

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

Estudo das Propriedades Ópticas, Elétricas e Térmicas
da Hidroxiapatita obtida por Irradiação de Alta Energia,
seus Compósitos e Filmes Espessos

Cléber Cândido da Silva

N.Cham T 546 S579es

Autor: Silva, Cléber Cândi

Título: Estudo das propriedades ópticas,



13840664

Ac. 70864

BCT

Fortaleza-Ceará
2003



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**Estudo das Propriedades Ópticas, Elétricas e Térmicas da
Hidroxiapatita obtida por Moagem de Alta Energia, seus Compósitos
e Filmes Espessos**

Autor: Cléber Cândido da Silva

Orientador: Prof^o Dr. Antônio Sérgio Bezerra Sombra

Fortaleza, março de 2003



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÂNICA E INORGÂNICA

**Estudo das Propriedades Ópticas, Elétricas e Térmicas da
Hidroxiapatita obtida por Moagem de Alta Energia, seus Compósitos
e Filmes Espessos**

Tese apresentada ao Departamento
de Química Orgânica e Inorgânica
da Universidade Federal do Ceará,
como parte dos requisitos para a
obtenção do título de Doutor em
Química Inorgânica.

Autor: Cléber Cândido da Silva

Orientador: Prof. Dr. Antônio Sérgio Bezerra Sombra

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

Fortaleza, Março de 2003

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

S579e Silva, Cléber Cândido da.

Estudo das propriedades ópticas, elétricas e térmicas da hidroxiapatita obtida por moagem de alta energia, seus compósitos e filmes espessos / Cléber Cândido da Silva. – 2003.
180 f. : il.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Química, Fortaleza, 2003.

Orientação: Prof. Dr. Antonio Sérgio Bezerra Sombra.

1. Química. I. Título.

CDD 540

Esta Tese foi apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Doutor em Química Inorgânica, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e em cuja Biblioteca Central encontra-se à disposição dos interessados.

Cléber Cândido da Silva

Dissertação aprovada em: 17.03.2003

Dr. Antonio Sérgio Bezerra Sombra
(Orientador, UFC)

Dr. Norberto Aranha
(UNESP-Araraquara)

Dr. Oswaldo Luiz Alves
(UNICAMP)

Dr. Judith Pessoa de Andrade Feitosa
(UFC)

Dr. Lindomar Roberto Damasceno da Silva
(UFC)

A meus queridos pais **Cândido e Miriam**

À minha amada e adorável esposa **Telma Melo**

A meu filho **Thiago Melo**
pelo incentivo, compreensão e paciência.

Não nos perguntamos qual o propósito útil dos pássaros cantarem, pois o canto é o seu prazer, uma vez que foram criados para cantar.

Similarmente, não devemos perguntar por que a mente humana se inquieta com a extensão dos segredos dos céus.....

A diversidade do fenômeno da natureza é tão vasta e os tesouros escondidos nos céus tão ricos, precisamente para que a mente humana nunca tenha falta de alimento.

*Johannes Kepler in *Mysterium Cosmographicum*.*

AGRADECIMENTOS

Ao Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC pela oportunidade de realizar o doutorado nesta instituição e em especial aos professores da pós-graduação que muito contribuíram para minha formação ética e profissional;

Ao professor Dr. Antônio Sérgio Bezerra Sombra pela extrema orientação, amizade e dedicação a este trabalho;

Ao Dr. Júlio César Góis Ferreira pela enorme amizade e contribuição na elaboração da parte dos compósitos neste trabalho;

Ao professor Dr. José Marcos Sasaki do Laboratório de difração de Raios-X (Departamento de Física) pela contribuição nas análises de Raios-X e tamanho de cristalito;

Ao professor Dr. Frederico José Beserra e dos técnicos Luiz e Rose do Laboratório de Carnes (Departamento de Engenharia de Alimentos) pela utilização do espaço na obtenção do colágeno;

Ao professor Dr. Renato de Azevedo Moreira e a Dra. Sônia Figueiró pela utilização do espaço do laboratório de Fisiologia Vegetal na obtenção do colágeno;

Aos alunos do mestrado em Engenharia de Materiais da UFC Waydson e Daércio, além da doutoranda do Departamento de Química Orgânica e Inorgânica da UFC Adriana pela ajuda na obtenção das micrografias da MEV relatadas neste trabalho;

Aos Professores Dr. Manoel Almeida Valente e Dr. Sushil Kumar Mendiratta do Departamento de Física da Universidade do Aveiro em Portugal pelo acolhimento na citada universidade e auxílio nas determinações de Infravermelho, Análises Térmicas e difrações de Raios-X realizadas nos compósitos;

Aos Técnicos dos Departamentos de Física, Engenharia de Cerâmicos e Química da Universidade do Aveiro – Portugal pela análise nas determinações de Infravermelho, Análises Térmicas e Difrações de Raios-X realizadas nos compósitos;

Aos Professores Norberto Aranha da UNESP-Araraquara e Luciane Rezende de Oliveira da UNAERP – Ribeirão Preto pela realização dos testes de bioatividade com as amostras de hidroxiapatita;

Aos técnicos e alunos do Departamento de Química Inorgânica e Física pela contribuição;

Um especial agradecimento aos mestrandos Pierre e Marcelo da Química Inorgânica e aos doutorandos Ana Fabíola da Química Inorgânica e Rinaldo da Física pela amizade e colaboração na realização deste trabalho;

A CAPES pela bolsa;

A minha Família pelo apoio nos momentos difíceis.

ÍNDICE

	Página
Dedicatória	i
Agradecimentos	ii
Índice	iv
Lista de Figuras	ix
Lista de Tabelas	xv
Resumo	
Abstract	
Capítulo 1	
Introdução	1
Capítulo 2	
2. Técnicas Experimentais	9
2.1. Mecanossíntese	9
2.1.1. Propriedades Microestruturais dos Pós	10
2.1.1.1. Contorno de Grão	10
2.1.1.2. Difusão em Materiais	11
2.2. Modelagem do Moinho	12
2.2.1. Choque	13
2.2.2. Produto Final	13
2.2.2.1. Energia Cinética	14
2.2.2.2. Temperatura de Moagem	17
2.2.2.3. Intensidade de Moagem	17
2.3. Medidas Piezelétricas	18
2.3.1. Fator de Perda Dielétrica	19
2.3.2. Fator de Perda Piezelétrica	20
2.4. Referências Bibliográficas	22
Capítulo 3	
3. Hidroxiapatita Nanocristalina, Filmes Espessos e Testes de	
Bioatividade	24

3.1. Síntese de Hidroxiapatita Nanocristalina Obtida por Novo Método de Moagem de Alta Energia	24
3.1.1. Introdução	24
3.1.2. Estequiometria das Reações	25
3.1.3. Difração de Raios-X	27
3.1.3.1. Método Experimental.....	27
3.1.3.2. Resultados e Discussão	28
3.1.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	40
3.1.4.1. Método Experimental.....	40
3.1.4.2. Resultados e Discussão	40
3.1.5. Espectroscopia Raman	49
3.1.5.1. Método Experimental.....	49
3.1.5.2. Resultados e Discussão	50
3.2. Hidroxiapatita Obtida pelo Método de Precipitação	60
3.2.1. Introdução	60
3.2.2. Pó de Hidroxiapatita	60
3.2.3. Difração de Raios-X	60
3.2.3.1. Método Experimental	60
3.2.3.2. Resultados e Discussão	61
3.2.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	63
3.2.4.1. Método Experimental.....	63
3.2.4.2. Resultados e Discussão	63
3.2.5. Conclusões	65
3.3. Filmes	66
3.3.1. Filmes Espessos de Hidroxiapatita Obtidos pelo Método “Screen-Printing”	66
3.3.2. Introdução	66
3.3.3. Hidroxiapatita Nanocristalina	66
3.3.4. Preparação da Pasta	67
3.3.5. Substratos e Eletrodos	67
3.3.6. Técnica de “Screen-Printing”	69
3.3.7. Preparação dos Filmes	69
3.3.8. Difração de Raios-X	69

3.3.8.1. Método Experimental.....	69
3.3.8.2. Resultados e Discussão	69
3.3.9. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	73
3.3.9.1. Método Experimental.....	73
3.3.9.2. Resultados e Discussão	73
3.3.10. Espectroscopia Raman	75
3.3.10.1. Método Experimental.....	75
3.3.10.2. Resultados e Discussão	75
3.3.11. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)	78
3.3.11.1. Método Experimental.....	78
3.3.11.2. Resultados e Discussão	78
3.3.12. Medidas Dielétricas	83
3.3.12.1. Método Experimental.....	83
3.3.12.2. Resultados e Discussão	83
3.3.13. Conclusões	87
3.4. Bioatividade da Hidroxiapatita	89
3.4.1. Introdução	89
3.4.2. Teste de Bioatividade	89
3.4.2.1. Método Experimental.....	89
3.4.3. Difração de Raios-X	90
3.4.3.1. Método Experimental.....	90
3.4.3.2. Resultados e Discussão	90
3.4.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho	92
3.4.4.1. Método Experimental	92
3.4.4.2. Resultados e Discussão	92
3.4.5. Espectroscopia Raman	94
3.4.5.1. Método Experimental.....	94
3.4.5.2. Resultados e Discussão	95
3.4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)	98
3.4.6.1. Método Experimental	98
3.4.6.2. Resultados e Discussão	98

3.4.7. Ensaios Histológicos	101
3.4.8. Conclusões	104
3.5. Referências Bibliográficas	104
Capítulo 4	
4. Compósitos de Colágeno – Hidroxiapatita	108
4.1. Introdução	108
4.2. Métodos Experimentais	109
4.2.1. Preparação da Amostra de HA	109
4.2.2. Preparação do Colágeno	109
4.2.3. Preparação do Filmes	109
4.2.4. Modelo Piezelétrico	109
4.2.5. Difração de Raios-X	114
4.2.5.1. Método Experimental.....	114
4.2.5.2. Resultados e Discussão	114
4.2.6. Espectroscopia de Absorção e Transmissão na Região do Infravermelho	117
4.2.6.1. Método Experimental.....	117
4.2.6.2. Resultados e Discussão	117
4.2.7. Medidas Dielétricas e Piezelétricas	120
4.2.7.1. Método Experimental.....	120
4.2.7.2. Resultados e Discussão	120
4.2.8. Análise Térmica de DSC	125
4.2.8.1. Método Experimental	125
4.2.8.2. Resultados e Discussão	125
4.2.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)	127
4.2.9.1. Método Experimental.....	127
4.2.9.2. Resultados e Discussão	127
4.2.10. Conclusões	130
4.2.11. Referências Bibliográficas	131
5. Conclusões Gerais	133
6. Sugestões para Trabalhos Futuros	136

7. Publicações Decorrentes deste Trabalho	137
7.1. Publicações Internacionais	137
7.2. Patente Requerida	139
7.3. Conferências Internacionais	139
7.4. Conferências Nacionais	140

Anexos

LISTA DE FIGURAS

	Página
Capítulo 2	
Figura 2.1 – Representação esquemática do movimento das bolas e da mistura de pós no moinho planetário	16
Figura 2.2 – Colisão Pó – Bola – Pó da Mistura Durante Síntese por Moagem Mecânica	16
Figura 2.3 – (a) Efeito Piezelétrico Direto e (b) Efeito Piezelétrico Indireto (i) contração e (ii) Expansão F = Força Compressiva, A = Corrente, P = Polarizabilidade ..	21
Capítulo 3	
Figura 3.1 – Modelo Representativo da Estrutura da Hidroxiapatita	31
Figura 3.2 – Evolução do tamanho de cristalitos das fases de HA nas reações HA1 (■), HA2 (●), HA3 (▲) e HA4 (□) com as respectivas Barras de Erros	31
Figura 3.3 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 1 h (HA3/1), 2 h e 30 min (HA3/2,5), 3 h (HA3/3), 5 h (HA3/5), 9 h (HA3/9) e dados da literatura para HA-REF (●) e Ca(OH) ₂ (■)	32
Figura 3.4 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 1 com tempos de moagem em 15 h (HA1/15), 30 h (HA1/30), 45 h (HA1/45), 60 h (HA1/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO ₄ (■)	33
Figura 3.5 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 2 com tempos de moagem em 15 h (HA2/15), 30 h (HA2/30), 45 h (HA2/45), 60 h (HA2/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO ₄ (■)	34

Figura 3.6 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 15 h (HA3/15), 30 h (HA3/30), 45 h (HA3/45), 60 h (HA3/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO_4 (■)	35
Figura 3.7 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 4 com tempos de moagem em 15 h (HA4/15), 30 h (HA4/30), 45 h (HA4/45), 60 h (HA4/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO_4 (■)	36
Figura 3.8 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 5 com tempos de moagem em 15 h (HA5/15), 30 h (HA5/30), 45 h (HA5/45), 60 h (HA5/60) e dados da literatura para $\text{NH}_4\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆) e HA-REF	37
Figura 3.9 – Difratoograma de Raios-X das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e dados da literatura para $\text{NH}_4\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆), CaHPO_4 (■) e HA-REF	39
Figura 3.10 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 1 com tempos de moagem em 15 h (HA1/15), 30 h (HA1/30), 45 h (HA1/45), 60 h (HA1/60) e cerâmica HA-COM	42
Figura 3.11 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 2 com tempos de moagem em 15 h (HA2/15), 30 h (HA2/30), 45 h (HA2/45), 60 h (HA2/60) e cerâmica HA-COM	43
Figura 3.12 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 15 h (HA3/15), 30 h (HA3/30), 45 h (HA3/45), 60 h (HA3/60) e cerâmica HA-COM	44
Figura 3.13 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 4 com tempos de moagem em 15 h (HA4/15), 30 h (HA4/30), 45 h (HA4/45), 60 h (HA4/60) e cerâmica HA-COM	45

Figura 3.14 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 5 com tempos de moagem em 15 h (HA5/15), 30 h (HA5/30), 45 h (HA5/45), 60 h (HA5/60) e cerâmica HA-COM	46
Figura 3.15 – Espectro na região do Infravermelho das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e cerâmica HA-COM ...	48
Figura 3.16 - Espectro Raman dos produtos da reação 1 com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45), 60h (HA1/60) e a cerâmica HA-COM	52
Figura 3.17 – Espectro Raman dos produtos da reação 2 com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45), 60h (HA2/60) e a cerâmica HA-COM	53
Figura 3.18 – Espectro Raman dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45), 60h (HA3/60) e cerâmica HA-COM	54
Figura 3.19 – Espectro Raman dos produtos da reação 4 com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45) e 60h (HA4/60) e cerâmica HA-COM	55
Figura 3.20 – Espectro Raman dos produtos da reação 5 com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (HA5/45), 60h (HA5/60) e cerâmica HA-COM	56
Figura 3.21 - Espectro Raman das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e cerâmica HA-COM	59
Figura 3.22 – Difratoograma de Raios-X da HÁ calcinada (HAU) e dados referentes da literatura HA-REF (●) e β -Ca ₃ (PO ₄) ₂ (■)	62
Figura 3.23 - Espectros na região do Infravermelho da amostra de hidroxiapatita calcinada (HAU) e HA-COM	64
Figura 3.24 – Coordenada retangular associada à amostra dos filmes espessos para medidas piezelétricas e da constante dielétrica na estrutura	68
Figura 3.25 – Difratoograma de raios-X da cerâmica HA3/60, os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e dados da literatura para HÁ-REF.....	71

Figura 3.26 – Tamanho de Cristalito da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 com as respectivas barras de erros	72
Figura 3.27 – Espectros na região do Infravermelho da cerâmica HA3/60 e os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25	74
Figura 3.28 – Espectros Raman da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25	77
Figura 3.29 – Micrografia do filme espesso HA3G5 com fator de ampliação 5000X	80
Figura 3.30 – Micrografia do filme espesso HA3G10 com fator de ampliação 5000X	80
Figura 3.31 – Micrografia do filme espesso HA3G20 com fator de ampliação 5000X	81
Figura 3.32 – Micrografia do filme espesso HA3G25 com fator de ampliação 5000X	81
Figura 3.33 – Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10 e HA3G15	82
Figura 3.34 – Constante Dielétrica relativa (ϵ_r) em função da frequência da série HAGY (Y = 5, 10, 15, 20 e 25 %)	85
Figura 3.35 – Perda Dielétrica (D) em função da frequência da série HAGY (Y = 5, 10, 15, 20 e 25 %)	86
Figura 3.36 - Difratoograma de Raios-X das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e dados da literatura $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (\blacktriangle), CaHPO_4 (\blacksquare) e HA-REF	91
Figura 3.37 - Espectro na região do Infravermelho das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e cerâmica HA-COM	93
Figura 3.38 - Espectro Raman das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e cerâmica HA-COM	97
Figura 3.39 – Micrografia da amostra HA2/60	99
Figura 3.40 – Micrografia da amostra HA4/15	99
Figura 3.41 – Micrografia da amostra HA5/15	100

Figura 3.42 – Gráfico de EDX para amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15	100
Figura 3.43 – Micrografia histológica da amostra HA2/60. C – Cartilagem, CB – Condroblastos, CC – Condrócito, ON – Osso Novo	102
Figura 3.44 – Micrografia histológica da amostra HA4/15. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OV – Osso Velho	102
Figura 3.45 – Micrografia histológica da amostra HA5/15a. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OV – Osso Velho	103
Figura 3.46 – Micrografia histológica da amostra HA5/15b. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OB – Osteoblasto, OC – Osteócitos	103
 Capítulo 4	
Figura 4.1. – Modelos Esquemáticos do Tropocolágeno (a) Modelo de Bolas, (b) Modelo de Varetas	113
Figura 4.2 - Difratoograma de Raios-X do Colágeno (Col), Colágeno com Hidroxiapatita Comercial (Col-HACOM) e pó de Hidroxiapatita Comercial (HACOM). As barras verticais estão associadas às fases de HA-REF (●) e CaHPO_4 (■)	115
Figura 4.3 – Difratoograma de Raios-X do Colágeno (Col), Colágeno com Hidroxiapatita Nanocristalina (Col-HAN) e pó de Hidroxiapatita Nanocristalina (HAN). As barras verticais estão associadas às fases de HA-REF e $\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ (▲)	116

Figura 4.4 – Espectro na região do Infravermelho do filme de Colágeno (Col), compósito de colágeno com Hidroxiapatita Comercial (Col -HACOM) e do pó de Hidroxiapatita Comercial (HACOM)	118
Figura 4.5 – Espectro na região do Infravermelho do filme de Colágeno (Col), compósito de Colágeno com Hidroxiapatita Nanocristalina (Col-HAN) e do pó de Hidroxiapatita Nanocristalina (HAN)	119
Figura 4.6 - Coordenadas retangulares fixadas das amostras para medidas das constantes piezelétricas e dielétricas	121
Figura 4.7 - Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o filme do Colágeno Aniônico ..	122
Figura 4.8 – Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o compósito de colágeno com HACOM	123
Figura 4.9 – Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o compósito de colágeno com HAN	124
Figura 4.10 – Curvas de DSC das amostras colágeno aniônico (Col), compósito de colágeno com HACOM (Col-HACOM) e compósito de colágeno com HAN (Col-HAN)	126
Figura 4.11 – Micrografia do filme de colágeno aniônico [3500X]	128
Figura 4.12 – Micrografia do filme de compósito de colágeno aniônico com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) [3500X]	128
Figura 4.13 – Micrografia do filme de compósito de colágeno aniônico com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) [15000X]	129
Figura 4.14 – Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das amostras dos compósitos de colágeno com HACOM (Ca/P = 1,92), compósito de colágeno com HAN (1,83), pós de HACOM (1,84) e HAN (2,10)	129

LISTA DE TABELAS

	Página
Capítulo 3	
Tabela 3.1 – Modos vibracionais dos espectros na região do Infravermelho obtidas para as amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e HA-COM comparados com dados de referências ...	49
Tabela 3.2 - Modos vibracionais dos espectros Raman obtidos para as amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e cerâmica HA – COM comparados com dados de referências..	58
Tabela 3.3 – Modos vibracionais dos espectros na região do infravermelho das amostras HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e cerâmica HA3/60	75
Tabela 3.4 – Modos vibracionais dos espectros Raman das amostras HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e cerâmica HA3/60	78
Tabela 3.5 – Medidas das constantes Dielétricas relativas (ϵ_r), Espessura (e), Perda Dielétrica (D), das amostras de filmes espessos e a Razão Mássica da relação Ca/P obtidos pela Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) [valor teórico esperado para a hidroxiapatita de 2,15] para cerâmica HA3/60 e os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25	87
Tabela 3.6 - Modos vibracionais na região do Infravermelho obtidas para as amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15 comparados com dados de referências	94
Tabela 3.7 - Modos vibracionais dos espectros Raman obtidos para as amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 comparados com dados de referências	96

Tabela 3.8 – Tamanho cristalito (nm) e de grão (nm) obtidos para amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15 comparados com raios-X e MEV	101
--	-----

Capítulo 4

Tabela 4.1 – Densidade (ρ), Espessura (e), Permissividade Dielétrica (ϵ), Constante de Frequência (f.L) e Piezeletricidade do colágeno (Col), colágeno-HACOM (Col-HACOM) e colágeno-HAN (Col-HAN)	121
Tabela 4.2 – Fator de Perda (Q^{-1}) para amostras do colágeno (Col), compósito de colágeno com HACOM (Col-HACOM) e colágeno com HAN (Col-HAN)	121

Resumo

Neste trabalho utilizou-se a moagem mecânica de alta energia com sucesso na produção de pós nanocristalinos de hidroxiapatitas em cinco diferentes procedimentos experimentais. A hidroxiapatita moída foi estudada por difração de raios-X e espectroscopias de infravermelho e Raman. Para quatro diferentes procedimentos foi obtida a hidroxiapatita, com diferentes tempos de mistura (15, 30, 45 e 60 horas), enquanto a reação 5 não ocorreu formação de HA. Esse processo de moagem utilizado para obter hidroxiapatita tem a vantagem de não haver necessidade de fusão dos reagentes e do procedimento ser realizado a seco. O material pode ser compactado e transformado em peças. A alta eficiência do processo abre as portas para produção comercial da hidroxiapatita nanocristalina tendo sido comparado com o método de precipitação indicando também a formação da HA.

Em uma segunda fase, foi estudada a propriedade estrutural e elétrica de filmes espessos da hidroxiapatita. Esses filmes foram preparados em duas camadas utilizando a técnica de "screen printing" em substrato de alumina (Al_2O_3). A síntese por moagem mecânica foi usada para produzir os pós de hidroxiapatita utilizados nos filmes. As amostras foram estudadas por raios-X, MEV, EDX, infravermelho, Raman e propriedades elétricas. Foram estudadas a constante dielétrica dos filmes (ϵ_r) e suas perdas (D) no espectro de rádio frequência. Para todos os filmes há um decréscimo na constante dielétrica na medida que a frequência aumenta, encontrando-se valores entre 4 e 9 em função da concentração do fundente no filme. A perda também decresce com o aumento da frequência. A difração de raios-X dos filmes indica que os principais picos pertencem à hidroxiapatita. Esses resultados sugerem que a técnica de "screen printing" em filmes espessos de hidroxiapatita é excelente para aplicações em coberturas biocompatíveis de materiais implantados e materiais isolantes de circuitos elétricos e camadas dielétricas em biosensores.

Outra fase do estudo foi a obtenção da hidroxiapatita com diferentes graus de cristalinidade e tempos de mistura (HA2/60, HA4/15 e HA5/15) para teste de bioatividade. A análise de bioatividade mostrou que todas as amostras implantadas nos coelhos podem ser consideradas biocompatíveis, já que são consideradas não tóxicas e não causam inflamação e/ou rejeitos na parte do animal, durante o período de

implantação. As amostras implantadas nos coelhos apresentam nova formação do tecido ósseo com a presença de células osteoblásticas.

O colágeno aniônico e os compósitos de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) e colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) foram estudados por propriedades físico-química, ópticas, dielétricas e piezelétricas, considerando o desenvolvimento de novos biomateriais com potencial em suporte para crescimento celular e em sistemas de controle de transporte de drogas.

O elemento de tensor força piezelétrico (d_{14}), a constante elástica (s_{55}) e a constante dielétrica (ϵ_{11}) foram medidas para filmes de colágeno com valores de 0,102 pC/N, que é um resultado compatível quando comparado com dados da literatura obtidos por outras técnicas. Para o compósito Col-HAN obteve-se o valor de 0,041 pC/N e de 0,012 pC/N para o Col-HACOM. A análise de DSC mostrou duas desnaturações endotérmicas nos filmes de colágeno e nos compósitos. O compósito Col-HAN apresentou uma estabilidade térmica melhor, se comparado com o Col-HACOM. A difração de raios-x do filme de colágeno mostrou características de material amorfo. Os principais picos associados a hidroxiapatita nanocristalina estão presentes nas amostras dos compósitos, além da presença de picos menos intensos de outras fases cristalinas da apatita.

Abstract

Mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) using five different experimental procedures. The milled HA were studied by x-ray powder diffraction, infrared and Raman scattering spectroscopy. For four different procedures, HA was obtained after a couple hours of milling (15, 30, 45 and 60 hours). For one of the procedures we do not had the HA formation. This milling process, used to produce HA, presents the advantage that melting is not necessary and the powder obtained is nanocrystalline. The material can be compacted and transformed in solid ceramic samples. The high efficiency of the process opens a way to produce commercial amount of nanocrystalline HA.

We did a study of the structural and electrical properties of bioceramic hydroxiapatite (HA) thick films prepared by the screen printing technique. The films were prepared in two layers using the screen printing technique on Al_2O_3 substrates. Mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) to be used in the films. We also look for the effect of the grain size of the HA in the final properties of the film. The samples were studied using X-Ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive x-ray spectroscopy (EDS), infrared and Raman scattering spectroscopy and electric measurements. We did a study of the dielectric permittivity and the loss of the films in the radio-frequency of the spectra. One can notice that, for all the films there is a decrease of the DC with the increase of the frequency. The values of the dielectric constant of the films are in between 4 and 9 (at 1KHz), as a function of the fuse concentration. The loss is decreasing as we increase the frequency for all the films. The X-ray diffraction (XRD) patterns of the films indicate that all the peaks associated to HA phase is present in the films. These results strongly suggests that the screen-printing HA thick films are good candidates for applications in biocompatible coatings of implant materials but also for the insulating materials of electronic circuits and dielectric layer in bio-sensors.

We also did a study of the biocompatibility of the nanocrystalline HA. HA with different degrees of crystallinity and time of milling (HA2/60, HA4/15 and HA5/15) were used in the tests. The bioactivity analysis shows that all the samples implanted in rabbits can be considered biocompatible, since they had been considered non toxic, had not caused inflammation and reject on the part of organisms of the animals, during the

period of implantation. The samples implanted in rabbits had presented new osseous tissue formation with the presence of osteoblasts cells.

The physicochemical, optical, dielectric and piezoelectric properties of the anionic collagen (Col), collagen-nanocrystalline hydroxyapatite (Col-HAN) and collagen-commercial hydroxyapatite (Col-HACOM) composite was studied in view of the development of new biomaterials which have potential applications in support for cellular growth and in systems for controlled drug delivery.

The piezoelectric strain tensor element d_{14} , the elastic constant s_{55} , and the dielectric permittivity ϵ_{11} were measured for the anionic collagen film, with value of 0,102 pC/N, which is in good agreement compared with values reported in the literature obtained with other techniques. For the collagen-HAN composite membranes, a slight decrease of the value of the piezoelectricity (0,041 pC/N) and 0,012 pC/N for the Col-HACOM was observed. The thermal analysis shows two denaturation endothermic for the collagen sample, Col-HAN and Col-HACOM composite films. The Col-HAN composite film shows a better thermo stability, if compared with Col-HACOM sample.

The X-ray diffraction pattern of the collagen film shows a broad diffraction pattern characteristic of amorphous material. The main peaks associated to the crystalline HA are present in the sample of Col-HAN and Col-HACOM. In the Col-HAN composite, one can also notice the presence of other peaks with low intensities which is an indicator of the formation of other crystalline phases of apatite.

1º Capítulo

1. Introdução

A biocerâmica, baseada em fosfato de cálcio principalmente em forma de hidroxiapatita (HA), tem sido muito utilizada em medicina e odontologia nos últimos 20 anos, sendo um dos grandes avanços da medicina, pois apresenta a possibilidade de reparar e/ou substituir partes do corpo humano por materiais pré - fabricados. As inúmeras aplicações incluem películas para cobertura de implantes ortopédicos e dentários, cirurgias maxilofacial e otolaringologia [1]. Com respeito às películas, elas promovem a adesão entre a prótese e o osso [2]. A HA esta presente em vertebrados com cerca de 60 a 70% da fase mineral em ossos humanos [3]. O osso humano é formado basicamente por uma fase orgânica e outra mineral. Na fase orgânica, as fibras de colágeno servem como matriz para a precipitação da HA (fase mineral), determinando as estruturas dos cristais.

Atualmente não há como imaginar a medicina moderna sem a utilização de materiais metálicos, polímeros, carbono vítreo, biovidros e biocerâmicas em implantes. A pesquisa desses novos materiais tem aumentado nos últimos anos devido a sua enorme importância e tentativa de não rejeição por parte do corpo humano.

A possibilidade da construção anatômica e funcional das partes do corpo humano tem levado diversas áreas da ciência a buscar novas alternativas para os materiais já existentes; os denominados biomateriais, compatíveis com o corpo humano e, portanto, capazes de serem implantados sem que haja rejeição no organismo. Portanto, o estudo e desenvolvimento desses tipos de materiais são de fundamental importância para o ser humano, possibilitando a reconstrução e/ou substituição de partes de ossos e cartilagens do corpo humano por formas específicas chamadas implantes, próteses ou dispositivos prostéticos [4].

Os biomateriais são materiais utilizados em implantes no corpo humano ou de animais [5-6], podendo ser permanentes, como no caso dos marca - passos, próteses de ossos e dentes, ou temporários como o cateter. Suas propriedades mecânicas e químicas, num sentido geral, e o grau de aceitação pelo "hospedeiro", no caso do corpo humano, determinarão seu desempenho biológico ou biocompatibilidade, responsável pela existência ou não de rejeição do material pelo organismo. As propriedades básicas requeridas para esses tipos de materiais são a completa biocompatibilidade com a maior

resistência mecânica possível, eficiente bioatividade, resistência química, especialmente aos fluidos sanguíneos e um bom desempenho (articulação) mecânico.

A biocompatibilidade é entendida como a compatibilidade entre o material da prótese e o sistema biológico, podendo ser classificada como compatibilidade estrutural e superficial. A compatibilidade estrutural refere-se à adaptação mecânica do implante com o ambiente onde este será colocado, como exemplo o osso humano, devendo apresentar uma ótima transmissão de carga mecânica entre ambos. A compatibilidade superficial é outro ponto fundamental neste caso, uma vez que a superfície da prótese está diretamente em contato com o tecido humano, portanto, a interação entre eles será responsável pela rejeição ou não do organismo. Esta compatibilidade superficial apresenta uma maior eficiência quando são utilizados materiais bioativos na superfície da prótese, como é o caso de filmes de hidroxiapatita (HA) e observação do seu comportamento em contato com fluidos corporais simulados [7].

A HA apresenta uma estrutura semelhante ao tecido ósseo, permitindo uma maior interação com este. Com o tempo há o crescimento de tecido ósseo sobre o filme de HA. No trabalho de Vogel e Höland [5] um dos testes para a verificação da biocompatibilidade de vitro-cerâmicas foi realizado submetendo-se o material da prótese a uma cultura de células, verificando-se após algum tempo a ausência de qualquer indício de deterioração destas. Para testar a bioatividade, Vogel e Höland [5] realizaram implantes de cubos de vitro-cerâmicas em cobaias, na região da tíbia. Após doze semanas esses implantes foram retirados. A força necessária para retirá-los foi da ordem de 5N/mm^2 , que é oito vezes maior do que a utilizada em outros implantes. Além deste fato, verificou-se também a presença de tecido ósseo firmemente aderido na biocerâmica.

É bastante conhecido que, na constituição dos ossos e dentes, tem-se a presença dos elementos cálcio e fósforo [8]. Sabe-se também que esses elementos são encontrados na natureza como **Fluoroapatita** ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) que pertence à série dos minerais isomórficos denominados **Apatita** [9].

Os componentes dos ossos são classificados em orgânicos e inorgânicos. Os orgânicos, com aproximadamente 30% em peso, são feitos de colágeno, uma segunda substância que funciona como cimento e os componentes celulares. A fração inorgânica por sua vez consiste de uma parte amorfa e outra cristalina. A primeira fase aparece predominantemente em ossos jovens, sendo parcialmente transformada com o passar do tempo em uma fase cristalina denominada **Hidroxiapatita** (HA) [10], com fórmula

$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e uma estrutura cristalográfica bem definida [42]. Aproximadamente 40% em peso de um osso humano adulto é composto de HA.

Os primeiros implantes foram realizados com materiais utilizados mais em aplicações comerciais do que propriamente em medicina, causando inflamações e rejeição. A segunda geração de materiais biocompatíveis foi de materiais inertes que não degradavam e não apresentavam influência significativa sobre o metabolismo. A terceira geração de materiais foi utilizada como indutor de processos metabólicos e crescimento de tecidos que foram denominados de indutores bioativos ou metabólicos. Finalmente, a quarta geração é denominada de compósitos celulares, utilizados no sistema de transporte para proliferação e diferenciação das células.

Vários autores citam exemplos de biomateriais compostos de metais e ligas [43], polímeros orgânicos [4], cerâmicos [11] e biovidros [12]. Combinações de polímeros, compósitos feitos de polímeros com fibras de carbono e cerâmicas bioativas ou bioinertes também têm sido utilizadas na construção de próteses. Existe ainda a necessidade de utilização de diferentes tipos de materiais na produção de uma única prótese, como por exemplo, ligas de titânio para formar o corpo da prótese (com resistência mecânica e à corrosão), um filme fino de hidroxiapatita para compatibilizar o material formador do osso com a prótese (bioatividade), uma superfície esférica de alumina na extremidade da prótese para melhorar sua resistência e uma capa de polietileno.

Devido às suas propriedades, principalmente sua biocompatibilidade, a HA tornou-se então uma das substâncias mais estudadas nos últimos doze anos [10, 13-16, 23]. Uma das propriedades mais interessantes da *Hidroxiapatita* é sua bioatividade, ou seja, a formação e interação de tecido ósseo sobre sua superfície. Este fato está diretamente relacionado com a sua porosidade. Estudos de porosidade em implantes de HA em cães [13] e em maxilar humano [14] mostraram que houve colagem do osso dentro dos poros aberto presentes na superfície do implante. No caso de implantes com HA densa, o estudo em cães [15] e biopsias realizadas em humanos [16] mostraram que esses implantes foram envolvidos por fibras de tecidos humanos, com uma quantidade variável de formação de novo tecido ósseo.

Apesar dessas qualidades, as propriedades mecânicas da apatita são relativamente pobres. Embora resista a forças de compressão da ordem de 250 MPa, sua resistência à fadiga ainda é muita baixa [17]. A solução deste problema foi à utilização de próteses metálicas recobertas com filmes de apatita [6, 18], apresentando grandes

resultados. Tais filmes são depositados sobre substratos bioinertes como ligas de titânio, cuja função é promover a fixação da prótese ortopédica no organismo humano, ou seja, biocompatibilizar a prótese com o tecido, evitando deste modo a rejeição pelo organismo. Existem vários benefícios devido à utilização de camadas de HA exemplificando a rápida adaptação do implante com o tecido ao seu redor, reduzindo o tempo de restabelecimento [19], aumento na formação do osso [20], ótima fixação entre o implante e o osso [21] e a redução da liberação de íons metálicos [22]. Apesar desses benefícios, deve-se tomar um cuidado especial com a espessura do filme, uma vez que filmes poucos espessos podem degradar com o tempo. Experiências mostraram que poucas semanas após o implante cerca de 10 a 15 μm da superfície da apatita dissolvem-se durante o processo de interação com o tecido ósseo. Por outro lado, filmes de 100 a 150 μm podem apresentar defeitos devido à fadiga. A espessura mais adequada que se tem encontrado é em torno de 50 μm [17].

Além das cerâmicas, outros materiais têm demonstrado grande potencial como substituto de filmes de HA como os biovidros e biocerâmicas [5, 6] ou vitro-cerâmicas bioativas. Um dos maiores estudiosos desses tipos de materiais é Larry L. Hench [23] que desenvolveu biovidros e biocerâmicas. Como vantagens desses materiais pode-se citar sua excelente integração óssea, uma maior flexibilidade de alteração da composição e controle da estabilidade química. Esses materiais têm apresentado excelente biocompatibilidade, não interferindo nas células dos tecidos onde são implantados. Pode-se citar alguns exemplos de biovidros como os desenvolvidos por Ogino e Hench [24] que estudaram filmes de SiO_2 - Na_2O - CaO - P_2O_5 e SiO_2 - Na_2O ou ainda sistemas do tipo SiO_2 - Na_2O / K_2O - MgO - Al_2O_3 - F ou SiO_2 - Na_2O - CaO - Al_2O_3 - B_2O_3 , entre outros [5, 6]. Os filmes de biovidros podem também apresentar na sua constituição quantidades significativas de apatita. A partir de um tratamento térmico adequado, pode-se melhorar sua bioatividade, permitindo uma ligação mais adequada com o tecido ósseo [25].

Vários processos [26,27] são utilizados para produzir HA com amplas aplicações, inclusive substituto temporário do osso humano [27-30]. A síntese hidrotérmica é caracterizada pela reação de solução aquosa em recipiente fechado com controle de temperatura e pressão. Um método específico de síntese hidrotérmica consiste de submeter soluções aquosas contendo Ca^{+2} e PO_4^{-3} a altas temperaturas (200 – 500°C).

Nos trabalhos realizados até agora [32], foi obtida BTO e BSO pela técnica de síntese por moagem mecânica. A vantagem desse processo refere-se ao fato de que a

fusão não é necessária para que haja formação de pó nanocristalino e o material exhibe excelentes propriedades mecânicas [31-33].

Recentemente, um grande interesse tem sido focalizado no uso de compósitos de materiais biodegradáveis ou bioabsorvíveis tal como colágeno [34-35], gelatina [36] e polímeros sintéticos como o Polihema [37].

Colágeno, o qual existe em uma variedade de formas morfológicas [38], é a mais abundante estrutura protéica no tecido conectivo além de ter uma longa história como biomaterial [39]. Moléculas individuais de colágenos, na qual as hastes são semiflexíveis, tem diâmetro em torno de 1 nm e comprimento em torno de 280 nm, sofrem auto-reagrupamento para formar estruturas de redes complexas. Alguns materiais biológicos e biopolímeros são base para exhibir uma orientação polar uniaxial de moléculas dipolares, podendo ser considerados bioeletrodos. Materiais poliméricos biocompatíveis são agora usados extensivamente após tratamento de polarização próprio para aplicações biomédicas como superfícies antitrobogênicas e membranas artificiais [40]. Estudos de piro e piezeletricidade em vários tipos de sistemas biológicos mostraram a presença de polaridade natural na estrutura de várias partes de animais e plantas. Em muitas estruturas naturais de moléculas polares como as proteínas, são alinhadas em paralelo com uma direção preferencial do eixo polar para formar uma estrutura cristalina. Essas estruturas podem ser vistas como eletrodos naturais, por que pode ser observada, na direção axial, polarização intrínseca, piroeletricidade e piezeletricidade [40].

Propriedades piezelétricas do colágeno têm sido investigadas em sistemas biológicos complexos como o osso e tendão. Propriedades piezoelétricas do osso são de grande interesse em vista de sua função no crescimento ósseo [41].

1.1. Objetivos

Dentro desse contexto, este trabalho destina-se ao estudo de propriedades ópticas e estruturais da hidroxiapatita (HA) obtidas por moagem de alta energia; propriedades ópticas e elétricas de filmes espessos sobre superfície de alumina; propriedades ópticas dos testes de bioatividade e propriedades ópticas, térmicas e elétricas de seu compósito com colágeno aniônico . As seguintes etapas serão desenvolvidas:

- a. Síntese e caracterização de hidroxiapatita nanocristalina (HA) obtida através de novo procedimento de moagem de alta energia;
- b. Síntese e caracterização de filme espesso de HA pelo método “Screen-Printing”;
- c. Estudo da bioatividade de HA *in vivo*;
- d. Obtenção e caracterização de novos compósitos de Colágeno-HA.

No capítulo 2 serão mostradas as técnicas experimentais de Síntese por Moagem Mecânica aplicadas na caracterização dos materiais estudados e observações referentes à difração de Raios X, Espectroscopias de Infravermelho e Raman, Constante Dielétrica e Perda, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) juntamente com a Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) e análise de Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC).

No capítulo 3 serão apresentados os resultados referentes a HA nanocristalina com especial destaque a sua obtenção por técnica de mecanossíntese, e comparação com método de precipitação, filmes espessos obtidos com uma mistura de HA nanocristalina, vidro como fundente e quitosana como ligante, além de testes de bioatividade realizados em coelhos com HA nanométrica.

No capítulo 4 serão apresentados os resultados para filmes de colágeno com suas devidas caracterizações e dos novos compósitos obtidos de hidroxiapatita nanocristalina e colágeno.

As conclusões decorrentes deste trabalho serão tratadas no capítulo 5. Os trabalhos futuros e publicações decorrentes deste trabalho, serão abordadas nos capítulos 6 e 7 respectivamente.

1.2. Referências Bibliográficas

- [1] Lavernia, C.; Schoenung, J.M. - *Bull. Am. Ceram. Soc.*, **70** (1991) 95.
- [2] Sergo, V.; Sbaizero; Clarke, D.R. - *Biomaterials*, **18** (1997) 477.
- [3] Constanz, B.R.; Ison, I.C.; Fulmer, M.T.; Posser, R.D.; Smith, S.T.; Van Wagoner; Ross, J.; Goldstein, S.A. - *Science*, **267** (1995) 1796.
- [4] Hench, L. L.; Wilson, J.; in *An Int. to Bioceramics*, **1** (1) (1993) 1-24.
- [5] Vogel, W.; Höland, W.; *Angew. Chem. Int.*; Ed. Engl. **26** (1987) 527-544.
- [6] Pajamäki, K. J. J.; Lindholm, T. S.; Andersson, Ö. H.; Karlsson, K. H.; Vedel, E.; Yli-Urpo, A.; Happonen, R. P.; *Jour. of Mater. Sci.: Materials in Medicine*, **6** (1995) 14-18.

- [7] Ohtsuki, C.; Kokubo, T.; Yamamuro, T.; *Jour. of Non-Crystalline Solids* **143** (1992) 84-92.
- [8] Posner, A.S.; in "Phosphorus and its compounds", v. II, Edited by J. R. van Wazer (Interscience, New York, 1961)
- [9] Mellor, J. W.; in "Comprehensive Treatise on Inorganic and Theoretical Chemistry", **3** (Longmans Green, London, 1922) 896
- [10] Narasaraaju, T. S. B.; Phebe, D. E., *Jour. of Mater. Sci*, **31** (1996) 1-21.
- [11] de Aza, P. N.; Guitian, F.; Merlos, A.; Lora-Tamayo, E.; de Aza, S.; *Jour. Of Mater. Sci: Materials and Medicine* **7** (1996) 399-402.
- [12] Galliano, P. G.; Porto Lopéz, J. M.; *Jour. of Mater. Sci: Materials and Medicine* **6** (1996) 353-359
- [13] Holmes, R. E.; Roser, S. M.; *Int. Jour. Oral Maxilifac. Surg.* **16** (1987) 718.
- [14] Frame, J. W.; Rout, P. G. J.; Browne, R. M., *Int. Jour. Oral Maxilifac. Surg.* **18** (1989) 142.
- [15] de Lange, G. L.; de Putter, C.; de Groot, K.; Burger, E. H., *Jour. Dent. Res.* **68** (1989) 509.
- [16] Page, D. G.; Laskin, D.; *Int. Jour. Oral Maxilifac. Surg.* **45** (1987) 356.
- [17] Stea, S.; Visentin, M.; Savarino, L.; Donati, S. E., Pizzoferrato, A.; Moroni, A.; Caja, V.; *Jour. of Mater. Sci: Materials and Medicine* **6** (1995) 455-459.
- [18] Wang, P. E.; Chaki, T. K.; *Jour. of Mater. Sci: Materials and Medicine* **6** (1995) 94-104.
- [19] Ducheyne, P., Beight, J.; Cuckler, J.; Evans, B.; Radin, S.; *Biomaterials*, **11** (1990) 53.
- [20] Ducheyne, P., Hench, L. L.; Kagan, A.; Martens, M.; Burssens, A.; Mulier, J. C., *Jour. Biomed. Mater. Res.* **14** (1980) 225.
- [21] Ducheyne, P.; Cuckler, J. M.; *Clin. Orthop. Rel. Res.* **276** (1992) 102.
- [22] Ducheyne, P. and Healy, K.; *Jour. Biomed. Mater. Res.* **2** (1989) 1137.
- [23] Hench, L.L. - *J. Am. Ceramics Soc.*, **74** (1991) 1487-1510.
- [24] Ogino, M.; Hench, L. L.; *Jour. Non-Cryst. Solids*; **38 & 39** (1980) 673-678.
- [25] Hill, R.; Wood, D.; *Jour. of Mater. Sci.: Materials in Medicine*, **6** (1995) 311-318.
- [26] Yaszemsk, M.J.; Payner, R.G.; Haynes, W.C.; Langer, R.; Mocos, A.G – *Biomaterials*, **17** (1996) 175.

- [27] Liu, H.S.; Chin, T.S.; Lai, L.S.; Chiu, S.Y.; Cheng, K.H.; Chang, C.S.; Lui, M.T.- *Ceram. Intern.* **23** (1997) 19.
- [28] Fernandes, G.F.; Laranjeira, M.C.M. - *Química Nova*, **23** (2000) 441.
- [29] Heimke, G., *Angew. Chem.*, **101** (1989) 111.
- [30] Bet M.R.; Goissis, G.; Plepis, A.M.D. - *Química Nova*, **20** (1997) 475.
- [31] Figueiredo, R.S.; Messai, A.; Hernandez, A.C.; Sombra, A.S.B. - *J. Mat, Sci. Letters*, **17** (1998) 449.
- [32] Vasconcelos, I. F. de Figueredo, S.D.; Guedes de Lima, S.J.; A.S.B. Sombra - *J. Mat. Sci. Letters*, **18** (1999) 1871.
- [33] Vasconcelos, I. F. - *J. Mat. Sci. Letters*, **36** (2001) 587.
- [34] Rhee, S.; Tanaka, J. - *J. Am. Ceram. Sci.*, **81**, 11 (1998) 3029-31.
- [35] Doi, Y.; Horiguchi, T.; Moriwak, Y.; Kitago, H.; Kagimoto, T.; Iwayama, Y. - *J. Biomedical Material. Research*, **31** (1996) 43-9.
- [36] Bigi A.; Panzavolta, S.; Roveri, N. - *Biomaterials*, **19** (1998) 739-44.
- [37] Liu Q.; de Wijn, J.R.; van Blitterswijk, C.A. - *J. Biomedical Material. Research*, **40: (2)** (1998) 257-63.
- [38] Nimni, M.E. - *Collagen: Biochemistry*, **1** CRC, 1988.
- [39] Nimni, M.E. - *Collagen: Biotechnology*, **3** CRC, 1988.
- [40] Mascarenhas, S., *Bioelectres: Electres in Biomaterials and Biopolymers*, in topics in Applied Physics, **23**, Electres, Springer - Verlag, Berlin, 1987.
- [41] Fukada, E. - *Piezoelectricity and Pyroelectricity of Biopolymers in Ferroelectric Polymers*, Marcel Dekker INC., (1995) 393-439.
- [42] Mohammadi, S.; Wictoribn, L.; Ericson, L. E.; Thonsen, *Jour. of Mater. Sci: Materials and Medicine* **6** (1995) 435-444.
- [43] LeGeros, R. Z. and LeGeros, J. P.; in *An Int. to Bioceramics*, **1** (9) (1993) 139-180.

Capítulo 2

2. Técnicas Experimentais

Este trabalho utilizou técnicas de caracterização para identificar a estrutura da HA e conseqüentemente as fases obtidas pelo processo de moagem (pó) e sinterização (filme) com a difração de Raios-X [1-3], Espectroscopia Infravermelho com transformada de Fourier [4-5], Espectroscopia de Espalhamento Raman [6-8], Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) [23], Energia Dispersiva de Raios-X [26] e Análise Térmica Diferencial DSC [30]. Haverá um detalhamento maior sobre o processo de síntese por moagem mecânica devido ser esta a base experimental da obtenção da HA, e sobre medidas piezelétricas, relacionando os fatores de perdas piezelétricas e dielétricas.

2.1. Síntese por Moagem Mecânica

A técnica de síntese por moagem mecânica ou comumente denominada moagem mecânica é uma ferramenta poderosa no processamento de materiais. Surgida no final da década de 60 nos Estados Unidos foi desenvolvida inicialmente na fabricação de ligas à base de ODS (*Oxide Dispersion Strengthening*) com resistência a altas temperaturas e aplicações em turbinas de avião. Essa técnica passou a ser aplicada para produção de uma vasta gama de novos materiais, incluindo materiais amorfos [9], nanocristalinos [10] e ligas com elementos normalmente imiscíveis [11].

O equipamento empregado na síntese por moagem mecânica é o moinho de bolas de alta energia, constituído de jarras internas onde é colocada a mistura de pós elementares ou de ligas junto com as bolas, e as partículas de pó estão sujeitas às colisões de altas energias pelos seus movimentos. Os materiais utilizados na confecção das jarras e bolas, geralmente, são carbeto de tungstênio, aço ou cerâmica, cujas diferenças de densidade e dureza influenciam no resultado do processo, dependendo das sucessivas fraturas e soldagens das partículas em conseqüência desses impactos.

Os moinhos mais utilizados nessa técnica são os planetários (Figura 2.1), vibratórios, horizontais ou atritores, onde todos usam o mesmo procedimento descrito anteriormente. O moinho planetário proporciona choques de altas e variadas energias e, por produzir pequenas quantidades de pó, é muitíssimo utilizado em nível laboratorial. É composto por jarras montadas em um disco que gira em torno do seu próprio eixo

com velocidade angular Ω . As jarras giram em sentido contrário com velocidade angular ω e as forças centrípetas criadas por essas rotações são aplicadas nas bolas e na mistura de pós contidos nas jarras, produzindo choques com energias até 40 vezes maiores que as provocadas pela força da gravidade.

Outro tipo de moinho de alta energia utilizado em escala laboratorial é o moinho vibratório, onde a carga de bolas e do pó é agitada em três direções perpendiculares entre si. O terceiro tipo de moinho é o chamado horizontal, composto por uma jarra que gira em torno de um eixo central horizontal com velocidade máxima abaixo da velocidade crítica que mantém a bola colada na parede interna da jarra. As bolas sobem coladas na parede da jarra até uma altura máxima de onde caem, produzindo choques de baixa energia, comparados com os choques do moinho planetário. Esse tipo de moinho é inviável para ensaios laboratoriais porque para atingir energias de impacto suficientes para a síntese por moagem mecânica, o diâmetro da jarra deve ser maior ou igual a 1 m.

Além dos choques, o atrito mecânico também se comporta como meio a transferir energia para a mistura de pós.

O moinho atritor é o quarto tipo de moinho, composto por um eixo central com aletas que giram em alta velocidade provocando colisões e fricções entre as bolas e a mistura de pós. A capacidade máxima desse moinho é em torno de $0,3 \text{ m}^3$ com o eixo girando a velocidades próximas de 250 rpm. A energia transferida para o pó é relativamente baixa comparando-se com as energias dos moinhos planetários e vibratórios, provocando grande contaminação do pó durante o movimento de fricção entre as bolas.

2.1.1. Propriedades Microestruturais dos Pós

2.1.1.1. Contorno de Grão

O contorno de grão é um defeito bidimensional e é definido como a fronteira que separa dois grãos ou cristais com orientações cristalográficas diferentes. A sua existência não corresponde a um estado de mínima energia, mas é determinada pela história do material. Um exemplo simples seria a situação quando um líquido solidifica, ocorrendo a cristalização a partir de vários núcleos orientados, aleatoriamente, crescendo juntos e formando agregados cristalinos, ou ainda, quando um material é

processado por síntese mecânica, seus grãos são quebrados sistematicamente formando os contornos. Nesta situação os átomos estão mais fracamente ligados ao longo do contorno e possuem, em média, mais energia do que os átomos no interior do cristal devido a essas energias de contorno. Em termos gerais, a energia do contorno de grão é a soma do excesso de energia de todos os átomos do contorno, relacionado aos átomos internos. O valor dessa energia é função do grau de desorientação dos átomos do contorno.

