

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

CURSO DE BACHARELADO EM QUÍMICA

MARCELLA FERNANDES MANO MATEUS

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA/GELATINA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**PATO BRANCO
2017**

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
DEPARTAMENTO ACADÊMICO DE QUÍMICA
CURSO DE QUÍMICA

MARCELLA FERNANDES MANO MATEUS

SÍNTESE CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA/GELATINA

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

PATO BRANCO

2017

MARCELLA FERNANDES MANO MATEUS

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA/COLÁGENO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Químico bacharel.

Orientadora: Prof^a. Dra. Liliam Cristina Angelo

PATO BRANCO

2017

TERMO DE APROVAÇÃO

O trabalho de diplomação intitulado SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE HIDROXIAPATITA/GELATINA foi considerado APROVADO de acordo com a ata da banca examinadora N°5.2.2017-B de 2017.

Fizeram parte da banca os professores.


Liliam Cristina Angelo


Dalmarino Setti


Rodrigo Brackmann

Dedico este trabalho aos meus pais Marcelo Mano Mateus e Cacilda Fernandes Mateus, por estarem sempre ao meu lado me apoiando em todos os momentos, sem medir esforços para estarem presentes de alguma forma, mesmo na distância.

Dedico também à minha irmã Marlisa Fernandes Mano Mateus, que mesmo distante sempre se fez presente.

A toda minha família que de alguma forma colaborou e me incentivou durante todos esses anos de curso.

A minha professora orientadora Liliam Cristina Angelo, por todo suporte durante o desenvolvimento deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por todas as bênçãos. Ao meu pai Marcelo Mano Mateus, por sempre me apoiar e pelas palavras de conforto e força em todos os momentos difíceis durante a graduação. A minha mãe Cacilda Fernandes Mateus com sua fé inabalável e suas sábias palavras me ajudando a enfrentar as dificuldades com fé e calma. A professora Liliam por todo suporte e apoio desde o convite para ser minha orientadora até a finalização do trabalho.

Aos meus amigos André Desconsi e Fabiana Rossatto, que estiveram ao meu lado durante a maior parte da graduação se fazendo presentes nos momentos de alegria e de dificuldade.

A minha amiga Patricia Cucchi, com quem convivi maior tempo durante o período de graduação e se tornou minha família durante esses anos, estando sempre presente e disposta a ajudar mesmo que com uma simples palavra de conforto.

A todo o corpo docente que de alguma forma contribuíram para meu aprendizado e formação acadêmica.

A Central de Análises pelos serviços prestados, e disponibilização dos equipamentos.

E a todos os outros que mesmo não tendo seu nome citado, se fizeram presente de alguma forma durante esse período de graduação.

“Julgue seu sucesso pelas coisas que você teve que renunciar para
conseguir.”
(Dalai Lama)

RESUMO

MATEUS, Marcella Fernandes Mano. Síntese e caracterização de hidroxiapatita/gelatina. 45 f. TCC (Curso de Química), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2017.

Os biomateriais à base de fosfato de cálcio vêm sendo estudados como substitutos ósseos e para recobrimento de implantes devido a suas propriedades de osteocondução e osteointegração. Dentre esses biomateriais a HAP principal componente do tecido ósseo tem se destacado. O objetivo deste trabalho foi sintetizar e caracterizar a HAP/GEL através da reação por via úmida e caracterizar o material obtido. A síntese foi feita pelo gotejamento de H_3PO_4 sobre a solução de $Ca(OH)_2$ com adição de gelatina em diferentes concentrações (6 g L^{-1} e 8 g L^{-1}) e nas amostras controle. A caracterização foi realizada através das técnicas de DRX, FTIR, MEV e TG/dTG. O DRX permitiu verificar a diminuição do diâmetro dos cristalitos em amostras com maior período de envelhecimento e adição de gelatina, quando comparados às amostras controle (A1, A4 e A7). O FTIR comprovou a intensificação das bandas de CO_3^{2-} e OH^- que também estão presentes na estrutura da gelatina. Esta intensificação nas bandas se tornou mais evidentes nas amostras com maior período de envelhecimento e concentrações de gelatina. O MEV mostrou que em maiores períodos de envelhecimento e maiores concentrações de gelatina o material apresentou aparência mais cimentícia e estrutura mais maciça. O TG/dTG mostrou eventos distintos entre as amostras controles e as amostras com adição de gelatina. Esses eventos seguindo o mesmo comportamento que se observou nas outras análises. Através dos resultados obtidos foi possível verificar a incorporação da gelatina à estrutura da HAP. Logo, podemos considerar que o método de síntese utilizado foi eficiente na formação da hidroxiapatita, como fase majoritária. As técnicas de caracterização utilizadas forneceram resultados que possibilitaram a verificação de formação da fase hidroxiapatita, a incorporação da gelatina na estrutura, mostrando-se eficientes.

Palavras-chave: Biomateriais, hidroxiapatita, gelatina.

ABSTRACT

MATEUS, Marcella Fernandes Mano. Synthesis and characterization of hydroxyapatite/gelatin. 45 f. TCC (Course of Chemistry) - Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2017.

Calcium phosphate-based biomaterials have been studied as bone substitutes and implant coverings due to their osteoconduction and osseointegration properties. Among these biomaterials, the main component of bone tissue HAP has been highlighted. The objective of this work was to synthesize HAP/ GEL through the wet reaction and to characterize the obtained material. The synthesis was carried out by dripping H_3PO_4 onto $\text{Ca}(\text{OH})_2$ solution with the addition of gelatin of different concentrations (6 g L^{-1} and 8 g L^{-1}) and in the control samples. The characterization was performed using the techniques of XRD, FTIR, SEM and TG/dTG. DRX allowed to verify the decrease of the crystallite diameter in samples with a longer aging period and addition of gelatine when comparing the control samples (A1, A4 and A7). The FTIR proved the intensification of the CO_3^{2-} and OH- bands that are also present in the gelatin structure, this intensification became more evident in samples with a longer aging period and gelatin concentrations. The SEM showed that in longer periods of aging and higher concentrations of gelatin the material had a more cement appearance and a more massive structure. The TG/dTG showed different events between the control samples and the samples with gelatine addition, these events following the same behavior that was observed in. Through the obtained results, it was possible to confirm the incorporation of the gelatin in the HAP structure. Therefore, we can consider that the synthesis method used was efficient in the formation of hydroxyapatite, as the majority phase. The characterization techniques used provided results that allowed the verification of the hydroxyapatite phase, the incorporation of the gelatine in the structure, being efficient.

Keywords: Biomaterials, hydroxyapatite, gelatin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Estrutura cristalina da hidroxiapatita.	9
Fonte: CAPANEMA, 2014.	9
Figura 2 – Processo de formação, organização e estrutura do colágeno.....	11
Fonte: SILVA, 2013.....	11
Figura 3 – Difratoograma de raios X das apatitas sintetizadas após os três períodos de envelhecimento estudados e padrão de referência da HAP (ICDD 01-089-6437) com os picos principais.....	19
Figura 5 – Espectro FTIR da amostra de gelatina comercial.	24
Figura 6 – Imagem MEV Amostras A4 aumento de 500x.	26
Figura 7 – Imagem MEV Amostra A5 aumento de 500x.	26
Figura 8 – Imagem MEV Amostra A6 aumento de 500x.	27
Figura 9 – Curvas TG e dTG das amostras A1, A2, A3.....	28
Figura 10 – Curvas TG e dTG das amostras A4 A5 A6.....	28
Figura 11 – Curvas TG e dTG das amostras A7 A8 A9.....	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Condições de síntese do compósito HAP/COL e das amostras controle.	14
Tabela 2 – Amostras com suas respectivas concentrações e tempo de envelhecimento.	15
Tabela 3 – Tamanho médio de cristalito das amostras sintetizadas.	20
Tabela 4 – Absorções características no IV dos grupos funcionais estudados.	21

LISTA DE SIGLAS

DRX	Difração de raios X
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
HAP	Hidroxiapatita
HAP/GEL	Hidroxiapatita com adição de gelatina comercial
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
2θ	Ângulo de Bragg

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	3
2 OBJETIVOS	5
2.1 Objetivo GERAL	5
2.2 objetivos ESPECÍFICOS.....	5
3 REFERENCIAL TEÓRICO	6
3.1 BIOMATERIAIS.....	6
3.1.1 Biocerâmicas	7
3.1.2 Fosfatos de cálcio	8
3.1.3 Hidroxiapatita	8
3.1.4 Biocompósitos hap/col	10
4 MATERIAIS E MÉTODOS	13
4.1. Síntese e Preparação dos compósitos	13
4.1.1 Amostra controle	14
4.1.2 Amostras com adição de colágeno (HAP/COL)	14
4.1.2 Envelhecimento	14
4.1.3 Secagem.....	15
4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS APATITAS SINTETIZADAS.....	15
4.2.1 Difração de Raios X (DRX)	15
4.2.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	16
4.2.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	16
4.2.3 Análise térmica (TG)	16
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	18
5.1 Difractometria de raios x (DRX)	18
5.2 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)	21
5.3 MEV	24
5.4 Análise térmica (TG)	27
6 CONCLUSÕES	30
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

A exemplo do que aconteceu em todo o mundo, a expectativa de vida no Brasil aumentou consideravelmente, e o desafio parece ser maior em função da velocidade com que esse fenômeno ocorreu. Em 1999 cerca de 145.000 pessoas atingiam ou passavam dos 100 anos. Estima-se que esse número aumentará em 15 vezes até 2050, atingindo 2,2 milhões de centenários. A população de idosos no mundo em 1950 era de 204 milhões, em 1998 passou a ser de 579 milhões e há projeções de que em 2050 esses números passarão para 1900 milhões de pessoas idosas no mundo (IBGE, 2017).

Os constantes avanços obtidos na medicina vêm conduzindo a um evidente aumento da expectativa de vida da população mundial, e conseqüentemente, estão proporcionando maior qualidade de vida às pessoas que se encontram na “melhor idade”. Entretanto, o desgaste e a redução das propriedades e atividades dos tecidos e órgãos que constituem o corpo humano são processos inerentes ao envelhecimento dos seres vivos (DAGUANO, 2011).

