

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

**LARA VITÓRIA DA COSTA MARQUES
NATÁLIA WEISS BERGER**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO PROVENIENTE
DE MATÉRIA-PRIMA NATURAL PARA USO COMO BIOMATERIAIS**

PONTA GROSSA

2022

**LARA VITÓRIA DA COSTA MARQUES
NATÁLIA WEIS BERGER**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO PROVENIENTE
DE MATÉRIA-PRIMA NATURAL PARA USO COMO BIOMATERIAIS**

**Obtainment and characterization of calcium phosphate from natural raw
materials for use as biomaterials**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentada como requisito para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Orientadora: Profa. Dra. Rozane de Fatima Turchiello Gómez.

PONTA GROSSA

2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)

Esta licença permite remixe, adaptação e criação a partir do trabalho, para fins não comerciais, desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es). Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**LARA VITÓRIA DA COSTA MARQUES
NATÁLIA WEISS BERGER**

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO PROVENIENTE
DE MATÉRIA-PRIMA NATURAL PARA USO COMO BIOMATERIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação
apresentado como requisito para obtenção do título de
Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e
Biotecnologia da Universidade Tecnológica Federal do
Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 01/dezembro/2022

Profa. Dra. Rozane de Fatima Turchiello Gómez
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Profa. Me. Sandra Mara Kaminski Tramontin
Mestrado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Denilson José Marcolino de Aguiar
Doutorado
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**PONTA GROSSA
2022**

Dedico este trabalho à minha família, pelos
momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS

Muitas pessoas fizeram parte dessa importante fase de nossas vidas. Portanto, desde já peço desculpas àquelas que não estão presentes entre essas palavras, mas tenham certeza de que fazem parte do nosso pensamento e gratidão.

Agradecemos à nossa orientadora Profa. Dra. Rozane de Fatima Turchiello Gómez por todo o suporte e orientação que tivemos nessa trajetória.

Aos nossos pais e familiares que tiveram conosco durante esses anos, nos dando apoio, torcendo e vibrando por nossas conquistas.

À nossa Universidade Tecnológica Federal do Paraná por todo o suporte e por nos permitir realizar o presente trabalho.

Ao Professor Luciano Fernandes do Departamento de Química da UTFPR e à Professora Heliety Barreto do Departamento de Mecânica da UTFPR, por auxiliarem na viabilidade da realização dos experimentos do presente trabalho.

Ao LabMult C²MMa da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Enfim, a todos os que fizeram a diferença e contribuíram para a realização desta pesquisa.

RESUMO

Desde os primórdios da humanidade, o homem vem tentando substituir partes do corpo de forma satisfatória e segura. Nesse sentido, o conceito e o foco de pesquisas em biomateriais sofreram avanços significativos, e atualmente o conceito de biomateriais pode ser definido como qualquer componente que entra em contato com fluidos orgânicos. Um biomaterial pode ser sintético ou natural e após entrar em contato com o tecido vivo ele é capaz de atuar como substituto parcial ou total de tecidos danificados, ou também realizar apenas reparos. Possuindo um grande potencial como biomaterial, o fosfato de cálcio é um constituinte do osso humano. Neste contexto, este composto é utilizado por vários profissionais da saúde quando se almeja o crescimento do tecido ósseo com baixa probabilidade de rejeição no paciente implantado. Considerando estas características e devido à alta biocompatibilidade, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção e caracterização de fosfato de cálcio a partir de uma matéria-prima economicamente viável. Foram coletadas cascas de ovo galináceo e por ataque ácido, através da síntese por via úmida com o ácido nítrico (HNO_3) e o fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4), obteve-se o pó de fosfato de cálcio. Resultados da caracterização indicaram que o material obtido possui as características que confirmam a síntese de fosfato de cálcio, através da difração de raios X foi obtido valores que determinam os seguintes componentes presentes: $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (62%), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (35%) e CaCO_3 (3%) e com a análise do EDS foi possível confirmar a relação Ca/P com a literatura, sendo a média das análises (Ca/P = 1,60) e os valores da literatura para β -TCP (Ca/P = 1,50) e HAP (Ca/P = 1,67). Portanto, conclui-se que é possível obter o pó a base de fosfato de cálcio através de uma matéria-prima de baixo custo.

Palavras-chave: biomateriais; fosfato de cálcio; casca de ovo.

ABSTRACT

Since the dawn of humanity, man has been trying to replace body parts in a satisfactory and safe way. In this sense, the concept and focus of research on biomaterials have undergone significant advances, and currently the concept of biomaterials can be defined as any component that comes into contact with organic fluids. A biomaterial can be synthetic or natural and after coming into contact with living tissue it is able to act as a partial or total substitute for damaged tissues, or just perform repairs. Possessing great potential as a biomaterial, calcium phosphate is a constituent of human bone. In this context, this compound is used by several health professionals when aiming at the growth of bone tissue with a low probability of rejection in the implanted patient. Considering these characteristics and due to the high biocompatibility, the present work aimed to obtain and characterize calcium phosphate from an economically viable raw material. Chicken egg shells were collected and by acid attack, through wet synthesis with nitric acid (HNO_3) and dibasic sodium phosphate (Na_2HPO_4) calcium phosphate powder was obtained. Characterization results indicated that the material obtained has the characteristics that confirm the synthesis of calcium phosphate, through X-ray diffraction, values were obtained that determine the following components present: $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (62%), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (35%) and CaCO_3 (3%) and with the analysis of the EDS it was possible to confirm the Ca/P ratio with the literature, being the mean of the analyzes ($\text{Ca/P} = 1.60$) and literature values for β -TCP ($\text{Ca/P} = 1.50$) and PAH ($\text{Ca/P} = 1.67$). Therefore, it is concluded that it is possible to obtain the powder based on calcium phosphate through a low-cost raw material.

Keywords: biomaterials; hydroxyapatite; eggshell.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Biomaterial do tipo metálico	16
Figura 2 - Estrutura química da hidroxiapatita	20
Figura 3 - Repartição da casca de ovo galináceo.....	23
Figura 4 – Figura de difração de raios X de HAP comercial	25
Figura 5 - Micrografia do pó de β -TCP obtida por MEV	26
Figura 6 - Micrografia do pó de β -TCP	27
Figura 7 - Figura de difração de raios X do CaCO_3 extraído de algas calcáreas	28
Figura 8 – Figura de difração de raios X dos pós de HAP	29
Figura 9 – Fluxograma do protocolo utilizado.....	30
Figura 10 – Figura de difração de raios X da COG	46
Figura 11 - Micrografia do pó (<i>in natura</i>).....	47
Figura 12 - Mapeamento dos grupos funcionais (<i>in natura</i>).....	48
Figura 13 - Micrografia do pó calcinado (900 °C).....	48
Figura 14 - Mapeamento dos grupos funcionais (900 °C).....	49
Fotografia 1 - Retirada da película presente nas cascas de ovo	31
Fotografia 2 - Quebra das cascas de ovo.....	31
Fotografia 3 - Moinho de esferas para trituração das cascas de ovo.....	32
Fotografia 4 - Trituração das cascas de ovo.....	32
Fotografia 5 - Peneira Granulométrica Vibrotech CT-025	33
Fotografia 6 - Pó da COG na peneira de 200 mesh	34
Fotografia 7 - Pó da COG nos tubos.....	34
Fotografia 8 - Dissolução com agitador magnético	37
Fotografia 9 - Preparo da solução ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$)	37
Fotografia 10 - Titulação com Na_2HPO_4	38
Fotografia 11 - Filtração a vácuo do precipitado	39
Fotografia 12 - Massa branca após filtração à vácuo	40
Fotografia 13 - Pó branco obtido após secagem em estufa	40
Fotografia 14 - Amostra no forno para a calcinação a 900 °C	41
Fotografia 15 - Amostra na dissecadora	42
Gráfico 1 - Curva granulométrica.....	35
Gráfico 2 - Resultado DRX (amostra <i>in natura</i>)	45
Gráfico 3 - Resultado DRX (amostra calcinada)	45
Quadro 1 - Classificação das biocerâmicas e exemplos de aplicações.....	19
Quadro 2 – Aplicações de polímeros na Odontologia	21
Quadro 3 – Aplicação de biomateriais metálicos na Odontologia.....	22
Quadro 4 – Massas das cascas de ovo	35

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
1.1	Objetivo geral	15
1.1.1	Objetivos específicos.....	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	Biomateriais	16
2.1.1	Classificação dos biomateriais	17
<u>2.1.1.1</u>	<u>Biomateriais cerâmicos</u>	<u>18</u>
<u>2.1.1.2</u>	<u>Biomateriais poliméricos</u>	<u>20</u>
<u>2.1.1.3</u>	<u>Biomateriais compósitos</u>	<u>21</u>
<u>2.1.1.4</u>	<u>Biomateriais metálicos</u>	<u>22</u>
2.2	Casca de ovo galináceo	23
2.3	Caracterização	25
3	MATERIAIS E MÉTODOS	30
3.1	Protocolo	31
3.1.1	Casca de ovo galináceo	31
3.1.2	Precipitação por via úmida	36
<u>3.1.2.1</u>	<u>Dissolução de Na_2HPO_4 em água destilada</u>	<u>36</u>
<u>3.1.2.2</u>	<u>Preparo da solução de HNO_3</u>	<u>37</u>
<u>3.1.2.3</u>	<u>Agitador magnético em constante agitação</u>	<u>38</u>
<u>3.1.2.4</u>	<u>Titulação com o preparado de Na_2HPO_4 na solução $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$</u>	<u>38</u>
<u>3.1.2.5</u>	<u>Filtração à vácuo</u>	<u>39</u>
<u>3.1.2.6</u>	<u>Secagem da massa branca em estufa</u>	<u>39</u>
<u>3.1.2.7</u>	<u>Tratamento térmico (calcinação à 900 °C)</u>	<u>41</u>
3.1.3	Caracterização do pó das amostras obtidas	42
<u>3.1.3.1</u>	<u>Caracterização por difração de raios X do pó obtido</u>	<u>42</u>
<u>3.1.3.2</u>	<u>Caracterização por MEV/EDS do pó obtido</u>	<u>43</u>
4	RESULTADOS OBTIDOS	44
4.1	Obtenção do pó de fosfato de cálcio	44
4.2	Caracterização do pó de fosfato de cálcio obtido	44
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	51
	REFERÊNCIAS	52

1 INTRODUÇÃO

Há muito tempo os biomateriais são utilizados para tentar substituir o tecido vivo. Apesar de parecer um tanto inovador, a ideia da utilização destes materiais se dá desde os tempos mais remotos. São inúmeros os relatos e registros de substituição de partes do corpo humano (TRINDADE, 2019). Com o passar dos anos, o conceito de substituir o tecido vivo tem evoluído através do avanço tecnológico, com o intuito de utilizar um substituto que seja eficaz e ao mesmo tempo não seja rejeitado pelo organismo do paciente implantado.

O corpo humano é complexo em sua organização, seja na eficiência das funções vitais ou em suas diferentes estruturas. Há um ponto de extremo privilégio na natureza do ser humano: ter o corpo edificado através de um sistema sólido. Esse sistema sólido é composto por ossos que os sustentam e possibilitam os movimentos. Os ossos do corpo são uma estrutura biológica extremamente versátil que é capaz de realizar processos interativos para com órgãos e sistemas, por esses aspectos mencionados, o tecido ósseo se tornou um dos tecidos que são mais estudados nos dias atuais (MITSUO, 2022).

Embora rígidos, os ossos possuem um tecido vivo muito dinâmico o qual possibilita e capacita a sua regeneração. Entretanto, isso não impede que alguns traumas, infecções ou até tumores causem perdas do tecido, os quais impossibilitam essa capacidade de regeneração. Com isso, a busca pela reparação dessas perdas ósseas é um alvo de extrema importância atualmente (SHAO *et al.*, 2021).

Mediante aos fatos citados, os biomateriais com suas aplicabilidades se tornam o principal foco em sistemas biológicos quanto a reparos ou substituições de tecidos ou órgãos para que seja possível garantir a funcionalidade do organismo. Para tanto, esses biomateriais precisam que suas propriedades físicas e biológicas sejam compatíveis para com os tecidos biológicos do organismo receptor, para essa compatibilidade é possível obter uma resposta do próprio organismo (SULZER; BORGES; SILVA, 2022).

Os fosfatos de cálcio são um dos principais biomateriais estudados para o emprego em reposições e regenerações do tecido ósseo. Este biomaterial tem como uma das principais características, sua biocompatibilidade, bioatividade, ausência de toxicidade e de resposta a corpo estranho, osteocondutividade e habilidade em se ligar ao tecido hospedeiro (GOMES *et al.*, 2012).

A hidroxiapatita (HAP) é referência na área de biomateriais, dentre as cerâmicas de fosfato de cálcio. Essa cerâmica é conhecida como um material inorgânico altamente bioativo e biocompatível, ampliando sua utilização na engenharia de tecidos e substituição óssea (BALÁZSI *et al.*, 2007).