Os contornos de grão são mais reativos, quimicamente, em razão dessa energia interfacial, sendo menor em materiais com grandes grãos por causa da quantidade menor de superfície que eles possuem. Os grãos tendem a crescer a altas temperaturas para reduzir o valor total da energia superficial.

2.1.1.2. Difusão em Materiais

Para haver mudanças microestruturais ou reações químicas em sólidos é necessário que haja movimento de átomos e moléculas. Esse movimento é denominado difusão. Do ponto de vista atômico, a difusão é a migração de átomos de um sítio para outro da rede cristalina. Para um átomo se mover desta forma é necessário que o sítio vizinho esteja desocupado e que ele tenha energia suficiente para quebrar as ligações que o mantêm naquela posição.

Dois tipos de difusão podem ser identificados. No primeiro caso, os átomos saem de seu sítio para uma lacuna vizinha. Esse tipo de difusão depende da existência de lacunas e sua extensão é função da quantidade desses defeitos existentes no material. O segundo caso envolve a migração de átomos de um sítio intersticial para outro. Esse tipo de difusão é mais comum e mais rápido, pois normalmente existem mais sítios intersticiais vagos que lacunas, além dos átomos intersticiais serem menores e mais móveis.

O parâmetro que mede a eficiência da difusão é o coeficiente de difusão D . Para determiná-lo é necessário definir um fluxo de átomos J durante a difusão, assim como a quantidade de massa ou átomos M que atravessam uma seção reta do material, de área A , por unidade de tempo, ou seja:

$$J = \frac{1}{A} \frac{dM}{dt} \quad 2.1$$

Se a difusão for estacionária, ou seja, o fluxo independe do tempo, a concentração C do elemento em processo de difusão, ao longo de cada posição x do material, é invariável com o tempo. O fluxo na direção x pode ser escrito como:

$$J = -D \frac{dC}{dx} \quad 2.2$$

onde dC/dx é o gradiente de concentração ao longo de x e o sinal negativo indica que a direção de difusão é contrária ao gradiente de concentração. A Equação 2.2 é conhecida como a primeira lei de Fick. Para o caso da difusão não ser estacionária, tanto o fluxo como a concentração em cada ponto do sólido varia com o tempo. Neste caso usa-se a Equação da segunda lei de Fick:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left(D \frac{\partial C}{\partial x} \right) \quad 2.3$$

Um fator primordial que influi na difusão dos átomos é a temperatura. A dependência do coeficiente de difusão com a temperatura é dada por [12]:

$$D = D_o \exp \left(-\frac{Q_d}{RT} \right) \quad 2.4$$

onde D_o é a parte do coeficiente de difusão que independe da temperatura, Q_d é a energia de ativação para a difusão, R é a Constante universal dos gases e T a temperatura em escala Kelvin.

2.2. Modelagem do Moinho

A mecanossíntese é uma técnica barata, eficiente e extremamente flexível, com diversos parâmetros que influenciam no resultado final do processo, tais como: massa e velocidade das bolas (energia de choque), relação entre massa das bolas e massa dos pós, frequência do choque e tempo de moagem, com efeitos diferentes para cada tipo de moinho utilizado. É razoável supor, que a técnica de síntese por moagem mecânica torne-se cada vez mais importante, à medida que os estudos desses parâmetros no produto final da moagem sejam desenvolvidos. As dificuldades em se descrever um processo com tal complexidade são uma barreira para um estudo mais profundo, mesmo com o conhecimento do processo empírico experimentalmente estabelecido. Uma descrição qualitativa da síntese mecânica é extremamente importante e necessária para que haja a possibilidade de previsão dos resultados do processo, ou pelo menos, a

determinação de quais parâmetros físicos são responsáveis pelo produto final da moagem.

Visando um conhecimento qualitativo do processo de moagem serão abordados dois tópicos de modelagem. Primeira parte terá destaque à modelagem do choque e a segunda do produto final envolvidos na moagem.

2.2.1. Choque

O choque é o principal evento de transferência de energia do moinho para a mistura de pós e por isso, as características do choque determinarão o resultado da moagem, dependendo da geometria das colisões. O pó pode ser preso entre duas bolas ou ainda entre uma bola e parede do moinho com variação de ângulos de impacto (Figura 2.2). Magini e Iasonna [13] propõem um modelo para quantificar o fenômeno de transferência de energia, durante a mecanossíntese, sustentado por medidas experimentais da potência elétrica e mecânica consumidas durante a moagem, em moinho planetário. A potencia média \bar{P} envolvida em um processo de moagem é dada pelo produto de um fator intensivo, ou seja, a energia cinética da bola no instante do choque (E_k) que depende de uma única colisão, por um fator extensivo denominado frequência de choque (f), que depende de toda a moagem, representado pela Equação 2.5.

$$\bar{P} = E_k f \quad 2.5$$

2.2.2. Produto Final

O produto final da moagem depende, essencialmente, dos choques, pois estes são a principal forma de transferência de energia do moinho para os pós. Neste caso, faz-se necessária uma descrição qualitativa de como os parâmetros do choque influenciam as características do produto final da moagem. Alguns modelos do produto final são descritos abaixo, de acordo com o parâmetro ou parâmetros do choque considerados responsáveis pelas reações.

2.2.2.1 Energia Cinética

Burgio e col. [14] propuseram um modelo para correlacionar as condições de operação e o produto final em um moinho planetário Fritsch Pulverisette 5. A trajetória de uma bola em um moinho desse tipo está esquematizada na Figura 2.1 e os movimentos do disco e das jarras são acoplados, com velocidades angulares (Ω) e da jarra (ω) relacionadas por $\omega = -1,25 \Omega$. Uma breve descrição do modelo juntamente com os resultados experimentais que os sustentam são apresentados a seguir:

Uma bola, de massa m_b e diâmetro d_b , é colocada a mover-se colada a parede da jarra do moinho sem girar ou rolar até ser lançada em direção à parede oposta por uma composição de forças inerciais e, após um ou mais choques, volta a ficar colada à parede, movendo-se com velocidade igual à da parede até ser lançada novamente. A velocidade da bola no momento em que ela descola da parede é calculada por considerações da geometria do moinho e é dada pela Equação 2.6.

$$V_b = \left[(\Omega R)^2 + \omega^2 \left(r - \frac{d_b}{2} \right)^2 \left(1 - 2 \frac{\omega}{\Omega} \right) \right]^{1/2} \quad 2.6$$

Onde R e r são os raios do disco e da jarra, respectivamente. Após a bola descolar da parede da jarra, ela não sofre mais ação de nenhuma força, sendo razoável supor que, no momento antes de ocorrer o choque, a velocidade da bola é também obtida pela Equação 2.6. A velocidade da bola após o impacto é a mesma de um ponto da parede da jarra e pode ser calculada pela Equação 2.7, desenvolvida a partir da Equação 2.6.

$$V_s = \left[(\Omega R)^2 + \omega^2 \left(r - \frac{d_b}{2} \right)^2 + 2\Omega\omega R \left(r - \frac{d_b}{2} \right) \right]^{1/2} \quad 2.7$$

A energia cinética ΔE (Equação 2.8) transferida da bola ao pó durante o choque é calculada utilizando-se a diferença da energia cinética das equações 2.6 e 2.7, e é dada por:

$$\Delta E_b = E_b - E_s = \frac{1}{2} m_b (V_b^2 - V_s^2) = -m_b \left[\frac{\omega^3}{\Omega} \left(r - \frac{d_b}{2} \right) + \Omega\omega R \right] \left(r - \frac{d_b}{2} \right) \quad 2.8$$

A Equação 2.9 representa a energia total transferida por unidade de massa do pó durante toda a moagem, dada por:

$$f_b = \frac{K(\Omega - \omega)}{2\pi} \quad 2.9$$

onde ϕ expressa o grau de preenchimento da jarra ($\phi \leq 1$), N_b é o número de bolas colocadas na jarra, t é o tempo total de moagem, m_p é a massa do pó e f_b a frequência de choque das bolas com a parede do moinho. A expressão de f_b é definida por:

$$\Delta E_T = \frac{\phi \Delta E N_b f_b t}{m_p} \quad 2.10$$

onde o fator K depende das condições de moagem.

O nível de energia transferida para o pó durante um choque pode ser correlacionado às energias de ativação das varias reações que possam vir a ocorrer. Para certa condição de moagem, uma dada quantidade de energia é transferida durante o tempo integral da moagem. Essa energia total transferida para o pó determina que tipo de reação pode ocorrer. Demonstra-se experimentalmente que para pequenas energias com tempo de moagem curto ou baixa energia transferida por choque, ocorre um desordenamento da rede cristalina, enquanto que para quantidades maiores de energia, fases amorfas e intermetálicas são produzidas. Uma análise mais detalhada sobre a transferência de energia no processo de síntese mecânica pode ser encontrada na literatura [15-16].

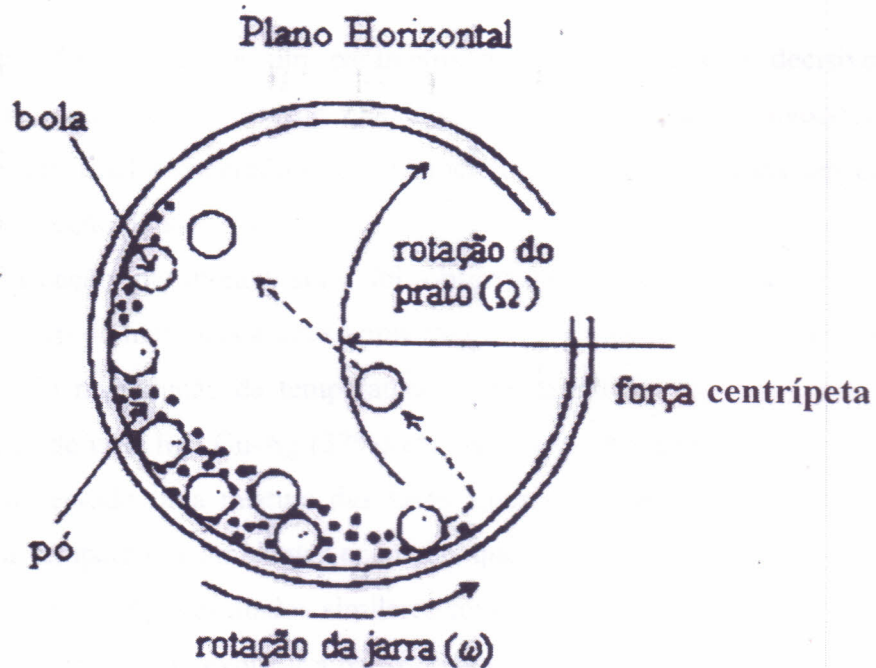


Figura 2.1 – Representação esquemática do movimento das bolas e da mistura de pós no moinho planetário.

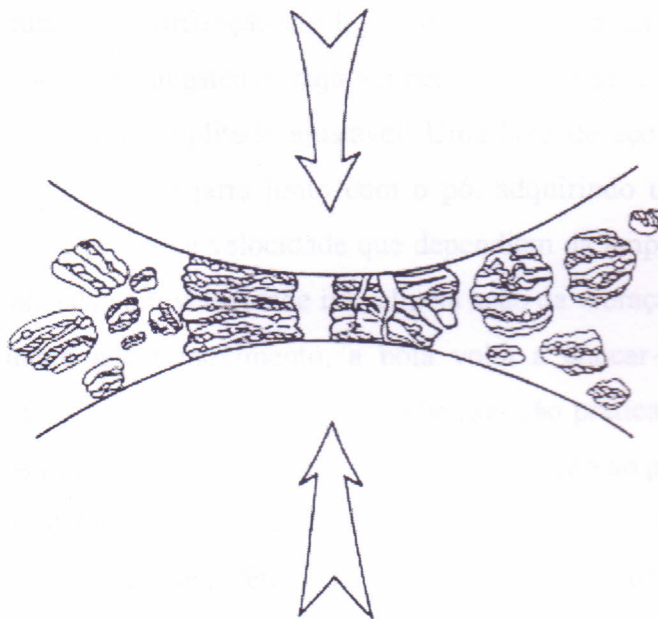


Figura 2.2 - Colisão Bola-Pó-Bola da mistura durante Síntese por Moagem Mecânica.

2.2.2.2. Temperatura de Moagem

A temperatura de moagem é um parâmetro muito importante e decisivo na constituição da formação do pó. Desde que o processo de difusão é envolvido na formação do produto final é esperado que a temperatura de moagem tenha um efeito significativo na formação do sistema.

Durante a formação de monocristais foi observado que o tamanho de grãos aumentou na moagem de materiais a altas temperaturas [17]. O grau de solubilidade do sólido foi observado na redução da temperatura de moagem. Um exemplo seria que durante a formação de uma liga Cu-Ag (37%) em sistema de moagem planetário ou de alta energia foi observado uma mistura das fases amorfa e cristalina (solução sólida super saturada) à temperatura ambiente, enquanto que a 200°C foi notada formação apenas de Cu-Ag (8%) [18]. Resultados similares foram observados em ligas de Zn-Al [19] e Ni-Ag [20] onde se pode explicar a partir do aumento de difusividade e efeitos de equilíbrio a altas temperaturas de moagem.

2.2.2.3. Intensidade da Moagem

Chen et col. [21] utilizaram um moinho vibratório planetário do tipo Fritsch Pulverisette para estudar a amorfização em ligas Ni-Zr. Tal dispositivo era composto por uma jarra de Carbetto de Tungstênio, cuja temperatura pode ser regulada e montada em uma base que vibra com amplitude ajustável. Uma bola de aço com massa entre 100g e 10.000g foi colocada na jarra junto com o pó, adquirindo um movimento de subida e descida com frequência e velocidade que dependiam da amplitude de vibração da base. A bola foi lançada com velocidade inicial pela ação da vibração da base e como é a única força atuante nesse movimento, a bola volta a chocar-se com a base a velocidade máxima. Devido à presença do pó, os choques são praticamente inelásticos, de forma que, após os impactos, a velocidade da bola com relação ao pó é zero.

A amorfização total é obtida se o produto $m_b V_{\text{máx}} f$ é maior que um valor mínimo. Abaixo desse valor, há uma coexistência de fases amorfas e cristalinas, ou seja, o mesmo produto final pode ser alcançado transferindo-se um grande *momentum* de impacto com baixa frequência ou ainda um *momentum* menor com uma frequência mais alta. Baseado nesses dados é definida uma intensidade de moagem I que governa o produto final:

$$I = \frac{m_b V_{\max} f}{m_p} \quad 2.11$$

onde m_b é a massa da bola, m_p a massa do pó colocado no moinho, V_{\max} a velocidade máxima da bola e f a frequência de impacto. A intensidade de moagem pode ser normalizada pela massa do pó, pois a frequência de impacto em uma dada partícula deve diminuir com o aumento da quantidade de pó colocada no moinho. Quanto maior a intensidade de moagem maior a fração de fase amorfa e a amorfização total é obtida para valores acima de uma intensidade específica I_a . Para a liga $Ni_{10}Zr_7$, à temperatura ambiente, seu I_a é aproximadamente 510 ms^{-2} .

2.3. Medidas Piezelétricas

O efeito piezelétrico foi descoberto em 1880 pelos irmãos Pierre e Jacques Curie [27]. Eles provaram que certos tipos de cristais desenvolvem carga elétrica quando exposto a uma determinada pressão mecânica. Inversamente, ao se aplicar um campo elétrico nesse cristal ocorrerá uma deformação física. Tem-se então que o fenômeno piezelétrico trata-se de uma interação linear entre um sistema elétrico e um sistema mecânico. Apenas materiais com suficiente assimetria, exibem propriedades piezelétricas [28].

Essas interações eletromecânicas têm sido aproximadas por uma relação entre essas duas variáveis [29]:

$$S = s^E T + dE \quad 2.12$$

$$D = dT + \epsilon^T E \quad 2.13$$

onde S é a deformação elástica, T é a tensão, E representa o campo elétrico, D o vetor deslocamento, s_{ij}^E é o tensor de acoplamento elástico (relativa ao campo E constante), ϵ_{ij}^T é o tensor dielétrico (relativa a tensão T constante) e d a constante piezelétrica.

Entre as 32 classes de materiais cristalinos, 11 possuem centro de simetria e são apolares. Para essas classes de cristais, aplicando-se uma tensão obtém-se um deslocamento iônico simétrico. As outras 21 classes cristalinas são não centro-simétricas, sendo 20 dessas classes possuidoras de efeito piezelétrico. A exceção

encontra-se no sistema cúbico com simetria característica no qual não se gera efeito piezelétrico.

Se o plano piezelétrico (Figura 2.3) polariza na direção indicada por P , transporta elétrons sobre as duas faces do plano, onde uma tensão compressiva causa um fluxo de corrente transiente no circuito externo, gerando corrente em direção oposta (Figura 2.3a). Inversamente, a aplicação do campo elétrico produz tensão no cristal, chamada força compressiva (Figura 2.3b). As mudanças na polarização, as quais acompanham o efeito piezelétrico direto são manifestadas na aparência da superfície do cristal e, no caso de um circuito fechado, na corrente [22].

2.3.1. Fator de Perda Dielétrica [22]

Um capacitor, conectado a uma fonte senoidal:

$$V = V_o e^{j\omega t} \quad 2.14$$

de frequência angular

$$\omega = 2\pi\nu \quad 2.15$$

armazena carga, quando o material é dielétrico no vácuo.

$$Q = C_o V \quad 2.16$$

e atrai uma corrente de carga

$$I_c = \frac{dQ}{dt} = j\omega C_o V = I_o e^{j(\omega t + \pi/2)} \quad 2.17$$

destacando a voltagem por um ângulo de fase temporal em 90° . C_o é a capacitância do condensador no vácuo.

Quando o condensador é preenchido com alguma substância, sua capacitância aumenta para:

$$C = C_o \frac{\epsilon'}{\epsilon_o} = C_o k' \quad 2.18$$

onde ϵ' e ϵ_o representam a permissividade ou constante dielétrica no material e no vácuo, respectivamente, enquanto k' é a razão entre ambos denominada constante dielétrica relativa do material. Simultaneamente, pode ocorrer o aparecimento, ao adicionar-se o componente de corrente de carga I_c , de um componente de perda de corrente.

$$I_l = G.V \quad 2.19$$

na fase com a voltagem, onde G representa a condutância do dielétrico. Neste caso, a corrente total que atravessa o condensador é representada pela Equação 2.20:

$$I = I_c + I_l = (j\omega C + G).V \quad 2.20$$

e incluindo um ângulo de fator de perda $\theta < 90^\circ$, em oposição à voltagem V aplicada, na qual é, para uma perda de ângulo δ , oposto ao eixo j .

É prematuro concluir que o material dielétrico combinado com um capacitor paralelo por um resistor (circuito RC) tenha o mesmo comportamento elétrico. A resposta de frequência para esse circuito, a qual pode ser expressa pela razão da corrente de perda (I_l) pela corrente de carga (I_c), é denominada fator de dissipação (D) ou tangente do ângulo de perda ($\tan \delta$).

$$D \equiv \tan \delta = \frac{I_l}{I_c} = \frac{1}{\omega RC} \quad 2.21$$

Essa perda dielétrica pode ocorrer pela absorção de energia elétrica por um material dielétrico que está sujeito a um campo elétrico alternado [22]. A perda pode ser importante a frequências de campo elétrico nas vizinhanças da frequência de relaxação para cada um dos tipos de dipolo em operação para um material específico. É desejável uma baixa perda elétrica na frequência de utilização [22]. Uma frequência de relaxação é tomada como sendo o inverso do tempo mínimo de reorientação dos dipolos quando a estes são submetidas polarizações.

2.3.2. Fator de Perda Piezelétrica

Consiste na dissipação de energia mecânica próxima a vizinhança da ressonância piezelétrica. O estudo desse efeito em cerâmicas foi investigado e alguns autores atribuíram à histerese dielétrica [24], entretanto a principal causa foi interpretada como fricção interna no material [25]. O fator de perda Q^{-1} foi medido a partir da curva de ressonância da admitância elétrica (Y) em relação à frequência empregando a seguinte relação:

$$Q^{-1} = \frac{f_2 - f_1}{f_0} \quad 2.22$$

onde f_1 e f_2 correspondem às frequências localizadas no ponto em $(Y) = (Y_m)\sqrt{2}$. Y_m representa o valor do pico de ressonância máxima e f_0 sua frequência correspondente.

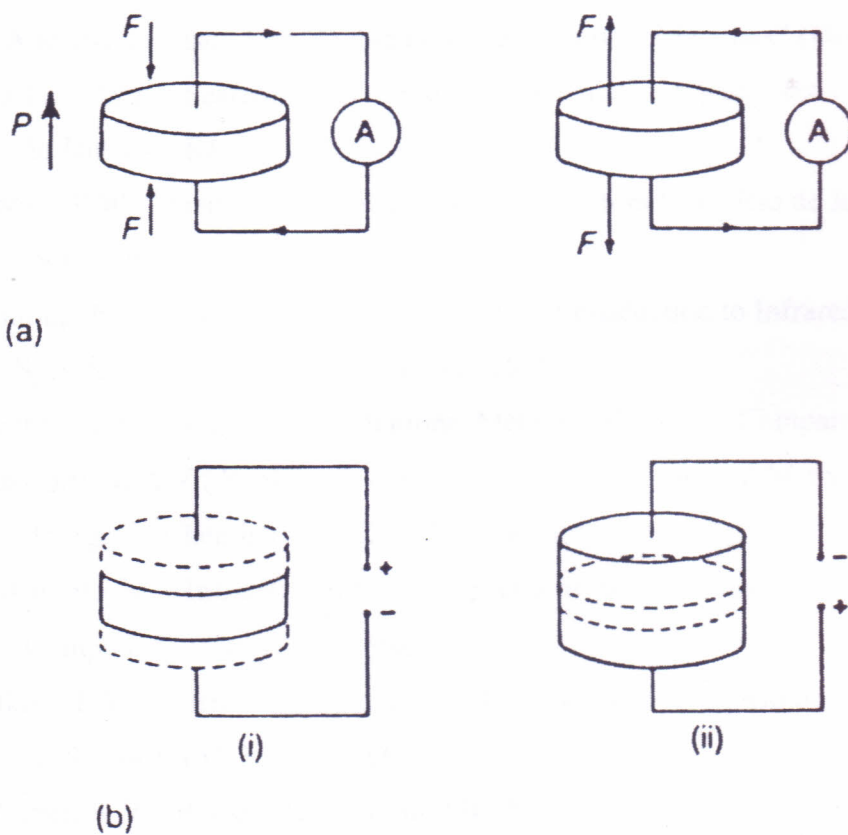


Figura 2.3 – (a) Efeito Piezelétrico Direto e (b) Efeito Piezelétrico Indireto.

(i) contração (ii) Expansão.

F = Força Compressiva, A = Corrente, P = Polarizabilidade.

2.4. Referências Bibliográficas

- [1] Sasaki, J.M.; Bleicher, L. – Introdução à Difração de Raios-X em Cristais, Apostila da Disciplina “Difração de Raios-X para Materiais” (UFC), 2000.
- [2] Moffatte, W.G.; Pearson, G.W.; Wulff, J. – Ciência dos Materiais – Estrutura, Rio de Janeiro – RJ, 1972, 45-7.
- [3] Atkins, P.W. – Físico-Química, **2**, 6ª Edição, Editora LTC, Rio de Janeiro – RJ, 1999, 276.
- [4] Colthup, N.B.; Dalm, L.H.; Wiberley, S.E. – Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy, Academic Press, NY, 1975.
- [5] Hachforth, H.L. – Infrared Radiations, McGraw-Hill Book Company, INC., 1960.
- [6] Ebsworth, E.A.V.; Rankin, D.W.H.; Cradock, S. – Structural Methods in Inorganic Chemistry, 5th Cap., Blackwell, Oxford, 1991.
- [7] Nakamoto, K. – Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds, Wiley, NY, 1986.
- [8] Atkins, P.W. – Físico-Química, **2**, 6ª Edição, Editora LTC, Rio de Janeiro – RJ, 1999, 140, 151-3, 161 e 166-7.
- [9] Weeber, A.W.; Bakker, H. – *Physica B* **153** (1988) 93-135.
- [10] Matteazzi, P.; Basset, D.; Miani, F.; Le Caër, G. – *Nano Struc. Mat.* **2** (1993) 217 - 29.
- [11] Yavari, A.R.; Desre, P.J.; Benamour, T. – *Phys. Rev.Lett.* **68** (1992) 2235-38.
- [12] Ragone, D.V. – *Thermodynamics of Materials II* John Wiley & Sons Inc. 1995.
- [13]. Magini, M.; Iassona, A. – *Mat. Sci. Fórum* **225-227** (1996) 229-36.
- [14] Burgio, N.; Iassona, A.; Magini, M.; Martelli, S.; Padella, F. – *Il Nuovo Cimento* **13D** (1991) 459-76.
- [15] Magini, M.; Burgio, N.; Iassona, A.; Martelli, S.; Padella, F.; Paradiso, E. – *J. Mat. Synth. Proc.* **1** (1993) 135-44.
- [16] Magini, M.; Iassona, A. – *Mat. Trans. JIM* **36** (1995) 123-33.
- [17] Hong, L.B.; Bansa, I.C.; Fultz, B. – *Nanostructured Mater.* **4** (1994) 949-56.
- [18] Qin, Y; Chen, L.; Shen H. – *Journal of Alloys and Compounds* **256** (1997) 230 -233.
- [19] Fu, Z.; Johnson, W.L. - *Nanostructured Mater.* **3** (1993) 175-80.
- [20] Mishurda, J.C. – University of Idaho – Moscow, ID, Published Results, 1993.
- [21] Chen, Y.; Bibole, M.; Hazif, R.L.; Martin, G. – *Phys. Rev.* **B48** (1993) 14-21.

- [22] Moulson, A.J.; Herbert, J.M. – *Eletroceramics – Materials, Properties and Applications*, 6th Edition, Chapman & Hall, London, 1997, 264-66.
- [23] Callister, Jr., W.D. – *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*, 5^a Edição, Editora LTC, Rio de Janeiro – RJ, 2002, 56-8 e 440-1.
- [24] Ikeda, T. – *J. Phy. Soc. Japan* **13** (1958) 809.
- [25] Bucci, C.; Fieschi, R. – *Phys. Rev. Lett.* **12** (1964) 16.
- [26] Goldstain, J.I.; Newbury, D.E.; Echein, P.; Joy, D.C.; Romig, Jr., A.D.; Lyman, C.E.; Fiori, C.; Lifshin, E. – *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis – A Text for Biologists, Materials Scientists and Geologists*, second Edition, Plenum Press, New York, 1992, 292-96.
- [27] Ikeda, T. – *Fundamentals of Piezoelectricity*, Oxford Science Publishers, 1996.
- [28] Park, J.B.; Lakes, R.S. – *Biomaterials: An Introduction*, 2^{se} Edition, Plenum Press, 1992.
- [29] Randerat, J. and Settrington, R.E. – *Piezoelectric Ceramics*, London, UK, Mullard Limited, 1974, 211.
- [30] Su, H. – *Introduction to TG/DTA/DSC*, In: *Thermal Processing Technology* Center, Illinois Institute of Technology (www.iit.edu).

Capítulo 3

3. Hidroxiapatita Nanocristalina, Filmes Espessos e Testes de Bioatividade

3.1. Síntese de Hidroxiapatita Nanocristalina Obtida por Novo Método de Moagem de Alta Energia

3.1.1. Introdução

O reparo bem sucedido de defeitos nos ossos com um composto de fosfato de cálcio, descrito como “composto de fosfato de cálcio triplo” foi primeiramente relatado por Albee em 1920 [1]. Em 1969, Levitt e col. [2] e Monroe e col. [3] em 1971 descreveram um método de preparação de uma cerâmica de apatita pela fluorapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$ e sugeriram um possível uso dessa cerâmica em aplicações odontológicas e médicas. Clark e col. [4] e Hubbard [5] descreveram métodos de preparação de cerâmicas de fosfato de cálcio com viabilidades comerciais. Entretanto, essas cerâmicas não são apropriadamente descritas como fosfato tricálcio ou cerâmica TCP em aplicações clínicas por Nery e col. [6], mas sim uma mistura de β - fosfato de cálcio $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ e Hidroxiapatita $[\text{HA} - \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ (Figura 3.1)[7].

Em meados da década de setenta, três grupos a saber: Jarcho e col [8-10] nos Estados Unidos, de Groot e col. [11-12] e Denissen [13] na Europa e Akao e col. [14] no Japão, trabalhando simultaneamente, mas independentemente, com a comercialização e desenvolvimento da HA utilizando-a como biomaterial no reparo de ossos em termos de aumento e substituição.

Neste capítulo serão mostrados comparativamente os métodos de obtenção da hidroxiapatita por moagem e o método de precipitação como o desenvolvido por Sarig e Kahana [15] que prepararam nanocristais de hidroxiapatita pela reação de CaCl_2 e NaH_2PO_4 à temperatura ambiente e pH 7,4. Trabalhos recentes tratam da técnica de síntese por moagem mecânica propondo um método de preparação de pós e compósitos de corpo cerâmico com uma matriz de HA, utilizando Brushita ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e CaCO_3 como materiais de partida e o pó obtido da moagem seco por 12 horas a 90°C [16]. Fanovich e col [17] estudaram a estrutura dos pós de hidroxiapatita modificado, onde esses pós eram preparados numa suspensão de álcool isopropílico e tratado em moinho planetário com rotação de 1190 rpm durante 10 e 20 horas. Yeong e col. [18]

obtiveram hidroxiapatita nanocristalina através de síntese mecanoquímica de pós de CaO e CaHPO_4 por 24 horas de moagem em suspensão de etanol e sinterização por 25 horas. Thangamani e col. [19] prepararam hidroxiapatita por precipitação de Ca(OH)_2 e H_3PO_4 [20] seguido de moagem do pó em meio de propanol / ácido esteárico na razão (1:1) durante 6 horas. Outra rota utilizada para obtenção da hidroxiapatita foi a elaborada por Sang-Hoon Rhee [21], na qual ele faz reagir por tratamento de síntese por moagem mecânica o $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ com CaCO_3 em meio de acetona/água, onde, depois de formada a lama no moinho, é realizado tratamento térmico a 1100°C por 1 hora. No trabalho realizado por Suchanek e col. [22] o método de mecanossíntese é associado a um posterior tratamento hidrotérmico na síntese de pós de hidroxiapatita carbonatada à temperatura ambiente, onde é realizada uma reação em meio aquoso de um composto de $\text{Ca(OH)}_2/\text{CaCO}_3/\text{Na}_2\text{CO}_3$ com $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$.

A hidroxiapatita obtida neste trabalho diferencia dos demais por ser obtida por moagem de alta energia em meio totalmente seco sem a necessidade de tratamento térmico pré e pós - moagem. Descreveu-se cinco diferentes procedimentos para a obtenção de HA havendo obtenção em quatro deles. Observou-se pequeno tamanho de cristalito na HA obtido nos processos propostos.

3.1.2. Estequiometria das Reações

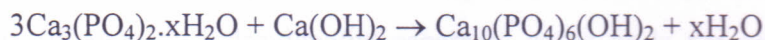
Através de moagem mecânica foram produzidos pós nanocristalinos de HA usando cinco diferentes tipos de reações com tempos de moagem em 15, 30, 45 e 60 horas.

Os óxidos comerciais Ca(OH)_2 (Vetec 97% com 3% de CaCO_3), CaHPO_4 (Aldrich 99%), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$ (Aldrich 99%), P_2O_5 (Vetec 99%), CaCO_3 (Aldrich 99%) e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (Vetec 98%) foram utilizados para preparar a HA. Para comprovar a eficiência do processo realizou-se comparação com a HA comercial (Vetec 98%) (HA-COM).

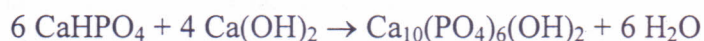
Todas as reações foram realizadas num moinho de bolas planetário Fritsch Pulverisette 6 com uma determinada proporção estequiométrica entre os reagentes. Para evitar o excesso de aquecimento do moinho, foram realizados contagens de tempo de moagem com intervalos de 30 minutos e pausas de 10 minutos.

Reação HA1:

$6,97 \cdot 10^{-3}$ mol de hidróxido de cálcio foi introduzido juntamente com $2,09 \cdot 10^{-2}$ mol de fosfato de cálcio em recipiente de aço inox com volume de $221,69 \text{ cm}^3$ e relação massa de reagentes x massa de esferas de aço ($\varnothing 10 \text{ mm}$) em 1:9,6 aplicando-se rotação de 370 ciclos/min na horizontal descritas na reação:

Reação HA2:

$2,79 \cdot 10^{-2}$ mol de hidróxido de cálcio juntamente com $4,18 \cdot 10^{-2}$ mol de hidrogeno fosfato de cálcio foram introduzidos em recipiente de aço inox com volume de $221,69 \text{ cm}^3$ e relação massa de reagentes x massa de esferas de aço ($\varnothing 10 \text{ mm}$) em 1:9,6 e submetidos à rotação de 370 ciclos/min na horizontal descritas na reação:

Reação HA3:

$6,97 \cdot 10^{-2}$ mol de hidróxido de cálcio juntamente com $2,09 \cdot 10^{-2}$ mol de pentóxido de fósforo foram introduzidos em recipiente de aço inox com volume de $221,69 \text{ cm}^3$ e relação massa de reagentes x massa de esferas de aço ($\varnothing 10 \text{ mm}$) em 1:9,6 e submetidos à rotação de 370 ciclos/min na horizontal, descritas na reação:

Reação HA4:

$2,79 \cdot 10^{-2}$ mol de carbonato de cálcio juntamente com $4,18 \cdot 10^{-2}$ mol de hidrogeno fosfato de cálcio foram introduzidos em recipiente de aço inox com volume de $221,69 \text{ cm}^3$ e relação massa de reagentes x massa de esferas de aço ($\varnothing 10 \text{ mm}$) em 1:9,6, aos quais foi aplicada rotação de 370 ciclos/min na horizontal descritas na reação:



Embora pudesse parecer algo óbvio, teoricamente, que qualquer reação no estado sólido levasse a produzir hidroxiapatita pelo processo de síntese por moagem mecânica em moinho de alta energia, não é o que ocorre.

A reação teórica para produção de hidroxiapatita, descrita abaixo, forma, na verdade, uma fase diversa da hidroxiapatita esperada, como pode ser observado por difração de raios-X (Figura 3.5).

Reação HA5:

$6,97 \cdot 10^{-2}$ mol de carbonato de cálcio com $4,18 \cdot 10^{-2}$ mol de dihidrogeno fosfato de amônia em recipiente de aço inox com volume de 221,69 cm³ e relação massa de reagentes massa de esferas de aço (Ø 10 mm) em 1: 9,6 aos quais foi aplicada rotação de 370 ciclos/min na horizontal descritas na reação:



Os produtos das reações 4 e 5 diferem das três primeiras devido a estas liberarem CO₂ e/ou NH₃.

3.1.3. Difração de Raios-X

3.1.3.1. Método Experimental

A difração de raios-X foi determinada utilizando-se um equipamento Siemens D5000 com radiação K α -Cu em uma geometria do tipo Bragg-Brentano e espaçamento de temperatura de 300 K por passo de “scanning” usando amostras pulverizadas. Foi usado, para cada passo, um intervalo de 5 segundos, com um tubo de K α -Cu em 40 kV e 25 mA, com faixa em 2 θ entre 20-60° a taxa de 1°/min. A análise do tamanho de cristalito (L_c) da fase de HA foi incluída para se ter um parâmetro de comparação entre

as 4 primeiras reações com respeito à média de formação dos cristalitos, utilizando-se a equação de Scherrer's [28].

$$L_c = \frac{k\lambda}{\beta \cos \theta} \quad 3.1$$

onde k é o coeficiente de forma (valores entre 0,9 e 1), λ é o comprimento de onda, β é a largura do pico de cada fase e θ é o ângulo de difração. Para esse propósito foi escolhido o pico isolado em 25,8 graus, concordando com o grupo espacial da HA ($P6_3/m$). Esse pico corresponde ao $hkl = 002$ ao longo do eixo cristalográfico c . Foi utilizado o LaB₆ (SEM 660 – National Institute of Standard Technology) modelo de pó padrão para determinar a largura instrumental ($w_{inst} = 0,087^\circ$) e logo após calcular o tamanho de cristalito via equação 3.1. O parâmetro β é corrigido usando-se a equação 3.2:

$$\beta = \sqrt{w_{exp}^2 - w_{inst}^2} \quad 3.2$$

onde w_{exp} corresponde à largura de pico experimental obtida para cada amostra. O tamanho de grão para todas as amostras foi obtido assumindo coeficiente $k=1$.

3.1.3.2. Resultados e Discussão

Os difratogramas de raios-X apresentadas nas Figuras 3.4 – 3.8 representam as reações HA1 a HA5, respectivamente, com diferentes tempos de moagem comparados com os picos de difração da HA-COM e obtidos pela literatura [24], enquanto o gráfico da Figura 3.3 representa a difração de raios-x do produto da reação 3 (HA3) com tempos menores de moagem, para se determinar a faixa mais próxima de formação da hidroxiapatita. Observa-se que após duas horas e meia de moagem já se tem a formação de HA. Pode-se observar que as três reações iniciais (HA1, HA2 e HA3) têm como resultado da moagem, a formação de hidroxiapatita. Para essas reações, realizou-se a comparação da hidroxiapatita comercial (HA-COM), com o padrão HA-REF [24], onde se observou a presença de picos extra (■), indicando fase extra no produto industrial. Essa fase foi identificada como sendo $CaHPO_4$. Acredita-se que sua presença seja devido a traços do produto original utilizado na produção da hidroxiapatita comercial. Pode ter ocorrido obtenção de hidroxiapatita comercial por reação hidrotérmica das reações HA2 ou HA4.

Na Figura 3.4 tem-se difração de raios- X dos produtos da reação 1 (HA1) observando-se que, a partir de 15 horas, já se tem uma boa identificação da fase de hidroxiapatita, não havendo diferença visível entre as fases dos outros tempos de moagem, comparando-se com as linhas de difração obtidos da literatura (HA-REF)[24].

A Figura 3.5 apresenta o gráfico de difração de raios-X dos produtos da reação 2 (HA2) observando-se que, com 15 horas de moagem, já se tem uma boa identificação da fase de hidroxiapatita, não havendo diferença visível entre as fases dos outros tempos de moagem, sendo apenas observada a formação de linhas de difração extra referentes a CaHPO_4 (■) [24], comparando-se com as obtidas da literatura (HA-REF). Atribuiu-se sua presença a traços do reagente original da reação.

A Figura 3.6 apresenta o gráfico de difração de raios-X dos produtos da reação 3 (HA3) observando-se que, a partir de 15 horas, já se tem uma boa identificação da fase de hidroxiapatita, não havendo diferença visível entre as fases dos outros tempos de moagem, comparando-se com as linhas de difração obtidas da literatura [HA-REF].

Um estudo mais minucioso da difração de raios-X na reação 3 (HA3) mostra que com 2,5 horas de moagem já se observa o pico principal da hidroxiapatita (Figura 3.3) com um aumento ao longo do tempo. O pico de Ca(OH)_2 [24] decresce com o aumento do tempo de moagem e com 5 horas não há mais sua visualização, dando margem à formação da hidroxiapatita.

Na Figura 3.7 tem-se a indicação dos picos de difração obtidos da reação 4 (HA4) e pela literatura da hidroxiapatita HA-REF e CaHPO_4 (■). Após 15 horas de moagem ainda há presença das linhas de difração do CaHPO_4 .

Aumentando o tempo de moagem observa-se o decréscimo de intensidade nas linhas de difração do hidrogeno fosfato de cálcio e as linhas associadas à hidroxiapatita são dominantes em 60 horas de moagem. Entretanto, para essa reação encontrou-se uma forte característica amorfa. As linhas de difração da hidroxiapatita estão posicionadas sobre uma banda de difração larga, indicando um maior índice de fase amorfa.

A Figura 3.8 apresenta o gráfico de difração de raios-X para reação 5 (HA5) observando-se que, com 15 horas de moagem, tem-se uma identificação da formação de linhas extra referentes à fase $\text{NH}_4\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆)[24] provavelmente devido ao sistema utilizado ser fechado e haver formação de amônia, ocorrendo deslocamento do equilíbrio formando outra fase diferente da HA. Com 60 horas de moagem há apenas presença de fase amorfa.

Os difratogramas de raios-X indicam que o tamanho do cristalito ficou em torno de 14 a 44 nm (Figura 3.2). Em média temos os valores em $39,1 \pm 2,5$ nm; $33,8 \pm 1,8$ nm; $40,3 \pm 2,6$ nm e $19,2 \pm 0,5$ nm para as reações HA1, HA2, HA3 e HA4 respectivamente. Os maiores e menores cristalitos foram obtidos pelas reações HA3 e HA4.



Figura 3.2: Tamanho de cristalito em função do número de ordem de difração para as reações HA1, HA2, HA3 e HA4.

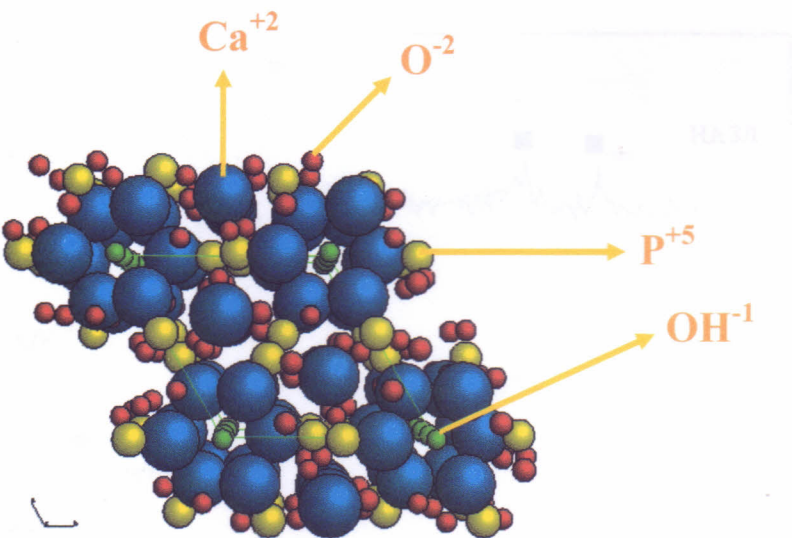


Figura 3.1 Modelo Representativo da Estrutura da Hidroxiapatita

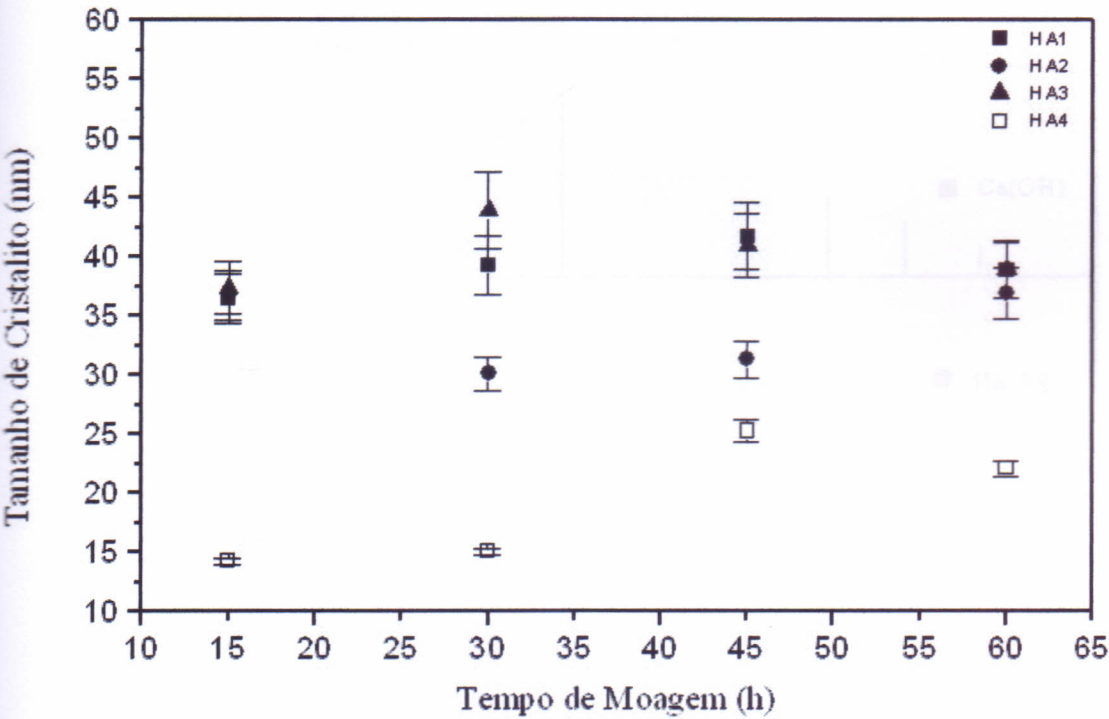


Figura 3.2 – Evolução do tamanho de cristalitos das fases de HA nas reações HA1 (■), HA2 (●), HA3 (▲) e HA4 (□) com as respectivas barras de erros.

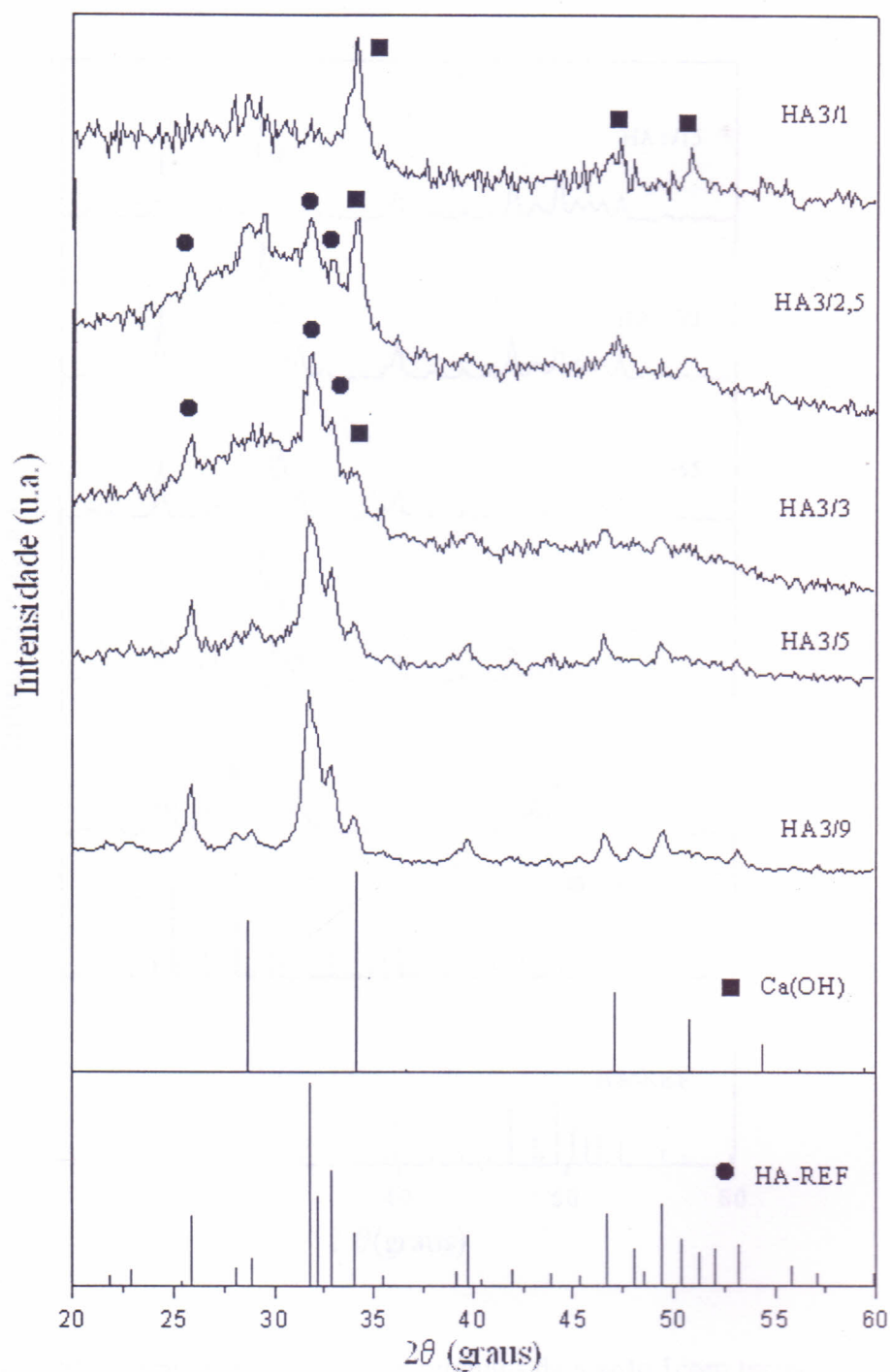


Figura 3.3 – Difrátogramas de Raios-X dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 1h (HA3/1), 2 h e 30 min (HA3/2,5), 3 h (HA3/3), 5 h (HA3/5), 9 h (HA3/9) e dados da literatura para HA - REF (●) e Ca(OH)₂ (■).

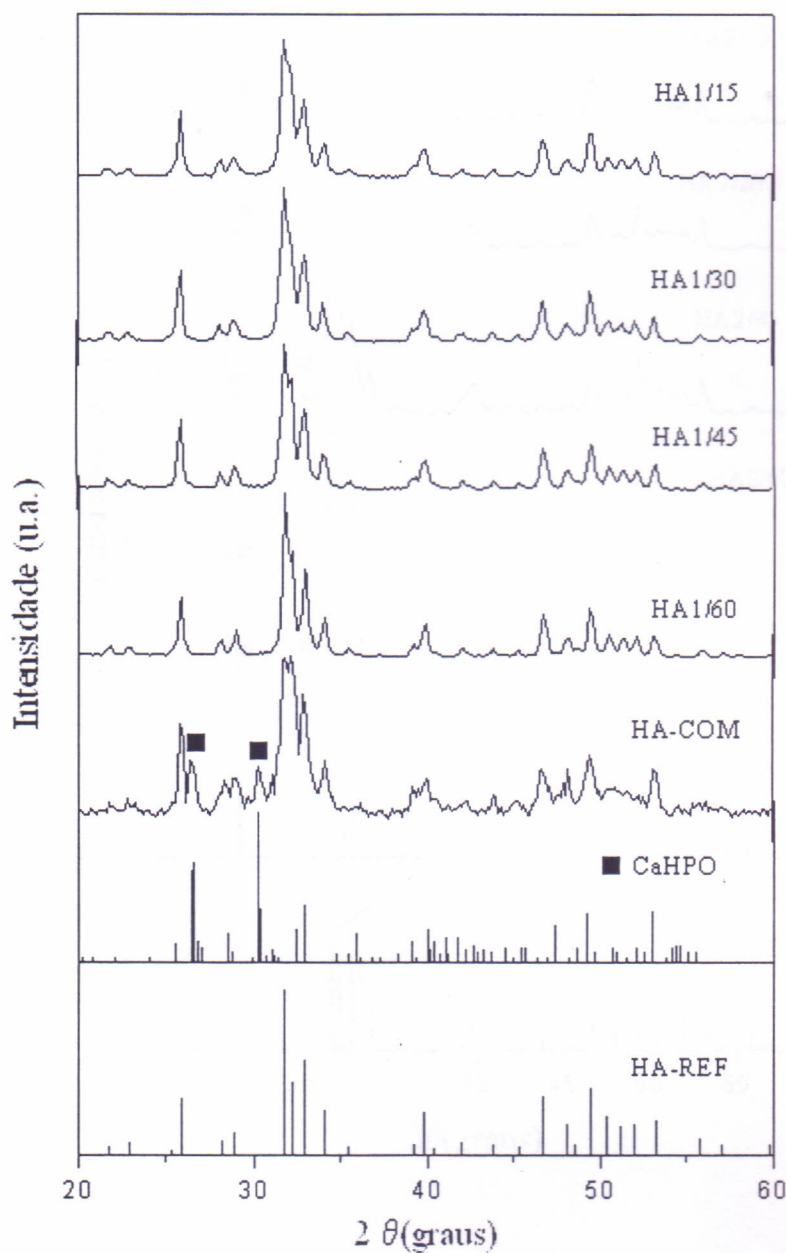


Figura 3.4 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 1 com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45) e 60h (HA1/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO₄ (■).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

R13840664

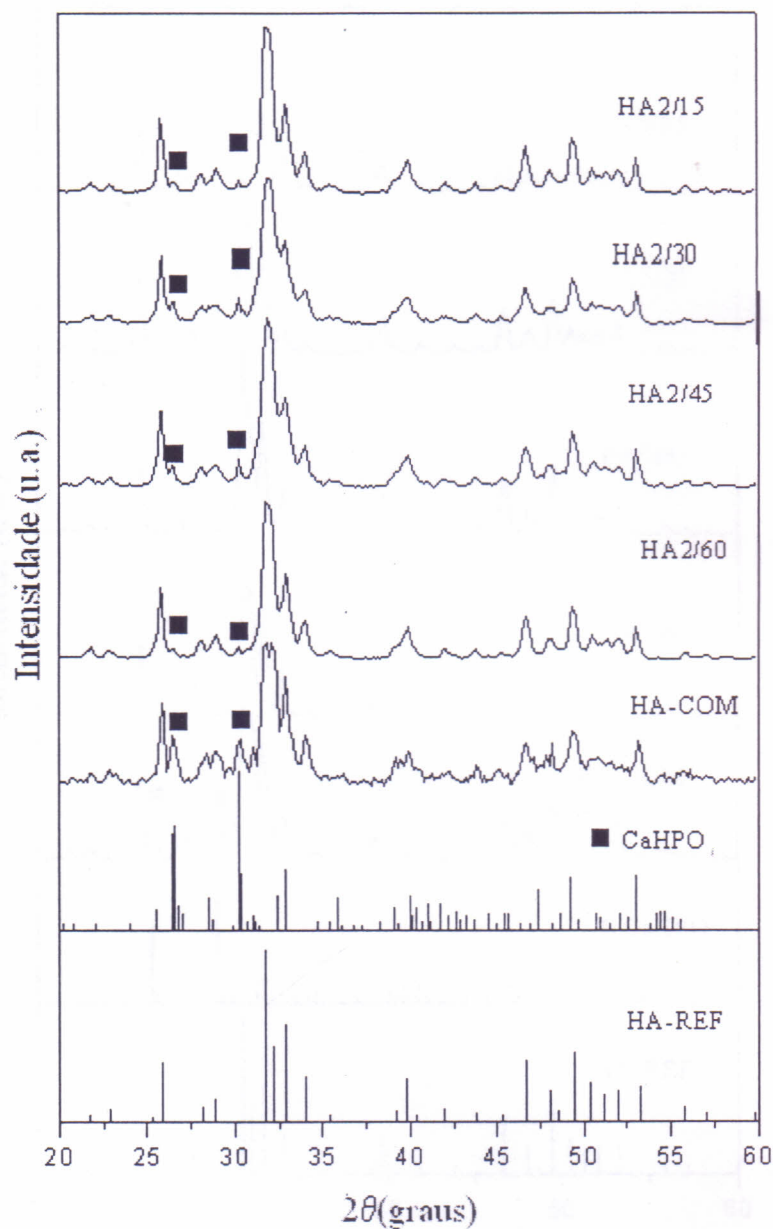


Figura 3.5 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 2 com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45), 60h (HA2/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO₄ (■).