Além disso, a ampliação do número de pacientes nos hospitais também está diretamente correlacionada à proliferação de veículos de transporte, gerando aumento no número de acidentes com lesões graves. O desenvolvimento das técnicas cirúrgicas também tem expandido a demanda por próteses, implantes e equipamentos médicos (KAWACHI *et al.*, 2000). Esse desenvolvimento reflete no avanço de outras áreas que se desenvolvem paralelamente, como biomateriais que tem recebido destaque nos últimos anos.

Os biomateriais não devem produzir qualquer resposta biológica adversa local ou sistêmica, ou seja, o material deve ser atóxico, não carcinogênico, não antigênico e não mutagênico (Da SILVA, 1999)

Dentre os biomateriais, as biocerâmicas à base de sais de fosfato de cálcio têm grande aceitação devido, principalmente, ao seu alto grau de biocompatibilidade, que provavelmente está associado à similaridade química com os materiais normalmente encontrados no tecido ósseo. Entre as cerâmicas com melhor desempenho estão os biovidros, a alumina, a β -TCP (Beta-Fosfato tricálcico) e a hidroxiapatita (HENCH & WILSON, 1993).

A hidroxiapatita (HAP), é o principal constituinte inorgânico dos tecidos calcificados representando de 30 a 70 % da massa dos ossos e dentes, respectivamente. A HAP é biocompatível com o tecido ósseo, não induzindo a rejeição por parte do tecido, e é bioativa, permitindo a ligação química entre o material e o tecido ósseo (osteointegração), favorecendo o crescimento ósseo sobre a superfície do material ou entre ele (osteocondução) (HENCH & WILSON, 1993; ELLIOTT, 1994; NARASARAJU & PHEBE, 1996; G; KAWACHI *et al.*, 2000).

O uso da HAP não se restringe à área médica como material biocompatível no tratamento de defeitos e enxertos ósseos. Também é empregada na área ambiental, como absorvedor de metais pesados em rejeitos industriais, solos e águas poluídas. Na área farmacêutica, é utilizada como separador de proteínas em coluna cromatográfica (ELLIOTT, 1994; EL SHAFEI *et al.*, 2004). Essa variedade de aplicações faz da HAP um dos sistemas mais promissores no desenvolvimento de novos materiais à base de fosfatos.

Para tanto, como biomaterial, a segurança a longo prazo de um implante permanente de HAP é questionável, devido ao osso ser um tecido que requer algum grau de tensão mecânica para manter sua vitalidade. A fim de minimizar, ou até mesmo superar estes problemas, uma solução seria combiná-la a um “ligante” adequado. Neste sentido, têm sido empregados vários biopolímeros, tais como colágeno, cola de fibrila, gelatina, quitosana e alginato (HSU *et al.*, 1999; SIVAKUMAR & RAO, 2002).

O compósito de hidroxiapatita/colágeno (HAP/COL) apresenta característica singular, uma vez que, constituem os principais componentes da fase mineral e orgânica do osso, respectivamente (SIVAKUMAR & RAO, 2002). No osso, a interação fosfato de cálcio/colágeno possui papel importante na determinação das suas propriedades mecânicas (LAWSON & CZERNUSZKA, 1998). O colágeno e seu derivado, a gelatina, têm sido largamente empregados em produtos médicos, farmacêuticos e de consumo por mais de 100 anos (PARRY, 1988).

Assim, o objetivo deste trabalho foi sintetizar a hidroxiapatita, a partir da reação de precipitação diretamente sobre o colágeno, na intenção de se obter um material mais cimentício e com menor porosidade, com as propriedades similares à hidroxiapatita biológica. Para verificação dos resultados foi realizada a caracterização do material, através de DRX, FTIR, MEV e TG/dTG.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Sintetizar e caracterizar compósitos à base de hidroxiapatita com a adição de gelatina como fonte de colágeno, pelo método da precipitação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar e averiguar a formação da fase majoritária HAP do compósito HAP/GEL variando-se os parâmetros de síntese: concentração de gelatina e tempo de envelhecimento.
- Caracterizar o material por:
 - Difração de raios X (DRX), a fim de confirmar a formação da fase cristalina HAP.
 - Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), para verificar a presença de bandas características da HAP, comprovando a formação da fase e possíveis substituições.
 - Microscopia eletrônica de varredura (MEV), para analisar características na superfície do material.
 - Termogravimetria (TG), para verificar a estabilidade térmica do compósito HAP/GEL no intervalo de temperatura usado durante a síntese.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 BIOMATERIAIS

Por definição, biomaterial é qualquer substância ou combinação de substâncias, naturais ou não, que não sejam drogas ou fármacos, utilizadas em aplicações biomédicas e que interagem com sistemas biológicos, que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo (VON RECUM; LABERGE, 1995; GIL; FERREIRA, 2006).

Os dois grandes marcos recentes no desenvolvimento dos biomateriais foram as duas Grandes Guerras. A necessidade de se evitar principalmente a amputação de membros que haviam perdido as suas funções fez com que o homem utilizasse praticamente todos os elementos químicos disponíveis. Os danos provocados à saúde dos pacientes, por muitos dos materiais utilizados nos atos cirúrgicos, foram considerados catastróficos. Esses resultados fizeram com que o Comitê Americano para o Tratamento de Fraturas do Colégio Americano de Cirurgiões recomendasse formalmente em 1947 a utilização de aços inoxidáveis. Após esse período, além dos metais, outros materiais considerados adequados foram desenvolvidos como os polímeros, cerâmicos e compósitos (MEARS, 1979).

Dois fatores são imprescindíveis para o sucesso de um biomaterial: a biocompatibilidade, e a biofuncionalidade. Em relação ao primeiro fato esses materiais devem atender ao requisito de funcionabilidade para o qual foram projetados, não estimulando ou provocando o mínimo de reações alérgicas ou inflamatórias. Embora este conceito seja algo não muito preciso, é consenso que a funcionabilidade esteja associada à aplicação a que se destina, de tal modo que um material biocompatível para uma dada função pode ser inadequado se usado em outras aplicações (CUNHA 2010). O segundo fator contempla a capacidade do material em desempenhar apropriadamente a função para o qual foi projetado, pelo tempo necessário, que pode ser longo nos casos de implantes permanentes, ou curto no caso de implantes temporários. A biofuncionalidade está, relacionada às características mecânicas do material (WILLIAMS, 1987).

3.1.1 BIOCERÂMICAS

A utilização de cerâmicas como biomateriais remonta a 2000, quando Kawachi *et al* relataram o uso de gesso ($\text{CaSO}_4 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$) como um possível substituto para ossos. Este material apresenta baixa resistência mecânica e é completamente reabsorvido pelo organismo, resultando em uma rápida fragmentação e degradação. Devido a estas propriedades pouco atrativas, a utilização do gesso como biocerâmica implantável foi praticamente excluída (CUNHA, 2010).

A primeira biocerâmica que alcançou uso intenso foi a alumina, que é considerada bioinerte. Além da alumina, outras cerâmicas como a zircônia, o dióxido de titânio, os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, apresentam uso muito difundido (CUNHA, 2010).

Em termos gerais, as biocerâmicas podem ser classificadas como bioinertes ou bioativas (VALLET-REGÍ *et al.*, 2004). Porém, a Conferência da Sociedade Europeia para Biomateriais não considera o termo bioinerte adequado, pois quando um material é posto em contato com o corpo humano, induz algum tipo de resposta, mesmo que mínima (KAWACHI *et al.*, 2000). EM contrapartida, o termo ainda é comumente utilizado por diversos autores, e sua definição mais aceita é a de um material que apresenta uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição do tecido hospedeiro, pela formação, por exemplo, de uma cápsula fibrosa ao redor do material. Já uma biocerâmica bioativa, termo bem aceito na comunidade científica, é conceituada como aquela que induz uma determinada atividade biológica por parte do tecido hospedeiro frente à presença do material (CUNHA, 2010).

As biocerâmicas são utilizadas tanto na forma isolada quanto como recobrimento de próteses metálicas ou na associação com materiais poliméricos, como por exemplo, o colágeno. São empregadas tanto na forma densa quanto na forma porosa, bem como em grânulos. A forma em que a biocerâmica será empregada depende da finalidade para que esta vai ser utilizada. A porosidade é um fator importante e que leva à melhor integração entre o tecido vivo e o implante. Apesar do aumento da porosidade diminuir a resistência mecânica do material, a

existência de poros com determinadas dimensões pode favorecer o crescimento de tecido através deles, fazendo com que exista um forte entrelaçamento do tecido com o implante. Com isto, aumenta a resistência do material *in vivo* (CUNHA, 2010).

3.1.2 FOSFATOS DE CÁLCIO

A primeira tentativa clínica do uso dos biomateriais à base de fosfatos de cálcio foi em 1920 e a segunda foi reportada somente 30 anos depois. Em 1969 e depois em 1971 foi sugerido o uso de hidroxiapatita de cálcio ou fluorapatita como material para osso e implantes dentários. Entre 1976 e 1986 desenvolveram-se e comercializaram-se estes materiais, principalmente a hidroxiapatita, como biomateriais para reparo e substituição do osso e para aumento de superfície óssea (LEGEROS, 2002).

Os biomateriais à base de fosfatos de cálcio possuem propriedades notáveis como: similaridade em composição e fração mineral do osso; bioatividade; capacidade de promover função e expressão celular que conduzem à formação de um exclusivo e forte biomaterial, semelhante ao osso em uma interface; e, osteocondutividade. Os fosfatos de cálcio com apropriada geometria tridimensional são capazes de ligar e concentrar proteínas morfogenéticas do osso em circulação, transformando-se em materiais osteocondutores (capazes de osteogênese). Desta forma, os biomateriais de fosfato de cálcio são potencialmente úteis na engenharia de tecidos para regeneração de tecidos duros (LEGEROS, 2002).

3.1.3 HIDROXIAPATITA

A hidroxiapatita de estrutura apresentada na Figura 1, é o constituinte mineral natural encontrado no osso representando de 30 a 70% da massa dos ossos e dentes. A hidroxiapatita sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses, daí o grande interesse em sua produção (EANES, 1980).