Existem diversos métodos de obtenção da HAP e seu uso para revestimento de biomateriais. Alguns métodos conhecidos para revestimento são deposição eletroforética, sol-gel, *sputtering* ou *plasma spray* (BALÁZSI *et al.*, 2007). Além disto, existem métodos simples para síntese de fosfatos de cálcio. Os principais são através de reações químicas realizadas por via úmida, na maioria dos casos, onde o íon cálcio é agregado ao íon fosfato, juntamente com o pH controlado (GOMES *et al.*, 2012).

Durante muito tempo utilizou-se a HAP como único fosfato de cálcio pertencente ao grupo das biocerâmicas, com objetivo de reparar ou regenerar os ossos, sendo assim reconhecida como biomaterial. Entretanto, existem algumas limitações quanto ao seu uso clínico, como sua biodegradação lenta. Essa limitação levou ao interesse de estudo acerca de outros fosfatos de cálcio, como por exemplo, o fosfato de cálcio amorfo (ACP), o fosfato octacálcico (OCP) e os tricálcio fosfatos (TCP). Pensando em utilização de biomateriais, os fosfatos de tricálcio (TCP) tem ampla aplicação, sendo que o mesmo pode ocorrer de quatro formas, sendo elas cristalinas. Essas formas são: β -TCP; α -TCP; α' -TCP e γ -TCP (GOMES *et al.*, 2012).

Na Tabela 1 está descrita a relação Ca/P dos vários tipos de fosfato de cálcio. Essa relação Ca/P tem importância sobre a solubilidade dos compostos. Ou seja, quanto maior for a relação Ca/P, a solubilidade será menor. A relação de interesse para o presente trabalho é a da HAP, a qual tem sua relação Ca/P igual 1,67.

Tabela 1 – Relação Ca/P para diversos fosfatos de cálcio

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Ca/P
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,00
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,50
Fosfato tricálcico (α , α' , β , γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	CaHPO_4	1,00
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,00
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,70
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,50
Metafosfato de cálcio (α , β , γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,50

Fonte: Gomes *et al.* (2012)

1.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem como principal objetivo a obtenção de fosfato de cálcio a partir de uma matéria-prima economicamente viável, sendo escolhida para esta pesquisa a casca de ovo galináceo.

1.1.1 Objetivos específicos

- Obter e caracterizar a matéria-prima natural, casca de ovo galináceo;
- Realizar a síntese de fosfato de cálcio por via úmida, utilizando o ácido nítrico (HNO_3) e o fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4);
- Realizar o tratamento térmico, à alta temperatura, do pó obtido da síntese;
- Caracterizar o pó de fosfato de cálcio obtido, avaliando a sua viabilidade para a utilização como biomaterial, principalmente no recobrimento de substratos metálicos.

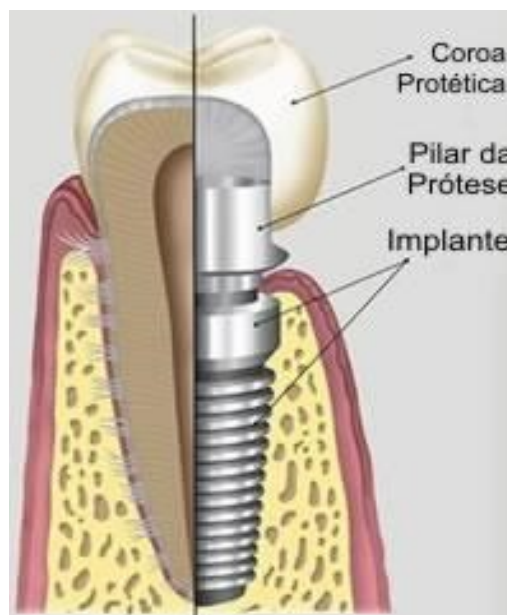
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biomateriais

Define-se por biomateriais aqueles materiais cujas suas substâncias ou a combinação de substâncias podem ser naturais ou não, as quais são empregadas na biomedicina. Eles também são capazes de interagir com o sistema biológico, podendo reparar ou substituir tecidos, órgãos e até funções do corpo humano (OLIVEIRA; MACHADO; ROSA, 2010). Atualmente, são diversos os biomateriais que possibilitam o uso clínico e estão disponíveis no mercado. Para obter uma classificação adequada desses biomateriais é preciso algumas considerações quanto à composição dos materiais, as propriedades físicas, químicas e biológicas e é claro, o mais importante, o papel desse biomaterial no processo de regeneração (MAAWI, 2020).

Os principais critérios dessas propriedades que devem ser levados em consideração são resistência, módulo (elasticidade, torsão ou flexão), fadiga, rugosidade, permeabilidade, absorção de água, bioestabilidade, bioatividade e esterilização. Somente após essas considerações será possível determinar se esse biomaterial é adequado ou não para determinada utilização. Na Figura 1 é representado um exemplo de utilização de biomateriais do tipo metálico.

Figura 1 - Biomaterial do tipo metálico



Fonte: Ratner (2004)

2.1.1 Classificação dos biomateriais

Devido à grande quantidade de biomateriais, é necessário a criação de classificações para que esses materiais sejam utilizados da melhor forma possível. Tal classificação pode ser realizada de diferentes formas, sendo através de estrutura química, da resposta do corpo hospedeiro ou do próprio tecido a ser substituído. Também devem ser consideradas as propriedades mecânicas, físicas, térmicas e ópticas. Das formas citadas, as que são mais comuns de serem utilizadas para a classificação são através da estrutura química e da resposta imune do hospedeiro (HENCH, 1998).

Acerca dos primeiros estudos sobre biomateriais, acreditava-se que um biomaterial aceitável era aquele que conseguiria se conectar ao tecido vivo sem gerar resposta imune ou que então geraria uma resposta imune baixa. De tal modo, optou-se por buscar biomateriais que fossem capazes de atender a esse requisito, estes são classificados como bioinertes (HENCH, 1998). Com o passar dos anos, através da história dos biomateriais foi possível visualizar o surgimento de uma nova classe. Após uma série de tentativas, entre erros e acertos por parte da humanidade em sua busca de materiais que pudessem substituir o tecido humano, foi possível analisar que, mesmo em casos de acerto sobre a implantação do biomaterial, o componente sofre deterioração ao longo dos anos. Com a expectativa de vida humana crescendo, e com as novas tecnologias, fez-se necessário a busca por uma classe de biomateriais que não sofresse tanto com a deterioração. Através desta busca, a humanidade encontrou uma classe que gera uma resposta imune favorável ao corpo hospedeiro, sendo essa resposta a responsável por aumentar a vida útil dos implantes e próteses. Ela é capaz de “conversar” com o tecido do hospedeiro e com isso foi encontrado os biomateriais classificados como bioativos (PIES *et al.*, 2015).

Após esse avanço na história dos biomateriais, mesmo com os materiais bioativos, ainda era visto uma grande probabilidade de rejeição dos implantes e próteses do tecido vivo. Para solucionar este problema, a humanidade iniciou uma busca por mais uma classe de biomateriais, uma classe que ao invés de conversar com o tecido vivo fosse capaz de instigar o organismo do hospedeiro a produzir o tecido desejado e que se deteriorasse de forma espontânea conforme fosse realizada a tarefa. Após várias pesquisas, uma nova classe de biomateriais surgiu, chamada atualmente de biodegradáveis e fazem parte dessa classificação algumas suturas

utilizadas em tratamentos dentários e cirurgias e também o fosfato tricálcico (SINHORETI; VITTI; SOBRINHO, 2013).

Após a descoberta dos biomateriais biodegradáveis, a humanidade queria ir além, foi aí que surgiu uma ideia de pesquisar um biomaterial que gerasse uma resposta imune favorável ao organismo, instigando-o a produzir seu próprio tecido. Ao contrário dos biodegradáveis, este material não seria degradado enquanto o tecido novo crescia, e sim incorporado a ele, acelerando a criação desse tecido. Essa classe mais recente recebe o nome de biomiméticos (SINHORETI; VITTI; SOBRINHO, 2013).

Retomando um pouco sobre as formas de classificação comumente utilizadas, a segunda forma é referente à estrutura química. Nesta classificação, o foco principal está presente em propriedades da mecânica do biomaterial como a resistência à tração e compressão, ductilidade, usinabilidade, entre outras. Para tanto, são utilizadas algumas propriedades das classes de materiais para definir a aplicabilidade de cada biomaterial. Esta segunda classificação será abordada abaixo, em seções terciárias, com ênfase em biomateriais cerâmicos que é a linha de pesquisa do presente trabalho.

2.1.1.1 Biomateriais cerâmicos

Os biomateriais cerâmicos possuem vantagens em relação aos metálicos e poliméricos pelo fato de apresentar alta estabilidade química. A primeira utilização desse biomaterial ocorreu nos anos 80, na época conhecido como um material de fragilidade, que para tal não é capaz de resistir a elevadas cargas, o que resulta em quebras/rachaduras (SCHMITT; ALVES; CARGNELUTTI; PANSARD, 2021).

Por se tratar de um biomaterial com estabilidade química, as cerâmicas têm baixa probabilidade de ocorrer uma resposta adversa do organismo ao entrar em contato biológico. As cerâmicas do tipo bioinertes que são mais utilizadas como biomaterial são as cerâmicas que tem em sua base o fosfato de cálcio, a alumina e a zircônia (PORTO, 2019).

Devido a propriedades mecânicas inferiores às propriedades encontradas em metais, as cerâmicas são comumente utilizadas como uma camada superficial em implantes metálicos. Tal processo visa aliar as propriedades mecânicas dos metais, como alta tensão de escoamento e resistência à compressão com as propriedades de biocompatibilidade e baixo coeficiente de atrito encontrado nas biocerâmicas.

Normalmente, essa aplicação de camada é feita de forma cuidadosa e com um alto controle dos parâmetros para evitar a decomposição térmica (AZEVEDO *et al.*, 2017).

Para Hench (1998), os biomateriais cerâmicos podem ser utilizados na sua forma porosa ou densa, mesmo que ao aumentar a porosidade o material perca um pouco de resistência mecânica. O fator de porosidade acaba sendo um ponto favorável para que ocorra o crescimento dos tecidos, pois os mesmos irão percorrer esses poros.

Entre as cerâmicas com maior empregabilidade nos biomateriais, pode-se destacar os fosfatos de cálcio, em especial a hidroxiapatita (HAP), a qual é amplamente utilizada na reparação, substituição e reconstrução de algumas partes de ossos e dentes devido à sua alta compatibilidade com os tecidos e características osteocondutoras (STRUTYNSKA *et al.*, 2020). A HAP é também amplamente utilizada como cimento de fosfato de cálcio (CPC) por sua semelhança com o tecido ósseo humano. As propriedades osteocondutoras deste material podem ser melhoradas através da incorporação de outros fosfatos (ZANELATO *et al.*, 2020).

No Quadro 1 é descrito as classificações das biocerâmicas e exemplos, para melhor compreender o tipo de biocerâmica em que a HAP se enquadra.

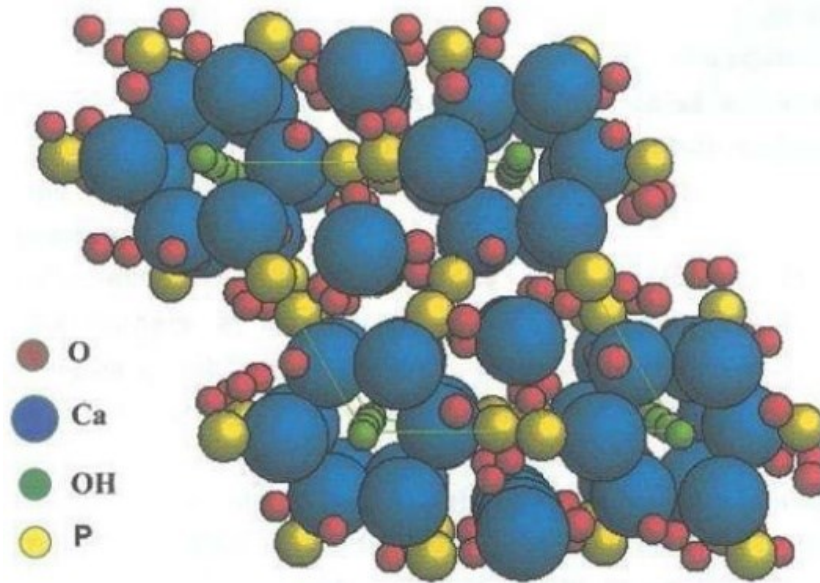
Quadro 1 - Classificação das biocerâmicas e exemplos de aplicações

Tipo de biocerâmica	Interações com os tecidos	Exemplos
Inertes	Alta propriedade mecânica Não há interações biológicas nem químicas	Alumina
Porosas	Ocorre crescimento interno do tecido através dos poros	Aluminatos porosos e HAP
Bioativas	Ocorre forte ligação na interface osso-implante	Biovidros, HAP e vitrocerâmica
Reabsorvíveis	As cerâmicas são degradadas e substituídas pelos tecidos	Fosfato tricálcico

Fonte: Corrêa (2015)

A HAP é comumente utilizada em cirurgias ortopédicas e odontológicas para preenchimento ou coberturas superficiais, devido à sua bioatividade (PIRES *et al.*, 2015). A HAP possui uma estrutura química composta pelos elementos: O, Ca, OH e P. Essa estrutura está disposta na Figura 2.