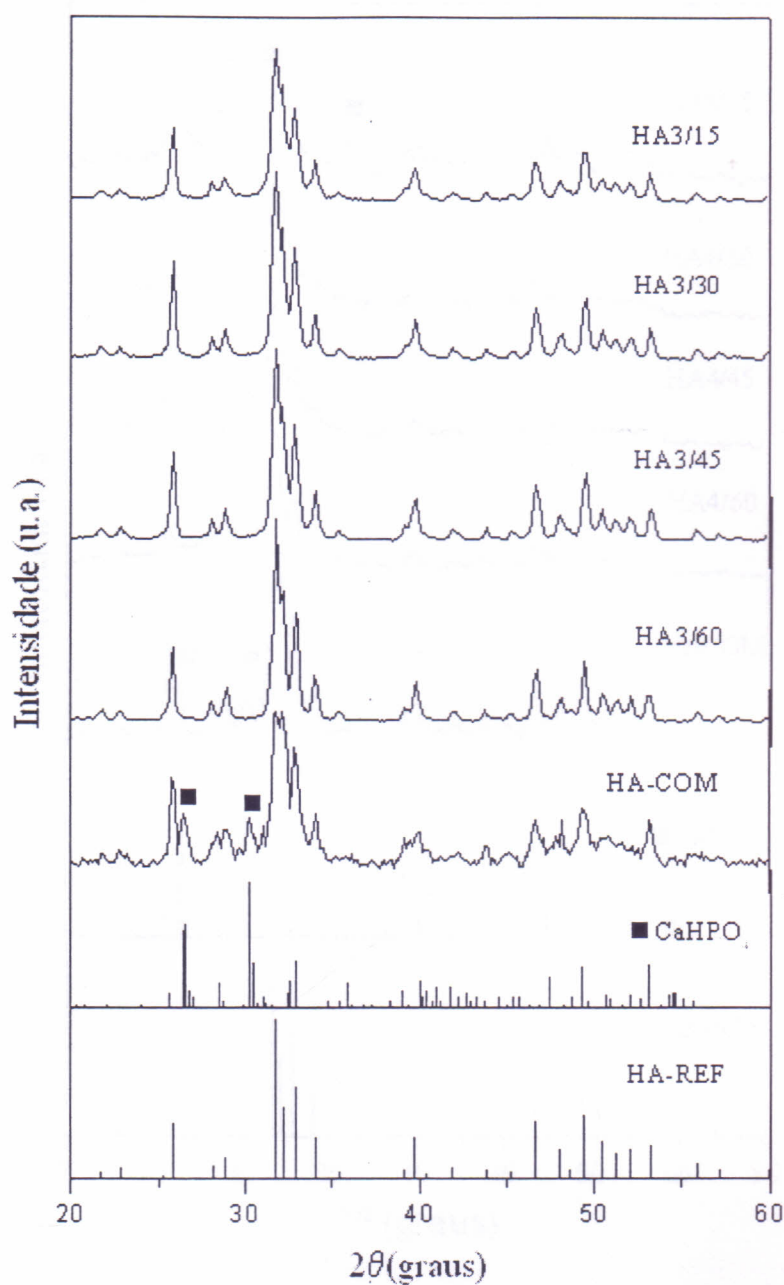


Figura 3.6 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45), 60h (HA3/60) e dados da literatura para HA-REF e CaHPO₄ (■).

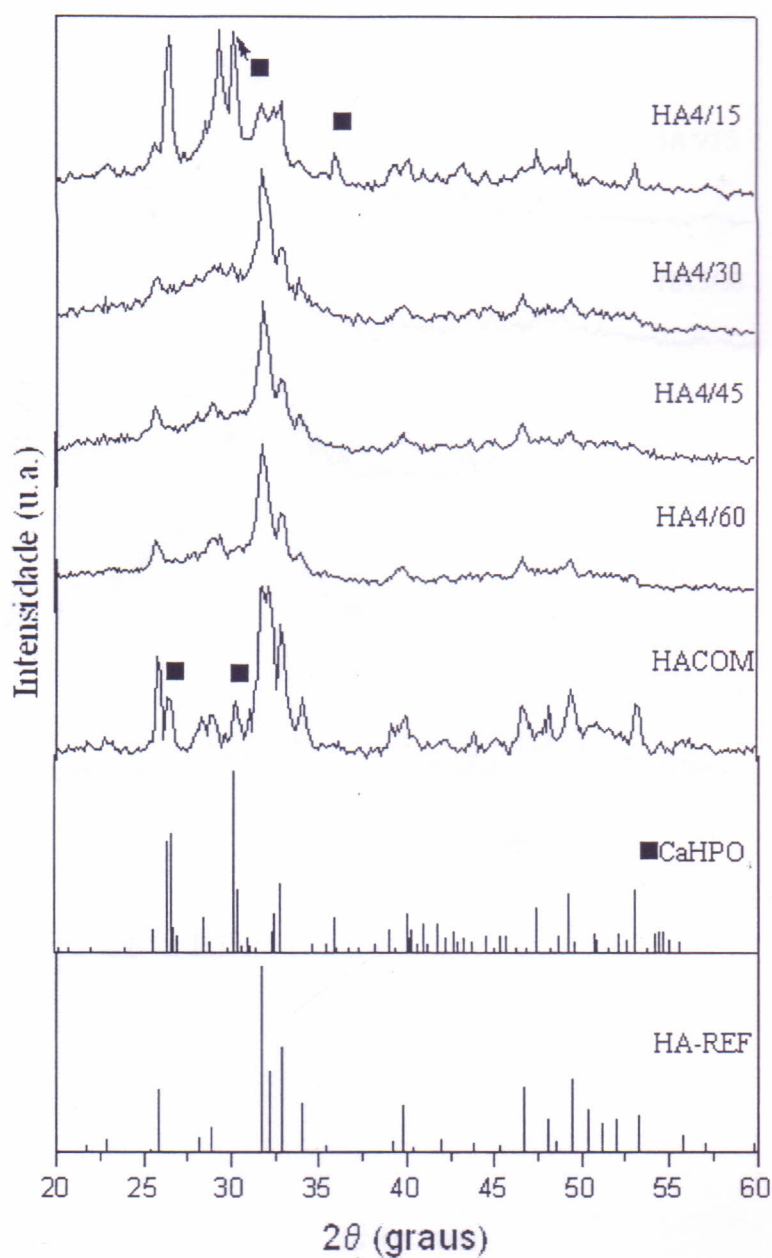


Figura 3.7 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 4 com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45) e 60h (HA4/60) e dados da literatura para CaHPO₄ (■) e HA-REF.

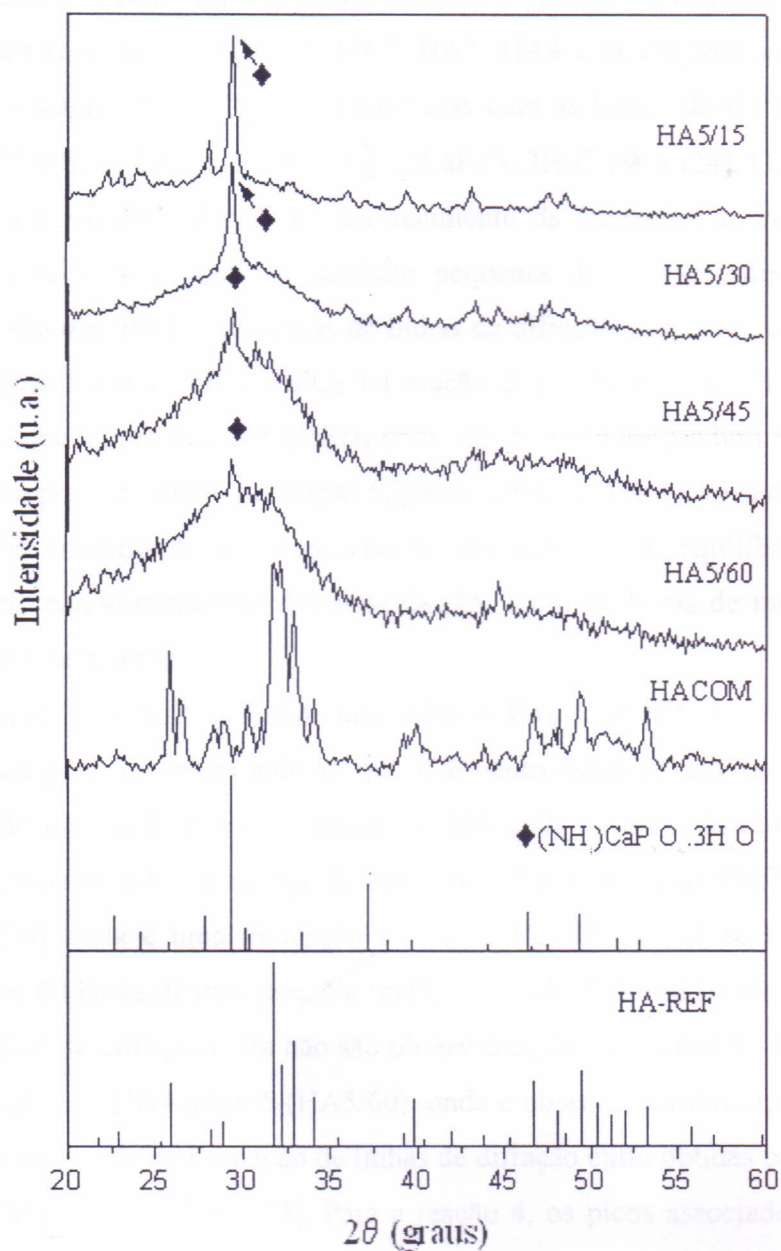


Figura 3.8 – Difratoograma de Raios-X dos produtos da reação 5 com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (HA5/45) e 60h (HA5/60) e dados da literatura para $\text{NH}_4\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (\blacklozenge) e HA-REF.

Na Figura 3.9 estão representadas comparativamente as difrações de raios-X dos produtos das reações 1 a 5 (HA1, HA2, HA3, HA4 e HA5) com as HA formadas a tempos de moagem em 60 horas, comparadas com as linhas de difração obtidas pela literatura (HA-REF, CaHPO_4 (■) e $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆)) [24]. Observa-se que nas três reações iniciais (1, 2 e 3) há favorecimento da formação de HA, indicado pela difração de raios-X notando-se, também pequenas diferenças entre as reações. Na Figura 3.9 são observadas presenças de linhas de difração extra nas reações 2 e 5. Essa fase foi identificada como CaHPO_4 na reação 2 e $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ na reação 5. Acredita-se que a presença de CaHPO_4 pode ser um traço do produto original da reação 2 usada para produzir HA e na reação 5, provavelmente devido ao sistema utilizado ser fechado e haver formação de amônia, ocorre deslocamento do equilíbrio no sentido dos reagentes formando outra fase diferente da HA. Com 60 horas de moagem há apenas presença de fase amorfa.

Na reação 1 (HA1/60) foram utilizados o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ e o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ como reagentes de partida, observando-se que o produto desta reação foi a HA, com boa identificação da sua fase. Para a reação 2 (HA2/60) foram utilizados o CaHPO_4 e o $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e é observado a presença de linhas de difração extra de CaHPO_4 em relação a HA-REF [24]. Esta é uma indicação de que o CaHPO_4 ainda se encontra presente, mesmo após 60 horas de moagem. Na reação 3 (HA3/60) foi utilizado $\text{Ca}(\text{OH})_2$ e P_2O_5 , onde as linhas de difração extra não são observadas, mesmos após 60 horas de moagem. Para as reações 4 (HA4/60) e 5 (HA5/60), onde é observada a formação de CO_2 e NH_3 também há indicação de formação de linhas de difração extra obtidas pela literatura para HA-REF, $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ [24]. Para a reação 4, os picos associados à formação de HA são observados após 60 horas de moagem, onde foram utilizados, como reagentes de partida CaHPO_4 e CaCO_3 . Na reação 5 foram utilizados $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ e CaCO_3 , ocorrendo produção de NH_3 e CO_2 . Após 60 horas de moagem foi observado que o produto é completamente amorfo.

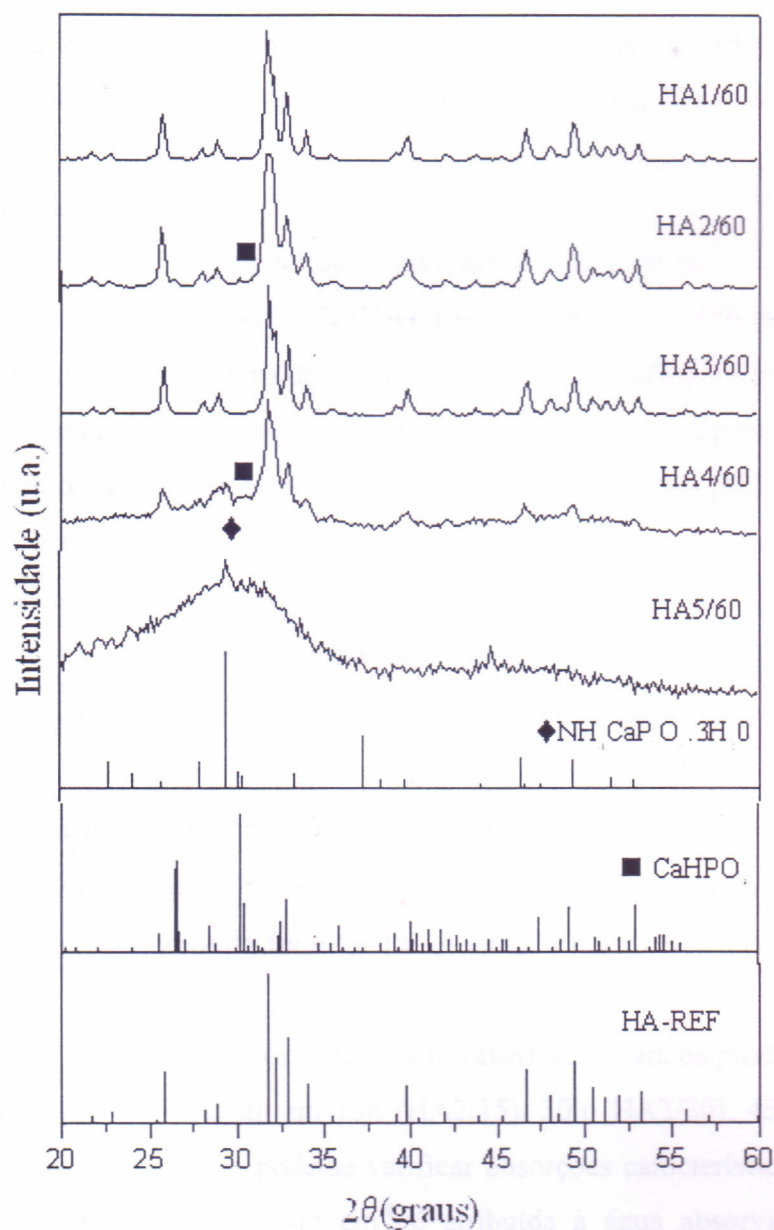


Figura 3.9 – Difratoograma de Raios-X das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e dados da literatura $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆), CaHPO_4 (■) e HA-REF.

3.1.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

3.1.4.1. Método Experimental

O espectro infravermelho foi obtido usando pastilhas dos pós de HA-COM e de HA em KBr. A espessura de cada pastilha variou entre 0,5-0,6 mm. O espectro foi medido na região entre 400 e 4000 cm^{-1} com espectrômetro SHIMATZU FTIR-283B.

3.1.4.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.10 têm-se os espectros infravermelhos para os produtos da reação 1 (HA1) com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45) e 60h (HA1/60). Será utilizado o número de onda (ν_i) (cm^{-1}), cujo índice i representa o nível vibracional da molécula. A posição das bandas no espectro depende das massas relativas dos átomos, geometria e constantes de forças das ligações [62] que provocam alterações no momento de dipolo. Nesses espectros constatam-se absorções características da hidroxiapatita. A banda em 1647 cm^{-1} é atribuída à água absorvida. Vibrações associadas a $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$ estão em 1465, 1415 e 1093 cm^{-1} e $(\nu_2)\text{CO}_3^{-2}$ em 869 cm^{-1} . O modo (ν_3) P-O com estiramento fora do plano tem atribuições em número de onda associado a 1047vs cm^{-1} , enquanto o modo simétrico (ν_1) P-O-P encontra-se em 962s cm^{-1} . O modo (ν_4) P-O é confirmado nos números de ondas em 603s e 570s cm^{-1} em (ν_4) O-P-O. O modo de estiramento simétrico (ν_2) P-O é observado no número de onda em 461w cm^{-1} . A hidroxila livre [34] é observada no nível vibracional em 630s cm^{-1} .

Na Figura 3.11 são mostrados os espectros infravermelho para os produtos da reação 2 (HA2) com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45) e 60h (HA2/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita. A banda em 1645 cm^{-1} é atribuída à água absorvida. Vibrações associadas a $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$ estão em 1465, 1421 e 1091 cm^{-1} enquanto o modo (ν_3) P-O tem atribuições em número de ondas associadas a 1047vs cm^{-1} . Bandas do (ν_1) P-O-P encontram-se em 960s cm^{-1} . O nível vibracional (ν_4) P-O está distribuído em número de ondas de 601s e 568s cm^{-1} . O estiramento simétrico do modo (ν_2) P-O é observado em 470w cm^{-1} .

Na Figura 3.12 têm-se os espectros infravermelho para a reação 3 (HA3) com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45) e 60h (HA3/60).

Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita. A banda em 1643 cm^{-1} é atribuída à água absorvida durante o processo de síntese por moagem mecânica. Vibrações associadas a $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$ estão em 1467, 1421 e 1097 cm^{-1} . O nível vibracional (ν_3) P-O tem atribuições em número de ondas associadas a 1047 vs cm^{-1} . Número de onda em 962 s cm^{-1} está associado à vibração do estiramento simétrico (ν_1) P-O-P. Vibração em 634 s cm^{-1} é atribuída a OH^- livre e em 603 s e 568 s cm^{-1} estão vinculados a (ν_4) P-O e (ν_4) O-P-O, respectivamente. O modo de estiramento simétrico (ν_2) P-O é observado no número de onda em 474 w cm^{-1} .

Na Figura 3.13 têm-se os espectros infravermelho para a reação 4 (HA4) com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45) e 60h (HA4/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características da hidroxiapatita. A banda em 1648 cm^{-1} é atribuída à água absorvida. Vibrações associadas a $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$ estão em 1482 e 1418 cm^{-1} . O nível vibracional (ν_3) P-O tem atribuição associada a 1054 vs cm^{-1} . Número de onda em 869 cm^{-1} está associado à vibração em $(\nu_2)\text{CO}_3^{-2}$, enquanto em 601 s e 572 s cm^{-1} estão associados ao modo em (ν_4) P-O e (ν_4) O-P-O respectivamente.

Na Figura 3.14 têm-se os espectros infravermelho para a reação 5 (HA5) com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (H54/45) e 60h (HA5/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita. A banda em 1648 cm^{-1} é atribuída à água absorvida. O nível vibracional (ν_3) P-O tem atribuição a número de onda associado a 1064 vs cm^{-1} . Número de onda em 869 cm^{-1} está associado à vibração em $(\nu_2)\text{CO}_3^{-2}$, enquanto o número de onda em 565 s cm^{-1} está associado a modo do (ν_4) O-P-O.

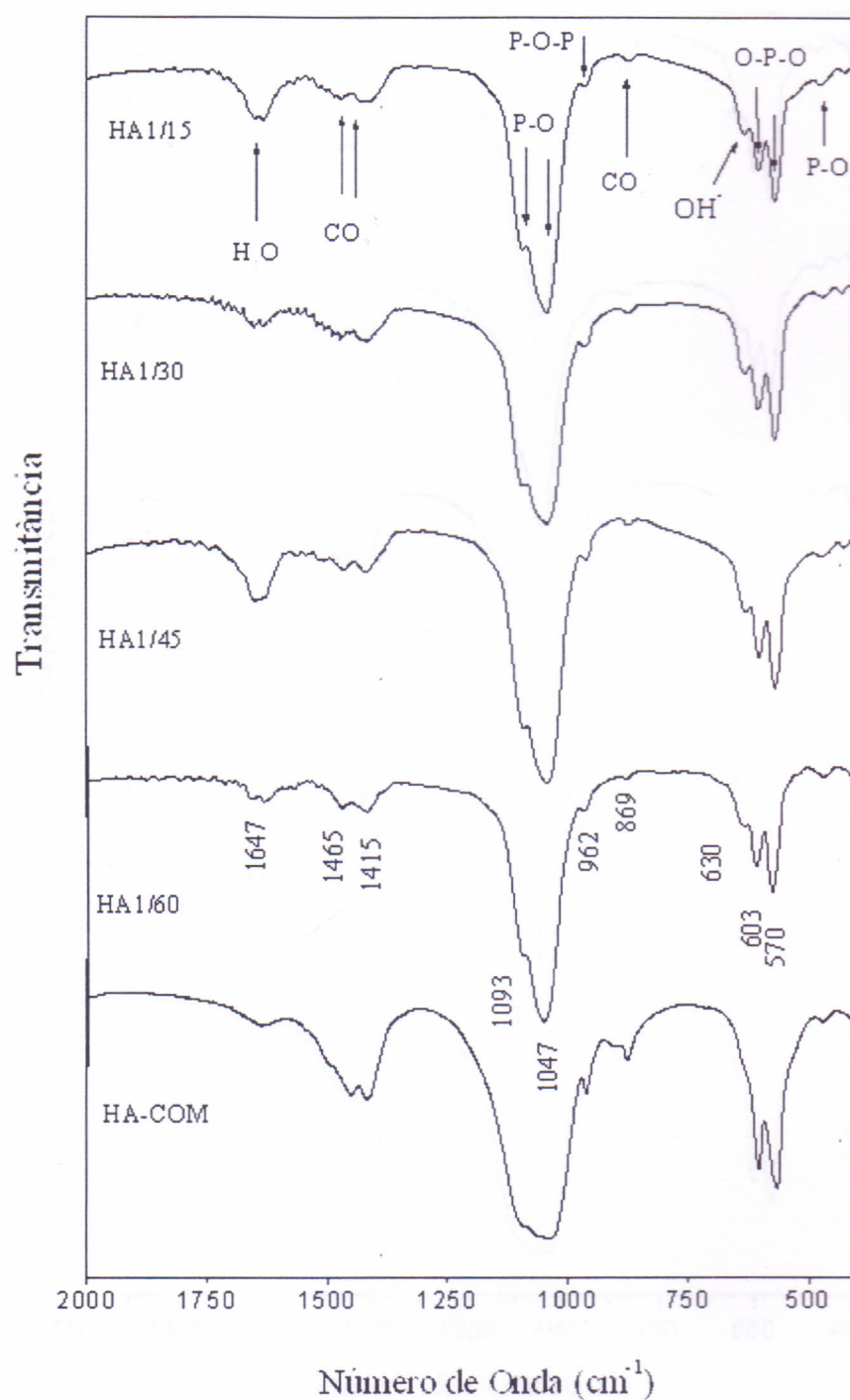


Figura 3.10 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 1 (HA1) com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45), 60h (HA1/60) e cerâmica HA-COM

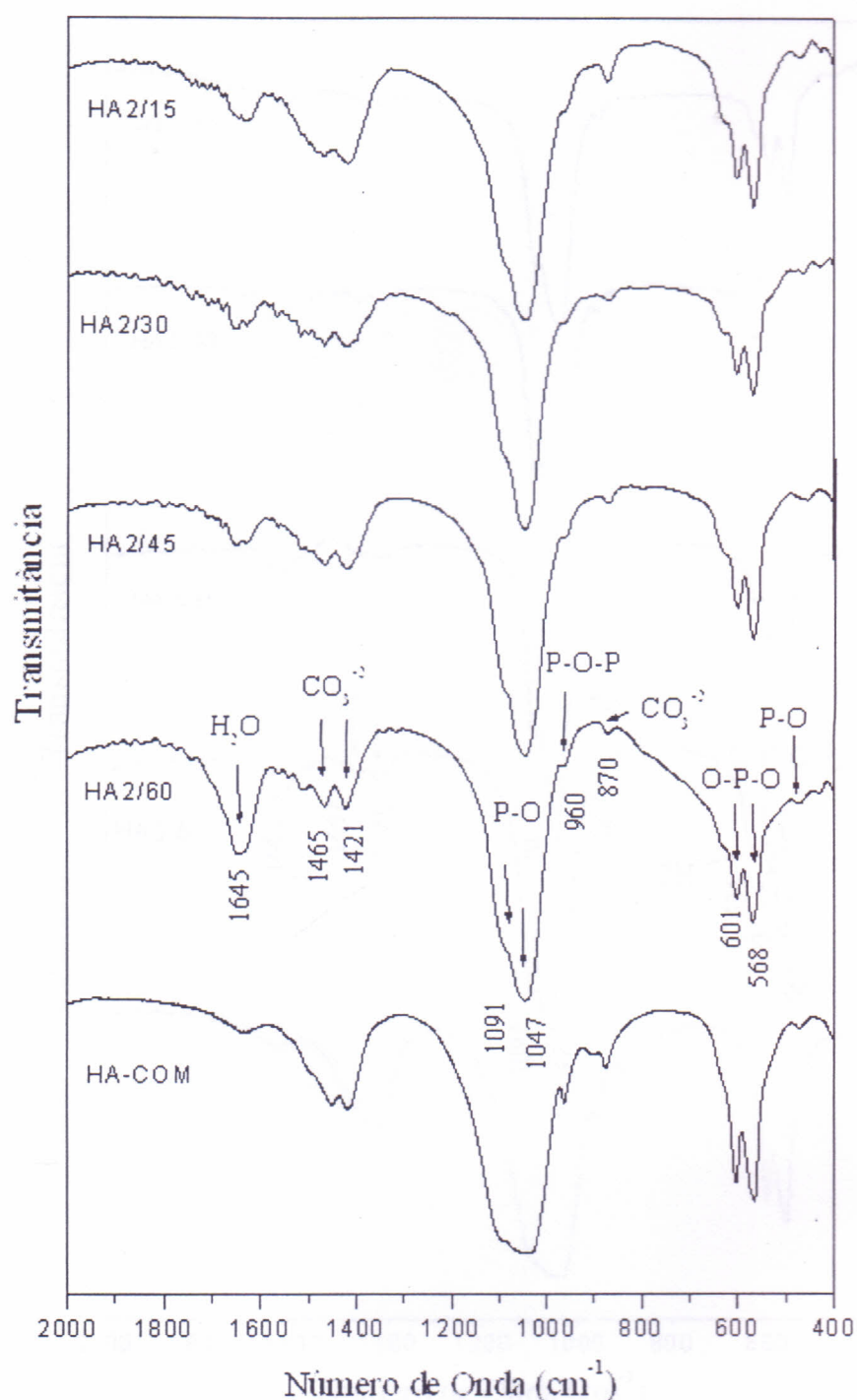


Figura 3.11 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 2 (HA2) com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45), 60h (HA2/60) e cerâmica HA-COM

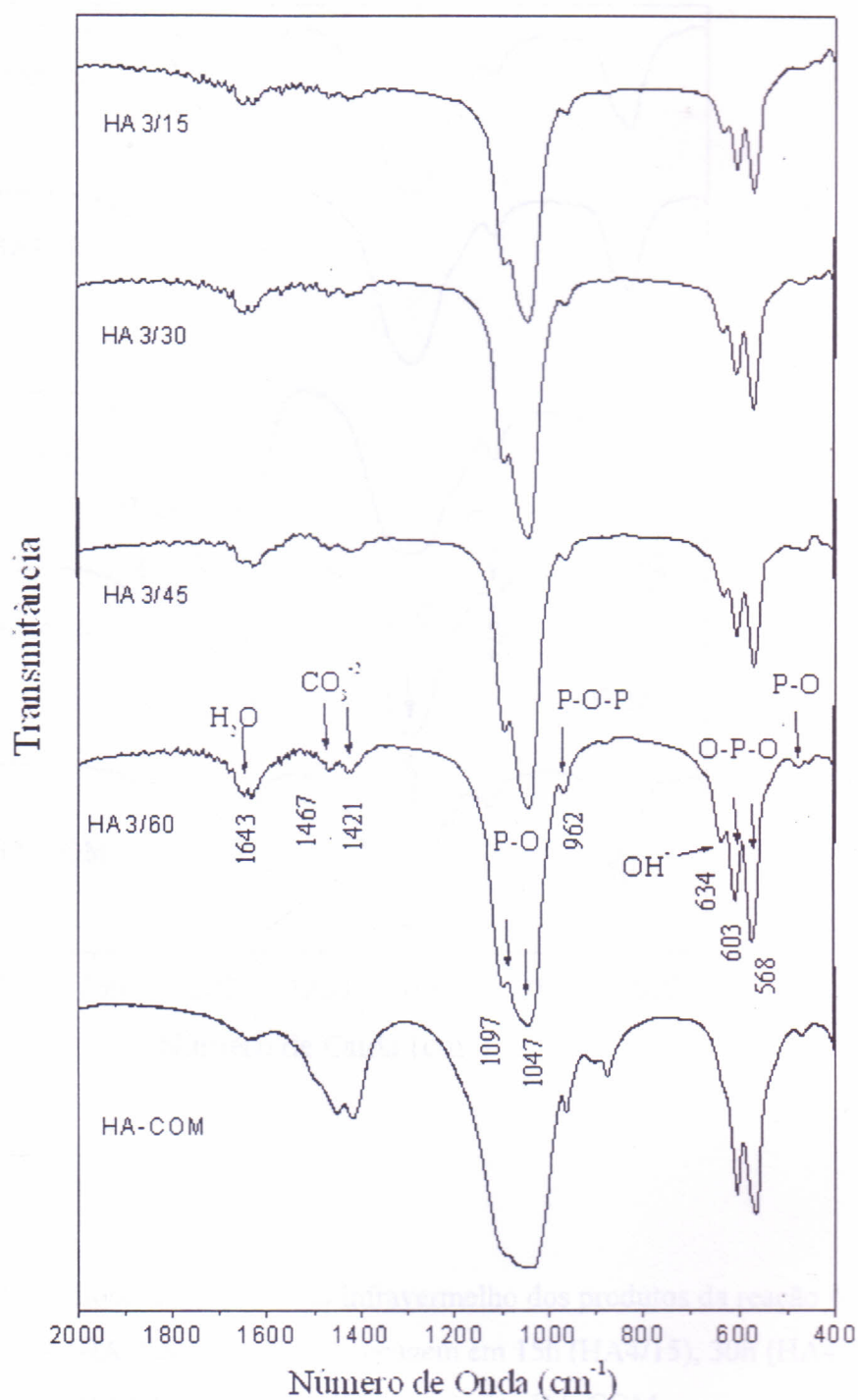


Figura 3.12 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 3 (HA3) com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45), 60h (HA3/60) e cerâmica HA-COM

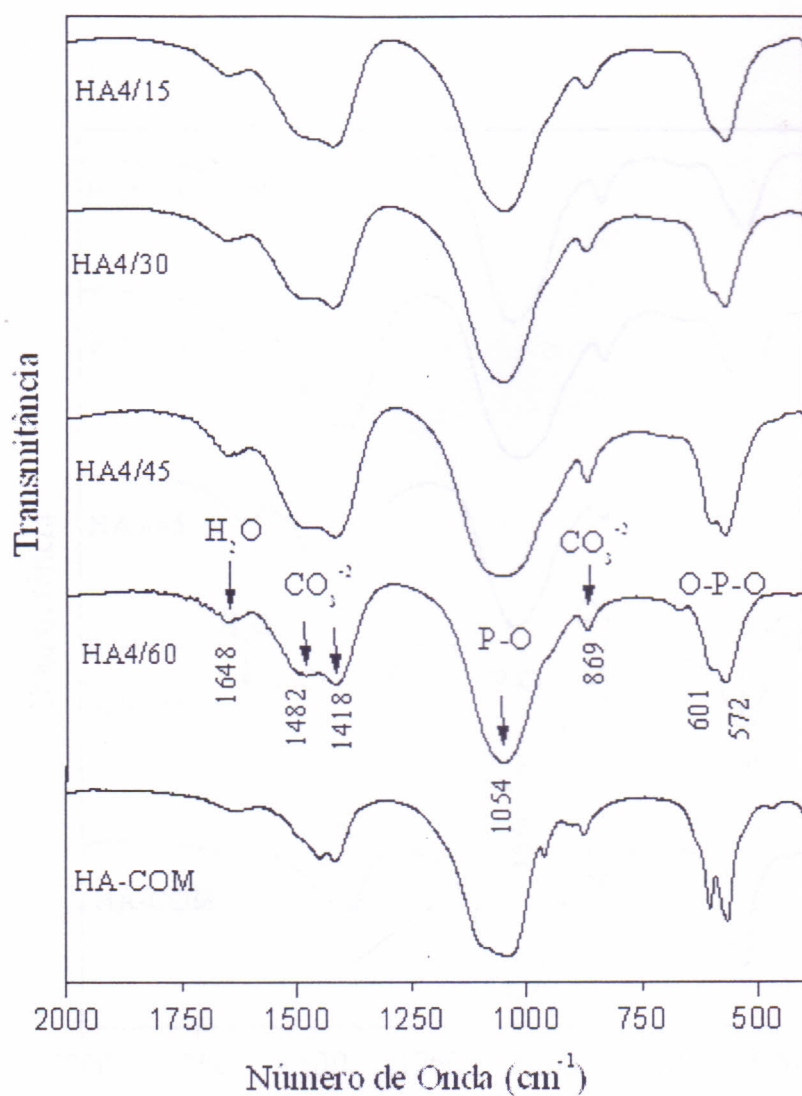


Figura 3.13 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 4 (HA4) com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45), 60h (HA4/60) e cerâmica HA-COM

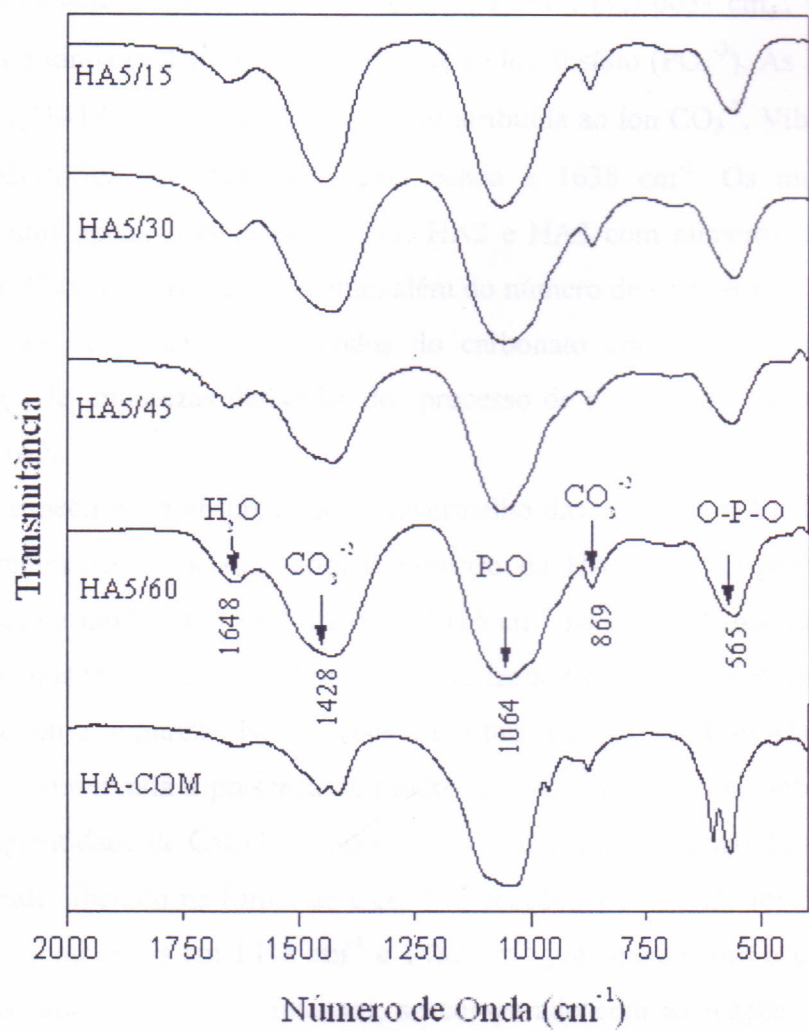


Figura 3.14 – Espectro na região do Infravermelho dos produtos da reação 5 (HA5) com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (HA5/45), 60h (HA5/60) e cerâmica HA-COM

Na Figura 3.15, têm-se, para efeito comparativo, os espectros infravermelho para os produtos das reações 1, 2, 3, 4 e 5 (HA1, HA2, HA3, HA4 e HA5), respectivamente) com tempos de moagem em 60 horas, juntamente com o espectro da HA-COM, cujas bandas características são do tipo (ν_4)565s cm^{-1} , (ν_4) 603s cm^{-1} , (ν_3) 1040vs cm^{-1} e 1091vs e ainda (ν_1) 961s cm^{-1} atribuídas ao íon fosfato (PO_4^{3-}). As bandas em (ν_2) 874 cm^{-1} , (ν_3)1419 cm^{-1} e (ν_3)1452 cm^{-1} são atribuída ao íon CO_3^{2-} . Vibrações associadas à água absorvida são detectadas pela banda a 1638 cm^{-1} . Os modos (ν_2) P-O são observados apenas nas reações HA1, HA2 e HA3 com números de ondas em 462w, 470w e 474w cm^{-1} respectivamente, além do número de onda em 470w cm^{-1} associada a HA-COM. A presença dos modos do carbonato em amostras comerciais indica a presença de impurezas derivadas do processo de preparação, na qual não é detectada em raios-X.

Os espectros de absorção no infravermelho das amostras HA1, HA2 e HA3 podem ser diretamente associados com o espectro da HA-COM. O ponto interessante é a presença de modos do CO_3^{2-} a 1465 e 1415 cm^{-1} na reação 1, não havendo presença de carbono nos reagentes de partida, sendo utilizado Ca(OH)_2 com 97% de pureza e 3% de CaCO_3 como impureza. Nas reações 2 e 3 também é usado Ca(OH)_2 como reagente de partida e observada a presença de modos do CO_3^{2-} nas mesmas vibrações. Acredita-se que a quantidade de CaCO_3 é baixa e após o aumento no tempo de moagem, o carbono está sendo liberado na forma de CO_2 . Nas reações 4 e 5, onde foi utilizado CaCO_3 , os modos vibracionais em 1418 cm^{-1} e 1482 cm^{-1} juntamente com o modo em 1428 cm^{-1} respectivamente são mais intensos, se comparado com as reações 1, 2 e 3, mas não detectadas no raio-X. Outros modos associados ao CO_3^{2-} são facilmente identificados a 869 cm^{-1} nas reações 1, 4 e 5 e 867 cm^{-1} na reação 2 mas não identificada na reação 3. Na Figura 3.14, o espectro da reação 5 (HA5/60), na qual é característica de uma amostra amorfa com bandas largas, a absorção associada a CO_3^{2-} em 1428 cm^{-1} e localizada. Na Tabela 3.1 têm-se os dados dos modos vibracionais dos elementos identificados nas reações, juntamente com a HA e HA carbonatada.

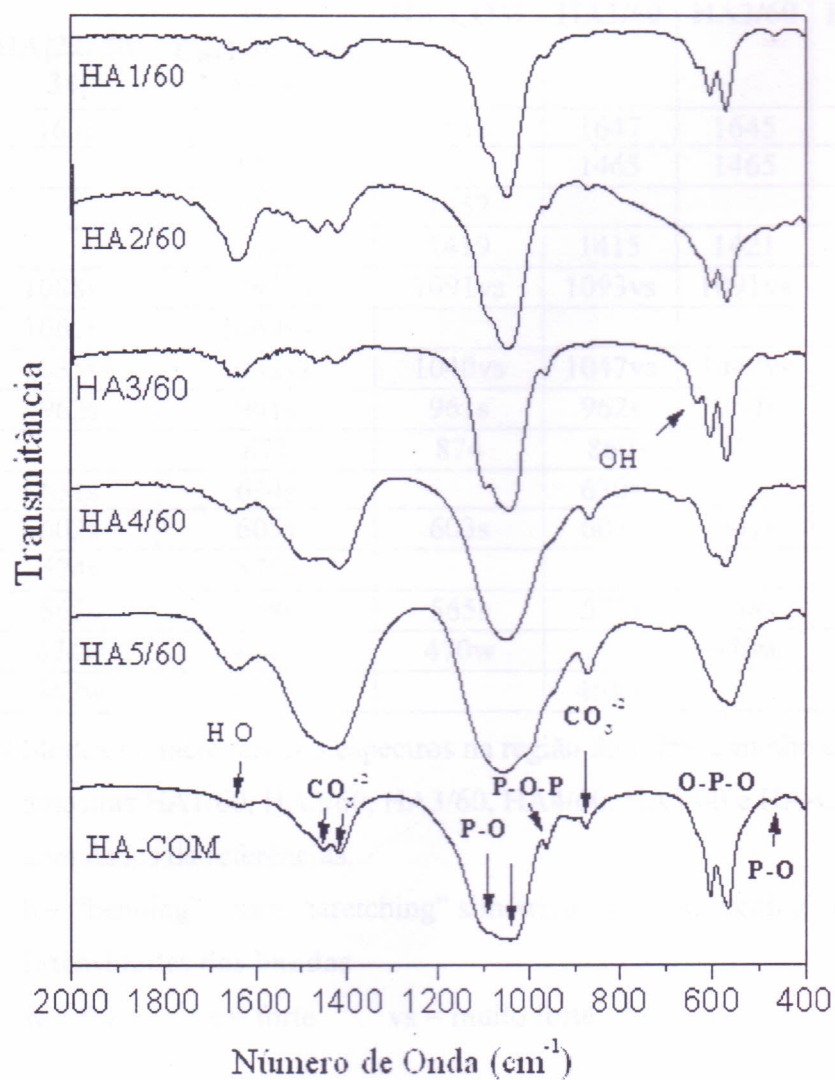


Figura 3.15 – Espectro na região do Infravermelho das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e cerâmica HA-COM.

	Número de Onda (cm ⁻¹)							
	HA[22, 30, 34]	HA Carbonatada [30]	HA-COM	HA1/60	HA2/60	HA3/60	HA4/60	HA5/60
H ₂ O	1630	1630	1638	1647	1645	1643	1648	1648
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1469		1465	1465	1467	1482	
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1454	1452					
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1415	1419	1415	1421	1421	1418	1428
v ₃ (P-O) _(so)	1088vs	1090vs	1091vs	1093vs	1091vs	1097vs		
v ₃ (P-O) _(so)	1065vs	1060vs					1054vs	1064vs
v ₃ (P-O) _(so)	1035vs	1032vs	1040vs	1047vs	1047vs	1047vs		
v ₁ (P-O-P) _(ss)	962s	961s	961s	962s	960s	962s		
v ₂ (CO ₃ ²⁻)		873	874	869	871		869	869
OH ⁻ livre	631s	634s		630s		634s		
v ₄ (O-P-O) _(b)	602s	605s	603s	603s	601s	603s	601s	
v ₄ (O-P-O) _(b)	574s	575s					572s	
v ₄ (O-P-O) _(b)	565s	568s	565s	570s	568s	568s		565s
v ₂ (P-O) _(ss)	474w	474w	470w		470w	474w		
v ₂ (P-O) _(ss)	462w	462w		461w				

Tabela 3.1 – Modos vibracionais dos espectros na região do Infravermelho obtidas para as amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e HA-COM comparados com dados de referências.

b = “bending” ss = “stretching” simétrico so = “stretching” fora do plano

intensidades das bandas

w = fraca s = forte vs = muito forte

3.1.5. Espectroscopia Raman

3.1.5.1. Métodos Experimentais

A espectroscopia Raman foi medida com um espectrômetro de triplo monocromador do tipo Dilor XY, equipado com um detector CCD usando a linha de excitação Ar-laser em 4880 Å.

3.1.5.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.16 têm-se os espectros de Raman para a reação 1 (HA1) com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45) e 60h (HA1/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita.

Vibrações associadas ao modo (ν_3) P-O estão associadas a 1042sh, 1028s e 1071sh cm^{-1} . O modo (ν_1) P-O-P tem atribuição em número de onda associada a 959vs cm^{-1} , sendo este o pico mais característico da hidroxiapatita. Comprimentos em 604s, 588s e 577s cm^{-1} estão associados a vibrações em (ν_4) O-P-O. Os modos correspondentes a (ν_2) O-P-O estão representados pelos números de ondas em 443s e 432s cm^{-1} .

Na Figura 3.17 vêem-se os espectros de Raman para a reação 2 (HA2) com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45) e 60h (HA2/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita.

Vibrações associadas a modos tipo (ν_4) O-P-O estão em 605s, 586s e 577s cm^{-1} . O estiramento do modo (ν_1) P-O-P tem atribuição em número de onda associada a 958vs cm^{-1} , sendo este o pico mais característico da hidroxiapatita. Número de ondas em 1043sh cm^{-1} , 1028s e 1068sh cm^{-1} estão associados a vibrações em (ν_3) PO. O único pico representativo para o modo (ν_2) O-P-O na reação 2 (HA2) é em 432s cm^{-1} (ver Tabela 3.2 as representações).

Na Figura 3.18 vêem-se os espectros de Raman para a reação 3 (HA3) com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45) e 60h (HA3/60). Nesses espectros pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita. As bandas em 433s cm^{-1} e 445s são atribuídas a modos de vibrações associadas ao modo (ν_2) O-P-O. Os vibracionais em 580s, 591s e 609s cm^{-1} são modos de (ν_4) O-P-O. O modo (ν_1) P-O-P tem atribuição em número de onda associada a 963vs cm^{-1} , sendo este o pico mais característico da hidroxiapatita. Números de onda em 1046sh, 1070sh e 1078s cm^{-1} estão associados a vibrações em (ν_3) P-O. Para os espectros de Raman da reação 4 (HA4) com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45) e 60h (HA4/60) observados na Figura 3.19, pode-se verificar absorções características das bandas da hidroxiapatita com atribuições em 433s cm^{-1} a vibração tipo (ν_2) O-P-O. O modo em 589s cm^{-1} está associado a modo tipo para (ν_4) O-P-O. O estiramento (ν_1) P-O-P tem atribuição em número de onda associada a 961vs cm^{-1} ,

sendo este o pico mais característico da hidroxiapatita. Número de onda em 1075 cm^{-1} está associado a vibrações em (ν_3) P-O.

Para os espectros de Raman da reação 5 (HA5) com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (HA5/45) e 60h (HA5/60) observados na Figura 3.20, pode-se verificar absorções com características amorfas, constatadas pela difração de raios-X (Figuras 3.7 e 3.8), a bandas com atribuições em 431 cm^{-1} para modos de vibração em (ν_2) O-P-O, 592 cm^{-1} (ν_4) O-P-O e (ν_1) P-O-P a 947 cm^{-1} (ver na Tabela 3.2 as representações).

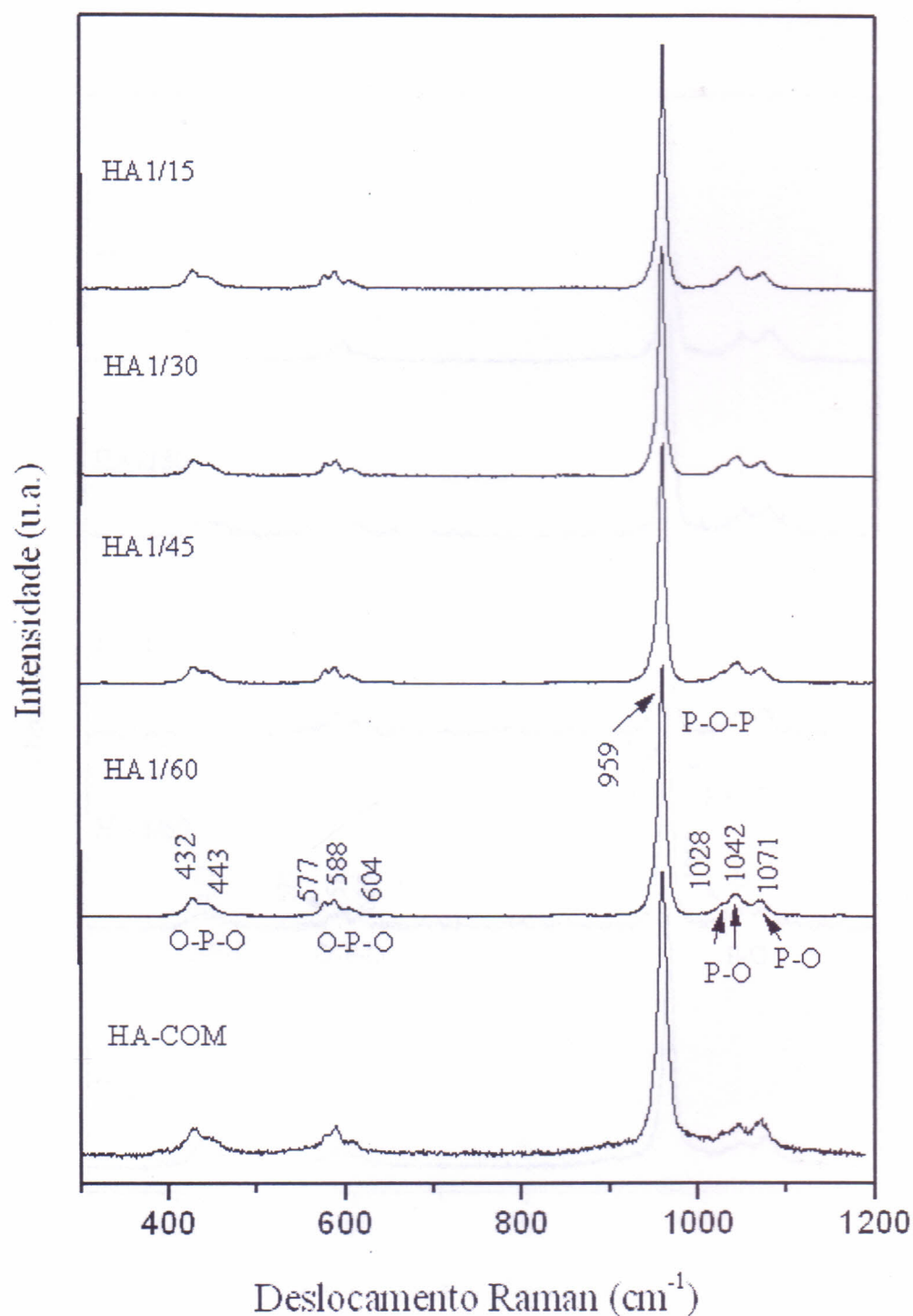


Figura 3.16 – Espectro Raman dos produtos da reação 1 com tempos de moagem em 15h (HA1/15), 30h (HA1/30), 45h (HA1/45), 60h (HA1/60) e a cerâmica HA-COM.