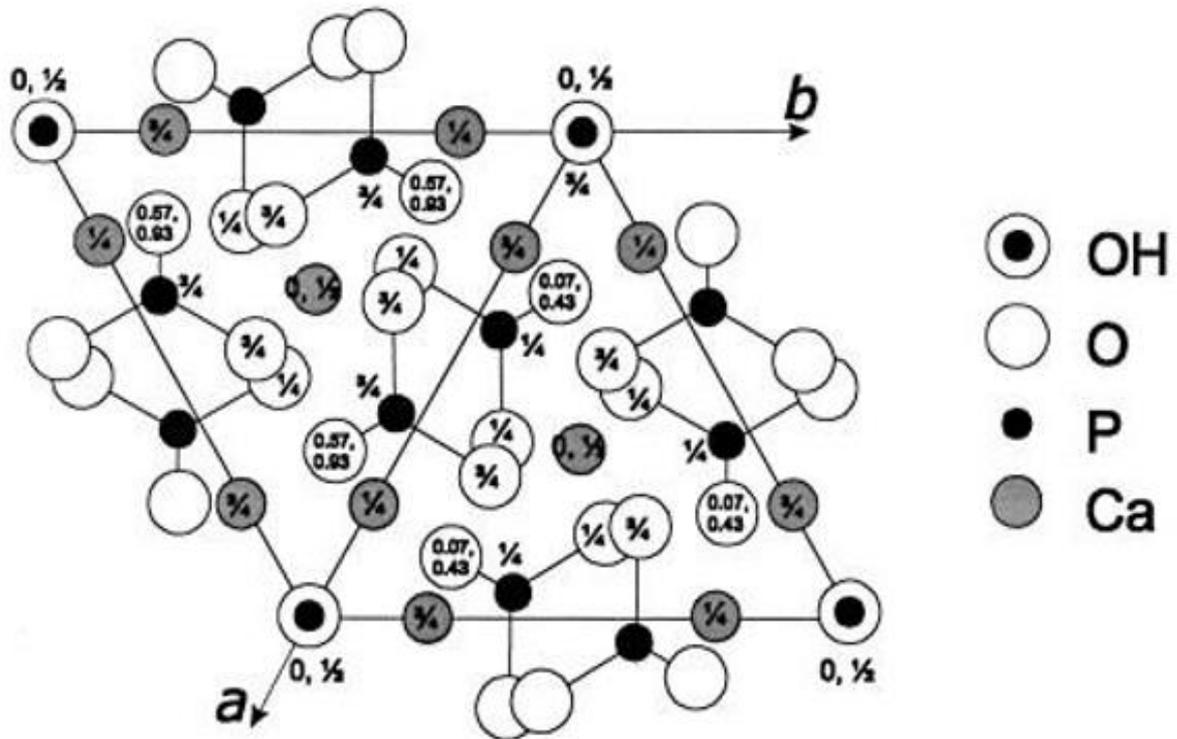


Figura 1 – Estrutura cristalina da hidroxiapatita.

Fonte: CAPANEMA, 2014.

O interesse pela hidroxiapatita como biomaterial é explicado claramente por sua semelhança com a fase mineral do tecido ósseo. Em princípio seria um material muito adequado tanto para restauração como para substituição óssea, só não o é, devido a sua baixa resistência mecânica, inclusive em formas compactas e densas. Assim, o uso se restringe a todas aquelas aplicações onde não se requerem esforços mecânicos, encontrando seu mais amplo campo de utilização em recobrimento de substratos metálicos, com o objetivo de acelerar e incrementar a fixação das próteses ao osso (RODRIGUES, 2008).

Devido a sua elevada similaridade com a fase cristalina dos tecidos ósseos, a hidroxiapatita induz o crescimento de tecido ósseo na região em que se encontra. Esta instigação ao crescimento de tecido é denominada osteocondução. A regeneração do tecido também é induzida pela hidroxiapatita, pois sua superfície permite interações do tipo dipolo, fazendo com que moléculas de água, proteínas e colágeno sejam adsorvidas na superfície. Isto faz com que ocorra uma forte ligação entre a hidroxiapatita e o tecido ósseo na sua superfície sob condições *in vivo* (VARMA *et al.*, 1999).

3.1.4 BIOCAMPÓSITOS HAP/COL

O colágeno, substância macromolecular, é um polímero natural (proteína) encontrado em tecidos de ligação (tendão, pele, ligamento, vasos sanguíneos, osso e dentina). Sua função fisiológica é a de suporte mecânico (YANNAS, 1996). Sua principal característica é a formação de fibras insolúveis com alta força elástica. Outra importante função do colágeno é orientar tecidos em desenvolvimento (VIIDIK e VUUST, 1980). Desta maneira, dos vários componentes da matriz extracelular, o colágeno é o mais frequentemente usado como biomaterial (VIIDIK e VUUST, 1980; YANNAS, 1996).

O termo “colágeno” é utilizado para denominar uma família de 27 proteínas isoformas encontradas nos tecidos conjuntivos do corpo. Em termos de quantidade, é o composto mais importante do tecido conjuntivo e é um elemento estrutural importante em organismos multicelulares (LEHNINGER, 1995).

As proteínas colagenosas formam agregados supramoleculares, sozinhas ou em conjunto com outras matrizes extracelulares. Sua principal função é contribuir com a integridade estrutural da matriz extracelular ou ajudar a fixar células na matriz. O colágeno apresenta propriedades mecânicas singulares, e é quimicamente inerte (WOLF, 2007).

O colágeno (Figura 2) é uma proteína fibrosa encontrada em todo o reino animal, contém cadeias peptídicas dos aminoácidos glicina, prolina, lisina, hidroxilisina, hidroxiprolina e alanina. Essas cadeias são organizadas de forma paralela a um eixo, formando as fibras de colágeno, que proporcionam resistência e elasticidade à estrutura presente (DAMODARAN, 2010).

Formação de procolágeno

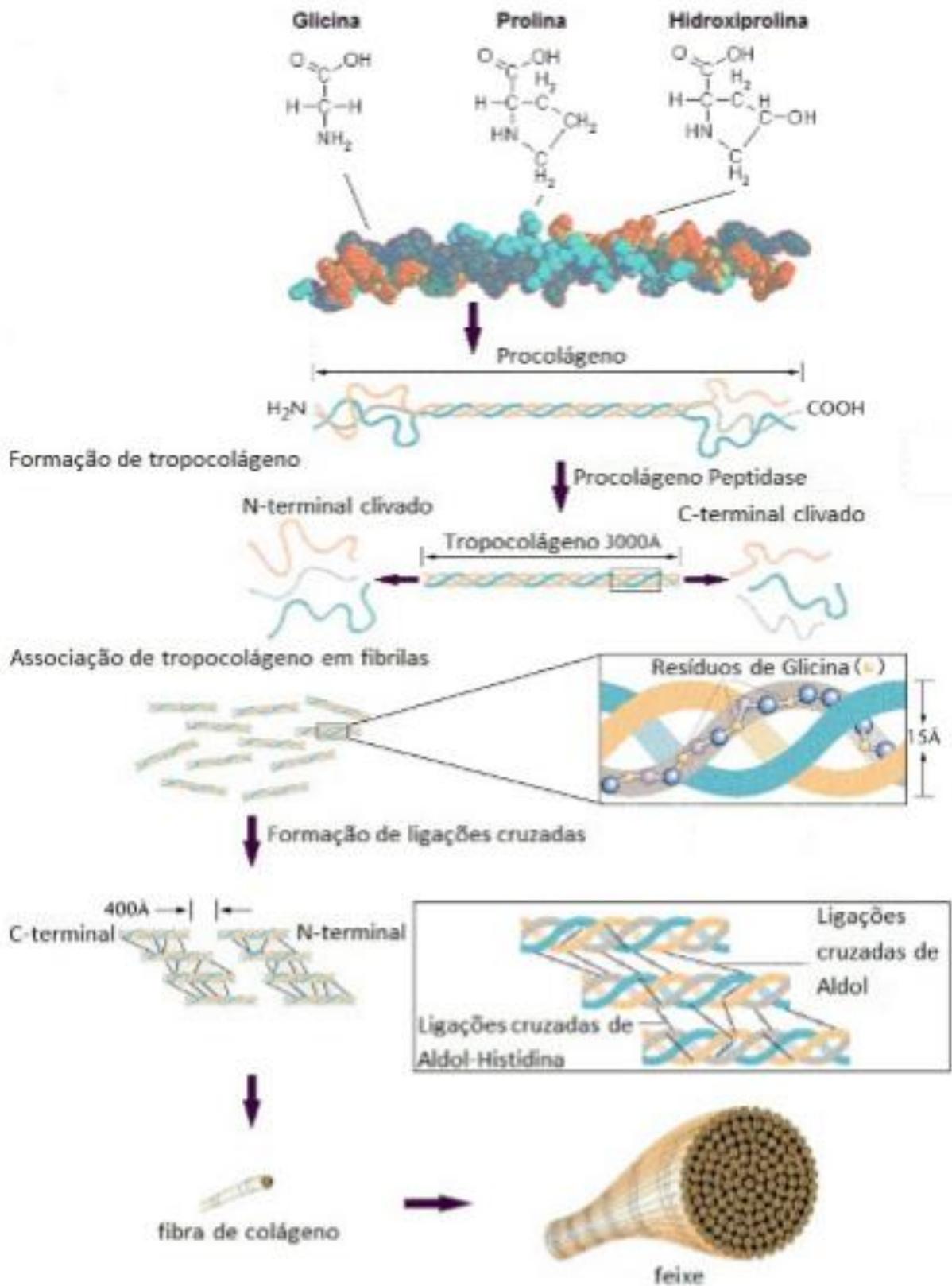


Figura 2 – Processo de formação, organização e estrutura do colágeno.

Fonte: SILVA, 2013.

Vários compósitos de HAP/GEL têm sido desenvolvidos devido à sua análoga composição com a estrutura do osso. Os estudos objetivam melhorar suas propriedades e seu processamento. Esses compósitos têm sido extensivamente investigados para a mimetização das propriedades de biocompatibilidade, atividades biointegrativas e propriedades mecânicas do osso natural, na tentativa de torná-los biomateriais potenciais para sua substituição (SANTOS, 2005).

