

# UFAL

CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS  
DEPARTAMENTO DE FÍSICA

**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

***Estudo Estrutural e Avaliação da citotoxicidade  
de uma Hidroxiapatita dopada com Silício  
preparados por Reação Mecano-Química***

por

*Maximiliano Jesús Moreno Zapata*

W} ã^! • ãæ^Á^á^! æ^Á^Áæ [ æ

Campus A. C. Simões  
Tabuleiro dos Martins  
57.072-970 - Maceió - AL.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS  
INSTITUTO DE FÍSICA

***Estudo Estrutural e Avaliação da Citotoxicidade de uma Hidroxiapatita  
dopada com Silício preparados por Reação Mecano-Química***

MAXIMILIANO JESÚS MORENO ZAPATA

Maceió

2012

MAXIMILIANO JESÚS MORENO ZAPATA

**ESTUDO ESTRUTURAL E AVALIAÇÃO DA CITOTOXICIDADE DE UMA  
HIDROXIAPATITA DOPADA COM SILÍCIO PREPARADOS POR  
REAÇÃO MECANO-QUÍMICA**

*Dissertação apresentada ao Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Física.*

*Orientador: Prof. Dr. Jandir Miguel Hickmann*

Maceió

2012

**Catálogo na fonte**  
**Universidade Federal de Alagoas**  
**Biblioteca Central**  
**Divisão de Tratamento Técnico**

**Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos**

- M843e Moreno Zapata, Maximiliano Jesús.  
Estudo estrutural e avaliação da citotoxicidade de uma hidroxiapatita dopada com silício preparados por reação mecano-química / Maximiliano Jesús Moreno Zapata. – 2012.  
126 f. : il.
- Orientador: Jandir Miguel Hickmann.  
Dissertação (Mestrado em Física) – Universidade Federal de Alagoas.  
Instituto de Física. Maceió, 2012.
- Bibliografia: f. 122-126.
1. Reação mecano-química. 2. Silício - Hidroxiapatita. 3. Proliferação celular.  
I. Título.

CDU: 538.911:543.442.3

**PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

***“Estudo estrutural e avaliação da citotoxicidade de  
uma hidroxiapatita dopada com silício preparada  
por reação mecano-química”***

**por**

***Maximiliano Jesús Moreno Zapata***

A Banca Examinadora composta pelos professores Jandir Miguel Hickmann (orientador), do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas, Eduardo Jorge da Silva Fonseca, do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas e Sergio Ribeiro Teixeira, do Instituto de Física da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, consideram o candidato aprovado com grau “A”.

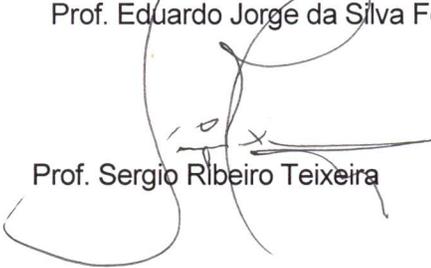
Maceió, 12 de abril de 2012



Prof. Jandir Miguel Hickmann



Prof. Eduardo Jorge da Silva Fonseca



Prof. Sergio Ribeiro Teixeira

*Dedico este trabalho ao melhor físico  
que eu já conheci na minha vida. . .*

*Meu Pai!!!*

## **AGRADECIMENTOS**

- o A Deus sou grato, muito grato por esta oportunidade;
- o Aos meus pais, José e Carmen, por tudo, simplesmente tudo;
- o Ao meu Orientador, o Prof. Dr. Jandir Miguel Hickmann, pela orientação do presente trabalho, pela confiança, motivação e amizade;
- o Ao Prof. Dr. Justiniano Quispe Marcatoma, pelos muitos anos de convivência acadêmica e profissional com quem pude aprender muito e pela maravilhosa amizade;
- o À Licenciada Mirtha Pillaca Quispe do Instituto de Física da Universidade Nacional Mayor de San Marcos, pela síntese das amostras, pela confiança e amizade;
- o Ao prof. Dr. Márcio André Rodrigues Cavalcanti de Alencar e ao Prof. Dr. Eduardo José da Silva Fonseca, pela amizade e ajuda nas situações acadêmicas e não acadêmicas;
- o Ao Prof. Dr. Emiliano de Oliveira Barreto do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas, pelo estímulo e incentivo na realização dos testes biológicos, pelas discussões e pela amizade, também ao estudante Thiago Santos pelos ensaios feitos e pela amizade;
- o Ao OPTMA, em especial a Geovana D. Webler pela paciência e amizade, também sou grato com Patrícia por tudo o que ela faz, sem ela não existiria o OPTMA, e mais uma pessoa especial, a minha chefe Ana, pela ajuda nas minhas medidas, e por sempre me fazer lembrar o uso do jaleco no laboratório;
- o Ao Prof. Dr. Sérgio Ribeiro Teixeira do Instituto de Física da UFRGS, pelas discussões sob o SAXS, XRD e pela grande amizade;
- o Ao Dr. Adriano Friedrich Feil da UFRGS, pelo interesse e discussões nos resultados obtidos pelo MR, pelos conselhos e amizade;

- o Ao Doutorando Pedro Migowski do Instituto de Química da UFRGS, pela maravilhosa amizade, e pelas interessantes discussões sobre diferentes tópicos da Física Experimental;
- o Ao Doutorando Renato Vitalino Gonçalves do Instituto de Física da UFRGS, pela ajuda nas medidas de MEV, pela discussão dos resultados obtidos no MR e o trabalho nas minhas visitas ao Instituto, pela confiança e amizade;
- o Ao Dr. José Marcos Sasaki do Instituto de Física da Universidade Federal do Ceará, pela ajuda, conselhos, colaboração e amizade;
- o Ao Dr. Robert Fisher pesquisador do OPTMA, pelas discussões, interesse nos resultados obtidos, pela motivação e amizade;
- o Ao Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal de Rio Grande do Sul, pelas medidas de Microscopia Eletrônica de Varredura;
- o Aos meus irmãos, Eruben, Angela, Carla, Paula, Threesha, Pino e César, pelo apoio, pelo estímulo, pela companhia além da distância, os amo muito;
- o Ao meu grande amigo, o prof. Benjamin Tang Fernandez, pelos maravilhosos conselhos, pela amizade e pela força;
- o Ao mestrando César Abraham Castañeda Marcelo do Instituto de Física de UFES, pelas discussões acadêmicas, conselhos e descontrações além da distância;
- o Ao GIMC pela formação;
- o Aos professores do Instituto de Física da Universidade Federal de Alagoas;
- o À maravilhosa Ester Magalhães Farias, Secretária do Instituto de Física da UFAL, por ter sempre um tempo para cada estudante, por sua valiosa amizade;
- o À Raíssa Aguiar, pela maravilhosa amizade;
- o À Lívia Cristina, pela companhia e amizade;
- o À maravilhosa galera Peruana em Maceió, em especial à Mestre Vanessa Suárez, por ter salvado minha vida, obrigado Vane;
- o À FAPEAL e o CNPq, pelo suporte financeiro.

## RESUMO

No presente trabalho foram estudados pós de Hidroxiapatita (Hap) e Hidroxiapatita dopada com Silício (HapSiX, X=0,0; 0,1; 0,2; 0,5; 0,7; 1,0) em diferentes concentrações preparados por Reação Mecano-Química (RMQ) utilizando-se como precursor alternativo para a síntese a casca de ovo da galinha por seu alto conteúdo de Carbonato de Cálcio. Após disso, os pós obtidos foram aquecidos separadamente a 600°, 700° e 900° durante 6 horas para cada amostra. O estudo estrutural foi realizado com a técnica de Difração de Raios X( DRX) e o Método Rietveld (MR), as análises morfológicas foram realizadas com Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), EDX e Mapeamento Químico (MPQ), além disso, fizeram-se estudos biológicos para avaliar a citotoxicidade das amostras preparadas. Os resultados por DRX apresentaram a presença da monofase associada à Hidroxiapatita para HapSiX=0,5, além disso foram encontradas para outras concentrações fases associadas ao Fosfato Tricálcico, Oxido de Cálcio, Silicatos de Cálcio e Quartzo. Os resultados pelo MR apresentaram mudanças nos parâmetros da rede devido ao material dopante, assim como, uma grande diminuição do tamanho dos cristais com o aumento do material dopante. Os resultados obtidos por MEV, EDX e MPQ apresentarem uma boa porosidade assim como uma grande homogeneidade nas amostras de Hap e HapSi para todas as concentrações. Os ensaios citotóxicos apresentarem uma grande proliferação celular para as amostras com Silício em comparação com as sem Silício, além disso, observou-se diferenças relacionadas ao tamanho dos pós.

Palavras Chave: *Reação Mecano-Química. Silício-Hidroxiapatita. Proliferação Celular.*

## ABSTRACT

In this work we studied powders Hydroxyapatite (Hap) and hydroxyapatite doped silicon (HapSiX, X = 0.0, 0.1, 0.2, 0.5, 0.7, 1.0) at different concentrations prepared by Mechano-Chemical reaction (RMQ) using alternate as a precursor for the synthesis of the eggshell of the chicken by its high content of calcium carbonate. After addition, the obtained powders were heated separately at 600 °, 700 ° and 900°C for 6 hours for each sample. The structural study was performed with the technique of X-Ray Diffraction (XRD) and Rietveld Method (RM), the morphological analyzes were performed with Scanning Electron Microscopy (SEM), EDX and Chemical Mapping (MPQ), moreover, made it biological studies is to evaluate the cytotoxicity of the samples prepared. XRD results showed the presence of single phase associated with hydroxyapatite to HapSiX = 0.5, were also found for other strengths phases associated with Tricalcium Phosphate, calcium oxide, calcium silicates and quartz. The results showed changes in the MR parameter of the network due to the dopant material, and a large crystal size decreased with increasing dopant material. The results obtained by SEM, EDX and MPQ present a good porosity as well as a great homogeneity in the samples of Hap and HapSi for all concentrations. The present test a cytotoxic cell proliferation for the large samples in comparison with the silicon without Silicon also observed differences related to the size of the powders.

*Keywords: Mechano-Chemical Reaction, Hydroxyapatite, Silicon, Cell Proliferation.*

## Lista de Tabelas

2.1	Notação das amostras HapSi preparadas	44
2.2	Posições atômicas para o Silício	51
2.3	Posições atômicas para o NaCl	51
2.4	Posições atômicas para o $Al_2O_3$	52

## Lista de Figuras

1.1	Estrutura Cristalina da Hidroxiapatita	23
1.2	Características estruturais do Fosfato Tricálcico	24
1.3	Características estruturais do Óxido de Cálcio	25
1.4	Características estruturais do Quartzo	26
1.5	Esquema geométrico da Condição de Bragg	28
1.6	Difratômetro de Raios X – LCMMAT	29
1.7	Diagrama dos perfis Experimental, Teórico e a Diferença no MR	32
2.1	Padrão de difração de raios X das matérias-primas usadas na síntese de Hap e HapSi	43
2.2	Equipamento de Moagem de Alta Energia SPEX-8000 Mixer Mill	45
2.3	Sistema Vibratório do Equipamento de Moagem	45
2.4	Recipiente de Polietileno Altamente Endurecido e bilhas de óxido de Zircônio	46
2.5	Fotomicrografia da cultura de fibroblastos. Cultura de fibroblastos da linhagem FGH utilizada experimentalmente. Aumento de 200X	48
2.6	Refinamento Rietveld do Corundum	53
2.7	Padrões de difração de raios X das misturas dos pós, onde os (*) pertencem a fase do Si e os + a fase NaCl	54
2.8	Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(20%)NaCl(80%)	56
2.9	Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(50%)NaCl(50%)	57
2.10	Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(80%)NaCl(20%)	58
3.1	Evolução da síntese de HapSi(x=0,0) com o Tempo de moagem	61
3.2	Evolução estrutural da HapSi(x=0,0) com a Temperatura, onde os asteriscos identificam a fase associada à Hidroxiapatita e a cruz a fase associada à TCP	63
3.3	Evolução estrutural da HapSi(x=0,1) com a Temperatura, onde os (*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita e a (+) a	

	fase associada à TCP	64
3.4	Evolução estrutural da HapSi(x=0,2) com a Temperatura, onde os (*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita e a (+) a fase associada à TCP	65
3.5	Evolução estrutural da HapSi(x=0,5) com a Temperatura, onde os (*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita e o (!) à aparição da fase Quartzo	66
3.6	Evolução estrutural da HapSi(x=0,7) com a Temperatura, onde os (*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita, o (!) ao Quartzo e os (°) ao Óxido de Cálcio	67
3.7	Evolução estrutural da HapSi(x=1,0) com a Temperatura, onde os (*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita, o (!) ao Quartzo, (°) ao Óxido de Cálcio e a (X) ao Silicato de Cálcio	68
3.8	Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,0) com a Temperatura	71
3.9	Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,1) com a Temperatura	73
3.10	Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,2) com a Temperatura	75
3.11	Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,5) com a Temperatura	77
3.12	Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,7) com a Temperatura	79
3.13	Refinamento Rietveld da HapSi(x=1,0) com a Temperatura	81
3.14	Variação do tamanho dos cristalitos da HapSi a 900°C com o percentagem do dopagem	82
3.15a	Mudanças nos parâmetros da rede a e c para as amostras a 900°C segundo a quantidade do dopagem	83
3.15b	Variações no volume da HapSi a 900°C segundo os percentagem do dopagem	83
3.16	Imagem morfológica da HapSi(x=0,0)	84
3.17	Imagem morfológica da HapSi(x=0,1)	85
3.18	Imagem morfológica da HapSi(x=0,2)	86
3.19	Imagem morfológica da HapSi(x=0,5)	87
3.20	Imagem morfológica da HapSi(x=0,7)	88
3.21	Imagem morfológica da HapSi(x=1,0)	89
3.22	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,0) tratada a 900°C	90
3.23	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,1) tratada a 900°C	90

3.24	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,2) tratada a 900°C	91
3.25	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,5) tratada a 900°C	91
3.26	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,7) tratada a 900°C	92
3.27	Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=1,0) tratada a 900°C	92
3.28	Mapeamento Químico HapSi(x=0,0)	93
3.29	Mapeamento Químico HapSi(x=0,1)	95
3.30	Mapeamento Químico HapSi(x=0,2)	96
3.31	Mapeamento Químico HapSi(x=0,5)	97
3.32	Mapeamento Químico HapSi(x=0,7)	98
3.33	Mapeamento Químico HapSi(x=1,0)	99
3.34	Teste de viabilidade celular pelo ensaio de MTT. Os resultados são expressos como média (+/-) erro padrão da média (EPM)	100
3.35	Fotomicrografia dos fibroblastos durante o tratamento nos grupos avaliados	101