Figura 2 - Estrutura química da hidroxiapatita



Fonte: Corrêa (2015)

2.1.1.2 Biomateriais poliméricos

Os biomateriais poliméricos têm como diferencial sua flexibilidade e biodegradação, os quais são capazes de gerar produtos atóxicos, atrelado a isso a ampla variedade de arranjos estruturais são uma vantagem para esta classe de biomateriais, tornando-os ainda mais versáteis em sua utilização (CALISTER; RETHWISCH, 2016).

Os polímeros podem ser divididos em sintéticos e naturais. Os sintéticos trazem com siglo boas propriedades funcionais, entretanto ainda podem liberar subprodutos tóxicos durante a sua degradação. Já os naturais, por sua vez, são abundantes, biocompatíveis e o mais importante, não tóxicos. São utilizados amplamente em tratamentos de feridas por possuir semelhança com o organismo, visto que são sintetizados no crescimento do organismo vivo (BERNARDO, *et al.* 2021).

O início da industrialização dos polímeros foi marcado pelo domínio da tecnologia de vulcanização da borracha natural. A borracha natural, apesar de ser menos abundante do que a celulose, foi de muita importância naquele começo, devido às suas propriedades e especificidades. Naquela época não havia uma estrutura sólida para o estudo dos polímeros, ou seja, o que se sabia sobre o assunto ainda era muito vago e escasso. As macromoléculas dos polímeros necessitavam de técnicas e

caracterizações que só surgiram anos mais tarde, como ultracentrifugação e viscosimetria de soluções. Essas técnicas conseguiram elucidar, mesmo que anos depois, o vago conhecimento que se tinha sobre polímeros. Tornando-o um material com amplas aplicações no mercado (HAGE, 1998).

No Quadro 2 consta alguns exemplos de aplicações de polímeros como biomaterial.

Quadro 2 – Aplicações de polímeros na Odontologia

Polímero	Aplicação
Polimetil metacrilato (PMMA)	Confecção de dentes e próteses artificiais; aparelhos ortodônticos
Polietileno poroso (PP)	Cirurgias faciais
Bisfenol Glicidil Metacrilato (Bis-GMA)	Odontologia restauradora; adesivos dentinários
Copolímeros de ácido poli-L-lático (PLLA) e o ácido poliglicólico (PGA)	Cirurgias de fixação óssea

Fonte: Adaptado de Sinhoreti et al. (2013)

2.1.1.3 Biomateriais compósitos

Durante a segunda metade do século XX, fez-se necessário a criação de uma nova classe de materiais, os compósitos. Essa nova classe trouxe a fabricação de compósitos multifásicos, os quais possuem fibras de vidro em sua estrutura.

Os materiais compósitos podem ser entendidos como aqueles materiais cuja sua formação se dá por dois ou mais componentes, os quais possuem diferenças em suas composições, propriedades e estruturas. A separação destes componentes é através de uma interface, a qual está ativa e permite uma transferência de esforços mecânicos que obtenham o desempenho satisfatório. O principal objetivo dos compósitos é a possibilidade de construí-lo através de combinações de materiais diferentes com a finalidade de produzir um dispositivo só que terá melhores propriedades que os demais componentes (FERREIRA, 2017).

Por ser a combinação de dois ou mais componentes, os materiais compósitos podem ser divididos em duas outras partes distintas, a matriz e o reforço. A matriz é definida como aquela que concede ao compósito sua estrutura, geralmente utilizando-se de suas propriedades mecânicas. Por esse motivo, normalmente emprega-se metais e polímeros para esse propósito. Já o reforço é responsável por aperfeiçoar as propriedades físicas e químicas do compósito, sendo que as cerâmicas possuem

propriedades como biocompatibilidade e porosidade favoráveis ao uso médico (CAPANEMA, 2014).

Uma das justificativas para se desenvolver compósitos poliméricos é por não estarem sujeitos à corrosão e a liberação de íons, fato este que foi observado nos metais. Neste caso, a matriz do biomaterial composto é um metal que, devido a presença do meio orgânico, tende a liberar íons no organismo hospedeiro, tal ocorrência pode ser barrada com a construção de uma camada polimérica sobre a peça, fazendo com que não ocorra a liberação de íons metálicos, diminuindo assim a toxicidade do componente e aumentando sua vida útil (SOUZA, 2012).

2.1.1.4 Biomateriais metálicos

Os metais são o tipo de biomaterial mais utilizados quando se trata de aplicações médicas. Essas aplicações podem variar de um simples reparo com utilização de parafusos e fios até reparos ou substituições utilizando placas para fixação no caso de uma fratura grave. Em relação a substituições existem próteses que são capazes de substituir totalmente algumas articulações em quadris, tornozelos, ombros, entre outros (LANDUCI, 2016).

Levando em conta as diversas naturezas de um biomaterial, o que traz destaque aos metais é que eles possuem características como: alta resistência à fadiga a qual resulta em um desempenho mecânico elevado (SCHMITT; ALVES; CARGNELUTTI; PANSARD, 2021).

Os metais, com suas características de alto desempenho mecânico têm sido um biomaterial muito utilizado na busca de componentes estruturais que visam uma substituição ou reparo, os quais exigem uma carga alta de tração (SILVA, 2017).

No Quadro 3 é descrito aplicações para algumas ligas metálicas que são utilizadas como biomaterial.

Quadro 3 – Aplicação de biomateriais metálicos na Odontologia

Biomateriais metálicos	Aplicação
Titânio CP, ligas à base de titânio, ligas de cobalto-cromo, ligas de níquel-cromo, ligas à base de prata, ligas de ouro, aço inoxidável	Próteses unitárias, próteses parciais, removíveis, aparelhos ortodônticos, núcleos metálicos, implantes, fixação óssea em cirurgias bucomaxilofaciais

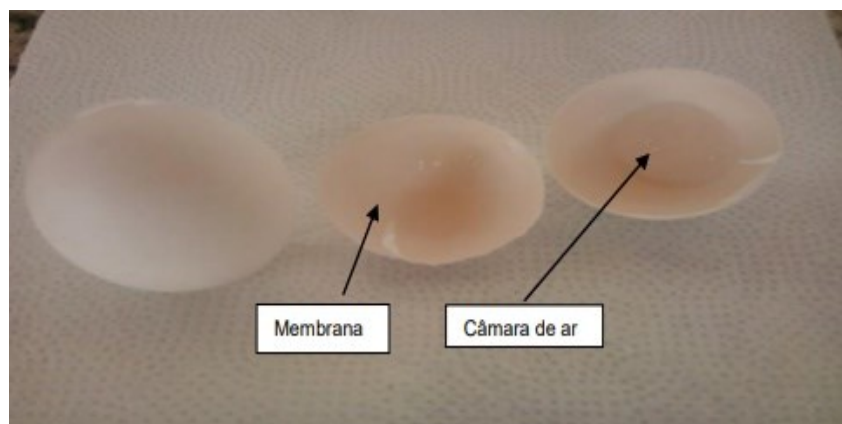
Fonte: Adaptado de Sinhoreti (2013)

2.2 Casca de ovo galináceo

Para o presente trabalho foi utilizada como matéria-prima a casca de ovo galináceo (COG), a qual contém sais minerais em abundância, o que a torna uma matéria-prima com vasta utilização na indústria cosmética e alimentar, bases para biocerâmicas, implantes (ósseo e dentário), agentes fertilizantes, entre outros. A camada calcária é constituída de fibras proteicas, contendo cristais de carbonato de cálcio, fosfato de cálcio e carbonato de magnésio. O maior constituinte da COG é o carbonato de cálcio, o qual é um tipo de cristal hexagonal que se encontra em forma de calcita (NEVES, 1998).

A utilização da COG como fonte natural possui fatores bem interessantes e positivos. O Brasil gera uma grande quantidade de resíduo sólido, sendo que a casca de ovo é um dos materiais mais descartados no país, com cerca de 172.000 toneladas por ano (DIAS *et al.*, 2021). O destino final deste material é caro, sendo assim sua reutilização seria uma opção para diminuir a quantidade de descarte desse resíduo. Além de possibilitar o controle da poluição quanto ao descarte em relação ao meio ambiente, a reutilização deste material se destaca como uma fonte alternativa para diminuir o impacto sobre as reservas de rochas calcárias, o qual é uma fonte natural não renovável. O resíduo de cascas de ovo é equivalente a 10% do peso total do ovo, estima-se que, por ano, 7,2 milhões de toneladas desse resíduo são descartados de maneira incorreta no mundo (CARDOSO, 2017). Na Figura 3 é demonstrada a COG, sua membrana e câmara de ar.

Figura 3 - Repartição da casca de ovo galináceo



Fonte: Corrêa (2015)

Para a obtenção do fosfato de cálcio é necessário seguir um protocolo para que se alcance o objetivo. Foram feitas diversas pesquisas a fim de entender a metodologia desses protocolos. Estas pesquisas serão descritas a seguir baseadas em dois experimentos da literatura, como no trabalho de Corrêa (2015) e Caliman (2017). No trabalho foi possível analisar a metodologia do protocolo utilizado, cujo objetivo foi a síntese e caracterização do biocimento através do fosfato de cálcio que foi obtido do CaCO_3 presente no resíduo da casca de ovo galináceo através da utilização do ataque ácido, por via úmida, utilizando o ácido nítrico (HNO_3) e o fosfato de sódio dibásico (Na_2HPO_4).

Outro protocolo pesquisado foi o de precipitação por via úmida para sintetizar os fosfatos utilizando a casca de ovo de avestruz como matéria-prima, esse protocolo está descrito no trabalho de Caliman (2017). A precipitação química por via úmida utilizada no trabalho visando a síntese de HAP ocorre através de uma reação ácido-base.

Além das pesquisas citadas anteriormente, há também outros métodos para obtenção do fosfato de cálcio que não utilizam cascas como, por exemplo, no trabalho de Fernandes (2001) em que utiliza algas calcáreas como matéria-prima para a síntese e caracterização de biomateriais de fosfato de cálcio. Nesse caso, os reagentes utilizados são cloreto de cálcio, nitrato de cálcio, nitrato de prata, hidróxido de cálcio, hidróxido de sódio, hidróxido de amônio e fluoreto de amônia, os quais são empregados por duas vias sintéticas: via úmida e via hidrotérmica.

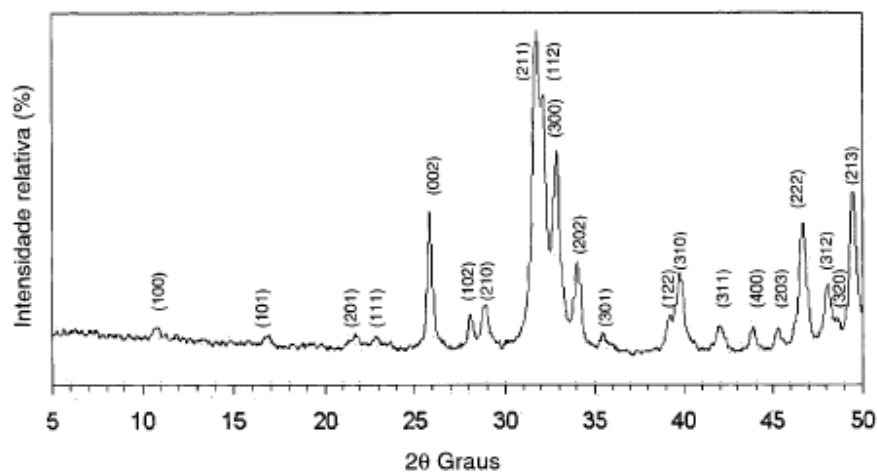
O método da precipitação também pode ser realizado através de precursores de cálcio e fósforo, controlando pH da solução e a temperatura. Santos *et al.* (2005) utilizou o processo sol-gel para síntese de HAP. Um método químico via úmida que não necessita temperaturas muito altas e dispensa utilização de alto vácuo. Na pesquisa foi estudado a utilização de precursores alternativos, economicamente viáveis, para obtenção de HAP, como ácido fosfórico (H_3PO_4) e nitrato de cálcio ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) em metanol.