O compósito de HAP/COL apresenta característica singular, uma vez que são os principais componentes da fase mineral e orgânica do osso, respectivamente (SIVAKUMAR, 2002). No osso, a interação fosfato de cálcio/colágeno possui papel importante na determinação das suas propriedades mecânicas (LAWSON, CZERNUSZKA 1998).

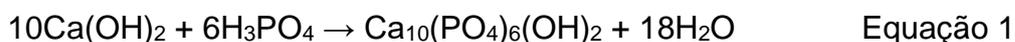
Um aspecto fundamental na síntese do compósito HAP/COL é o crescimento do fosfato de cálcio sobre a matriz de colágeno em meio aquoso de forma semelhante ao osso natural, estruturalmente e composicionalmente. Alguns estudos mostram que as propriedades mecânicas dos compósitos produzidos são de menor alcance que os valores obtidos para o osso (KANNAN *et al.*, 2001).

Tenhuisen *et al.* (1995), produziram compósitos contendo hidroxiapatita deficiente em cálcio microcristalina e colágeno. Nesse estudo, foi realizada uma reação ácido-base entre precursores do fosfato de cálcio (CaHPO_4 e $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$), na presença de uma matriz de colágeno a 38°C. As razões em massa entre HAP: Colágeno nos compósitos obtidos foram de 4,5:1, 11:1, 22:1. Verificou-se que a taxa de formação da HAP aumenta à medida que a concentração de colágeno aumenta, e que a presença de colágeno afeta o pH e as concentrações de cálcio e fosfato (ANGELO, 2008).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. SÍNTESE E PREPARAÇÃO DOS COMPÓSITOS

O método utilizado para obtenção da hidroxiapatita foi o de reação por via úmida, tomando como referência a metodologia proposta por (ANGELO, 2008). Esse método se dá pela reação entre o ácido fosfórico H_3PO_4 e uma suspensão contendo hidróxido de cálcio $Ca(OH)_2$, formando o precipitado de hidroxiapatita e água de acordo com a reação apresentada na equação 1.



Dentre os métodos sugeridos na literatura, este foi selecionado por sua simplicidade da reação, baixo custo dos reagentes além do fácil acesso aos mesmos em suas purezas adequadas. Outro motivo da escolha deste método se deve à formação da água como único subproduto, que não interfere no produto final, no caso o biomaterial e não apresenta riscos ao meio ambiente já que não são gerados resíduos.

O objetivo do processo de síntese é obter como fase principal a hidroxiapatita, devido a sua enorme importância como biomaterial. As proporções dos reagentes nas reações realizadas seguiram a razão Ca/P igual a 1,67 por apresentar boa cristalinidade e serem termicamente estáveis. Condições como tempo, temperatura, concentração dos reagentes e pH foram controladas durante toda a síntese, permitindo a obtenção da fase hidroxiapatita (Tabela 1).

Tabela 1 – Condições de síntese do compósito HAP/COL e das amostras controle.

Condições de síntese
Temperatura – 42°C
Tempo de envelhecimento – 1, 7 e 21 dias
Razão Ca/P teórica – 1,67
Concentração de H ₃ PO ₄ – 0,3 mol L ⁻¹
Concentração de Ca(OH) ₂ – 0,5 mol L ⁻¹

4.1.1 AMOSTRA CONTROLE

As amostras controle (A1, A4 e A7) foram preparadas utilizou-se as soluções de H₃PO₄ (85% PA) na concentração de 0,5 g L⁻¹ e Ca(OH)₂ (PA) na concentração de 0,3 g L⁻¹.

4.1.2 AMOSTRAS COM ADIÇÃO DE COLÁGENO (HAP/COL)

Inicialmente, foram preparadas as soluções de colágeno, em duas concentrações diferentes: 6 e 8 g L⁻¹. A gelatina comercial (Dr. Oetker®, sem sabor e sem cor) foi utilizada como fonte de colágeno. Esta, foi dissolvida em água destilada a uma temperatura de 42°C. Em seguida, dissolveu-se o Ca(OH)₂ (PA) nestas soluções..

As soluções de Ca(OH)₂ com e sem adição de gelatina foram colocadas em um béquer e levadas a um agitador magnético com chapa de aquecimento. Em suspensão a solução de H₃PO₄ foi gotejada na vazão de, 2 a 5 mL min⁻¹. Durante toda a reação a temperatura foi mantida entre 40 a 42°C e o pH em 12. Para o controle do pH, foi utilizada uma solução concentrada de NH₄OH.

4.1.2 ENVELHECIMENTO

Depois de finalizada a síntese, o conteúdo do béquer de vidro foi mantido à temperatura ambiente por três períodos de envelhecimento diferentes 1, 7 e 21 dias. Durante os diferentes períodos de envelhecimento, o pH foi controlado e mantido entre 10 a 12 até a completa reação de formação da fase hidroxiapatita.

Para facilitar a identificação das amostras foi criada a Tabela 2, onde são ordenadas por tempo de envelhecimento e concentração.

Tabela 2 – Amostras com suas respectivas concentrações e tempo de envelhecimento.

Amostras	Tempo de envelhecimento	Concentração de gelatina
A1	1 dia	---
A2	1 dia	6 g L ⁻¹
A3	1 dia	8 g L ⁻¹
A4	7 dias	---
A5	7 dias	6 g L ⁻¹
A6	7 dias	8 g L ⁻¹
A7	21 dias	---
A8	21 dias	6 g L ⁻¹
A9	21 dias	8 g L ⁻¹

4.1.3 SECAGEM

Em seguida, foi retirado o excesso de água das amostras. O precipitado foi levado à estufa à temperatura de 110°C por 24 horas. Na sequência, o sólido foi macerado em almofariz de ágata.

4.2 CARACTERIZAÇÃO DAS APATITAS SINTETIZADAS

4.2.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Os materiais sintetizados foram caracterizados difratometria de raios X em equipamento (Rigaku, modelo MiniFlex 600), com intervalo de ângulo de Bragg 3 a 120°, abertura de fenda de divergência 1,625°, fenda de recepção 0,3° usando passos de 0,02° no modo *step scan* com varredura de 4 segundos por passo, radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5406 \text{ \AA}$), tensão de 40 kV e corrente de 15 mA. A análise de todas as amostras foram realizadas na Central de Análises da UTFPR - Pato Branco.

4.2.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO (FTIR)

As medidas de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal do Paraná – DQ/UFPR, em espectrofotômetro Bomem, modelo MB-100, configurado como padrão para trabalho na região de IR médio 4000-400 cm^{-1} , mediante o uso de pastilhas de KBr (Aldrich), com acumulação de 32 varreduras e resolução de 2 cm^{-1} .

Por meio do FTIR é possível identificar tanto substituições quanto alterações importantes na composição da HAP, principalmente ao que se refere aos grupos fosfatos e hidróxidos.

4.2.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura foi empregada para verificar características de morfologia e homogeneidade dos materiais sintetizados. Os pós das apatitas foram analisados por MEV em equipamento HITACHI TM 3000 Tabletop Microscope, na Central de análises da UTFPR- Pato Branco. A tensão utilizada foi de 15KV e a ampliação das imagens foi de 500, 1000, 1500 e 2000x. Os melhores resultados estão apresentados nos resultados.

4.2.3 ANÁLISE TÉRMICA (TG)

A análise térmica foi utilizada para acompanhar a estabilidade térmica da HAP e HAP/GEL sintetizada. As análises foram realizadas em equipamento SDT Q600 (TA Instruments), com porta amostra de α -alumina em atmosfera de ar sintético, vazão de 100mL min^{-1} , na Central de Análises da UTFPR-Câmpus Pato Branco.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X (DRX)

A fase hidroxiapatita foi identificada inicialmente pela verificação de seus picos característicos, em $2\theta = 26,0; 31,8$ e $32,8$. Em seguida, a comparação com a ficha padrão ICDD 01-089-6437 foi realizada, confirmando a formação de HAP como fase majoritária.

Os difratogramas (Figura 3) apresentaram perfis constituídos de picos relativamente largos, característica que pode estar associada à presença de cristais com dimensões nanométricas, ou ainda, a defeitos na estrutura (ANGELO, 2008).

Comparando-se os resultados obtidos com os de Araújo *et al* (2012), que trabalharam com o mesmo biomaterial em condições de síntese semelhantes, os mesmos foram praticamente idênticos.

Capanema (2014), associou a menor cristalinidade a carbonatação da HAP. O estudo reporta que HAP carbonatadas apresentam razoável concordância com os picos da fase cristalina identificada na HAP, mas com alargamento típico dos picos na fase amorfa devido à falta de periodicidade a longo alcance em decorrência das deformações introduzidas pela substituição de grupos fosfato (PO_4^{3-}), e/ou hidroxilas, (OH^-) pelos grupos carbonato (CO_3^{2-}). O fato de a síntese ser realizada em sistema aberto pode justificar a carbonatação da HAP, o que levaria ao alargamento dos picos que são coincidentes com os picos característicos à fase HAP. As reflexões características para HAP e HAP carbonatada são respectivamente em 2θ : $25,90; 31,80$ e $32,93$ e $25,75; 32,19$ e $33,43$ (ANGELO, 2008).