## SUMÁRIO

Introdução	1
<b>1 REVISÃO TEÓRICA</b>	<b>4</b>
<b>1.1 Os Biomateriais</b>	<b>4</b>
1.1.1 Classificação segundo sua aplicação	5
1.1.1.1 Metais e Ligas Metálicas	5
1.1.1.2 Materiais Cerâmicos	5
1.1.1.3 Polímeros	6
1.1.1.4 Compósitos	6
1.1.2 Classificação segundo o seu tipo estrutural	6
1.1.2.1 A Hidroxiapatita	6
1.1.2.2 A Hidroxiapatita dopada com Silício	8
1.1.2.3 O Fosfato Tricálcico	9
1.1.2.4 O Oxido de Cálcio	9
1.1.2.5 O Quartzo	10
<b>1.2 Difração de Raios X</b>	<b>11</b>
<b>1.3 O Método Rietveld</b>	<b>15</b>
1.3.1 Introdução	15
1.3.2 O Método	16
1.3.2.1 Cálculo da intensidade ponto a ponto	17
1.3.2.2 Fator de estrutura	18
1.3.2.3 Função do perfil	19
1.3.2.4 Fator de Lorentz e Polarização	21
1.3.2.5 Orientação Preferencial	22
1.3.2.6 Intensidade da radiação do fundo	23
1.3.2.7 Análise quantitativa de fases	23
1.3.2.8 Os fatores indicadores da qualidade do refinamento	23
<b>2 MÉTODOS EXPERIMENTAIS</b>	<b>25</b>
<b>2.1 Materia Prima</b>	<b>25</b>
<b>2.2 Princípios básicos da síntese por Reação Mecano-Química</b>	<b>27</b>
<b>2.3 Caracterização das amostras</b>	<b>30</b>

2.3.1	Difração de Raios X	30
2.3.2	Método Rietveld	30
2.3.3	Microscopia eletrônica de Varredura	30
2.3.4	Avaliação da Citotoxicidade	30
1	Cultura de Células	30
2	Preparo do Extrato	31
3	Ensaio de viabilidade Celular	32
<b>2.4</b>	<b>Trabalhos preliminares</b>	<b>33</b>
2.4.1	Informações estruturais dos materiais testes	33
2.4.1.1	Silício – Si	33
2.4.1.2	Cloreto de Sódio – NaCl	34
2.4.2	Criação do arquivo instrumental	34
2.4.3	Testes	37
2.4.3.1	Amostra A	39
2.4.3.2	Amostra B	40
2.4.3.3	Amostra C	41
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>43</b>
<b>3.1</b>	<b>Análise estrutural (Qualitativo) – Difração de Raios X</b>	<b>43</b>
<b>3.2</b>	<b>Análise estrutural (Quantitativo) – Método Rietveld</b>	<b>53</b>
<b>3.3</b>	<b>Análise da Morfologia</b>	<b>65</b>
3.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura	65
3.3.3	Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva	71
3.3.3	Mapeamento Químico	74
<b>3.4</b>	<b>Avaliação da Citotoxicidade – MTT</b>	<b>81</b>
<b>4</b>	<b>CONCLUSÕES</b>	<b>83</b>
	<b>APÊNDICE A</b>	<b>85</b>
	<b>APÊNDICE B</b>	<b>86</b>
	<b>REFERENCIAS</b>	<b>103</b>

## INTRODUÇÃO

A tentativa de substituir partes do corpo humano seja por perda ou por algum tipo de malformação remontam há tempos muito antigos na história da humanidade [1], existem numerosos relatos onde o homem procura soluções para este tipo de “problema” [2]. Os grandes e recentes avanços da tecnologia permitiram que cientistas e clínicos desenvolvam diferentes tipos de materiais com a capacidade de melhorar e corrigir a qualidade de vida de milhares de pessoas.

Quando uma parte do organismo perde a sua função ou morfologia, devido à dano traumático, ou algum tipo de processo patológico ou mesmo o envelhecimento do indivíduo, aquele defeito pode ser tratado e em alguns casos corrigido por duas vias: uma delas é chamada **transplante**, onde tecidos ou órgãos vivos são colocados para corrigir o defeito, a outra via são os **implantes**, nesse caso são utilizados materiais artificiais para restaurar e/ou corrigir o defeito [3,4].

O desenvolvimento de novos materiais para utilização em implantologia pode ser efetuado através da criação de um novo material, pelo aperfeiçoamento do material existente, pela modificação da composição química, física e estrutural do mesmo. Uma das principais áreas de estudo e na qual se baseia o nosso trabalho de pesquisa é a de regeneração óssea e dental, para isso o material ideal deve possuir a capacidade de adesão firme ao tecido ósseo e apresentar características mecânicas ao desempenho das funções dos tecidos ou órgãos dentários que se pretende substituir.

Um dos materiais potencialmente importantes para seu uso como substituto de defeitos ósseos são os fosfatos de cálcio sintéticos, em especial ressalta-se a importância da Hidroxiapatita (Hap), Fosfatos Tricálcicos (TCP) [5], Fosfatos de Cálcio Amorfo (FCA), entre outros [6,7]. Legeros et al [8] reportam que a mistura formada por Hap e o TCP apresentaram melhoras consideráveis na resposta biológica em comparação ao Hap e o TCP usados individualmente.

A Hidroxiapatita tem como fórmula química  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ , e é a fase mineral que compõe o tecido osso, esta é usada como substituto de partes pequenas do osso, assim como também para o recobrimento de implantes [9-14], ela apresenta uma estrutura hexagonal com grupo espacial  $P6_3/m$  [15]. Estudos feitos por Carlisle [16,17] mostram a importância do silício na formação e calcificação dos ossos. Na atualidade foram reportados em uma grande variedade de trabalhos onde a incorporação do Silício na estrutura da Hidroxiapatita, melhora grandemente a bioatividade do material, acelerando com isto diversos processos biológicos [18-20].

Um dos métodos visados como o mais indicado para o estudo estrutural de um material cristalino é o Método Rietveld (MR), desenvolvido por Hugo Rietveld no ano 1969 [21], tal interesse se deu tendo em vista o crescente interesse na síntese de novos materiais, os quais são normalmente obtidos na forma policristalina, e na grande importância do conhecimento de suas estruturas cristalinas e moleculares na compreensão de suas propriedades físicas. Com o MR podemos obter com precisão informações, tais como: parâmetros da rede, posições e distâncias interatômicas, vibrações atômicas, fatores de ocupação (relacionados diretamente com a estequiometria do composto), tipos e quantificação das fases, entre outros [22].

No presente trabalho tem como objetivo a caracterização estrutural de uma variedade de amostras de Hidroxiapatita (Hap) e Hidroxiapatita dopadas com silício (HapSi) em diferentes concentrações e aquecidas a diferentes temperaturas. No qual estas amostras foram feitas com o uso do carbonato de cálcio extraído da casca do ovo da galinha e preparadas pela técnica de Reação Mecano-Química (RMQ), além disso, realizar testes de citotoxicidade das amostras com o objetivo de avaliar o seu possível uso clínico.

A dissertação foi organizada em 5 capítulos. No capítulo 1, apresentaremos uma revisão geral sobre os biomateriais assim como os diferentes aspectos teóricos usados na caracterização da Hidroxiapatita. No capítulo 2, apresentaremos a metodologia usada na síntese das amostras, assim como, alguns trabalhos preliminares que nos permitiram avaliar a técnica usada na presente Dissertação. No

capítulo 3, mostraremos e discutiremos os resultados obtidos. No capítulo 4, apresentaremos as conclusões finais e as perspectivas para trabalhos futuros.

## REVISÃO TEÓRICA

Apresentaremos neste capítulo alguns conceitos gerais sobre os biomateriais e as possíveis aplicações das mesmas, além disso, são apresentados os princípios básicos da Difração de Raios X (DRX) e do Método de Rietveld (MR), necessários para o entendimento da presente dissertação. Mais detalhes sobre a Teoria da Difração de Raios X podem ser consultados no livro **Cullity** [23] e o Método Rietveld em **Young** [24].

### 1.1 Os Biomateriais

O objetivo principal de um biomaterial é substituir órgãos ou tecidos. A característica mais importante para escolher um material para seu uso médico é a biocompatibilidade, não toxicidade, e que ele tenha uma boa resposta as solicitações dinâmicas e estáticas a que estará sujeito durante sua aplicação.

O termo “Biomaterial” foi no seu início definido como “um material não vivo, usado como dispositivo médico projetado para interagir com sistemas biológicos” [30]. Pode considerar-se também, de forma geral, que um biomaterial é aquele que interage com os tecidos nos quais são implantados, mantendo sua estrutura e propriedades, sem provocar alterações no meio fisiológico envolvente.

Os biomateriais podem ser classificados sob o ponto de vista do comportamento biológico e da sua composição química. A classificação biológica é baseada na resposta orgânica após a implantação do biomaterial [10,13].

#### 1.1.1 Classificação segundo sua aplicação

##### 1.1.1.1 Metais e Ligas Metálicas

Os metais são utilizados em múltiplas aplicações clínicas, em medicina

dentária e em outras áreas médicas devido às suas propriedades mecânicas e à sua suposta inerteidade.

A rigidez e possível toxicidade, através da liberação de íons que podem provocar metaloses, reações inflamatórias e encapsulação fibrosa, são os principais inconvenientes destes materiais.

Alguns exemplos destes materiais utilizados em medicina são: o aço inox, o titânio, as ligas de titânio-alumínio-vanádio ( $Ti_{64}Al_4V$ ) e as ligas de cromo-cobalto [1].

#### 1.1.1.2 Materiais Cerâmicos

Os materiais cerâmicos, muito estáveis e não reativos, são produzidos a temperaturas superiores a 1000°C.

Em termos físico-químicos, pode-se dizer que os materiais cerâmicos são:

1. Frágeis, duros e resistentes ao desgaste;
2. Altamente resistentes aos ácidos;
3. Estáveis a altas temperaturas;
4. Isolantes térmicos e elétricos.

Esses tipos de materiais podem-se dividir geralmente em três grupos: o primeiro são aqueles constituídos por os cerâmicos oxidados que ao serem implantados nos tecidos orgânicos, mantem-se estáveis e inertes, como exemplo, temos aos Óxidos de Alumina, Óxidos de Zircônio e Óxidos de Magnésio, entre outros [31]. No segundo grupo temos os materiais cerâmicos tipo Fosfatos de Cálcio, possuindo um comportamento biológico diferente. Os materiais mais representativos deste grupo são os Fosfatos Tricálcicos (TCP do inglês, Tri-Calcium Phosphate) e as Apatitas [5-8].

Por último, no terceiro grupo podem se considerar os Vidros de Sílica e os Vidros

Cerâmicos [32, 33].

### **1.1.1.3 Polímeros**

Os polímeros são cadeias extensas de unidades monoméricas repetidas, elas são unidas por ligações covalentes, os tipos de enlace geralmente encontrados são os tipos C-C, elas também contêm átomos de C, N, O, S e Si. Os polietilenos, o polipropileno, o poliuretano, o ácido polilactídico (PLA) e o poli (metacrilato de metilo) – PMMA – são alguns exemplos de polímeros utilizados em implantologia.

### **1.1.1.4 Compósitos**

No sentido de aumentar as propriedades mecânicas e físico-químicas dos biomateriais, podem-se combinar diferentes tipos deles, originando assim os biomateriais compósitos. A característica principal deste tipo de biomateriais é que eles possuem propriedades que os biomateriais isolados não possuem.

Um bom exemplo de biomaterial compósito é o tecido osso, pois ele é constituído por fibras de colágeno e mineral, e a mistura deles vira ao material a obter propriedades biomecânicas excelentes.

## **1.1.2 Classificação segundo o seu tipo estrutural**

### **1.1.2.1 A Hidroxiapatita**

A Hidroxiapatita é um biomaterial do grupo dos cerâmicos bioativos, cuja fórmula química é  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ . Este fosfato de cálcio pode-se obter obtido na forma sintética, pois apresenta características de biocompatibilidade, não é tóxica, estável quimicamente, boa osteocondução e uma grande bioatividade, tais

propriedades fazem que o material sintético possa ser usado no campo médico. A Hap sintética pode ser usada como substituto de partes pequenas do osso, preenchimento de cavidades dentais, recobrimento de implantes metálicos, transporte e liberador de fármacos, entre outros.

O estudo da estrutura deste biomaterial foi realizado há muitas décadas, Aaron e Posner no ano 1958 propuseram a primeira estrutura cristalina a partir da análise de um monocristal, onde o tipo estrutural na qual a Hap estabiliza é uma rede hexagonal com grupo espacial  $P6_3/m$  e parâmetros  $a=b= 9,432$  e  $c= 6,881$  Å,  $\alpha=\beta=90^\circ$  e  $\gamma=120^\circ$  [34]. A estabilidade térmica da Hap vai até os  $1500^\circ\text{C}$ , além disso, possui uma grande capacidade de troca iônica, isso proporciona a grande facilidade de intercambiar íons da rede por outros de tamanho similar (diferença não maior do que 15%) mantendo o mesmo tipo estrutural, entre os íons mais comuns encontra-se  $K, Mg, F, Cl, Br, Si, Fe$  entre outros. A relação ideal entre Ca/P é 1,6667, e as suas propriedades mecânicas variam segundo o seu processo de síntese.

Existe uma grande variedade de métodos de síntese da Hap, entre eles podemos citar os métodos de precipitação, Sol-Gel, Sonoquímico, e cada um deles usam diferentes tipos de materiais precursores. Nosso trabalho de pesquisa baseia-se na caracterização estrutural de pós de Hap preparados por Reação Mecano-Química RMQ, além disso foram usados materiais reciclados como a casca de ovo da galinha, de onde foi obtido o Carbonato de Cálcio necessário para a síntese da Hap. Na Figura 1.1 pode-se observar alguns detalhes da estrutura da Hap.

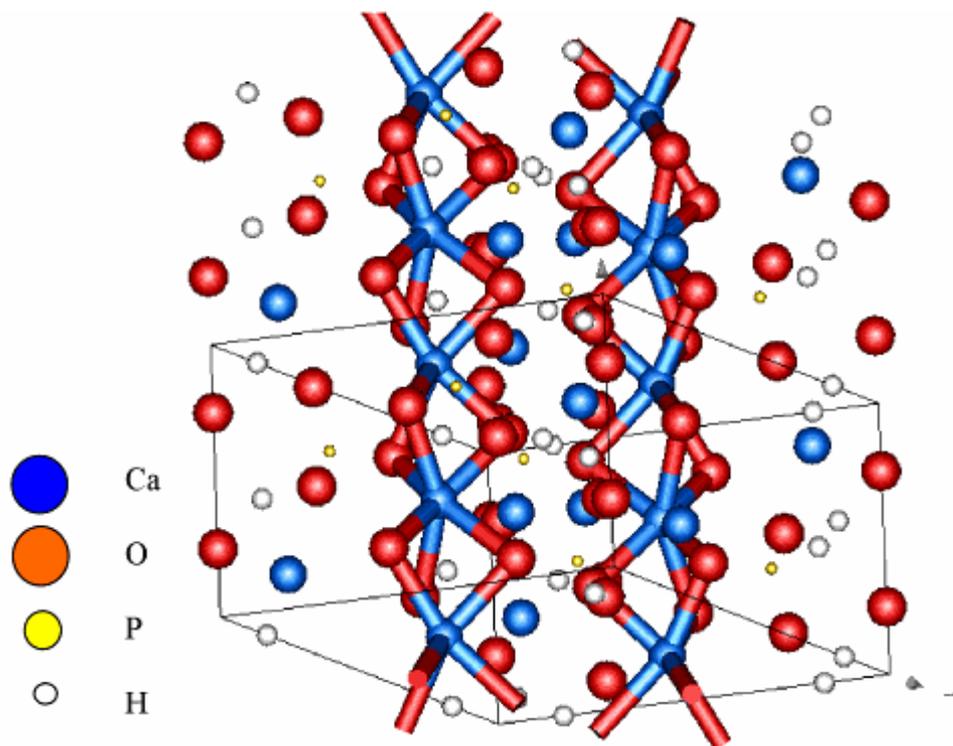
### 1.1.2.2 A Hidroxiapatita dopada com Silício

Em 1970 Carlisle propôs que o silício pode atuar como um excelente aliado no início da mineralização do tecido ósseo [57].