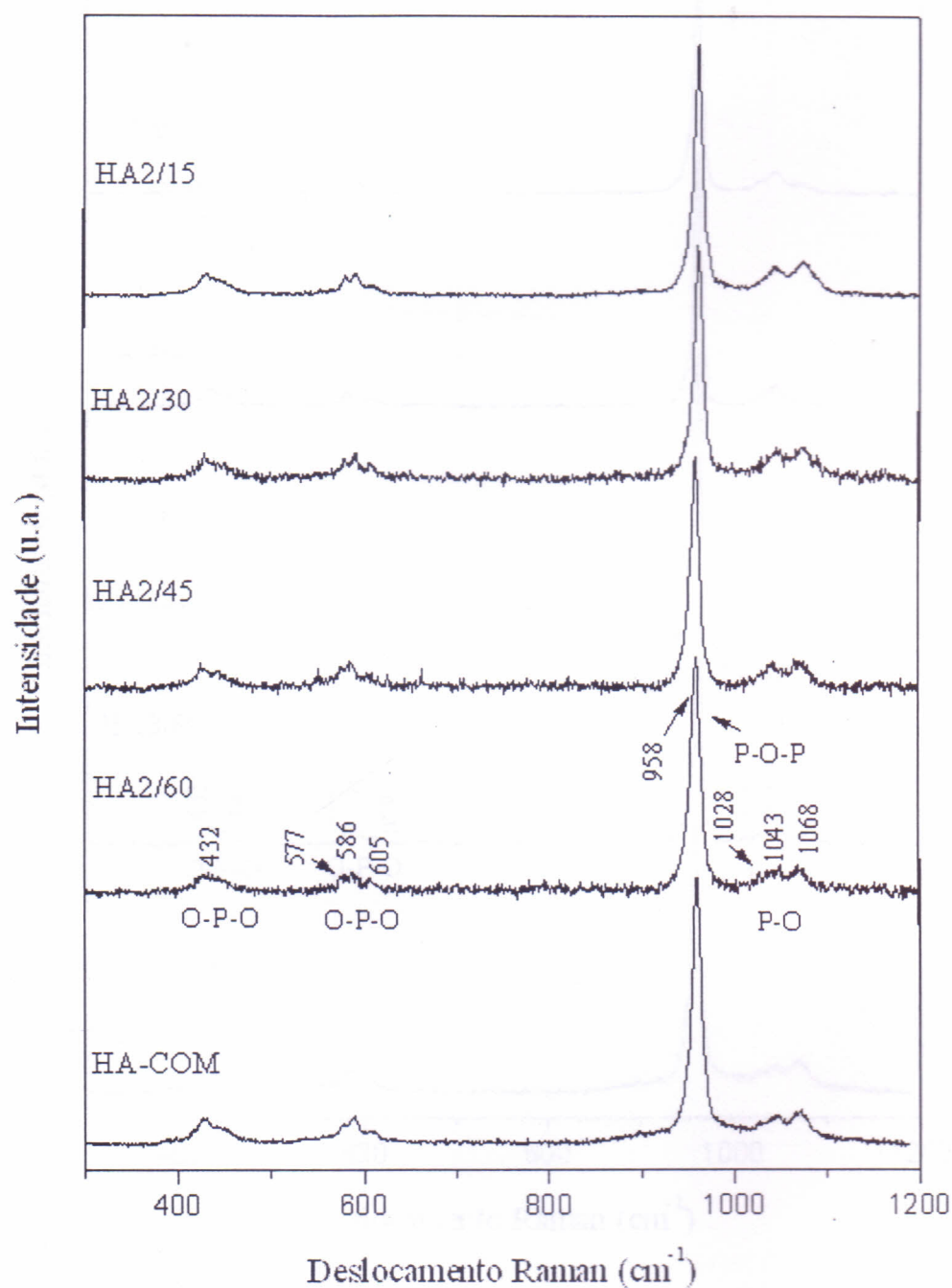


Figura 3.17 – Espectro Raman dos produtos da reação 2 com tempos de moagem em 15h (HA2/15), 30h (HA2/30), 45h (HA2/45), 60h (HA2/60) e a cerâmica HA-COM.

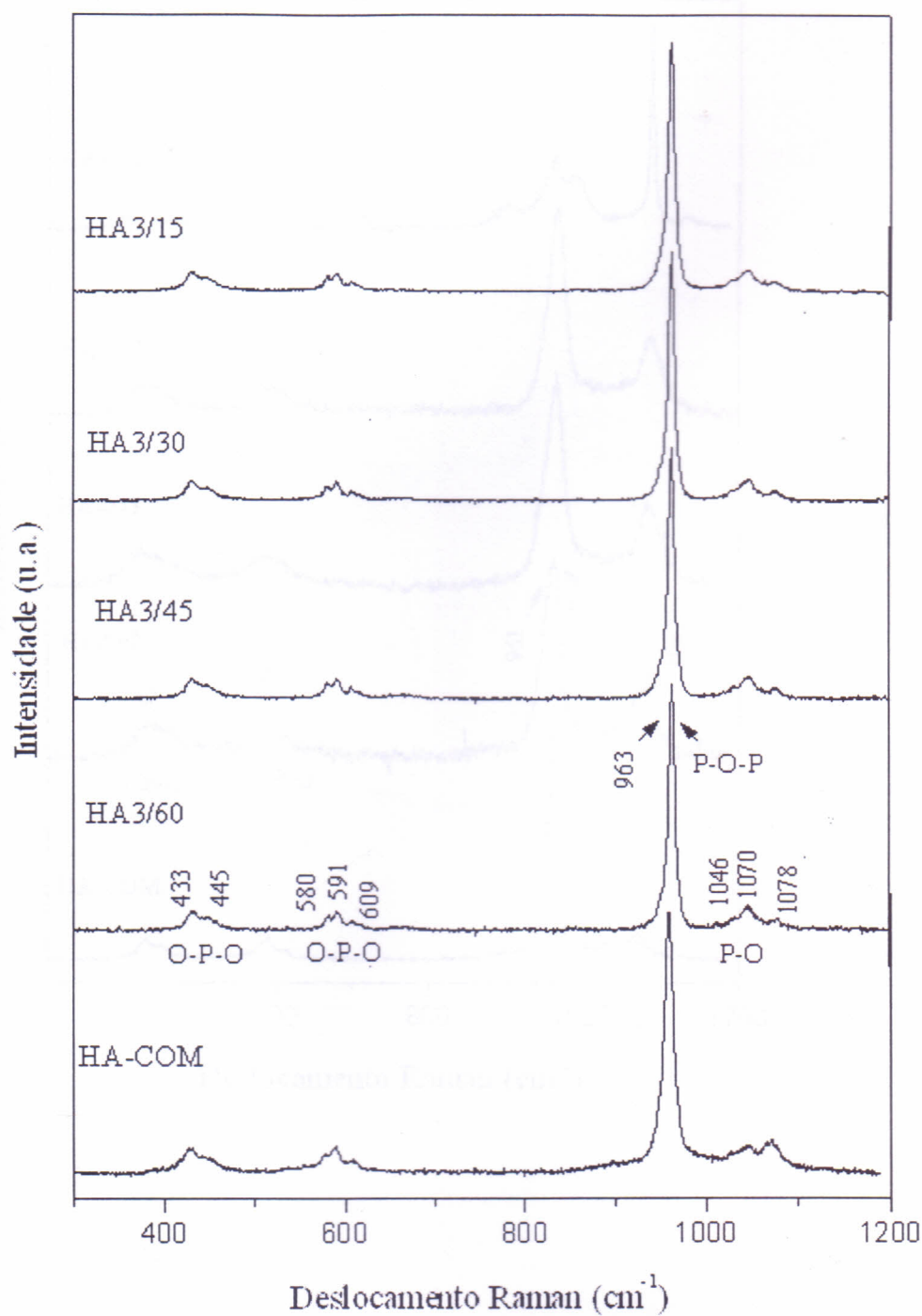


Figura 3.18 – Espectro Raman dos produtos da reação 3 com tempos de moagem em 15h (HA3/15), 30h (HA3/30), 45h (HA3/45), 60h (HA3/60) e cerâmica HA-COM

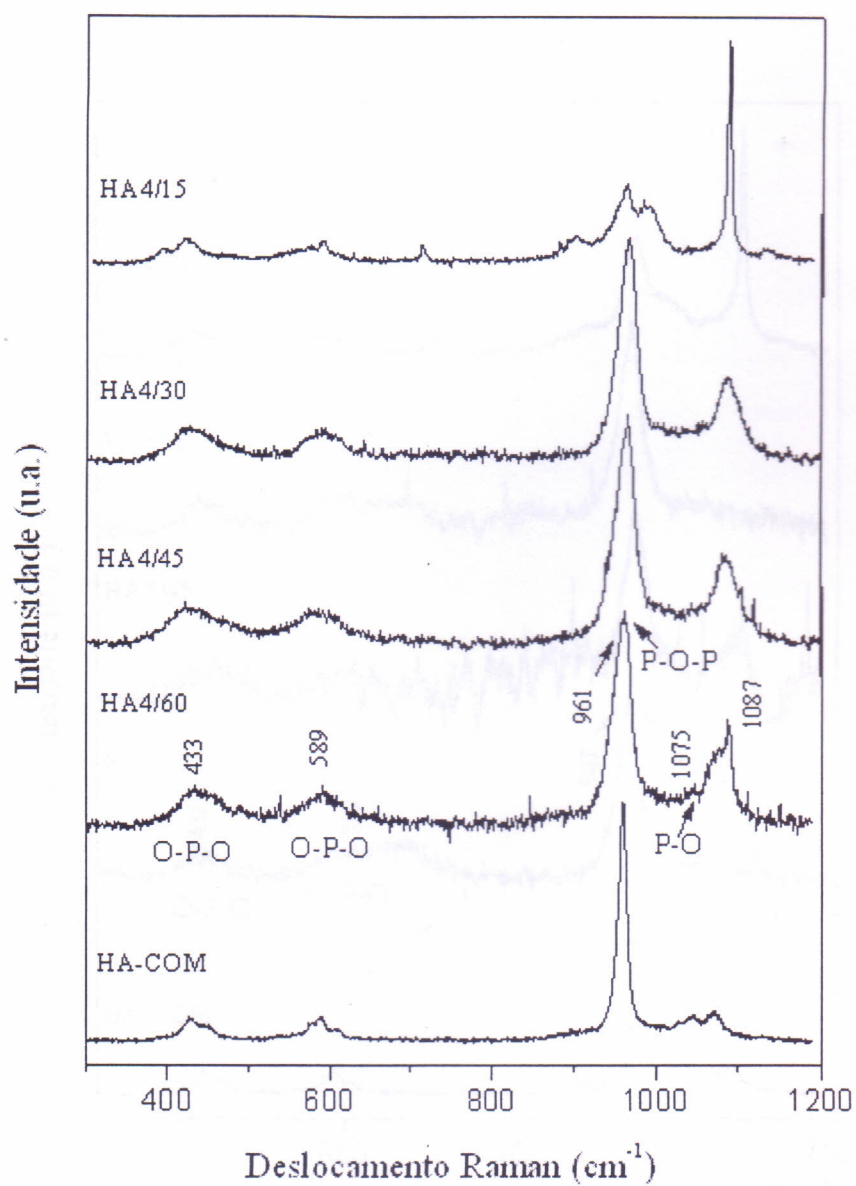


Figura 3.19 – Espectro Raman dos produtos da reação 4 com tempos de moagem em 15h (HA4/15), 30h (HA4/30), 45h (HA4/45) e 60h (HA4/60) e cerâmica HA-COM.

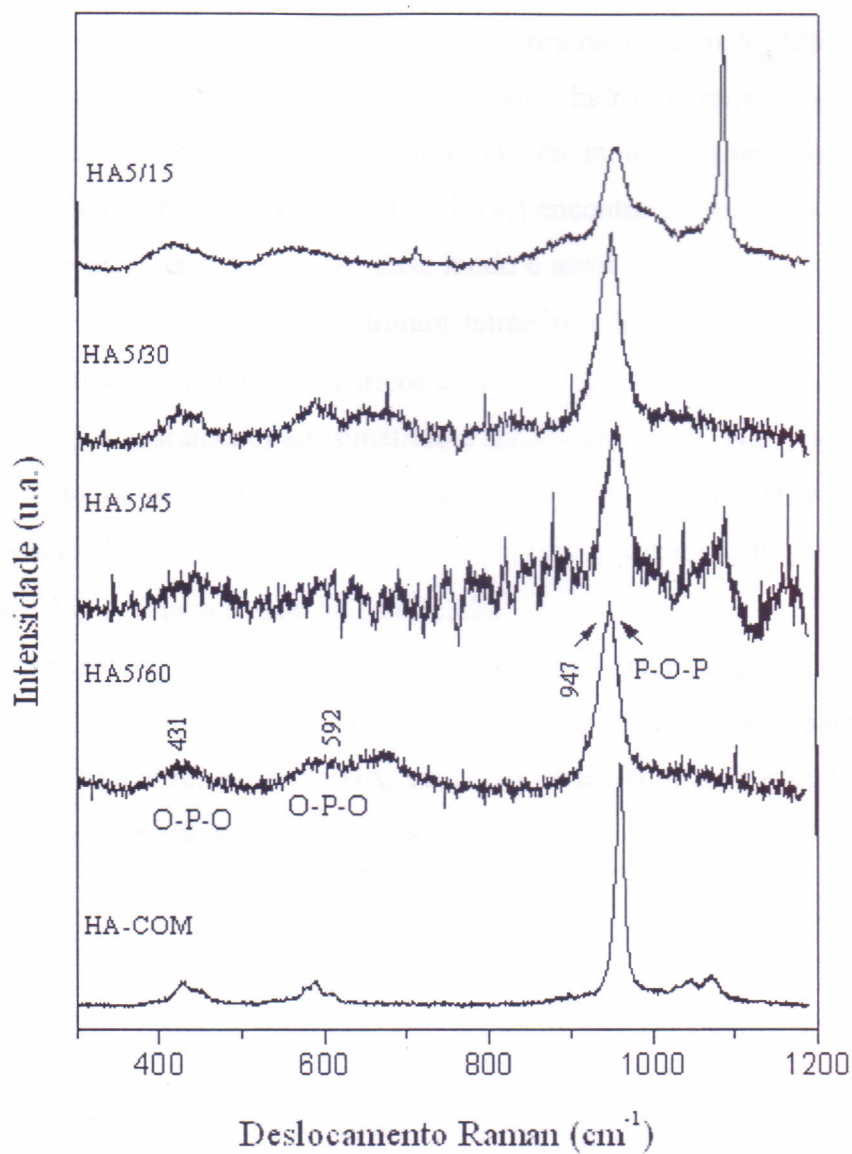


Figura 3.20 – Espectro Raman dos produtos da reação 5 com tempos de moagem em 15h (HA5/15), 30h (HA5/30), 45h (HA5/45), 60h (HA5/60) e cerâmica HA-COM.

Na Figura 3.21, temos os espectros de Raman das amostras das reações 1, 2, 3, 4, 5 e HA-COM, comparando-se apenas os tempos finais de moagem em 60 horas, onde os espectros de HA contêm bandas associadas a modos vibracionais internos e bandas devido ao íon hidroxila com modos de estiramento e rede [29-35]. Os modos vibracionais internos de íons fosfato, carbonato e hidroxila na apatita aparecem acima de 400 cm^{-1} . Bandas abaixo desse valor são os modos de rede externa (LM). Foi observado que o espectro Raman de P-O-P (ν_1) encontra-se em 959 vs cm^{-1} com grande intensidade e característica da HA. Esse modo é associado ao estiramento simétrico de fosfato em ν_1 (P-O-P) A_1 como estrutura tetraédrica livre. O modo ν_2 (O-P-O)E está associado a modos angulares simétricos e ν_3 (P-O) juntamente com ν_4 (O-P-O) a modos T_2 associados a estiramento antisimétrico e modos angulares. Nas reações 1, 2 e 3 são observados todos os modos dos reagentes comerciais. Para as reações 4 e 5 todos os modos associados ao fosfato são identificados com exceção do modo O-P-O (ν_2) para reação 4 e P-O (ν_3) para reação 5 (Tabela 3.2).

Para a reação 4 acredita-se que a razão está associada ao grau de amorfização do produto obtido, na qual é esperada uma baixa eficiência da luz de espalhamento. Para a reação 5 não houve formação de HA, ainda que observados modos de fosfato em 947 m cm^{-1} (ν_1), 592 s cm^{-1} (ν_4) e 431 s cm^{-1} (ν_2).

	Deslocamento Raman (cm ⁻¹)							
	HA [32,34]	HA Carbonatada [32]	HA-COM	HA1/60	HA2/60	HA3/60	HA4/60	HA5/60
							1087	
v ₃ (P-O) _(sa)	1075s	1075s					1075s	
v ₃ (P-O) _(sa)	1061sh	1070sh	1072sh	1071sh	1068sh	1070sh		
v ₃ (P-O) _(sa)	1053sh	1048sh	1046sh	1042sh	1043sh	1046sh		
v ₃ (P-O) _(sa)	1028s	1029s	1029s	1028s	1028s			
v ₁ (P-O-P) _(s)	962vs	962vs	959vs	959vs	958vs	963vs	961vs	
v ₁ (P-O-P) _(s)	948m	948m						947m
v ₄ (O-P-O) _(sas)	608s	608s	608s	604s	605s	609s		
v ₄ (O-P-O) _(sas)	593s	592s	590s	588s	586s	591s	589s	592s
v ₄ (O-P-O) _(sas)	580s	584s	577s	577s	577s	580s		
v ₂ (O-P-O) _(b)	447s	448s	445s	443s		445s		
v ₂ (O-P-O) _(b)	432s	432s	432s	432s	432s	433s		431s

Tabela 3.2 – Modos vibracionais dos espectros Raman obtidos para as amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e cerâmica HA - COM comparados com dados de referências.

(b) = “bend” (sas) = “stretching” antisimétrico (s) = “stretching”

intensidades das bandas

(s) = forte (sh) = “shoulder” (vs) = muito forte (m) = médio

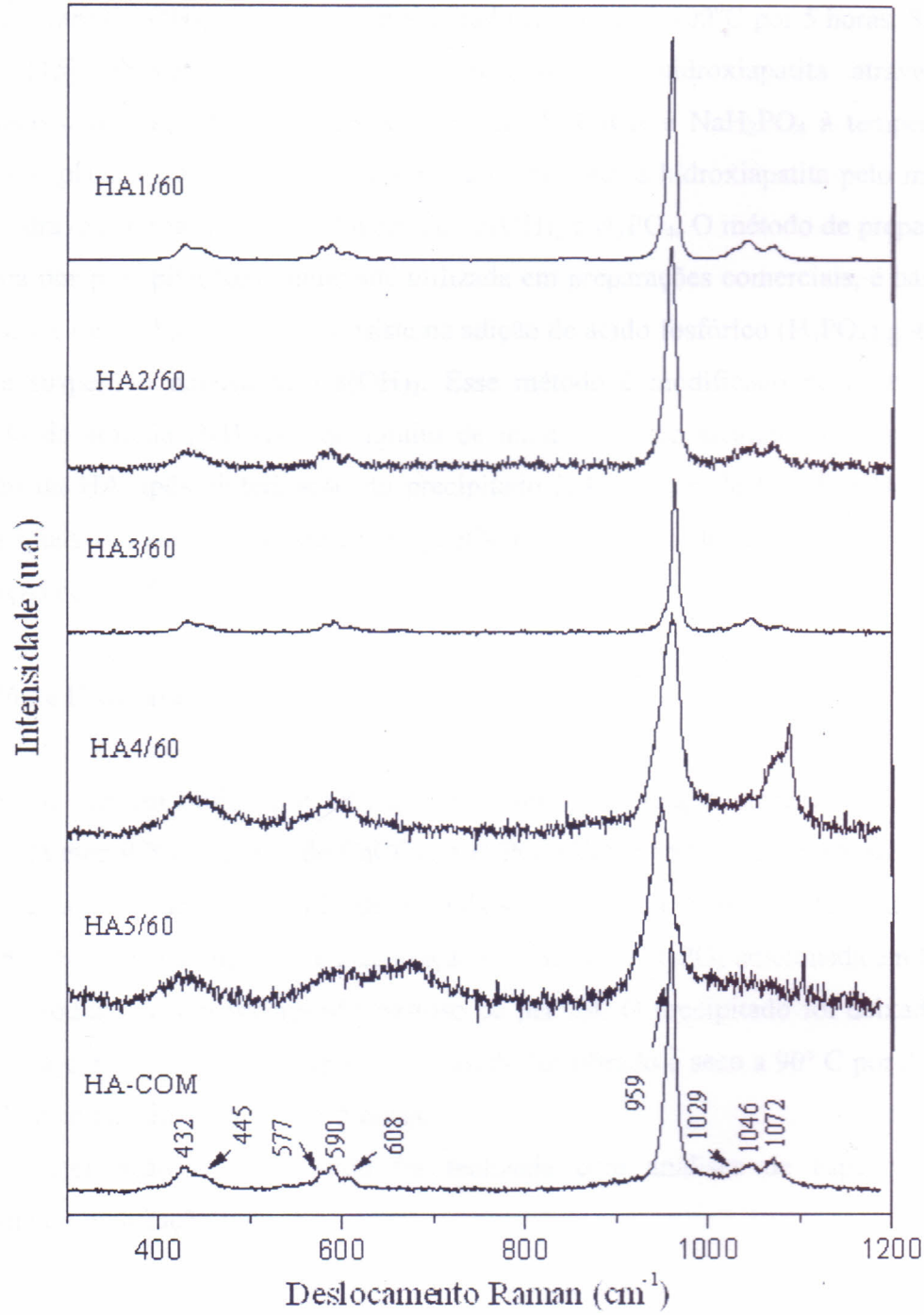


Figura 3.21 - Espectro Raman das amostras HA1/60, HA2/60, HA3/60, HA4/60, HA5/60 e da cerâmica HA-COM.

3.2. Hidroxiapatita Obtida pelo Método de Precipitação

3.2.1. Introdução

Neste item será estudada a obtenção de hidroxiapatita por via da precipitação através da reação entre Ca(OH)_2 e H_3PO_4 e o precipitado calcinado a 900°C por 5 horas. Sarig e Kahana [15] obtiveram partículas nanocristalinas de hidroxiapatita através de precipitado com reações entre soluções diluídas de CaCl_2 e NaH_2PO_4 à temperatura ambiente e pH 7,4. Osaka e col. [20] conseguiram obter a hidroxiapatita pelo mesmo método, através de reação entre soluções de Ca(OH)_2 e H_3PO_4 . O método de preparação da apatita por precipitação, comumente utilizada em preparações comerciais, é baseado nos métodos de Rathje [60], que consiste na adição de ácido fosfórico (H_3PO_4) gotejado em uma suspensão aquosa de Ca(OH)_2 . Esse método é modificado pela adição de hidróxido de amônia (NH_4OH) no intuito de manter o meio alcalino, assegurando a formação da HA após sinterização do precipitado [14 – 25] e de Hayek e Newesely [61], os quais utilizam nitrato de cálcio [$\text{Ca(NO}_3)_2$] e fosfato de amônio $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ com adição de NH_4OH .

3.2.2. Pó de Hidroxiapatita

O pó de HA foi obtido por precipitação ocorrido da reação entre as soluções de Ca(OH)_2 (Vetec 97% com 3% de CaCO_3) e H_3PO_4 (Vetec 85% P.A.). Uma suspensão com concentração de 0,2 mol/L de Ca(OH)_2 foi agitada à temperatura ambiente juntamente com uma solução de concentração 0,1 mol/L de H_3PO_4 adicionada em forma de gotas produzindo um precipitado pastoso de pH 7,4. O precipitado foi deixado em repouso por cerca de 24 horas. Após este período foi filtrado e seco a 90°C por 2 horas e o produto calcinado a 900°C por 5 horas.

A caracterização do pó obtido foi realizada com análises de espectroscopia infravermelho e difração raios-X.

3.2.3. Difração de Raios-X

3.2.3.1. Método Experimental

A difração de raios-X foi determinada utilizando-se procedimento descrito no item 3.1.3.

3.2.3.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.22 estão representados os difratogramas de raios-X da Hidroxiapatita (HAU) obtida pelo método de precipitação comparado com os picos de difração obtidos pela literatura (HA-REF (●) e β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (■) [24], Observa-se o favorecimento da formação de Hidroxiapatita, indicado pela difração de raios-X. Na mesma figura é observada a presença de linhas de difração extra da fase de β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Este fato deve-se à reação ter favorecido também a formação do β - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ devido ao meio não estar muito básico, garantindo a formação de hidroxiapatita, após calcinação do precipitado [14 e 25]. Esse método é sensível à concentração de cada um dos reagentes e ao pH da reação de formação da hidroxiapatita sobre sinterização dos precipitados de apatita [26-27].

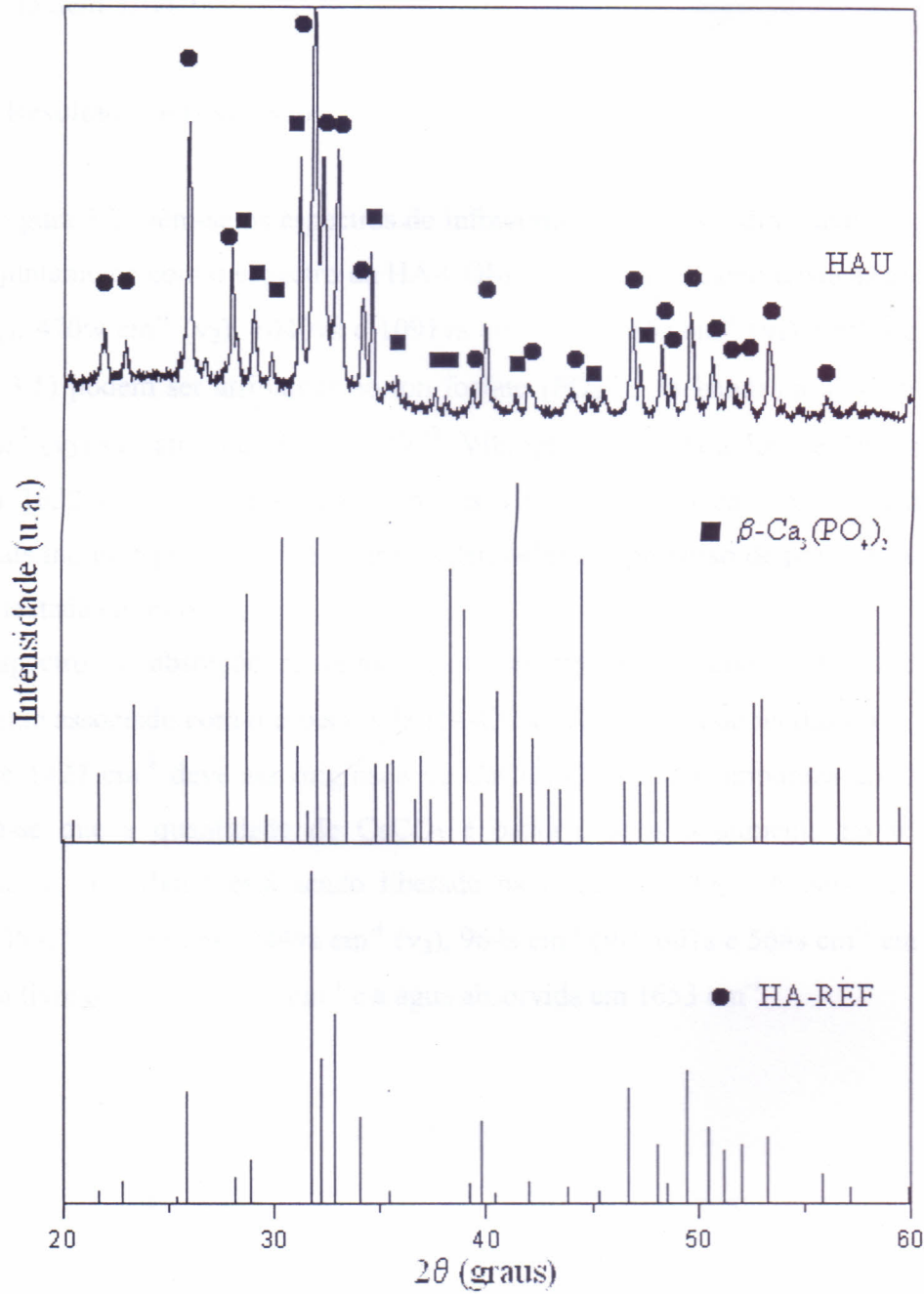


Figura 3.22 – Difratoograma de Raios-X da HA calcinada (HAU) e dados referentes da literatura HA-REF (●) e $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (■)

3.2.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

3.2.4.1. Método Experimental

O espectro na região do infravermelho foi obtido utilizando-se procedimento descrito no item 3.1.4.

3.2.4.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.23 têm-se os espectros de infravermelho para a hidroxiapatita calcinada (HAU) juntamente com o espectro da HA-COM, cujas bandas características são 963vs cm^{-1} (ν_1), 470w cm^{-1} (ν_2), 1040vs e 1091vs cm^{-1} (ν_3), 565s cm^{-1} (ν_4) e 603s cm^{-1} (ν_4) (Tabela 3.1) podem ser atribuídas ao íon fosfato (PO_4^{3-}). As bandas a 874 cm^{-1} (ν_2) e 1452 cm^{-1} (ν_3) são atribuída ao íon CO_3^{2-} . Vibração associada à água é detectada pela banda a 1630 cm^{-1} . A presença dos modos vibracionais do carbonato em amostras comerciais indica a presença de impurezas derivadas do processo de preparação, a qual não é detectada em raios-X.

O espectro de absorção na região do infravermelho da amostra HAU pode ser diretamente associado com o espectro da HA-COM. A presença de modos do (ν_3) CO_3^{2-} a 1467 e 1427 cm^{-1} deve ser originada de CaCO_3 (3%) como impureza do Ca(OH)_2 . Acredita-se que a quantidade de CaCO_3 é baixa e após o aumento no tempo de aquecimento, o carbono está sendo liberado na forma de CO_2 . A absorção do íon fosfato (PO_4^{3-}) ocorre em 1044vs cm^{-1} (ν_3), 964s cm^{-1} (ν_1), 601s e 568s cm^{-1} em (ν_4). A hidroxila livre ocorre em 631s cm^{-1} e a água absorvida em 1653 cm^{-1} .

3.2.3. Caracterização

A caracterização da amostra de hidroxiapatita calcinada (HAU) e HA-COM foi realizada por espectroscopia no infravermelho (FTIR).

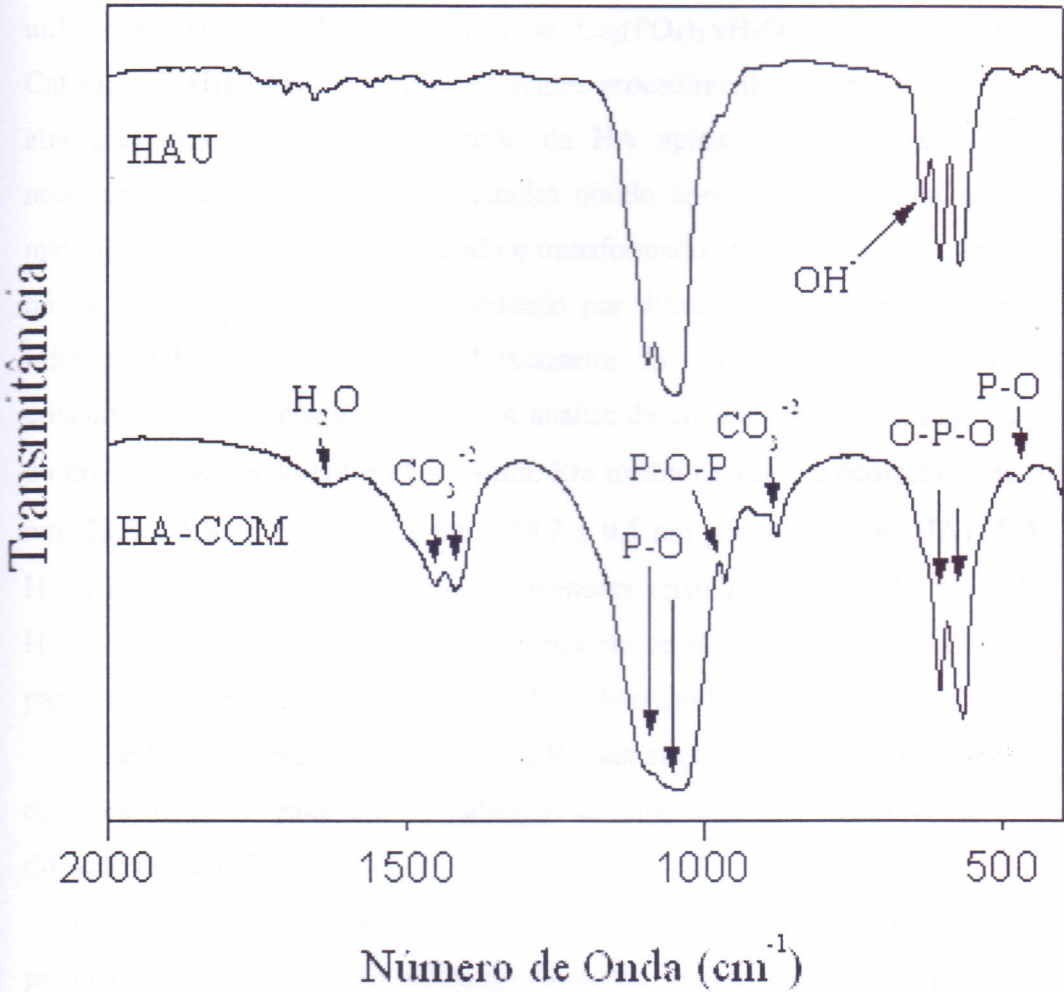


Figura 3.23 - Espectros na região do Infravermelho da amostra de hidroxiapatita calcinada (HAU) e HA-COM

3.2.5. Conclusões

A moagem mecânica de alta energia foi usada com êxito para produzir pós nanocristalinos de hidroxiapatita utilizando quatro diferentes procedimentos. Foram utilizados óxidos e sais comerciais de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaHPO_4 , P_2O_5 , CaCO_3 e $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ em cinco diferentes procedimentos. O processo de moagem de alta energia utilizado para obtenção da HA apresenta a vantagem de não haver necessidade de calcinação e o cristalito obtido apresentar dimensão nanométrica. O material obtido pode ser compactado e transformado em amostra de cerâmica sólida. O pó de hidroxiapatita obtido foi estudado por difração de raios-x, espectroscopias de infravermelho e Raman. A hidroxiapatita foi obtida com diferentes graus de cristalinidade e tempos de moagem. A análise da difração de raios-x indicou o tamanho do cristalito variando entre 14 a 44 nm. Em média os valores ocorreram em $39,1 \pm 2,5$ nm; $33,8 \pm 1,8$ nm; $40,3 \pm 2,6$ nm e $19,2 \pm 0,5$ nm para as reações HA1, HA2, HA3 e HA4, respectivamente. Os maiores e menores cristalitos foram obtidos pelas reações HA3 e HA4 (ver Figura 3.2). Houve formação de HA nas quatro reações iniciais, mas para a reação 5 não houve formação de HA observando-se um alto grau de amorfização.

As espectroscopias infravermelho e Raman sugerem que com o aumento do tempo de moagem há a tendência de formação da hidroxiapatita, como visto na análise de difração de raios-X.

O difratograma de raios-X e a espectroscopia infravermelho obtidos da análise do pó pelo método de precipitação indicam a formação de hidroxiapatita [24] com alto grau de mistura com $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3.3. Filmes

3.3.1. Filmes Espessos de Hidroxiapatita Obtidos pelo Método “Screen-Printing”

3.3.2. Introdução

A cerâmica de hidroxiapatita, comparando-se com o osso e outras biocerâmicas como o fosfato de cálcio (TCP), alumina (α - Al_2O_3), etc; é extremamente quebradiça. A partir desta visão, muitos esforços têm sido empenhados para desenvolver métodos de processar depósitos de hidroxiapatita em ligas resistentes à corrosão. Avanços mais recentes em síntese de cobertura de hidroxiapatita incluem deposição eletroforética [36-37], eletroquímica [38], de pulso “laser” [39], feixe iônico [40] e mais recentemente a deposição sol-gel [41-42]. O método sol-gel recebeu mais atenção nos últimos onze anos devido à facilidade de processamento e utilização de temperatura ambiente. Outros métodos de deposição incluem o de filmes espessos de hidroxiapatita na qual incluem lançamento de partículas [43-44]. Recentemente o método de depósito de pulso “laser” (PLD) têm sido aplicado para produzir filmes espessos de hidroxiapatita cristalina [45-46]. A hidroxiapatita utilizada na obtenção dos filmes espessos foi sintetizada pelo método de moagem mecânica de alta energia. A vantagem deste método está associada ao fato de não haver necessidade da calcinação, além do pó obtido ser nanocristalino exibindo excelentes propriedades mecânicas [47-49]; podendo ser facilmente modelado (injetado, compactado, etc.) a qualquer geometria. A produção e o estudo das propriedades das cerâmicas de hidroxiapatita são importantes em razão das possíveis aplicações nas áreas de ortopedia, odontologia.

O filme espesso de hidroxiapatita foi preparado sobre superfície de prata, utilizada como eletrodo. As propriedades estruturais dos filmes serão discutidas com forte ênfase nas propriedades elétricas. Essas propriedades são importantes com vistas às possibilidades de aplicação na fabricação de sensores biológicos.

3.3.3. Hidroxiapatita Nanocristalina

A cerâmica utilizada na preparação do filme foi obtido através de síntese por moagem mecânica entre Ca(OH)_2 e P_2O_5 como descrito no item 3.1.2. denominado HA3 com 60 horas de moagem.

3.3.4. Preparação da Pasta

A pasta foi preparada por uma suspensão de material orgânico (resina, solvente orgânico ou algum aditivo para proporsionar comportamento reologico à pasta) e o pó de hidroxiapatita (HA3/60) na razão 30:70 respectivamente. A substância orgânica utilizada na preparação do filme foi a quitosana (85% a 5 mg/L). A quitosana é um polímero que contém uma estrutura β -1-4 ligada a unidades de 2 amino-2-deoxi-D-glucopiranoose e é prontamente obtida por N-desacetilação da quitina, um polissacarídeo natural e abundante na natureza. Esse biopolímero é o componente estrutural das carapaças de alguns crustáceos, insetos e moluscos além de ser base celular de alguns microorganismos.

A quitosana e seus derivados tem sido explorados como membranas por diálise, acelerador na cicatrização e transportador no controle de distribuição de drogas [50]. Para haver uma melhor adesão entre a pasta e o substrato (Al_2O_3) foi necessário adicionar um fundente (vidro – Glasstécnica Imp. Com. de vidros LTDA), na forma de pó, com temperatura de fusão baixa. A concentração de vidro na massa total da amostra é indicado pela referência Y. As amostras são indicadas por HA3GY, onde Y = 5, 10, 15, 20 e 25 % (% em massa) e G significando vidro.

3.3.5. Substratos e Eletrodos

O substrato de alumina (Al_2O_3) utilizado foi um produto comercial fornecido pela Engecer. O material do eletrodo foi produzido para a técnica de “Screen Printing” pela Joint Metal-PC 200, na geometria descrita na Figura 3.24.

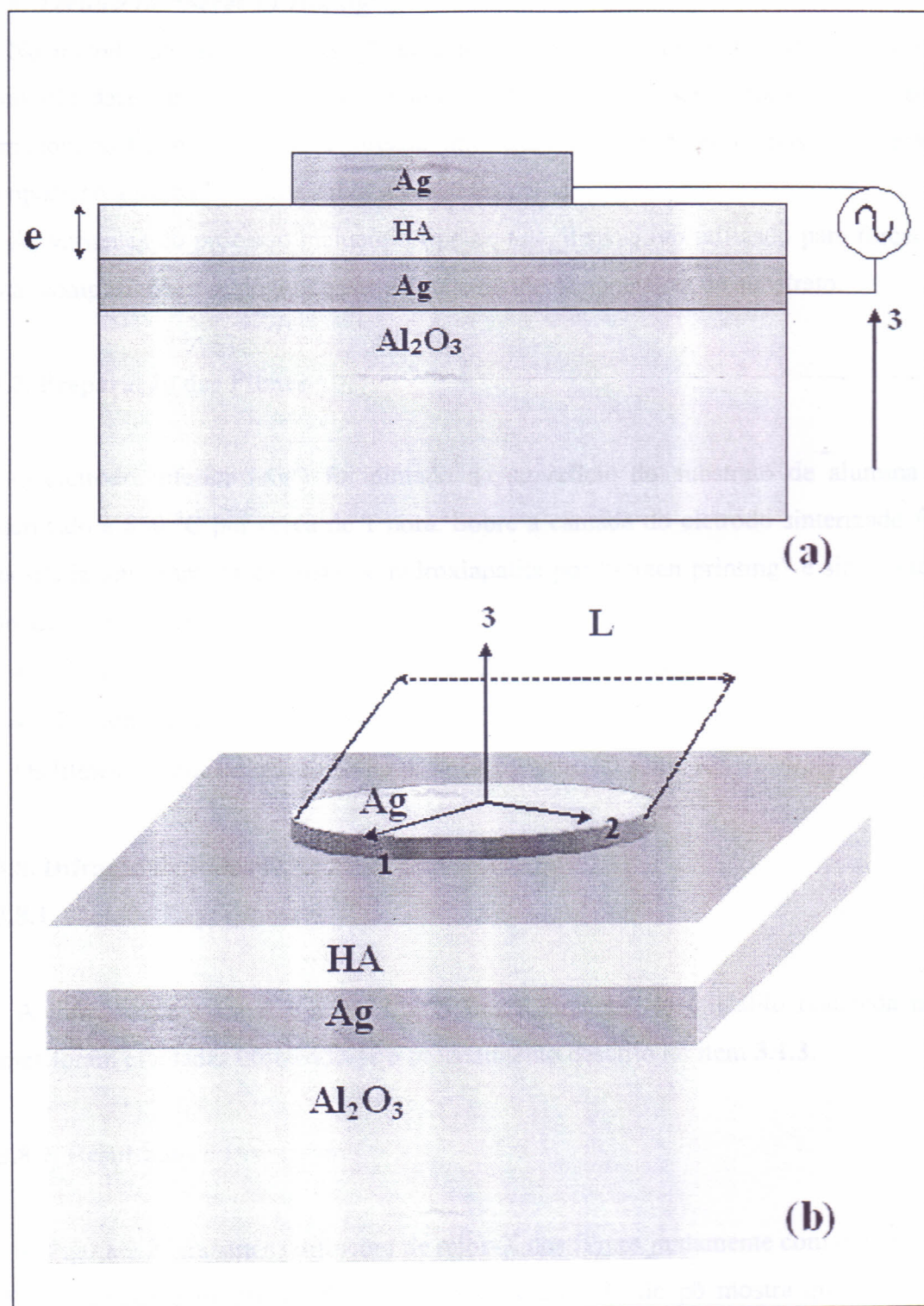


Figura 3.24 – Coordenada retangular associada à amostra dos filmes espessos para medidas piezelétricas e da constante dielétrica.

3.3.6. Técnica de “Screen Printing”

No método de “screen-printing”, uma forma contendo um orifício desenhado na geometria desejada é colocada sobre um substrato na qual será depositada a pasta formadora do filme. Essa pasta é forçada, utilizando-se um rodo ou dispositivo similar em oposição à forma colocada sobre o substrato.

As variantes do processo incluem o tipo de tela, dispositivo utilizado para forçar a pasta, composições e reologia da pasta e rugosidade da superfície do substrato.

3.3.7. Preparação dos Filmes

O eletrodo inferior (Ag^0) foi pintado na superfície do substrato de alumina e sinterizado a $850\text{ }^\circ\text{C}$ por cerca de 1 hora. Sobre a camada do eletrodo sinterizado foi depositada uma camada da pasta de hidroxiapatita por “screen printing” e sinterizado pelo seguinte processo:

- 1ª Camada: $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora + $400\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora + $700\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora
- 2ª Camada: $100\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora + $400\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora + $700\text{ }^\circ\text{C}$ por 1 hora

Os filmes obtidos tinham espessuras variando entre 20 e $400\text{ }\mu\text{m}$.

3.3.8. Difração de Raios-X

3.3.8.1. Metodo Experimental

A difração de raios-X e a determinação do tamanho de cristalito realizada nos filmes foram efetuadas utilizando-se o procedimento descrito no item 3.1.3.

3.3.8.2. Resultados e Discussão

A Figura 3.25 mostra as difrações de raios-X dos filmes juntamente com o do pó de HA3/60, utilizado na preparação dos filmes. A difração do pó mostra que todos os picos associados à hidroxiapatita estão presentes. Para essa cerâmica o tamanho do cristalito está estimado em $38,9\text{ nm}$ (Figura 3.2). A amostra HA3G5 tem todos os picos associados a hidroxiapatita, entretanto o tamanho de cristalito associado a hidroxiapatita está em torno de $46 \pm 3,6\text{ nm}$ (figura 3.26). Pode-se associar o aumento no tamanho de grão ao processo de sinterização sofrido pelo filme. Pode-se identificar

ainda a presença de dois pequenos picos (indicados pelas setas) provavelmente associados à presença do fundente (vidro) que foi utilizado para baixar a temperatura de sinterização e melhorar a adesão entre o filme e o substrato. Esses picos são provavelmente associados à presença de vidro na estrutura do filme, mesmo com o aumento do percentual no filme ($Y = 10, 15, 20$ e 25%), o fundente parece afetar pouco o tamanho de cristalito da hidroxiapatita com 44 ± 3 nm; $47,5 \pm 3$ nm; $46,3 \pm 3$ nm e $42,5 \pm 3$ nm, respectivamente (Figura 3.26).



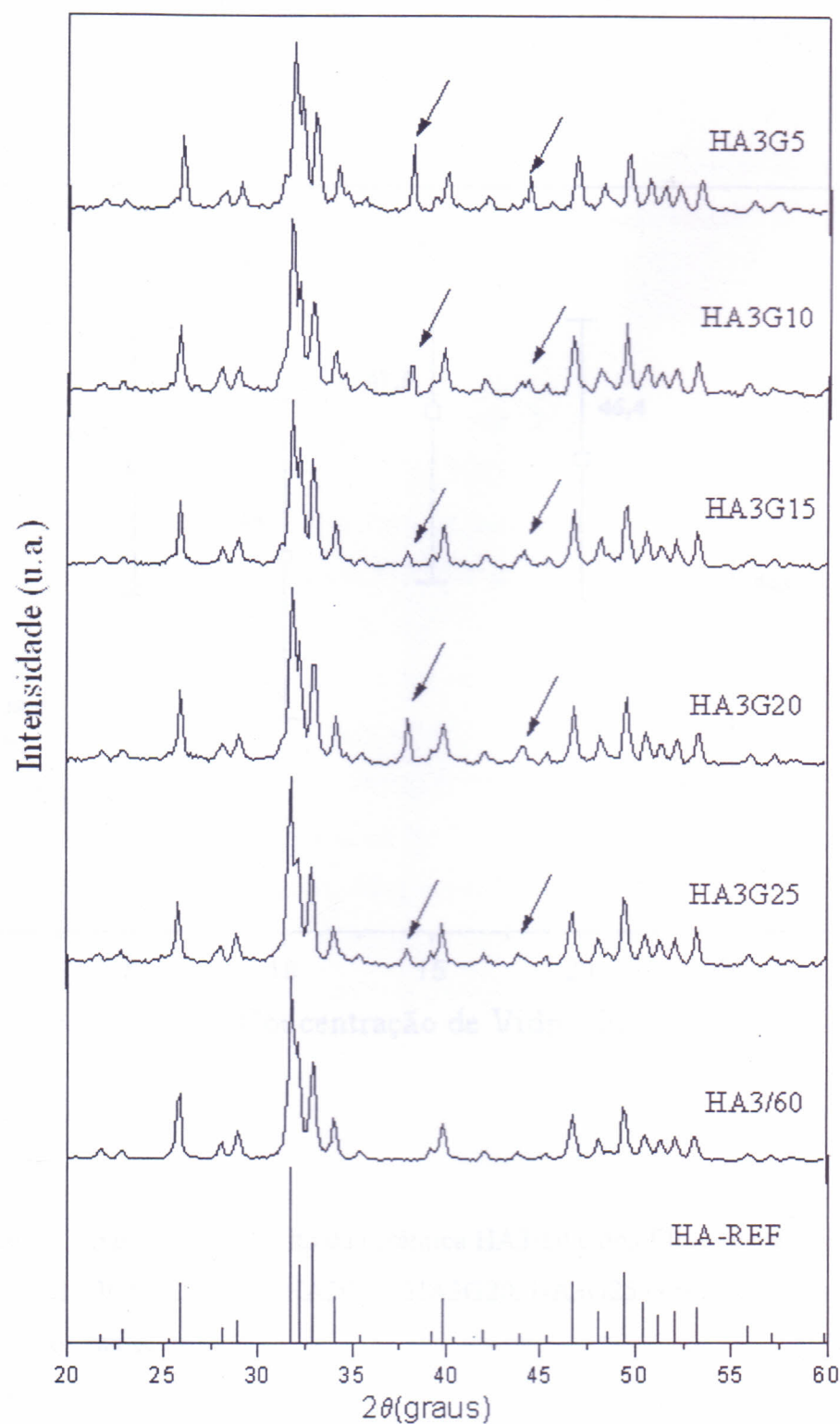


Figura 3.25 – Difratoograma de raios-X da cerâmica HA3/60, dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e dados da literatura para o HA -REF.

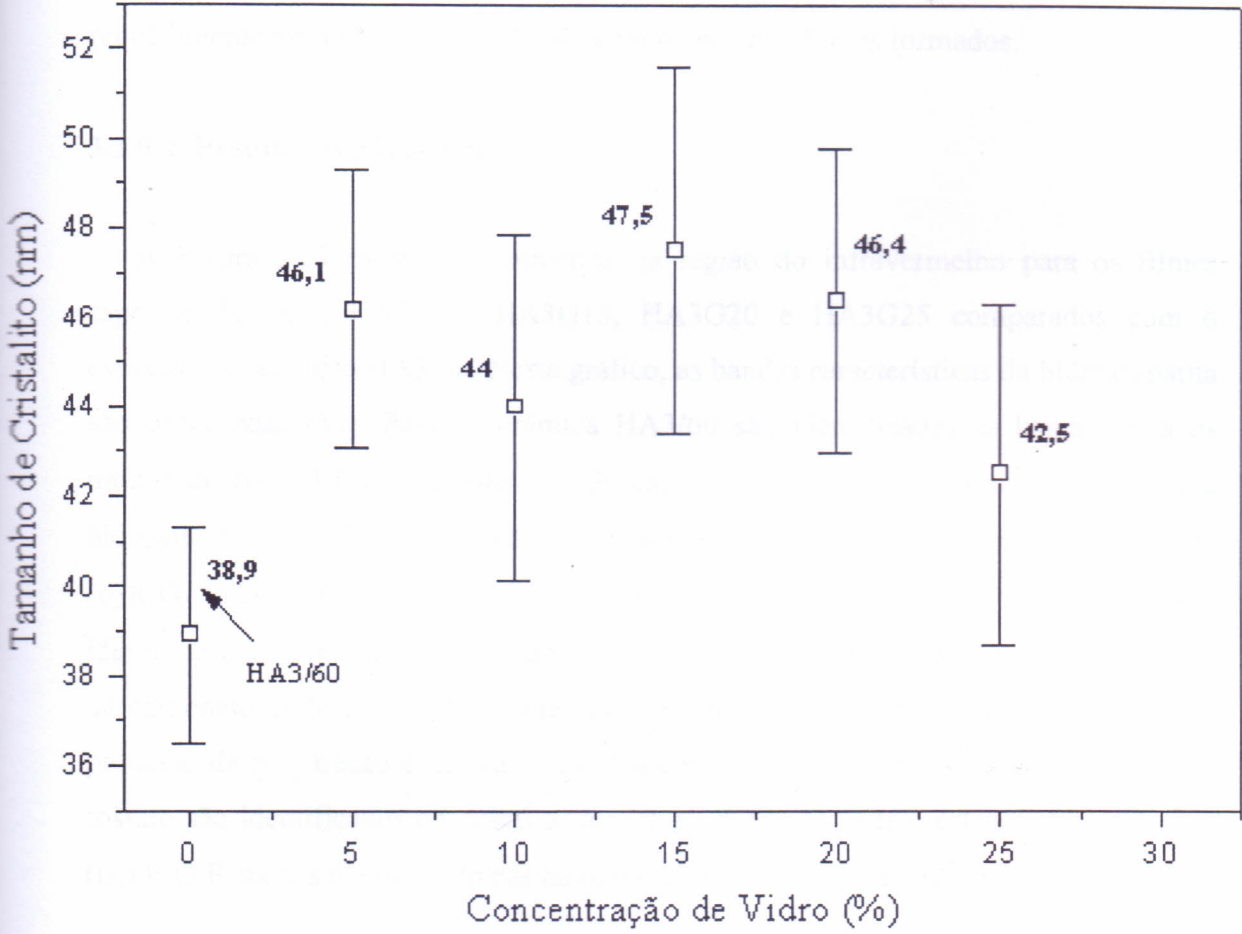


Figura 3.26 – Tamanho de Cristalito da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 com as respectivas barras de erros.

