaram atividade antimicrobial e a maior atividade deu-se para a amostra com 3% de prata em termos de zona de inibição e percentagem de redução de número de colônias. A análise quanto à hemocompatibilidade apresentou como resultados a taxa de hemólise inferior a 2% para os teores de 1% e 3% de Ag, indicando alta hemocompatibilidade e podendo ser um biomaterial promissor para engenharia de tecidos em ortopedia.

Reproduziu-se os difratogramas obtidos por Sushma *et al.* na Figura 2:

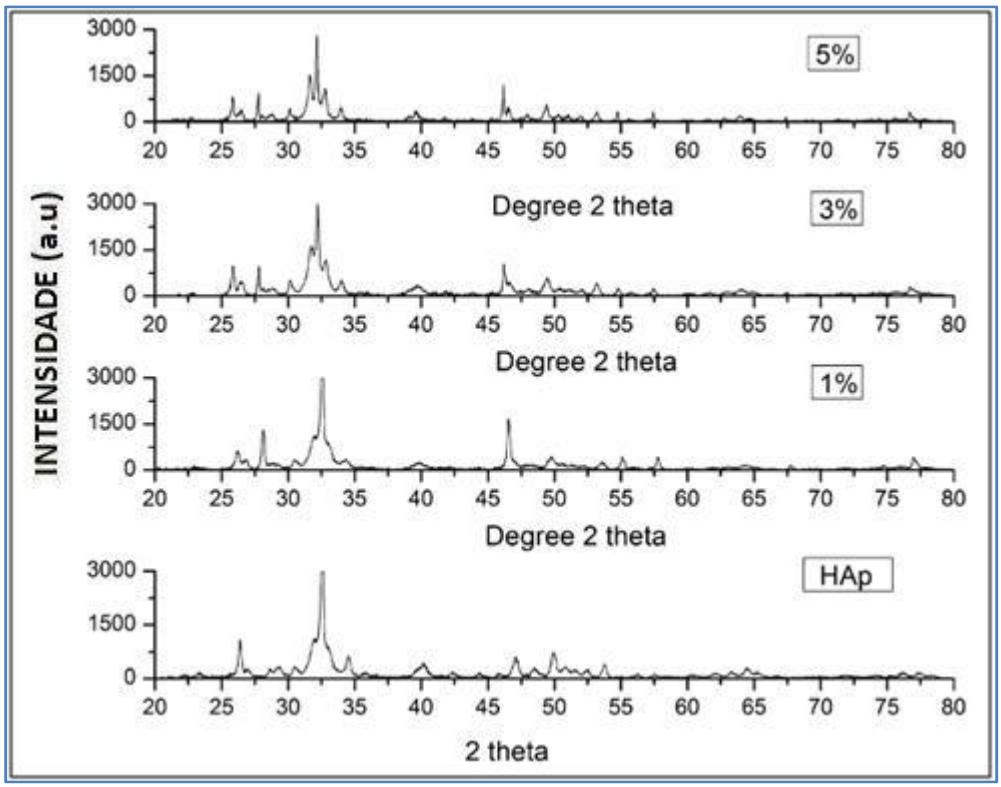

Figura 2: Difratogramas adaptados obtidos por Sushma *et al.* para hidroxiapatita com adições de prata 1%, 3% e 5%, nota-se a presença do pico referente a prata metálica em 2theta ≈38°.

Outro importante estudo foi realizado por Rameshbabu *et al*. em 2005, onde foi sintetizada hidroxiapatita dopada com prata e análise para bactérias *E. Coli* e *S. aureus*. As amostras sintetizadas com teores de prata variando de 0.5% a 6% apresentaram partículas com morfologia de agulhas. Todas as amostras calcinadas a 900 °C apresentaram a formação da fase prata metálica (JCPDS 4-783), conforme pode ser visto na reprodução dos difratogramas na Figura 3:

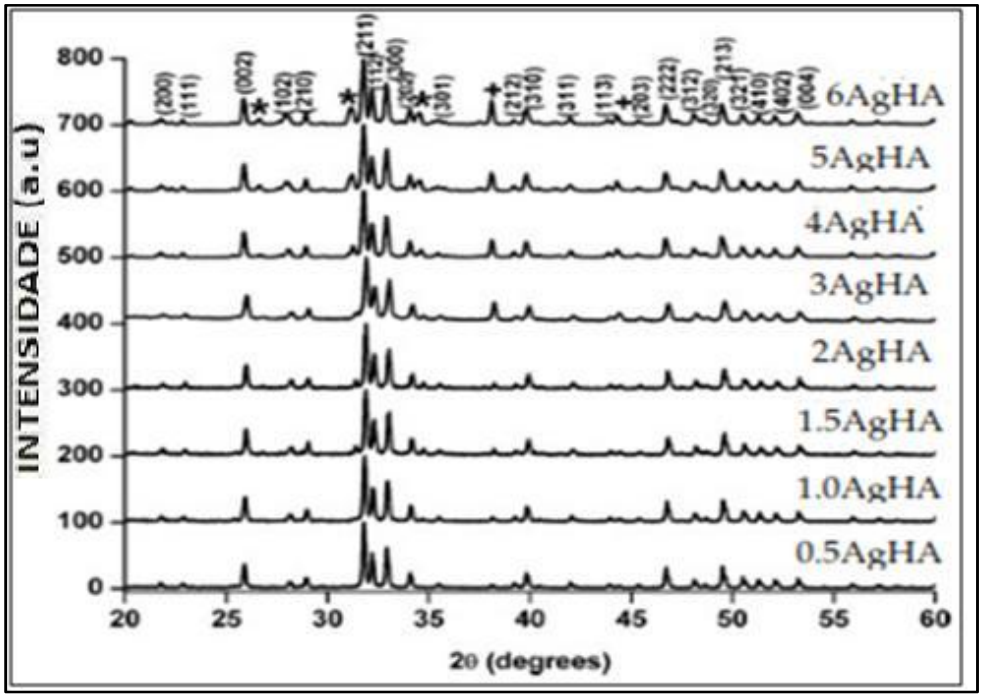

Figura 3: Representação adaptada de difratogramas de HA-Ag obtidos por Romeshbabu et al., 2005; pico referente à prata metálica (JCPDS 4-783) em 2θ≈38°.

Para as amostras com teor de prata entre 0.5% e 3% calcinadas a 900 °C durante 2 horas, Romeshbabu *et al.,* obtiveram cristalitos de tamanhos entre 52 e 56 nm.

Neste mesmo estudo, a análise por FT-IR para as mesmas amostras com teores de prata variando entre 0.5% e 6.0% sem calcinação, obtiveram-se os espectros representados na Figura 4:

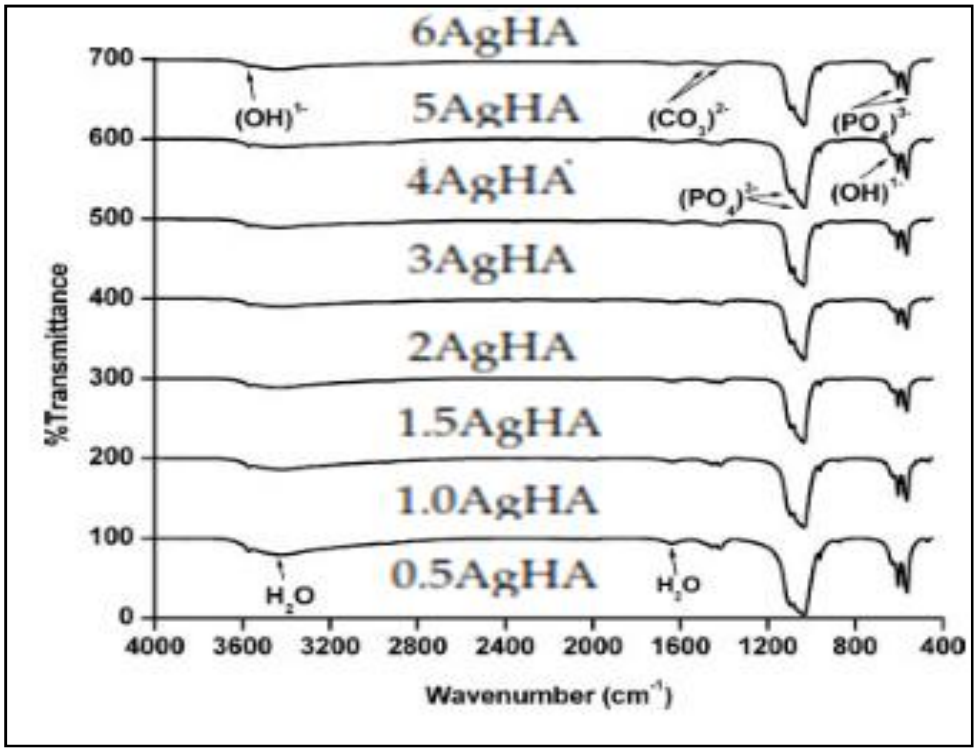

Figura 4: Representação modificada de espectros das amostras de HA com teores de Ag variando entre 0.5% e 6.0% sem calcinação obtidos por Romeshbabu *et al*.

Os resultados de testes das amostras sintetizadas por Rameshbabu *et al.* contendo teores de prata entre 0.5% e 1.5%, apresentaram eficácia como agente bactericida para *E. Coli e S. aureus,* sem comprometer a bioatividade e osteointegração.

3.4. Técnica de obtenção de hidroxiapatita dopada com prata via úmida

Os principais métodos de obtenção de hidroxiapatita sintética são método via úmida, hidrotermal, dos alcóxidos e por fluxo. O método via úmida constitui-se o mais popular e mais utilizado industrialmente por ser de relativa facilidade, baixo custo e os resultados obtidos são bastante satisfatórios, sendo este o método de escolha para obtenção da hidroxiapatita analisada neste trabalho.