Logo após do proposto por Carlisle, uma grande quantidade de pesquisadores começou a sua labor misturando e substituindo Silício na estrutura da Hidroxiapatita, para isso estabeleceu-se a condição onde o Silício (Si) ocupa as

posições do Fósforo (P) sem a modificação de estrutura inicial, então são usados os mesmos detalhes estruturais para amostras sem dopagem, assumindo que não exista algum tipo de mudança estrutural após da dopagem.

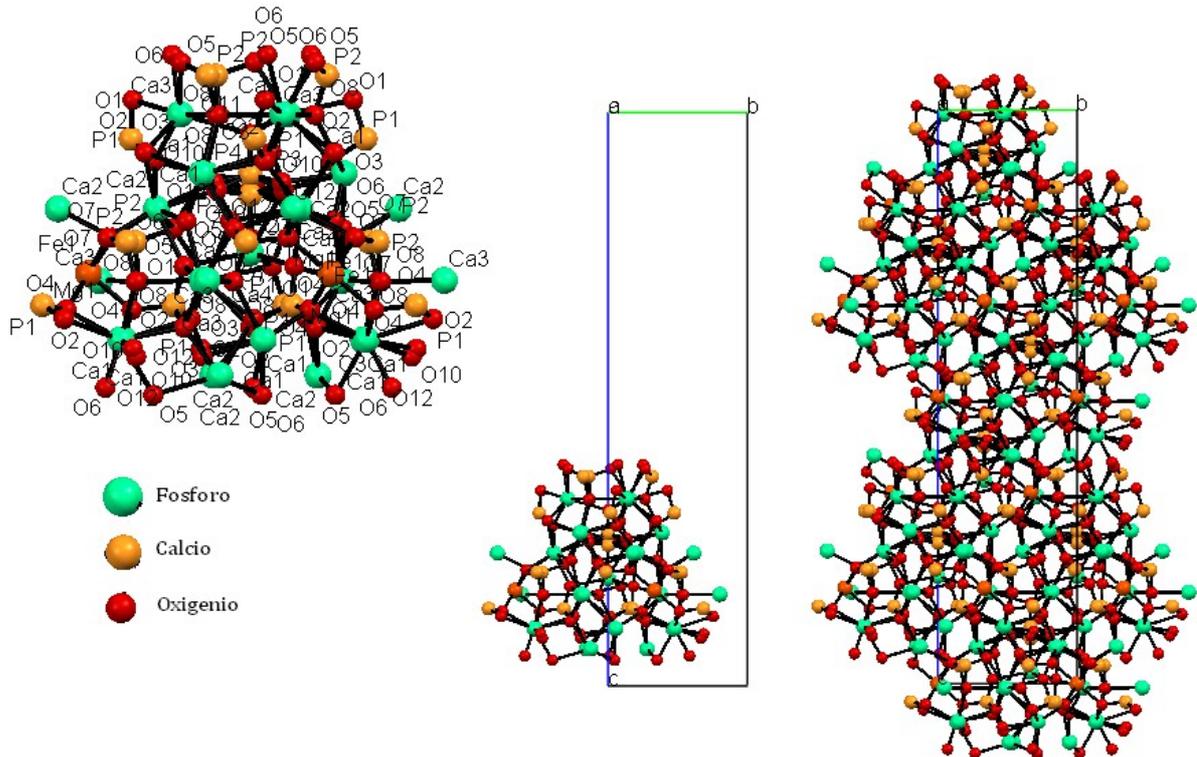
**Figura 1.1: Estrutura Cristalina da Hidroxiapatita**



Fonte: Referência 56

### 1.1.2.3 O Fosfato Tricálcico

**Figura 1.2: Características estruturais do Fosfato Tricálcico.**



Fonte:Referencia 35

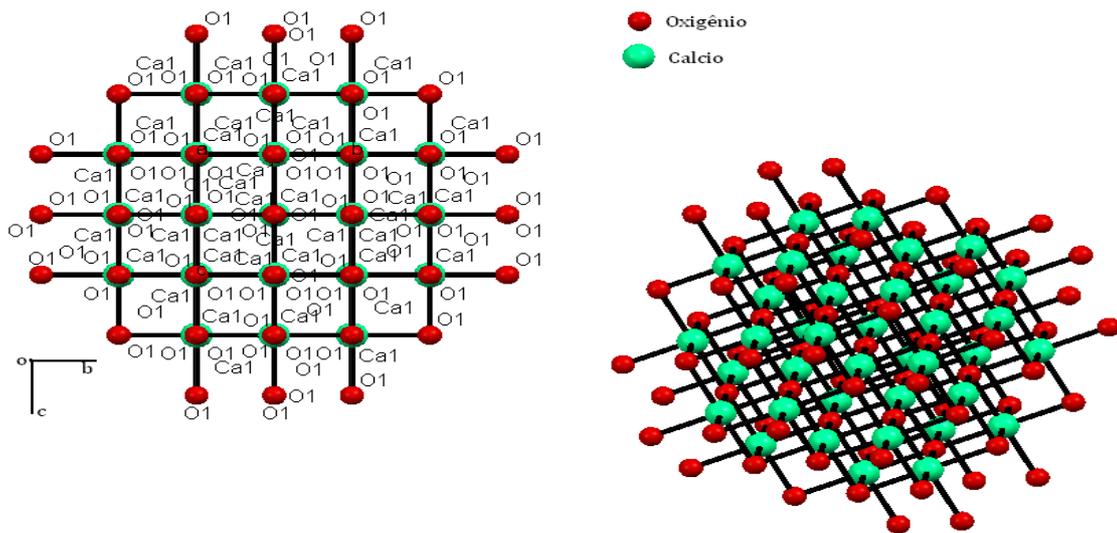
Os parâmetros estruturais foram obtidos do Yashima et al [35], onde o tipo estrutural é Romboédrico, grupo espacial R3c, o número atômico Z=21, e os parâmetros da célula unitária foram  $a=b= 10,4352$  e  $c= 37,4029$  Å. Os ângulos da rede  $\alpha=\beta= 90^\circ$  e  $\gamma=120^\circ$ .

### 1.1.2.4 O Óxido de Cálcio

O Óxido de Cálcio é considerado um biomaterial de grande importância na reparação do tecido dentário [31, 36]. As informações estruturais foram obtidas do banco de dados do Portal de Pesquisa da CAPES [37], onde sistema apresenta

simetria cúbica, grupo espacial  $Fm(-3)m$ , parâmetros de rede  $a=b=c= 4,808 \text{ \AA}$ , o número atômico  $Z= 4$ . Os ângulos da rede são  $\alpha=\beta=\gamma= 90^\circ$ .

**Figura 1.3: Características estruturais do Oxido de Cálcio.**

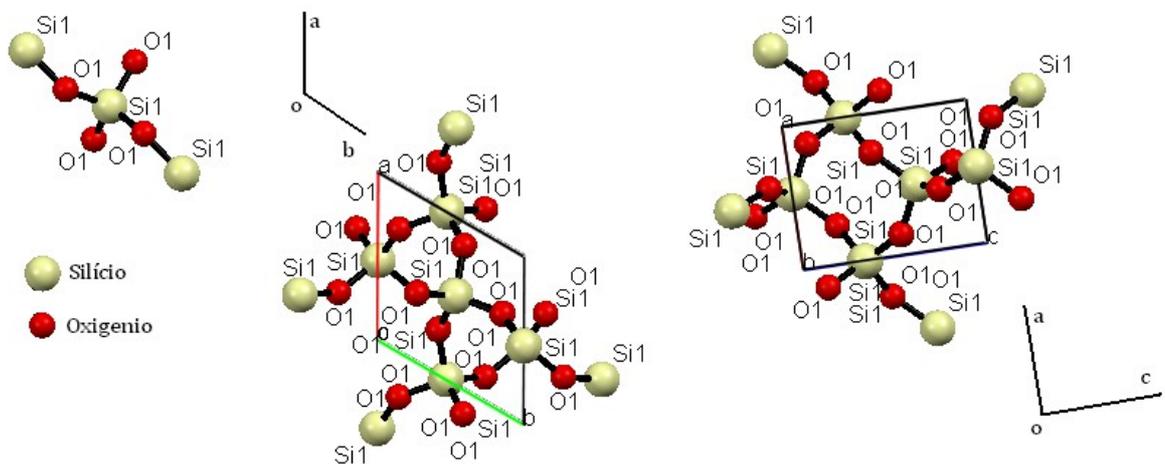


Fonte:Referencia 37

### 1.1.2.5 O Quartzo

Os dados estruturais do Quartzo são: o sistema estrutural Hexagonal, grupo espacial P3221, parâmetros de rede  $a=b= 4.913$  e  $c= 5.404$  Å. Os ângulos da rede  $\alpha=\beta= 90^\circ$  e  $\gamma= 120^\circ$  [37].

**Figura 1.4: Características estruturais do Quartzo.**



Fonte: Referencia 37

## 1.2 Difração de Raios X

A difração de raios X em pó é um poderoso método de ensaio não destrutivo para a determinação de diversas características físicas e químicas dos materiais. A técnica é amplamente usada em todos os campos da ciência e tecnologia, e suas aplicações variam desde simples análises de fases até a quantização das mesmas. Através desta técnica podemos obter ainda informações sobre a célula unitária, textura cristalográfica e análises um pouco mais complexas como o tamanho dos cristalitos, macro e micro tensão interna.

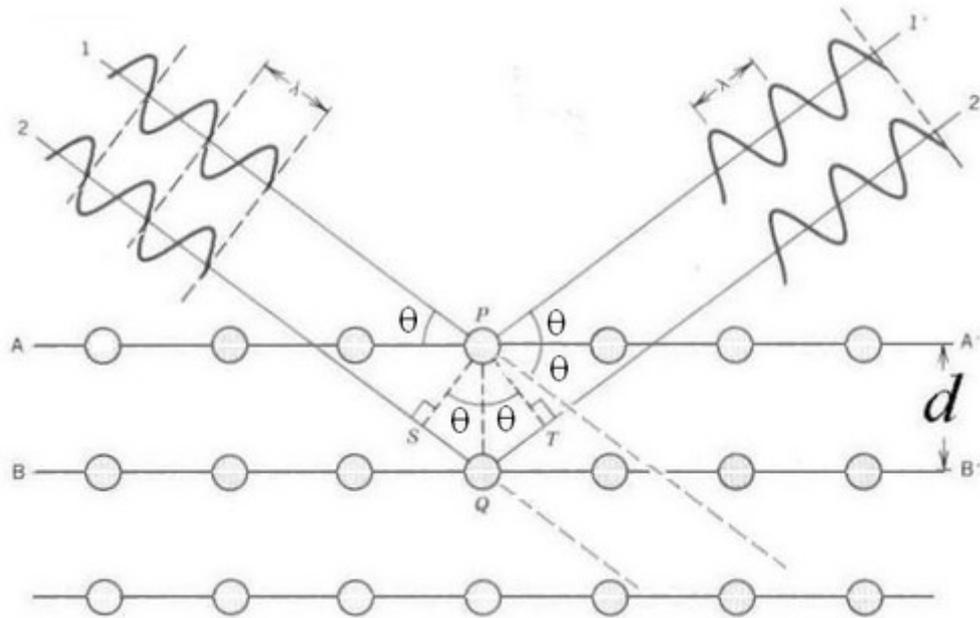
O termo “pó”, como é usado na difração em pó, não estritamente corresponde ao sentido usual do significado da palavra na linguagem comum. Em difração em pó a amostra pode ser uma “substância sólida dividida em partículas muito pequenas” mais também pode ser um bloco sólido, por exemplo, um metal, algum tipo de cerâmica, polímeros, vidros ou até mesmo filmes [25]. A razão para isto é que os parâmetros importantes para definir o conceito de um pó para uma experiência de difração são o número e tamanho dos cristalitos individuais que formam o espécimen. Um pó ideal para uma experiência de difração consiste de um grande número de pequenos e aleatoriamente orientados cristalitos de forma coerente (domínios cristalinos orientados numa só direção). Se o número é suficientemente grande, há sempre cristalitos suficientes em qualquer orientação para obterem-se padrões de difração reproduzíveis. No caso ideal para obter uma medição boa e precisa da intensidade dos raios difratados, o tamanho do grão deve ser uniforme e pequeno, isto é, uns 10  $\mu\text{m}$  ou menos, além disso, vai depender também das características físicas do espécimen, assim como absorção, rugosidade, características geométricas da difração, entre outros.

O fenômeno de Difração de raios X surge como resultado da interação entre os raios X e os elétrons dos átomos, dependendo do arranjo atômico, existirão interferências construtivas ou destrutivas. São construtivas quando a diferença de caminho entre dois raios difratados diferem por um número inteiro de comprimentos de onda.

Esta condição é seletiva e descrita pela equação de Bragg comumente chamada **Lei de Bragg**:

$$2d_H \text{Sen} \theta_H = SQT = n \lambda, \quad (1.1)$$

**Figura 1.5 Esquema geométrico da Condição de Bragg**

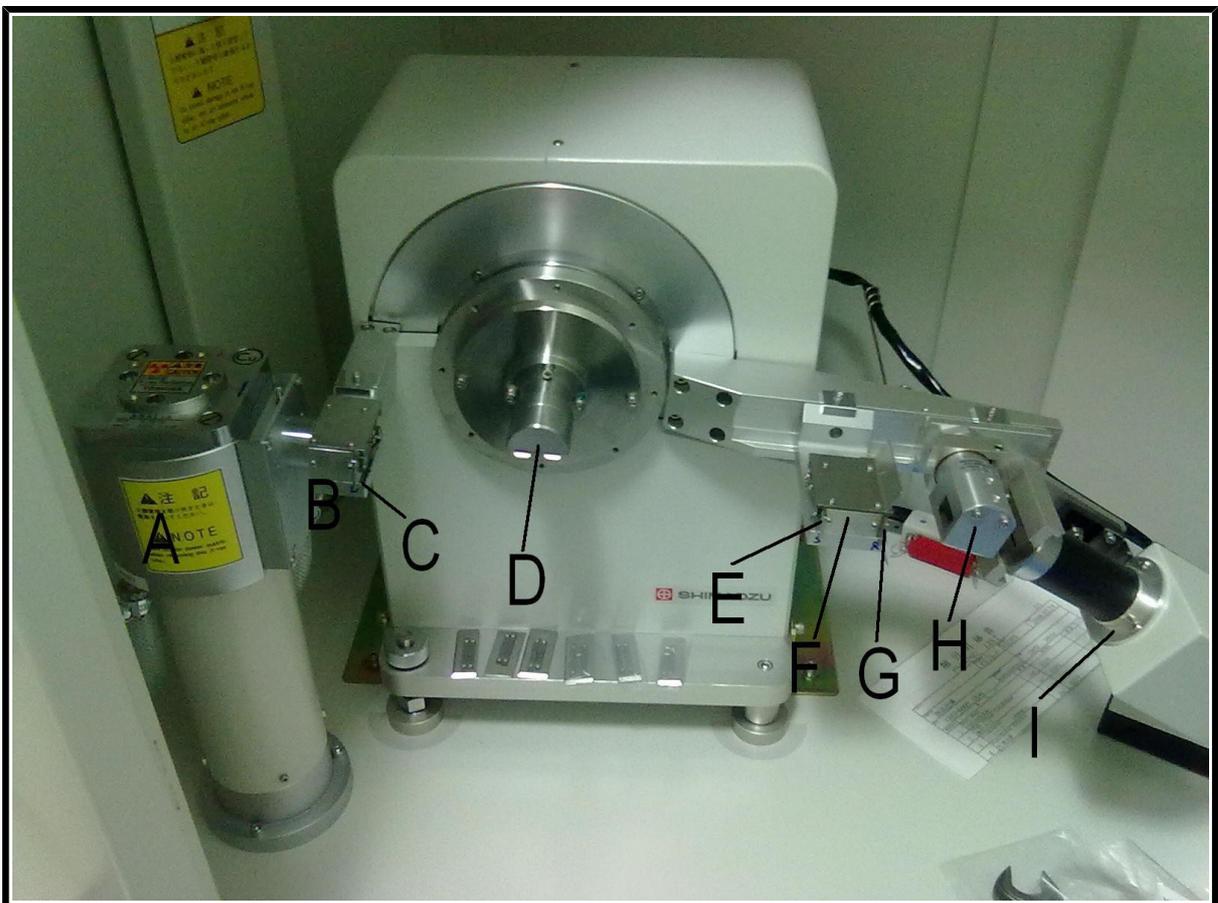


onde  $\lambda$  é o comprimento de onda da radiação incidente,  $d_H$  o espaçamento entre átomos,  $\theta$  o ângulo de Bragg, que é a metade do ângulo incidente e o refletido. O subíndice  $H$  descreve os índices de Miller para cada família de planos.