3.3.9. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

3.3.9.1. Método Experimental

O espectro na região do infravermelho foi medido utilizando-se o mesmo procedimento realizado no item 3.1.4., com os pós dos filmes formados.

3.3.9.2. Resultados e Discussão

A Figura 3.27 mostra os espectros na região do infravermelho para os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25 comparados com o espectro da cerâmica HA3/60. Neste gráfico, as bandas características da hidroxiapatita são observadas [30]. Para a cerâmica HA3/60 são identificadas as bandas para os modos do (ν_4) O-P-O em 568s e 603s cm^{-1} . A banda em 632s cm^{-1} é associada à hidroxila livre (OH^{-1}) aparecendo em todos os espectros dos filmes. Os modos de (ν_3) CO_3^{-2} são observados em 1097, 1421 e 1467 cm^{-1} , mas o (ν_2) CO_3^{-2} a 875 cm^{-1} só é identificado no espectro do filme de hidroxiapatita com 25 % de vidro, onde os modos de carbonato estão associados à presença de impureza (nos reagentes comerciais) no processo de preparação e não identificados em difratometria de raios-X. Os modos de fosfato são identificados em todas as amostras de filmes, mas o estiramento simétrico (ν_1) P-O-P apenas é observado nas amostras com 10 e 25 % de vidro (Tabela 3.3).



Figura 3.27: Espectros de absorção na região do infravermelho para os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25 comparados com o espectro da cerâmica HA3/60.

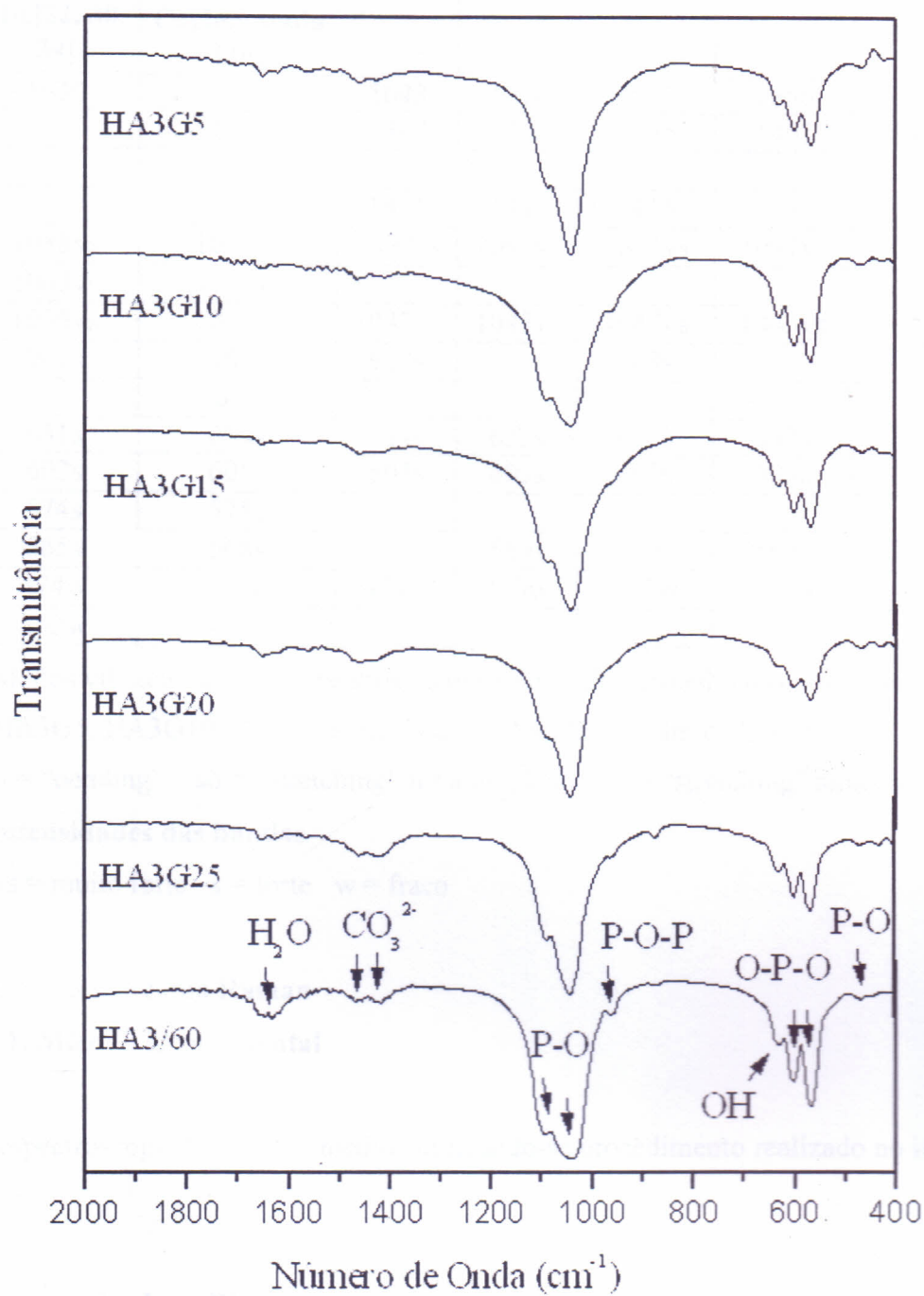


Figura 3.27 – Espectros na região do Infravermelho da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25

	Número de Onda (cm ⁻¹)							
	HA[22, 30, 34]	HA Carbonatada [30]	HA3/60	HA3G5	HA3G10	HA3G15	HA3G20	HA3G25
H ₂ O	1630	1630	1643	1654	1652	1656	1654	1654
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1469	1467	1461	1465	1461	1461	1463
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1454						
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1415	1421	1433	1415	1433	1425	1421
v ₃ (P-O) _(so)	1088vs	1090vs	1097vs	1091vs	1093vs	1091vs	1089vs	1091vs
v ₃ (P-O) _(so)	1065vs	1060vs						
v ₃ (P-O) _(so)	1035vs	1032vs	1047vs	1043vs	1047vs	1043vs	1043vs	1045vs
v ₁ (P-O-P) _(ss)	962s	961s	962s		968s			962s
v ₂ (CO ₃ ²⁻)		873						875
OH ⁻ livre	631s	634s	634s	632s	632s	632s	636s	634s
v ₄ (O-P-O) _(b)	602s	605s	603s	603s	603s	603s	601s	601s
v ₄ (O-P-O) _(b)	574s	575s						
v ₄ (O-P-O) _(b)	565s	568s	568s	569s	569s	569s	569s	570s
v ₂ (P-O) _(ss)	474w	474w	474w	470w	472w	459w	462w	470w
v ₂ (P-O) _(ss)	462w	462w						

Tabela 3.3 – Modos vibracionais dos espectros na região do infravermelho das amostras HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e cerâmica HA3/60.
b = “bending” so = “stretching” for a do plano ss = “stretching” simétrico
intensidades das bandas
vs = muito forte s = forte w = fraco

3.3.10. Espectroscopia Raman

3.3.10.1. Método Experimental

A espectroscopia Raman foi medida utilizando-se procedimento realizado no item 3.1.5.

3.3.10.2. Resultados e Discussão

Os espectros Raman da cerâmica HA3/60 juntamente com os espectros dos filmes de hidroxiapatita podem ser observados no gráfico da Figura 3.28. O espectro da hidroxiapatita contém bandas associadas a modos vibracionais internos e modos de rede [50, 52-53, 30]. Os modos associados a (v₁) P-O-P, (v₂) O-P-O, (v₃) P-O e (v₄) O-P-O, para a cerâmica HA3/60 são indicados (Figura 3.28 e Tabela 3.4). Observa-se

que, o espectro Raman do estiramento (ν_1) P-O-P no modo a 962vs cm^{-1} é o mais intenso e característico da hidroxiapatita. Esse modo é associado com o de estiramento totalmente simétrico a (ν_1) $\text{PO}_4^{3-}(\text{A}_1)$ do íon fosfato tetraédrico livre, enquanto os de (ν_2) $\text{PO}_4^{3-}(\text{E})$ são associados a modos de banda simétricos. Os modos em (ν_3) P-O e (ν_4) O-P-O são associados a T_2 com estiramentos anti-simétricos e modos de banda respectivamente.

Na Figura 3.28 pode-se observar os modos da cerâmica HA3/60 comparativamente com os dos filmes espessos. A cerâmica HA3/60 tem modos de (ν_1) CO_3^{2-} em 1070 cm^{-1} não havendo identificação deste modo nos espectros dos filmes (Figura 3.28 e Tabela 3.4). O número de onda em 1046sh cm^{-1} está associado a (ν_3) P-O e o pico principal da hidroxiapatita em 962vs cm^{-1} tem vínculo com o modo de estiramento (ν_1) P-O-P com boa observação em todas as amostras dos filmes espessos. Os picos em (ν_4) O-P-O são observados em 609s , 591s e 580s cm^{-1} , mas o modo em 609s cm^{-1} é o único a não aparecer nos espectros dos filmes. Os modos a (ν_2) O-P-O estão associados a números de onda em 445s e 432s cm^{-1} , onde o modo a 445s cm^{-1} não foi identificado nos filmes. As análises de infravermelho e Raman associadas nos dão uma boa caracterização óptica dos filmes de hidroxiapatita, comparados com os dados da literatura. As principais linhas associadas a hidroxiapatita são identificadas nas amostras dos filmes.

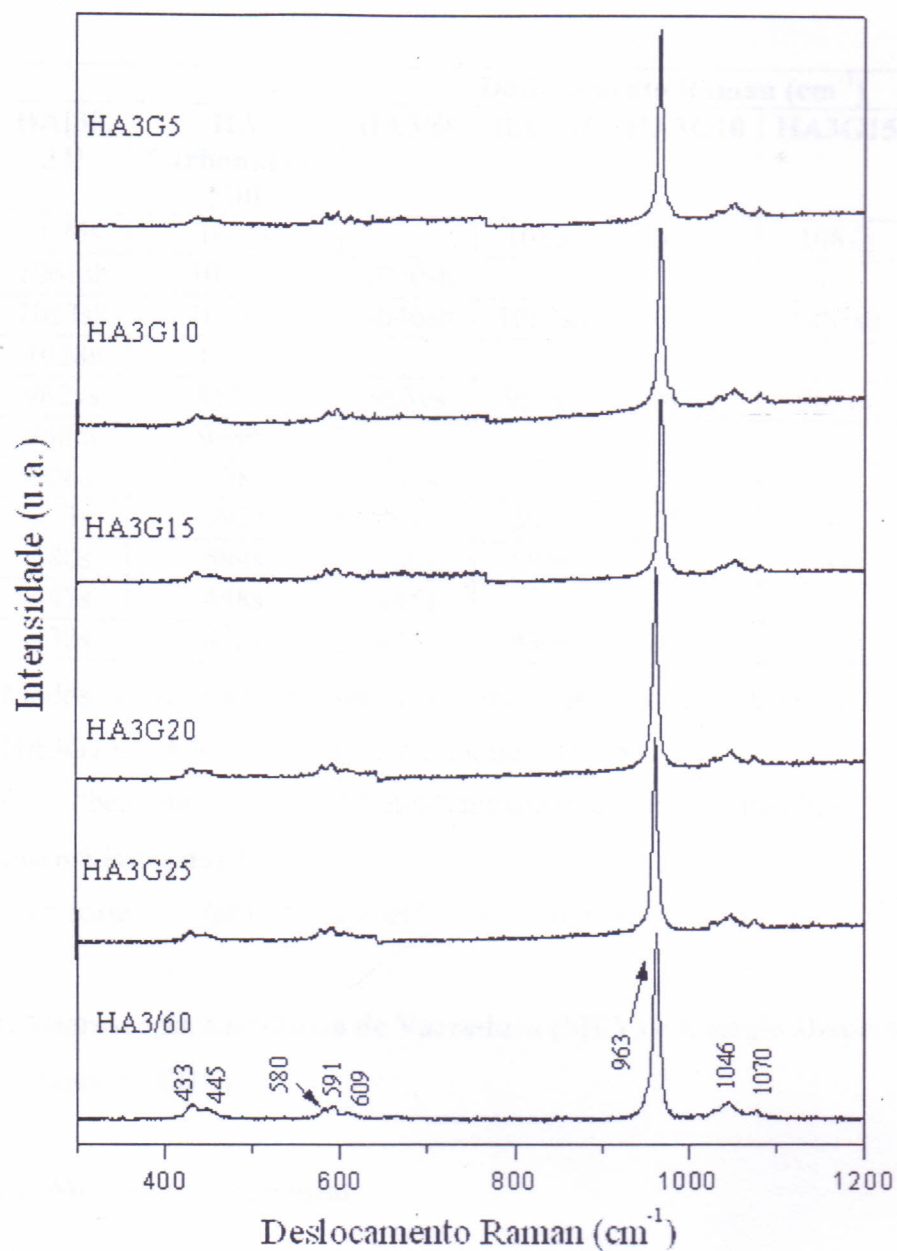


Figura 3.28 – Espectros Raman da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25

	Deslocamento Raman (cm ⁻¹)							
	HA[30, 34]	HA Carbonatada [30]	HA3/60	HA3G5	HA3G10	HA3G15	HA3G20	HA3G25
v ₃ (P-O) _(sa)	1075s	1075s		1080s	1080s	1081s	1074s	1073s
v ₃ (P-O) _(sa)	1061sh	1070sh	1070sh					
v ₃ (P-O) _(sa)	1053sh	1048sh	1046sh	1052sh	1052sh	1053sh	1047sh	1049sh
v ₃ (P-O) _(sa)	1028s	1029s						
v ₁ (P-O-P) _(s)	962vs	962vs	963vs	967vs	967vs	967vs	962vs	962vs
v ₁ (P-O-P) _(s)	948m	948m						
v ₄ (O-P-O) _(sas)	608s	608s	609s					
v ₄ (O-P-O) _(sas)	593s	592s	591s	597s	596s	596s	590s	589s
v ₄ (O-P-O) _(sas)	580s	584s	580s	585s	585s	584s	579s	579s
v ₂ (O-P-O) _(b)	447s	448s	445s					
v ₂ (O-P-O) _(b)	432s	432s	433s	436s	434s	438s	427s	430s

Tabela 3.4 – Modos vibracionais dos espectros Raman das amostras HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20, HA3G25 e cerâmica HA3/60.

(b) = “bending” (sas) = “stretch” antisimétrico (s) = “stretching”

intensidades das bandas

(s) = forte (sh) = “shoulder” (vs) = muito forte (m) = médio

3.3.11. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)

3.3.11.1. Método Experimental

As micrografias dos filmes de HA foram obtidos em um microscópio eletrônico de varredura PHILLIPS XL-30, operando com grupos de elétrons primários limitados entre 12 e 20 KeV em amostras liofilizadas retangulares cobertas com uma camada de carbono de 30 nm de espessura.

3.3.11.2. Resultados e Discussão

A morfologia dos grãos dos filmes foi investigada por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV). As Figuras 3.29–3.32 representam as micrografias das amostras HA3G5, HA3G10, HA3G20 e HA3G25 respectivamente com fator de

ampliação de 5000X. Comparando-se estas figuras, pode-se observar presença de vidro que conduz a uma morfologia esférica para as partículas sintetizadas no filme HA3G5 (Figura 3.29). Com o aumento da presença de vidro os grãos são agregados em conjunto formando placas para as amostras HA3G10 e HA3G20 (Figuras 3.30 e 3.31). Para amostra HA3G25 (Figura 3.32) a morfologia esférica para os grãos é observada. A análise de energia dispersiva de raios-X (EDX) [Figura 3.33] mostra que os elementos principais do pó da cerâmica HA3/60 são carbono, oxigênio, fósforo e cálcio. Para os filmes HA3G5, HA3G10 e HA3G15 os principais elementos também o são. O EDX para o cristal presente na cerâmica HA3/60 mostra que a razão mássica de Ca/P está em torno de 2,1 (ver Tabela 3.5). O valor teórico esperado seria 2,15. Para os filmes com quantidades grandes de vidro (HA3G10 e HA3G15) são observados razões mássicas Ca/P em torno de 2,4 (Tabela 3.5). Para a amostra de filme HA3G5 a razão mássica Ca/P está em torno de 1,62 bem abaixo do valor teórico. Para a amostra HA3G15 (tabela 3.5) a razão mássica esperada seria em torno de 2,15; mas o encontrado foi 2,37; sendo esta uma boa aproximação com o valor teórico.

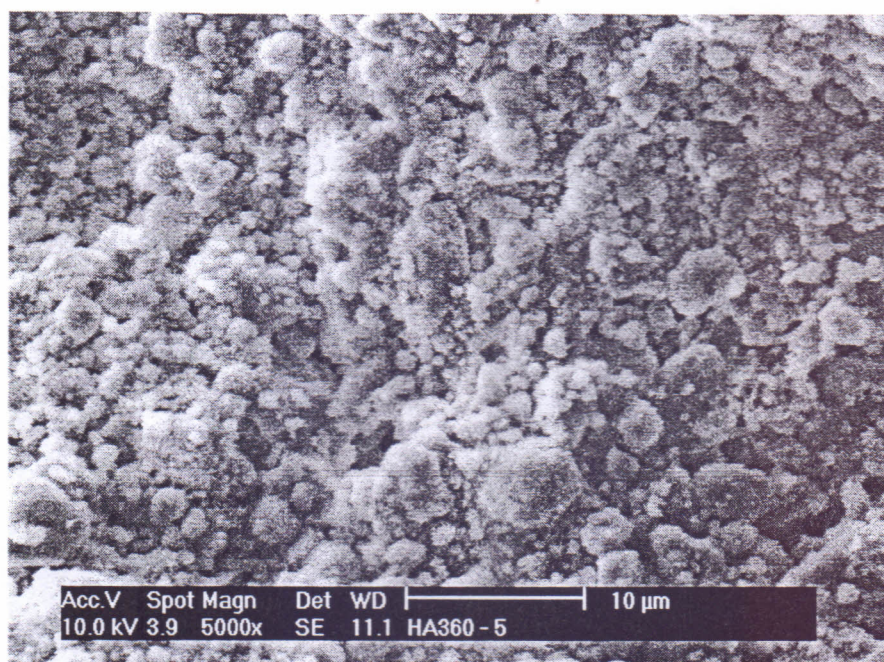


Figura 3.29 – Micrografia do filme espesso HA3G5 com fator de ampliação 5000X

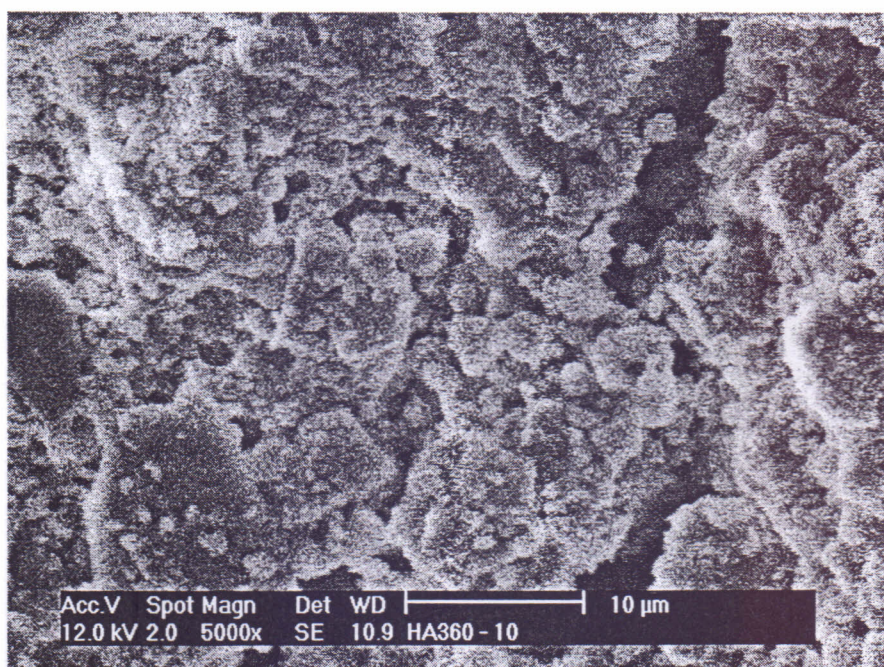


Figura 3.30 – Micrografia do filme espesso HA3G10 com fator de ampliação 5000X

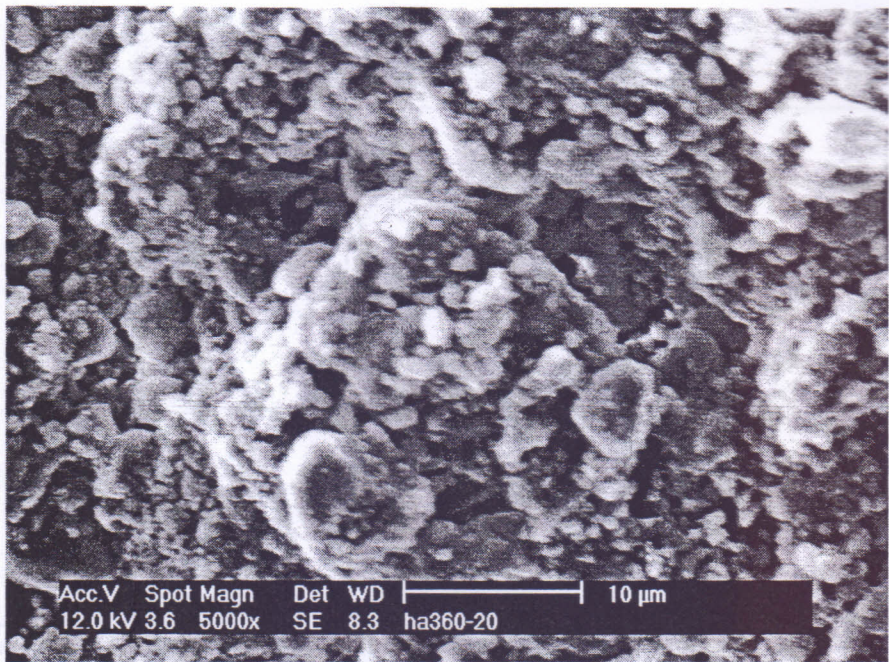


Figura 3.31 – Micrografia do filme espesso HA3G20 com fator de ampliação 5000X.

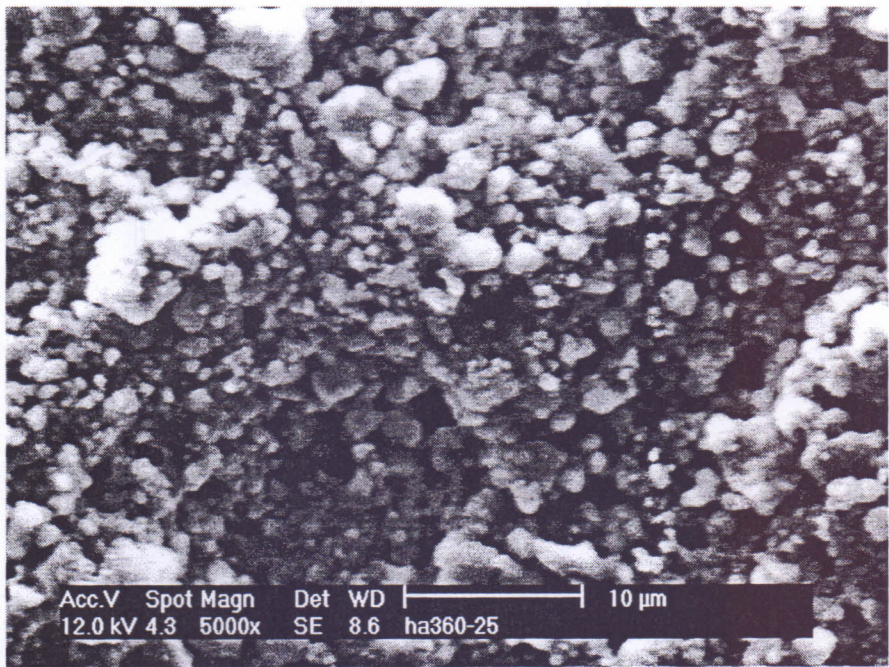


Figura 3.32 – Micrografia do filme espesso HA3G25 com fator de ampliação 5000X

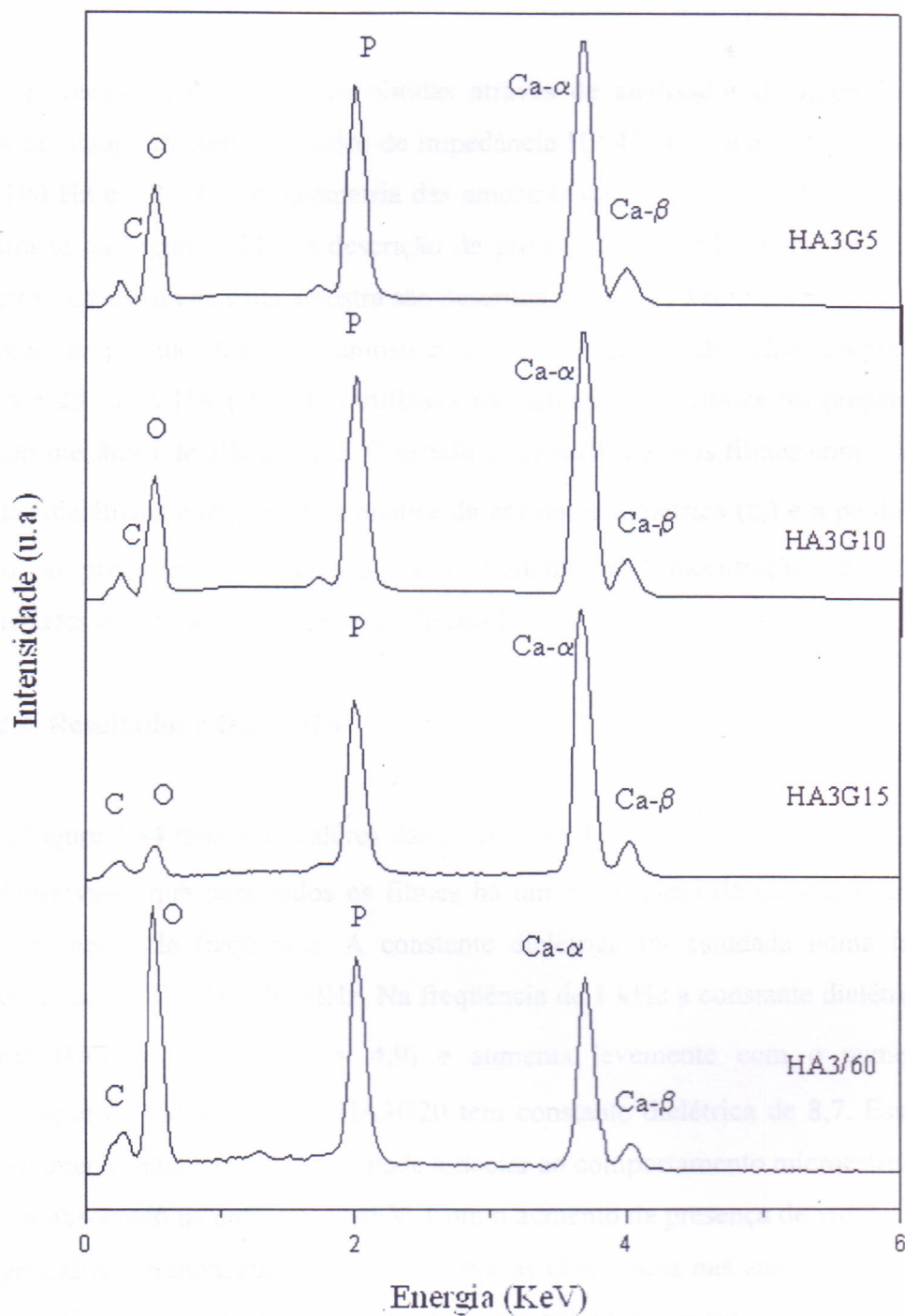


Figura 3.33 – Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) da cerâmica HA3/60 e dos filmes espessos HA3G5, HA3G10 e HA3G15.

3.3.12. Medidas Dielétricas

3.3.12.1. Metodo Experimental

As medidas dielétricas foram obtidas através de analisador de impedância HP 4291A em conjunto com analisador de impedância HP 4194, o qual cobre uma região entre 100 Hz e 1,8 GHz. A geometria das amostras utilizadas nas medidas dielétricas encontra-se na Figura 3.24 e a descrição de preparação dos filmes no item 3.3.7. O diâmetro e espessura de cada amostra são descritos na Tabela 3.6.

Foram preparadas diferentes amostras com concentrações de vidro compreendidas entre 5 e 25 %. A HA (HA3/60) utilizada na formação dos filmes foi preparada por moagem mecânica de alta energia. O estudo a ser realizado nos filmes com relação às medidas dielétricas compreende a análise da constante dielétrica (ϵ_r) e a perda (D). A função do processo de sinterização e o aumento da concentração de vidro nas propriedades estruturais do filme serão discutidos.

3.3.12.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.34 temos os valores das constantes dielétricas (ϵ_r) dos filmes (Tabela 3.5). Observa-se que para todos os filmes há um decréscimo da constante dielétrica com o aumento da frequência. A constante dielétrica foi estudada numa faixa de frequência entre 100 Hz e 40 MHz. Na frequência de 1 kHz a constante dielétrica para o filme HA3G5 é baixa ($\epsilon_r = 4,9$) e aumenta levemente com o aumento da concentração de vidro. O filme HA3G20 tem constante dielétrica de 8,7. Esse é um comportamento interessante que se pode associar ao comportamento microestrutural do filme, já observado na análise de MEV. Com o aumento da presença de vidro, os grãos são agregados simultaneamente formando placas observadas nas amostras HA3G10 e HA3G20. O processo microestrutural parece ser crítico nas propriedades elétricas dos filmes.

Os valores das constantes dielétricas são completamente compatíveis com os valores relatados na literatura, onde, para filmes preparados por deposição de pulso “laser” foi encontrado constante dielétrica em torno de 5,8 a 1 kHz de frequência [51]. Na Figura 3.35 tem-se os resultados das tangentes dos ângulos de perda ($\tan \delta$) ou

fatores de dissipação (D) dos filmes. Observa-se que a perda é decrescente com o aumento da frequência para todos os filmes. Uma perda alta foi observada para uma concentração maior de vidro (HA3G25) com $D = 0,7$ em frequência de 1 kHz. Perda pequena foi notada em HA3G10 ($D = 0,1$). Para altas frequências (1 MHz) a perda decresce e para todos os filmes, se encontra em torno de 0,01 (ver Figura 3.35). Esses valores de constante dielétrica e perda são similares aos da alumina (Al_2O_3) utilizadas convencionalmente para aplicações de microondas [54-56].



Figura 3.35 - Perda tangente (D) em função da frequência para diferentes concentrações de vidro (HA3G10, HA3G25, HA3G50, HA3G75).

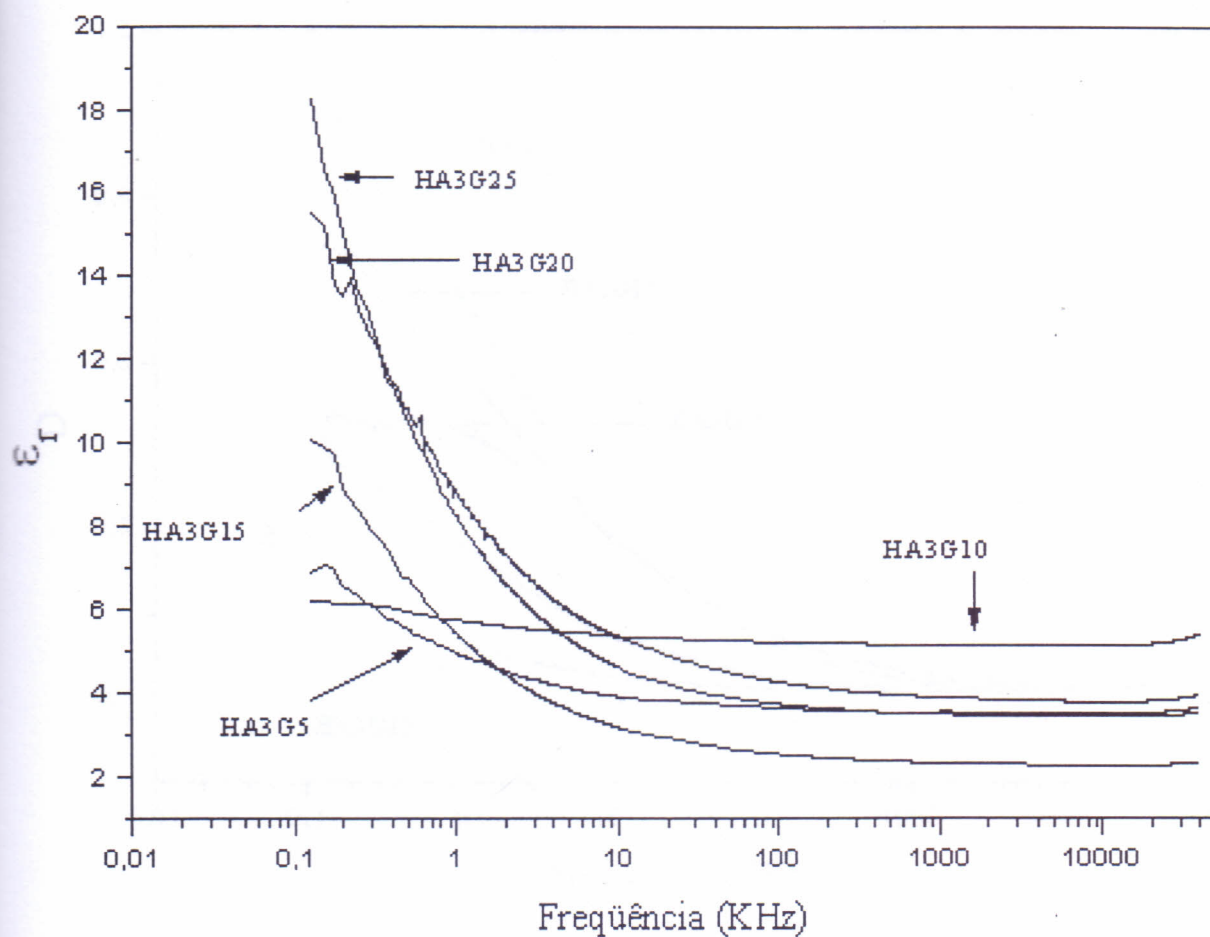


Figura 3.34 – Constante Dielétrica relativa (ϵ_r) em função da frequência da série HAGY (Y = 5, 10, 15, 20 e 25 %).

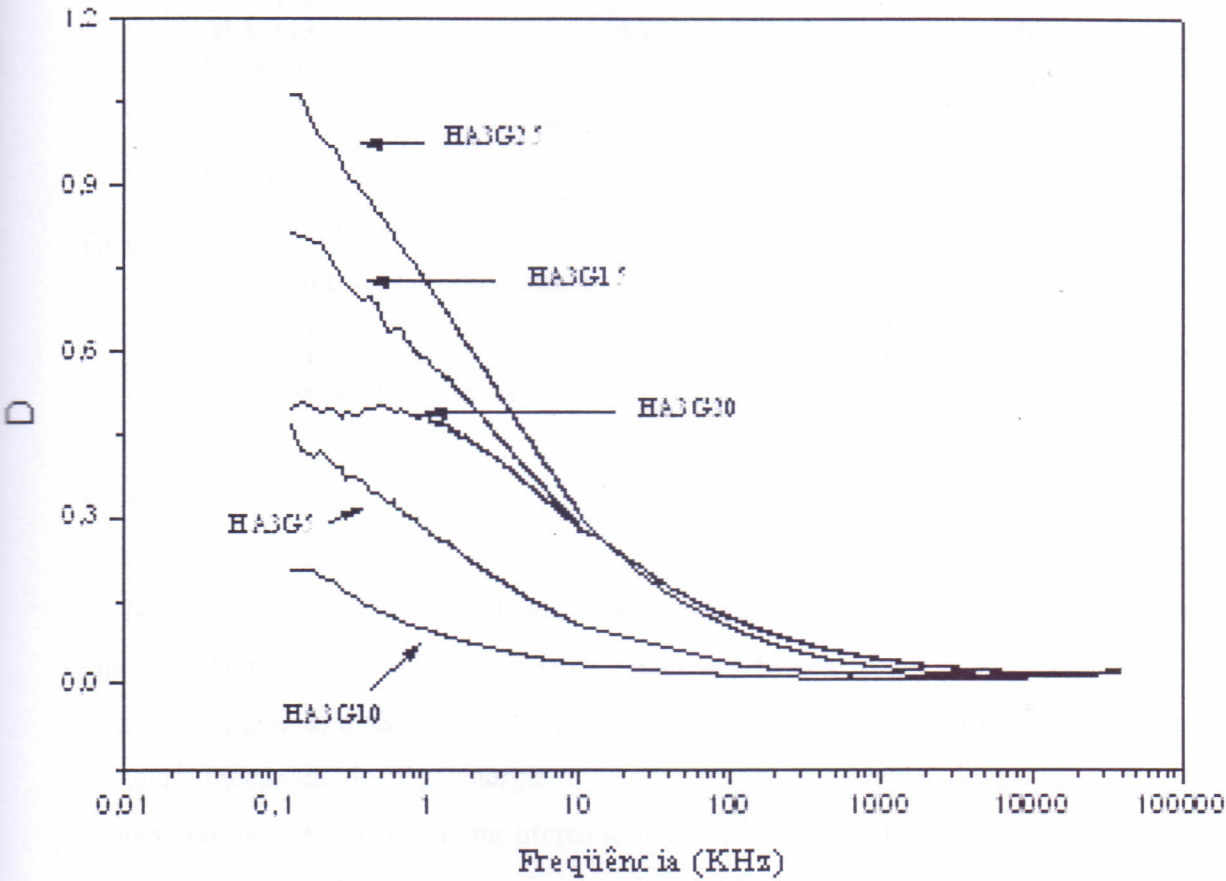


Figura 3.35 – Perda Dielétrica (D) em função da frequência da série HAGY (Y = 5, 10, 15, 20 e 25 %).

Amostra	Espessura [μm]	ϵ_r [$\epsilon_{33}'/\epsilon_0$] (1kHz)	D ($\epsilon_{33}''/\epsilon_{33}'$) (1kHz)	Ca/P Razão Mássica
HA3/60 (pó)				2,10
HA3G5	351	4,96	0,27	1,62
HA3G10	328	5,75	0,10	2,37
HA3G15	305	5,38	0,58	2,37
HA3G20	328	8,73	0,48	
HA3G25	325	8,22	0,72	

Tabela 3.5 - Medidas das constantes Dielétricas relativas (ϵ_r), Espessura (e), Perda Dielétrica (D) das amostras de filmes espessos e a Razão Mássica da relação Ca/P obtidos pela Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) [valor teórico esperado para a HA de 2,15] para cerâmica HA3/60 e os filmes espessos HA3G5, HA3G10, HA3G15, HA3G20 e HA3G25.

3.3.13. Conclusões

Nesse capítulo foram estudadas propriedades elétricas e estruturais dos filmes espessos da biocerâmica hidroxiapatita (HA). Os filmes foram preparados em duas camadas utilizando a técnica de “screen printing” em substrato de alumina (Al_2O_3). A moagem mecânica de alta energia foi utilizada na preparação do pó da cerâmica nanocristalina HA3/60 usada na preparação dos filmes. As amostras foram estudadas por difratometria de raios-X, microscopia eletrônica de varredura (MEV), EDX, medidas da constante dielétrica (ϵ_r) e perda dielétrica (D) e espectroscopias infravermelho e Raman.

Os difratogramas de raios-X dos filmes indicaram que todos os picos associados à fase da hidroxiapatita estavam presentes. linhas extras encontrados nos difratogramas indicam a probabilidade de associação com fundente. Observa-se que houve um aumento no tamanho do cristalito devido ao processo de sinterização aplicado aos filmes. O tamanho dos cristalitos nos filmes ficaram em torno de 46 nm. A morfologia das partículas dos filmes foi investigada por meio da microscopia eletrônica de varredura e a presença de vidro levou a uma morfologia esférica para as partículas dos filmes sinterizados. Com o aumento da presença do vidro nos filmes os grãos são agregados formando placas. Esse comportamento da formação de “clusters” é crítico nas propriedades elétricas dos filmes. O EDX mostra que os elementos principais dos

filmes são carbono, oxigênio, fósforo e cálcio. Para os filmes com maior presença de vidro, o EDX mostrou que a razão mássica de Ca/P ficou em torno de 2,37. O valor teórico para a hidroxiapatita é 2,15. Esse é um bom resultado comparado com o valor esperado.

Os resultados das espectroscopias na região do infravermelho e Raman sugerem que o processo de sinterização não modificou a estrutura da HA nos filmes.

Para todos os filmes é observada uma diminuição nos valores da constante dielétrica (ϵ_r) com o aumento da frequência, encontrando-se entre 4 e 9 a 1 kHz em função da concentração do fundente. Estes valores são bastante compatíveis com medidas anteriormente reportadas na literatura [51], onde a constante dielétrica e perdas foram medidas em filmes preparados por deposição de pulso “laser”.

A perda dielétrica (D) decresce com o aumento da frequência para todos os filmes. Altas perdas foram observadas em altas concentrações de fundente com $D = 0,7$ a 1 kHz para HA3G25. Perdas baixas são observadas em concentrações de fundentes baixas como $D = 0,1$ a 1 kHz na amostra HA3G10. Para altas frequências (1MHz) a perda é baixa com valores para todos os filmes em torno de 0,01. Esses valores de constante dielétrica e perda dielétrica são similares à alumina (Al_2O_3) utilizada convencionalmente para aplicações em microondas. O método de “screen printing” usado na obtenção de filmes espessos da hidroxiapatita é uma excelente opção para aplicação em coberturas biocompatíveis de materiais utilizados em implantes, mas também para materiais isolantes de circuitos eletrônicos e camadas dielétricas em biossensores.

3.4. Bioatividade da Hidroxiapatita

3.4.1. Introdução

A mecanossíntese tem sido utilizada nas ultimas duas décadas para produzir muitos materiais [55] incluindo-se ligas nanoestruturadas, compostos amorfos e fases instáveis e meta-estáveis. Atualmente a técnica é usada em larga escala para produzir produtos comerciais em domínio metálico, como a obtenção cerâmica ferroelétrica nanocristalina de niobato de lítio (LiNbO_3) pelo nosso grupo [47]. Neste trabalho, será estudada a biocompatibilidade da HA nanométrica produzida pelo método de moagem de alta energia obtido em nossos laboratórios, realizando testes em coelhos.

Hidroxiapatita sintética é um material representativo para a substituição do osso, por que há uma semelhança química com sua fase inorgânica, além de ser um material cerâmico caracterizado por elevada biocompatibilidade, sendo por isso cada vez mais utilizado no campo biomédico, dada sua contribuição para a integração e duração dos implantes no corpo humano [59]. A hidroxiapatita $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2]$ é largamente utilizada em cirurgias ortopédicas e odontológicas, ambas como enchimento massivo [57] de fenda óssea e como revestimento de superfície [55]. Zeng e Lancefield [58] utilizaram a técnica de deposição de pulso “laser” para obter revestimento de HA em superfície de implantes metálicos, tornando-os biocompatíveis.

3.4.2. Teste de Bioatividade

3.4.2.1. Método Experimental

Os testes de bioatividade foram realizados em coelhos machos da raça “New Zealand” com 2,5 kg pelos professores Norberto Aranha da UNESP-Araraquara e Luciane Rezende de Oliveira da UNAERP – Ribeirão Preto. Primeiramente o fêmur dos coelhos foi perfurado com uma broca de 1,6 mm de diâmetro até 3,3 mm e irrigado com soro fisiológico. A esse furo foi adicionado manualmente HA misturado com o sangue do animal. Depois de colocado HA no furo, fechou-se o local com a pele do animal e suturou-se. Após cirurgia, o animal foi submetido a um tratamento com injeção de penicilina, subcutânea de Flunixin Meglumina durante 3 dias e Rifamicina para cicatrização. Não houve restrições na mobilidade do animal no período pós-cirúrgico.

O dia de implantação da amostra foi considerado como dia zero. Após 30 dias, o fêmur foi extraído e colocado em solução de formol 10 % antes de iniciar sua preparação para a análise histológica.

3.4.3. Difração Raios-X

3.4.3.1. Método Experimental

O difratograma de raios-X foi medido utilizando-se procedimento como descrito no item 3.1.3.

3.4.3.2. Resultados e Discussão

Foram utilizadas amostras de hidroxiapatita para realização de testes de bioatividade com reação 2 (HA2/60) a 60 horas de moagem e reações 4 e 5 (HA4/15 e HA5/15) a 15 horas de moagem, onde pode-se observar pequenas diferenças (Figura 3.36). Na reação 4 (HA4/15) observa-se pico extra de CaHPO_4 (■) [24] em comparação com o HA-REF [24]. Entretanto observa-se a forte característica amorfa para essa reação comparada com as reações 1, 2 e 3. Os picos de HA estão posicionados sobre um difratograma bastante alargado, indicando também fase amorfa (Figura 3). Na reação 5 (HA5/15) foi observada presença de $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (◆) [24] com forte amorfização. Para as três reações utilizadas no estudo de bioatividade, apenas a HA5/15 não formou HA. Os difratogramas de raios-X indicam que o tamanho de cristalito variou de 14,3 a 36,9 nm (Tabela 3.8).

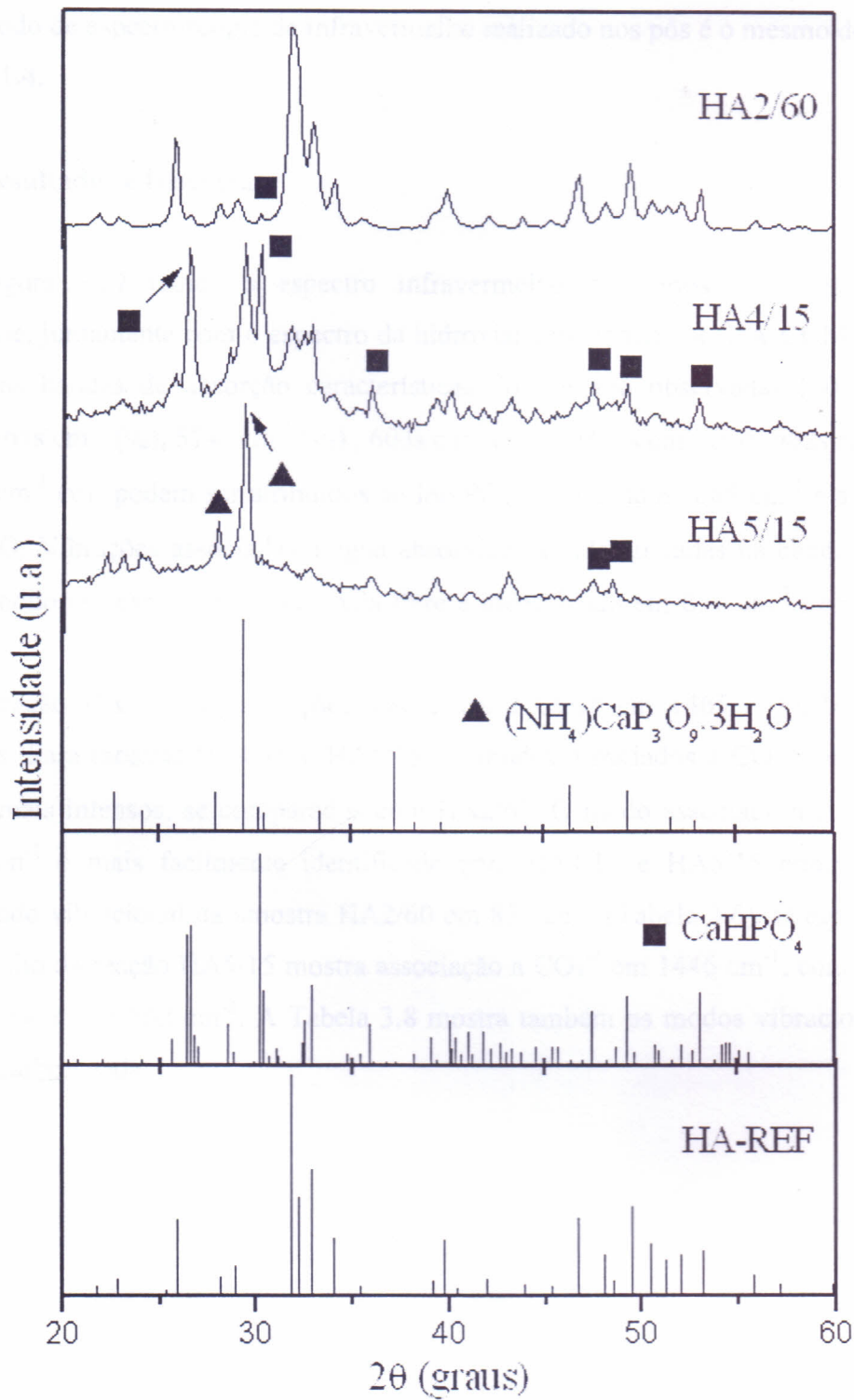


Figura 3.36 - Difratoograma de Raios-X das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e dados da literatura $(\text{NH}_4)\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (▲), CaHPO_4 (■) e HA-REF.

3.4.4. Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho

3.4.4.1. Método Experimental

O método de espectroscopia de infravermelho realizado nos pós é o mesmo descrito no item 3.1.4.

3.4.4.2. Resultados e Discussão

Na Figura 3.37 temos o espectro infravermelho das amostras submetidas a bioatividade, juntamente com o espectro da hidroxiapatita comercial (HA-COM). Neste espectro, as bandas de absorção características do HA são observadas [30,32]. As bandas a $565s\text{ cm}^{-1}$ (ν_4), $574s\text{ cm}^{-1}$ (ν_4), $603s\text{ cm}^{-1}$ (ν_4), $1035vs\text{ cm}^{-1}$ (ν_3), $962s\text{ cm}^{-1}$ (ν_1) e $1065vs\text{ cm}^{-1}$ (ν_3) podem ser atribuídos ao íon PO_4^{3-} . A banda a 1088 cm^{-1} é atribuída ao (ν_3) P-O. Vibrações associadas à água absorvida são identificadas na banda a 1630 cm^{-1} e o modo correspondent a hidroxila livre é identificado em 631 cm^{-1} (ver Tabela 3.6).

Para reação HA2/60 as absorções associadas a CO_3^{2-} em 1465 e 1421 cm^{-1} são observadas. Para mostras HA4/15 e HA5/15, os modos associados a CO_3^{2-} em 1478 e 1420 são mais intensos, se comparados com HA2/60. O modo associado a (ν_2) CO_3^{2-} em 872 cm^{-1} é mais facilmente identificado para HA4/15 e HA5/15 comparado a mesmo modo vibracional da amostra HA2/60 em 871 cm^{-1} (Tabela 3.6). O espectro de infravermelho da reação HA5/15 mostra associação a CO_3^{2-} em 1446 cm^{-1} , com bandas largas centradas em 562 cm^{-1} . A Tabela 3.8 mostra também os modos vibracionais da HA e HA carbonatada.