No método via úmida, temos um primeiro estágio de reação, os íons cálcio e fosfato em solução alcalina, precipitam na forma de hidroxiapatita não estequiométrica ou deficiente em cálcio (fosfato de cálcio amorfo). Fato este, explicado pela regra de Ostwald [SECKLER *et al*], o qual prediz que compostos formar-se-ão em determinadas condições de processo. Segundo esta regra, a primeira fase que se forma será aquela de maior solubilidade. Essa fase se transforma seguidamente por dissolução e recristalização nas fases menos solúveis. A fase finalmente obtida é o composto menos solúveis. A consequência desta regra, é que para valores de pH superiores a 7, a primeira fase a cristalizar é o fosfato de cálcio amorfo, que se converte lentamente em hidroxiapatita. Para pHs entre 5 e 7, pode ocorrer também a formação de precursores como fosfato octacálcico e bicálcico. Sendo assim, para se alcançar hidroxiapatita de elevada pureza é de suma importância que tenhamos processos de envelhecimento longos dentro de um rigoroso controle de pH [ISHIDA, 2004].

Para que uma cerâmica em forma de pó tenha propriedades adequadas para que essa possa ser utilizada como cerâmica biocompatível ela deve apresentar: partículas com composição homogênea, muito fina, e com distribuição granulométrica estreita [TEIXEIRA, 1992].

Uma das principais desvantagens deste método reside no fato de obterem-se pós com partículas aglomeradas, devido à tensão superficial da água. Estes aglomerados ao se consolidarem formam grânulos que apresentam características indesejáveis a um pó cerâmico. O método via úmida permite obter-se pós de hidroxiapatita com pouca ou nenhuma cristalinidade e este processo apresenta-se em duas formas, por reações de neutralização de soluções ácidas e alcalinas (objeto deste estudo) e outra que envolve reações entre sais de fosfato e cálcio.

A partir das reações ácido-base, se obtém partículas menores que 1 micrômetro e cristalinidade similar ao do tecido ósseo, ou seja, baixa. A maior dificuldade é encontrar a proporção exata de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} na solução de preparação. É de suma importância o controle da razão Ca/P, pois essa é decisiva na composição química e nas propriedades da hidroxiapatita resultante [AOKI, 1991]. O subproduto da reação é água [KOLTHOFF *et al*, 1969]. Abaixo a equação da reação deste processo [AOKI, 1991], [LE GEROS, 1991]:

$$10Ca(OH)_2 + 6H_3PO_4 \rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 18H_2O$$

A hidroxiapatita dopada com prata pode ser obtida substituindo-se parte do $Ca(OH)_2$ por $AgNO_3$ obtendo-se como resultado a hidroxiapatita com prata de fórmula $Ca_{10-x}Ag_x(PO_4)_6(OH)_2$, onde "X" é o teor de prata que se encontra na estrutura. Deste modo a razão Ca/P é substituída pela razão atômica [Ca+Ag]/P que se deseja seja 1,67.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais utilizados

a) Becker 600 ml – marca Ilmabor TGi
b) Balança – marca Bell Engineering; modelo UMank 1000 – Classe II
c) Espátula duas pontas – marca desconhecida
d) Proveta graduada 500 ml – marca SATELIT HS375 – TC20°C
e) Balão volumétrico de fundo redondo 1000 ml – marca MERCOLAB
f) Controlador de temperatura digital PID – marca INCON - CNT120
g) Manta térmica com balão de fundo redondo – marca FISATAM
h) Agitador mecânico com velocidade controlada – marca ÉTICA Equipamentos Científicos.
i) Haste de vidro de borossilicato com haletas de teflon – marca desconhecida
j) Bureta graduada 50 ml – marca Plena Lab
k) Funil de separação 300 ml com torneirinha de controle de vazão – marca desconhecida
l) Haste suporte e garra de fixação – marca desconhecida
m) Papel alumínio – marca desconhecida
n) Medidor de pH – marca Merck
o) Motor de indução monofásica 110V – 60Hz – marca Eberle
p) Bomba de indução a vácuo – marca Cragnill
q) Kitassato 1000 ml – marca GOES
r) Funil para filtração e mangueira – marca desconhecida
s) Papel filtro – marca desconhecida
t) Vasilhame de vidro – marca desconhecida
u) Álcool etílico – marca desconhecida
v) Estufa elétrica – marca desconhecida
w) Forno Elétrico – marca Sanchis Ltda.
x) Cadinho e pilão – marca desconhecida
y) Peneira 325 mesh – marca Bertel Indústria Metalúrgica Ltda.
z) Pincel – marca desconhecida
aa) Tubo cônico polimérico – marca desconhecida
bb) MEV de bancada TM 3000 – marca Hitachi High Technologies
cc) Difratômetro de Raios-X – marca Philips
dd) Espectrômetro de Infra-Vermelho – Spectrum 1000 - FTIR Spectrometer –Perkin Elmer

4.2. Matérias-primas utilizadas

ee) $Ca(OH)_2$ – marca VETEC Química Fina

ff) H_3PO_4 – marca VETEC Química Fina

gg) $AgNO_3$ – marca VETEC Química Fina

hh) H_2O destilada e deionizada

4.3. Etapas do procedimento de obtenção da hidroxiapatita com prata

4.3.1. Pesagem do $Ca(OH)_2$ e $AgNO_3$

Primeiramente colocou-se becker sobre a balança e tarou-se, em seguida transferiu-se o $Ca(OH)_2$ para o becker e pesou-se. Utilizando-se outro becker, procedeu-se da mesma maneira para pesagem do $AgNO_3$. Repetiu-se o processo para todos os três procedimentos de síntese de HA-Ag (hidroxiapatita com prata) para os diferentes teores de Ag. Listou-se os dados na Tabela 2.

Tabela 2: Massas de Ca(OH)2 e AgNO3 de acordo com teor de Ag.

X (teor de Ag)	Ca(OH)2 (g)	AgNO3 (g)
0,50%	18,4274	0,0926
2,00%	18,1496	0,3704
4,00%	17,7792	0,7408

4.3.2. Medição de H_2O e mistura com $Ca(OH)_2$

Com auxílio da proveta graduada, mediu-se (500±10 ml) de H_2O destilada e deionizada adicionou-se ao becker contendo $Ca(OH)_2$ e com a espátula agitou-se durante aproximadamente 60 segundos, até ser obtida uma mistura homogênea. O sistema contendo a manta térmica, balão de fundo redondo (contendo três aberturas superiores), haste de vidro, agitador mecânico e controlador de temperatura (Figura 1), foi previamente montado sobre bancada do laboratório e os dois últimos itens ligados a rede elétrica de tensão 220V. Transferiu-se a mistura para o balão na manta térmica lentamente, com pausas para agitação a fim de garantir que não ficassem resíduos de $Ca(OH)_2$ no Becker.

Com o controlador de temperatura programado para limite de aquecimento em (90±1)°C e temperatura inicial da mistura em (23±1)°C iniciou-se o aquecimento e a agitação com haste de vidro controlada pelo agitador mecânico, até atingir-se a temperatura desejada, (90±1)°C, o que levou aproximadamente 45 minutos. Repetiu-se essa etapa nos três procedimentos de síntese de HA-Ag com diferentes teores de Ag.

4.3.3. Medição de H_2O e mistura com $AgNO_3$

Mediu-se 10±1ml de H_2O destilada e deionizada e adicionou-se ao becker contendo e $AgNO_3$ e agitou-se por aproximadamente 60 segundos até obter-se mistura homogênea. Procedeu-se então com a adição desta ao balão na manta térmica que a esta altura já continha o $Ca(OH)_2$. Repetiu-se tal procedimento nos três processos de síntese da HA-Ag com diferentes teores de Ag.

4.3.4. Solução de H_3PO_4 e controle da temperatura e agitação

Utilizando a bureta graduada 50 ml, mediu-se (35±1) ml de H_3PO_4 e colocou-se em balão volumétrico de fundo redondo 1000 ml, então foram adicionados (1000±20) ml de H_2O destilada e deionizada com auxílio de becker 600 ml a fim de obter-se ácido fosfórico com diluição de 85%. A solução foi mantida sob agitação por aproximadamente 20 segundos.

Montou-se um sistema constituído de haste suporte e funil de separação 300 ml preso a haste com garra de fixação, o funil foi colocado com ponta dentro da abertura direita do balão de fundo redondo na manta térmica, enquanto que o sensor de temperatura do controlador foi posicionado dentro da abertura esquerda em contato com a solução. Na abertura superior encontrava-se a haste de vidro que mantinha a agitação, bem como segue na Figura 5.

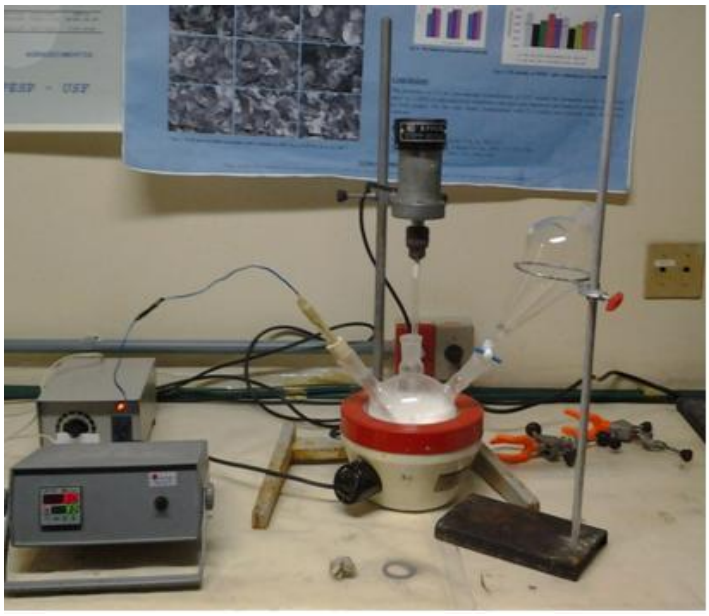

Figura 5: Sistema de agitação, aquecimento e controle de temperatura para síntese de hidroxiapatita com prata

Transferiu-se (300±10) ml do H_3PO_4 diluído ao funil de separação, este com a válvula de controle de vazão aberta a ponto de a vazão do ácido fosfórico estar próxima a (5±1) ml/min. As aberturas foram fechadas com papel alumínio a fim de evitar perda das soluções por evaporação em função da temperatura e da volatilidade relativa de cada uma. A solução permaneceu por 24 horas em agitação e temperatura controlada de (90±1) °C.