Existem três fontes de radiação importantes para a Difração: Os raios X, Síncrotron e de Nêutrons. As leis de difração, ou seja, as interferências dos feixes difratados servem igualmente para todos os tipos de radiações. A difração de elétrons também é um bom candidato para resolver aspectos estruturais, mais ela é limitada ao espalhamento coerente e elástico, porém os raios X são mais fáceis de serem obtidos e utilizados em laboratório. Por outro lado a Radiação Síncrotron precisa de um feixe grande de partículas carregadas, fortemente aceleradas num campo elétrico e desviado em campos magnéticos, emitindo além de outros tipos de radiações eletromagnéticas um espectro contínuo de raios X o qual é umas 10<sup>13</sup> vezes mais intenso e brilhante que a de tubos tradicionais de raios X [23 - 25]. Vale salientar, que o uso da radiação Síncrotron esta mais direcionada ao estudo da cinética de reações ou quando as amostras são expostas a condições extremas.

Para as medidas de difração utilizamos um difratômetro XRD-6000 (Shimadzu) com um arranjo geométrico denominado como Geometria Bragg-Brentano (Figura 2.1). Esta geometria consiste na emissão de um feixe de radiação monocromático incidindo em uma amostra na forma de pó, rotacionada um ângulo  $\Theta$  enquanto os dados são coletados por um detector móvel que se movimenta por um caminho  $2\Theta$ .

**Figura 1.6: Difratômetro de Raios X – LCMMAT.**



Fonte: LCMMAT - UFAL

Na configuração da geometria Bragg-Brentano, temos que:

- A fonte **A** gera o feixe de raios X, este feixe após passar pelo colimador de placas paralelas **B** (fendas soller) e pela fenda de divergência **C**, incide na amostra posicionada em **D**,

- A fenda **B** tem a função de limitar a divergência lateral do feixe de raios X, de modo que a superfície da amostra receba o máximo possível da irradiação colimada lateralmente limitando também a irradiação da porta amostra,
- Os suportes da amostra e do goniômetro estão acoplados mecanicamente de modo que o movimento  $2\Theta$  graus do detector é acompanhado pela rotação de  $\Theta$  graus da amostra. Este acoplamento, denominado de condição de parafoco, assegura que o ângulo de incidência e o de reflexão seja igual à metade do ângulo de difração,
- O feixe difratado passa pela fenda **E**, pelo colimador **F** em seguida pela fenda de recepção **G**, logo em seguida pelo monocromador na posição **H** e incidindo no detector em **I**,
- Os colimadores de placas paralelas limitam a divergência axial do feixe, controlando assim parcialmente a forma do perfil da linha difratada,
- O centro da superfície da amostra deve estar no eixo do goniômetro. O eixo do goniômetro deve estar paralelo ao eixo do foco linear, fenda de divergência e fenda de recepção. Os eixos do foco linear e da fenda de recepção estão a distâncias iguais do eixo do goniômetro,
- A intensidade do feixe difratado, variável em função do ângulo  $2\Theta$ , é normalmente expressa através de picos que se destacam da linha de base registrados num espectro de intensidade em função do ângulo  $2\Theta$  ou da distância interatômica **d**, constituindo-se o chamado padrão de difração ou difratograma,
- As intensidades obtidas em ângulos  $2\Theta$ , representadas através dos picos nos difratograma, correspondem à difração do feixe incidente por um determinado conjunto ou família de planos do cristal ou cristais, que possuem a mesma distância interplanar, cada qual com índices de Miller (**hkl**),
- Cada composto cristalino apresenta um difratograma característico, permitindo assim sua identificação através da comparação direta com o

padrão de difração ou difratograma das fases os compostos individuais disponibilizados pelo *International Centre for Diffraction Data, ICDD*.

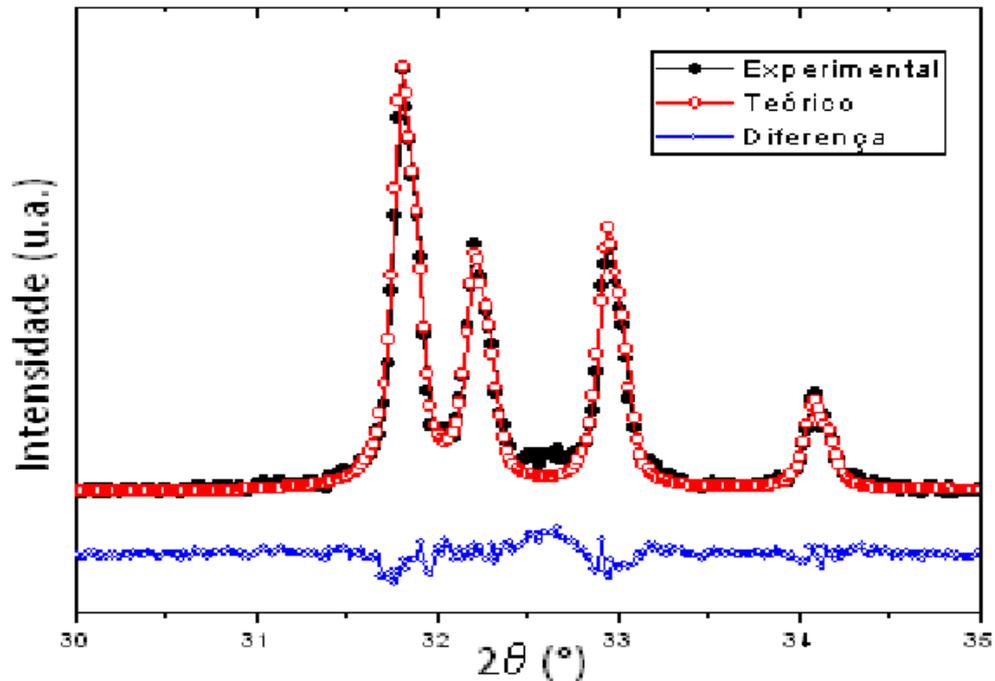
### 1.3 O Método Rietveld

#### 1.3.1 Introdução

Entre 1961 e 1964, Hugo M. Rietveld trabalhava com difração de raios X e de nêutrons por monocristais, para a determinação de suas estruturas cristalinas, pois naquela época a difração de pó era considerada de qualidade inferior. Com experiência na utilização de computadores para o refinamento de estruturas de monocristais, e tendo notado a facilidade destes em lidar com grande quantidade de dados numéricos, Rietveld desenvolveu um método de refinamento de estruturas cristalinas através de dados de difração de pó que se tornou um dos mais importantes métodos de refinamento de estrutura utilizados ultimamente [24].

Esse refinamento é feito através do método de mínimos quadrados, de tal maneira que um difratograma teórico, calculado pelo programa, se aproxime o máximo possível do difratograma experimental. Quando isso acontece dizemos que os valores obtidos para o conjunto dos parâmetros refinados representam a “**melhor solução possível**” para o refinamento, aproximando-se o “**máximo possível**” da estrutura real.

**Figura 1.7: Diagrama dos perfis Experimental, Teórico e a Diferença no MR**



*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas.*

### 1.3.2 O Método

O Método Rietveld (MR) realiza um ajuste no padrão de difração, refinando simultaneamente os parâmetros instrumentais (fendas, fator de polarização, radiação de fundo, comprimento de onda), estruturais (parâmetros de rede, posições atômicas, deslocamentos atômicos, ocupação atômica) e os relacionados com as características físicas da amostra em análise (tamanho do cristalito, microdeformação da rede). O MR permite refinar a estrutura cristalina, porém não resolve uma estrutura desconhecida. Assim deve-se ter um modelo estrutural (grupo espacial, célula unitária e posições atômicas) para começar o refinamento. A função minimizada no refinamento é o resíduo  $M$ , resultado da comparação entre o difratograma experimental e o simulado baseado num modelo estrutural:

$$M = \sum_i w_i (y_i(\text{obs}) - y_i(\text{cal}))^2, \quad (1.2)$$

onde,  $w_i=1/y_i$ , é o peso de cada intensidade,  $y_i(obs)$  e  $y_i(cal)$  são respectivamente, as intensidades observadas (experimentalmente) e calculadas no  $i$ -ésimo passo do difratograma.

A teoria do método de mínimos quadrados requer que as equações sejam lineares e que os pontos sejam linearmente independentes. Como se podem notar pela equação 2.2, os parâmetros e funções relacionados a esta equação não são lineares e, portanto as intensidades variam de forma não linear. Assim, é necessário “linearizá-la” desenvolvendo em série de Taylor e eliminando os termos acima da primeira ordem. O desenvolvimento na série de Taylor é feito em torno de um modelo de parâmetros para  $\mathbf{P}$ , os quais devem ser próximos ao real. Com a função minimização linearizada, obtém-se o mínimo de  $M$  derivando-a com relação a cada parâmetro e igualando a Zero. Ou seja:

$$\partial M / \partial p_j = 0, \quad (1.3)$$

Uma equação será criada para cada parâmetro refinado e então será montado um sistema de  $m$  equações e  $m$  parâmetros. Resolve-se o sistema e novos valores para os parâmetros do conjunto  $\mathbf{P}$  será gerado. Esse novo conjunto de parâmetros é usado como conjunto inicial para um novo ciclo de refinamentos. Assim, de ciclo em ciclo, os parâmetros são refinados até que a convergência dos parâmetros seja obtida.

### 1.3.2.1 Cálculo da intensidade ponto a ponto

O padrão observado é definido pela intensidade dos pontos medidos ( $y_{oi}$ ) num processo de varredura passo a passo com incremento  $\Delta 2\theta$  constante. O difratograma calculado é definido pelos  $n$  pontos calculados ( $y_i(cal)$ ) nas mesmas posições dos pontos observados.

A intensidade calculada é dada por:

$$y_i = \phi_{rsi} \sum_{\phi} S_{\phi} \sum_{h\phi} J_{h\phi} Lp_{h\phi} |F_{(hkl)\phi}|^2 G_{h\phi} a_{h\phi} P_{h\phi} + y_{bi}, \quad (1.4)$$

onde  $\phi_{rsi}$  é a correção da rugosidade superficial no ponto  $i$ ,  $S_\phi$  é o fator de escala,  $J_h$  é a multiplicidade da reflexão  $h$ ,  $Lp_{h\phi}$  é o fator de Lorentz e de Polarização,  $F_{(hkl)\phi}$  é o fator de estrutura,  $G_{h\phi}$  e  $a_{h\phi}$  são, respectivamente, os valores da função perfil e da função assimetria no  $i$ -ésimo ponto,  $P_{h\phi}$  é a função usada para corrigir a orientação preferencial, e  $y_{bi}$  a intensidade da radiação de fundo no  $i$ -ésimo ponto. Nessa equação estamos considerando que apenas um pico de Bragg está contribuindo para a intensidade nesse ponto. A somatória em  $\phi$  leva em consideração todas as fases presentes na amostra e a somatória em  $h\phi$  leva em consideração a superposição de picos de todas as fases.

### 1.3.2.2 Fator de Estrutura

É a função de onda dos raios-X “refletidos” pelo plano  $(hkl)$  de uma célula unitária do cristal. O seu módulo dá a razão da amplitude da radiação espalhada pelo plano  $(hkl)$  de uma célula unitária, pela radiação espalhada por um único elétron nas mesmas condições. É definido pela equação:

$$F_{(hkl)} = \sum_{j=1}^N n_j f_j \sum_r \exp[2\pi(hx_{jr} + ky_{jr} + lz_{jr})], \quad (1.5)$$

onde

$$f_j = f_{j0} \exp[-B_j (\text{Sen } \theta / \lambda)^2], \quad (1.6a)$$

é o fator de espalhamento e  $B_j$  é o deslocamento do átomo  $j$  e  $f_{j0}$  é o fator de espalhamento para o átomo em repouso. No caso de deslocamentos anisotrópicos:

$$f_j = f_{j0} \exp[-1/4(B_{11j^*} h^2 a^{*2} + \dots + 2B_{23j^*} klbc)], \quad (1.6b)$$

onde os asteriscos (\*) designam a célula no espaço recíproco. A relação entre  $B$  e  $U$  (que também descreve os deslocamentos atômicos) é  $B = 8\pi^2 U$ .

Se um átomo está sobre uma posição especial cuja multiplicidade é  $m$ , o fator de ocupação fará a correção nos cálculos do fator de estrutura para incluir a

contribuição apenas das  $m$  posições equivalentes para aquele sítio. Nesse caso, o fator de ocupação é dado por  $n_j = m_j/M$ .

Nos programas da série **DBWS** até a versão 9411, e no programa FULLPROF, essa é a forma que o fator de ocupação é definido. Entretanto, quando se trabalha com materiais não estequiométricos, o fator de ocupação calculado dessa maneira implica em mais uma fonte de erros para o usuário. Assim, a partir da versão **DBWS-9807**, o fator de ocupação foi mudado para “**ocupação do sítio**”, que é igual a 1 se todos os sítios daquela posição estiverem preenchidos. Assim por exemplo, se a multiplicidade do sítio é 18 e todos estiverem preenchidos, então a ocupação do sítio é igual a 1,0 e se apenas 9 deles estiveram preenchidos, então a ocupação do sítio deve ser 0,5. E se dois átomos ( $X_1, X_2$ ) compartilham um sítio cristalográfico, sendo que  $X_1$  ocupa 70% dos sítios e  $X_2$  ocupa os 30% restantes, então o fator de ocupação de  $X_1$  é 0,7 e de  $X_2$  é 0,3. A interpretação de formulas unitária fica mais fácil dessa maneira.