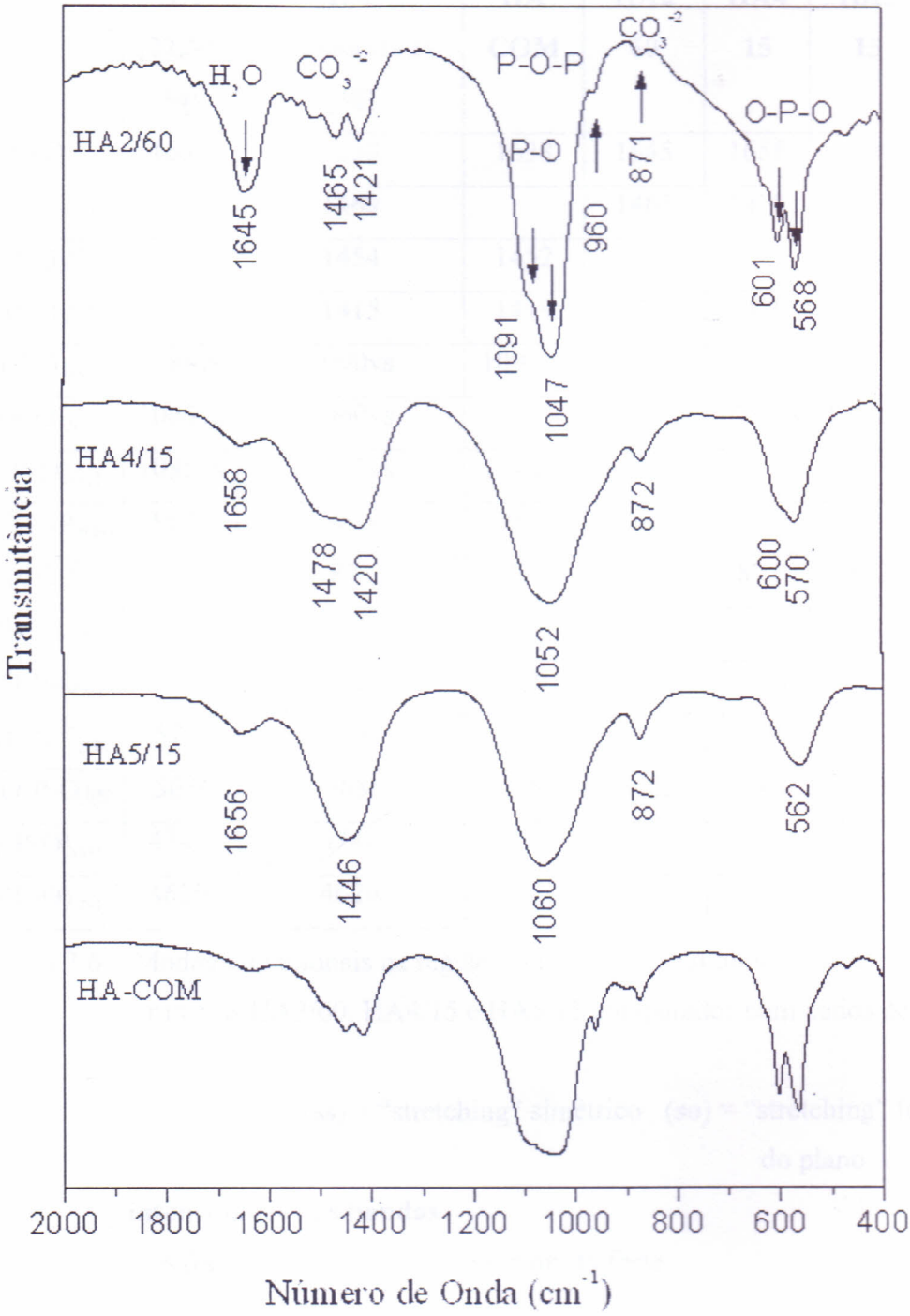


Figura 3.37 - Espectro na região do Infravermelho das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e cerâmica HA-COM.

Número de Onda (cm ⁻¹)						
	HÁ [22,30, 34]	HÁ Carbonatada [30]	HÁ COM	HA2 60	HA4 15	HÁ5 15
H ₂ O	1630	1630	1638	1645	1658	1656
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1469		1465	1478	
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1454	1452			1446
v ₃ (CO ₃ ²⁻)		1415	1419	1421	1420	
v ₃ (P-O) _(so)	1088vs	1090vs	1091vs	1091vs		
v ₃ (P-O) _(so)	1065vs	1060vs			1052vs	1060vs
v ₃ (P-O) _(so)	1035vs	1032vs	1040vs	1047vs		
v ₁ (P-O-P) _(ss)	962s	961s	961s	960s		
v ₂ (CO ₃ ²⁻)		873	874	871	872	872
OH ⁻ livre	631s	634s				
v ₄ (O-P-O) _(b)	602s	605s	603s	601s	600s	
v ₄ (PO ₄ ³⁻) _(b)	574s	575s				
v ₄ (O-P-O) _(b)	565s	568s	565s	568s	570s	562s
v ₂ (P-O) _(ss)	474w	474w				
v ₂ (P-O) _(ss)	462w	462w				

Tabela 3.6 – Modos vibracionais na região do Infravermelho obtidos para as amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15 comparados com dados de referências.

(b) = “bend” (ss) = “stretching” simétrico (so) = “stretching” fora do plano

intensidades das bandas

w = fraca s = forte vs = muito forte

3.4.5. Espectroscopia Raman

3.4.5.1. Métodos Experimentais

O método de espectroscopia Raman nos pós é o mesmo descrito no item 3.1.5.

3.4.5.2. Resultados e Discussão

Para as amostras relativas aos testes de bioatividade podemos observar que, para amostra HA2/60 (Figura 3.38), os modos vibracionais associados ao fosfato são 1068, 1043 e 1028 cm^{-1} (ν_3) P-O, 958 cm^{-1} (ν_1) P-O-P, 605s, 586s e 577s cm^{-1} para o (ν_4) O-P-O e 432s cm^{-1} (ν_2) O-P-O (tabela 3.7). Todos os modos associados ao fosfato são bem observados em comparação com o comercial tendo como exceções os níveis vibracionais a 951 cm^{-1} (ν_1) P-O-P que aparece em HA5/15 e 577s cm^{-1} em HA2/60. Para a amostra HA4/15, temos os modos vibracionais a 962 cm^{-1} (ν_1) PO_4^{3-} e 591 cm^{-1} (ν_4) PO_4^{3-} detectados. O nível vibracional mais forte encontra-se em 1086 cm^{-1} , não observado em HA2/60 e HA-COM. Modos vibracionais a 1068 cm^{-1} , 983, 900 e 712 também estão presentes. O modo a 962 cm^{-1} (ν_1) P-O-P é muito largo quando comparado com as amostras HA2/60 e HA-COM. Isso é uma confirmação que a nova estrutura obtida nesta reação tem um alto grau de amorfização, confirmado pela difração de raios-X.

Para a amostra HA5/15 (Figura 3.38), onde não temos formação de HA, encontramos modos associados ao fosfato apenas em 951 cm^{-1} (ν_1) P-O-P com banda larga e picos extras em 1085, 711 e 420 cm^{-1} , presente também em 712, 418 e 395 cm^{-1} na amostra HA4/15.

Os espectros na região do infravermelho e Raman são uma boa representação dos dados relatados da literatura. As linhas mais fortes associadas a HA foram identificadas em nas amostras com uma boa concordância em relação às análises de difração de raios-X.

Deslocamento Raman (cm ⁻¹)						
	HA [30]	HA carbonatada [30]	HÁ-COM	HA2/60	HA4/15	HA5/15
					1086	1085
v ₃ (P-O) _(sa)	1061sh	1070sh	1075sh	1068sh		
v ₃ (P-O) _(sa)	1075s	1075s				
v ₃ (P-O) _(sa)	1053sh	1048sh	1046sh	1043sh		
v ₃ (P-O) _(sa)	1028s	1029s	1029s	1028s		
					983	
v ₁ (P-O-P) _(s)	962vs	962vs	959vs	958vs	962vs	
v ₁ (P-O-P) _(s)	948m	948m				951m
v ₄ (O-P-O) _(sas)	608s	608s	608s	605s		
					900	
					712	711
v ₄ (O-P-O) _(sas)	593s	592s	590s	589s	591s	
v ₄ (O-P-O) _(sas)	580s	584s	577s	577s		
v ₂ (O-P-O) _(b)	447s	448s	445s			
v ₂ (O-P-O) _(b)	432s	432s	432s	432s		
				422	418	420
					395	

Tabela 3.7 – Modos vibracionais dos espectros Raman obtidos para as amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 comparados com dados de referências.

(b) = “bend” (sas) = “stretching” antisímétrico (s) = “stretching”
intensidades das bandas
(s) = forte (sh) = “shoulder” (vs) = muito forte (m) = médio

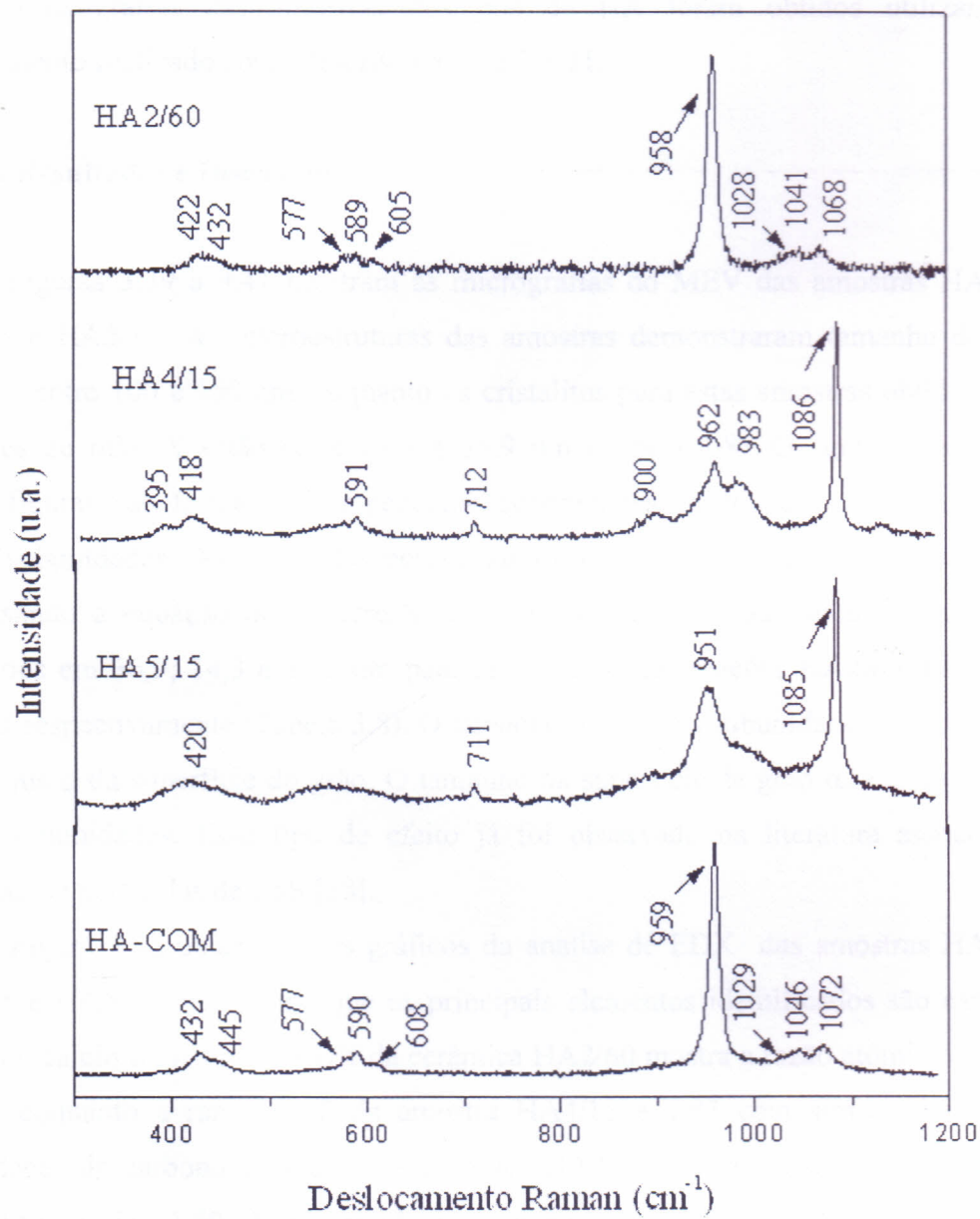


Figura 3.38 - Espectro Raman das amostras HA2/60, HA4/15, HA5/15 e da cerâmica HA-COM.

3.4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)

3.4.6.1. Método Experimental

As micrografias das amostras dos pós de HA foram obtidos utilizando-se procedimento realizado como descrito no item 3.3.11.

3.4.6.2. Resultados e Discussão

As Figuras 3.39 a 3.41 mostram as micrografias do MEV das amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15. As microestruturas das amostras demonstraram tamanho de grão variando entre 100 e 150 nm, enquanto os cristalitos para estas amostras obtidas pelas difrações de raios-X estão entre 14,3 a 36,9 nm (Tabela 3.8). Os grãos observados nessas figuras são formados por pequenas subunidades de cristalitos. As dimensões dessas subunidades são calculadas pela largura do perfil da difração (equações 3.1 e 3.2), usando a equação de Scherrer's. Os tamanhos médios das subunidades foram calculados em 36,9; 14,3 e 35,5 nm para os produtos das reações HA2/60, HA4/15 e HA5/15 respectivamente (Tabela 3.8). O tamanho médio das subunidades é obviamente menor que o da superfície do grão. O tamanho da superfície de grão reflete a presença dessas subunidades. Esse tipo de efeito já foi observado na literatura associado à produção de partículas de CdS [58].

Na Figura 3.42 observa-se os gráficos da análise de EDX das amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15, mostrando que os principais elementos identificados são carbono, oxigênio, cálcio e fósforo. O EDX da cerâmica HA2/60 mostra a razão atômica de Ca/P = 1,67 enquanto a razão Ca/P da amostra HA4/15 é 1,83 com similaridade entre quantidades de carbono e oxigênio a cerâmica HA2/60. A razão atômica Ca/P obtida para HA5/15 foi 1,50. Esses resultados sugerem que a razão Ca/P da cerâmica nanocristalina HA2/60 encontra-se próximo do valor esperado da hidroxiapatita, ou seja, $\text{Ca/P} = 5/3 \approx 1,67$. Para as amostras HA4/15 e HA5/15, as razões Ca/P estão acima e abaixo do esperado para o valor esperado da HÁ, respectivamente.

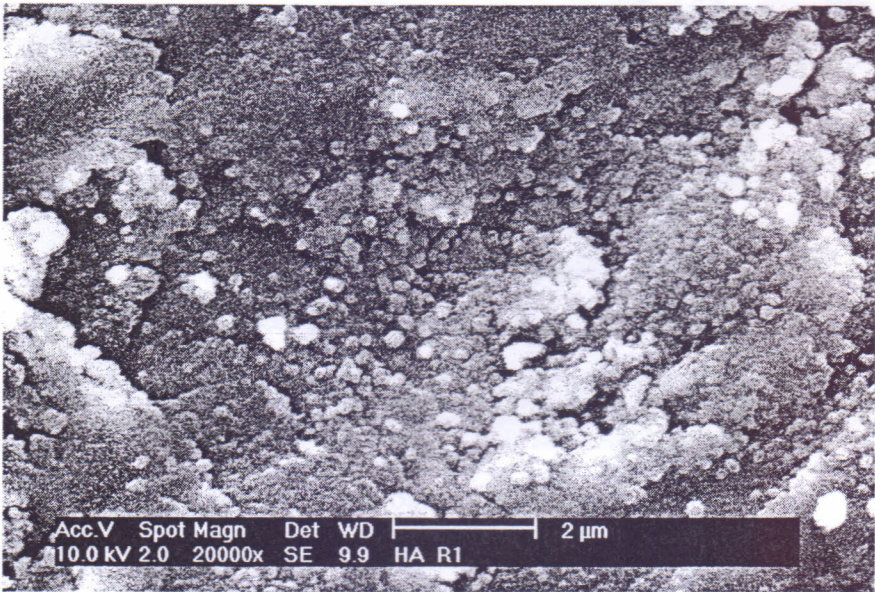


Figura 3.39 – Micrografia da amostra HA2/60

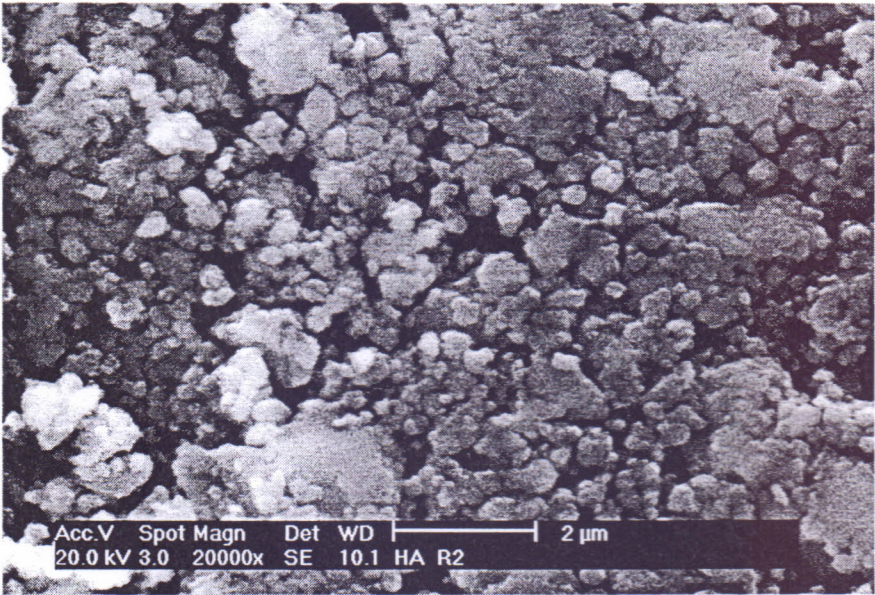


Figura 3.40 – Micrografia da amostra HA4/15

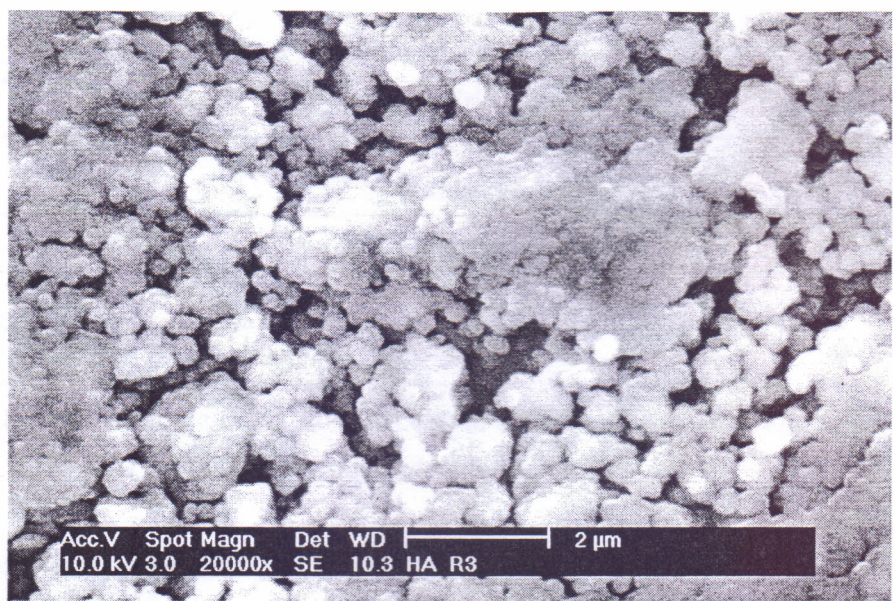


Figura 3.41 – Micrografia da amostra HA5/15

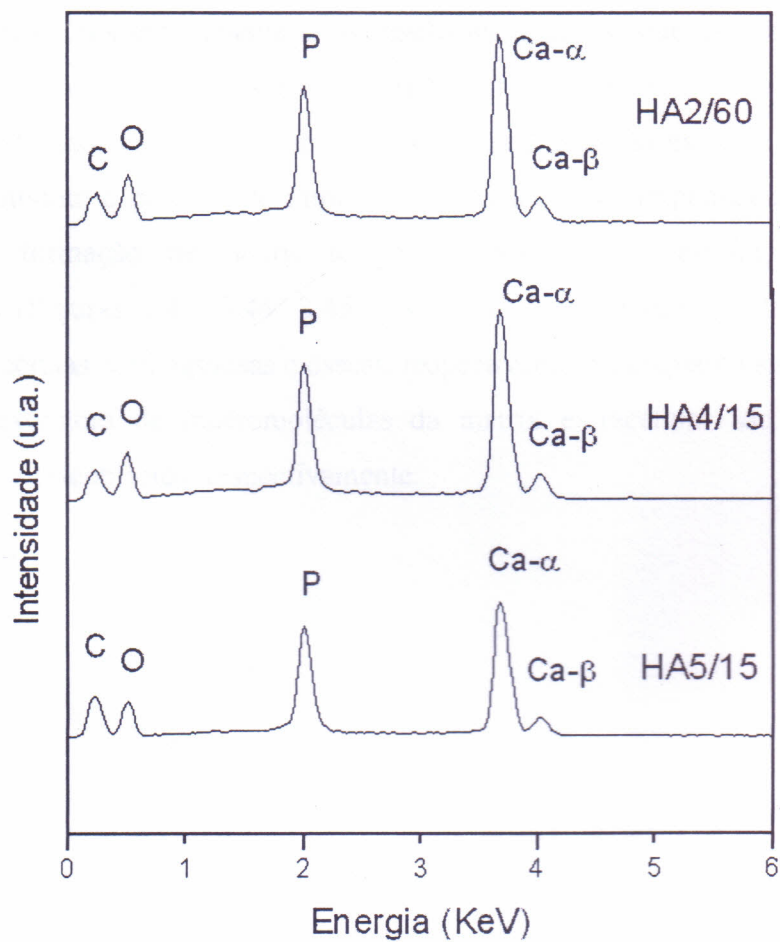


Figura 3.42 – Gráfico de EDX para amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15

Amostras	Tamanho de Cristalito (nm)	Tamanho do Grão (nm)
	Raios-X	MEV
HA2/60	36,9	117,2
HA4/15	14,3	100,8
HA5/15	35,5	154,4

Tabela 3.8 – Tamanho de cristalito (nm) e grão (nm) obtidos para amostras HA2/60, HA4/15 e HA5/15 comparados com raios-X e MEV

3.4.7. Ensaios Histológicos

As Figuras 3.43 a 3.46 mostram os ensaios histológicos das amostras HA2/60, HA4/15 e duas amostras da reação 5 (HA5/15a e HA5/15b), diferenciando apenas na posição de coleta, respectivamente e os resultados sugerem que as amostras de HA implantadas nos coelhos podem ser consideradas biocompatíveis, visto que, eles foram considerados atóxicos e não causaram inflamação nem rejeição na parte do organismo dos animais durante o período de implantação. As amostras implantadas nos coelhos apresentaram formação de novos tecidos ósseos com a presença de células osteoblásticas (Figuras 3.43, 3.44, 3.45 e 3.46). Os condrócitos e osteócitos são as denominadas células cartilaginosas e ósseas, respectivamente, enquanto suas células que tem função excretora de macromoléculas da matrix extracelular são denominadas condroblastos e osteoblastos, respectivamente.

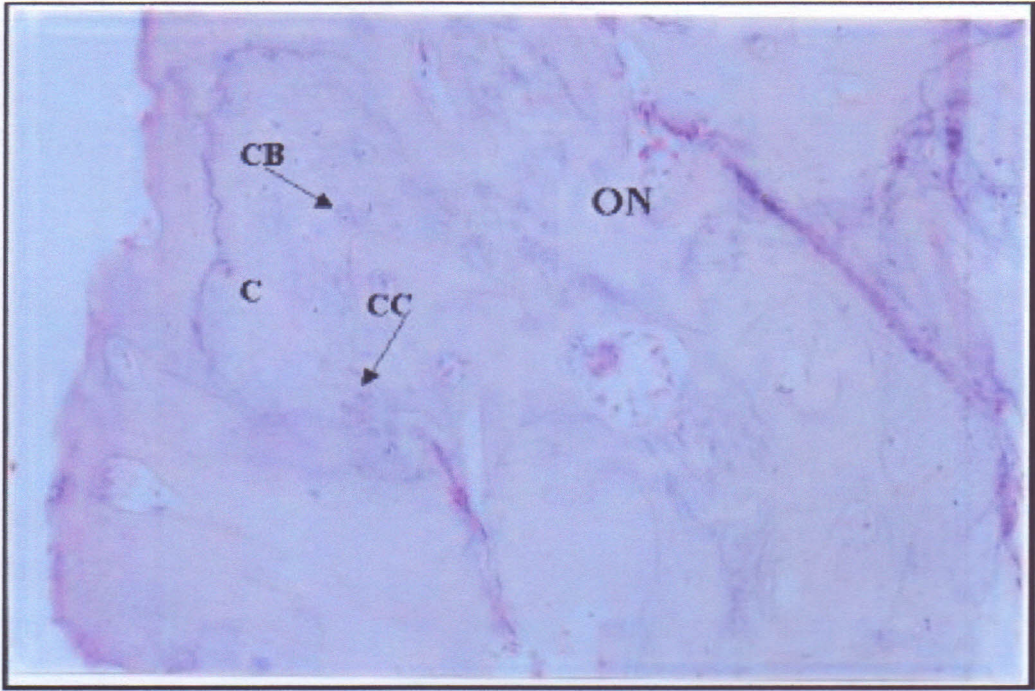


Figura 3.43 – Micrografia histológica da amostra HA2/60. C – Cartilagem, CB – Condroblastos, CC – Condrócito, ON – Osso Novo.

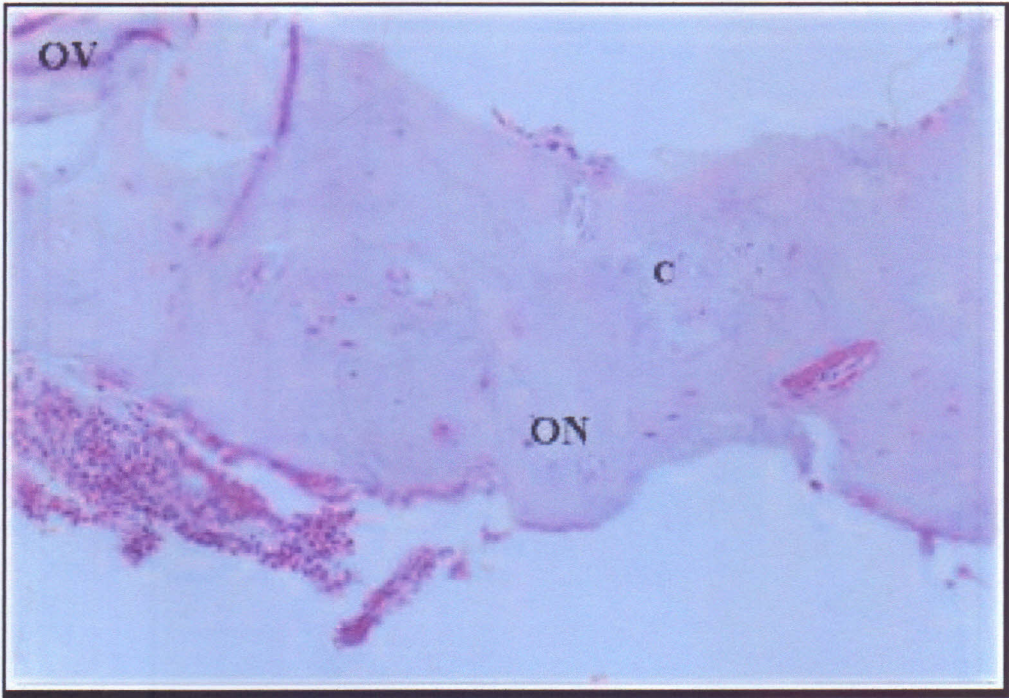


Figura 3.44 – Micrografia histológica da amostra HA4/15. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OV – Osso Velho.

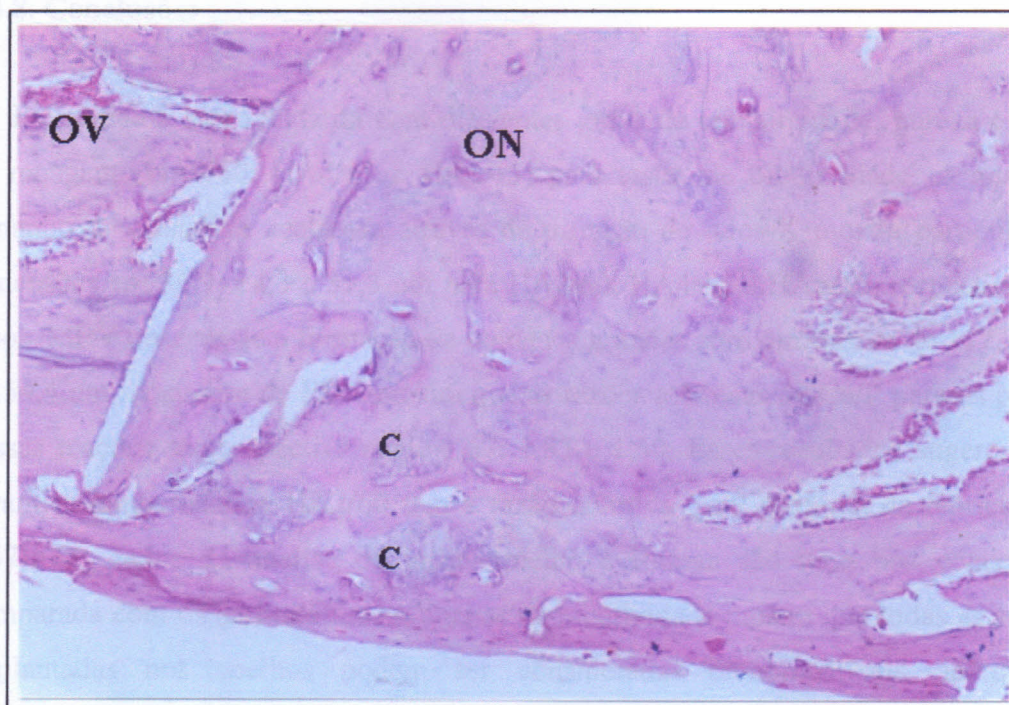


Figura 3.45 – Micrografia histológica da amostra HA5/15a. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OV – Osso Velho

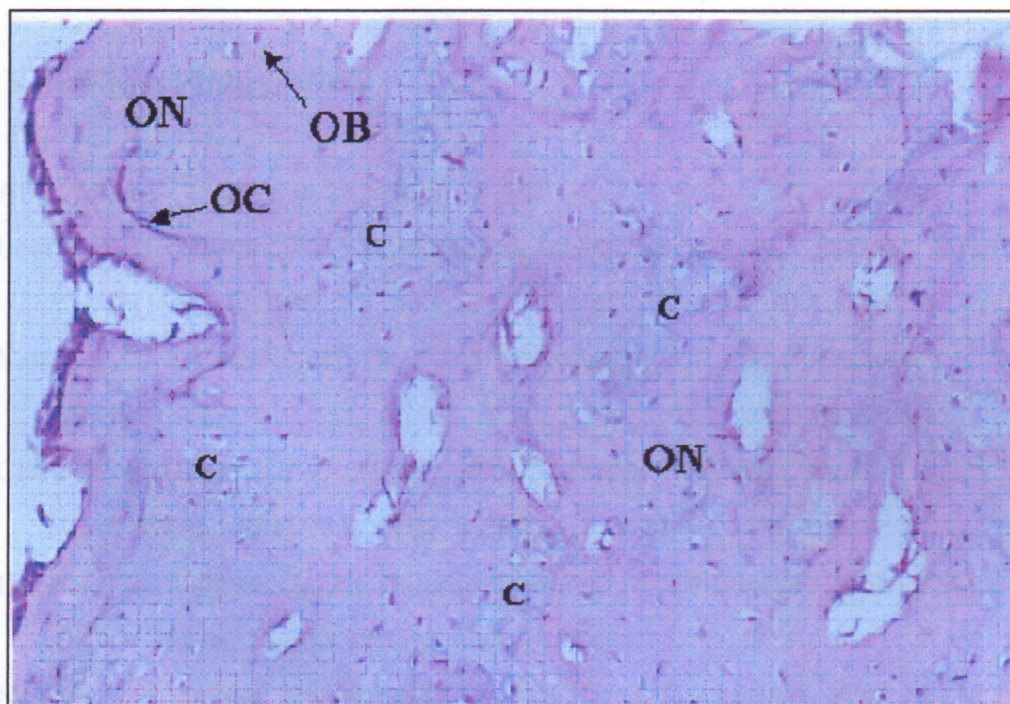


Figura 3.46 – Micrografia histológica da amostra HA5/15b. C – Cartilagem, ON – Osso Novo, OB – Osteoblasto, OC - Osteócitos

3.4.8. Conclusões

Foi obtida a hidroxiapatita com diferentes graus de cristalinidade, pureza e tempos de moagem (HA2/60, HA4/15 e HA5/15) para testes de bioatividade. A análise do tamanho de cristalitos realizada através de difração de raios-X mostra partículas com dimensões em 36,9; 14,3 e 35,5 nm para HA2/60, HA4/15 e HA5/15, respectivamente, e por MEV observa-se a formação de unidades grandes com dimensões de 117,2; 110,8 e 154,4 nm. A análise de EDX mostra que as razões atômicas de Ca/P para os produtos dessas reações são respectivamente 1,67; 1,83 e 1,50. Esses resultados sugerem que a cerâmica nanocristalina HA2/60 tem a razão atômica Ca/P próxima da teórica ($5/3 = 1,67$). Os dados da análise de infravermelho e Raman são uma boa concordância comparada com os da literatura. A análise de bioatividade mostra que todas as amostras implantadas nos coelhos podem ser consideradas biocompatíveis, já que são consideradas não tóxicas e não causam inflamação e rejeitos na parte do animal, durante o período de implantação. As amostras implantadas nos coelhos apresentam nova formação do tecido ósseo com a presença de células osteocítas.

3.5. Referências Bibliograficas

- [1] Albee, F.H. – *Ann. Surg.* **71** (1920) 32-36.
- [2] Levitt, G.E.; Crayton, P.H.; Monroe, E.A.; Condrate, R.A. – *J. Biomed. Mater. Res.* **3** (1969) 683-85.
- [3] Monroe, Z.A.; Votawa, W.; Bass, D.B.; McMullen, J. – *J. Dent. Res.* **50** (1971) 860-2.
- [4] Clark, W.J.; Driskell, T.D.; Hassler, C.R.; Tennery, V.J.; McCoy, L. – *IADR Prog. & Abst.* **52** (1973) Abstr. # 259.
- [5] Hubbard, W. – *Physiological Calcium Phosphate as Orthopedic Implant Material #6* (Ph. D. Thesis, Marquette University, 1974).
- [6] Nery, E.B.; Lynch, K.L.; Hirthe, W.M.; Mueller, K.H. – *J. Periodont.* **46** (1975) 328-39.
- [7] Le Geros, R.Z. – *Adv. Dent. Res.* **2** (1988) 164-183.
- [8] Jarcho, M. – *J. Mater. Sci.* **11** (1976) 2027-35.
- [9] Jarcho, M.; Kay, J.F.; Drobeck, H.P.; Doremus, R.H. – *J. Bioeng.* **1** (1976) 79-92.

- [10] Jarcho, M.; Bolen, C.H.; Thomas, M.B.; Bobick, J.; Kay, J.F.; Doremus, R.H.
– *J. Mater. Sci.* 11 (1976) 2027.
- [11] de Groot, K. – Ceramic of Calcium Phosphate: Preparation and Properties in:
Bioceramic of Calcium Phosphate, ed. K de Groot, CRC Press, Boca Raton, FL,
EUA, 1983, 100-14.
- [12] Preelen, J.G.C., Rjeda, B.V.; de Groot, K. - *Ceramurgia Int.* 4 (1980) 71-3.
- [13] Denissen, H. – Dental Root Implants of Apatite Ceramics. Experimental
Investigations and Clinical Use of Dental Root Implants Made of Apatite
Ceramics. Ph.D. Thesis, Vrije Universiteit te Amsterdam, 1979.
- [14] Akao, H.; Aoki, J. and Kato, K. – *J. Mater. Sci.* 16 (1981) 809-12.
- [15] Sarig, S. and Kahana, F. – *Journal of Crystal Growth* 237-239 part I (2002) 55-9.
- [16] Toryiama, M.; Ravaglioli, A.; Krajewski, A.; Celotti, G. Piancastelli, A. – *Journal of
the European Ceramic Society* 16 (1996) 429-436.
- [17] Fanovich, M.A.; Castro, M.S.; Porto López, J.M. – *Materials Research
Bulletin* 36 (2001) 487-96.
- [18] Yeong, K.C.B.; Wang, J.; Ng, S.C. – *Biomaterials* 22 (2001) 2705 – 2712.
- [19] Thangamani, N.; Chinnakali, K.; Gnanam, F.D. – *Ceramics International* 28
(2002) 355-62.
- [20] Osaka, A.; Miura, Y.; Takeuchi, K.; Asada, M.; Takahashi, K. – *Journal
Material Science: Mater. Med.* 2 (1991) 51-55.
- [21] Sang-Hoon Rhee – *Biomaterials* 23 (2002) 1147-1152.
- [22] Suchanek, W.L.; Shuk, P.; Byrappa, K.; Riman, R.E.; Ten Huisan, K.S.; Janas,
G.F. – *Biomaterials* 23 (2002) 699-710.
- [23] Hontsu, S.; Matsumoto, T.; Ishii, J.; Nakamori, M.; Tabata, H.; Kawai, T.
– *Thin Solid Films* 295 (1997) 214-217.
- [24] Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS); International Center
for Diffraction Data; 12 Campus Blvd.; Newton Square; Pennsylvania 19073 -
3723; USA; 1995 - Pattern 24-0033 [HA], 06-0426 [β -Ca₃(PO₄)₂], 09-0080
(CaHPO₄), 29-0109 {(NH₄)CaP₃O₉.3H₂O} e 76-0571 [Ca(OH)₂].
- [25] Aoki, H. – Science and Medical Applications of Hydroxyapatite (Japan
Association of Apatite Science, JAAS), Takayama Press System Co., Tokyo,
1991.

- [26] Bonel, G.; Heughebaert, J.C.; Heughebaert, M.; Lacout, J.L.; Lebugle, A. –
“Apatitic Calcium Orthophosphates and Related Compounds for Biomaterials
Preparation” in *Bioceramics: Characteristics Versus In Vivo Behavior*, Eds. P.
Ducheyne and J. E. Lemons, Ann. NY Acad. Sci., New York, **523** (1988) 115
-30.
- [27] Jansen, J.A.; van der Waerden, J.P.C.M.; van der Lubbe; deGroot, K. –
J. Biomed. Mater. Res. **24** (1990) 295-307.
- [28] Azároff, L.V. – *Elements of X-Ray Crystallography*, McGraw-Hill Book
Company, 1968.
- [29] Bigi A.; Panzavolta, S.; Roveri, N. - *Biomaterials* **19** (1998) 739-44.
- [30] Nelson, D.G.A.; Willianson, B.E. - *Aust. J. Chem.* **35** (1982) 715.
- [31] Ibrahim, D.M.; Hekazy, W.H. – *Anais da Associação Brasileira de Química*
49 (2000) 52.
- [32] Kontoyannis, C.G.; Bouropoulos, N.C.; Koutsoukos, P.G – *Vibracional*
Spectroscopy **15** (1997)53.
- [33] Aminzadeh, A. - *Spectrochimica Acta: Part A* **53** (1997) 693.
- [34] Bertoluzza, A.; Bottura, G.; Taddei, P; Tinti, A.; Morelli, M.A. - *J. Raman*
Spectroscopy **27** (1996) 759.
- [35] Edwards, H.G.M.; Farwell, D.W.; Holder, J.M.; Lawson, E.E. - *J. Mol.*
Estruture **435** (1997) 49.
- [36] Ducheyne, P.; Beight, J.; Cuckler, J.; Evans, B.; Radin, S. - *Biomaterials* **11**
(1990) 244.
- [37] Wei, M.; Ruys, A.J; Milthorpe, B.K.; Sorrell, C.C. - *J. Biomed. Mater. Res.* **45**
(1999) 11- 9.
- [38] Ban, S. and Maruno, S. - *Jpn. J. Appl. Phys.: Part 2, Lett.*, **32** (10B) (1993) 1577.
- [39] Cotell, C.M. - *Appl. Surf. Sci.* **69** (1993) 140.
- [40] Torrisi, L. – *Thin Solid Films* **237** (1993) 12-15.
- [41] Piveteau, L.D.; Girona, M.I.; Schlapbach, L.; Barboux, P.; Boilot, J. and Gasser,
B. - *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **10** (1999) 161.
- [42] Brendel, T.; Engel, A.; Russel, C. - *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **3** (1992) 175.
- [43] Ruckenstein, E.; Gourisawkar, S.; Baier, R.E.- *J. Colloid Interface Sci* **63**
(1983) 245.
- [44] Baerti, P.; Torrisi, L.; Marino, N.; Foti, G. - *Appl. Surf. Sci.* **54** (1992) 210.

- [45] Cotell, C.M.; Chrisey, D.B.; Grabowski, K.S.; Sprague, J.A.; Gossett, C.R.- *J. Appl. Biomat.* **3** (1992) 87.
- [46] Singh, R.K. ; Qian, F.; Nagabushnam, V.; Damodaran, R.; Moudgil, B.M.. – *Biomaterials* **15** (1993) 522.
- [47] de Figueiredo, R.S.; Messai, A.; Hernandes, A.C.; Sombra, A.S.B. - *J. Mat. Sci. Letters* **17** (1998) 449.
- [48] Vasconcelos, I. F. de Figueredo, S.D.; Guedes de Lima, S.J.; A.S.B. Sombra – *J.of Mat. Sci. Lett* **18** (1999) 1871.
- [49] Vasconcelos, I. F. - *J. of Mat. Sci.* **36** (2001) 587.
- [50] Taravel, M. N. - *Biomaterials* **16** (1995) 865-871.
- [51] Hontsu, S. Matsumoto, T.; Tabata, H.; Ishii, J.; Nakamori, M.; Kawai, T. - *Thin Solid Films* **295** (1997) 214.
- [52] Moulson, A.J.; Herbert, J.M. - *Electroceramics*, Chapman and Hall, 1990.
- [53] Hattori, T., Iwadate, Y.; Kato, T. - *J Mater Sci Lett* **8** (1989) 305-306.
- [54] Sergo, V., Sbaizero, O.; Clarke, D.R. - *Biomaterials* **18** (1997) 477.
- [55] Weeber, A.W.; Bakker, H. – *Physica B* **153** (1988) 93.
- [56] Lavernia, C.; Schoenung, J.M. – *Bull. Am. Cer. Soc.* **70** (1991) 95.
- [57] Sugimoto, T.; Dirige, G.E.; Maramatsu, A. – *Journal of Colloid and Interface Science* **182** (1996) 444-456.
- [58] Zeng, H.; Lancefield, W.R. – *Biomaterials* **21** (2000) 23-30.
- [59] Marques, J.M.V.R. – *Biomateriais em Implantações Protésicas – Dissertação de Mestrado – Universidade do Aveiro, Portugal* (1997) 21.
- [60] Ratnje, W. – *Zür Kenntnis de Phosphate I. uber Hydroxyapatite, Bodenk Pflernah* **12** (1939) 121-28.
- [61] Hayek, E.; Newesely, H. – *Pentacalcium Monohydroxyorthophosphate, Inorg.Syn.*, **7** (1963) 63-5.
- [62] Atkins, P.W. – *Físico-Química*, **2**, 6ª Edição, Editora LTC, Rio de Janeiro – RJ, 1999, 140, 151-3, 161 e 166-7.

Capítulo 4

4. Compósitos de Colágeno – Hidroxiapatita

4.1. Introdução

Recentemente, um grande interesse tem sido focalizado no uso de compósitos de materiais biodegradáveis ou bioabsorvíveis tais como colágeno [1-2], gelatina [3] e polímeros sintéticos como o Polihema [4].

Colágeno, que existe em uma variedade de formas morfológicas [5], é a mais abundante estrutura protéica no tecido conectivo, além de ter uma longa história como biomaterial [6] (Figuras 4.1 (a) e (b)). Moléculas individuais de colágenos, nas quais as hastes são semiflexíveis, têm diâmetro em torno de 1 nm e comprimento em torno de 280 nm, sofrem auto-reagrupamento para formar estruturas de redes complexas. Alguns materiais biológicos e biopolímeros apresentam uma orientação polar uniaxial de moléculas dipolares, podendo ser considerados bioeletrodos. Materiais poliméricos biocompatíveis são agora usados extensivamente após tratamento de polarização próprio para aplicações biomédicas como superfícies antitrombogênicas e membranas artificiais [7]. Estudos de piro e piezeletricidades em vários tipos de sistemas biológicos mostraram a presença de polaridade natural na estrutura de várias partes de animais e plantas. Em muitas estruturas naturais de moléculas polares como as proteínas, são alinhadas em paralelo com uma direção preferencial do eixo polar para formar uma estrutura cristalina. Essas estruturas podem ser vistas como eletrodos naturais, por que pode ser observada, na direção axial, polarização intrínseca, piroeletricidade e piezeletricidade [7].

Propriedades piezelétricas do colágeno têm sido investigadas em sistemas biológicos complexos como o osso e tendão. Propriedades piezelétricas do osso são de grande interesse em razão de sua função no crescimento ósseo [8].

Os filmes de colágenos aniônicos e filmes de compósitos colágeno-HA foram caracterizados por análises térmicas (DSC), Difração de Raios-X, investigação dielétrica e piezelétrica, considerando o desenvolvimento de novos biomateriais com potencial para aplicação em guias de regeneração óssea. Foram realizadas investigações comparativas entre os filmes de colágeno (Col) e de dois compósitos, formados por

colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) e um segundo com colágeno e hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN).

4.2. Métodos Experimentais

4.2.1. Preparação da amostra de HA

Através de moagem mecânica de alta energia foi produzido pó nanocristalino de hidroxiapatita (HAN) usando os reagentes da reação 3 (HA3) por 60 horas consecutivas observada reação pelo item 3.1.2.

4.2.2. Preparação do Colágeno

O colágeno foi preparado por solubilização através de serosa bovina após 72 horas de tratamento alcalino em presença de sais, seguido por homogeneização em solução de ácido acético a pH 3,5 [9].

4.2.3. Preparação dos filmes

Os compósitos foram obtidos colocando em moldes acrílicos, colágeno em esponja embebido em solução saturada de HÁ (30% - 70%) e seco em fluxo laminar de ar. A esponja de colágeno foi preparada equilibrando o colágeno solúvel em solução tampão de fosfato com concentração 0,13 mol/L a pH 7,4 por cerca de 120 horas, seguido de centrifugação (10000 rpm) por 1 hora. O gel formado é embebido em molde acrílico, congelado e liofilizado.

4.2.4. Modelo Piezelétrico

A piezeletricidade deve existir para determinadas simetrias de estruturas cristalinas. Em geral, cristais anisotrópicos possuem efeitos piezelétricos, cujo modelo matemático pode ser representado pela matrix d_{ij} :

$$\begin{pmatrix} d_{11} & d_{12} & d_{13} & d_{14} & d_{15} & d_{16} \\ d_{21} & d_{22} & d_{23} & d_{24} & d_{25} & d_{26} \\ d_{31} & d_{32} & d_{33} & d_{34} & d_{35} & d_{36} \end{pmatrix}$$

onde d_{ij} são as constantes piezelétricas. De acordo com o tipo de simetria, alguns valores de constantes podem assumir um valor nulo [11]. No caso de biopolímeros naturais, a simetria observada é a $D_{\infty} (\infty 2)$ pela nomenclatura Hermann-Mauguin [12].

Para este caso $d_{25}=-d_{14}$ e nula as outras constantes. No osso, a piezeletricidade só aparece quando uma força cisalhante atua sobre as fibras organizadas do colágeno (Figuras 4.1 (a) e (b)) que deslizam umas sobre as outras.

A piezeletricidade é observada quase que universalmente para todos os polímeros de textura orientada [13]. Para essa simetria, o tensor piezelétrico é representado por uma nova matriz 3x6:

$$\begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & d_{14} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & -d_{14} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

A piezeletricidade também tem sido observada em filmes orientados de diversos polímeros sintéticos com atividade óptica.

Para essa mesma simetria temos que o tensor dielétrico ϵ_{ij} é representado pela matriz 3x3:

$$\begin{pmatrix} \epsilon_{11} & 0 & 0 \\ 0 & \epsilon_{11} & 0 \\ 0 & 0 & \epsilon_{33} \end{pmatrix}$$

O tensor de acoplamento elástico S_{IJ} tem representação na matriz 6x6:

Atribui-se a filmes obtidos a partir de polímeros, coordenadas retangulares, representadas na Figura 19 como são obtidas na amostra. Os eixos 2 e 3 estão no plano da amostra e o eixo 1 perpendicular a ela.

As equações que representam o acoplamento eletromecânico para esse sistema são:

$$D_i = \epsilon_{ij}^T E_j + d_{ij} T_j \quad 4.1$$

$$S_I = s_{IJ}^E T_J + d_{IJ} E_J \quad 4.2$$

$$\begin{pmatrix} s_{11} & s_{12} & s_{13} & 0 & 0 & 0 \\ s_{12} & s_{11} & s_{13} & 0 & 0 & 0 \\ s_{13} & s_{13} & s_{33} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & s_{55} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & s_{55} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & s_{66} \end{pmatrix}$$

onde S_i (S_1, S_2, \dots, S_6) é a deformação elástica, T_j (T_1, T_2, \dots, T_6) é a tensão, E_j representa o campo elétrico e D_i o vetor deslocamento.

Utilizando-se das constantes s_{ij}^E (relativa ao campo E), ϵ_{ij}^T (relativa a tensão) e a constante piezelétrica d_{ij} juntamente com os tensores definidos anteriormente nas equações 9 e 10 e a direção do campo aplicado no eixo 1 ($E_2 = E_3 = 0$), chega-se as seguintes equações:

$$D_1 = \epsilon_{11}^T E_1 + d_{14} T_4 \quad 4.3$$

$$S_4 = s_{55}^E T_4 + d_{14} E_1 \quad 4.4$$

O acoplamento eletromecânico para o tensor piezelétrico d_{14} pode ser observado nas equações 12 e 13. Na geometria descrita na Figura 19, a propagação de onda ocorre no plano da amostra ($S_4 \leftrightarrow S_{23}$) acoplada ao campo elétrico aplicado perpendicularmente ao plano do material (eixo 1).

Isolando o vetor D_1 (equação 4.3) em relação à deformação elástica S_4 (equação 4.4) temos:

$$D_1 = \epsilon_{11}^T \left(1 - \frac{d_{14}^2}{s_{55}^E \epsilon_{11}^T} \right) E_1 + \frac{d_{14}}{s_{55}^E} S_4 \quad 4.5$$

onde se pode definir o fator de acoplamento k_{14}^2 como:

$$k_{14}^2 = \frac{d_{14}^2}{s_{55}^E \epsilon_{11}^T} \quad 4.6$$

A partir da definição de k_{14} é possível obter a relação de acoplamento elástico e a constante dielétrica determinada sob diferentes condições:

$$\frac{s_{55}^D}{s_{55}^E} = \frac{\epsilon_{11}^S}{\epsilon_{11}^T} = 1 - k_{14}^2 \quad 4.7$$

A piezeletricidade d_{14} será dada pela equação 4.8, descrita abaixo [4.11]:

$$d_{14} = k_{14} \sqrt{\epsilon_{11}^T s_{55}^E} \quad 4.8$$

A partir da equação 4.7 pode-se obter a relação de k_{14} :

$$k_{14} = \sqrt{1 - \frac{\epsilon_{11}^S}{\epsilon_{11}^T}} \quad 4.9$$

onde k_{14} é o fator de acoplamento piezelétrico, ϵ_{11}^T é a constante dielétrica obtida por meio da capacitância em frequências (abaixo da zona de ressonância (1 MHz)). A constante dielétrica ϵ_{11}^S é obtida através de medidas da capacitância a frequências acima da faixa de ressonância (1 GHz).