Como o processo de síntese de HA-Ag se dá pela substituição do cálcio pela prata, não se alterou as quantidades da solução de H_3PO_4, sendo este procedimento repetido em todos as três sínteses de HA-Ag.

4.3.4. Lavagem e Secagem

Utilizando-se o sistema de filtração/secagem (Figura 6) composto de motor e bomba de indução, funil com mangueira, Kitassato 1000 ml, haste suporte com garra de fixação e papel filtro, transferiu-se em diversas etapas, o material precipitado obtido para o funil procedendo-se com lavagens com água e álcool etílico e filtração/secagem. Durante o processo substituiu-se a cada etapa o papel filtro, colocando-se o material obtido no vasilhame de vidro com auxílio de espátula. Após filtração de todo precipitado, levou-se o material a estufa elétrica para secagem em temperatura de 110±10 °C por aproximadamente 24 horas. Procedeu-se da mesma maneira para as três sínteses.

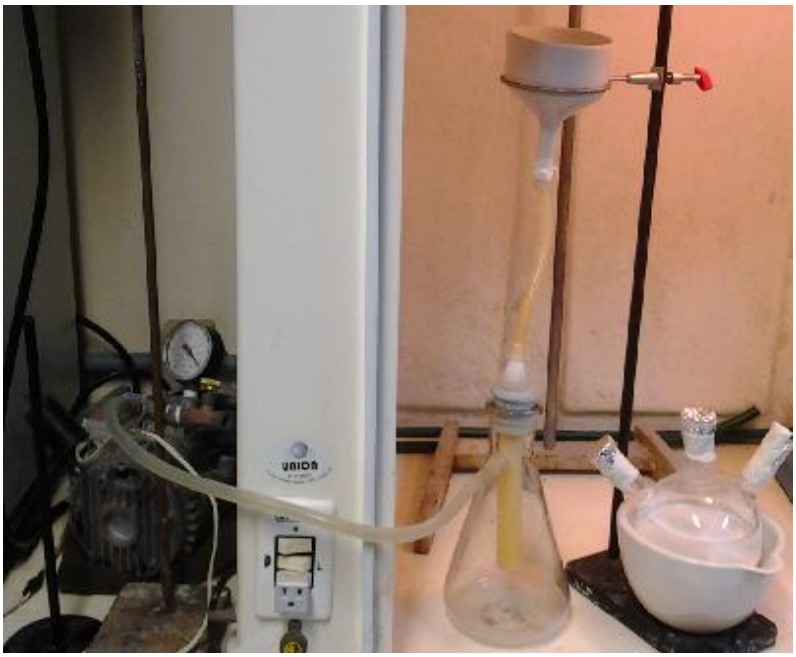

Figura 6: Sistema de filtração/secagem da hidroxiapatita com prata.

4.3.5. Calcinação

Separou-se o material precipitado em seis amostras, acondicionadas em cadinho de mulita-zircônia e levaram-se três delas ao forno elétrico para calcinação em temperatura de 800 °C e outras três amostras à temperatura de 1000 °C em ambos casos com patamar de 60±5 minutos. A taxa de aquecimento foi de 150 °C/hora aproximadamente. Na Tabela 3, classificou-se as seis amostras de acordo com teor de Ag e temperatura de calcinação.

Tabela 3: Classificação de amostras de acordo com teor de Ag e temperatura de calcinação.

Amostra	Teor de Ag (%)	Temperatura de Calcinação (°C)
1	0,5	800
2	2	800
3	4	800
4	0,5	1000
5	2	1000
6	4	1000

4.3.6. Desaglomeração

Utilizando-se cadinho e pilão, efetuou-se desaglomeração da massa seca e fez-se peneiramento em peneira 325 mesh com auxílio de pincel. O material foi coletado em vasilhame metálico e posteriormente transferido para tubos cônicos poliméricos para análises de difração de raios-x (DRX), espectrometria de infravermelho (FT-IR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) a fim de caracterizar as HA-Ag.

4.4 Caracterização por DRX

A determinação das fases cristalográficas e dos tamanhos de cristalitos por difração de raios X (DRX), utilizando-se a fórmula de Scherrer abaixo descrita, empregou um difratômetro de raios X Philips (modelo X'Pert MPD), equipado com monocromador de grafite e ânodo fixo operado a 40 kV e 40 mA. Os dados foram coletados via tubo de raios-x de Cu (radiação $K\alpha$= 1,5418 Å) a um passo de 0,05°, tempo por passo de 2 segundos e em um intervalo de varredura de 20° à 50º, em que aparece a grande maioria dos picos representativos da hidroxiapatita, a fim de determinar as fases presentes nas amostras.

<u>Fórmula de Scherrer:</u>

Tamanho do cristalito = K x λ / FW(S) x COS(*Θ*), onde:

K= constante de Scherrer = parametrizada como sendo 1.0

λ= comprimento de onda raio-x

FW(S)= largura do pico

Θ= ângulo de *Bragg*

4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS

A microscopia eletrônica de varredura permitiu-nos estimar informações sobre tamanho e morfologia e em segundo plano auxiliou na detecção (visual) de fases presentes. O equipamento utilizado foi um MEV de bancada TM 3000 do LdSM (Laboratório de Design e Seleção de Materiais da UFRGS), marca Hitachi. Foi utilizada tensão de 15KV e as fotomicrografias foram tiradas com aumentos de 1200X, 4000X e 8000X estas estão apresentadas na seção de resultados e discussões.

4.6 Espectroscopia de Infravermelho (FT-IR)

Com a espectroscopia de infravermelho, buscou-se a informação sobre a presença de grupos funcionais, como $HPO4^{2-}$, $CO3^{2-}$, $PO4^{3-}$ e etc., maneira de substituição e pureza. Nesta técnica detectam-se as frequências de vibração das ligações químicas no sólido. O teste foi realizado em espectrômetro do LAPOL (Laboratório de Polímeros da UFRGS) marca Spectrum 1000 – FTIR Spectrometer – Perkin Elmer Co.

5. Resultados e Discussões

5.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS

Através da análise das micrografias eletrônicas de varredura observou-se a aglomeração das partículas, provavelmente devido ao seu tamanho diminuto (estima-se que sejam partículas em escala nanométrica <100nm) e consequente enorme área superficial, o que impossibilitou-nos analisar a morfologia das partículas. O tamanho de partícula diminuto é esperado para processos de síntese de pós por precipitação.

Observando-se as micrografias (Figura 7 e Figura 8), evidenciou-se a presença de aglomerados com colorações diferentes, a grande maioria possui coloração acinzentada e uma fração menor apresenta coloração esbranquiçada, tal fato pode referir-se a presença de duas fases precipitadas.

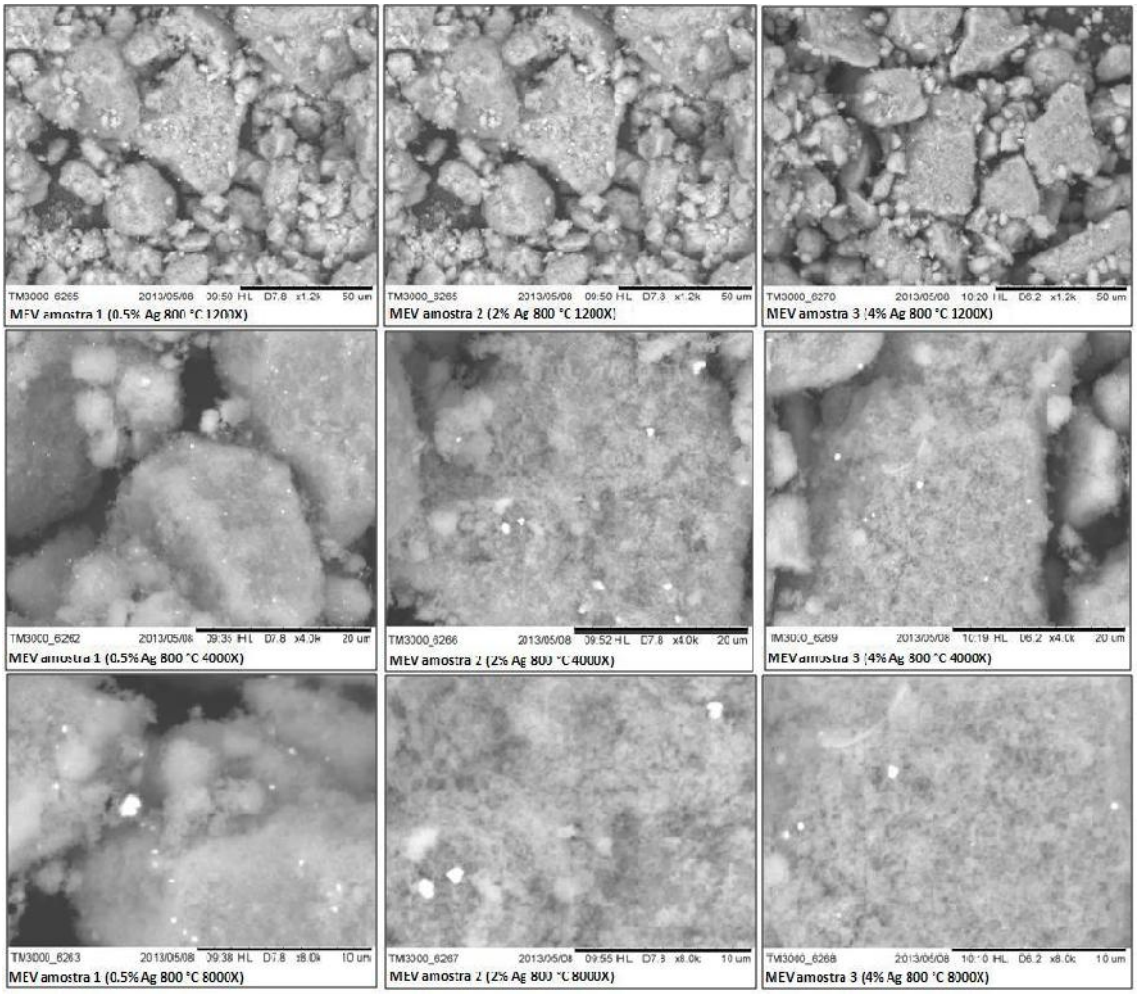

Figura 7: Microscopias eletrônicas de varredura das seis amostras calcinadas a 800 °C; evidência de aglomerados de partículas nanométricas.