2.3 Caracterização

Uma das técnicas de caracterização comumente utilizadas é a difração de raios X (DRX), a qual se constitui uma técnica importante para a identificação de materiais, onde é possível avaliar as fases cristalinas que estão presentes na amostra a ser analisada. Para o presente trabalho, foi utilizado como referência a figura de difração de raios X da HAP pura sintetizada pelo método de co-precipitação, onde os planos foram indexados de acordo com carta cristalográfica JCPDS 09-0432, com radiação ($\text{CuK}\alpha$), a qual descreve a cristalinidade da HAP padrão e os compara com os produtos obtidos a fim de encontrar informações quanto ao grau de cristalinidade do mesmo (OLIVEIRA, 2009).

A figura de difração de raio X de HAP comercial que usa a radiação $\text{CuK}\alpha$ está destacada na Figura 4.

Figura 4 – Figura de difração de raios X de HAP comercial

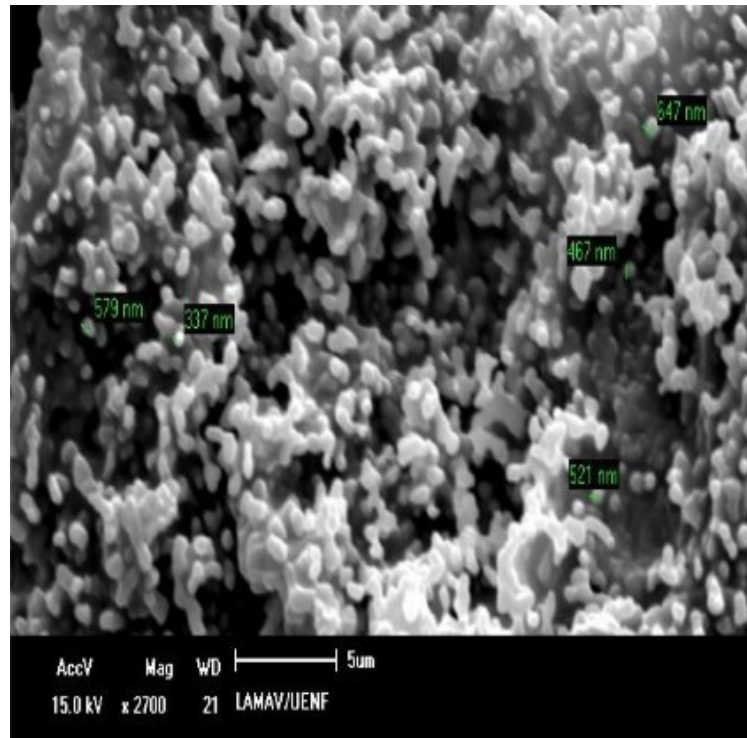


Fonte: Fernandes, 2001

A segunda técnica utilizada para caracterização é a Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), onde é possível obter informações da composição de uma amostra através da captação pelos seus detectores. O MEV tem seu potencial ainda mais desenvolvido com a adaptação na câmara da amostra de detectores de raios X permitindo a realização de análise química. Este procedimento facilita a identificação de precipitados e mesmo de variações de composição química dentro de um grão. Atualmente quase todos os MEV são equipados com detectores de raios X, sendo que devido a confiabilidade e principalmente devido a facilidade de operação, a grande maioria faz uso do detector de dispersão de energia (EDS).

Em um dos protocolos utilizados como referência, na caracterização por raios X e MEV/EDS, as imagens do pó obtido através da síntese por via úmida foram características do pó de fosfato tricálcico do tipo beta, ou seja, β -TCP, o qual apresentou uma morfologia aglomerada de partículas arredondadas com tamanhos variados entre 337 nm a 647 nm, conforme a Figura 5 (CORREA, 2015).

Figura 5 - Micrografia do pó de β -TCP obtida por MEV

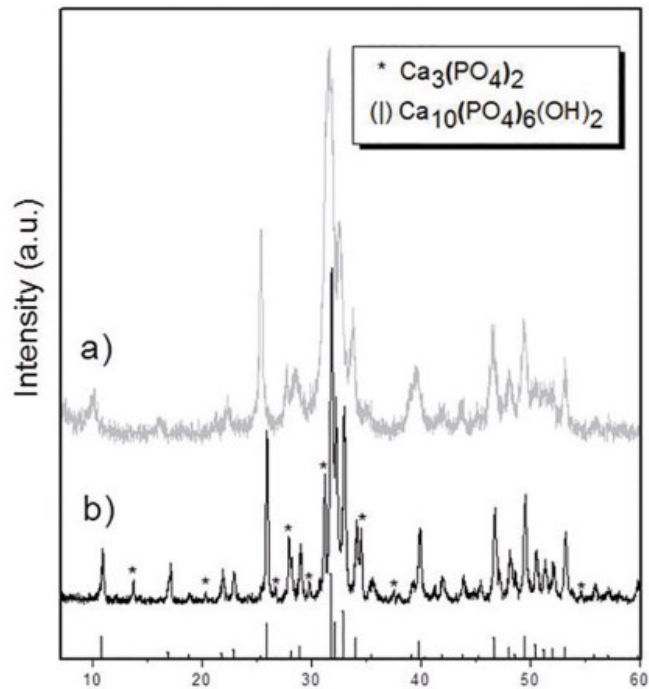


Fonte: Corrêa (2015)

O pó bifásico obtido no experimento do trabalho de Corrêa (2015) tem potencial importância para aplicações biomédicas que combinam com os diferentes comportamentos desses materiais quando entram em contato com o tecido orgânico. Especificamente, a HAP e o β -TCP fazem parte dos principais constituintes de um material biomédico amplamente utilizado chamado fosfato de cálcio bifásico (BCP).

No trabalho de Caliman (2017) cuja matéria-prima foram cascas de ovo de avestruz, através da síntese via úmida foi possível realizar a caracterização do pó obtido através do DRX representado na Figura 6.

Figura 6 - Micrografia do pó de β -TCP

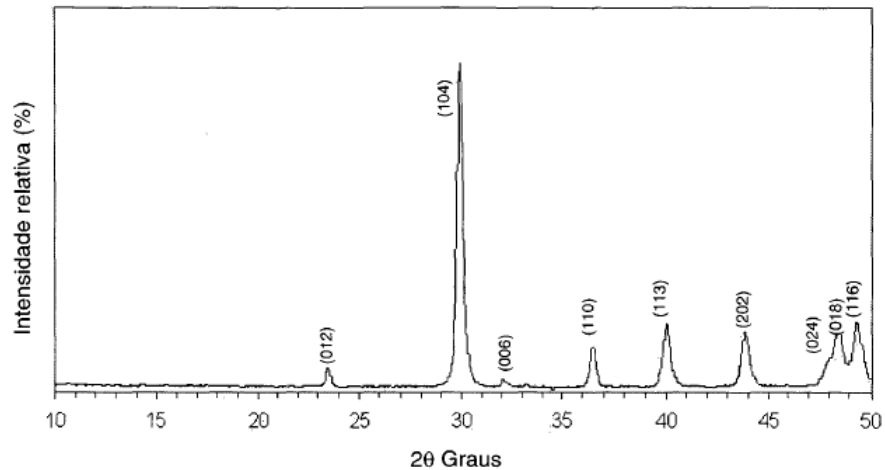


Fonte: Caliman (2017)

Analisando o DRX obtido no experimento de Caliman (2017) duas principais diferenças foram notadas pós a calcinação em b): aumento da cristalinidade (onde os picos se tornaram mais longos e mais finos), e uma aparição de segunda fase que foi identificada como fosfato tricálcico β (β -TCP). Esse aparecimento indica que o precipitado do pó era uma hidroxiapatita deficiente em cálcio (d-HAP). A obtenção de uma hidroxiapatita deficiente em cálcio é uma característica comum da precipitação química por via úmida mesmo que tudo ocorra em condições ideais.

A obtenção de biomaterial através de algas calcáreas no trabalho de Fernandes (2001) citado anteriormente foi satisfatório, o carbonato de cálcio (CaCO_3) presente nas algas, demonstrado na Figura 7, foi capaz de sintetizar a HAP originando a HAP carbonatada do tipo B, tanto para a síntese via úmida quanto para a hidrotérmica foram obtidos resultados condizentes com o que era esperado pelo autor.

Figura 7 - Figura de difração de raios X do CaCO_3 extraído de algas calcárias

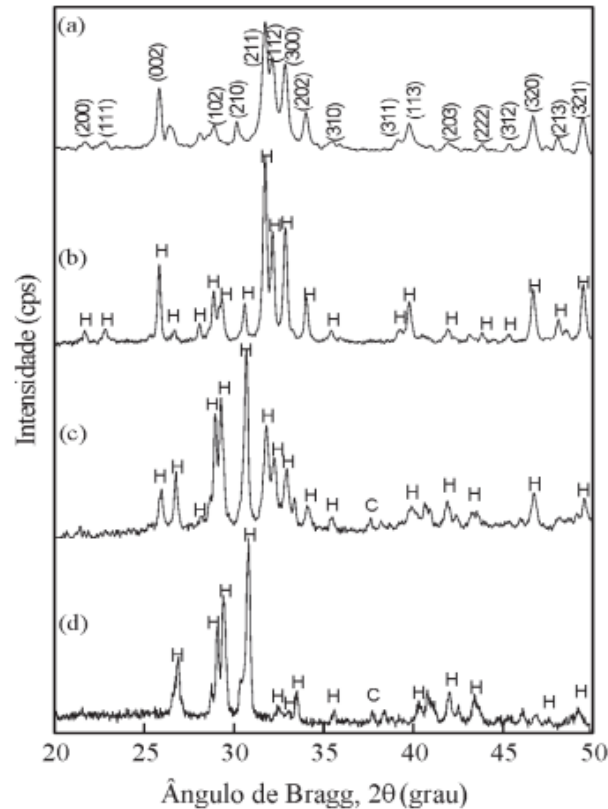


Fonte: Fernandes (2001)

O DRX demonstra os picos de CaCO_3 que foram extraídos das algas, o autor descreve que através do resultado do DRX foi possível compará-lo ao da calcita, cuja base é hexagonal, o que a torna extremamente importante para a obtenção de HAP visto que ela também possui sua base hexagonal. Através da via hidrotérmica, a formação da HAP ocorre por substituição iônica, sendo assim a célula unitária do CaCO_3 extraído das algas pode favorecer muito as trocas iônicas, obtendo assim o seu biomaterial (Fernandes, 2001).

A pesquisa de Santos *et al.* (2005) mostrou eficiência na obtenção da HAP através do método sol-gel. Na Figura 8 é apresentado as figuras de difração de raios X obtidos do pó precursor tratado termicamente em três temperaturas (b, c, d) e comparados com um HAP comercial (a).

Figura 8 – Figura de difração de raios X dos pós de HAP



**Nota: (a) HAP comercial, (b) 700°C, (c) 500°C e (d) 300°C
Fonte: Santos *et al.* (2005)**

Na Figura acima é demonstrado os resultados do tratamento térmico. O pó tratado a 300°C mostra a presença de CaO e alguns picos de HAP, mas com caráter amorfo. Em 500°C a HAP começou a ser mais cristalina e após o tratamento de 700°C, o pó tornou-se bem cristalino, alcançando alta similaridade com a hidroxiapatita comercial (Santos *et al.*, 2005).