### 1.3.2.3 Função de Perfil

Neste trabalho a função matemática usada para ajustar a forma dos picos de difração foi a *Pseudo-Voigt de Thompson-Cox-Hastings modificada (pV-TCHZ)*. Esta função é simplesmente a função pseudo-voigt, mais os parâmetros da largura em Gauss e Lorentz permitem relacionar os alargamentos com as características físicas de cada fase sendo refinada. Essa função é definida como:

$$pV-TCHZ = \eta L + (1 - \eta)G, \quad (1.7)$$

onde L é a função Lorentziana e é definida como:

$$L = \sqrt{(C_1)^{1/2} / \pi (H_h)^2} [(1 + C_1 (\Delta 2\theta_{ih})^2) / H_h^2], \quad (1.8)$$

onde  $H_h$  é a largura total a meia altura do pico  $h=(hkl)$ ,  $C_1$  é a constante de normalização (=4),  $\Delta 2\theta_{ih}$  é a distância em graus ( $2\theta$ ) da posição do pico de Bragg até o i-ésimo ponto onde a intensidade está sendo calculada (pode ser

negativa ou positiva se o ponto  $i$  está do lado de mais baixo ou mais alto ângulo respectivamente) e  $G$  é a função Gaussiana e é definida como:

$$G = \sqrt{C_0/\pi H_h^2} \exp[-C_0(\Delta 2\theta_{ih})^2/H_h^2], \quad (1.9)$$

onde  $C_0$  é a constante de normalização ( $=4 \ln 2$ ) e o parâmetro  $\eta$  que indica em porcentagem a quantidade de Gaussiano ou Lorentziana participam no perfil de difração no estudo, sendo assim, o  $\eta$  é definido da seguinte maneira:

$$\eta = 1.36603q - 0.47719q^2 + 0.1116q^3, \quad (1.10)$$

$$q = H_L/H, \quad (1.11)$$

$$H = (H_G^5 + AH_G^4 H_L + BH_G^3 H_L^2 + CH_G^2 H_L^3 + DH_G H_L^4 + H_L^5)^{1/5}, \quad (1.12)$$

onde  $A = 2.69269$ ,  $B = 2.42843$ ,  $C = 4.47163$  e  $D = 0.07842$  são constantes de normalização, e as componentes de Gauss  $H_G$  modificada por Young & Desai [50] e de Lorentz  $H_L$  da largura total a meia altura são:

$$\Gamma_G = (U \tan^2 \theta + V \tan \theta + W Z / \cos^2 \theta)^{1/2}, \quad (1.13)$$

$$\Gamma_L = X \tan \theta + Y / \cos \theta, \quad (1.14)$$

Os parâmetros  $Z$  e  $Y$  que variam com  $(1/\cos \theta)$  podem ser relacionados com o tamanho de cristalito através da equação de Scherrer, e os parâmetros  $U$  e  $X$  que variam com  $\tan \theta$  podem ser relacionados com a micro-deformação da rede.

Embora essa função seja mais interessante para refinamentos de estruturas, ela pode apresentar algumas ou muitas complicações devido à grande quantidade de parâmetros altamente correlacionados ( $U, V, W, Z, X, Y$ ) que tornam a convergência um desafio à paciência. Entretanto a sua aplicação pode ser significativamente simplificada, se um refinamento prévio de uma amostra padrão for realizado, e os parâmetros da largura instrumentais obtidos forem usados como parâmetros iniciais ( $U_i, V_i, W_i, X_i, Y_i$ ) para o refinamento do material desejado. Nesse caso, apenas os parâmetros relacionados com as características físicas das amostras devem ser refinados. Ou seja,  $U$  e  $Y$  que variam com  $\tan \theta$  e  $Z$  e  $Y$  que variam com  $(1/\cos \theta)$ . Essa é a forma de usar essa função para análises de

tamanho de cristalito e micro-deformação da rede. Depois do refinamento, subtrai-se dos parâmetros U, X e Y as quantidades obtidas para a amostra padrão (alargamento instrumental) e procede-se da maneira descrita por Paiva-Santos [26]. Esse método, chamado de “**Weighted size-strain analysis**” é baseado no trabalho de Young e Desai e serve apenas para **análises isotrópicas** de tamanho de cristalito e micro-deformação da rede.

Uma vez que o refinamento da amostra padrão foi realizado, já se têm os parâmetros  $(U_i, X_i, Y_i)$  instrumentais, os quais devem ser subtraídos dos valores obtidos para amostra  $(U_a, X_a, Y_a)$  para se obter:

$$\Delta U = U_a - U_i, \quad (1.15a)$$

$$\Delta = X_a - X_i, \quad (1.15b)$$

$$\Delta = Y_a - Y_i, \quad (1.15c)$$

Pode-se obter da equação (1.13) as componentes do alargamento da parte de Gauss relacionado tanto com a micro-deformação quanto com o tamanho de cristalito ( $H_{dG}$  e  $H_{pG}$ ) e, da equação (1.14), as componentes da Lorentz para micro-deformação e tamanho de cristalito ( $H_{dL}$  e  $H_{pL}$ ) como abaixo:

$$H_{dG}^2 = (\Delta U) \tan^2 \theta, \quad (1.16a)$$

$$H_{pG}^2 = Z / \cos^2 \theta, \quad (1.16b)$$

$$H_{dL} = (\Delta X) \tan \theta, \quad (1.16c)$$

$$H_{pL} = (\Delta Y) / \cos \theta, \quad (1.16d)$$

Substituindo-se as equações (1.16) na equação (1.12) temos:

$$H_p = (H_{pG}^5 + AH_{pG}^4 H_{pL} + BH_{pG}^3 H_{pL}^2 + CH_{pG}^2 H_{pL}^3 + DH_{pG} H_{pL}^4 + H_{pL}^5)^{1/5}, \quad (1.17)$$

$$H_d = (H_{dG}^5 + AH_{dG}^4 H_{dL} + BH_{dG}^3 H_{dL}^2 + CH_{dG}^2 H_{dL}^3 + DH_{dG} H_{dL}^4 + H_{dL}^5)^{1/5}, \quad (1.18)$$

O tamanho do cristalito (p) com unidades em Å é calculado usando a equação de Scherrer [23, 38],

$$H_p = k \lambda / p \cos \theta \quad (1.19)$$

e a micro-deformação *r.m.s.*  $\langle \varepsilon \rangle$  é calculada assim:

$$H_d = K_d \langle \varepsilon \rangle \tan \theta, \quad (1.20)$$

Nas equações (1.19 e 1.20) temos que  $k$  e  $k_d$  são constantes que depende da forma dos cristais,  $\lambda$  é o comprimento de onda,  $p$  é o tamanho do cristalito e  $\varepsilon$  a microtensão interna nos cristais.

#### 1.3.2.4 Fator de Lorentz e Polarização

As fontes de raios X, nêutrons e inclusive a radiação Síncrotron possui uma grande banda energética e isto trouxe como consequência uma gama grande de comprimentos de ondas, então para o estudo de policristais é importante conseguir uma excelente monocromatização do feixe, seja de qualquer tipo de fonte de radiação.

Para corrigir este efeito é colocado no difratômetro diversos tipos de monocromadores que são basicamente monocristais crescidos ou cortados em diferentes orientações cristalográficas e com um espaçamento atômico determinado. Para cada monocromador existe um ângulo  $\theta_{Monok}$  onde sua reflexão é máxima e esta é determinada pela condição de Bragg, além disso, as reflexões geradas no monocromador produzem a polarização do feixe o qual depende do ângulo do monocromador  $\theta_{Monok}$ . Para corrigir este efeito ocasionado pela polarização é introduzido o fator de Polarização de Lorentz  $Lp_{h\phi}$ , dado por:

$$Lp_{h\phi} = (1 - K + K \cos^2 2\theta_{Monok} \cos^2 2\theta) / (2 \sin^2 \theta \cos \theta), \quad (1.21)$$

onde K é uma constante que toma os valores 0; 0,5 e 0,1 para os raios X, nêutrons e radiação Síncrotron, respectivamente.

### 1.3.2.5 Orientação Preferencial

A difração em pó baseia-se numa distribuição totalmente randômico dos cristais, assim como, nos tamanhos aparentemente iguais dos cristais. Qualquer desvio de uma distribuição randômico afetarão numa maior ou menor quantidade as intensidades medidas no padrão de difração. Este é um sério problema na hora de resolução estrutural, pois a estrutura esta ligada diretamente com a intensidade integrada dos picos no padrão de difração. Pensemos agora em quantidades diferentes de cristais em forma de agulha que ao serem introduzidas num capilar cilíndrico, as agulhas tenderam ao se orientar com respeito ao plano perpendicular do porta amostra (em pé), e se ao contrário o porta amostra fosse plano, as agulhas tenderam ao se posicionar paralelas ao plano do portamostra (deitadas)

$$P_{h\phi} = G_2 + (1 - G_2) \exp(G_1 \alpha_h^2), \quad (1.22)$$

onde  $G_2$  e  $G_1$  são parâmetros refináveis e  $\alpha_h^2$  é o ângulo entre o vetor de espalhamento e a normal para os cristalitos.

### 1.3.2.6 Intensidade da Radiação de Fundo

A intensidade do fundo ou background é um dos pontos mais complicados na hora de fazer o refinamento Rietveld, a possibilidade da eliminação desse tipo de informação no perfil, surgem como consequência, erros muitos grandes nos indicadores de qualidade do refinamento. Então, é necessário fazer a escolha de um “bom” modelo matemático que consiga plotar o background.

Em nosso trabalho, a intensidade do fundo ou background foi refinada usando “*Linear Interpolation between a set background points with refinable Heights*”, esta função permite a escolha de pontos sobre todo o perfil os quais servem como ponto inicial para o refinamento.

### 1.3.2.7 Análise Quantitativa de Fases (AQF)

Para o AQF, é essencial que duas condições sejam cumpridas:

1. A amostra deve ser cuidadosamente preparada garantindo que seja esta um pó, ou seja, ela deve ser homogênea e deve ter uma grande quantidade de partículas com orientação aleatória (orientação randômico);
2. Os fatores de estrutura de cada fase devem ser corretamente calculados.

Sendo assim, numa mistura de  $N$  fases cristalinas a fração de peso  $W_j$  da fase  $j$  é dada por:

$$W_j = S_j(ZMV)_j / \sum_{i=1}^N S_i(ZMV)_i, \quad (1.23)$$

onde  $W_j$  é a fração de peso da fase  $j$  do total das  $N$  fases cristalinas,  $S_i$  é o fator de escala refinado,  $S_j$  é o fator de escala,  $ZM$  é o peso da célula unitária em unidades de peso atômico e  $V$  é o volume da célula.

### 1.3.2.8 Os fatores indicadores da qualidade do refinamento

O critério usado para avaliar a concordância entre o padrão observado e o calculado, ou seja, a convergência dos parâmetros refinados é dada pelos fatores indicadores. Por meio desses indicadores pode-se avaliar o andamento do refinamento, optando-se por dar prosseguimento, parar ou finalizá-lo.

O fator de perfil ponderado é dado por:

$$R_\varphi = 100 \left[ \frac{\sum_{i=1}^N w_i (y_i - y_{ci})}{\sum_{i=1}^N w_i y_i^2} \right]^{1/2}, \quad (1.24)$$

onde  $w_i = 1/\sigma_{ci}^2$  é peso das observações que são calculadas em cada ciclo,  $\sigma_{ci}^2$  é a variância,  $n$  dá o número de pontos usados no refinamento. Podemos observar que a função no denominador é a função de minimização. Este é o indicador de convergência que ao diminuir a cada novo ciclo de refinamento indica que o

refinamento vai bem. Se este parâmetro aumenta a cada ciclo do refinamento significa que há alguma coisa errada nos parâmetros refinados.

O fator de perfil ponderado esperado é expresso por:

$$R_{\text{exp}} = 100 [N - p / \sum_i w_i y_i^2]^{1/2}, \quad (1.25)$$

onde  $N$  é número de graus de liberdade e  $p$  são os parâmetros refinados.

O indicador de qualidade do ajuste que ao final do refinamento deve estar próximo de **1** é dado por:

$$S = R_{\phi} / R_{\text{exp}}, \quad (1.26)$$

O fator de Bragg é o que avalia a qualidade do modelo estrutural refinado da estrutura cristalina por meio das intensidades integradas.

$$R_B = 100 [ \sum_h |I_{\text{obs},h} - I_{\text{calc},h}| / \sum_h |I_{\text{obs},h}| ], \quad (1.27)$$

onde  $I$  é a intensidade integrada calculada pelo MR.

## MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Neste capítulo serão abordados as condições experimentais na síntese das amostras de Hidroxiapatita com e sem dopagem [43] preparadas no Instituto de Física da Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

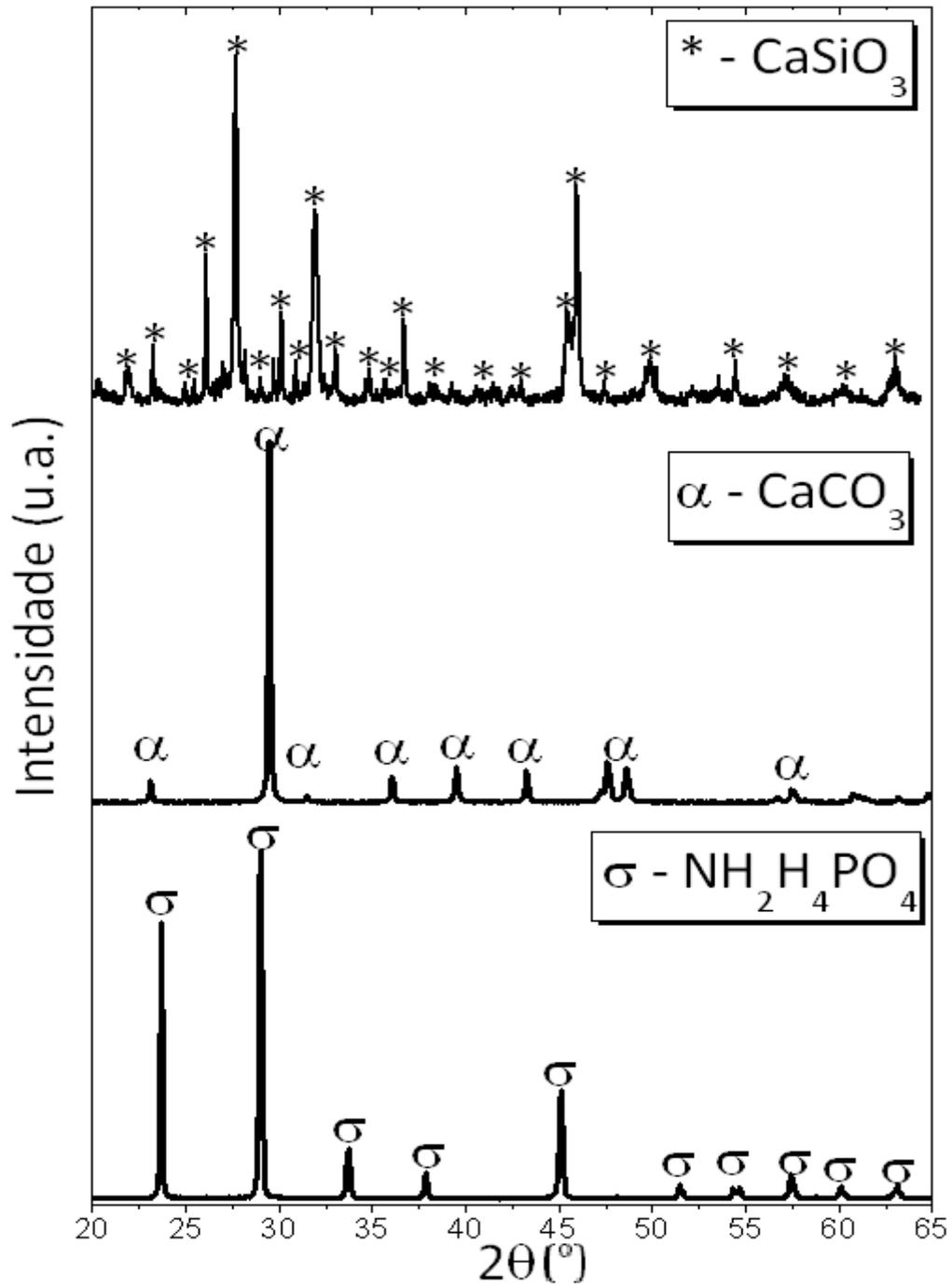
### 2.1 Matéria Prima

Os pós-utilizados para a síntese da Hap e a HapSi foram os seguintes:

1.  $\text{CaSiO}_3$ , foram identificadas duas fases do Silicato de Cálcio (Aldrich, 99% pureza), a ficha de identificação correspondente a primeira fase é o PDF # 72-2297 e à segunda fase é o PFD # 89-6463.
2.  $\text{CaCO}_3$ , o Carbonato de Cálcio extraído da casca de ovo da galinha, ele foi identificado com a ficha PDF# 85-1108.
3.  $\text{NH}_2\text{H}_4\text{PO}_4$ , o Fosfato de Amônio Monobásico (Fisher Chemicals, 99,2% de pureza), foi identificado com a ficha PDF # 85-815.