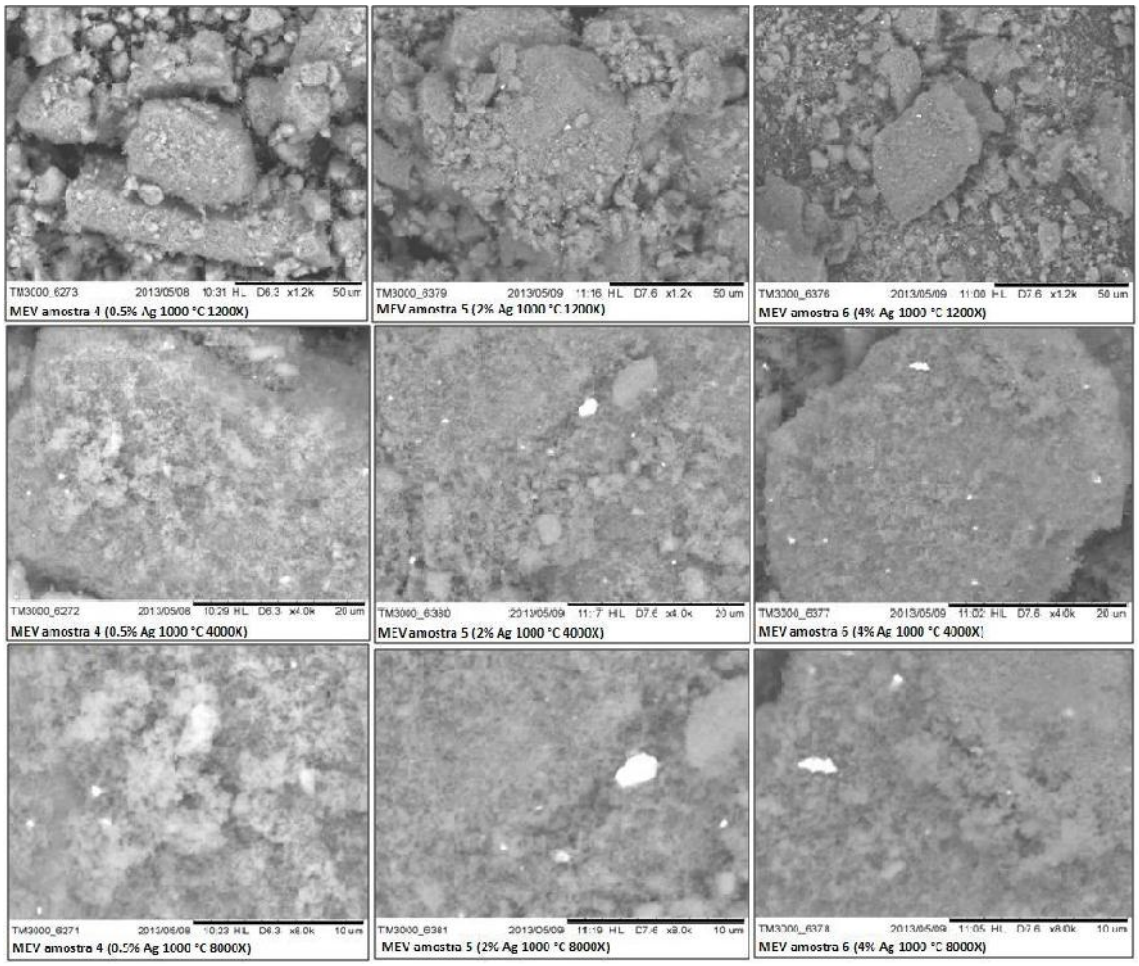

Figura 8: Microscopias eletrônicas de varredura das seis amostras calcinadas a 1000 °C; evidência de aglomerados de partículas nanométricas.

Nas Figuras Figura 9, Figura 10, Figura 11, Figura 12, Figura 13 e Figura 14 confirmou-se a partir de análise com EDS a presença de prata nas regiões mais esbranquiçadas.

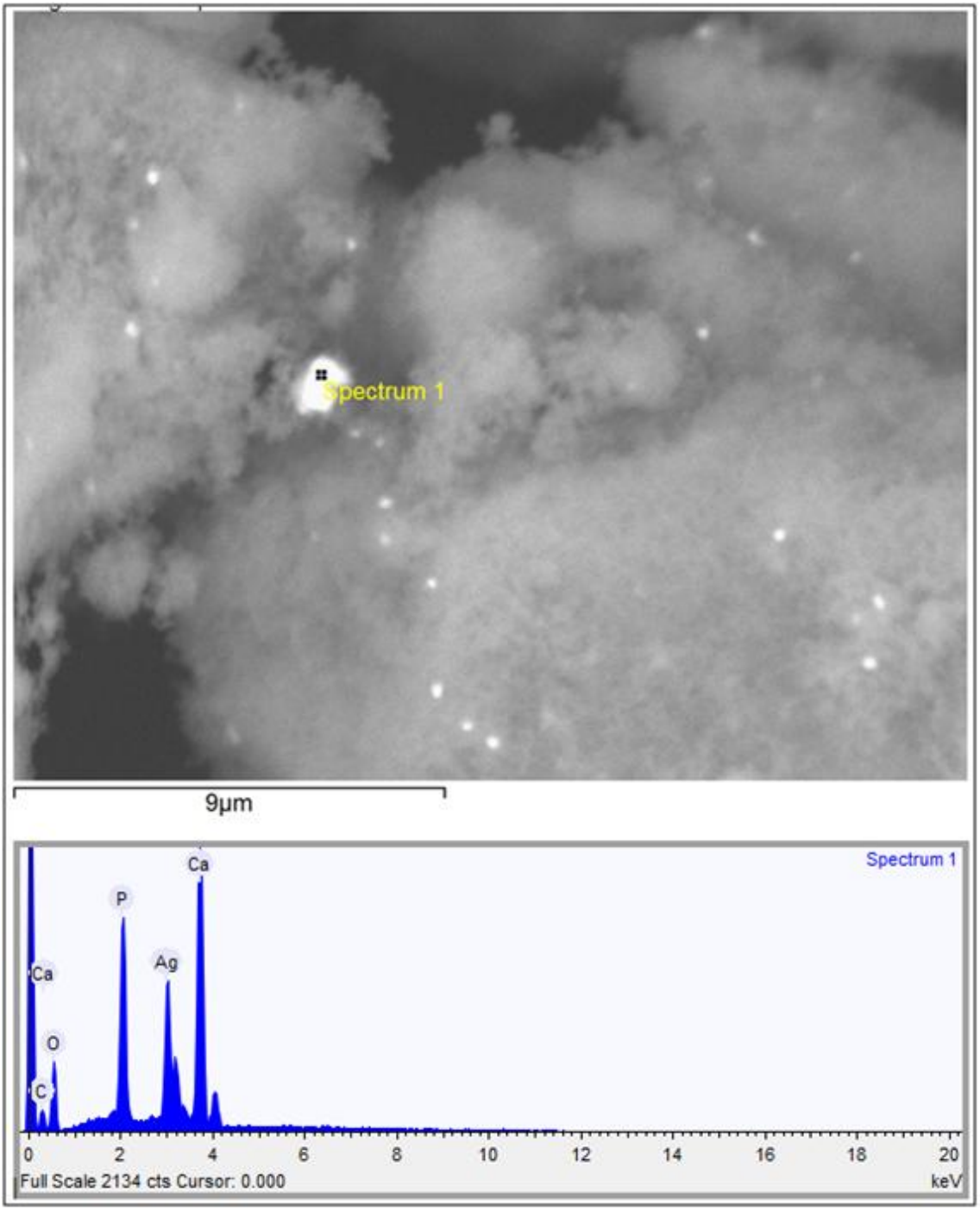

Figura 9: MEV da amostra 0.5% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