A representação de T_4 (equação 4.3) é dada pelas equações 4.3 e 4.4:

$$T_4 = \frac{1}{s_{55}^D} S_4 - \frac{d_{14}}{s_{55}^E \epsilon_{11}^S} D_1 \quad 4.10$$

Assumindo que $\frac{\partial D_1}{\partial x_4} = 0$ podemos obter a seguinte equação do movimento:

$$\frac{\partial^2 u_4}{\partial t^2} = \frac{1}{\rho s_{55}^D} \frac{\partial^2 u_4}{\partial x_4^2} \quad 4.11$$

onde u_4 é o deslocamento no plano da amostra (plano perpendicular ao campo elétrico) e ρ é a densidade.

A velocidade pode ser obtida pela seguinte equação:

$$v = \frac{1}{\sqrt{\rho s_{55}^D}} = \frac{\omega}{k} \quad 4.12$$

onde ω representa a frequência e k o número de onda ($k = \frac{2\pi}{\lambda}$)

A constante elástica s_{55}^E é determinada a partir da obtenção de sucessivas frequências ressonantes com frequência f :

$$s_{55}^D = \frac{1}{4\rho(fL)^2} \quad 4.13$$

aonde temos que f e L são respectivamente a frequência ressonante e o diâmetro do eletrodo e ρ a densidade. A equação 4.13 é obtida pelas equações 4.7 e 4.12. Das medidas experimentais pode-se obter os valores de ϵ_{11}^T , ϵ_{11}^S , $f.L$ e ρ . Das equações 4.13 e 4.9 determina-se s_{55}^E e k_{14} . Através da equação 4.8 determina-se o tensor piezelétrico d_{14} .

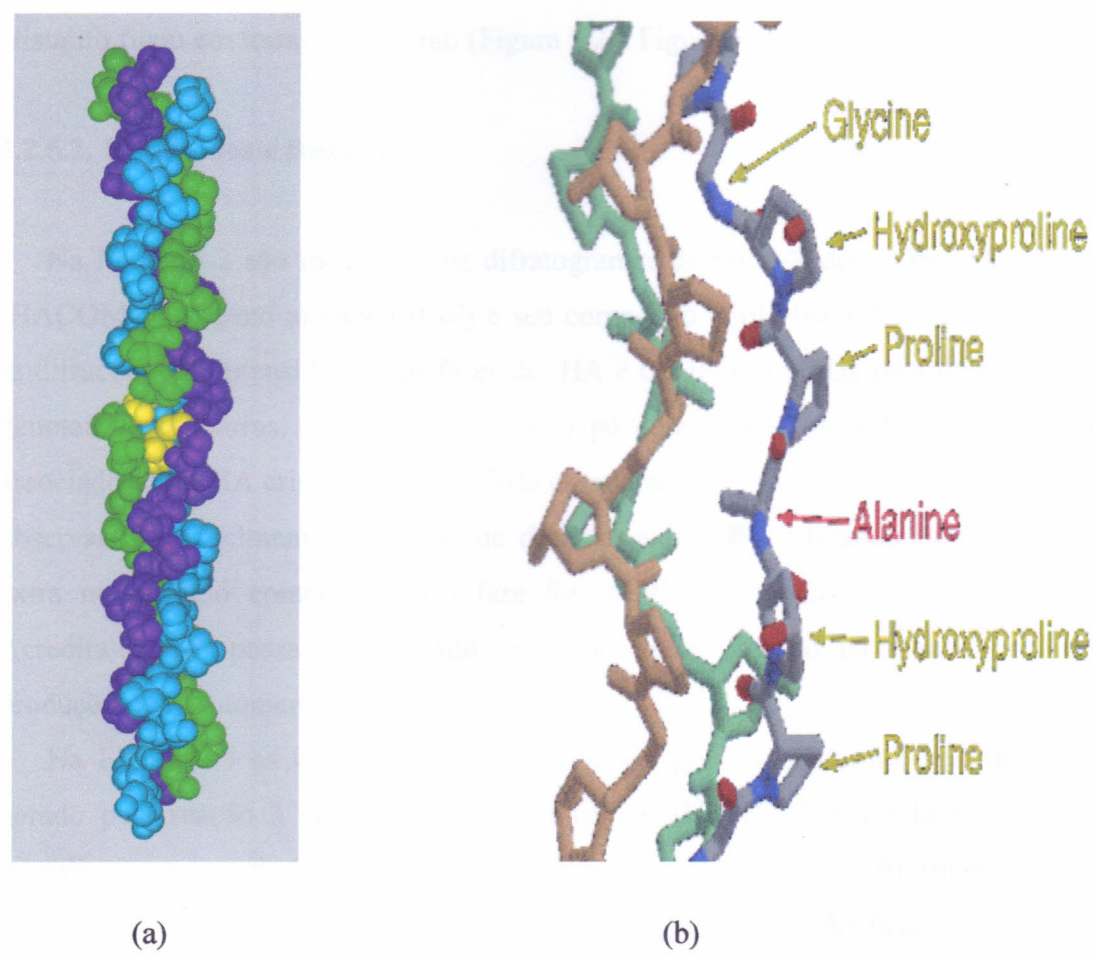


Figura 4.1. – Modelos Esquemáticos do Tropocolágeno

- (a) Modelo de bolas
- (b) Modelo de varetas

4.2.5. Difração de Raios-X

4.2.5.1. Método Experimental

As difrações de raios-X do colágeno e do compósito de colágeno e hidroxiapatita nanocristalina foram determinadas utilizando-se procedimento descrito no item 3.1.3.

O difratograma de raio X realizado na cerâmica HAN indica que o tamanho de cristalito ficou em torno de 38,9 nm (Figura 3.2 e Figura 3.26).

4.2.5.2. Resultados e Discussão

Na Figura 4.2 são mostrados os difratogramas de raios-X do pó de HA comercial (HACOM), colágeno aniônico (Col) e seu compósito (Col-HACOM), juntamente com as difrações das intensidades das fases de HA e CaHPO_4 , obtidas pela literatura [12] e denotadas por barras. Pode-se notar que o pó comercial (HACOM) apresenta picos associados com HA cristalina. Se for feita comparação com a HA-REF (●) [10] pode-se observar o aparecimento de linhas de difração extra (■) indicando presença de fase extra no produto comercial. Essa fase foi identificada como sendo CaHPO_4 [10]. Acredita-se que possa ter ocorrido formação desse produto na reação original de produção da HA comercial.

Na Figura 4.3 as difrações mostradas são do pó nanocristalino de hidroxiapatita gerado pela reação 3 com 60 horas de moagem (HAN), observando o tamanho de cristalito em torno de 38,9 nm, de acordo com o raios-X (Figura 3.6); do compósito de colágeno com HAN (Col-HAN) e do próprio colágeno (Col). As fases comparadas de difrações de HA e $\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ (▲) obtidos pela literatura [10] e denotados por barras. Observa-se que o pó de HAN está associada com a fase cristalina de HA, entretanto, quando olha-se para a difração do compósito (Col-HAN), nota-se o aparecimento de uma fase extra, identificada por $\text{CaH}(\text{PO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2)$ (▲), mas não há identificação das linhas de difração da fase de HA, levando-se a propor que possa ter havido uma forte interação do HAN com as fibras do colágeno.

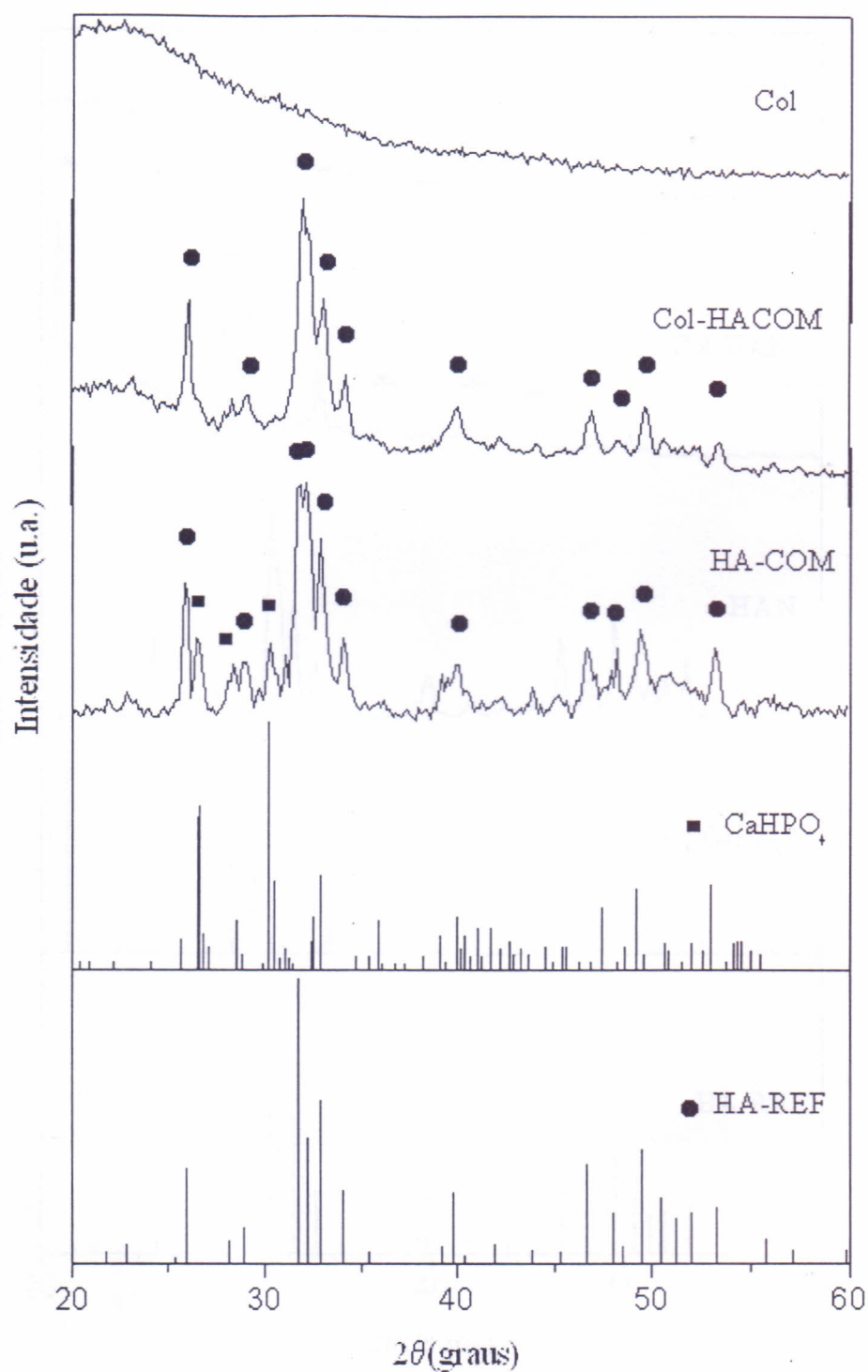


Figura 4.2 - Difratoograma de Raios-X do Colágeno (Col), do Colágeno com Hidroxiapatita Comercial (Col-HACOM) e do pó de Hidroxiapatita Comercial (HACOM). As barras verticais estão associadas às fases de HA-REF (●) e CaHPO₄ (■).

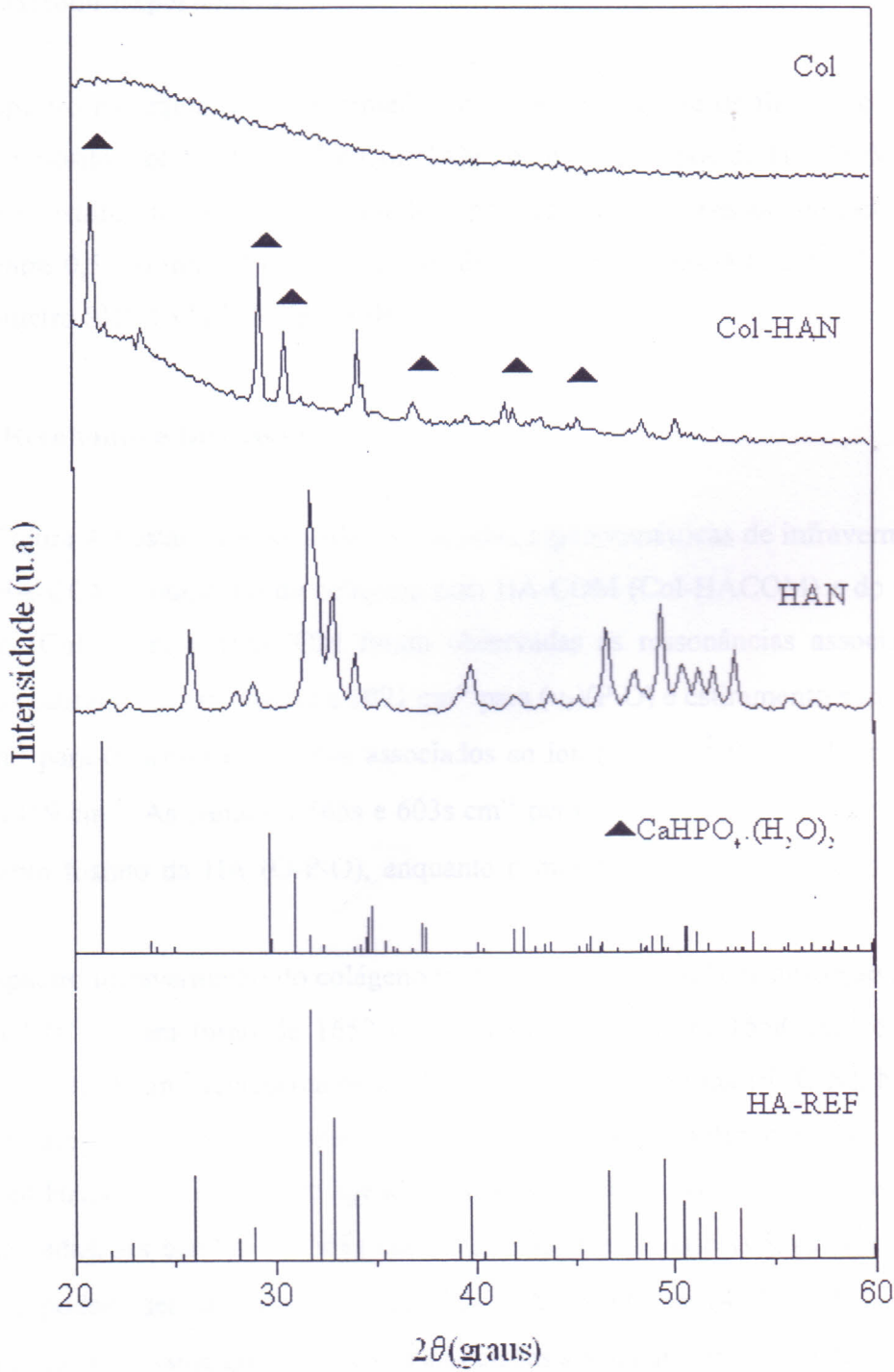


Figura 4.3 – Difratoograma de Raios-X do Colágeno (Col), do Colágeno com Hidroxiapatita Nanocristalina (Col-HAN) e do pó de Hidroxiapatita Nanocristalina (HAN). As barras verticais estão associadas às fases de HA-REF e $\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$ (▲).

4.2.6. Espectroscopia de Absorção e Transmissão na Região do Infravermelho

4.2.6.1. Método Experimental

O espectro na região do infravermelho foi obtido usando-se os filmes do colágeno (Col), compósito Col - HA-COM e Col-HAN por ATR e os pós de HA-COM e HAN usando-se pastilhas feitas desses pós em KBr por absorção. A espessura de cada pastilha variou entre 0,5-0,6 mm. O espectro foi medido na região entre 400 e 4000 cm^{-1} com espectrômetro SHIMATZU FTIR-283B.

4.2.6.2. Resultados e Discussão

Na Figura 4.4 estão representadas as medidas espectrométricas de infravermelho do pó de HA-COM, compósito de colágeno com HA-COM (Col-HACOM) e do filme de colágeno (Col). Para a HA-COM foram observadas as ressonâncias associadas aos modos de estiramento em 1040vs e 1091 cm^{-1} para $(\nu_3)(\text{P-O})$ e estiramento simétrico em 961s cm^{-1} para $(\nu_1)(\text{P-O-P})$. Modos associados ao íon $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$ foram observados em 1452 e 1419 cm^{-1} . As bandas a 565s e 603s cm^{-1} pertencem ao modo vibracional ν_4 do grupamento fosfato da HA (O-P-O), enquanto o modo a 874 cm^{-1} é associado a $(\nu_2)\text{CO}_3^{-2}$.

O espectro infravermelho do colágeno mostra uma forte banda de absorção atribuída à amida I (C=O) em torno de 1650 cm^{-1} , amida II (N-H) em 1558 cm^{-1} e a banda centrada em 1238 cm^{-1} representa os modos vibracionais da amida III (C-N). Na Figura 4.5 observam-se as medidas espectrométricas na região do infravermelho no pó de HAN, Col-HAN e no filme de colágeno. As bandas de absorção características da HAN são observadas. As bandas em 568s cm^{-1} (ν_4), 603s cm^{-1} (ν_4) e 1047vs (ν_3) e 1097vs cm^{-1} (ν_3) podem ser atribuídos ao íon PO_4^{-3} . As bandas a 1467 e 1421 cm^{-1} são atribuídas ao modo $(\nu_3)\text{CO}_3^{-2}$. Vibrações associadas à água absorvida são detectadas em 1643 cm^{-1} . O espectro do compósito de Col-HAN é caracterizado por bandas de absorção ligadas a HA e colágeno. Banda em 962s cm^{-1} é associada ao grupo $(\nu_1)\text{P-O-P}$ fracamente. Absorções a 1238 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} e 1558 cm^{-1} estão associadas ao colágeno.

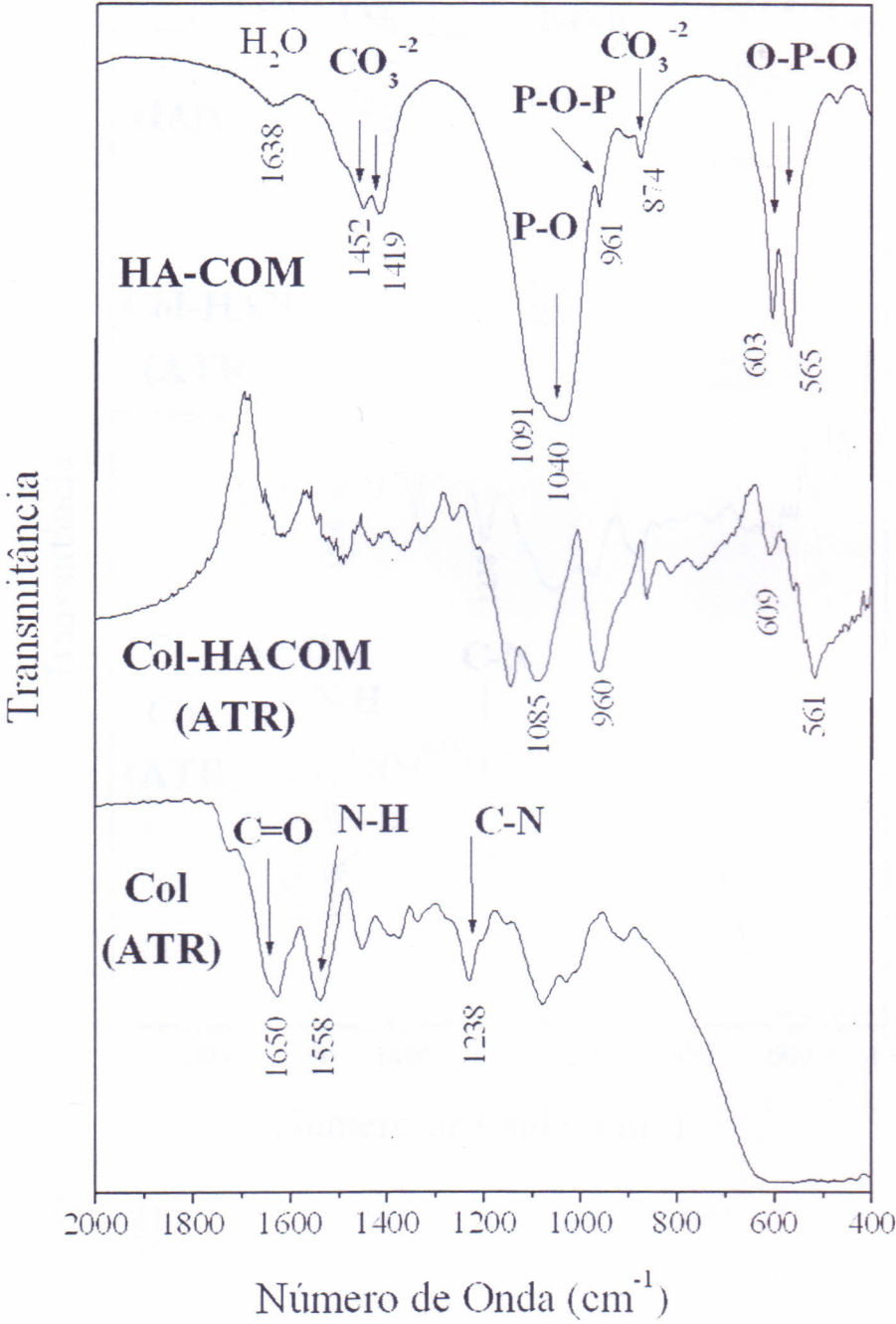


Figura 4.4 – Espectro na região do Infravermelho do filme de Colágeno (Col), do compósito de Colágeno com Hidroxiapatita Comercial (Col-HACOM) e do pó de Hidroxiapatita Comercial (HACOM).

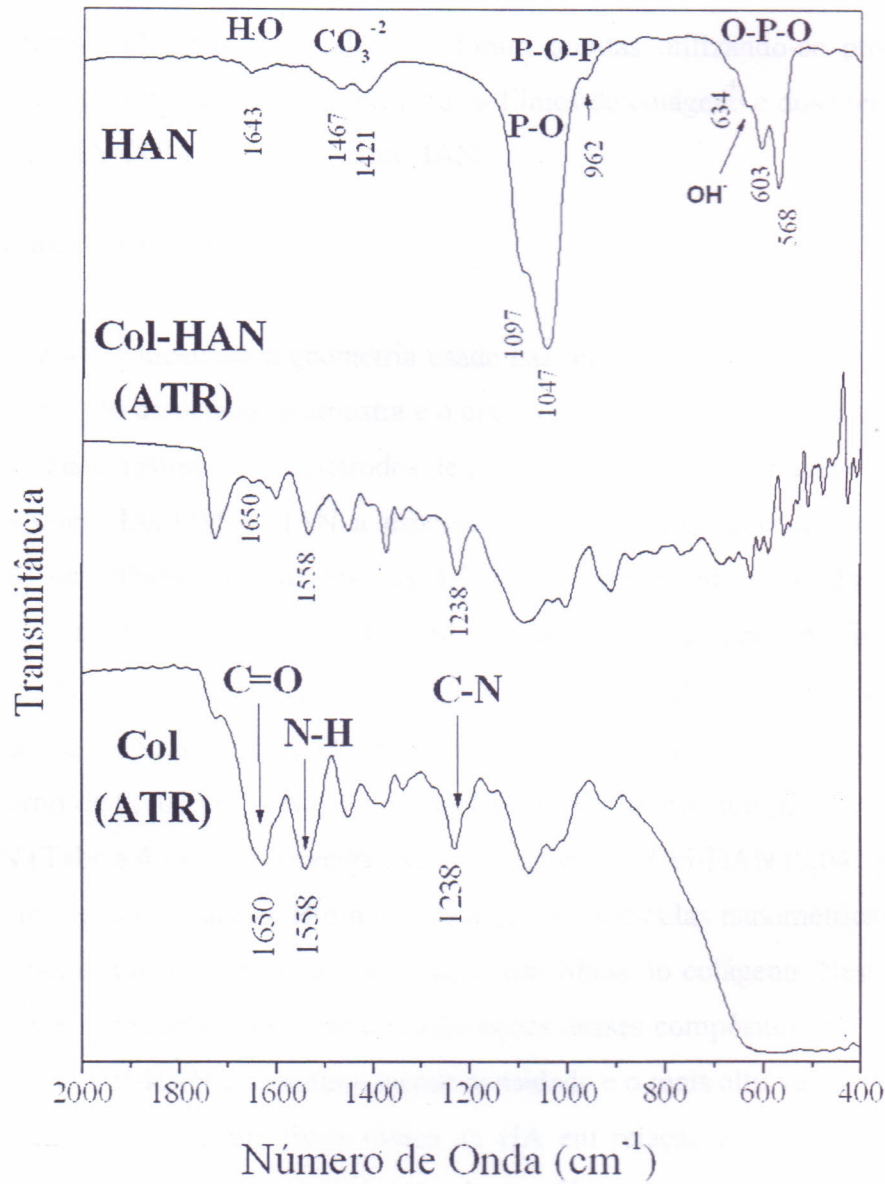


Figura 4.5 – Espectro na região do Infravermelho do filme de Colágeno (Col), do compósito de Colágeno com Hidroxiapatita Nanocristalina (Col-HAN) e do pó de Hidroxiapatita Nanocristalina (HAN).

4.2.7. Medidas Dielétricas e Piezelétricas

4.2.7.1. Método Experimental

As medidas dielétricas e piezelétricas foram obtidas utilizando-se procedimento realizado como descrito no item 3.3.12. para os filmes de colágeno e dos compósitos de colágeno com HA-COM e colágeno com HAN.

4.2.7.2. Resultados Discussão

Na Figura 4.6 é mostrada a geometria usada nas medidas dielétricas e piezelétricas. Os planos 2 e 3 são associados à amostra e o eixo 1 é perpendicular ao das amostras. As faces planas das amostras são os eletrodos de prata. Para o caso do colágeno (Col) e dos compósitos com HACOM e HAN a espessura e o diâmetro de cada amostra estão relacionados na Tabela 4.1 e as Figuras 4.7 a 4.9 representam suas admitâncias. O diâmetro “L” variou entre 1,0 cm e 4,4 cm, enquanto as espessuras “e” ficaram entre 27,88 μm e 150,72 μm para o Col, Col-HACOM e Col-HAN. O valor médio obtido para o modo f.L $\approx 253,86$ kHz.m. O elemento do tensor piezelétrico d_{14} para o colágeno ficou em torno de 0,102 pC/N enquanto o Col-HACOM apresentou piezeletricidade de 0,012 pC/N (Tabela 4.1). Comparando com o compósito de Col-HAN (0,041 pC/N) este apresenta um melhor resultado. Isto nos indica que as partículas nanométricas do HAN apresentam pequenos distúrbios na organização das fibras do colágeno. Nesta situação, o HAN é o melhor candidato em futuras aplicações desses compósitos. Na Tabela 4.1, pode-se ver que Col-HAN apresenta a menor densidade e o mais alto valor para o modo f.L. Acredita-se que uma alta força iônica da HA em relação às fibras de colágeno, induz uma diminuição de auto organização dessas fibras na estrutura do colágeno, na qual pode explicar o fraco decréscimo da piezeletricidade do Col-HAN. Na Tabela 4.2 têm-se os valores do fator de perda (Q^{-1}) para todas as amostras. Em média, as amostras de colágeno (Col) e o compósito de hidroxiapatita comercial com colágeno (Col-HACOM) apresentam respectivamente uma alta e baixa perda comparada com outras amostras, com valor intermediário para o compósito de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN). Essa é uma indicação em que se pode obter alta piezeletricidade (d_{14}) e uma baixa perda utilizando-se hidroxiapatita nanocristalina para os compósitos.

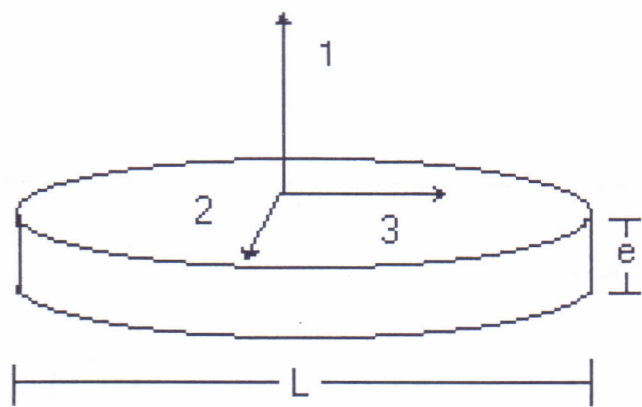


Figura 4.6 - Coordenadas retangulares fixadas das amostras para medidas das constantes piezelétricas e dielétricas.

Filmes	ρ (kg/m ³)	e (μm)	1 MHz $\epsilon_{11}^T/\epsilon_0$	1 GHz $\epsilon_{11}^S/\epsilon_0$	f.L. (KHz.m)	d_{14} 10 ⁻¹² CN ⁻¹
Col	948,4	27,88	1,536	1,293	253,86	0,102
Col-HAN	918,9	97,68	2,009	1,704	744,53	0,041
Col-HACOM	930,0	150,72	1,899	1,875	654,22	0,012

Tabela 4.1 – Densidade (ρ), Espessura (e), Permissividade Dielétrica (ϵ), Constante de Frequência (f.L) e Piezeletricidade (d_{14}) do colágeno (Col), colágeno -HACOM (Col-HACOM) e colágeno-HAN (Col-HAN).

Q^{-1}			
L (cm)	Col	Col-HACOM	Col-HAN
1,0	0,160	-	-
1,2	0,160	-	-
1,4	0,160	-	-
1,6	0,159	-	-
1,8	0,153	0,132	-
2,0	0,165	0,100	0,149
2,2	-	-	0,200
2,4	0,148	0,110	0,137
2,6	0,157	0,110	0,127
2,8	0,159	0,110	0,130
3,2	0,146	0,110	0,150
3,6	0,170	0,109	0,147
4,0	0,300	0,108	-
4,4	0,280	0,260	-

Tabela 4.2 – Fator de Perda (Q^{-1}) para amostras do colágeno (Col), compósito de colágeno com HACOM (Col-HACOM) e colágeno com HAN (Col-HAN).

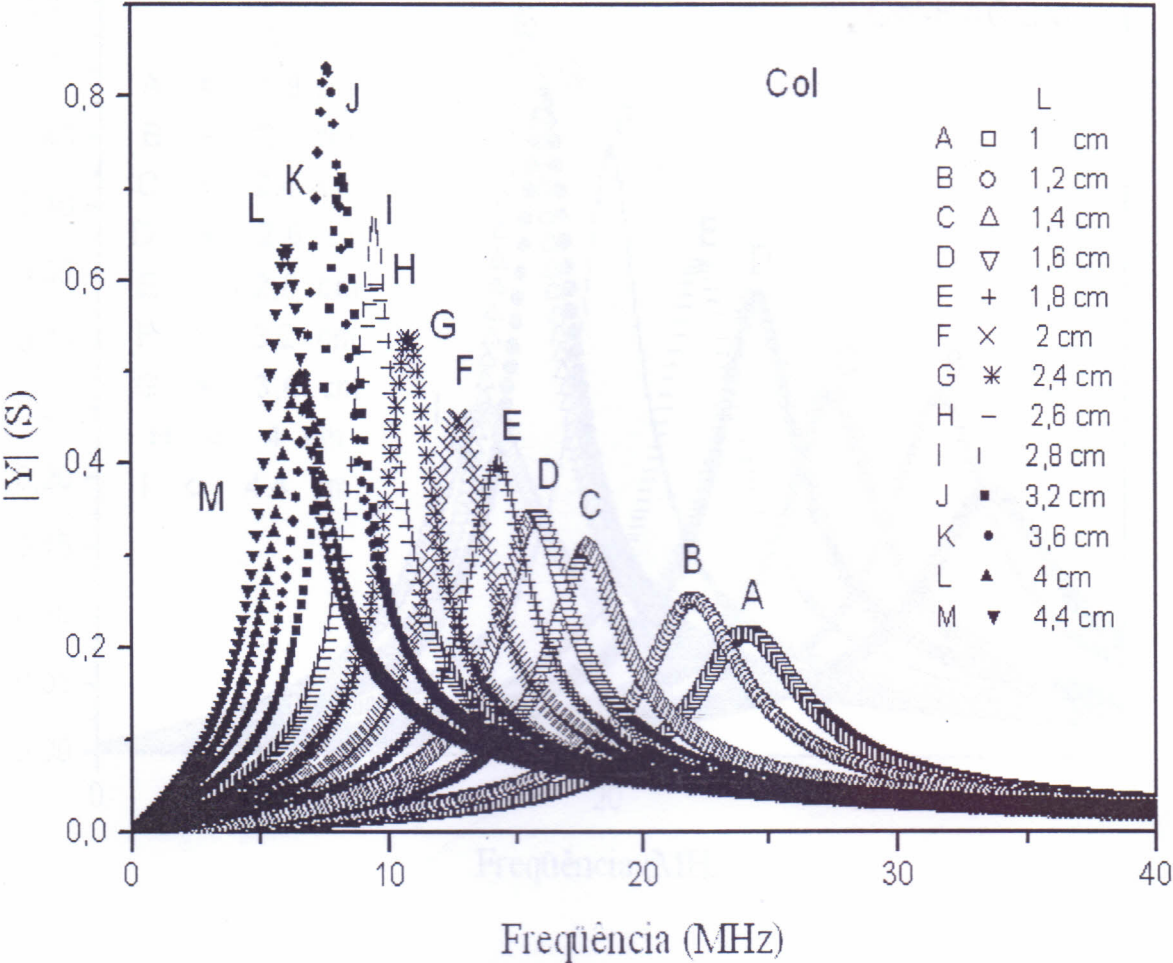


Figura 4.7 - Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o filme do Colágeno Aniônico.

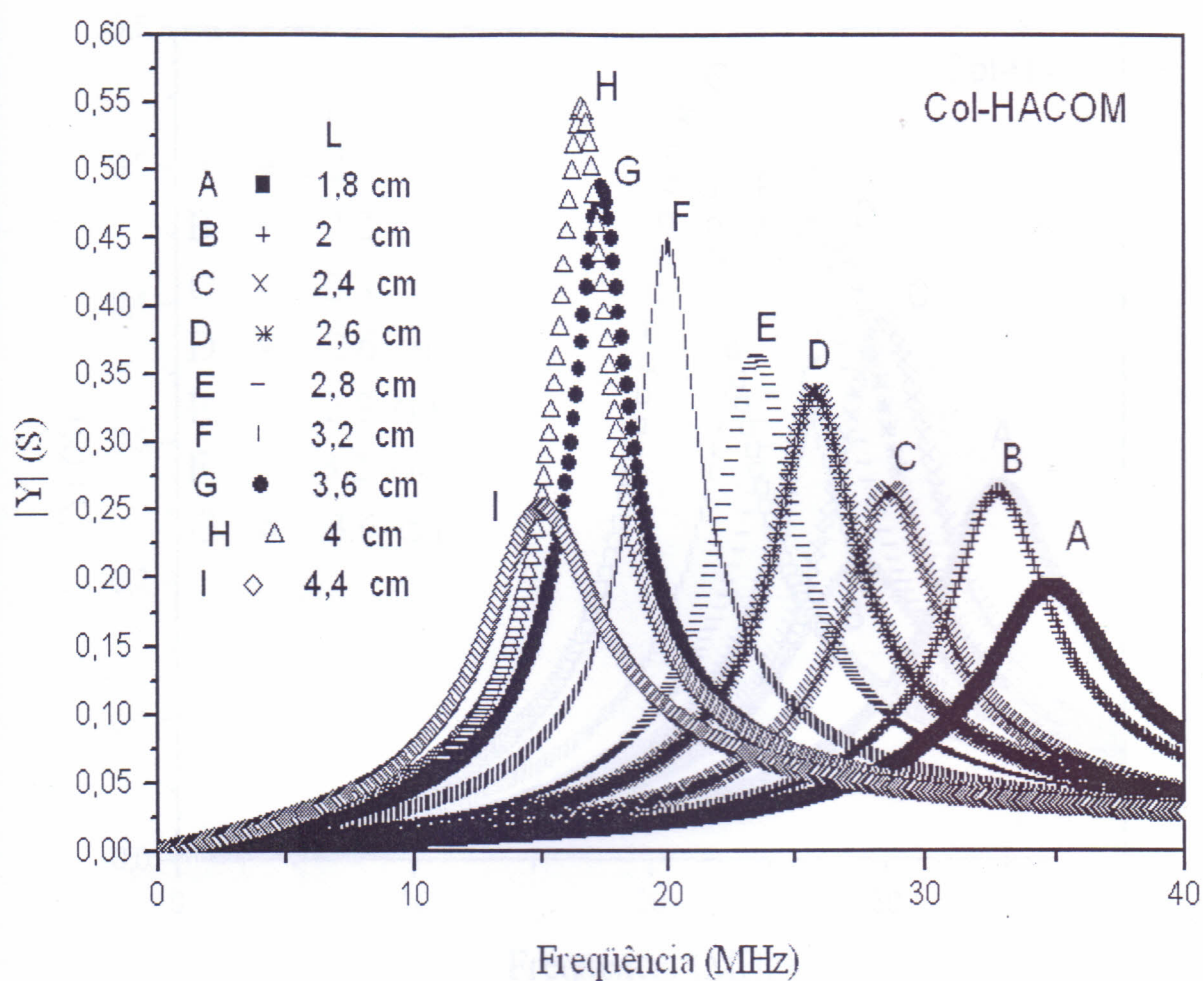


Figura 4.8 – Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o compósito de colágeno com HACOM.

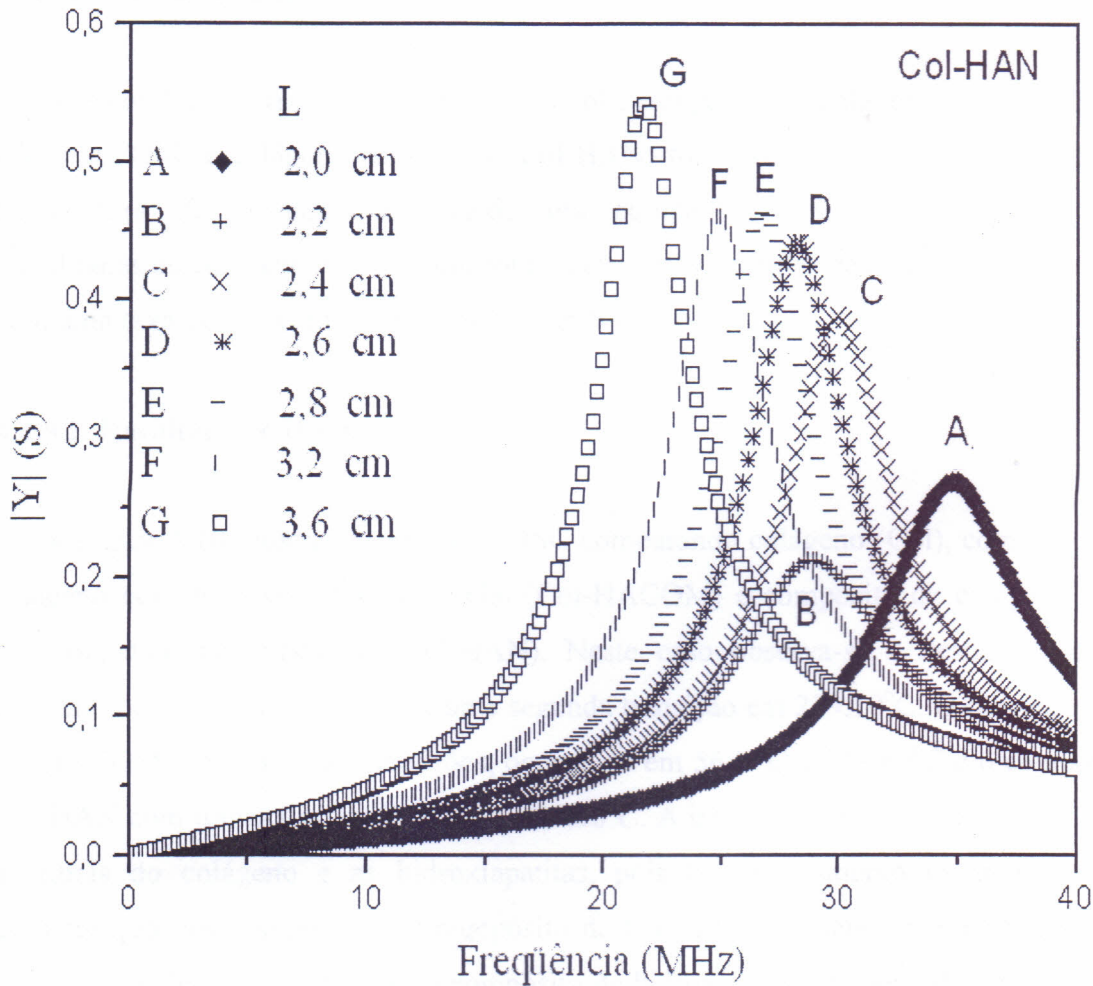


Figura 4.9 – Admitância elétrica como função da frequência externa e diâmetro do eletrodo (L) para o compósito de colágeno com HAN.

4.2.8. Análise Térmica de DSC

4.2.8.1. Método Experimental

As estabilidades térmicas do colágeno (Col), compósito de colágeno com HA-COM (Col-HACOM) e colágeno com HAN (Col-HAN) foram determinadas pela medida da temperatura de desnaturação usando um equipamento Shimadzu DSC-50. As membranas de colágeno e compósito foram lacradas em células de alumínio e aquecidas com uma taxa de 10 °C/min em atmosfera de N₂.

4.2.8.2. Resultados e Discussão

A Figura 4.10 mostra as curvas de DSC comparando colágeno (Col), compósito do colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) e compósito de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN). Neste caso observa-se a desnaturação do colágeno ocorrendo em 75,17°C e uma segunda transição em 229,10°C. O compósito de Col-HACOM também duas transições, ocorrendo em 56,1 °C e 228,80°C e o compósito Col-HAN com transições em 76,41°C e 229,50°C. A interação continua ocorrendo entre as fibras do colágeno e as hidroxiapatitas, pois há um aumento na transição de desnaturação dos compósitos. O compósito de Col-HAN apresenta maior estabilidade térmica quando comparado com o compósito de hidroxiapatita comercial haja vista que sua primeira transição apresenta temperatura de desnaturação maior, apresentando valores compatíveis com o colágeno aniônico.

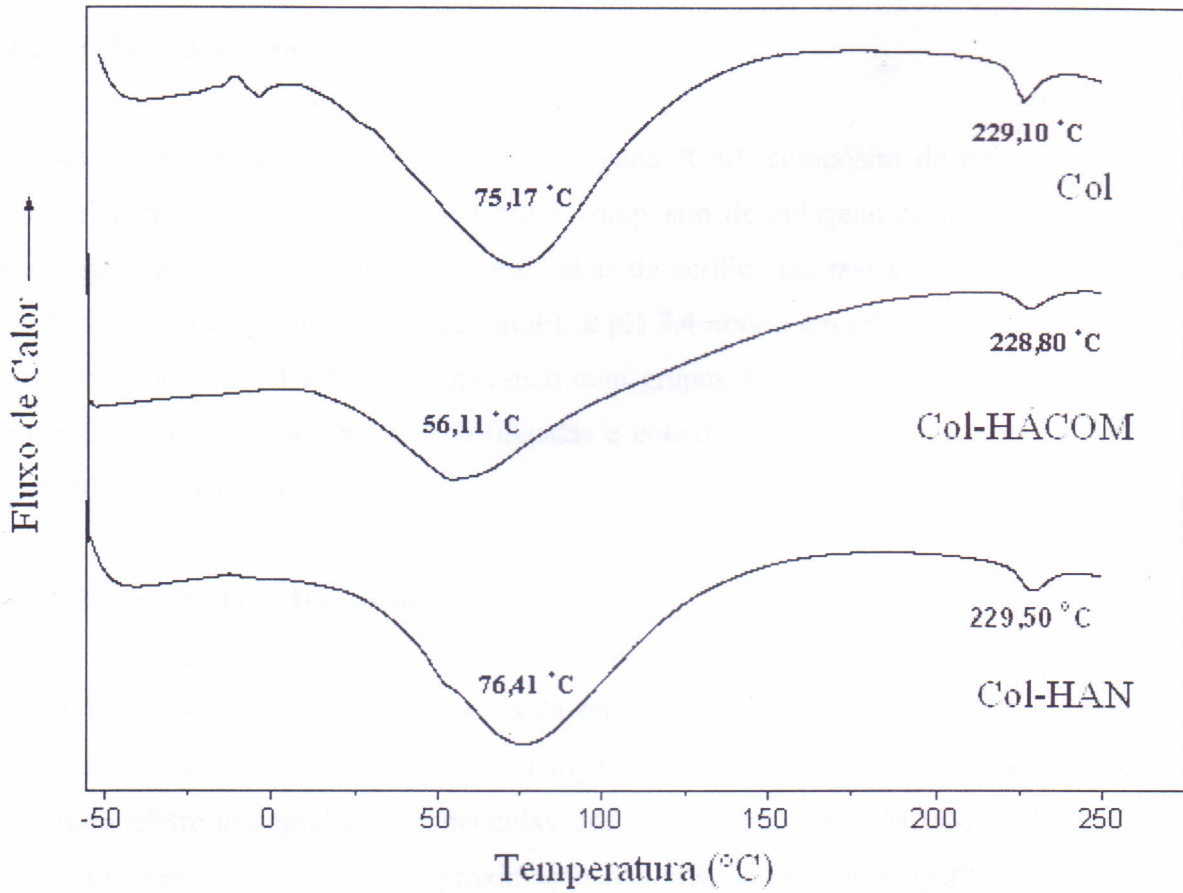


Figura 4.10 Curvas de estabilidade térmica por DSC das amostras colágeno aniônico (Col), compósito de colágeno com HACOM (Col-HACOM) e compósito de colágeno com HAN (Col-HAN).

4.2.9. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Análise de Energia Dispersiva de Raios-X (EDX)

4.2.9.1. Métodos Experimentais

As micrografias das membranas de colágeno (Col), compósito de colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) e compósito de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) moldadas em cubas de acrílico imersas em solução tampão de fosfato com concentração de 0,15 mol/L a pH 7,4 obtido em microscópio eletrônico de varredura PHILLIPS XL - 30 operando com grupos de elétrons primários limitados entre 12 e 20 KeV em amostras liofilizadas e cobertas com uma camada de carbono com 30 nm de espessura.

4.2.9.2. Resultados e Discussão

A Figura 4.11 mostra a micrografia da esponja de colágeno aniônico, onde podem ser observadas fibras de colágeno com aumento de 3500 vezes. As Figuras 4.12 e 4.13 mostram eletromicrografias das películas dos compósitos Col-HACOM e Col-HAN respectivamente com uma alta aproximação dos cristais de hidroxiapatita. Na Figura 4.12 mostra-se que os cristais de HA-COM (3500X) têm um aspecto denso, enquanto nos cristais observados do HAN (Figura 4.13) há um aspecto superficial mais poroso com um aumento de 4 vezes maior (15000 X). A análise de EDX (Figura 4.14) mostra que os principais elementos da esponja híbrida de colágeno são carbono, oxigênio, cálcio e fósforo. O EDX dos cristais de HACOM presentes no compósito Col-HACOM, mostra uma razão mássica de Ca/P em torno de 1,92 (Figura 4.14), enquanto para o compósito Col-HAN apresenta valor próximo de 1,83 com razão teórica de 2,15. A razão mássica dos pós de hidroxiapatita comercial (HACOM) e nanocristalina (HAN) são respectivamente 1,84 e 2,10.

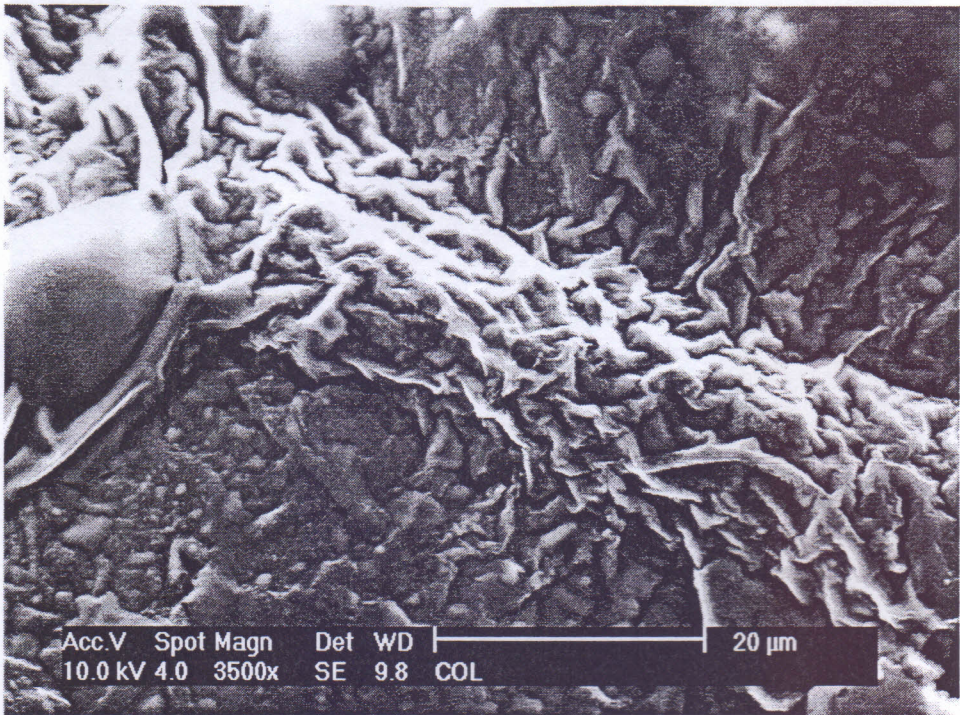


Figura 4.11 – Micrografia do filme de colágeno aniônico [3500X]

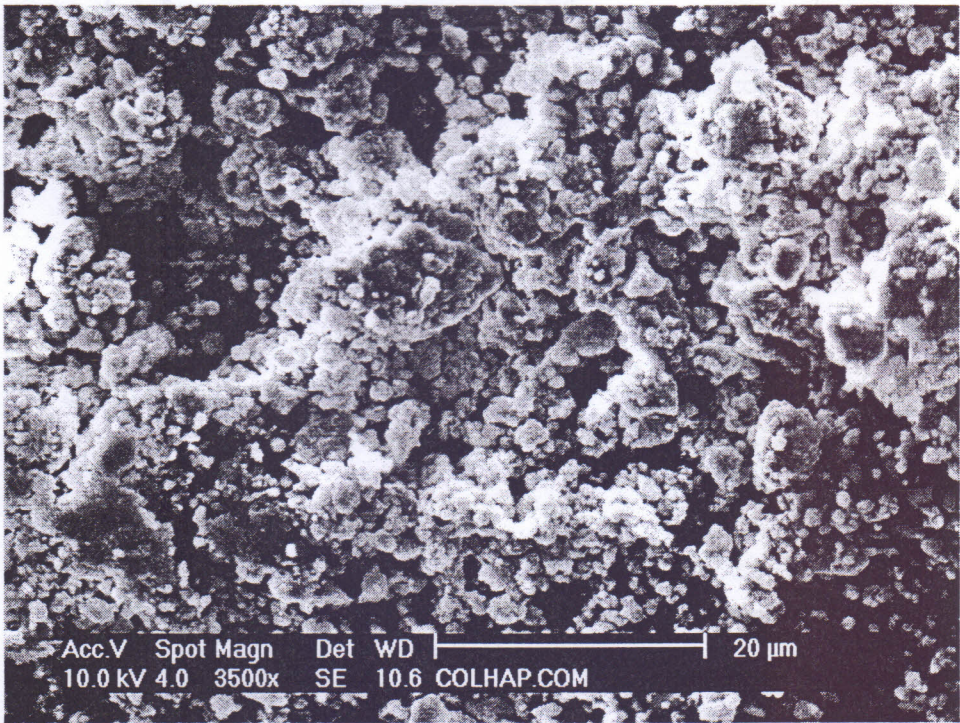


Figura 4.12 – Micrografia do filme de composto de colágeno aniônico com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) [3500X]

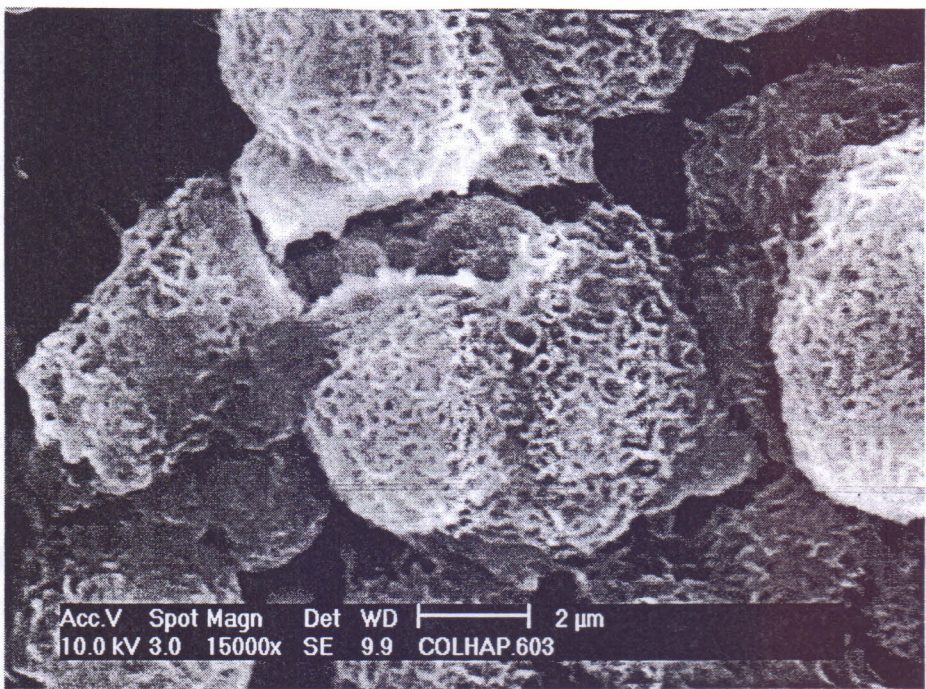


Figura 4.13 – Micrografia do filme de compósito de colágeno aniônico com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) [15000X]

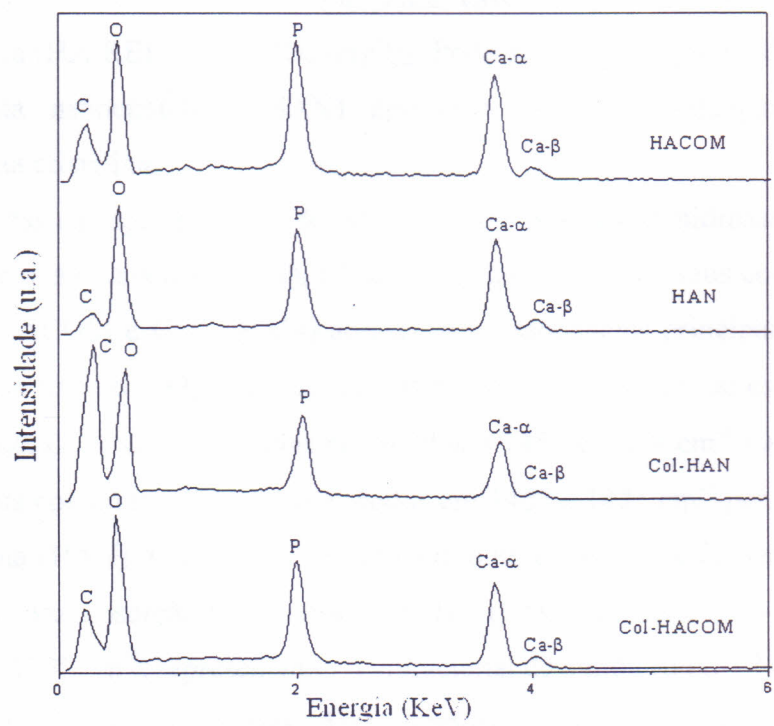


Figura 4.14 – Energia Dispersiva de Raios-X (EDX) das amostras dos compósitos de colágeno com HACOM (Ca/P = 1,92), compósito de colágeno com HAN (1,83), pós de HACOM (1,84) e HAN (2,10).