Os padrões de difração (Figura 2.1) foram identificados usando o Crystallographica Search Match indexado ao banco de dados cristalográficos da JCPDS-ICDD 2003.

**Figura 2.1: Padrão de difração de raios X das matérias primas usadas na síntese de Hap e HapSi.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

## 2.2 Princípios básicos da síntese por Reação Mecano- Química (RMQ)

A técnica usada na síntese das diferentes variedades de Hidroxiapatita foi a Reação Mecano-Química, ela baseia-se principalmente na grande deformação que ocorre na estrutura cristalina dos pós devido à energia cedida pelo alto impacto das bilhas produto da moagem [43 – 49, 51].

Os defeitos estruturais produzidos geram uma alta energia superficial no sistema, além disso, as diminuições do tamanho dos cristalitos ocasionam uma grande tendência a eles se unirem mais, produzindo com isto uma diminuição na temperatura de ignição que é necessária para alguns materiais ativar-se quimicamente.

O equipamento usado para a síntese foi um moagem de alta energia do tipo SPEX 8000 Mixer Mill (Figura 2.2), ele possui um braço fixado na superfície de uma plataforma vibratória (Figura 2.3) a qual é impulsada mecanicamente por um motor de 1/3 HP, o braço prende um recipiente de polietileno altamente endurecido (Figura 2.4).

A relação entre a massa das bilhas dentro do recipiente e os pós da matéria prima foi de 8:1. Após da síntese por RMQ as amostras em pó foram aquecidas num forno tubular sem controle de atmosfera e por 6 horas a 600, 700 e 900° C. A notação usada para identificar o material em estudo é apresentada na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Notação das amostras HapSi preparadas

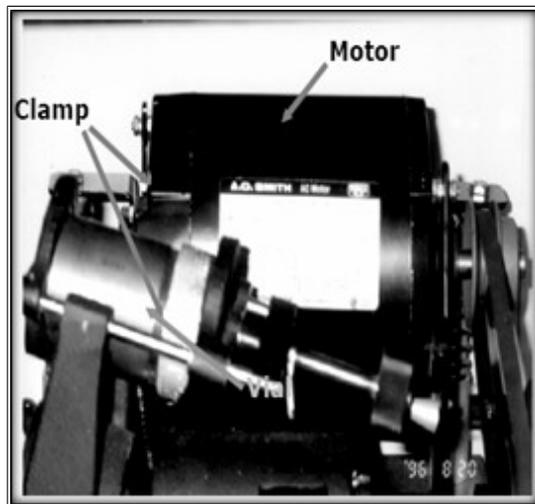
Amostras	Notação
Hidroxiapatita sem dopagem	HapSi(X=0,0)
Hidroxiapatita com dopagem de Silício ao 0,1 % molar	HapSi(X=0,1)
Hidroxiapatita com dopagem de Silício ao 0,2 % molar	HapSi(X=0,2)
Hidroxiapatita com dopagem de Silício ao 0,5 % molar	HapSi(X=0,5)
Hidroxiapatita com dopagem de Silício ao 0,7 % molar	HapSi(X=0,7)
Hidroxiapatita com dopagem de Silício ao 1,0 % molar	HapSi(X=1,0)

**Figura 2.2: Equipamento de Moagem de Alta Energia SPEX-8000 Mixer Mill.**



*Fonte: Laboratorio de Mecano Síntesis - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.*

**Figura 2.3: Sistema Vibratório do Equipamento de Moagem.**



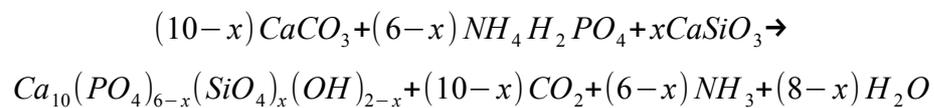
*Fonte: Laboratorio de Mecano Síntesis - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú.*

**Figura 2.4 Recipiente de Polietileno Altamente Endurecido e bilhas de oxido de Zircônio.**



*Fonte: Laboratorio de Mecano Síntesis - Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Perú*

Segundo a estequiometria mostrada aqui:



Foram sintetizadas as seguintes amostras:

1. HapSi(x=0)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2 + 10CO_2 + 6NH_3 + 8H_2O$
2. HapSi(x=0,1)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_{5,9}(SiO_4)_{0,1}(OH)_{1,9} + 9,9CO_2 + 5,9NH_3 + 7,9H_2O$
3. HapSi(x=0,2)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_{5,8}(SiO_4)_{0,2}(OH)_{1,8} + 9,8CO_2 + 5,8NH_3 + 7,8H_2O$
4. HapSi(x=0,5)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_{5,5}(SiO_4)_{0,5}(OH)_{1,5} + 9,5CO_2 + 5,5NH_3 + 7,5H_2O$
5. HapSi(x=0,7)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_{5,3}(SiO_4)_{0,7}(OH)_{1,3} + 9,3CO_2 + 5,3NH_3 + 7,3H_2O$
6. HapSi(x=1,0)  $\rightarrow Ca_{10}(PO_4)_{5,0}(SiO_4)_{1,0}(OH)_{1,0} + 9,0CO_2 + 5,0NH_3 + 7,0H_2O$

## **2.3 Caracterização das Amostras**

### **2.3.1 Difração de Raios X**

Os análises foram feitas num difratômetro modelo XRD-6000 (Shimadzu), com tubo de Cu com radiação  $K_{\alpha}$ , com comprimento de onda  $\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$  e um monocromador de grafite, no Laboratório de caracterização de materiais da Universidade Federal de Alagoas.

A faixa de medida foi feita de 10-70 em  $2\Theta$ , com um passo angular de  $0.02^\circ$  e um tempo por passo de 30 segundos.

### **2.3.2 Método Rietveld**

Os refinamentos foram realizados com o software livre FULLPROF desenvolvida pelo Dr. Juan Rodrigues-Carvajal [50].

### **2.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura**

As análises morfológicas por Microscopia eletrônica de varredura e o mapeamento químico das amostras foi realizado no Microscópio JSM-6060 e JSM-5800 no Centro de Microscopia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

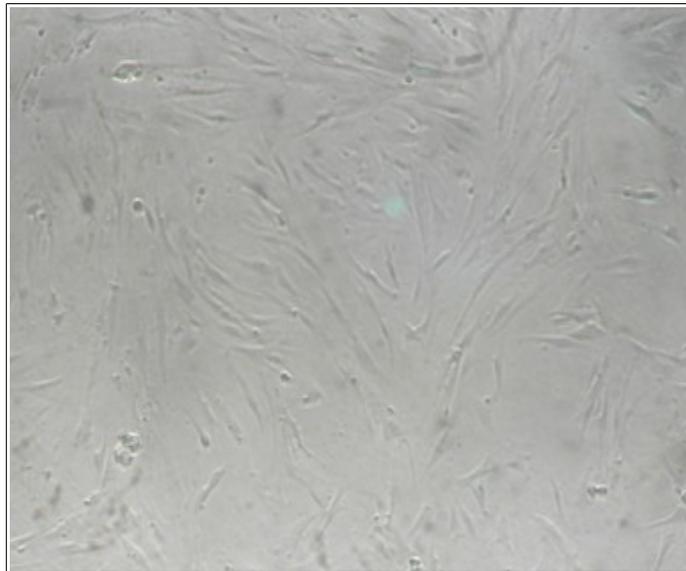
As amostras foram depositadas sob uma superfície de grafite, e foi feita uma deposição na superfície das amostras partículas de ouro pela técnica de Sputtering.

### 2.3.4 Avaliação da Citotoxicidade

#### 1. CULTURA DE CÉLULAS

Fibroblastos da linhagem FGH (fibroblastos gengivais humanos) foram cultivadas em meio de RPMI, suplementado com 15% de FCS (soro bovino fetal), 1% de L-glutamina e 2,5µl/ml de ciprofloxacina. As culturas foram mantidas a 37°C em atmosfera umedecida contendo 5% de CO<sub>2</sub>. A passagem de células, por tratamento com solução de tripsina/EDTA livre de cálcio e magnésio pH 7.2, foi feita quando estas alcançavam o estado de semiconfluência.

***Figura 2.5: Fotomicrografia da cultura de fibroblastos. Cultura de fibroblastos da linhagem FGH utilizada experimentalmente. Aumento de 200x.***



*Fonte: Imagens tiradas no ICBS - UFAL*

#### 2. PREPARO DO EXTRATO (ISO 10993-5/modificado)

As amostras foram divididas em:

- GRUPO I: Tween a 6% (controle negativo);
- GRUPO II: Meio de cultura sem tratamento (controle positivo);

- GRUPO III: Nano-hidroxiapatita com tratamento térmico a 900°C;
- GRUPO IV: Nano-hidroxiapatita dopada com 1% de silício com tratamento térmico a 900°C;
- GRUPO V: Hidroxiapatita amorfa com síntese 30 horas;
- GRUPO VI: Hidroxiapatita amorfa dopada com 1% de silício com síntese 30 horas.

Os extratos foram obtidos a partir da interação de 0,1g do material de cada grupo (grupos III, IV, V e VI) na forma de pó, com 1mL do mesmo meio de cultura utilizado no cultivo celular dos fibroblastos. A partir de cada extrato foram feitas três diluições. O mesmo procedimento foi adotado para o meio de cultura sem tratamento (controle positivo). Após incubação de cada frasco em estufa a 37°C, em atmosfera úmida de 5% de CO<sub>2</sub> por 48 horas, os extratos foram filtrados em membrana milipore (poro de 0,22 µm). O resíduo foi eliminado e, a partir do filtrado foram feitas diluições seriadas (50, 25 e 12,5%). As soluções obtidas a partir das diluições seriadas foram usadas experimentalmente [52].

### 3. ENSAIO DE VIABILIDADE CELULAR

A viabilidade celular será avaliada pelo ensaio colorimétrico de MTT. Este método é baseado na capacidade da desidrogenase mitocondrial das células vivas, metabolicamente ativas, converter os sais de tetrazólio [redução do azul de tiazonil – MTT – brometo de 3- (4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazólio] em cristais de formazan. A quantidade formada deste produto é diretamente proporcional à produção da enzima succinato desidrogenase nas mitocôndrias [53].

Para esse experimento, as células foram subcultivadas em uma placa de 96 poços numa densidade de 1,0X10<sup>4</sup> células/mL, em triplicata. Após o período de 16hs para adesão dos fibroblastos, o ensaio foi realizado em todos os grupos, sendo utilizado em cada poço o volume de 200µl. O GRUPO I recebeu 100 µl de tween a

6% adicionado a 100 µl de meio, o GRUPO II recebeu apenas meio de cultura e os demais GRUPOS (III, IV, V e VI) receberam o volume dos seus respectivos extratos em cada poço.

A leitura óptica da placa foi efetuada 24hs após plaqueamento, conforme seguinte procedimento: após ser retirado do meio de cultura, cada poço da placa a ser lida recebeu 177µl de meio de cultura suplementado com 23µl de MTT (concentração de 5mg/mL) sendo, em seguida, incubado por 4 horas a 37°C. Subsequentemente, os cristais de formazan formados foram solubilizados pela adição de 200µl de DMSO e sua concentração quantificada espectroscopicamente por meio de um leitor de microplacas (leitor de Elisa), em comprimento de onda igual a 540nm.

Os dados obtidos foram analisados utilizando o teste ANOVA para determinar sua significância estatística entre os grupos. Os valores estão apresentados pela média ± EPM ou pelo desvio padrão da média SD e considerados significativos quando  $p \leq 0,05$ . A tabulação dos resultados e a análise estatística foram realizados no Graph Prism © 5.0 (San Diego, CA, USA).

## **2.4 Trabalhos Preliminares**

Nesta seção são apresentados alguns testes que foram realizados com amostras de Si puro e NaCl natural, elas foram misturadas em 3 diferentes porcentagens em massa, foram medidas pela técnica Difração de Raios X e foram calculadas os seus porcentagem em massa pelo Método de Rietveld, com o principal objetivo de aplicar a teoria descrita no Capítulo 1 da presente Dissertação e verificar a sua aplicabilidade.

## 2.4.1 Informações estruturais dos materiais testes

### 2.4.1.1 Silício – Si

O pó de Silício usado para o teste foi obtido da amostra de calibração do difratômetro XRD 6000 (Shimadzu), ele é identificado com a ficha PDF # 27-1402 da base de dados da JCPDS-ICDD 2003. O silício apresenta um sistema Cúbico, uma rede de face centrada, um grupo espacial  $Fd(-3)m$  e os parâmetros da rede  $a=b=c=5.430 \text{ \AA}$ , e  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ\text{C}$ .

Na tabela 2.2 são amostrados as posições atômicas do silício.

Tabela 2.2. Posições atômicas para o silício.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
Si1	0.12500	0.12500	0.12500	8.00000

### 2.4.1.2 Cloreto de Sódio – NaCl

O pó de NaCl usado para o teste foi do tipo caseiro, ele foi identificado com a ficha PDF#89-3615 da base de dados da JCPDS-ICDD 2003. O NaCl possui um sistema Cúbico, uma rede de face centrada, um grupo espacial  $Fm(-3)m$  e os parâmetros da rede  $a=b=c=5.750 \text{ \AA}$ , e  $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ\text{C}$ .

Na tabela 2.3 são apresentados as posições atômicas para o NaCl.

Tabela 2.3. Posições atômicas para o NaCl.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
Na1	0.00000	0.00000	0.00000	4.00000
Cl1	0.50000	0.50000	0.50000	6.00000

## 2.4.2 Criação do arquivo instrumental

O primeiro passo antes de começar o refinamento Rietveld foi a criação de um arquivo que possui as características ópticas e instrumentais do equipamento

incluídas num padrão de difração. O ideal é fazer o presente arquivo com uma amostra de calibração contida de Hexaboreto de Lantânio ( $LaB_6$ ) pela sua boa e simétrica forma estrutural, boa performance nos picos de difração e uma grande minimização das contribuições anisotrópicas devido ao tamanho dos cristais (o tamanho médio dos cristais de  $LaB_6$  são maiores a 5000 Å).

No presente trabalho, o arquivo instrumental criado foi usando uma amostra de  $Al_2O_3$  identificado com a ficha PDF#89-3072 da base de dados da JCPDS-ICDD 2003. A  $Al_2O_3$  possui um sistema Romboédrico de corpo centrado, grupo espacial R(-3)c e parâmetros da rede  $a=b= 4.760$  Å e  $c= 12.990$  Å.