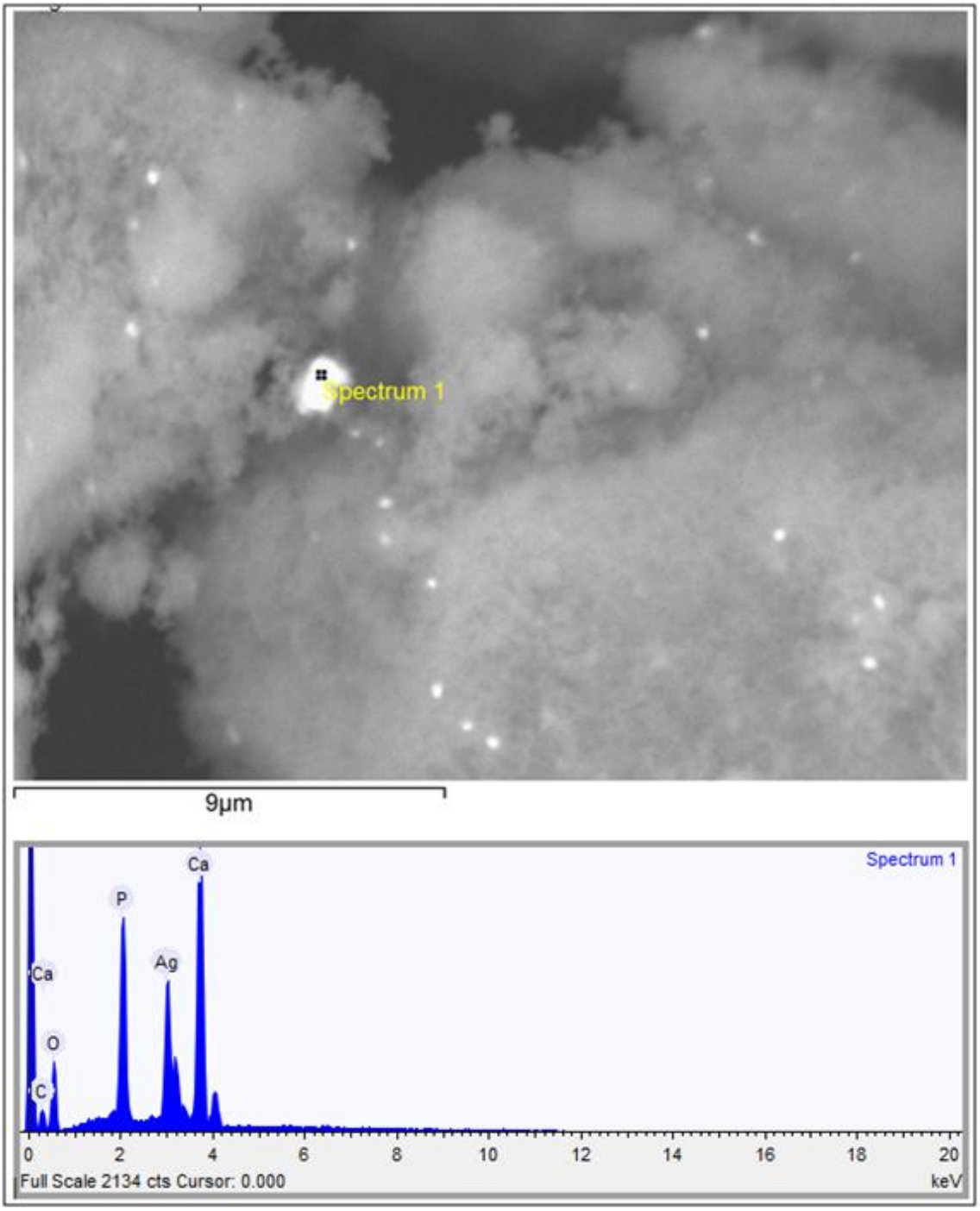

Figura 10: MEV da amostra 2.0% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

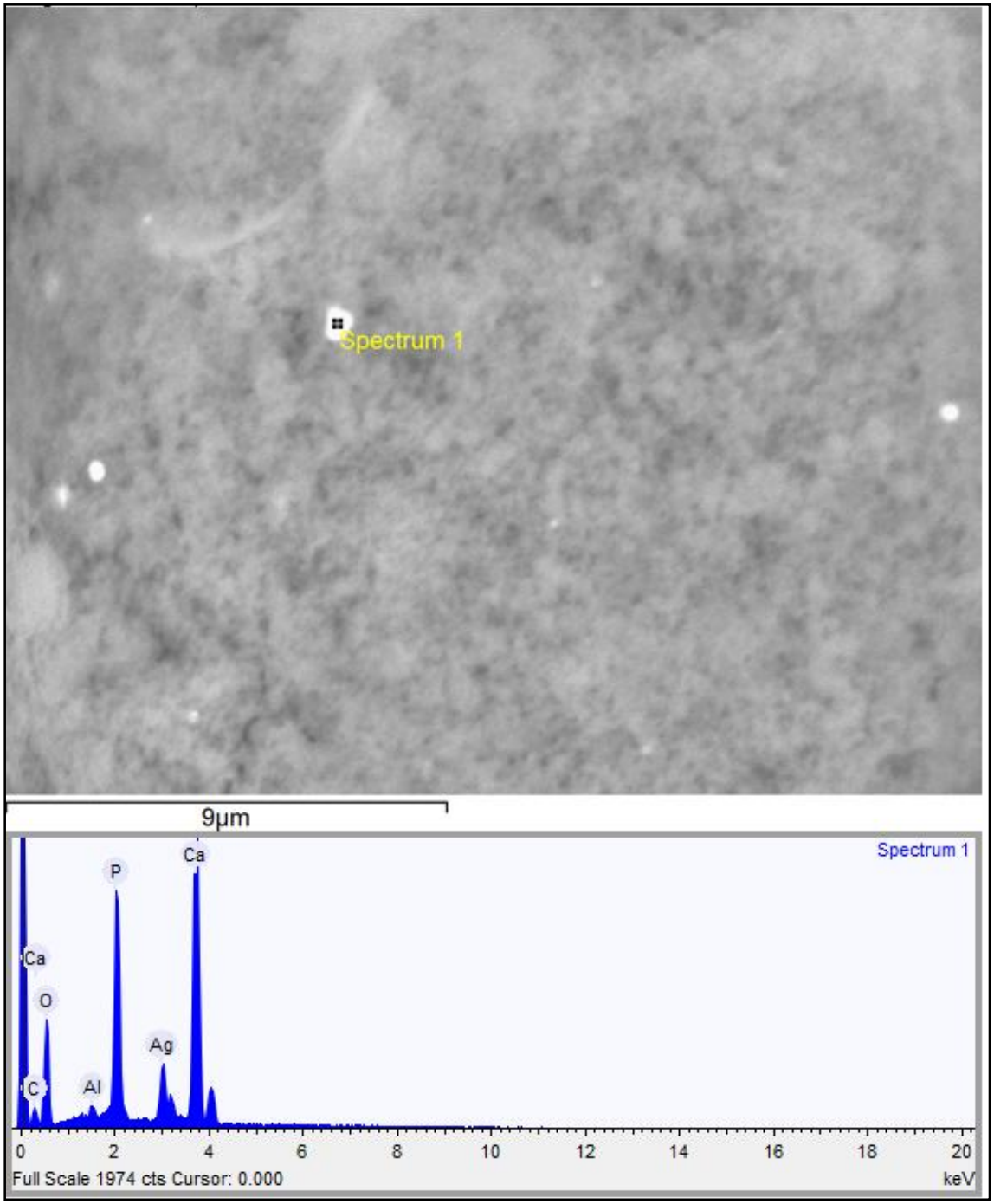

Figura 11: MEV da amostra 4.0% Ag calcinada a 800 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

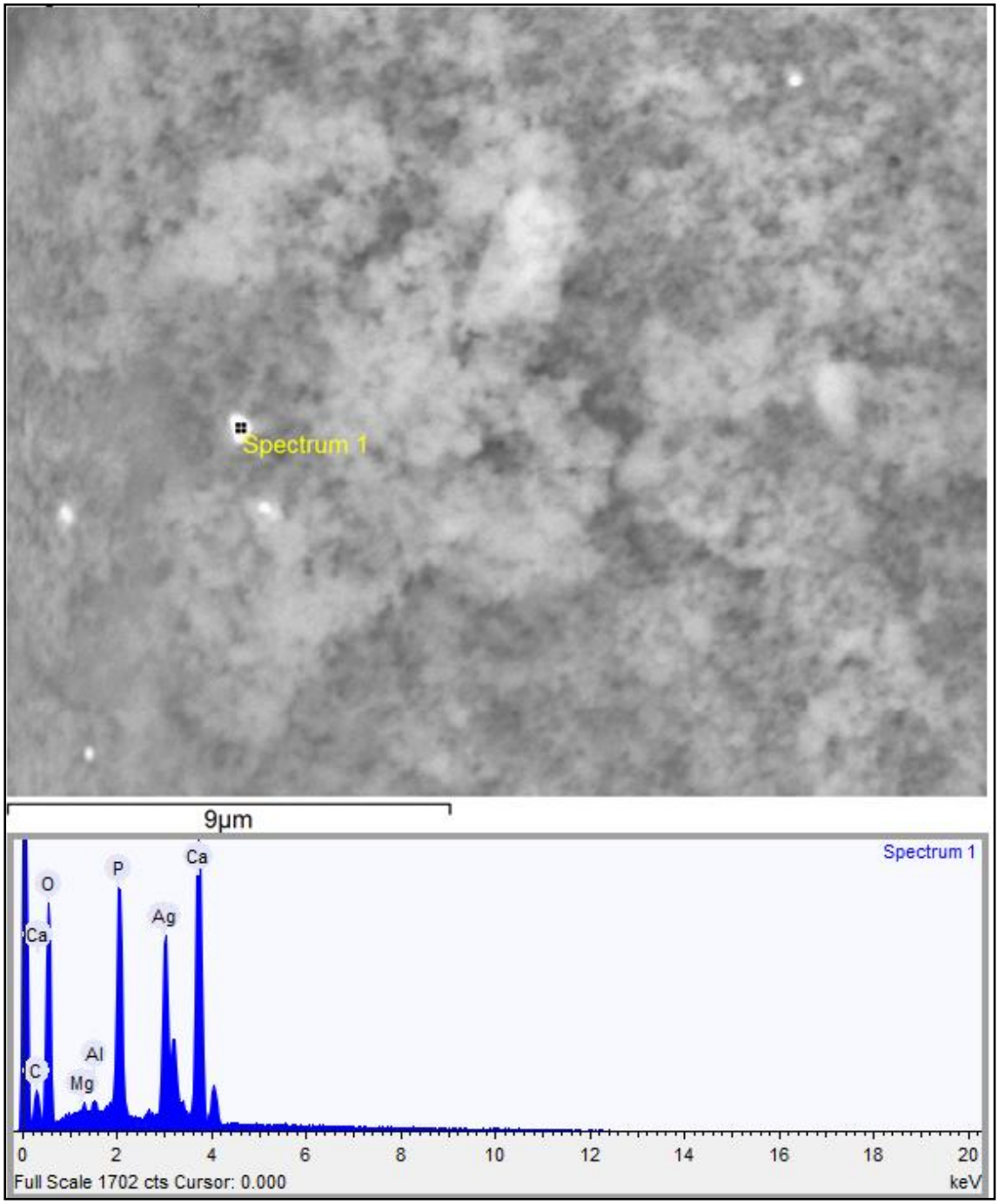

Figura 12: MEV da amostra 0.5% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