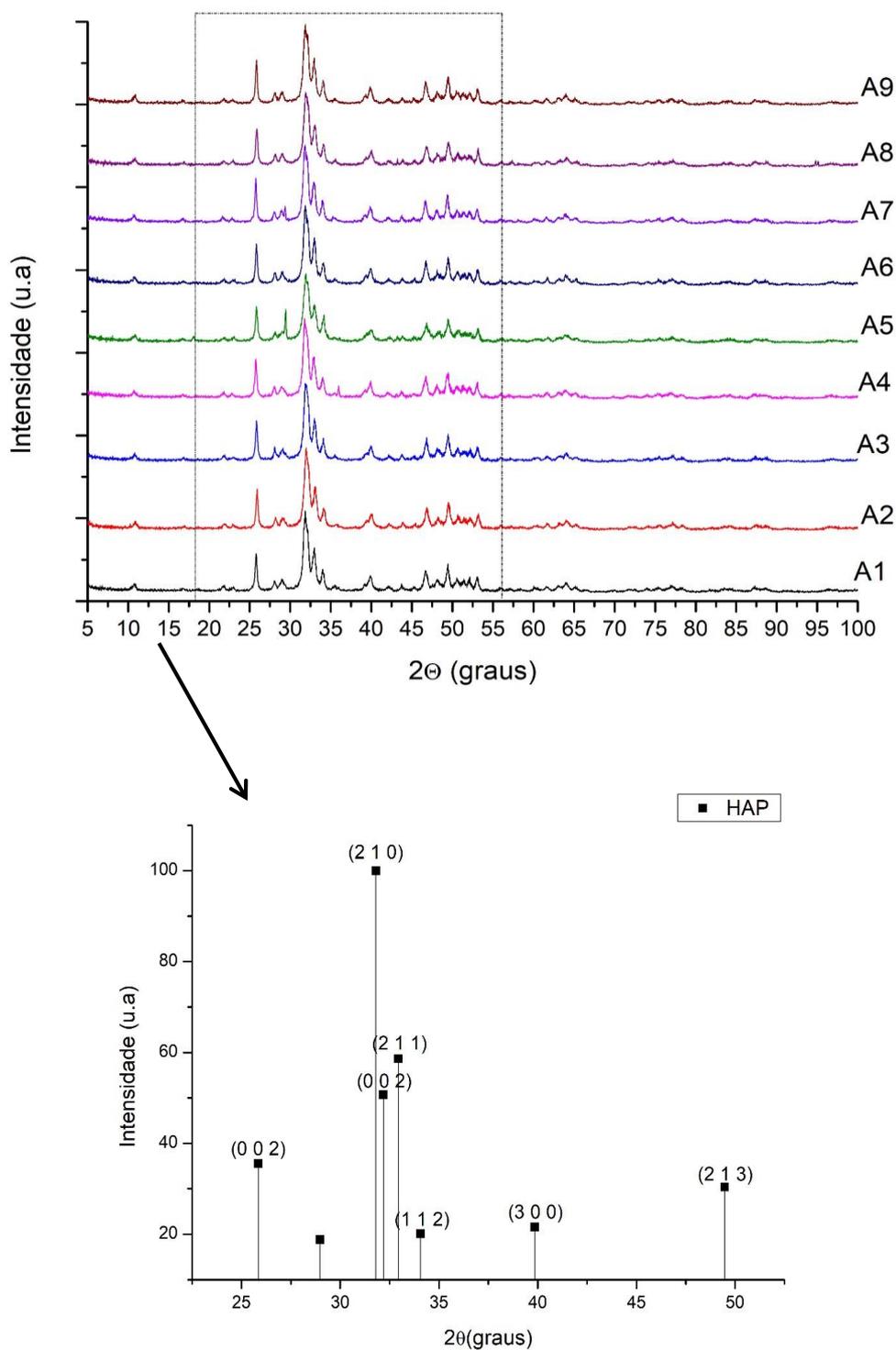


Figura 3 – Difratoograma de raios X das apatitas sintetizadas após os três períodos de envelhecimento estudados e padrão de referência da HAP (ICDD 01-089-6437) com os picos principais.

A fim de se confirmar possíveis substituições ou interações na estrutura da HAP, calculou-se o tamanho médio dos cristalitos empregando-se a equação de

Scherrer (Equação 2). A Tabela 3 exibe os valores do tamanho médio dos cristalitos das HAP sintetizadas.

$$Dm = \frac{\kappa\lambda}{\beta\cos\theta}$$

Equação 2

sendo:

κ = constante de proporcionalidade que depende da forma das partículas, assumida como sendo esférica (0,9).

λ = comprimento de onda da radiação $\text{CuK}\alpha$ (0,15406 nm)

β = largura do pico à meia altura;

θ = ângulo de difração de Bragg.

Tabela 3 – Tamanho médio de cristalito das amostras sintetizadas.

Amostra	Tamanho de cristalito (nm)
A1	28,55
A2	26,43
A3	25,94
A4	29,03
A5	25,51
A6	27,48
A7	32,42
A8	25,99
A9	29,78

Analisando os valores obtidos, é possível observar entre as amostras controle (A1, A4 e A7) um acréscimo à medida que aumenta-se o tempo de envelhecimento. Entretanto, quando se compara as amostras com adição de gelatina, verifica-se a formação de cristalitos menores quando comparadas ao controle.

A diminuição do tamanho de cristalito com o aumento do tempo de envelhecimento, para amostras com emissão de gelatina, pode ser causada pelas diferentes intensidades das interações entre os íons Ca^{2+} e os íons R-COO^- . Com o

aumento da concentração de gelatina, a fonte de íons $R-COO^-$ disponíveis para a complexação com os íons Ca^{2+} conduz a um grande número de núcleos para o crescimento da HAP cristalina, de modo que este cristal não possa crescer significativamente (LI *et al*, 2007).

Outra razão para esta diminuição do tamanho de cristalito quando o tempo de envelhecimento é maior pode estar associada à formação da fase calcita ($CaCO_3$), facilitada pelo fato da síntese ocorrer em sistema aberto.

5.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A HAP apresenta absorções características dos seus grupos funcionais, que podem ser observados na Tabela 3. Na Figura 4 estão apresentados os espectros de infravermelho.

Tabela 4 – Absorções características no IV dos grupos funcionais estudados.

GRUPO FUNCIONAL	TIPO DE VIBRAÇÃO	VALOR ESPERADO	VALOR OBSERVADO	AMOSTRAS	REGIÃO
ÍON FOSFATO (PO_4^{2-})	$\nu P=O$	1500-1200	1480	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	E
	$\nu P-O$	1200-850	800	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	H
	$\delta O-P-O$	650-300	490	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	J
ÍON CARBONATO (CO_3^{2-})	$\nu C=O$	~1607	1500	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	E
	$\nu_{sim} C-O$; $\nu C-O$ e $\delta O-C=O$	~1292-1080	1125	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	D
	$\delta_{assim} C-O$	~1504-1492	----	----	E
	$\delta_{oop} O-C=O$	~868	866	A1	D
ÍON HIDRÓXIDO (OH^-)	$\nu O-H$	3700-3500	3562	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	B
	$\nu O-H$	3200-2800	2926	A3, A7, A8,	A

	(H ₂ O)			A9	
AMIDA -(C=O)NH-	γ N-H	3330-3060	3300	A2, A8, A9	B
	γ C=O (amida I)	1640	1642	A4	B
	δ N-H (amida II)	1570-1515	1559	A5, A6, A8	D
ÂNION CARBOXILATO (R-COO ⁻)	δ_{assim} O- C=O	1650-1550	1627	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A8, A9	C
	ν_{sim} O-C=O	1400	----	----	---
ÁCIDO CARBOXÍLICO (R-COOH)	ν O-H	3300-2500	2926	A3, A7, A8, A9	
	ν C=O	1720-1706	----	----	---
	ν C-O	1320-1210 (1315-1280)	1314,	A3, A6	F
	δ O-H	1440-1395	1423	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	E
	δ_{oop} O-H	920	1099	A1, A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9	H

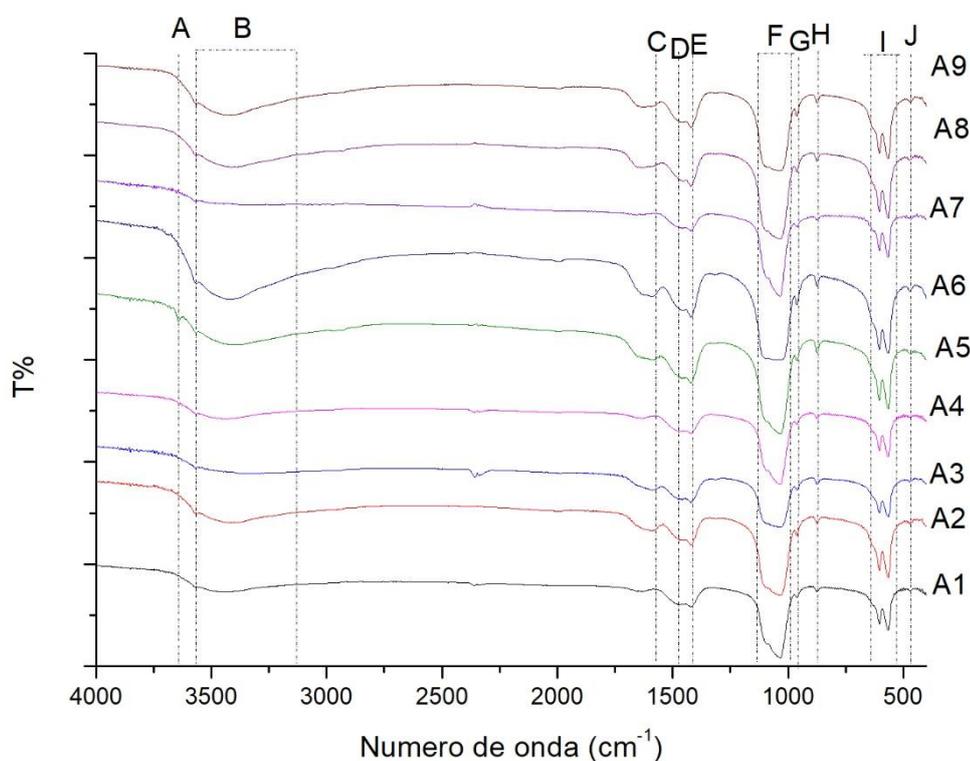


Figura 4 – Espectros de FTIR das apatitas sintetizadas após os três períodos de envelhecimento estudados.

A amostra controle com um dia de envelhecimento (A1), apresenta deformação axial de O-H em aproximadamente 3457 cm^{-1} , as bandas apresentadas em 3575 cm^{-1} e 630 cm^{-1} são referentes à deformação angular do íon OH^- . Aproximadamente em 1650 cm^{-1} observa-se a deformação axial de C=O do íon CO_3^{2-} e de C-O em 1460 cm^{-1} . Ainda verifica-se deformação angular em 870 cm^{-1} fora do plano e uma deformação angular no plano em 655 cm^{-1} . Também é possível observar bandas características do íon PO_4^{3-} , há uma deformação axial de P=O em 1420 cm^{-1} e diversas bandas de deformação axial de P-O entre 900 cm^{-1} e 1200 cm^{-1} já de deformação angular é possível observar uma banda em 498 cm^{-1} referente a O-P-O (ANGELO, 2008; CAPANEMA, 2014 e SANTOS, 2013).