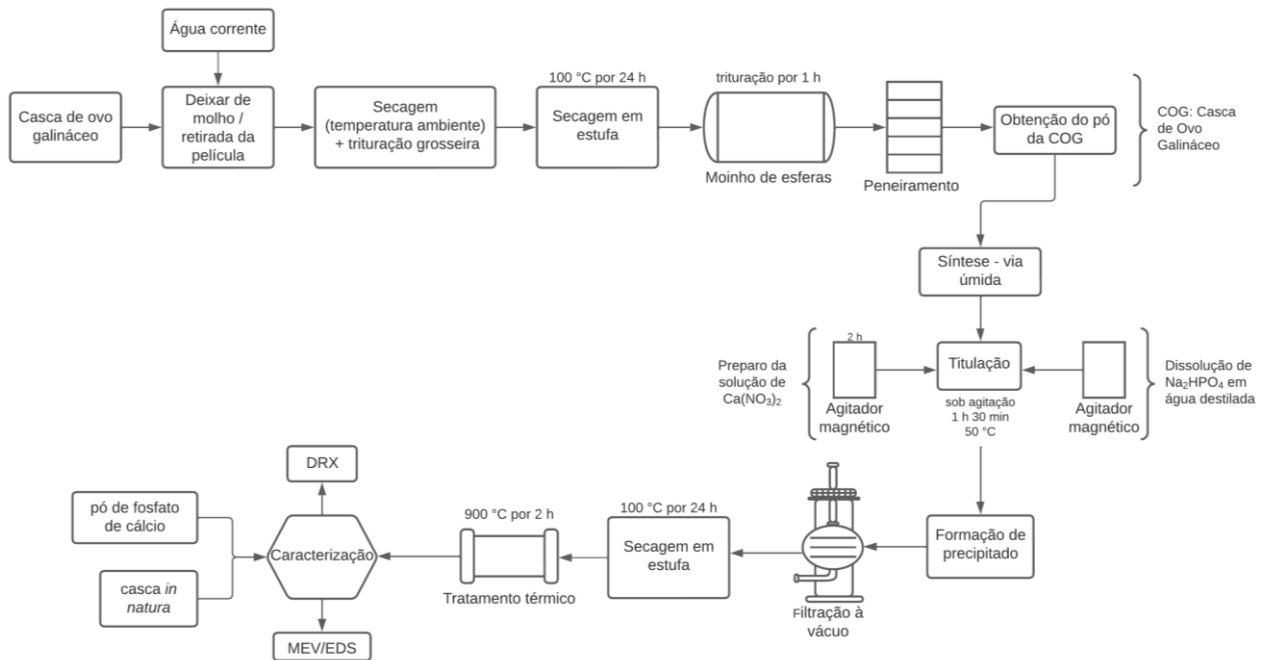
Segundo o autor, pode-se confirmar a eficácia do tratamento térmico em transformar a fase amorfa em fase cristalina. Ele também conclui que os precursores selecionados são adequados na obtenção da hidroxiapatita.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Após o estudo dos protocolos da revisão bibliográfica, foi possível a estruturação de uma metodologia para o desenvolvimento prático do trabalho proposto. Ao final da análise desses protocolos estudados, a matéria-prima escolhida foi a casca de ovo galináceo (COG), por ter em sua estrutura uma camada de cálcio a qual constitui-se de uma rede formada por fibras proteicas que inclui o fosfato de cálcio e os cristais de carbonato de cálcio que serão extremamente importantes do ponto de vista da biocompatibilidade. Além disso, o baixo custo da COG em relação a outras matérias primas também foi um fator relevante, afinal as COG estão presentes no dia a dia de muitas pessoas, as quais acabam descartando essas cascas sem nenhum fim produtivo. Sendo assim, as COG podem ser utilizadas de forma a contribuir ao descarte adequado e à linha de pesquisa deste presente trabalho.

Para um melhor entendimento da metodologia foi construído um fluxograma em que constam as etapas seguidas durante o protocolo. Esse fluxograma está descrito na Figura 9.

Figura 9 – Fluxograma do protocolo utilizado



Fonte: Autoria própria (2022)

3.1 Protocolo

3.1.1 Casca de ovo galináceo

Após arrecadar uma quantidade relevante de cascas de ovos galináceos (brancos), as cascas foram lavadas e deixadas de molho em água quente para a retirada da película, por aproximadamente 30 min. Após esse tempo, retirou-se a película dessas cascas conforme demonstrado na Fotografia 1.

Fotografia 1 - Retirada da película presente nas cascas de ovo



Fonte: Aatoria própria (2022)

Ao finalizar a retirada da película, as cascas foram para a etapa de secagem em uma forma (temperatura ambiente) e em sequência, foi feita uma trituração mais grosseira das mesmas, demonstrada na Fotografia 2.

Fotografia 2 - Quebra das cascas de ovo



Fonte: Aatoria própria (2022)

Após a quebra das cascas em tamanhos menores, seguiu-se para a etapa de secagem em estufa, na qual as cascas foram colocadas em uma forma e permaneceram por 24h à 100° C na estufa, com circulação e renovação de ar, modelo SL102, do Laboratório 003 - bloco H da UTFPR-PG.

Seguindo o protocolo, após 24h de secagem, as cascas foram retiradas da estufa e levadas para a trituração em um moinho de esferas presente no Laboratório de Ensaio Destrutivos no Bloco J1 da UTFPR-PG. Esse moinho contém esferas que são eficientes para o tipo e necessidade de moagem rápida que podem ser em lotes com tamanho de partículas mais finas. O moinho utilizado para a trituração das cascas está representado na Fotografia 3.

Fotografia 3 - Moinho de esferas para trituração das cascas de ovo



Fonte: Autoria própria (2022)

Ao colocar as cascas dentro do moinho de esferas iniciou-se o processo junto aos cilindros que causam impactos e fricção através das esferas de moagem para com a parede interior do vaso de moagem. O processo de moagem levou cerca de 1h. Segue abaixo a representação desse processo na Fotografia 4 até a obtenção do pó da COG.

Fotografia 4 - Trituração das cascas de ovo



Fonte: Autoria própria (2022)

A próxima etapa realizada, foi o peneiramento do pó da COG. Para essa etapa foi necessário a utilização da peneira para análise granulométrica, modelo Vibrotech CT-025, da marca SERVITECH, a qual está representada na Fotografia 5.

Fotografia 5 - Peneira Granulométrica Vibrotech CT-025



Fonte: Autoria própria (2022)

Esse tipo de equipamento nos mostra através de seis peneiras em coluna, qual a granulometria correspondente do pó obtido, para essa análise basta observar durante o procedimento em qual das seis peneiras concentrou-se a maior massa. No

experimento em questão a maior concentração do pó obtido da casca de ovo foi na peneira de 200 mesh. Na Fotografia 6 é representado o pó após a utilização da peneira granulométrica.

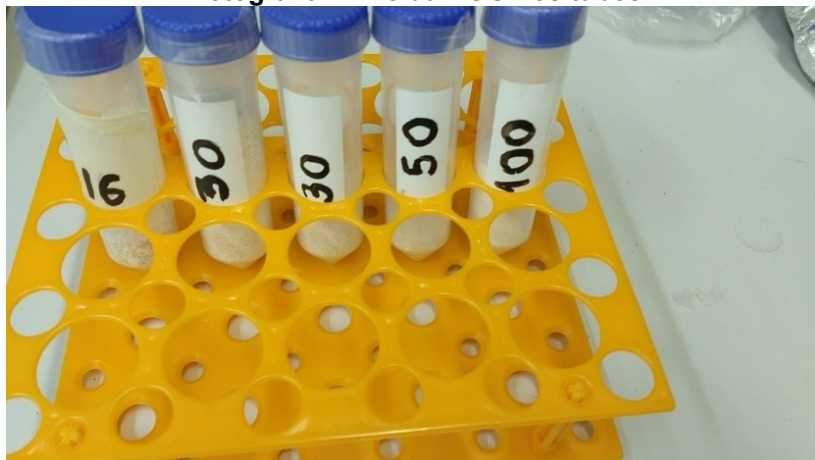
Fotografia 6 - Pó da COG na peneira de 200 mesh



Fonte: A autoria própria (2022)

O pó retido em cada peneira foi colocado em tubos de ensaio com identificação conforme demonstrado na Fotografia 7. Antecipadamente a isso, foi feita uma pesagem dos tubos vazios para realizar uma média do peso dos tubos. Após transferir o pó de COG para os tubos, realizou-se uma nova pesagem para que ao final fosse possível tirar o peso do tubo e obter somente o valor da massa do pó de COG que ficou retido em cada peneira.

Fotografia 7 - Pó da COG nos tubos



Fonte: A autoria própria (2022)

Com o valor da massa foi possível construir um quadro no qual constam as massas de casca retida em cada peneira identificadas pelo mesh e pelo tamanho de abertura das peneiras em milímetros. Segue representação no Quadro 4.

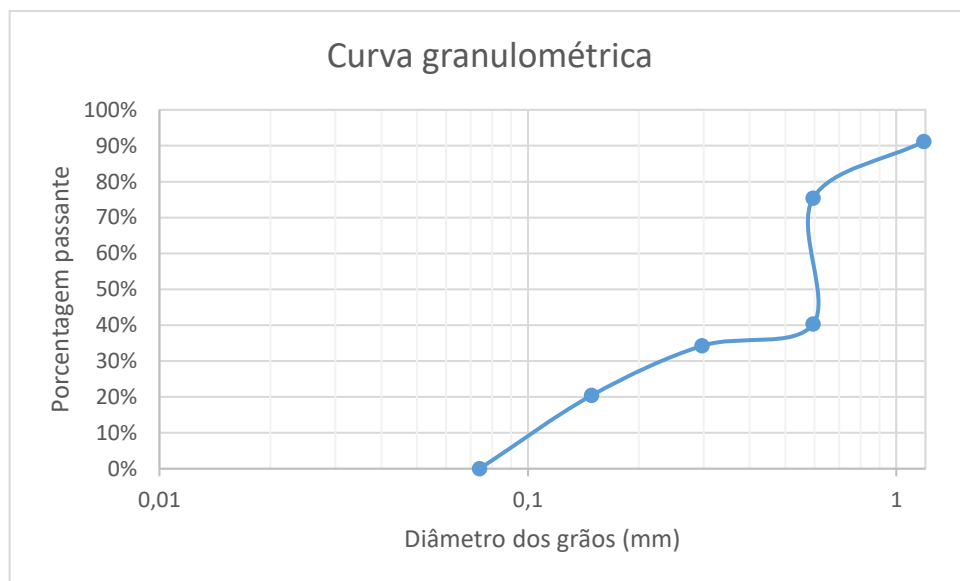
Quadro 4 – Massas das cascas de ovo

Mesh	Abertura da peneira (mm)	Massa de casca retida em cada peneira (g)	Percentual de casca retida em cada peneira (%)	Percentual retido acumulado (%)	Porcentagem que passa na peneira (%)
16	1,190	12,63	8,79%	8,79%	91,21%
30	0,595	22,66	15,77%	24,56%	75,44%
30	0,595	50,47	35,12%	59,69%	40,31%
50	0,297	8,73	6,08%	65,76%	34,24%
100	0,149	19,84	13,81%	79,57%	20,43%
200	0,074	29,35	20,43%	100,00%	0,00%

Fonte: Autoria própria (2022)

Através das porcentagens de casca retida nas peneiras cuja granulometria está descrita no quadro acima, foi possível obter um gráfico com a curva granulométrica. Esse gráfico está representado no Gráfico 1.

Gráfico 1 - Curva granulométrica

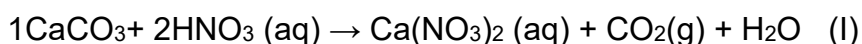


Fonte: Autoria própria, 2022.

Para a etapa de precipitação utilizou-se apenas o pó obtido (29,35 g) com granulometria de 200 mesh.

3.1.2 Precipitação por via úmida

As matérias-primas utilizadas para a precipitação foram o pó da COG e os reagentes HNO₃ (ácido nítrico) 65% e Na₂HPO₄ (fosfato dissódico) 99%. Foi utilizada também a solução de Ca(NO₃)₂ a qual foi preparada a partir do HNO₃ 1M com o pó da COG obtido na trituração. Foram feitos cálculos para determinar a quantidade de matéria-prima do pó de COG bem como a quantidade de reagentes. Para esses cálculos foi utilizado a estequiometria oriunda da reação de Ca(NO₃)₂ com HNO₃ 1M. O balanço estequiométrico está representado a seguir:



Para determinar a quantidade da solução de Ca(NO₃)₂ e Na₂HPO₄ a serem utilizados foi feito o balanço estequiométrico da reação demonstrada abaixo:

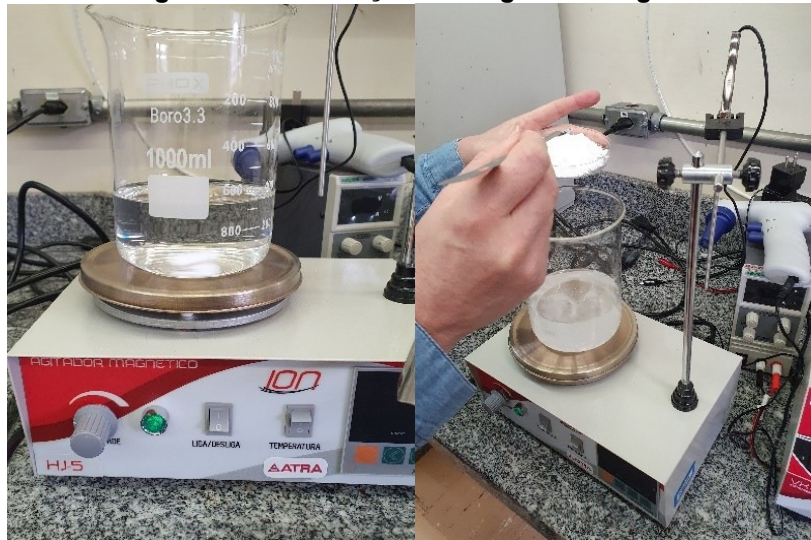


A reação química do Ca(NO₃)₂ com o Na₂HPO₄ seguiu a relação estequiométrica 1:1; assim sendo, conforme a massa molar de cada composto, para cada 22 g de Ca(NO₃)₂ são necessários 19,04 g de Na₂HPO₄. Partindo dessa relação de estequiometria foi feita a pesagem de 19,04 g de Na₂HPO₄ em uma balança analítica para posterior dissolução em água destilada.