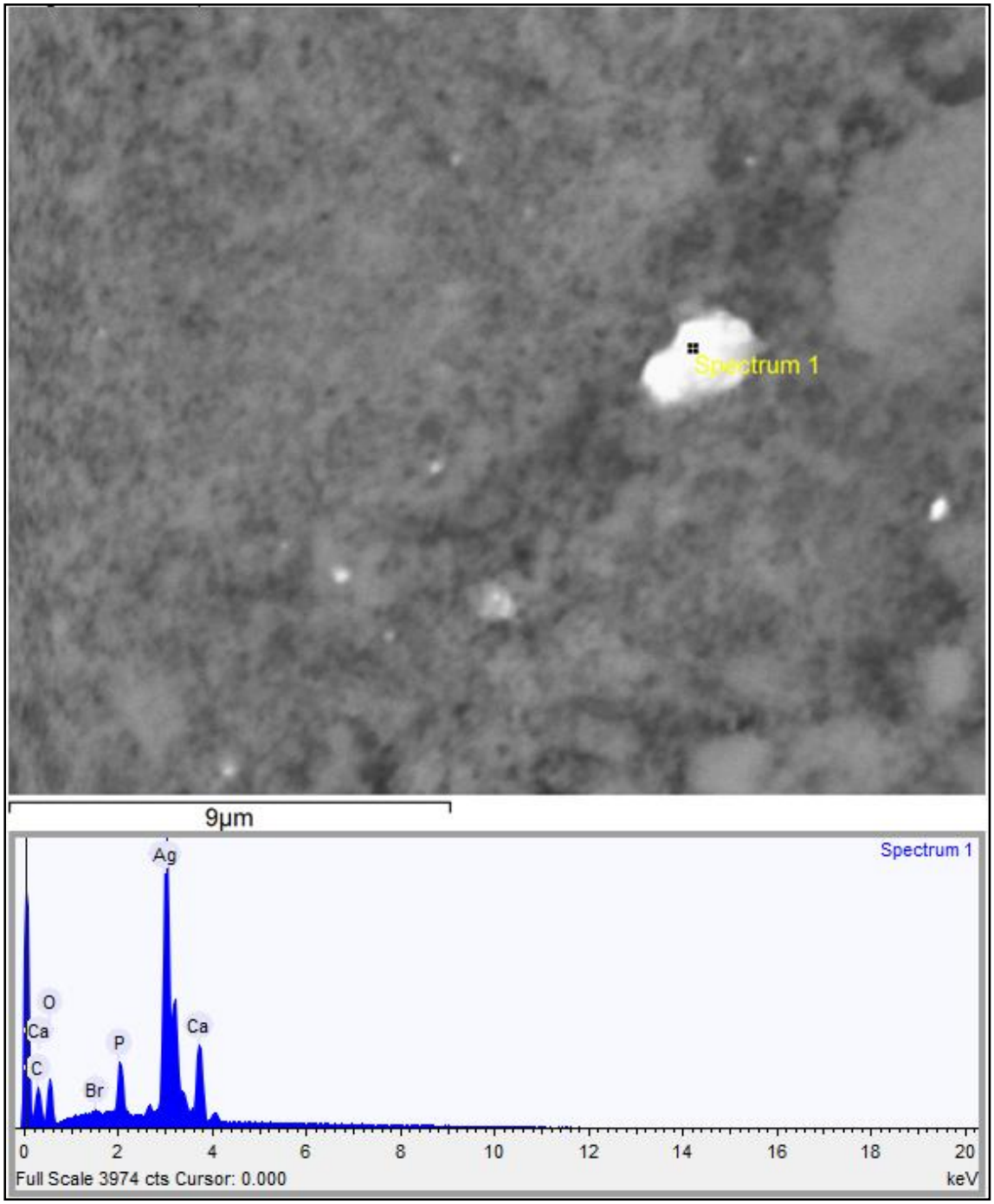

Figura 13: MEV da amostra 2.0% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

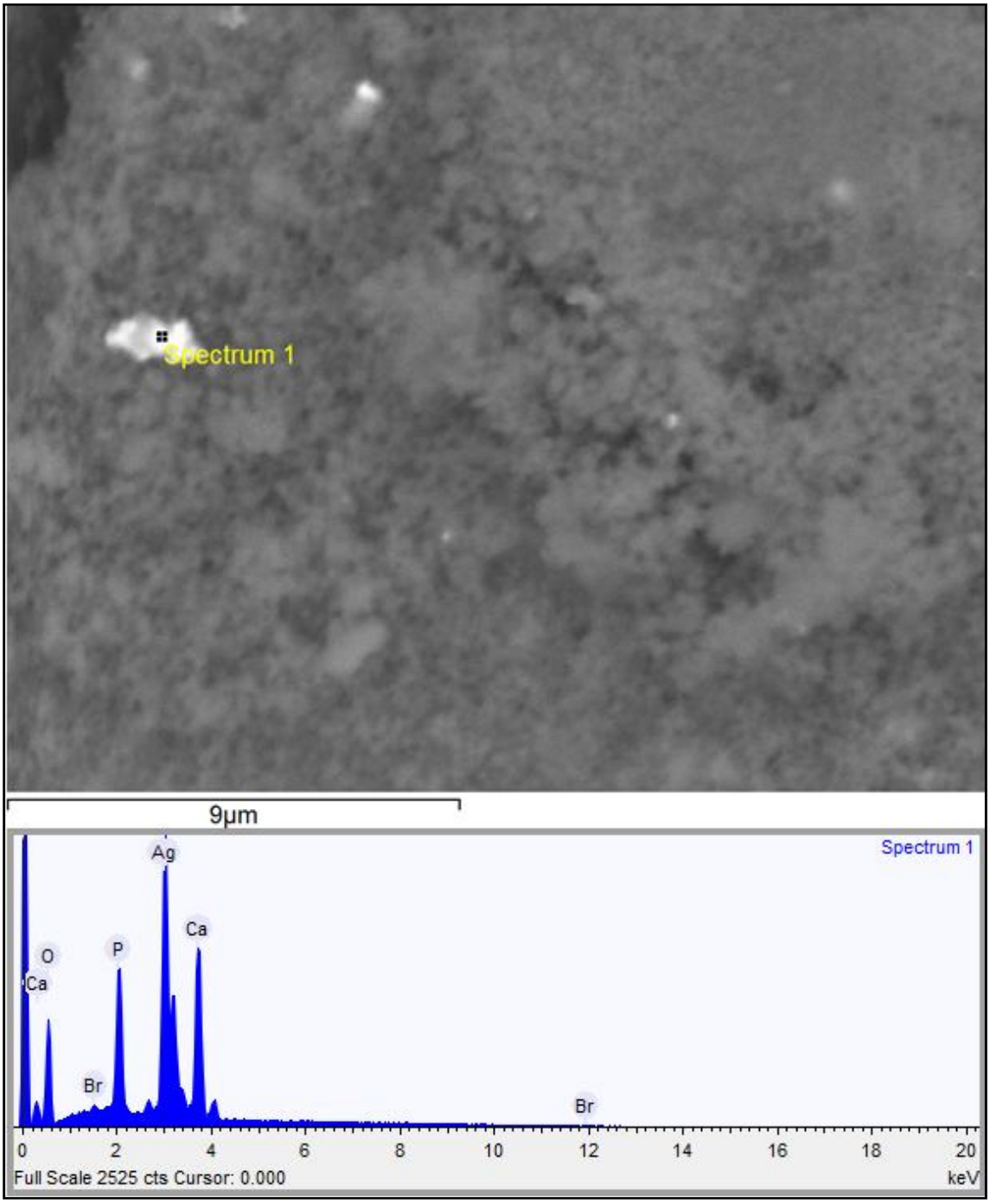

Figura 14: MEV da amostra 4.0% Ag calcinada a 1000 °C e aumento de 8000X com EDS no ponto Spectrum 1, evidencia-se a presença de prata.

5.2. Difração de Raios-X (DRX)

A difratometria de raios-x, teve como principais objetivos a detecção de fases cristalográficas presentes nas amostras de HA-Ag e também auxiliar da determinação do tamanho médio dos cristalitos através do método de Scherrer, e parâmetros de rede.

Na Figura 15, ilustrou-se os difratogramas das seis amostras, três calcinadas a 800 °C e outras três calcinadas a 1000 °C, variando-se o teor de Ag adicionado em 0.5%, 2% e 4%:

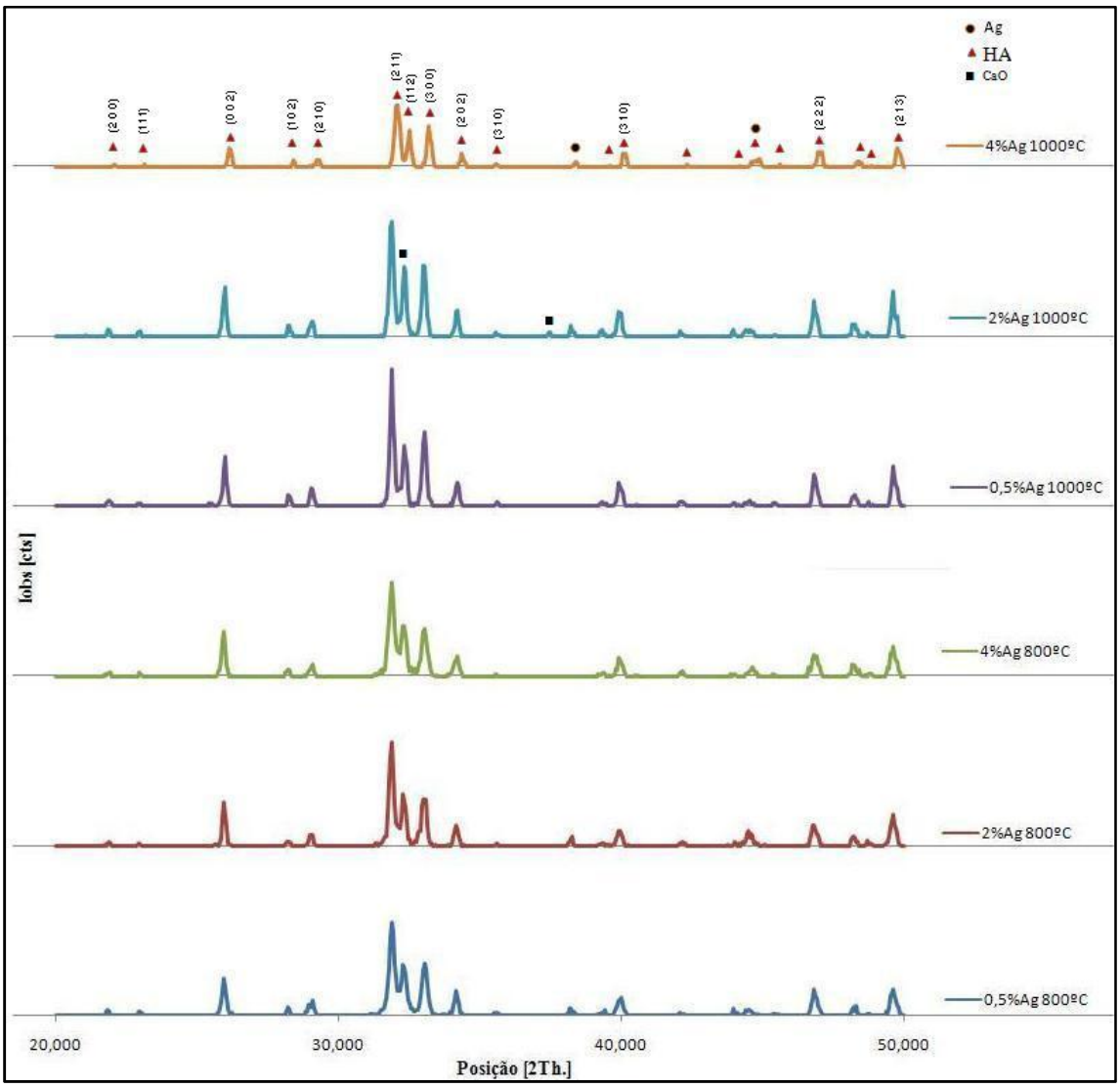

Figura 15: DRX das seis amostras de HA com adição de prata, variando-se temperatura de calcinação e teor de prata adicionado.