Tabela 2.4. Posições atômicas para o  $Al_2O_3$ .

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
Al1	0.00000	0.00000	0.353370	12.00000
O1	0.31631	0.50000	0.25000	18.00000

O Padrão de difração para o  $Al_2O_3$  foi medido em uma faixa  $2\theta = 20^\circ - 80^\circ$ , a razão de  $2^\circ/\text{min}$ . Para o refinamento da largura instrumental foi usado o perfil de Thompson-Cox-Hastings pseudo-Voigt.

A sequência usada no refinamento foi a seguinte:

- Linha base – Background;
- Fator de escala;
- “Zero Point” - Deslocamento horizontais do zero do Difratometro;
- Os parâmetros da largura W e Y (associados ao tamanho do cristalito);
- Os parâmetros de deslocamento anisotrópicos;
- Os parâmetros da largura U e X (associados à microtensão interna nos cristalitos);
- Por último foi refinado o parâmetro V, lembrando-nos que este valor sempre deve ser negativo.

Logo após do refinamento foram obtidos os seguintes parâmetros instrumentais:

$$U = 0.007477;$$

$$V = -0.004837;$$

$$W = 0.002934;$$

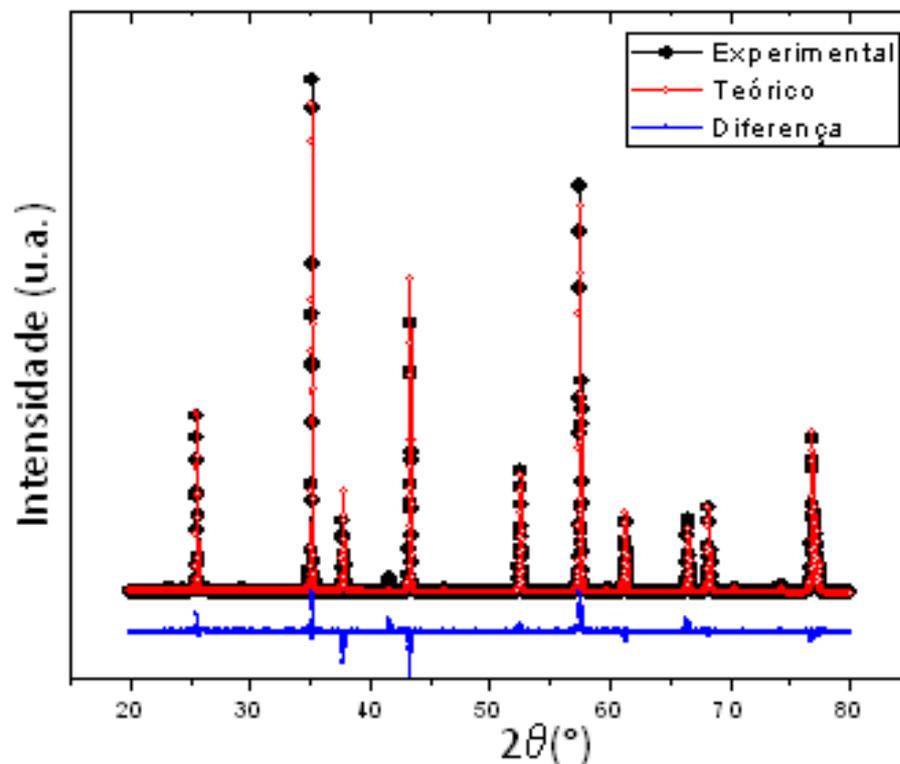
$$X = 0.021926;$$

$$Y = 0.016560.$$

os quais são usados como ponto inicial nos refinamentos dos demais padrões de difração.

Foram obtidos os índices de qualidade do refinamento **Rp:10.5; Rwp:14.4; Rexp: 5.01 e o Chi2: 8.23.**

Figura 2.6: Refinamento Rietveld do Corundum.



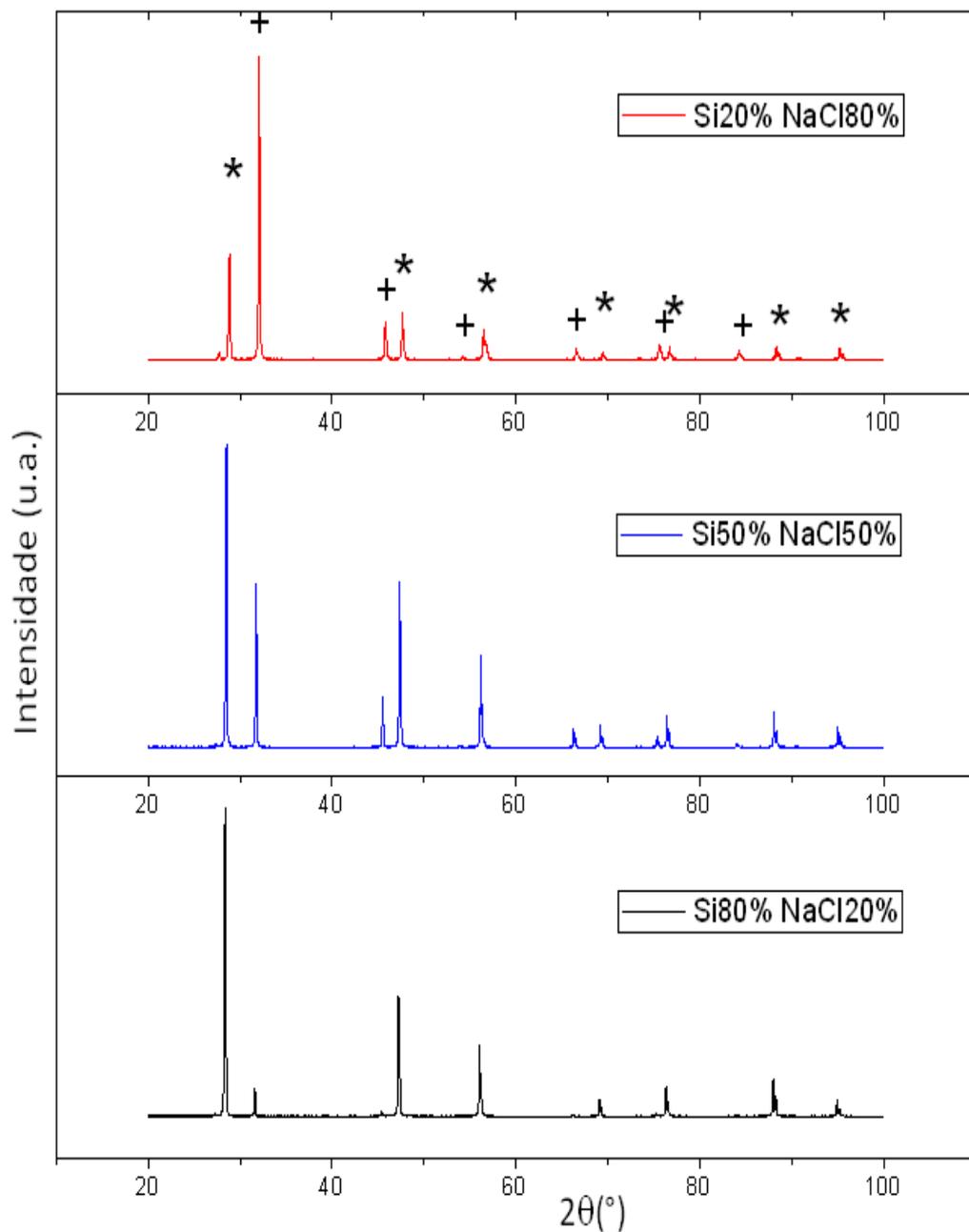
Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas.

Depois é criado o arquivo instrumentais o qual deve apresentar a extensão \*.IRF, para o nosso caso ele foi chamado Corundum.IRF e os detalhes do formato do arquivo são apresentados no Apêndice A.

### 2.4.3 Testes

Os padrões de difração das misturas de Si e NaCl podem ser observadas na Figura 2.7.

**Figura 2.7: Padrões de difração de raios X das misturas dos pós, onde os (\*) pertencem a fase do Si e os (+) a fase NaCl.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Observou-se uma grande diferença na intensidade dos picos para cada fase, assim como a extinção de alguns picos como pode-se notar para o padrão com Si(80%)NaCl(20%) o pico na posição  $45,26^\circ$ ,  $53,97^\circ$ ,  $66,27^\circ$  ( $2\theta$ ) associado à fase NaCl foi extinguido pela diminuição na quantidade em massa daquela fase.

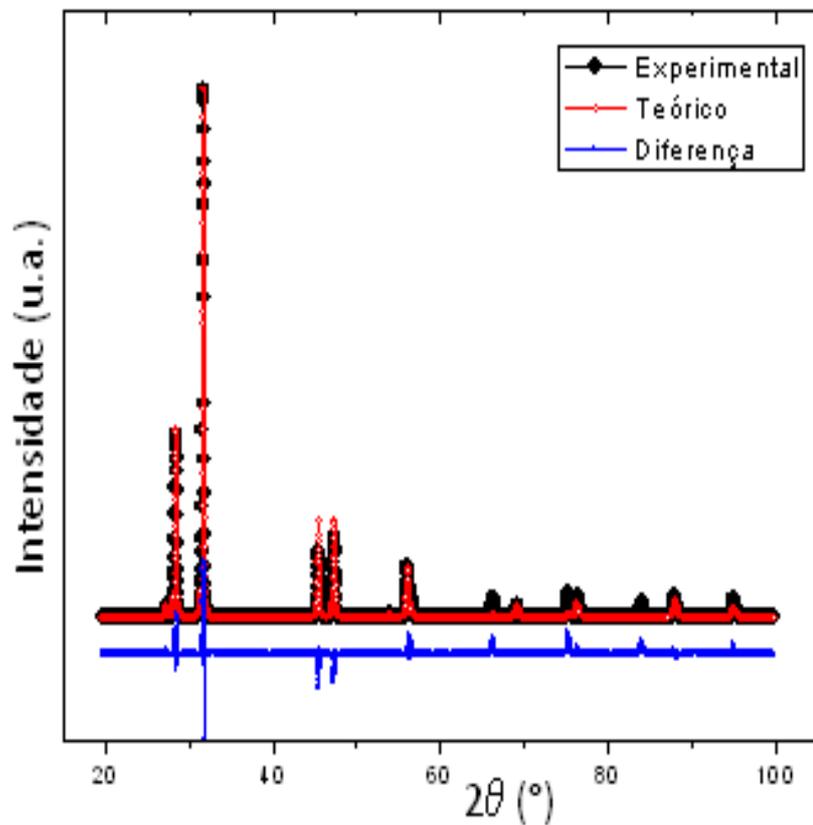
Nas seções seguintes serão apresentadas os resultados obtidos após dos refinamentos feitos para cada um dos padrões mostrados na Figura 2.2, o objetivo foi apresentar uma concordância e a corroboração do calculo em porcentagem em massa da participação de cada fase presente no perfil de difração fazendo uso da equação 1.23.

As medias foram feitas em uma faixa  $2\theta$  de  $(20-100^\circ)$ , e uma velocidade de  $2^\circ/\text{min}$ .

### 2.4.3.1 Amostra A

A Figura 2.8 apresenta o padrão de difração uma mistura de 20% em massa de silício e 80% em massa do NaCl ela será chamada de amostra A. Os resultados após o refinamento apresentaram 15,57% da fase corresponde ao Silício e 84,43 % correspondente a fase NaCl.

Figura 2.8: Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(20%)NaCl(80%).



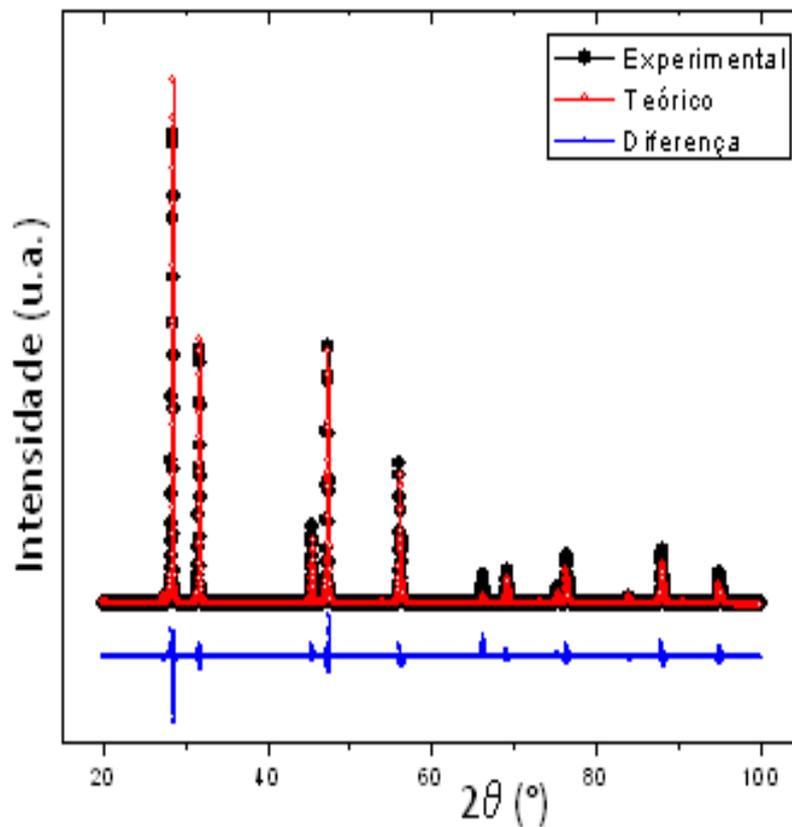
Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas.

Onde os índices que indicam a qualidade do refinamento foram: Rp: 23.3, Rwp: 33.1, Rexp: 12.70, Chi2: 6.80.

### 2.4.3.2 Amostra B

A Figura 2.9 apresenta o padrão de difração uma mistura de 50% em massa de silício e 50% em massa do NaCl ela será chamada de amostra B. Os resultados após o refinamento apresentaram 53,7% da fase corresponde ao Silício e 46,30 % correspondente a fase NaCl.

Figura 2.9: Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(50%)NaCl(50%).



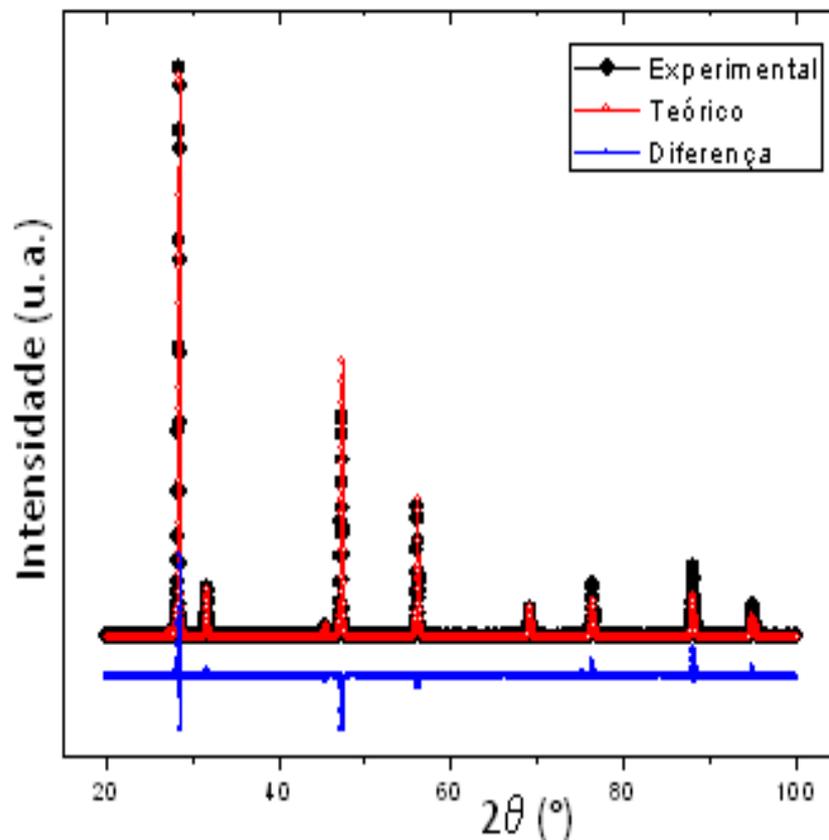
Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas.