4.2.10. Conclusões

Neste capítulo foram estudadas as propriedades ópticas, dielétricas e piezelétricas do colágeno aniônico e compósitos de colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) e hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN), considerando-se o desenvolvimento de novos biomateriais na qual tem potenciais aplicações para crescimento celular e em sistemas de regeneração óssea.

O elemento de tensor força piezelétrico (d_{14}), a constante elástica (s_{55}) e a constante dielétrica (ϵ_{11}) foram medidos para o colágeno aniônico e os compósitos de hidroxiapatita. A difratometria de raios-X do filme de colágeno (Col) mostra um difratograma alargado característico de um material amorfo. Para o compósito Col-HACOM foi observado um alto grau de cristalização com os picos principais associados a hidroxiapatita cristalina presente nesta amostra. Para o compósito nanocristalino (Col-HAN) foi utilizado hidroxiapatita obtido pela reação 3 (HA3/60) com método de moagem de alta energia por 60 horas e, pela difração de raios-X, observa-se o tamanho do cristalito em torno de 38,9 nm. Para esse compósito temos a presença da hidroxiapatita (HA-REF) e $\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$. Pode-se observar que na difração do pó da hidroxiapatita nanocristalina (HAN) apresenta os picos principais associados a hidroxiapatita cristalina.

As medidas da espectroscopia de infravermelho nos pós de hidroxiapatita comercial (HACOM) e nanocristalina (HAN), filmes de colágeno (Col) e seus compósitos com os pós (Col - HACOM e Col - HAN) apresentam ressonâncias principais associadas aos modos do íon fosfato (PO_4^{3-}). Ressonâncias associadas ao modo de estiramento do íon carbonato $\text{v}_3(\text{CO}_3^{2-})$ são observadas nos modos a 1452 e 1419 cm^{-1} para a cerâmica de hidroxiapatita comercial (HACOM) e modos em 1467 e 1421 cm^{-1} para a hidroxiapatita nanocristalina (HAN). O espectro de infravermelho do filme de colágeno (Col) mostra bandas com forte absorção associadas à amida I ($\text{C}=\text{O}$), amida II ($\text{N}-\text{H}$) e uma banda centrada em 1238 cm^{-1} , representando o vibracional de amida III ($\text{C}-\text{N}$).

As micrografias dos filmes dos compósitos de Col-HACOM e Col-HAN, respectivamente, mostram depósitos de hidroxiapatita na superfície do colágeno, com formação de cristais com caráter denso para a HACOM no seu compósito e um aspecto superficial mais poroso no compósito de Col-HAN. A análise de EDX mostra que os principais elementos das esponjas híbridas são carbono, oxigênio, cálcio e fósforo. O EDX dos cristais de HACOM presentes no compósito Col-HACOM mostra razão

mássica de Ca/P = 1,92 enquanto para a nanocristalina (Col-HAN) foi encontrado valor próximo de 1,83. Os valores da razão mássica Ca/P das cerâmicas HAN e HACOM estão em torno de 2,10 e 1,84 respectivamente, sugerindo que o valor obtido para a hidroxiapatita nanocristalina é bem próxima do teórico (Ca/P = 2,15).

O elemento do tensor piezelétrico (d_{14}) obtido para o colágeno aniônico ficou em torno de 0,102 pC/N, na qual é um bom resultado comparado com valores encontrados na literatura obtidos por outros métodos. O compósito de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) apresentou um resultado melhor, com valor em torno de 0,041 pC/N, comparado com o compósito Col-HACOM ($d_{14} = 0,012$ pC/N). Isso é uma indicação que as partículas nanocristalinas da hidroxiapatita apresentam pequenos distúrbios na organização das fibras de colágeno nos compósitos. Essa situação nos dá uma indicação de que essas partículas são as melhores opções em futuras aplicações. O compósito Col-HAN possui uma baixa densidade e um alto valor para a constante f.L. Acredita-se que a alta força iônica da hidroxiapatita contribua no aumento da alta organização (menos anisotrópico) da estrutura das fibras e colágeno, na qual pode-se explicar o pequeno aumento na piezeletricidade do compósito Col-HAN, além de apresentar uma maior estabilidade térmica, comparando-se com o Col-HACOM. Em média, o colágeno e o compósito Col-HACOM apresentam piezeletricidades mais alta e baixa respectivamente, comparando-se com outras amostras. O valor da piezeletricidade do compósito Col-HAN, como esperado, indica que, se pode obter um alto valor e um baixo valor da constante piezelétrica (d_{14}) utilizando-se a hidroxiapatita nanocristalina nas amostras de compósitos, devido à presença da HA, haja vista que a mesma diminui a piezeletricidade no colágeno.

A análise de DSC mostrou que a incorporação de HA nanocristalina ao colágeno formando o compósito Col-HAN apresenta maior estabilidade térmica que o compósito com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM).

4.2.11. Referências Bibliográficas

- [1] Rhee, S.; Tanaka, J. - *J. Am. Ceram. Sci.* **81** (1998) 3029-31.
- [2] Doi Y.; Horiguchi, T.; Moriwak, Y.; Kitago, H.; Kagimoto, T.; Iwayama, Y. - *J. Biomedical Material. Research* **31** (1996) 43-9.
- [3] Bigi, A.; Panzavolta, S.; Roveri, N. - *Biomaterials* **19** (1998) 739-44.

- [4] Liu, Q.; de Wijn, J.R.; van Blitterswijk, C.A. - *J. Biomedical Material. Research* **40**: (2) (1998) 257-63.
- [5] Nimni, M.E. - *Collagen: Biochemistry* **1** CRC, 1988.
- [6] Nimni, M.E. - *Collagen: Biotechnology* **3** CRC, 1988.
- [7] Mascarenhas, S., Bioelectres: Electres in Biomaterials and Biopolymers, in topics in Applied Physics, 23, Electres, Springer - Verlag, Berlin, 1987.
- [8] Fukada, E. - Piezoelectricity and Pyroelectricity of Biopolymers in Ferroelectric Polymers, Marcel Dekker INC., (1995) 393-439.
- [9] Goissis, G.; Moriak, C.M.; BR 9.000.972, 2 de março de 1990.
- [10] Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS); International Center for Diffraction Data; 12 Campus Blvd.; Newton Square; Pennsylvania 19073 - 3723; USA; 1995 - Pattern 24-0033 [HA], 06-0426 [β -Ca₃(PO₄)₂], 09-0080 [CaHPO₄], 29-0109 [(NH₄)CaP₃O₉.3H₂O], 76-0571 [Ca(OH)₂] e 72-0713 [CaHPO₄.(H₂O)₂]
- [11] Bucci, C.; Fieschi, R. - *Phys. Rev. Lett.* **12** (1964) 16.
- [12] Ikeda, T. - Fundamentals of Piezoelectricity, Oxford University Press, 1990, 34.
- [13] Fukata, E. - Piezoelectricity and Pyroelectricity of Biopolymers and Ferroelectrics polymers, Marcel Dekker, 1995, 393-439.

Capítulo 5

5. Conclusões Gerais

A moagem mecânica de alta energia foi usada com êxito para produzir pós nanocristalinos de hidroxiapatita (HA) utilizando quatro diferentes procedimentos. Foram utilizados óxidos e sais comerciais de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{OH})_2$, CaHPO_4 , P_2O_5 , CaCO_3 e $(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$ em cinco diferentes procedimentos. O pó de hidroxiapatita foi obtido nas quatro primeiras reações (HA1, HA2, HA3 e HA4) comprovado pela caracterização por difração de raios-X, espectroscopias infravermelho e Raman. A reação 5 (HA5) mostrou pela difração de raios-X que, com 15 horas de moagem, houve uma identificação da formação de linhas de difração extra referentes a fase $\text{NH}_4\text{CaP}_3\text{O}_9 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, provavelmente devido ao sistema utilizado ser fechado e haver formação de amônia, ocorrendo deslocamento do equilíbrio formando outra fase diferente da HA. Com 60 horas de moagem há apenas presença de fase amorfa. A hidroxiapatita foi obtida com diferentes graus de cristalinidade e tempos de mistura, onde, pela análise da difração de raios-X, tem-se o tamanho do cristalito variando entre 14 a 44 nm.

Um estudo mais minucioso da difração de raios-x na reação 3 (HA3) mostra que com 2,5 horas de moagem tem-se a presença de hidroxiapatita.

As espectroscopias infravermelho e Raman sugerem que com o aumento do tempo de mistura há formação da hidroxiapatita, como visto na análise de difração de raios-X.

Filmes espessos da biocerâmica hidroxiapatita (HA) foram estudados através da difratometria de raios-X, microscopia eletrônica de varredura (MEV), medidas da constante dielétrica (ϵ_r), perda dielétrica (D) e espectroscopias infravermelho e Raman. Os resultados da difratometria de raios-X indicaram que a fase da hidroxiapatita estava presente. Os difratogramas de raios-X indicam a presença de fase/fases extra além da HA nos filmes, provavelmente associados com o fundente. Pode-se concluir que houve um aumento no tamanho de cristalito devido ao processo de sinterização aplicado nos filmes. O tamanho de cristalito dos filmes se apresentou em torno de 46 nm. Com o aumento da presença do vidro nos filmes os grãos são agregados formando placas. Esse comportamento da formação de agregados é crítico nas propriedades elétricas dos filmes.

Os resultados das espectroscopias infravermelho e Raman sugerem que o processo de sinterização não modificou as propriedades ópticas dos filmes.

Para todos os filmes foi observada uma diminuição nos valores da constante dielétrica (ϵ_r) com o aumento da frequência. O método de “screen printing” usado na obtenção de filmes espessos da hidroxiapatita é um excelente candidato para aplicações em coberturas biocompatíveis de materiais utilizados em implantes, mas também para materiais isolantes de circuitos eletrônicos e camadas dielétricas em biossensores.

Em testes de bioatividade foi utilizado a HA com diferentes graus de cristalinidade, pureza e tempos de moagem (HA2/60, HA4/15 e HA5/15). A análise do tamanho de cristalitos realizados através de difração de raios-X mostra partículas com dimensões em 36,9; 14,3 e 35,5 nm para HA2/60, HA4/15 e HA5/15. O tamanho de grão medidos pela análise de MEV apresentou dimensões de 117,2; 110,8 e 154,4 nm, respectivamente. A análise de EDX mostra que as razões atômicas de Ca/P para essas reações são, respectivamente, 1,67; 1,83 e 1,50. Esses resultados sugerem que a cerâmica nanocristalina HA2/60 tem a razão atômica Ca/P próxima da teórica ($5/3 = 1,67$). Os dados da análise do infravermelho e Raman são uma boa concordância comparada com os da literatura. A análise de bioatividade mostra que todas as amostras implantadas nos coelhos podem ser consideradas biocompatíveis, já que são consideradas não tóxicas e não causam inflamação e rejeitos na parte do animal, durante o período de implantação. As amostras implantadas nos coelhos apresentam nova formação do tecido ósseo com a presença de células osteoblásticas.

As propriedades ópticas, dielétricas e piezelétricas do colágeno aniônico e compósitos de colágeno com hidroxiapatita comercial (Col-HACOM) e hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) foram estudadas.

A difratometria de raios-X do filme de colágeno (Col) mostra um difratograma largo característico de material amorfo. Para o compósito Col-HACOM foi observado um alto grau de cristalização com os picos principais associados a hidroxiapatita cristalina presente nesta amostra. Para o compósito nanocristalino (Col-HAN) foi utilizado hidroxiapatita obtido pela reação 3 (HA3/60) com método de moagem de alta energia por 60 horas e, pela difração de raios-X, observa-se o tamanho do cristalito em torno de 38,9 nm. Para esse compósito tem-se a presença da hidroxiapatita (HA-REF) e $\text{CaHPO}_4 \cdot (\text{H}_2\text{O})_2$.

As medidas da espectroscopia infravermelho nos pós de hidroxiapatita comercial (HACOM) e nanocristalina (HAN), filmes de colágeno (Col) e seus compósitos com os pós (Col - HACOM e Col - HAN) apresentam ressonâncias principais associadas aos modos do íon fosfato (PO_4^{3-}) e secundárias ao íon carbonato CO_3^{2-} . O espectro infravermelho do filme de colágeno (Col) mostra bandas de absorção associadas à amida I ($\text{C}=\text{O}$), amida II ($\text{N}-\text{H}$) e uma banda centrada em 1238 cm^{-1} , representando o modo vibracional da amida III ($\text{C}-\text{N}$).

A análise de microscopia eletrônica dos filmes dos compósitos de Col-HACOM e Col-HAN, respectivamente, mostram depósitos de hidroxiapatita na superfície do colágeno, com formação de cristais com caráter denso para a HACOM no seu compósito e um aspecto superficial mais poroso no compósito de Col-HAN.

O elemento do tensor piezelétrico (d_{14}) obtido para o colágeno aniônico ficou em torno de $0,102\text{ pC/N}$, sendo um valor compatível com valores reportados na literatura obtidos por outros métodos. O compósito de colágeno com hidroxiapatita nanocristalina (Col-HAN) apresentou um resultado melhor, com valor em torno de $0,041\text{ pC/N}$, comparado com o compósito Col-HACOM ($d_{14} = 0,012\text{ pC/N}$). Isso é uma indicação que as partículas nanocristalinas da hidroxiapatita apresentam pequenos distúrbios na organização das fibras de colágeno nos compósitos. Essa situação nos dá uma indicação de que essas partículas são as melhores opções em futuras aplicações. O compósito Col-HAN possui uma baixa densidade e um alto valor para a constante f.L. Acredita-se que a alta força iônica da hidroxiapatita contribua no aumento da alta organização (menos anisotrópico) da estrutura das fibras e colágeno, na qual pode-se explicar o pequeno aumento na piezeletricidade do compósito Col-HAN, além de apresentar uma maior estabilidade térmica, comparando-se com o Col-HACOM. Em média, o colágeno e o compósito Col-HACOM apresentam piezeletricidades mais alta e baixa respectivamente, comparado com Col-HAN. O valor da piezeletricidade do compósito Col-HAN, como esperado, indica que, se pode obter um baixo valor da constante piezelétrica (d_{14}) utilizando-se a hidroxiapatita nanocristalina nas amostras de compósitos.

Capítulo 6

6. Sugestões para Trabalhos Futuros

- a. Síntese de hidroxiapatita (HA) por moagem de alta energia com outras possibilidades de reações não abordadas nesta tese, visando um estudo comparativo e melhora nas propriedades ópticas, térmicas e elétricas do material obtido;
- b. Síntese de ligas de HA por moagem de alta energia, realizando a substituição do cálcio por Ti, Fe, Cu, Bi e Mo e o fósforo por Nb e V, realizando estudo comparativo das propriedades com a HA;
- c. Realizar estudo das propriedades mecânicas da HA e ligas de HA para otimização destas características ;
- d. Preparação de filmes biológicos utilizando HA e compósitos das ligas de HA com polissacarídeos galactomanana e quitosana, além do colágeno, fazendo suas respectivas caracterizações visando melhorar suas propriedades piezelétricas;
- e. Obtenção de filmes espessos utilizando as ligas de HA e a HA com outros fundentes e ligantes na intenção de se estudar, comparativamente, as propriedades elétricas e estruturais dos filmes;
- f. Realizar testes de bioatividade com as ligas de HA, visando novas características de biocompatibilidade em cobaias;
- g. Realizar testes com peças cerâmicas da HA e ligas da HA em *SBF (Simulated Body Fluid)*.

Capítulo 7

7. Publicações Decorrentes deste Trabalho

7.1 Publicações Internacionais

1. Effect of the pH on the Piezoelectric Properties of Collagen Films

C.C. Silva, A. G. Pinheiro, D. Thomazini, J.C. Góes, S.D. Figueiró, J.A.C. de Paiva and A.S.B. Sombra.

Materials Science and Engineering B83, 165-172 (2001)
(Elsevier Science B.V.)

2. Collagen- Hydroxyapatite Films: Piezoelectric Properties

C.C. Silva, D. Thomazini, A. G. Pinheiro, N. Aranha, J. C. Góes, S. D. Figueiró and A. S. B. Sombra.

Materials Science and Engineering B86, 210-218 (2001)
(Elsevier Science B.V.)

3. On the Piezoelectricity of Collagen-Chitosan Films

C.C. Silva, C.G.A. Lima, A. G. Pinheiro, J. C. Góes, S. D. Figueiró and A. S. B. Sombra
Physical Chemistry Chemical Physics (PCCP) 3, 4154-4157 (2001)
(Royal Society of Chemistry-RSC)

4. Optical Properties of Hydroxyapatite obtained by Mechanical Alloying

C.C. Silva, D. Thomazini, A. G. Pinheiro, F. Lanciotti Jr., J.M. Sasaki, J. C. Góes and A. S. B. Sombra.

Journal of Physics and Chemistry of Solids 63 (2002) 1745-1757.
(Elsevier Science B.V.)

5. Piezoelectric Properties of Collagen- Hydroxyapatite Composites

C.C. Silva, D. Thomazini, A. G. Pinheiro, N. Aranha, J. C. Góes, S. D. Figueiró and A. S. B. Sombra.

Journal of Materials Science, 37(2002) 2061-2070.

(Elsevier Science B.V.)

6. Study of the Electrical Conductivity and Piezoelectricity in Iron Doped Collagen Films

C. C. Silva, V. O. Sousa Neto, A. F. L. Almeida, S. D. Figueiró, J. C. Góes, J. A. C. de Paiva, C. E. C. Magalhães and A. S. B. Sombra.

Solid State Sciences 4 (1) 43-51 (2002)

(Elsevier Science LTD)

7. Study of the Piezoelectricity in Iron Doped Collagen Films

V.O. Sousa Neto, C. C. Silva, S.D. Figueiró, J. C. Góes, J.A.C. de Paiva, C.E.C. Magalhães, C.F. Wehmann, and A. S. B. Sombra.

J. Materials Science: Materials in Electronics, 13 (2002) 157-165.

(Kluwer Academic Publishers)

8. Structural Properties of Hydroxyapatite obtained by Mechanosynthesis

C.C. Silva, D. Thomazini, A. G. Pinheiro, F. Lanciotti Jr, J.M. Sasaki, J. C. Góes and A. S. B. Sombra.

Aceito no Solid State Science (2003)

9. Structural Properties of Nanocrystalline-Hydroxyapatite Obtained by Mechanical Alloying

C.C. Silva, A. G. Pinheiro, M. A. Pimenta, A. Righi, J.M. Sasaki, J. C. Góes and A. S. B. Sombra.

Submetido ao Journal of the European Ceramic Society (2002)

10. Properties and in Vivo Investigation of Nanocrystalline Hydroxyapatite Obtained by Mechanical Alloying

C.C. Silva, A. G. Pinheiro, M. A. Pimenta, A. Righi, J.M. Sasaki, J.C. Góes, N. Aranha, L. R. de Oliveira and A. S. B. Sombra.

Submetido ao Journal of Material Science: Materials in Medicine (2002)

11. Dielectric Permittivity and Loss of Hydroxyapatite Screen-Printed Thick Films

C.C. Silva, A.F.L. Almeida, R. S. De Oliveira, A. G. Pinheiro, M.A.R. Miranda and A. S. B. Sombra.

Submetido ao Journal of Materials Science (2003)

12. Optical and Electrical Studies of Hydroxyapatite Screen-Printed Thick Films

C.C. Silva, A.F.L. Almeida, A. G. Pinheiro, M.A.R. Miranda and A. S. B. Sombra

Submetido ao Internacional Journal of Inorganic Materials (2002)

7.2. Patente Requerida

1. Título:

Processo de Obtenção de Hidroxiapatita Nanocristalina por Moagem de Alta Energia tendo este recebido provisoriamente o protocolo N° 000248, de 07/06/2002 no INPI.

Patente de invenção requerida sob N° 000248/2002".

7.3. Conferências Internacionais

1. Study of the Electrical Conductivity and Piezoelectricity in Iron Doped Collagen Films,

V. O. Sousa Neto, **C.C.Silva**, S. D. Figueiró, J. C. Góes, J.A.C. de Paiva, C. F.

Wehmann and A.S.B. Sombra.

**VI International Conference on Frontiers of Polymers and Advanced Materials,
March 4-9 Recife/PE-Brazil**

2. Piezoelectric Properties Collagen- Nanocrystalline Hydroxyapatite Composite Films

C.C. Silva , D. Thomazini, A. G. Pinheiro, J. C. Góes and A. S. B. Sombra.

Proc. of the XIX International Congress on Glass

1-7 July Edinburg-Scotland (UK) (2001)

3. Electric Properties Collagen-Nanocrystalline Hydroxyapatite Composite Films

C.C. Silva, D Thomazini, AG Pinheiro, JC Góes, ASB Sombra.

Proc. of the Fifth Brazilian Symposium on Glass and Related

Materials, August 19-22,Foz do Iguaçu-PR, BRAZIL (2001)

4. Structural Properties of Hydroxiapatite obtained by Mechanical Alloying

C.C. Silva, D. Thomazini, A.G. Pinheiro, M.A. Valente, J.M. Sasaki, A.S.B. Sombra.

Proc. of the Fifth Brazilian Symposium on Glass and Related

Materials, August 19-22,Foz do Iguaçu-PR, BRAZIL (2001)

7.4. Conferências Nacionais

1. Piezoelectric Collagen-Hydroxyapatite Films

C.C.Silva, A.S.B. Sombra, J.M. Sasaki, S.D. Figueiró, N. Aranha and J.C. Góes.

Proc. do I Encontro da SBPMat-Sociedade Brasileira de Pesquisa em Materiais

7-10 Julho, Rio de Janeiro(RJ) (2002)

2. Optical Properties of Hydroxiapatite obtained by Mechanical Alloying

C.C. Silva, F. Lanciotti, J.C.Góes, J.M. Sasaki and A.S.B. Sombra.

Proc. no XV Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais

09 a 13 de Novembro, Natal-RN, Brasil (2002)

3. Propriedades Ópticas das Hidroxiapatitas Obtidas por Moagem, Vantagens e Conclusões.

C.C.Silva, A.G. Pinheiro, D. Thomazini, F.Lanciotti Jr, J..M.Sasaki, J.C.Góes and A.S.B. Sombra.

Proc. no XX Encontro de Físicos do Norte e Nordeste

04 a 08 de novembro, Recife-PE (2002)

4. Propriedades Ópticas das Hidroxiapatitas Obtidas por Moagem.

C.C. Silva, A.G. Pinheiro, D. Thomazini, F. Lanciotti Jr, J.M. Sasaki, J. C. Góes and A.S.B.Sombra.

Proc. no XX Encontro de Físicos do Norte e Nordeste

04 a 08 de novembro, Recife-PE (2002)

5. Propriedades Estruturais da Hidroxyapatita Obtida por Moagem Mecânica

C.C.Silva, J.A.C.Paiva, A.G. Pinheiro, D.X. Gouveia, J.M. Sasaki and A.S.B.Sombra.

Proc. no XX Encontro de Físicos do Norte e Nordeste

04 a 08 de novembro, Recife-PE (2002)

ANEXOS

Effect of the pH on the piezoelectric properties of collagen films

C.C. Silva ^a, A.G. Pinheiro ^b, D. Thomazini ^c, J.C. Góes ^d, S.D. Figueiró ^e,
J.A.C. de Paiva ^b, A.S.B. Sombra ^{b,*}

^a Departamento de Química Orgânica e Inorgânica-UFC, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

^b Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM) Departamento de Física,
Universidade Federal do Ceará Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

^c Universidade de Fortaleza-UNIFOR, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

^d Departamento de Engenharia Mecânica-UFC, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

^e Departamento de Bioquímica-UFC, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

Received 4 December 2000; accepted 16 January 2001

Abstract

In this paper, we did a study of the physicochemical, dielectric and piezoelectric properties of collagen films, considering the development of new biomaterials which have potential applications in coating of cardiovascular prostheses, support for cellular growth and in systems for controlled drug delivery. The piezoelectric strain tensor element d_{14} , the elastic constant S_{55} , and the dielectric permittivity ϵ_{11} were measured for collagen films. It was observed that the collagen samples submitted to different pH treatment lead to different electrical behavior. For sample S2 (pH = 5.2) one has a higher denaturation temperature ($T_d = 80.55^\circ\text{C}$), lowest density ($\rho = 909.6 \text{ kg m}^{-3}$), highest dielectric function, lowest frequency constant product ($f \times L = 320.33 \text{ kHz.m}$) and higher piezoelectricity ($d_{14} = 0.122 \text{ pC/N}$) which is our major interest in this study. The loss factor Q^{-1} measured for all the samples shows that for all the electrodes dimensions sample S2 present the highest loss factor which is between 0.68 and 0.76. We believe that the different pH treatment is critical to the final level of organization of the microscopic structure of the sample, which could result in an increase of the piezoelectricity. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Collagen films; Piezoelectric properties; Loss factor

1. Introduction

Collagen, which exists in a variety of morphological forms, is the most abundant structural protein of the animal connective tissue and has a long history as biomaterial [1]. Individual molecules of collagen, which are semi flexible rods $\sim 280 \text{ nm}$ in length and $\sim 1 \text{ nm}$ in diameter, undergo self-assembly to form interwoven network-like structures, ranging from long fibrils to complex. The native fibril possess a high degree of axial alignment of collagen molecules and are characterized by a regular stagger of approximately $1/4$ of a rod length between each molecule and its axially aligned neighbor, which is characterized by a banding pattern

with a $\sim 67 \text{ nm}$ period [2]. Type I collagen molecules form stable solutions in acids, $\text{pH} \leq 3.5$ and low ionic strength at any temperature from freezing to denaturation. Monomeric native molecules are also soluble and form stable solutions at $3.5 \leq \text{pH} \leq 7.4$ and low ionic strength at temperatures in the range from freezing to maximum of 20°C . At temperatures greater than this, aggregates and fibrils begin to form, although the rates obviously depend on the solution conditions. The fibrils, which ultimately form are usually well ordered pattern similar to those observed in vivo. Self-assembly in pure systems is very dependent upon the temperature, ionic strength, nature of the added salt, and pH, which suggests that growth of the fibrils is largely directed by hydrophobic and electrostatic forces [3]. Collagen fibril assembly is an example of an entropy-driven self-assembly process, which is driven by the loss of collagen-bound solvent molecules [4].

* Corresponding author.

E-mail address: sombra@ufc.br (A.S.B. Sombra).

Collagen–hydroxyapatite films: piezoelectric properties

C.C. Silva ^a, D. Thomazini ^b, A.G. Pinheiro ^c, N. Aranha ^d, S.D. Figueiró ^e, J.C. Góes ^f,
A.S.B. Sombra ^{c,*}

^a Departamento de Química Orgânica e Inorgânica-UFC, Fortaleza, Brazil

^b Laboratório de Novos Materiais (LNM), Centro de Ciências Tecnológicas, UNIFOR, Avenue Washington Soares, 1321, Fortaleza, CE, Brazil

^c Departamento de Física, Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM), Universidade Federal do Ceará,
Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil

^d Instituto de Química-UNESP, Fortaleza, Brazil

^e Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Ciências-UFC, Fortaleza, Ceará, Brazil

^f Departamento de Engenharia Mecânica, Centro de Tecnologia-UFC, Fortaleza, Ceará, Brazil

Received 2 February 2001; accepted 10 May 2001

Abstract

In this paper we report a study of the physicochemical, dielectric and piezoelectric properties of anionic collagen and collagen–hydroxyapatite (HA) composites, considering the development of new biomaterials which have potential applications in support for cellular growth and in systems for bone regeneration. The piezoelectric strain tensor element d_{14} , the elastic constant s_{55} , and the dielectric permittivity ϵ_{11} were measured for the anionic collagen and collagen–HA films. The thermal analysis shows that the denaturation endotherm is at 59.47 °C for the collagen sample. The collagen–HA composite film shows two transitions, at 48.9 and 80.65 °C. The X-ray diffraction pattern of the collagen film shows a broad band characteristic of an amorphous material. The main peaks associated to the crystalline HA is present in the sample of collagen–HA. In the collagen–HA composite, one can also notice the presence of other peaks with low intensities which is an indication of the formation of other crystalline phases of apatite. The scanning electron photomicrograph of anionic collagen membranes shows very thin bundles of collagen. The scanning electron photomicrography of collagen–HA film also show deposits of hydroxyapatite on the collagen fibers forming larger bundles and suggesting that a collagenous structure of reconstituted collagen fibers could act as nucleators for the formation of apatite crystal similar to those of bone. The piezoelectric strain tensor element d_{14} was measured for the anionic collagen, with a value of 0.062 pC N⁻¹, which is in good agreement compared with values reported in the literature obtained with other techniques. For the collagen–HA composite membranes, a slight decrease of the value of the piezoelectricity (0.041 pC N⁻¹) was observed. The anionic collagen membranes present the highest density, dielectric permittivity and lowest frequency constant $f.L$. © 2001 Elsevier Science B.V. All rights reserved.

Keywords: Collagen–hydroxyapatite; Films; Piezoelectric properties

1. Introduction

Calcium phosphate based bioceramics, mainly in the form of hydroxyapatite (HA), have been in use in medicine and dentistry for the last 20 years. Applications include coatings of orthopedic and dental implants, alveolar ridge augmentation, maxillofacial surgery, otolaryngology, and scaffolds for bone growth and as powders in total hip and knee surgery [1]. These materials exhibit several problems of handling and fab-

rication, which can be overcome by mixing with a suitable binder. Recently, a great interest has been focused on the use of composites of biodegradable or bioreabsorbable materials, such as collagen [2,3], gelatin [4], and synthetic polymers, like polyhema [5].

Collagen, which exists in a variety of morphological forms [6], is the most abundant structural protein of the animal connective tissue and has a long history as biomaterial [7]. Individual molecules of collagen, which are semi-flexible rods ca. 280 nm in length and ca. 1 nm in diameter, undergo self-assembly to form interwoven network-like structures, ranging from long fibrils to complex structures. The native fibrils possess a high

* Corresponding author. Fax: + 55-8-5287-4138.

E-mail address: sombra@ufc.br (A.S.B. Sombra).

On the piezoelectricity of collagen–chitosan films

C. C. Silva,^{ab} C. G. A. Lima,^c A. G. Pinheiro,^b J. C. Góes,^c S. D. Figueiró^d and A. S. B. Sombra^b

^a Departamento de Química Orgânica e Inorgânica (UFC), Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil. E-mail: sombra@ufc.br

^b Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM), Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brazil. E-mail: sombra@ufc.br

^c Departamento de Engenharia Mecânica-UFC, Centro de Ciências-UFC-Fortaleza-Ceará, Brazil

^d Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, Centro de Ciências-UFC-Fortaleza-Ceará, Brazil

Received 3rd January 2001, Accepted 22nd June 2001

First published as an Advance Article on the web 15th August 2001

We studied the physicochemical, piezoelectric and dielectric properties of collagen–chitosan films, with regard to the development of new biomaterials which have potential applications in the coating of cardiovascular prostheses, support for cellular growth and in systems for controlled drug delivery. The piezoelectric strain tensor element d_{14} , the elastic constant s_{55} , and the relative permittivity ϵ_{11} were obtained for the collagen and collagen–chitosan films. Resonance measurement of the piezoelectric strain constant d_{14} of collagen gives 0.096 pC N^{-1} , which is in good agreement with values reported in the literature, measured using other techniques. It was observed that addition of 15% of chitosan increased the piezoelectricity to 0.212 pC N^{-1} . The frequency constant fL and the piezoelectric strain element d_{14} , obtained for this sample, present the highest value for the samples under study (427.24 kHz m and 0.212 pC N^{-1}). This value for the d_{14} element is of the same order as that obtained for bovine bone ($d_{14} = 0.2 \text{ pC N}^{-1}$) (T. G. Netto and R. L. Ziemmerman, *Biophys. J.*, 1975, 15, 573), which is about one-tenth of the piezoelectric constant d_{11} of quartz crystal. Our results also show that the presence of chitosan contributes to an increase in the thermal stability of the collagen films, which is associated with an increase in the denaturation temperature of the collagen–chitosan samples compared with the collagen sample. We believe that the increase in the organization of the microscopic structure of the sample, results in an increase in the piezoelectricity. These high values for the frequency constant and piezoelectricity, give the possibility of using these films in electronic devices based on acoustic waves (e.g. surface acoustic wave devices (SAW)) which operate in the MHz frequency range using piezoelectric substrates.

1. Introduction

Polymeric composite materials, of both natural and synthetic origin, constitute by far the broadest and most diverse class of biomaterials. Charge and polarization storage via the electret state has been found in many biomaterials. As biomaterials, electrets have found interesting applications as anti-thrombogenic surfaces, in the stimulation of tissue growth in bone and in special artificial membranes.^{1–3} Fundamental macromolecules of biology, such as collagen and chitin, exhibit the effect. Collagen and chitosan have great potential in the field of bioactive biomaterials. Collagen, the most abundant protein in the animal kingdom, has a long history as a biomaterial. We can find it in prostheses of heart valves, in artificial skin, in contact lenses and in injectable gels for soft tissue augmentation.¹ Collagen molecules (molecular weight 300 000) are rod-like triple helices, which are 300 nm in length and 1.5 nm in diameter. Collagen fibers possess a high degree of axial alignment of collagen molecules and are characterized by a regular stagger of approximately $\frac{1}{4}$ of a rod length between each molecule and its axially aligned neighbor.¹ Chitosan is a polymer, which contains β -1-4 linked 2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose repeat units and is readily obtained by

the *N*-deacetylation of chitin, a naturally abundant polysaccharide. This biopolymer, is the structural component of the cuticles of crustaceans, insects, and molluscs and is also found in the cell of some microorganisms. A number of biomedical applications have also been envisaged. Chitosan and its derivatives have been explored as membranes for dialysis, wound healing accelerators and carriers for controlled drug delivery.² The object of this research is the study of the physicochemical, dielectric and piezoelectric properties of collagen–chitosan films, with regard to the development of new biomaterials which have potential applications in the coating of cardiovascular prostheses, in support for cellular growth and in systems for controlled drug delivery.²

2. Experimental methods

The collagen was solubilized from bovine serosa after 72 h treatment under alkaline conditions, followed by homogenization in acetic acid solution, at pH 3.5, and brought to a final concentration of 1%, determined by hydroxiprolin.⁴ Chitosan, FUKLA, with molecular mass of 2000 kD, was solubilized in 1% acetic acid solution. The membranes, cast in



ELSEVIER

Journal of Physics and Chemistry of Solids 63 (2002) 1745–1757

JOURNAL OF
PHYSICS AND CHEMISTRY
OF SOLIDS

www.elsevier.com/locate/jpcs

Optical properties of hydroxyapatite obtained by mechanical alloying

C.C. Silva^a, D. Thomazini^b, A.G. Pinheiro^c, F. Lanciotti Jr.^d, J.M. Sasaki^c,
J.C. Góes^e, A.S.B. Sombra^{c,*}

^aDepartamento de Química Orgânica e Inorgânica-UFC, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760 Fortaleza, Ceará, Brazil

^bLaboratório de Novos Materiais (LNM), Centro de Ciências Tecnológicas, Unifor, Av. Washington Soares, 1321, 60811-341 Fortaleza, Ceará, Brazil

^cLaboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM), Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Campus do Pici, Caixa Postal 6030, 60455-760 Fortaleza, Ceará, Brazil

^dGrupo de Semicondutores, Departamento de Física, UFSCar, Rod. Washington Luiz, km. 235, 13566-905 São Carlos, SP, Brazil

^eDepartamento de Engenharia Mecânica, Centro de Tecnologia, UFC, Fortaleza, Ceará, Brazil

Received 24 July 2001; revised 13 November 2001; accepted 21 November 2001

Abstract

Calcium phosphate based bioceramics, mainly in the form of hydroxyapatite (HA), have been in use in medicine and dentistry for the last 20 years. Applications include coatings of orthopaedic and dental implants, alveolar ridge augmentation, maxillofacial surgery, otolaryngology, and scaffolds for bone growth and as powders in total hip and knee surgery. These materials exhibit several problems of handling and fabrication, which can be overcome by mixing with a suitable binder. In this paper, mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of HA using five different experimental procedures. The milled HA were studied by X-ray powder diffraction, infrared and Raman scattering spectroscopy. For four different procedures, HA was obtained after a couple of hours of milling (on an average, 20 h of milling depending on the reaction procedure). The XRD patterns indicate that the grain size is within the range of 29–103 nm. This milling process, used to produce HA, presents the advantage that melting is not necessary and the powder obtained is nanocrystalline with extraordinary mechanical properties. The material can be compacted and transformed in solid ceramic samples. The high efficiency of the process opens a way to produce commercial amount of nanocrystalline HA. Due to the nanocrystalline character of this powder, their mechanical properties have changed and for this reason a pressure of 1 GPa is enough to shape the sample into any geometry. © 2002 Published by Elsevier Science Ltd.

Keywords: A. Ceramics; C. Raman spectroscopy; D. Ferroelectricity

1. Introduction

Hydroxyapatite (HA, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) is widely used in reconstructive orthopaedic and dental surgery, both as massive filling [1] of bone gaps and as a surface coating. In the latter case, it promotes adhesion between prostheses and bone [2]. This substance is present in substantial amounts in the mineralised tissue of the vertebrates—60–70% of the mineral phase of the human bone [3]. In order to propose the biosynthetic process of the bone, the synthesis

of HA was developed in this work. The human bone is formed basically by an organic phase and other mineral phases. In the organic phase, the fibres of collagen serve as a matrix for the precipitation of HA, determining the structure of the crystals. The collagen gives the bone its elastic resistance. The mineral phase is formed by HA.

Several processes [4,5] are used to produce HA of wide application as a temporary substitute for the human bone [5–9]. Hydrothermal synthesis is characterised by the reaction of aqueous solutions in closed recipients under controlled temperature and/or pressure. The temperature can be elevated above the boiling point of water, reaching the pressure of vapour saturation. One specific method of

* Corresponding author. Fax: +55-8-5287-4138.

E-mail address: sombra@ufc.br (A.S.B. Sombra).

Piezoelectric properties of collagen-nanocrystalline hydroxyapatite composites

C. C. SILVA

Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, UFC

A. G. PINHEIRO

Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM), Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brasil

S. D. FIGUEIRÓ

Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular Centro de Ciências, UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil

J. C. GÓES

Departamento de Engenharia Mecânica, Centro de Tecnologia, UFC, Fortaleza, Ceará, Brasil

J. M. SASAKI, M. A. R. MIRANDA, A. S. B. SOMBRA

Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM), Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará, Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brasil
E-mail: sombra@ufc.br

In this paper we did a study of the physicochemical, dielectric and piezoelectric properties of anionic collagen and collagen-hydroxyapatite (HA) composites, considering the development of new biomaterials which have potential applications in support for cellular growth and in systems for bone regeneration. The piezoelectric strain tensor element d_{14} , the elastic constant s_{55} , and the dielectric permittivity ϵ_{11} were measured for the anionic collagen and collagen-HA films. For the collagen-HA composite film (Col-HACOM) the main peaks associated to the crystalline HA is present. For the nanocrystalline composite, nanometric HA powder (103 nm particle size) (HAN), obtained by mechanical milling were used. For the composite film (Col-HAN) the HA and $\text{CaH}(\text{PO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$ phases were detected. One can see that the HA powder (HAN) present the main peaks associated to crystalline HA. The IR spectroscopy measurements on HA-COM and HAN powders, Col-HACOM and Col-HAN composite films and collagen film (Col) presents the main resonances associated to the modes of $(\text{PO}_4)^{3-}$, $(\text{CO}_3)^{2-}$. The IR spectra of Collagen Film (Col) shows the bands associated to amide I (C=O), amide II (N-H) and amide III (C-N) vibrational modes. The scanning electron photomicrography of the Col-HACOM and Col-HAN films, respectively, shows deposits of HA on the surface of collagen. It also shows that HACOM crystals has a dense feature, whereas the HAN crystals has soft porous surface. Energy-dispersive spectroscopy (EDS) analysis showed that the main elements of the hybrid sponge were carbon, oxygen, calcium, and phosphorus. The EDS of HACOM crystal, present in the Col-HACOM composite showed a molar ratio $\text{Ca/P} = 1.71$, whereas the Col-HAN composite the molar ratio of calcium and phosphorus ($\text{Ca/P} = 2.14$) and the amount of carbon were greater. The piezoelectric strain tensor element d_{14} obtained for the anionic collagen was around 0.102 pC/N. The collagen composite with nanocrystalline HA crystals (Col-HAN) present a better result ($d_{14} = 0.040$ pC/N) compared to the composite with the commercial ceramic ($d_{14} = 0.012$ pC/N). This is an indication that the nanometric particles of HA present little disturbance on the organization of the collagen fibers in the composite. In this situation the nanometric HA are the best candidates in future applications of these composites. © 2002 Kluwer Academic Publishers

STRUCTURAL PROPERTIES OF HYDROXYAPATITE OBTAINED BY MECHANOSYNTHESIS

C.C. Silva^(1,2), A. G. Pinheiro⁽²⁾, M. A. R. Miranda⁽²⁾,

J. C. Góes^(2,3) and A. S. B. Sombra^{(2)*}

(1)-Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC
Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, BRAZIL,

(2)-Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LOCEM)
Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará
Campus do Pici, Caixa Postal 6030, 60455-760 Fortaleza-Ceará-BRAZIL
Email: sombra@fisica.ufc.br

(3)-Departamento de Engenharia Mecânica – Centro de Tecnologia -
UFC – Fortaleza – Ceará - BRAZIL

Abstract

In this paper mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) using five different experimental procedures in a pure dry process. The milled HA were studied by x-ray powder diffraction, infrared and Raman scattering spectroscopy. For four different procedures, HA was obtained after a couple of hours of milling (in average 60 hours of milling, depending in the reaction procedure). This milling process, used to produce HA, presents the advantage that melting is not necessary and the powder obtained is nanocrystalline with cristallite size in the range of 22nm to 39 nm.

STRUCTURAL PROPERTIES OF NANOCRYSTALLINE HYDROXYAPATITE OBTAINED BY MECHANICAL ALLOYING

C.C. Silva^(1,2), A. G. Pinheiro⁽²⁾, M. A. Pimenta⁽³⁾, A. Righi⁽³⁾

J.M. Sasaki⁽²⁾, J.C. Góes^(2,4) and A. S. B. Sombra^{(2)*}

1- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC
Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, BRASIL,

2-Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LONLCM)
Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará
Campus do Pici, Caixa Postal 6030, 60455-760 Fortaleza-Ceará-Brasil

3- Departamento de Física, UFMG CP 702
30123-970 - Belo Horizonte MG
BRAZIL

4- Departamento de Engenharia Mecânica – Centro de Tecnologia -
UFC – Fortaleza – Ceará - BRASIL

Abstract

Calcium phosphate based bioceramics, mainly in the form of hydroxyapatite (HA), have been in use in medicine and dentistry for the last 20 years. Applications include coatings of orthopedic and dental implants, alveolar ridge augmentation, maxillofacial surgery, otolaryngology, and scaffolds for bone growth and as powders in total hip and knee surgery. These materials exhibit several problems of handling and fabrication, which can be overcome by mixing with a suitable binder. In this paper mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) using five different experimental procedures. The milled HA were studied by x-ray powder diffraction, infrared and Raman scattering spectroscopy. For four different procedures, HA was obtained after a couple of hours of milling (in average 35 hours of milling, depending in the reaction procedure). The XRD patterns indicate that the grain size is within the range of 15 to 45nm. This milling process, used to produce HA, presents the advantage that melting is not necessary and the powder obtained is nanocrystalline with extraordinary mechanical properties. The material can be compacted and transformed in solid ceramic samples. The high efficiency of the process opens a way to produce commercial amount of nanocrystalline HA. Due to the nanocrystalline character of this powder, their mechanical properties have changed and for this reason a pressure of 1 GPa is enough to shape the sample into any geometry.

PROPERTIES AND IN VIVO INVESTIGATION OF NANOCRYSTALLINE HYDROXYAPATITE OBTAINED BY MECHANICAL ALLOYING

C.C. Silva^(1,3), A. G. Pinheiro⁽³⁾, R. S. de Oliveira⁽³⁾, M. A. Pimenta⁽²⁾, A. Righi⁽²⁾
J.M. Sasaki⁽³⁾, J.C. Góes^(4,3), N. Aranha⁽⁵⁾, L. R. de Oliveira⁽⁶⁾
and A. S. B. Sombra^{(3)*}

1- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC

Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, BRASIL,

2- Departamento de Física, UFMG CP 702

30123-970 - Belo Horizonte MG, BRAZIL

3-Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LOCEM)

Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará

Campus do Pici, Caixa Postal 6030, 60455-760 Fortaleza-Ceará-Brasil

4- Departamento de Engenharia Mecânica – Centro de Tecnologia -

UFC – Fortaleza – Ceará - BRASIL

5- Instituto de Química – UNESP - Araraquara

6- Universidade de Ribeirão Preto - UNAERP

Abstract

Mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) using three different procedures. The milled HA were studied by X-Ray powder Diffraction, Infrared, Raman scattering spectroscopy and Scanning Electronic Microscopy (SEM). We obtained HA with different degrees of crystallinity and time of milling. The grain size analysis through SEM and XRD shows particles with dimensions of 36.9, 14.3 and 35.5nm (for R1, R2 and R3 respectively) forming bigger units with dimensions given by 117.2, 110.8 and 154.4nm (for R1, R2 and R3 respectively). The energy-dispersive spectroscopy (EDS) analysis showed that an atomic ratio of $\text{Ca/P} = 1.67, 1.83$ and 1.50 for reactions R1, R2 and R3 respectively. These results suggest that the R1 nanocrystalline ceramic is closer to the expected value for the ratio Ca/P for hydroxyapatite, which is $5/3 \cong 1.67$. The infrared and Raman spectra are in good agreement with the data reported in the literature. The major lines associated to HA were identified in our samples with good agreement with the x-ray analysis. The bioactivity analysis shows that all the samples implanted into the rabbits can be considered biocompatible, since they had been considered not toxic, had not caused inflammation and rejection on the part of the organisms of the animals, during the period of implantation. The samples implanted in rabbits had presented new osseous tissue formation with the presence of osteoblasts cells.

DIELECTRIC PERMITTIVITY AND LOSS OF HYDROXYAPATITE SCREEN-PRINTED THICK FILMS

**C.C. Silva⁽¹⁾, A.F.L. Almeida⁽¹⁾, R. S. de Oliveira⁽²⁾,
A. G. Pinheiro⁽²⁾, M.A.R. Miranda⁽²⁾ and A. S. B. Sombra⁽²⁾**

(1)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC
Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, BRASIL,

(2)-Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LOCEM)
Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará
Campus do Pici, Caixa Postal 6030
60455-760 Fortaleza-Ceará-Brasil

Abstract

In this paper we did a study on the structural and electrical properties of bioceramic hydroxiapatite (HA) thick films. The films were prepared in two layers using the screen printing technique on Al_2O_3 substrates. Mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) to be used in the films. We also look for the effect of the grain size of the HA in the final properties of the film. The samples were studied using X-Ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive spectroscopy (EDS) and electric measurements. We did a study of the dielectric permittivity and the loss of the films in the radio-frequency of the spectra. The X-ray diffraction (XRD) patterns of the films indicate that all the peaks associated to HA phase is present in the films. One can notice that, for all the films there is a decrease of the DC with the increase of the frequency. The values of the dielectric constant of the films are in between 4 and 9 (at 1 kHz), as a function of the flux concentration. The loss is decreasing as we increase the frequency for all the films. These results strongly suggests that the screen-printing HA thick films are good candidates for applications in biocompatible coatings of implant materials but also for the insulating materials of electronic circuits and dielectric layer in bio-sensors.

OPTICAL AND ELECTRICAL STUDIES OF HYDROXYAPATITE SCREEN-PRINTED THICK FILMS

C.C. Silva⁽¹⁾, A.F.L. Almeida⁽¹⁾, A. G. Pinheiro⁽²⁾,

M.A.R. Miranda⁽²⁾ and A. S. B. Sombra⁽²⁾

(1)- Departamento de Química Orgânica e Inorgânica - UFC
Caixa Postal 6030, CEP 60455-760, Fortaleza, Ceará, BRAZIL,

(2)-Laboratório de Óptica não Linear e Ciência dos Materiais (LOCEM)
Departamento de Física, Universidade Federal do Ceará
Campus do Pici, Caixa Postal 6030
60455-760 Fortaleza-Ceará-Brasil

Abstract

In this paper we did a study on the structural and electrical properties of bioceramic hydroxiapatite (HA) thick films. The films were prepared in two layers using the screen printing technique on Al_2O_3 substrates. Mechanical alloying has been used successfully to produce nanocrystalline powders of hydroxyapatite (HA) to be used in the films. We also look for the effect of the grain size of the HA in the final properties of the film. The samples were studied using X-Ray diffraction, scanning electron microscopy (SEM), energy-dispersive spectroscopy (EDS), infrared and Raman scattering spectroscopy and electrical measurements. We did a study of the dielectric permittivity and the loss of the films in the radio-frequency of the spectra. The X-ray diffraction (XRD) patterns of the films indicates that all the peaks associated to HA phase is present in the films. One can notice that, for all the films there is a decrease of the DC with the increase of the frequency. The values of the dielectric constant of the films are in between 4 and 9 (at 1KHz), as a function of the flux concentration. The loss is decreasing as we increase the frequency for all the films. These results strongly suggests that the screen-printing HA thick films are good candidates for applications in biocompatible coatings of implant materials but also for the insulating materials of electronic circuits and dielectric layer in bio-sensors.