Em todas as amostras evidenciou-se a presença dos picos característicos de HA sintética (JCPDS 09-0432), como principais cita-se os (0 0 2), (2 1 1), (1 1 2) e (3 0 0) e em nenhum dos casos detectou-se a presença de fosfato β-tricálcico (JCPDS 09-0169) e fosfato α-tricálcico (JCPDS 09-348), resultados similares foram obtidos por [IVORY, 2012].

Hidroxiapatitas deficientes em cálcio ou pouco organizadas tendem a sofrer transformações de fase a partir de 800 °C gerando o β-TCP, esta por sua vez, pode ser estabilizada em temperaturas baixas devido à presença de metais em substituição ao cálcio, tal como o magnésio [MOREIRA, 2010]. A presença de Ag^{+} não produziu tal transformação, sendo

este um indicativo de boa estabilidade térmica, resultados similares foram obtidos por [IVORY, 2012].

Apenas na amostra 5 (adição de 2% de Ag e calcinação a 1000 °C) encontrou-se picos característicos do CaO, (JCPDS 04-0777), (1 1 1) e (2 0 0) o que indica possível decomposição térmica da HA [Chung *et al.*, 2005].

Não foram detectados picos referentes ao Ag_3PO_4 (fosfato de prata) e Ag_2O (óxido de prata), provavelmente a temperatura de calcinação utilizada nos experimentos contribuiu para que não houvesse a formação destes compostos [NATH *et al*., 2010].

Nas amostras 1,2,5 e 6 detectou-se a presença de segunda fase prata metálica (JCPDS 04-0783) com pico característico principal em 2Θ≈38°, plano (1 1 1), resultados similares foram obtidos por [Sushma *et al*., 2012] para adições de prata de 3% e 5% e por [Rameshbabu et al., 2005], para teores de prata adicionados entre 0.5% e 6.0%. Nas amostras 3 e 4 não foi possível distinguir picos de prata do *back ground* e a constatação de que efetivamente ocorreu formação de tal fase deu-se pela análise comparativa das micrografias eletrônicas de varredura.

Calculou-se os parâmetros de rede e listou-se os valores na Tabela 4:

Tabela 4: Parâmetros de rede para HA, condizentes com o esperado pela literatura.

AMOSTRA	*a* (Å)	*c* (Å)
4%Ag1000°C	±9.340	±6.850
2%Ag1000°C	±9.396	±6.868
0.5%Ag1000°C	±9.391	±6.857
0.5%Ag800°C	±9.396	±6.873
2%Ag800°C	±9.391	±6.870
4%Ag800°C	±9.394	±6.870

Calculou-se o tamanho médio dos cristalitos através do método fórmula de Scherrer e método FWHM (*full width at hall maximum*) para largura de pico. Os valores obtidos, listou-se na Tabela 5.

Tabela 5: Tamanho de cristalitos por fórmula de Scherrer.

AMOSTRA	TAMANHO (nm)	ERRO RESIDUAL *PROFILE FITTING*
4%Ag1000°C	±54,3	10.90%
2%Ag1000°C	±53.8	9.47%
0.5%Ag1000°C	±61.6	9.85%
4%Ag800°C	±35.2	9.75%
2%Ag800°C	±53.6	10.44%
0.5%Ag800°C	±65.8	9.24%

A análise do tamanho médio dos cristalitos possibilitou-nos confirmar que os mesmos possuem tamanho nanométrico. A literatura ainda prevê que geralmente a morfologia para HA em pó sintetizada por precipitação possui formato de agulhas [SAERIA, *et al.* 2003]. Comparando-se os resultados obtidos para tamanho de cristalito das amostras acima com as obtidas por [Rameshbabu *et al*., 2005], evidencia-se que o tamanho dos cristalitos condiz com os esperados pela literatura.

5.3. Espectroscopia Vibracional na Região do Infra Vermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Através da análise de espectroscopia vibracional na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), evidenciou-se a presença das seguintes bandas de absorção em todas as amostras calcinadas em 800 °C:

OH^- (±3572 cm^{-1} e ±632 cm^{-1})

H_2O (±1090 cm^{-1} e ±632 cm^{-1})

PO_4^{-3} (±1090 cm^{-1}, ±1040 cm^{-1}, ±962 cm^{-1}, ±602 cm^{-1} e ± 570 cm^{-1})

CO_3^{-2} (intervalo de ±1655 cm^{-1} até ±1424 cm^{-1} e ±913 cm^{-1})

A configuração de bandas de absorção acima relatadas e apontadas na Figura 16, são características de hidroxiapatita sintetizada em meio aquoso. O método de precipitação de HA em meio aquoso, quando realizado sem controle de atmosfera de síntese, favorece a incorporação do CO_3^{-2} à estrutura da HA (BOANINI *et al.*, 2010 e DRIESSENS *et al.*, 1990), tal incorporação ocorreu e é evidenciada pela presença das bandas de absorção nos intervalos indicados acima.

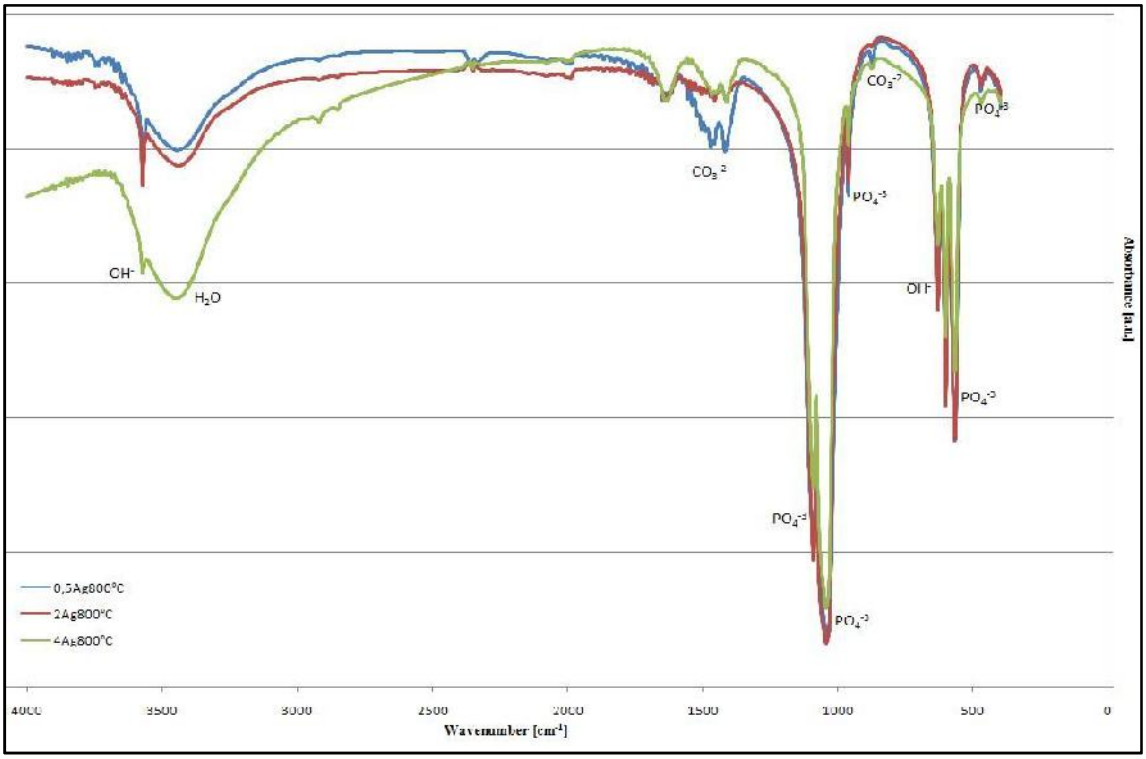

Figura 16: FTIR amostras calcinadas a 800 °C; todas bandas características de HA sintetizada por precipitação em meio aquoso.

Nas amostras calcinadas em 1000 °C, evidenciou-se as bandas de absorção abaixo, em todas as amostras:

OH^- (±3572 cm^{-1} e ±632 cm^{-1})

H_2O (±1090 cm^{-1} e ±632 cm^{-1})

PO_4^{-3} (±1090 cm^{-1}, ±1040 cm^{-1}, ±962 cm^{-1}, ±602 cm^{-1} e ± 570 cm^{-1})

CO_3^{-2} (intervalo de ±1655 cm^{-1} até ±1424 cm^{-1})

As bandas acima mencionadas e apontadas na Figura 17, são características de HA sintetizada por precipitação em meio aquoso e notou-se que com o aumento da temperatura de calcinação obteve-se redução na intensidade dos picos respectivos a OH^- e H_2O, o que indica que eliminou-se parcialmente a água e notou-se também redução, praticamente extinção, das bandas referentes ao CO_3^{-2}, o que indica que o aumento da temperatura de calcinação expulsou quase que totalmente o CO_3^{-2} da estrutura, tais resultados foram obtidos também por IVORY em 2012.