3.1.2.1 Dissolução de Na₂HPO₄ em água destilada

O Na₂HPO₄ após pesagem foi dissolvido em 314 mL de água destilada, essa dissolução ocorreu através de agitador magnético que está representado na Fotografia 8.

Fotografia 8 - Dissolução com agitador magnético



Fonte: Autoria própria (2022)

3.1.2.2 Preparo da solução de HNO₃

Após a dissolução, o preparado de Na₂HPO₄ dissolvido em água foi armazenado para ser utilizado posteriormente na titulação.

Dando sequência ao protocolo, iniciou-se o preparo da solução de 500 mL de HNO₃ 1M. Para isso, foi necessário 32,31 mL de HNO₃ com 65% P.A. que foram inseridos com o auxílio de uma pipeta em um béquer com 467,69 mL de água destilada. Após isso, foi colocada a solução de 500 mL de HNO₃ 1M preparada em agitador magnético e lentamente foi acrescentado o pó de COG. Segue na Fotografia 9 a representação desse processo.

Fotografia 9 - Preparo da solução (Ca(NO₃)₂)



Fonte: Autoria própria (2022)

3.1.2.3 Agitador magnético em constante agitação

É notório que, ao iniciar a inserção do pó de COG na solução, surgiu muita espuma, ou seja, o agitador magnético não estava sendo o suficiente. Dito isto, foi utilizado um bastão de vidro para auxiliar na agitação, mexendo constantemente. Seguindo o protocolo, essa reação permaneceu sob agitação constante cerca de 2h para que fosse possível a digestão completa do pó de COG.

Seguindo o critério da massa molar dos compostos que estavam presentes, para 22 g de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ foi utilizado 19,04 g de Na_2HPO_4 . Para tal, foi necessário 268,29 mL da solução preparada de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ para que fosse realizada a reação mantendo a estequiometria 1:1.

3.1.2.4 Titulação com o preparado de Na_2HPO_4 na solução $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$

No béquer da solução preparada de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (268,29 mL) foi adicionado gota a gota as 19,04 g de Na_2HPO_4 dissolvido. Essa etapa chamada titulação esta demonstrada na Fotografia 10.

Fotografia 10 - Titulação com Na_2HPO_4



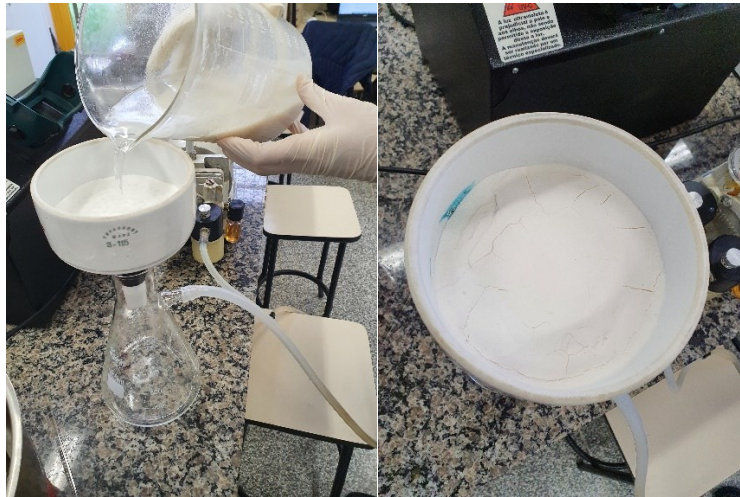
Fonte: Autoria própria (2022)

Essa reação foi realizada com agitação constante através de um agitador magnético mantendo o aquecimento de 50 °C. Todo o processo de precipitação por gotejamento durou 1h 30 min, sem controle de pH.

3.1.2.5 Filtração à vácuo

A solução obtida após a precipitação foi levada para a filtração à vácuo e durante o processo foi acrescentado água destilada para a lavagem. Segue a sequência de imagens demonstrando a etapa de filtração na Fotografia 11.

Fotografia 11 - Filtração a vácuo do precipitado

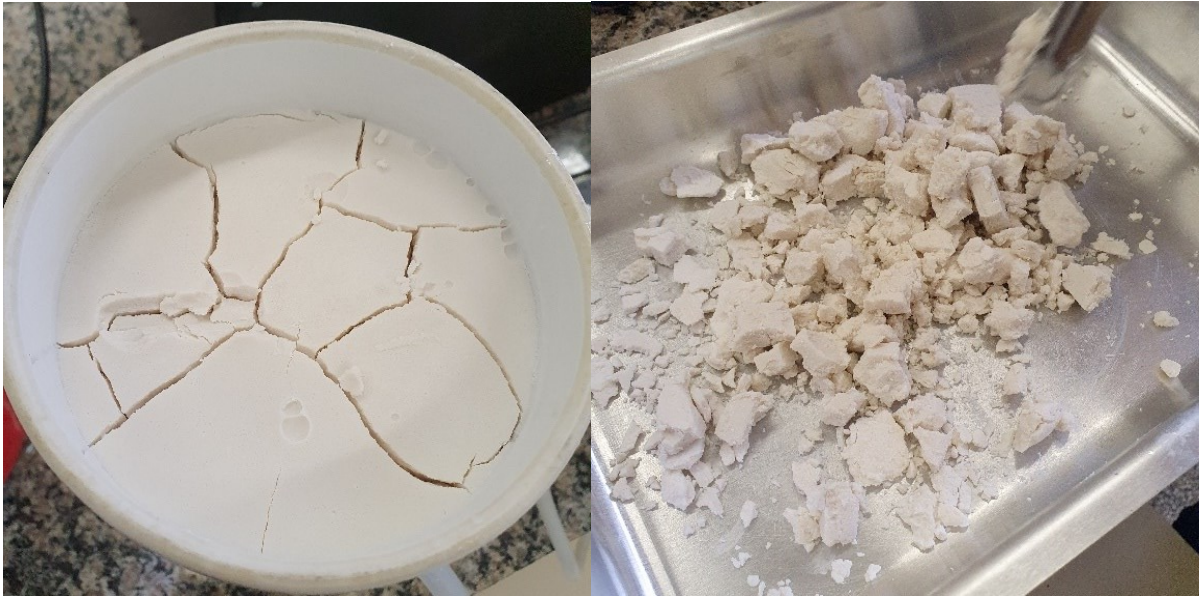


Fonte: Autoria própria (2022)

3.1.2.6 Secagem da massa branca em estufa

Após a filtração, obteve-se um tipo de massa na cor branca que seguiu para a secagem em estufa a 100 °C por 24h, até que se retirasse toda a umidade conforme a Fotografia 12.

Fotografia 12 - Massa branca após filtração à vácuo



Fonte: Autoria própria (2022)

Ao finalizar a secagem, a massa se transformou em um pó branco, o qual foi separado em duas partes conforme a Fotografia 13.

Fotografia 13 - Pó branco obtido após secagem em estufa



Fonte: Autoria própria (2022)

3.1.2.7 Tratamento térmico (calcinação à 900 °C)

Foi selecionado um cadinho para ir ao forno para o tratamento térmico. O forno utilizado foi da marca Quimis, do Laboratório de Química Analítica C003, bloco C da UTFPR-PG.

Seguindo o protocolo, a amostra foi calcinada a 900 °C com um acréscimo de temperatura em forma de rampa, o aquecimento saiu da temperatura ambiente até chegar aos 900 °C, levando cerca de 50 min. Após atingir a temperatura desejada permaneceu por 2h em calcinação. Segue na Fotografia 14 a amostra dentro do forno.

Fotografia 14 - Amostra no forno para a calcinação a 900 °C



Fonte: Autoria própria (2022)

A amostra foi mantida na temperatura de 900 °C cerca de 2h e em seguida iniciou o processo de resfriamento do forno até a temperatura ambiente. Ao retirar a amostra de dentro do forno foi necessário garantir o mínimo de umidade possível, para isso utilizou-se um dessecador conforme a imagem abaixo na Fotografia 15.

Fotografia 15 - Amostra na dissecadora



Fonte: A autoria própria (2022)

Esse dessecador possui sílica gel em sua superfície que é um tipo de agente de secagem responsável pela diminuição da umidade do produto. Esse tipo de dessecador só é eficaz após ser selado. Dito isso, após colocar as amostras dentro do dessecador, ele foi selado à vácuo e as amostras foram mantidas até a análise.

3.1.3 Caracterização do pó das amostras obtidas

3.1.3.1 Caracterização por difração de raios X do pó obtido

A análise da estrutura cristalina das amostras foi realizada através da difração de raios X (DRX). As medidas foram realizadas no complexo de laboratórios multiusuários da Universidade Estadual de Ponta Grossa (C-LABMU UEPG), por meio de um difratômetro de raios X, de modelo Ultima IV da marca Rigaku, com análise rasante e varredura contínua. O parâmetro 2θ inicial foi igual a 10 e 2θ final igual a 60, sendo o passo de 0,02 graus, o comprimento de onda de 1,541 nm ($\text{CuK}\alpha$), a voltagem de operação de 40 kV e a corrente de 30 mA.

3.1.3.2 Caracterização por MEV/EDS do pó obtido

A caracterização das amostras para compreender a morfologia e estrutura do material foi realizada utilizando o microscópio eletrônico de varredura, o modelo utilizado foi o Vega 3 da marca TESCAN, o qual está alocado no Laboratório de Preparação Metalográfica da UTFPR-PG. Para as medidas de MEV as amostras foram metalizadas, ou seja, o pó foi colocado sobre *stubs* e uma fina camada de ouro foi depositada sobre as mesmas, tornando-as condutoras.

Para que fosse possível avaliar quais componentes e as quantidades desses componentes foi empregada a espectroscopia de dispersão de energia (EDS). Para isto, foi necessário utilizar o sensor EDS da marca Oxford o qual foi alocado diretamente no Microscópio Eletrônico de Varredura descrito anteriormente.

4 RESULTADOS OBTIDOS

4.1 Obtenção do pó de fosfato de cálcio

Após o protocolo mencionado na metodologia do presente trabalho, obteve-se o pó de fosfato de cálcio. Após dois dias no dessecador, as amostras contendo pó de fosfato de cálcio foram retiradas e pesadas. A amostra calcinada foi pesada e teve um total de 9,73 g.

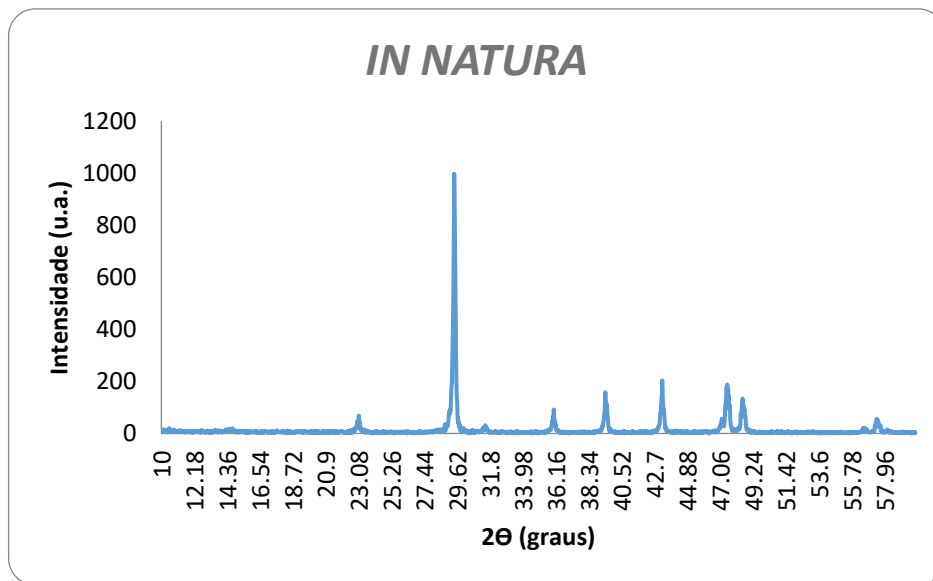
Depois de pesadas e separadas, as amostras calcinadas foram levadas, novamente, para a peneiração na Peneira para Análise Granulométrica Vibrotech CT-025 da marca SERVITECH, na peneira de 200 mesh, a fim de obter-se um resultado melhor na caracterização por MEV.

Uma parte da amostra que passou pela peneiração foi levada ao MEV/EDS conforme dito anteriormente e uma outra parte foi separada para a análise do DRX.