Na amostra controle com 7 dias de envelhecimento (A4), observa-se as mesmas bandas de absorção da amostra controle (A1), porém, é perceptível uma intensificação nas bandas atribuídas à absorção de CO_3^{2-} . Já nas bandas relacionadas ao grupamento PO_4^{3-} não se observa alterações significativas. A intensificação da absorção nas bandas de CO_3^{2-} se repete na amostra controle com 21 dias de envelhecimento (A7), nos números de onda 1639 cm^{-1} e de 1420 cm^{-1} a 1559 cm^{-1} e em 873 cm^{-1} .

O espectro de FTIR da amostra de gelatina comercial utilizada na síntese dos compósitos é exibido na Figura 5. A banda em aproximadamente 3457 cm^{-1} é referente à deformação axial de carboxila e em 2921 cm^{-1} . Há uma deformação axial de C-H. Em 1640 cm^{-1} observa-se uma banda de deformação axial de C=O da amida. Os grupos de C=O da carboxila são constatados em aproximadamente 1562 cm^{-1} . Ainda, deformação axial de C-N de amida e do grupo C-C-O em 1447 cm^{-1} e 1078 cm^{-1} , respectivamente (ANGELO, 2008 e PEDROSO, 2009).

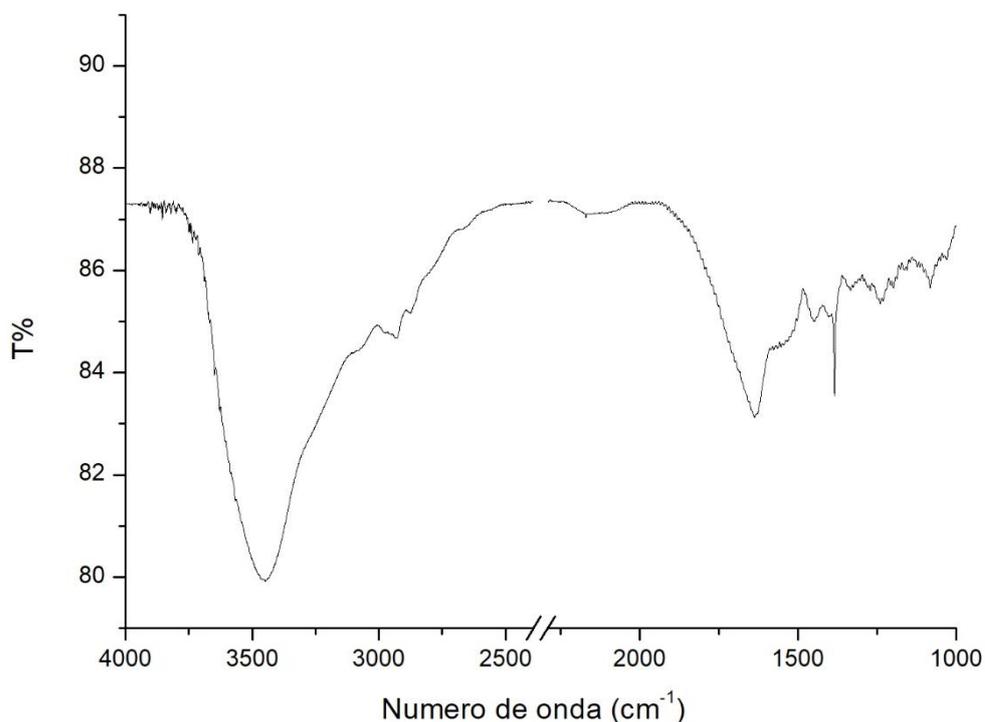


Figura 5 – Espectro FTIR da amostra de gelatina comercial.

Quando comparados os espectros dos compósitos HAP/GEL com o da gelatina utilizada na síntese, é possível observar a intensificação de algumas bandas. Nas amostras controle A1, A4 e A7 as bandas em aproximadamente 900, 1450 e 1600 cm^{-1} referentes ao íon CO_3^{2-} se apresentam menos intensas nas amostras onde não há adição de gelatina, o mesmo acontece com as bandas referentes ao íon OH^- em 3550 e 620 cm^{-1} . Nos espectros de FTIR ocorre a intensificação das bandas. Relembrando os difratogramas de raios X, foi possível observar também um alargamento dos picos, que possivelmente se deu devido à presença de CO_3^{2-} e a diminuição do diâmetro dos cristalitos que foram atribuídas a ligações entre o Ca^{2+} e íons R-COO^- , com essas características se torna coerente supor mais uma vez que ocorreu a interação da gelatina com a HAP.

5.3 MEV

As imagens de MEV apresentadas nas Figuras 6, 7 e 8, permitem observar a diferença na superfície das amostras. Inicialmente na figura 6, é possível visualizar a

HAP sem adição de gelatina com 7 dias de envelhecimento, os grânulos apresentam forma acicular, se encontram mais dispersos e a superfície apresenta elevada irregularidade.

Já a figura 5 que se trata da amostra com 7 dias de envelhecimento e com concentração de gelatina de 6 g L⁻¹, apresenta uma modificação sutil na aparência dos grânulos, com aspecto mais homogêneo.

Na micrografia da amostra com 7 dias de envelhecimento com adição de gelatina na concentração de 8 g L⁻¹, observa-se uma superfície ainda mais uniforme com o mesmo aspecto cimentício da amostra discutida anteriormente. Esta aparência mais cimentícia apresentada nas amostras com adição de gelatina pode estar relacionada às fortes interações entre os íons de Ca²⁺ e os íons presentes na gelatina R-COO⁻ (ANGELO, 2008).

A qualidade das imagens dificultou a visualização de maiores detalhes quanto à morfologia das amostras, uma vez que o equipamento de MEV tem baixa resolução (aumento máximo de 3500 vezes). Desta forma, a comparação com dados teóricos tipicamente publicados com resoluções bastante superiores pode ser equivocada.

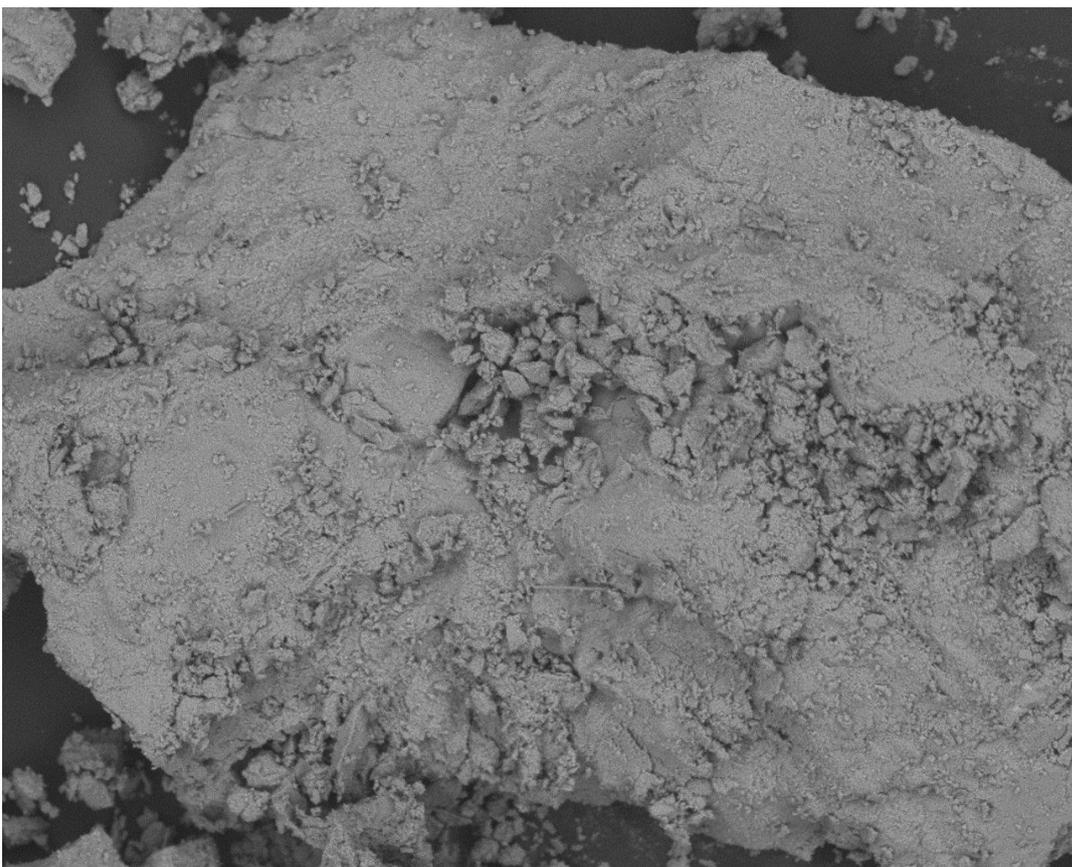


Figura 6 – Imagem MEV Amostras A4 aumento de 500x.