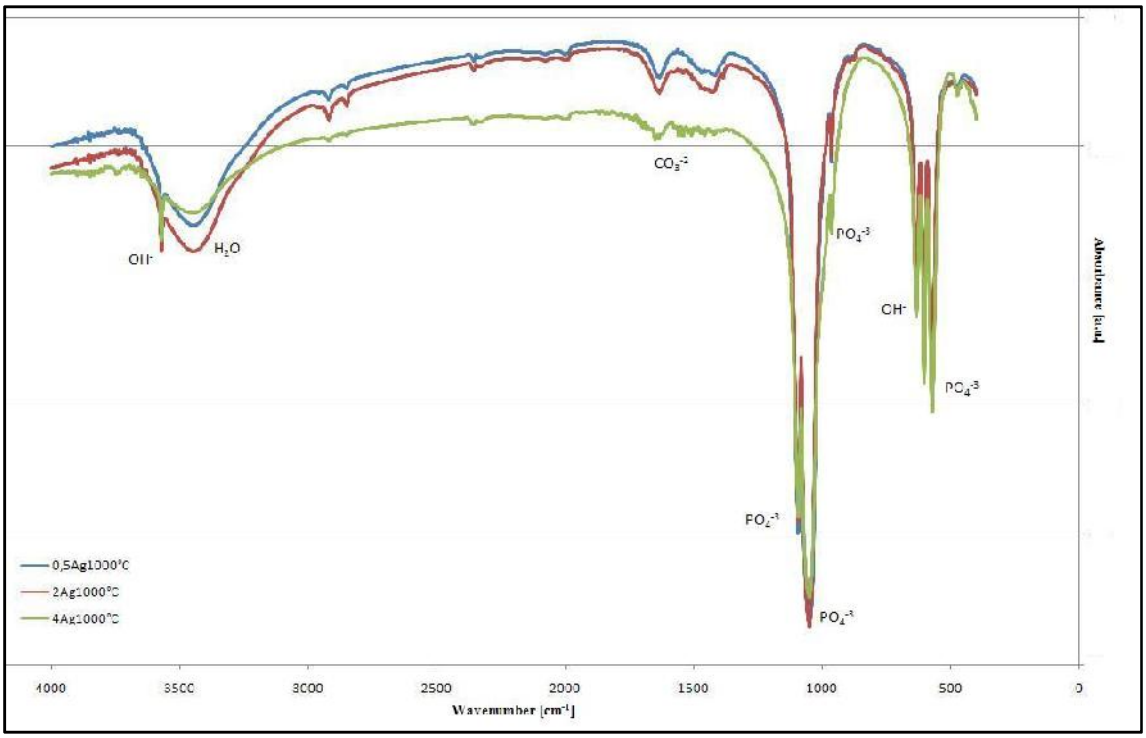

Figura 17: FT-IR amostras calcinadas a 1000 °C; todas bandas características de HA sintetizada por precipitação em meio aquoso.

Segundo [AOKI, 1991], a presença de grupos CO_3^{-2} e HPO_4^{-2} indicariam uma hidroxiapatita não estequiométrica, ou seja, com razão Ca/P <1,67, porém não existem indícios de presença de HPO_4^{-2} o que permite-nos deduzir que a hidroxiapatita sintetizada é estequiométrica e sendo assim a razão (Ca+Ag)/P=1,67, uma vez que parte do cálcio foi retirado e substituído por íons de prata.

Comparando-se os espectros obtidos neste trabalho, com os obtidos por Rameshbabu *et al.,* é possível dizer que todas as amostras apresentaram picos condizentes com a literatura para hidroxiapatita dopada com prata e com potencial para utilização em ortopedia como substituto ósseo e agente bactericida.

6. CONCLUSÕES

Através das análises feitas para a síntese de hidroxiapatita com adição de prata pelo método de precipitação via úmida, é possível concluir que:

- Obteve-se hidroxiapatita sintética nanométrica dopada com prata, com potencial para utilização em humanos, como substituto ósseo bem como possível agente bactericida.
- Obteve-se segunda fase precipitada (prata) em todas amostras e tal fato não deve prejudicar a utilização de tais amostras como substituto ósseo bem como deve auxiliar como agente bactericida.
- A adição de prata na estrutura da hidroxiapatita não causou alterações significativas nos parâmetros de rede.

REFERÊNCIAS

[AFONSO, 1998] - Afonso AS: Interacção entre Biomateriais e Tecido ósseo. Dissertação de candidatura ao grau de doutor à Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto. 1998; 32.

[ALBBE, 1920] - Albbe, F. H. Studies in bone growth triple calcium phosphate as stimulus to osteogenesis. Annuals of Surgery. v. 71, p. 32-36, 1920.

[ARAÚJO *et al,* 2007] Araújo JC, Sena L, Bastos IN, Almeida Soares GD. Síntese da hidroxiapatita e refinamento estrutural por difração de raios-x. Química Nova, Vol.30, No. 8,1853-1859, 2007.

[ARAÚJO T.S, 2006] – Tatiana dos Santos Araújo: Produção de Hidroxiapatita Pura e Dopada para Aplicação em Biosensores, 2006, 43

[AOKI, 1991] - AOKI, H.- *Science and Medical Application of Hidroxiapatita, Japen, 1991.*

[DE JONG, 1926] - DE JONG, W. F.- *Rec Trav. Chim. 45, 1926.*

[DUCHEYNE, 1987] - Ducheyne P: Bioceramics: Material characteristics versus in vivo behavior. *J. Biomed. Mat. Res.* 1987; 21: 219-236.

[GIULIETTI,] - GIULIETTI, M.;.CLEMENTE, R. R.- *Técnicas de Obtención de Hidroxiapatita y Otros Fosfatos de Calcio, Instituto de Pesquisas Tecnológicas, Divisao de Quimica, São Paulo, SP, Brasil.*

[HIGASHI, *et a*l, 1986] - Higashi S, Yamamuro T, Nakamura T, Ikada Y, Hyon S-H, Jamshidi K: Polumer-hydroxyapatite composites for biodegradable bone filters. *Biomaterials* 1986; 7: 183-187.

[ISHIDA, 2004] - Ishida MA, Síntese de Biomaterial Hidroxiapatita. 2004; 16.

[JOHN, *et al*, 1993] - John KRS, Zardiackas LD, Black RJ, Amstrong R: Response of canine bone to a synthetic bone graft material. *Clin. Mater.* 1993; 12: 49-55.

[KOUTSOPOULOS, et al., 2002] - Koutsopoulos, S. et al., (2002), "Synthesis and Characterisation of Hydroxyapatite Crystals: A Review Study on the Analytical Methods", Wiley Periodicals, Inc.

[KOLTHOFF, 1969] - KOLTHOFF, I. M.- *The Precipitation Process. In: Quantitative Chemical Analysis, Canada, Cochier McMillan, p. 188-189, 1969.*

[KENNEY, *et al*, 1988] - Kenney EB, Lekovic V, Carranza FA, Dimitrijeric B, Han T, Takei H: A comparative clinical study of solid and granular porous hydroxylapatite implants in human periodontal osseous defects. *J. Biomed. Mat. Res*. 1988; 22: 1233-1243.

[LE GEROS *et al,* 1990] - LE GEROS, R. Z.; LE GEROS, J., P.- *Dence Hydroxyapatite in Handbook of Bioactive Ceramics, vol. II, CRC Press 1990.*

[LE GEROS, 1991] - LE GEROS, R. Z.- *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine, EUA, 1991.*

[LEVIITT, 1969] - Levitt, G. E.. Forming methods for apatite prothesis. Journal of Biomedical Materials Research, v. 3, n. 4, p. 683-685, 1969.

[MONROE, 1971] - Monroe, E. A.; Votava, W.; Bass, D. B.; Mcmullen, J. New calcium phosphate ceramic material for bone and tooth implants. Journal of Dental Research, v. 50, n. 4, p. 860-862, 1971.

[MOSTAFA, *et al,* 2005] - Mostafa 2005 Materials-Chemistry-and-Physics Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite by three different routes

[MORAES *et al,* 2004], Moraes PC, Padilha Filho JG, Canola JC, Santos LA, Macoris DG, Alessi AC, Castro MB, Dória Neto FA. Biocompatibilidade do cimento de fosfato de cálcio implantado no rádio de coelhos. Acta Cir Bras [serial online] 2004 Jul-Ag;19(4).

[POSNER, 1969] - POSNER, A. S.- *Phys. Rev. 49, 1969.*

[RAVAGLIOLI *et al.*, 1992] - Ravaglioli A, Krajewski A: Bioceramics: materials, proprierties and applications. London: Chapman & Hall, 1992.

[RAMESHBABU *et al.,*2005] – Rameshbabu, N.; Sampath, K. T. S.; Praghakar, T. G.; Sastry, V. S.; Murty, K. V. G. K.; Prasad, R. K.; *Antimicrobial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Syntesis and characterization; Wiley InterScience, February 2005.*

[SECKLER *et al*] - SECKLER, M. M.; CARRODEGUAS, R. G.; DERENZO, S.;

[SUSHMA et al., 2012] – Sushma, J.; Ketaki D.; Sutapa R. R.; Meenal K.; *Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique; springerlink.com, october 2012.*

[TAVARES, 1993] - Tavares AV: História da Implantologia. *Stoma* 1993; 26: 17-31.

[TEIXEIRA, 1992] - TEIXEIRA, A.- *Biocerâmica: uma Expressão de Vida, Noticiário (Biomateriais), Brasil.* Fevereiro, 1992.

[VALLET-REGÍ, 1997] - 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.*

[VARMA *et al,* 1999] - 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, Klumwer Acdemic Publishers Chapman & Hall., vol. 10, number 10-11, USA, 1999.*

[YVORI, 2012] – Síntese e Caracterização de Hidroxiapatita Enriquecida com Prata e Zinco para Aplicação em Engenharia Tecidual Óssea, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Sergipe, Fevereiro de 2012.