4.2 Caracterização do pó de fosfato de cálcio obtido

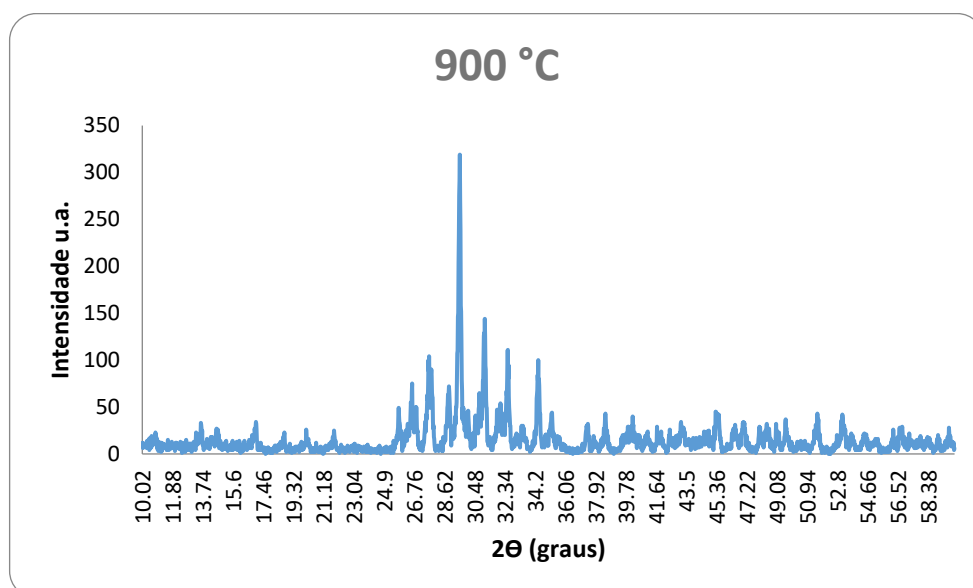
O pó de fosfato de cálcio obtido após a peneiração final, foi para o processo de caracterização por difração de raios X. Juntamente com a amostra do pó final, ocorreu também a caracterização *in natura* do pó de COG, para que fosse possível analisar os gráficos obtidos na amostra *in natura* e na amostra que foi submetida a todo o processo, para que fosse obtido o pó de fosfato de cálcio.

Para a amostra *in natura* foi obtido o Gráfico 2 e para a amostra calcinada a 900 °C o Gráfico 3, respectivamente.

Gráfico 2 - Resultado DRX (amostra *in natura*)

Fonte: Autoria própria (2022)

Gráfico 3 - Resultado DRX (amostra calcinada)



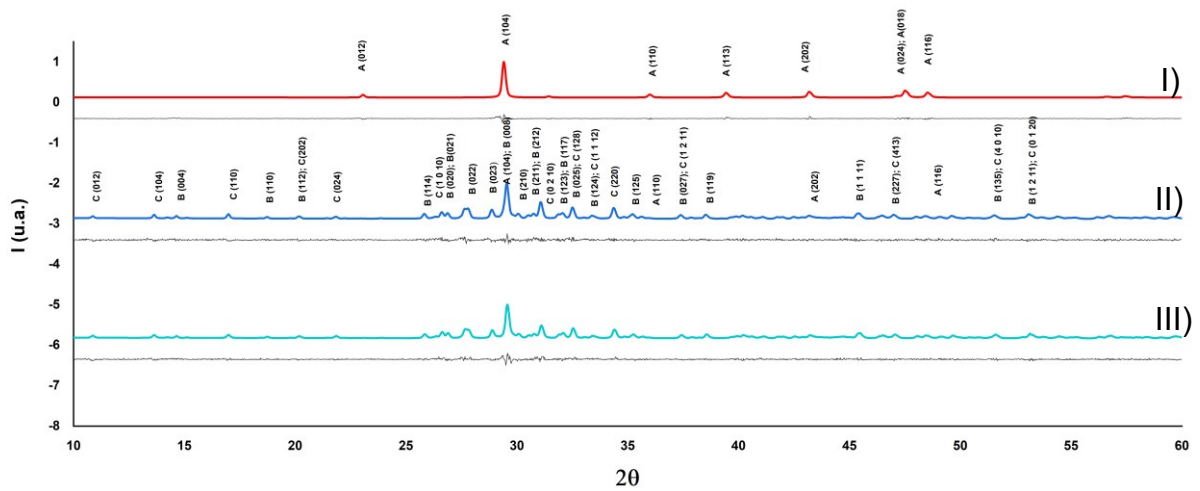
Fonte: Autoria própria (2022)

Para ambos os gráficos foram obtidas fases com formação de cristais, as quais foram identificadas por comparação entre as intensidades e as linhas de pico. Em relação aos picos, foi analisado como base padrão a figura 4 citada no referencial teórico, em que consta a figura de dispersão de raios X de HAP comercial. Essa figura mostra que os picos mais elevados estão entre 30 e 35 graus o que pode se relacionar com o Gráfico 3 da amostra calcinada, em que o pico mais elevado está de acordo com a literatura. Já o Gráfico 2 da amostra *in natura* é notório que o pico mais elevado

está ligeiramente abaixo de 30 graus devido a sua composição rica em carbonato de cálcio (CaCO_3).

Além dos gráficos acima foi realizada uma junção dos resultados de DRX para a amostra *in natura* e a amostra calcinada visando identificar a composição de ambas. Na Figura 10 é retratada esta junção dos gráficos e suas composições.

Figura 10 – Figura de difração de raios X da COG



Nota: (I) *in natura*, (II) biomassa a 900° C e (III) biomassa a 900 °C.
Fonte: Moura et al. (2022)

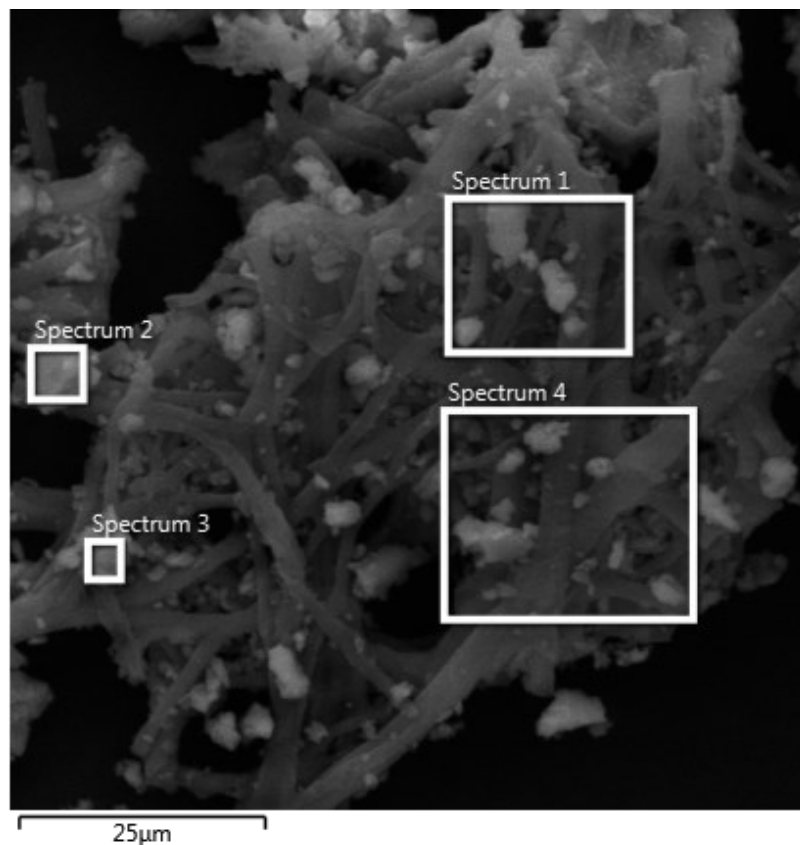
A figura acima mostra a figura de difração de raios X através das amostras, sendo elas: amostra (I) representando a COG *in natura*, amostras (II, III) representando o pó de COG calcinado a 900 °C. É possível observar que para a COG (*in natura* – amostra I) a composição é 100% de CaCO_3 . Já para as amostras (II, III) foram encontrados valores que determinam os seguintes componentes presentes: $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ (62%), $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (35%) e CaCO_3 (3%). Também foi possível através do DRX obter o tamanho dos cristalitos sendo em média 471 nm para a amostra calcinada a 900 °C.

Além do DRX, foram feitas análises no MEV e EDS para identificar a morfologia e mapear os grupos funcionais presentes no pó obtido. As imagens que foram geradas no microscópio se formaram por elétrons secundários e elétrons retroespalhados. Paralelamente utilizou-se um espectrômetro por dispersão de energia (EDS) acoplado ao MEV para quantificar a razão da molaridade Ca/P da

amostra em questão. Tal análise teve a objetividade de verificar a morfologia e a determinação das impurezas que poderiam estar presentes na amostra.

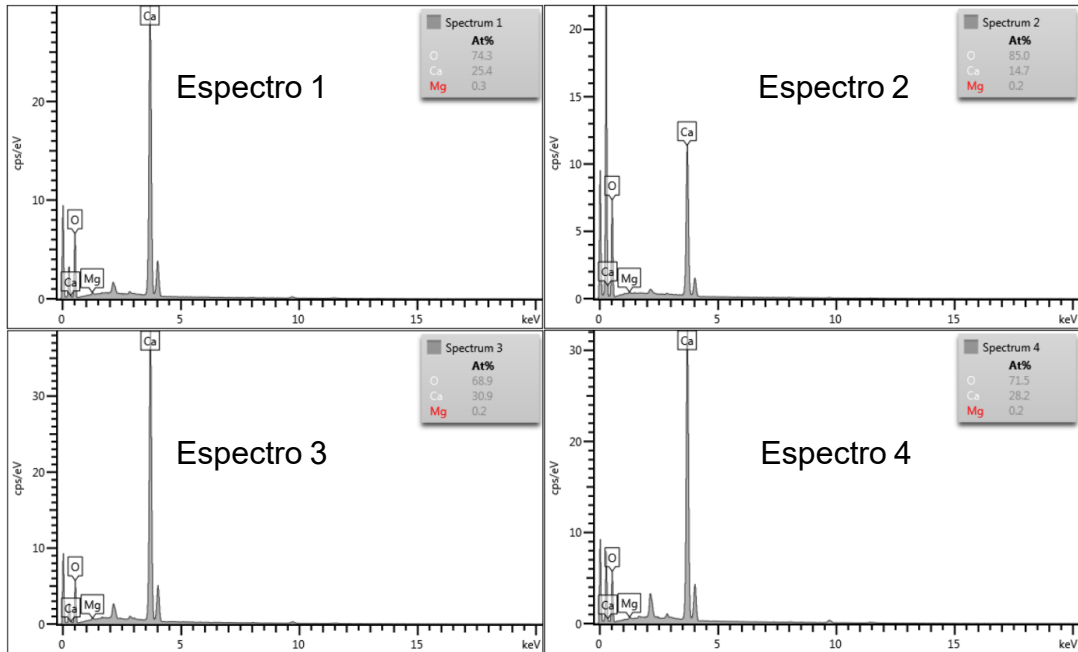
Inicialmente foi feita uma análise do pó de casca de ovo *in natura* para que fosse possível realizar uma comparação após a obtenção do pó de fosfato de cálcio. Nessa análise do MEV foi possível verificar através da imagem abaixo descrita na Figura 11 que os espectros destacam a morfologia aglomerada das partículas micrométricas e por isso, também foi possível analisar as porcentagens de cada elemento presente nesses espectros utilizando o EDS como descrito na Figura 12. O EDS resultou em um gráfico por espectro localizado na imagem do MEV.

Figura 11 - Micrografia do pó (*in natura*)



Fonte: Autoria própria (2022)

Figura 12 - Mapeamento dos grupos funcionais (*in natura*)

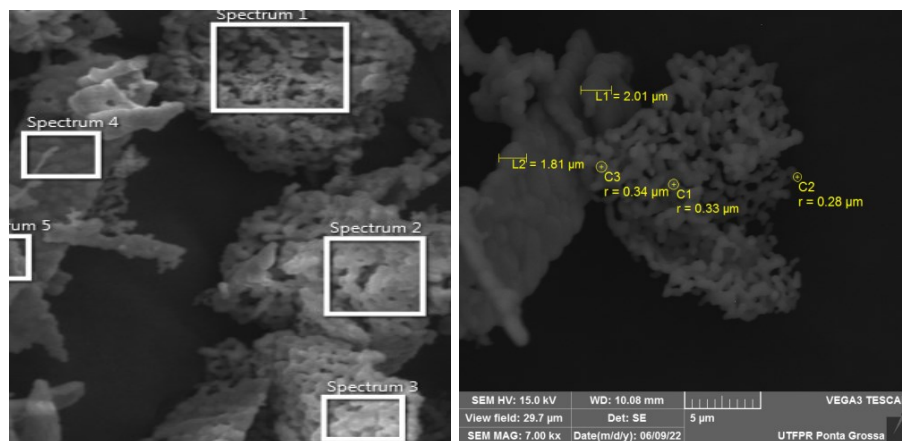


Fonte: Autoria própria (2022)

Em relação ao mapeamento da amostra *in natura* é possível observar três elementos presentes, são eles: oxigênio (O), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) sendo esses elementos a base da casca de ovo galináceo. Destes elementos, o que se deve dar mais atenção para o presente trabalho é o Ca.