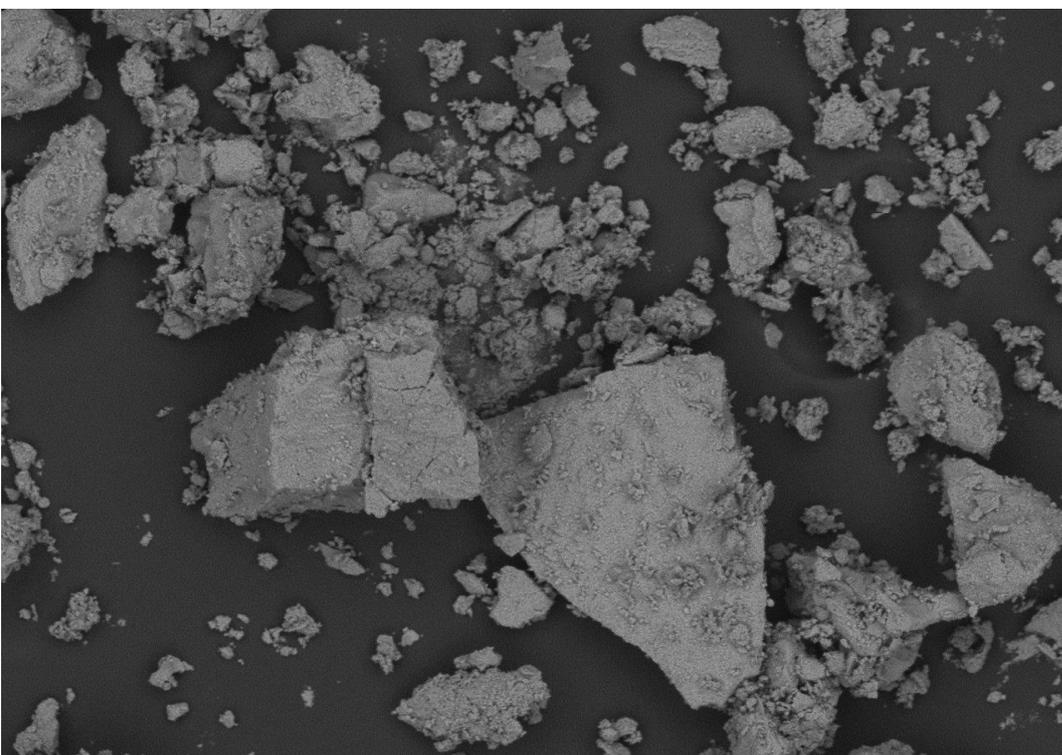


Figura 7 – Imagem MEV Amostra A5 aumento de 500x.

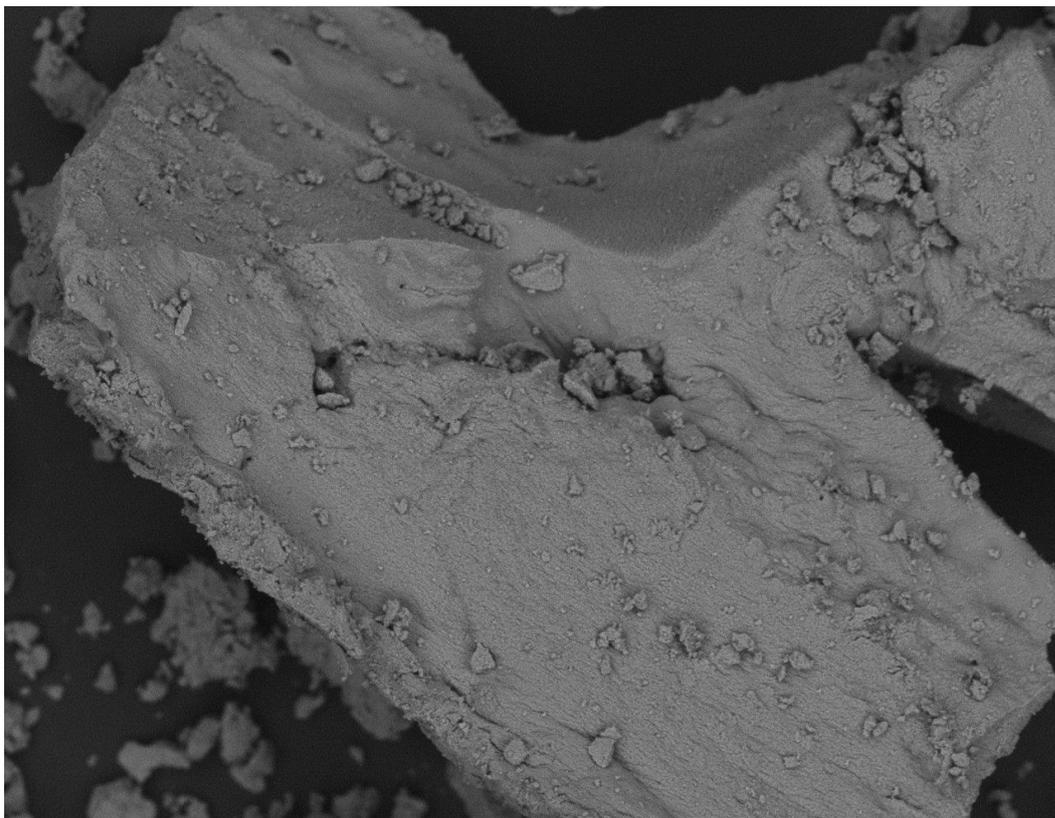


Figura 8 – Imagem MEV Amostra A6 aumento de 500x.

5.4 ANÁLISE TÉRMICA (TG)

As Figuras 9, 10 e 11 apresentam as curvas de TG e dTG das amostras sintetizadas.

Ao se analisar as curvas de TG e dTG observa-se que as amostras controle (A1, A4 e A7) apresentam eventos de perda de massa distintos das demais amostras. Esta diferença pode ser atribuída à ausência de gelatina.

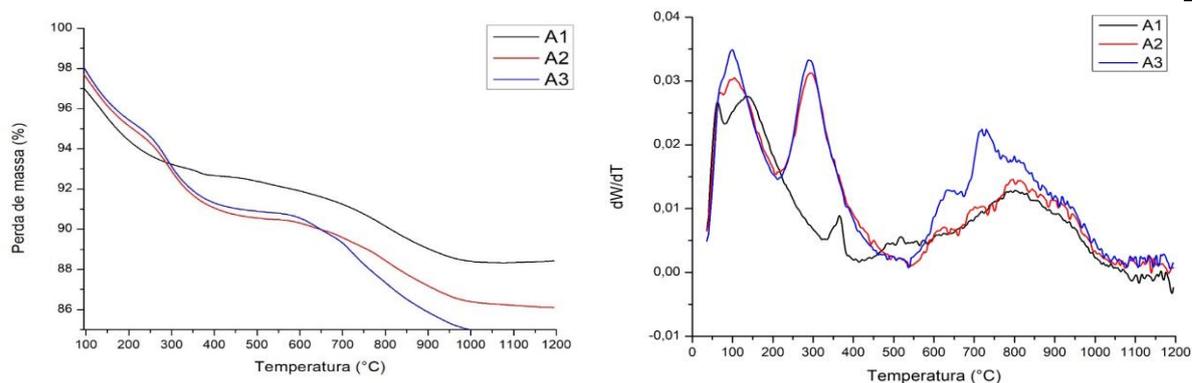


Figura 9 – Curvas TG e dTG das amostras A1, A2, A3.

Os eventos observados no intervalo de 100 a 138°C estão provavelmente relacionados à perda de água fisicamente adsorvida na superfície da HAP. Caracteriza também o primeiro estágio de perda de massa da gelatina. Em aproximadamente 300°C, verifica-se uma perda de massa nas amostras A2 e A3, que pode ser atribuída a termodegradação do colágeno (PEDROSO, 2009). E as perdas de massa a partir de 300°C, podem estar associadas a eventos relativos a vaporização da água de cristalização da HAP, decomposição da matéria orgânica e impurezas. Na região de alta temperatura, a perda de massa em aproximadamente 800°C pode estar relacionada ao processo de descarbonatação dos cristais da HAP, sendo mais evidente nas amostras com maior concentração de gelatina e maior período de envelhecimento (ARAÚJO, 2016).

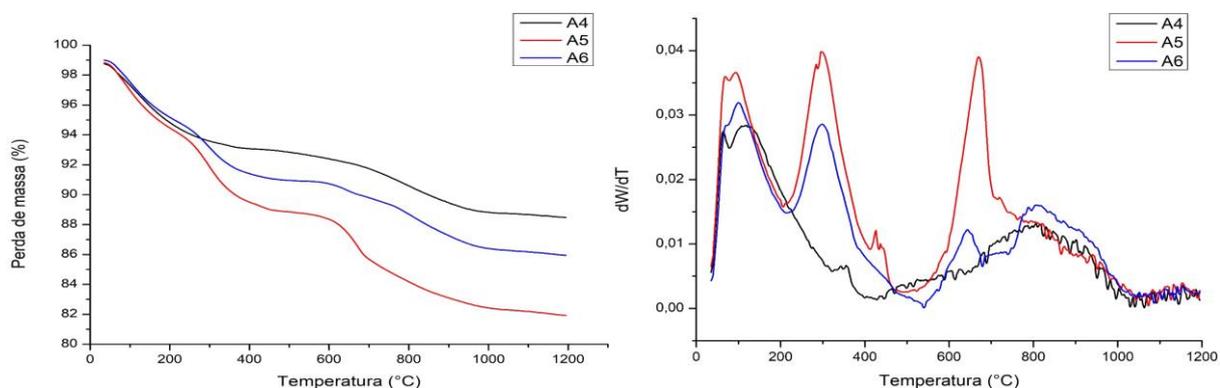


Figura 10 – Curvas TG e dTG das amostras A4 A5 A6.

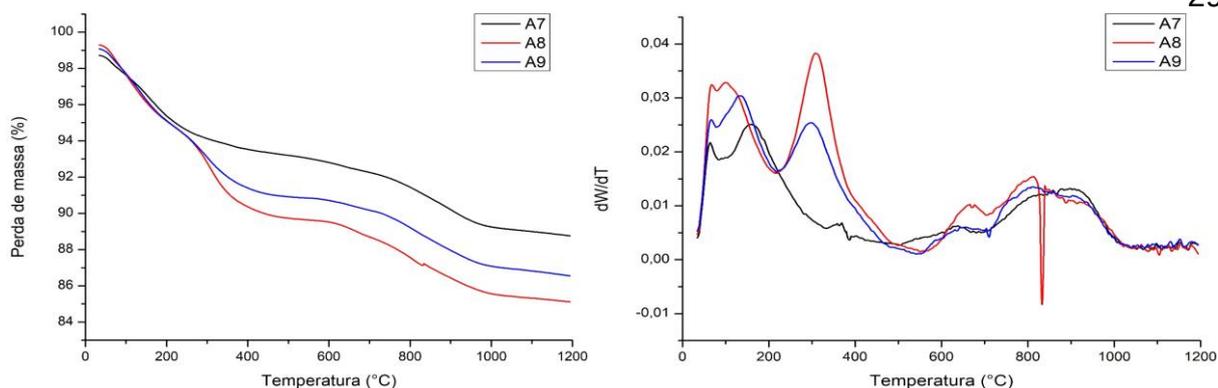


Figura 11 – Curvas TG e dTG das amostras A7 A8 A9.

É possível observar que a amostra A8 apresenta um evento onde ocorre um sensível aumento de massa. Na literatura não foi encontrada nenhuma explicação para tal, logo, imagina-se que este evento pode ter sido originado de um erro de instrumentação, considerando que a balança do equipamento de análise térmica é extremamente sensível.

Os eventos de perda de massa apresentados para as amostras com maior período de envelhecimento e maior concentração de gelatina, condiz com as interpretações realizadas a partir dos dados de FTIR onde ocorre uma intensificação das bandas de CO_3^{2-} , e também o alargamento dos picos do DRX e a diminuição do diâmetro de cristalito, devido à presença de gelatina nas amostras.

6 CONCLUSÕES

O Objetivo do trabalho era a obtenção de HAP/GEL por meio da reação de precipitação. A partir dos resultados obtidos foi possível chegar as seguintes conclusões:

- A síntese via úmida, se mostrou eficiente na obtenção do biomaterial HAP/GEL.
- A partir das análises realizadas foi possível observar a incorporação da gelatina à estrutura da HAP.
- A síntese realizada em sistema aberto possibilitou a incorporação de íons carbonato, observados pelas diferentes técnicas utilizadas para caracterização do material.
- A análise de DRX permitiu observar picos característicos da HAP, mas também foram observados picos referentes a calcita, que possivelmente foram gerados pela incorporação do íon carbonato. O cálculo de tamanho de cristalito apresentou uma diminuição de tamanho de cristalito nas amostras que continham gelatina se comparados ao controle e se comparando os períodos de envelhecimento observou-se um aumento das amostras com maior período de envelhecimento.
- As análises de FTIR mostraram além da incorporação dos íons CO_3^{2-} a estrutura da HAP à incorporação dos íons de gelatina como os grupos N-H e R-COO⁻, além de grupos como o PO_4^{3-} e OH^- característicos da HAP.
- Os resultados obtidos pelo MEV não foram tão satisfatórios devido sua baixa resolução.
- Os resultados observados pela técnica de termogravimetria permitiram verificar três eventos, o de perda de massa da água, o de perda de massa da gelatina e por fim reações possivelmente de oxidação. Além de possibilitar a verificação da estabilidade térmica da gelatina.

REFERÊNCIAS

ANGELO, L. C. **Síntese e caracterização de nanocompósitos hidroxiapatita gelatina obtidos pelo método de precipitação utilizando o método de Rietveld e IVTF**. 2008. 122 f. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa- PR, Brasil. 2008.

ARAÚJO, M. S. O.; FOOK, M. V. L.; FURTAFO, G. T. S.; SILVA, M. F. A.; MELO, O. B. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita carbonatada obtida pelo método de precipitação**. CONGRESSO LATINO AMERICANO DE ÓRGÃOS ARTIFICIAIS E BIOMATERIAIS. 2012, Campina Grande-PB, Brasil.

ARAÚJO, P. M. A. G.; LEAL, E.; BICALHO, S. M. C. M.; SILVA, M. R. S.; COSTA, A. C. F. M. **Avaliação das propriedades estruturais, morfológicas, térmicas e magnéticas da hidroxiapatita para aplicação no tratamento da osteomielite**. In: 60º CONGRESSO BRASILEIRO DE CERÂMICA, 2016, Águas de Lindóia.

BOW, J.S.; LIOU, S.C.; CHEN, S. Y. Structural characterization of room-temperature synthesized nano-sized β -tetracalcium phosphate. **Biomaterials**, 25, pp. 3155-3161, 2004.

CAPANEMA, N. S. V.; **Síntese e caracterização de biocerâmicas à base fosfatos de cálcio modificado com nióbio**. 2014. 163 f. Dissertação de mestrado. Escola de Engenharia de Materiais e Metalúrgica - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte- MG, 2014.

CUNHA, M. A. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada obtidos por aspersão de solução em chama**. 2010. 60 f. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil.

Da SILVA, M. H. P. **Recobrimentos de titânio com hidroxiapatita: desenvolvimento do processo de deposição eletrolítica e caracterização biológica in vitro**. COPPE/UFRJ, UFRJ, Rio de Janeiro, 1999. 166 p.

DAGUANO, J. K. M. F. **Biovidros e vitrocerâmicos bioativos do sistema 3CaO.P2O5-SiO2-MgO para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais, mecânicas e biológicas**. 201p. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2011.

DAMODARAN S, PARKIN K. L, FENNEMA O. R. **Química de alimentos de Fennema**. 4. ed. Porto Alegre (RS): Artmed; 2010.

EANES, E. D. Program Crystal Growth Characteristics. vol. 3, p. 3-15, 1980.

EL SHAFEI, G. M. S; PHILIP, C. A.; MOUSSA, N. A. Fractal analysis of hydroxyapatite from nitrogen isotherms. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 277, p. 410-416, 2004.

ELLIOTT, J. C. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates. v. 18. **Amsterdam: Elsevier**, 1994. 404 p.

GIL, M. H; FERREIRA, P. Polissacarídeos como biomateriais. **Química 100**, p.72-74, 2006.

HENCH, L. L. Bioceramics: from concept to clinic. **Journal of the American Ceramic Society**. v. 74, n. 7, p. 1487-1510, 1991.

HENCH, L.L.; WILSON, J. An Introduction to Bioceramics. **World Scientific**, v.1, p. 139-180, 1993.

HSU, F. Y.; CHUEH, S. C.; WANG, Y. J. Microspheres of Hydroxyapatite/ Reconstituted Collagen as Supports for Osteoblast Cell Growth. **Biomaterials**, v. 20, p. 1931-1936, 1999.

IBGE, INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Perfil dos Idosos Responsáveis pelos Domicílios**. Disponível em: <<https://ww2.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/25072002pidoso.shtm> >. Acesso em: 20 outubro. 2017.

KANNAN, S.; BALAMURUGAN, A.; RAJESWARI, S. Bio-Composites: A Review of Literature. **Trends in Biomaterials & Artificial Organs**, v. 14, p. 30-36, 2001.

KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R.; ALVES, O. Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, p. 518-522, 2000.

LAWSON, A. C.; CZERNUSZKA, J. T. Collagen-Calcium Phosphate Composites. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers. Part H. **Journal of**

Engineering in Medicine, v. 212, p. 413-425, 1998.

LeGEROS, R.Z. Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates. **Clinical Orthopaedics and Related Research**, v.1, n.395, p.8198, 2002.

LEHNNINGER, A. L. **Funções das proteínas**. In: Princípios de Bioquímica. 4. Ed., São Paulo: Sarvier, 1998. p. 118-142.

LI, J.; CHEN, Y.; YIN, Y.; YAO, F.; YAO, K. Modulation of nano-hydroxyapatite size via formation on chitosan–gelatin network film in situ. **Biomaterials**, v. 28, p. 781–790, 2007.

MAZZAROLO, J. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita manométricas com adição de prata**. 2013. 38 f. Monografia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil.

MEARS, D.C. *Materials and Orthopaedic Surgery*. Baltimore.: Williams and Wilkms Co., 1979.

NARASARAJU, T. S. B.; PHEBE, D. E. Review – Some Physico-Chemical Aspects of Hydroxyapatite. **Journal of Materials Science**, v. 31, p. 1-21, 1996.

PARRY, D. A. The Molecular and Fibrillar Structure of Collagen and its Relationship to the Mechanical Properties of Connective Tissue. **Biophysical Chemistry**, v. 29, p. 195-209, 1988.

PEDROSO, M. G. V. **Estudo comparativo de colágeno hidrolizado e comercial com adição de PVA**. 2009. 71 f. Dissertação de mestrado. São Carlos. 2009.

RIGO, E.C.S.; *et al.* Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. 2007. **Rev. Dental Press Periodontia Implantol**, Maringá, v. 1, n. 3, p. 39-50, jul./ago./set. 2007.

RODRIGUES, L. R. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita e titânia nanoestruturadas para a fabricação de compósitos**. 2008. 114 f. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP, Brasil.

SANTOS, M.H.; **Síntese e caracterização de biocompósitos fosfatos de**

cálcio/colágeno dopados com zinco. 2005. 179 f. Tese de Doutorado. Escola de Engenharia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte- MG, 2005.

SILVA, T. F.; PENNA, A. L. B. Colágeno: Características químicas e propriedades funcionais. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v. 71, n. 3, p. 530-539, 2013.

SIVAKUMAR, M.; RAO, K. P. "Preparation, Characterization and In Vitro Release of Gentamicin from Coralline Hydroxyapatite-Gelatin Composite Microspheres. **Biomaterials**, v. 23, p. 3175-3181, 2002.

VALLET-REGÍ, M; González-Calbet, M.J. Calcium phosphates as substitution of bone tissues. **Progress in Solid State Chemistry**, v.32, p. 1 – 31, Jul. 2004.

VAN BLITTERSWIJK, C. A. e Grote, J. J.; **Biomaterials** 1985, 6, 246.

VARMA, H. K.; YOKOGAWA, Y.; ESPINOSA, F. F.; KAWAMOTO, Y.; NISHIZAWA, K.; NAGATA, F.; KAMEYAMA, T. In-vitro Calcium Phosphate Growth Over Functionalized Cotton Fibers, **Jor. Of Materials. Science: Materials in Medicine, KlumwerAcademic Publishers Chapman & Hall.**, vol. 10, number 10-11, USA, 1999.

VIIDIK, A.; VUUST, J. Biology of collagen. London: **Academic Press**. V.1, 1980. p.313 - 324.

VON RECUM, A.F.; LABERGE, M. Educational goals for biomaterials science and engineering:perspective view. **J. Appl. Biomater**, v.6, p.137-144, 1995.

WILLIAMS, D.F., Definitions in Biomaterials. European Society for Biomaterials. **Amsterdam: Ed., Elsevier**, 1987, 72 p.

WOLF, K. L. **Propriedades físico-químicas e mecânicas de biofilmes elaborados a partir de fibra e pó de colágeno**. Dissertação de mestrado. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 2007.

YANNAS, I.V. Natural Materials. In: RATNER, B.D.; HOFFMAN, A.S.; SCHOEN, F.J.; LEMONS, J.E. Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. San Diego: **Academic Press**, 1996. Chapter 2.7, p.84-94.