Seguindo para a análise dos resultados do MEV e EDS para a amostra calcinada temos a Figura 13, que representa a imagem do MEV, e a Figura 14 que fornece os gráficos dos espectros do EDS com os componentes presentes nas amostras, bem como suas porcentagens.

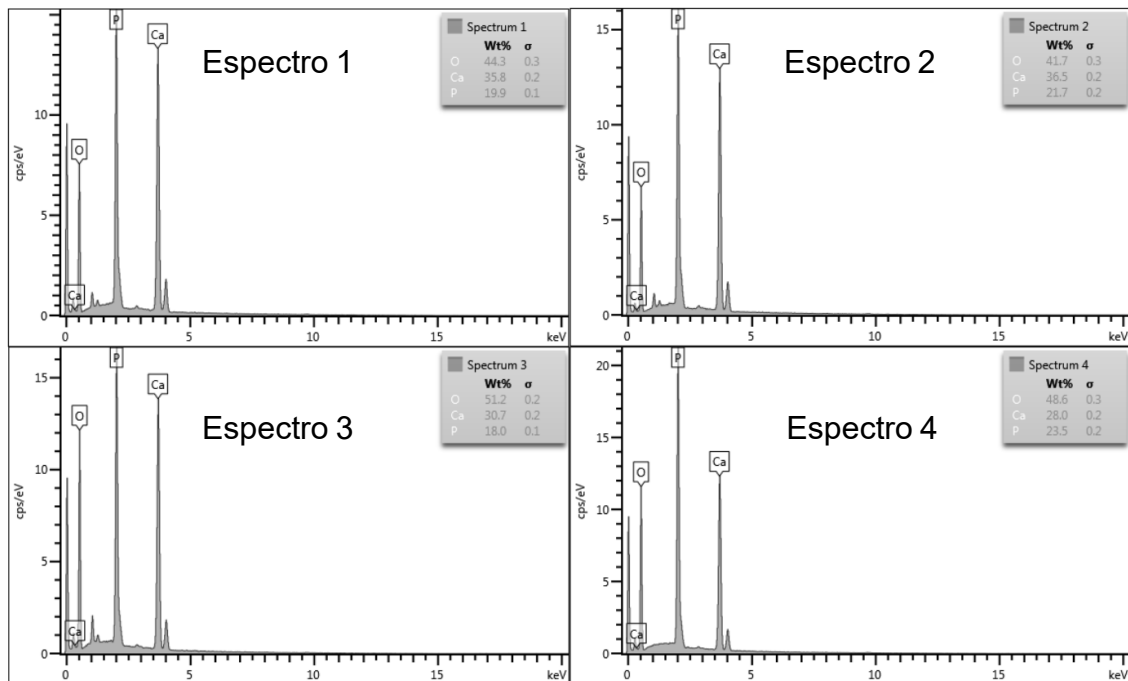
Figura 13 - Micrografia do pó calcinado (900 °C)



Fonte: Autoria própria (2022)

Ao comparar os resultados das imagens do MEV do pó calcinado com o resultado descrito na literatura (Corrêa, 2015), na Figura 5 que está disposta no referencial, é possível observar que o tamanho das partículas do pó obtido no presente trabalho é maior do que as descritas na literatura bem como os aglomerados formados são de diferentes formatos. Sendo que, o referencial mostra em suas imagens tamanhos variados entre 337 nm e 647 nm, já o pó calcinado possui partículas com 2,01µm sendo transformada em 2010 nm para grau de comparação com a teoria.

Figura 14 - Mapeamento dos grupos funcionais (900 °C)



Fonte: Autoria própria (2022)

Em relação ao mapeamento dos grupos funcionais, tanto para a amostra *in natura* quando para a amostra calcinada, é possível perceber que existem dois elementos que se mantem em ambas as amostras, que são o oxigênio (O) e o cálcio (Ca), esses dois elementos estão presentes desde o simples pó da casca de ovo até a obtenção do pó de fosfato de cálcio. Um outro ponto importante a ser observado, é que após o processo de precipitação e calcinação, com a obtenção do pó de fosfato de cálcio surge um novo elemento no mapeamento, o fósforo (P) conforme demonstrado na Figura 14. Esse elemento é o que torna possível a relação Ca/P, sendo os valores encontrados no presente trabalho dispostos na Tabela 2.

Tabela 2 – Relação Ca/P do pó obtido no experimento

Número da amostra	Relação Ca/P
Espectro 1	1,80
Espectro 2	1,68
Espectro 3	1,71
Espectro 4	1,19
Média	1,60

Fonte: Autoria própria (2022)

Os valores da relação Ca/P obtidos, através da média dos resultados expressos na tabela 2, de 1,60 podem ser comparados com valores intermediários de β -TCP (Ca/P = 1,50) e HAP (Ca/P = 1,67) os quais estão expostos na Tabela 1. É possível compreender através da Tabela 2 que os valores obtidos na relação Ca/P são condizentes com a literatura. Sendo assim, pode-se considerar que o protocolo de experimento atingiu seu objetivo em relação a porcentagem de Ca/P presente no pó obtido.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com base nos experimentos realizados através do protocolo utilizado neste trabalho, foi possível obter o pó de fosfato de cálcio a partir da fonte natural de casca de ovo galináceo. A caracterização da COG demonstrou uma composição rica em carbonato de cálcio (CaCO_3), um cristal capaz de sintetizar a HAP. Os resultados do DRX, obtidos na caracterização após tratamento térmico a $900\text{ }^\circ\text{C}$, apontam as características que confirmam a síntese de HAP em concordância para com o meio de obtenção. As análises que foram obtidas através do MEV/EDS afirmam a razão da molaridade de Ca/P, através de suas micrografias e mapeamentos dos componentes que integram as amostras. Vale ressaltar que todos os parâmetros incluindo os picos do DRX concordam com a literatura e apresentam morfologias próximas ao que se era esperado, os componentes obtidos através dos valores encontrados nos picos foram aqueles vistos na literatura, sendo eles pirofosfato de cálcio ($\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$), β -TCP ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) e carbonato de cálcio (CaCO_3). Assim, concluímos que é possível obter o pó que tem por base o fosfato de cálcio proveniente da casca de ovo galináceo através da síntese por via úmida utilizando o ácido nítrico (HNO_3) e o fosfato dibásico (Na_2HPO_4).

REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, V. V. C.; CHAVES, S. A.; BEZERRA, D. C.; COSTA, A. C. F. M. Materiais cerâmicos utilizados para implantes. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**, v. 2, n. 3, p. 35-42, dez. 2007.
- BALÁZSI, C.; WÉBER, F.; KÖVÉR, Z.; HORVÁTH, E.; NÉMETH, C. Preparation of calcium–phosphate bioceramics from natural resources. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, n. 2-3, p. 1601–1606, mai. 2007.
- BERNARDO, M. P. *et al.* Processamento e aplicação de biomateriais poliméricos: avanços recentes e perspectivas. **Química Nova**, v. 44, n. 10, p. 1311-1327, jun. 2021.
- CALIMAN, L. B.; SILVA, S. N. DA; JUNKES, J. A.; SAGRILLO, V. P. D. Ostrich eggshell as an alternative source of calcium ions for biomaterials synthesis. **Materials Research**, v. 20, n. 2, p. 413–417, jan. 2017.
- CALLISTER, W. D.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução**. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.
- CAPANEMA, N. S. V. **Síntese e caracterização de biocerâmicas à base de fosfato de cálcio modificada com nióbio**. 2014. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
- CARDOSO, C. **Valorização de resíduos de casca de ovo galináceo na obtenção de titanato de cálcio**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, 2017.
- CORRÊA, T. H. A. **Obtenção de biocimento a base de fosfato de cálcio nanoestruturado a partir de casca de ovo galináceo**. 2015. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Campos dos Goytacazes, 2015.
- DIAS, F. L. *et al.* Avaliação dos efeitos nas propriedades técnicas da utilização de resíduo de casca de ovo em blocos de pavimentação. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 58314-58343, jun. 2021.
- FERNANDES, G. F. **Biomateriais de fosfato de cálcio sintetizados por vias úmida e hidrotérmica**. 2001. 98f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.
- FERREIRA, V. P. **Desenvolvimento de biomateriais compósitos poli-éter-éter cetona (PEEK)/Hidroxiapatita(HA)**. 2017. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2017.

GOMES, L. C.; DI LELLO, B. C.; CAMPOS, J. B.; SAMPAIO, M. Síntese e caracterização de fosfatos de cálcio a partir da casca de ovo de galinha. **Cerâmica**, v.58, n.348, p. 448-452, 2012.

HAGE Jr., E. Aspectos históricos sobre o desenvolvimento da ciência e da tecnologia de polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 8, n. 2, p. 6-9, jun. 1998.

HENCH, L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, n. 16, p 1419-1423, ago. 1998.

LANDUCI, M. C. **Caracterização das propriedades mecânicas de biomateriais metálicos**. 2016. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia, Bauru, 2016.

MAAWI, S. A. *et al.* The biomaterial-induced cellular reaction allows a novel classification system regardless of the biomaterials origin. **Journal of Oral Implantology**, v. 46 n. 3, p. 190–207, jun. 2020.

MITSUO, M. M. Biomateriais e regeneração óssea: conceitos e perspectivas. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 21, n. 1, p. 3–4, abr. 2022.

MOURA, M. F. *et al.* Uso de matéria-prima natural para obtenção de fosfato de cálcio. In: Seminário de Iniciação Científica e Tecnológica da UTFPR, 27, 2022, Santa Helena. **Anais**. Santa Helena. 2022.

NEVES, M. A. **Alternativas para valorização da casca de ovo como complemento alimentar e em implantes ósseos**. 1998. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós Graduação em Ciência dos Alimentos – Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 1998.

OLIVEIRA, S. V. **Caracterização química e morfológica dos fosfatos de cálcio - CPP, HAP e TeCP**. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais - Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande, 2009.

OLIVEIRA, L. S. A.; OLIVEIRA, C. S.; MACHADO, A. P. L.; ROSA, F. P. Biomateriais com aplicação na regeneração óssea – método de análise e perspectivas futuras. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 9, n. 1, p. 37-44, nov. 2010.

CALLISTER, W. D; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais: Uma introdução**. 9. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2016.

PIRES, A. L. R.; BIERHALZ, A. C. K.; MORAES, A. M. Biomateriais: tipos, aplicações e mercado. **Química Nova**, São Paulo, v. 38, n. 7, p. 957-971, mai. 2015.

PORTO, A. C. **Indicadores de produção científica para prospecção tecnológica em manufatura aditiva de biocerâmicas**. 2019. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2019.

RATNER, B. D. **Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine**. 2 Ed. California: Elsevier Academic Press, 2004.

SANTOS, M. L. *et al.* Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Eclética Química**. São Paulo, v.30, n.3, p. 29-35, 2005.

SCHMITT, N. R.; ALVES, A. L. G.; CARGNELUTTI, R.; PANSARD, H. B. Uso de biomateriais em estruturas faciais, uma revisão de literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 4, p. 14562 - 14570, jul. 2021.

SHAO, R. *et al.* State of the art of bone biomaterials and their interactions with stem cells: Current state and future directions. **Biotechnology Journal**, v. 17, n. 4, apr. 2022.

SILVA, V. V. Aplicação de biomateriais em ortopedia e engenharia de tecido ósseo. Revista Saúde e Meio Ambiente. **Revista Saúde e Meio Ambiente**, v. 5, n. 2, p. 14-27, set. 2017.

SINHORETI, M. A. C.; VITTI, R. P.; SOBRINHO, L. C. Biomateriais na Odontologia: panorama atual e perspectivas futuras. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas**, v. 67, n.4, p. 178-183, 2013.

SOUZA, D. C. **Desenvolvimento de Compósitos PEUAPM/Apatitas para Substituição e Regeneração Óssea**. 2012. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012.

STRUTYNSKA, N. *et al.* New nanostructured apatite-type (Na⁺, Zn²⁺, CO₃²⁻) doped calcium phosphates: Preparation, mechanical properties and antibacterial activity, **Journal of Molecular Structure**, v. 1222, jul. 2020.

SULZER, B. G.; BORGES, E. C. C.; SILVA, L. F. A. Biomateriais aplicados na substituição óssea em procedimentos odontológicos. **Perspectivas Experimentais e Clínicas, Inovações Biomédicas e Educação em Saúde**, v. 8, n. 01, p. 30-47, jul. 2022.

TRINDADE, R. C. R. **Avaliação da hidroxiapatita sintética como substituto ósseo em associação com membrana biológica em defeitos críticos em fíbula de ratos Wistar**. 2019. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Ciências Odontológicas - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2019.

ZANELATO, C.; PIRES, A.; DA SILVA, S.; GALDINO, A. Development of biphasic bone cement obtained from chicken eggshell. **Journal of Materials Research and Technology**, v. 9, n. 4, p. 7297–7304, mai 2020.