Onde os índices que indicam a qualidade do refinamento foram: Rp: 13.7, Rwp: 19.9, Rexp: 10.49, Chi2: 3.59.

### 2.4.3.3. Amostra C

A Figura 2.10 apresenta o padrão de difração uma mistura de 80% em massa de silício e 20% em massa do NaCl ela será chamada de amostra A. Os resultados após o refinamento apresentaram 80,56% da fase corresponde ao Silício e 19,44 % correspondente a fase do NaCl.

**Figura 2.10: Refinamento Rietveld do padrão de difração correspondente a mistura Si(80%)NaCl(20%).**



Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas.

Onde os índices que indicam a qualidade do refinamento foram: Rp: 18.4 ,Rwp: 23.1 ,Rexp: 7.51, Chi2: 9.49.

Observamos que os resultados obtidos pelo MR foram diferentes aos esperados para as diferentes misturas realizadas, o fato pode-se justificar pela grande higroscopicidade que possui o NaCl (Sal comum), isso altera o ordenamento dos cristais, as moléculas de água distorceram os planos atômicos formando uma fase amorfa associada ao NaCl, isso trouxe como consequência uma diminuição aparente relacionada à fase cristalina do NaCl.

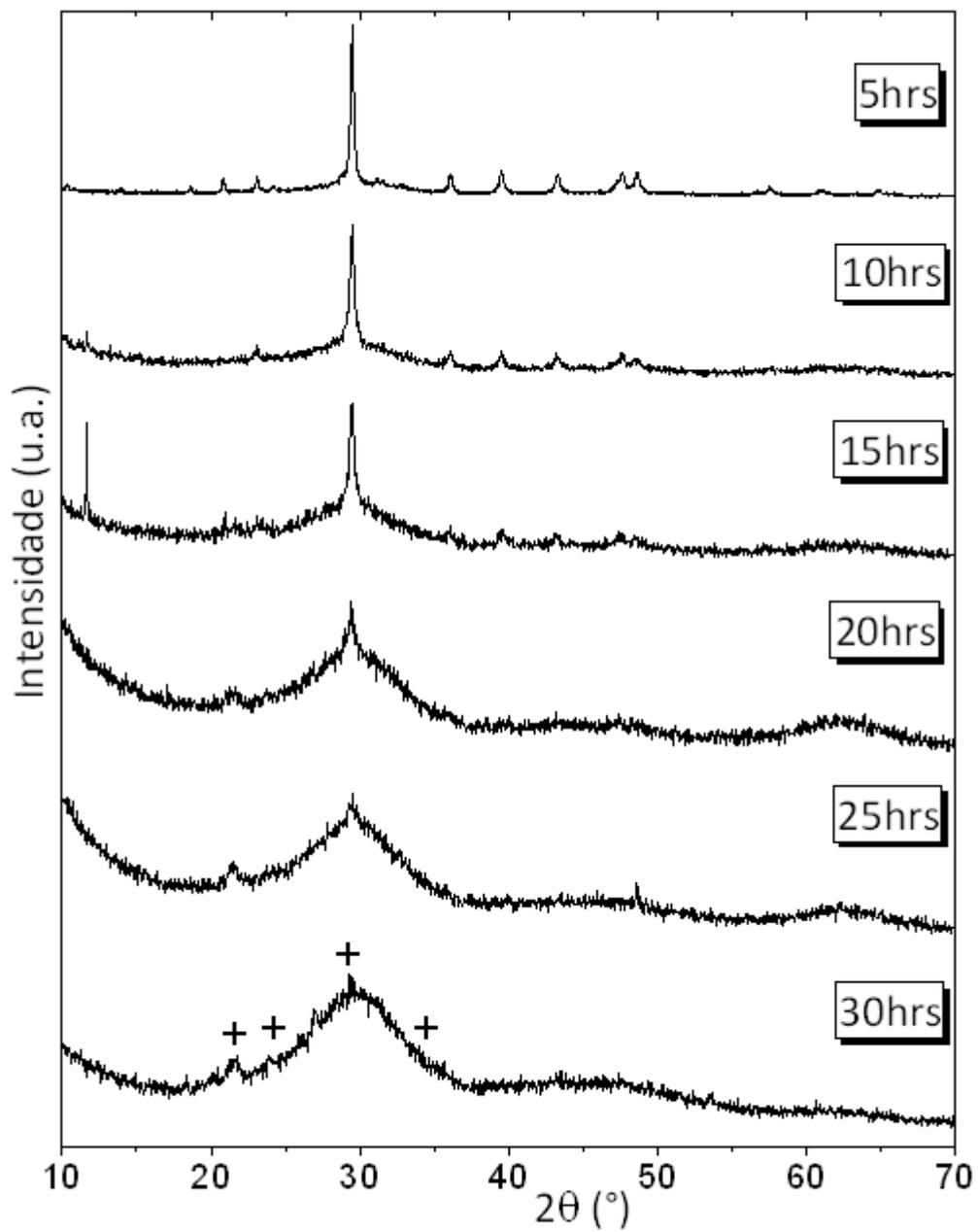
## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Neste Capítulo são apresentados os resultados obtidos logo após da caracterização do nosso material, o capítulo foi dividido principalmente em duas partes, a primeira parte são exibidos os resultados da caracterização estrutural dos pós e na segunda parte são apresentados os resultados dos testes biológicos feitos nas amostras.

### 3.1. Análise Estrutural (Qualitativo) – Difração de Raios X

Na Figura 3.1 observa-se a evolução da moagem para a síntese de Hidroxiapatita sem dopagem HapSi( $x=0,0$ ). Nota-se uma rápida redução dos tamanhos dos cristalitos da matéria prima usada na síntese, para só as primeiras 5hrs de moagem, assim como a desaparecimento de alguns picos correspondentes à fase associada ao fosfato de amônio, indicando uma menor estabilidade estrutural comparada com o carbonato de cálcio. Além disso, observa-se a aparição de um halo amorfo crescendo na direita do pico principal, isso indicaria a aparição de uma nova fase, a qual acrescenta-se com o tempo de moagem, pode-se observa isso para 10hrs de moagem, o pico principal aumento a sua largura, reduzindo mais os tamanhos dos cristalitos, facilitando assim a ativação química dos materiais, para tempos maiores a 15hrs. Observa-se uma grande diminuição dos tamanhos dos cristais assim como a formação do nano fosfatos de cálcio para 30hrs de moagem.

**Figura 3.1: Evolução da síntese de HapSi(x=0,0) com o Tempo de moagem, onde o (+) esta associada à presença de nano-fosfato de cálcio.**



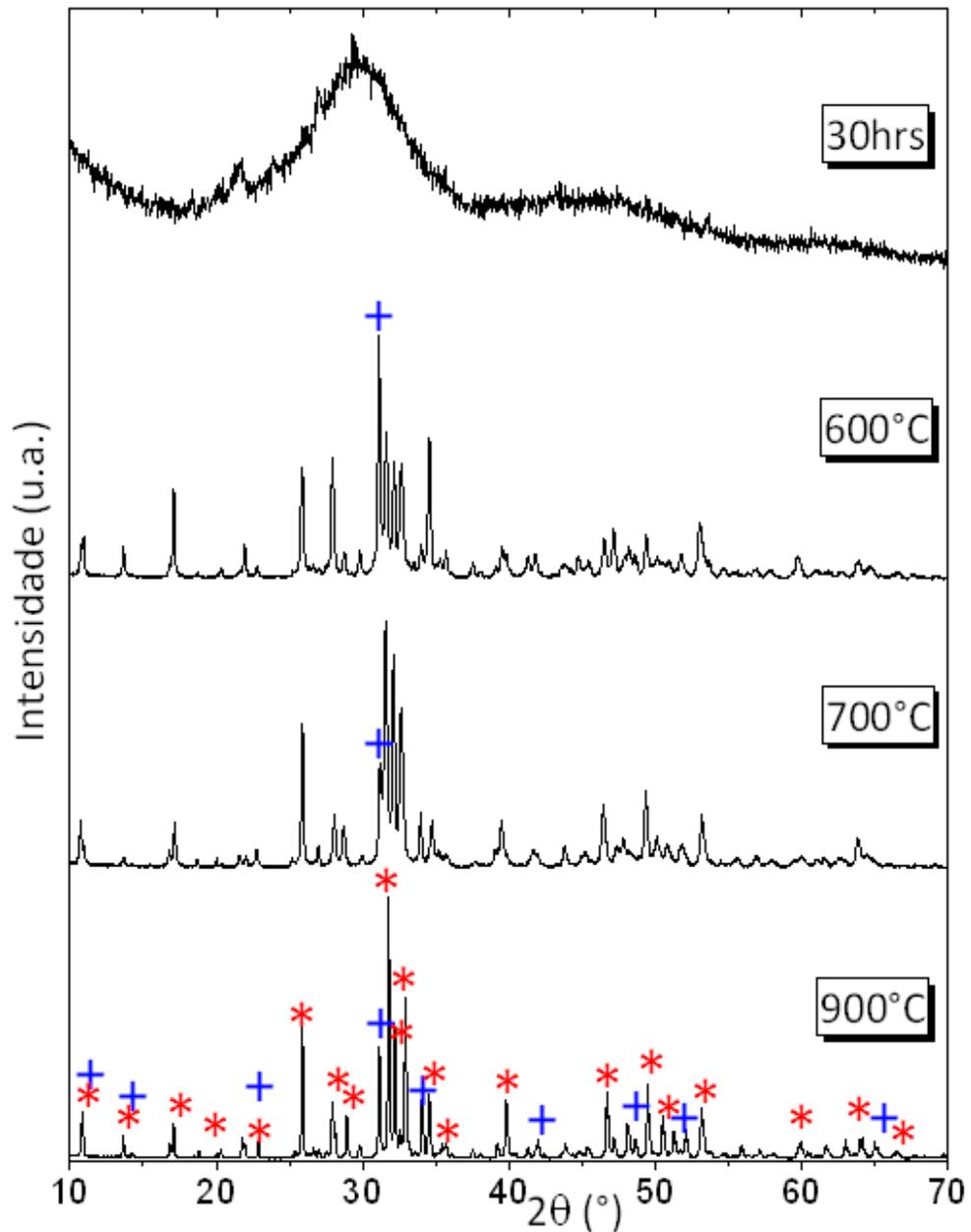
Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.2 observa-se a evolução térmica do nano fosfato de cálcio após as 30hrs de moagem, para uma temperatura de 600°C, foi obtida duas fases, uma TCP e a HapSi(x=0,0).

A obtenção da fase TCP foi inesperada, pois a síntese desse material segundo a literatura é reportada para temperaturas maiores a 1250°C [54], por tanto verificamos que é possível otimizar sua produção com a RMQ, técnica que foi proposta neste trabalho para a síntese de este tipo de biomateriais, corroborando que a moagem por alta energia ao reduzir o tamanho dos cristais e proporcionar defeitos na estrutura cristalina, diminui a temperatura de ignição para a síntese ou ativação de algumas reações.

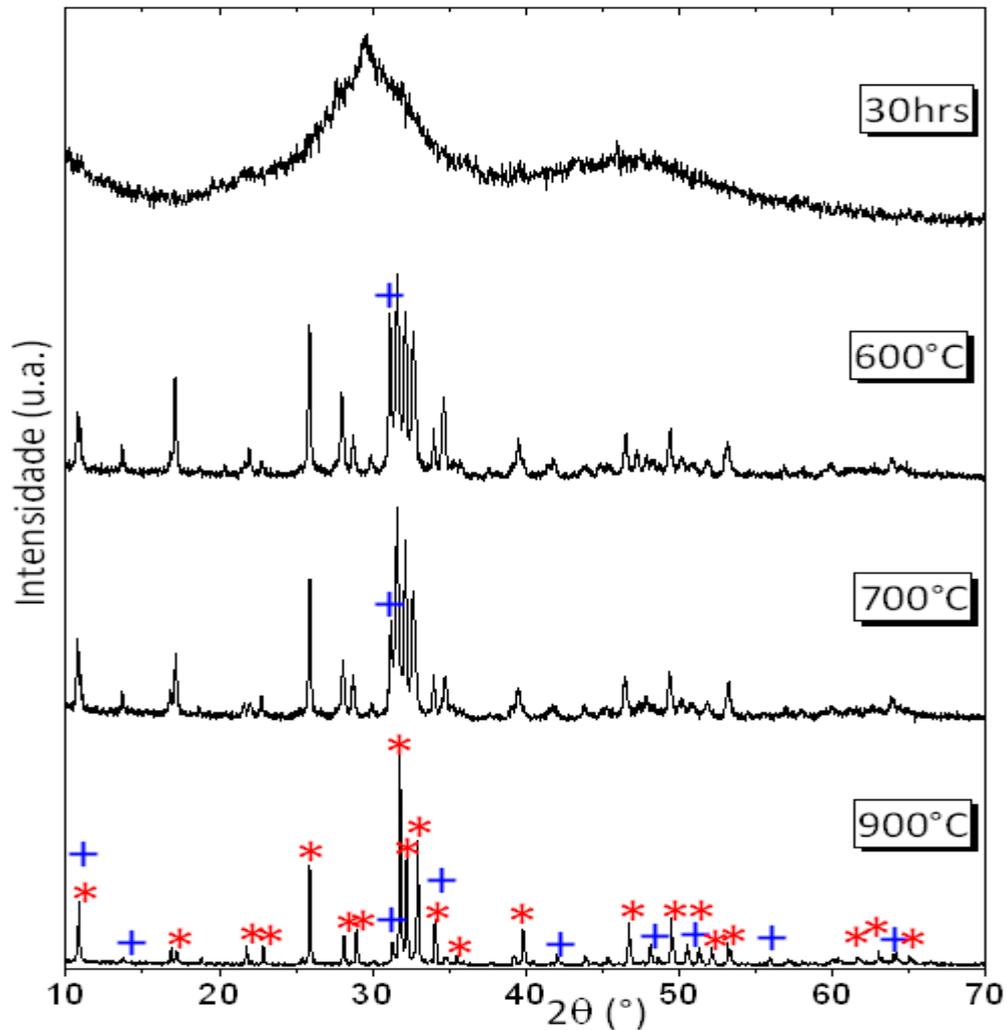
Para 700 e 900 °C observa-se uma forte tendência na formação de Hidroxiapatita, diminuindo a presença do TCP assim como um incremento no tamanho dos cristais. As fases identificadas foram para a Hidroxiapatita a ficha PDF # 89-6439 e para o TCP a ficha PDF # 49-1223 da base de dados da JCPDS-ICDD 2003.

**Figura 3.2: Evolução estrutural da HapSi(x=0,0) com a Temperatura, onde os asteriscos identificam a fase associada à Hidroxiapatita e a cruz a fase associada à TCP.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

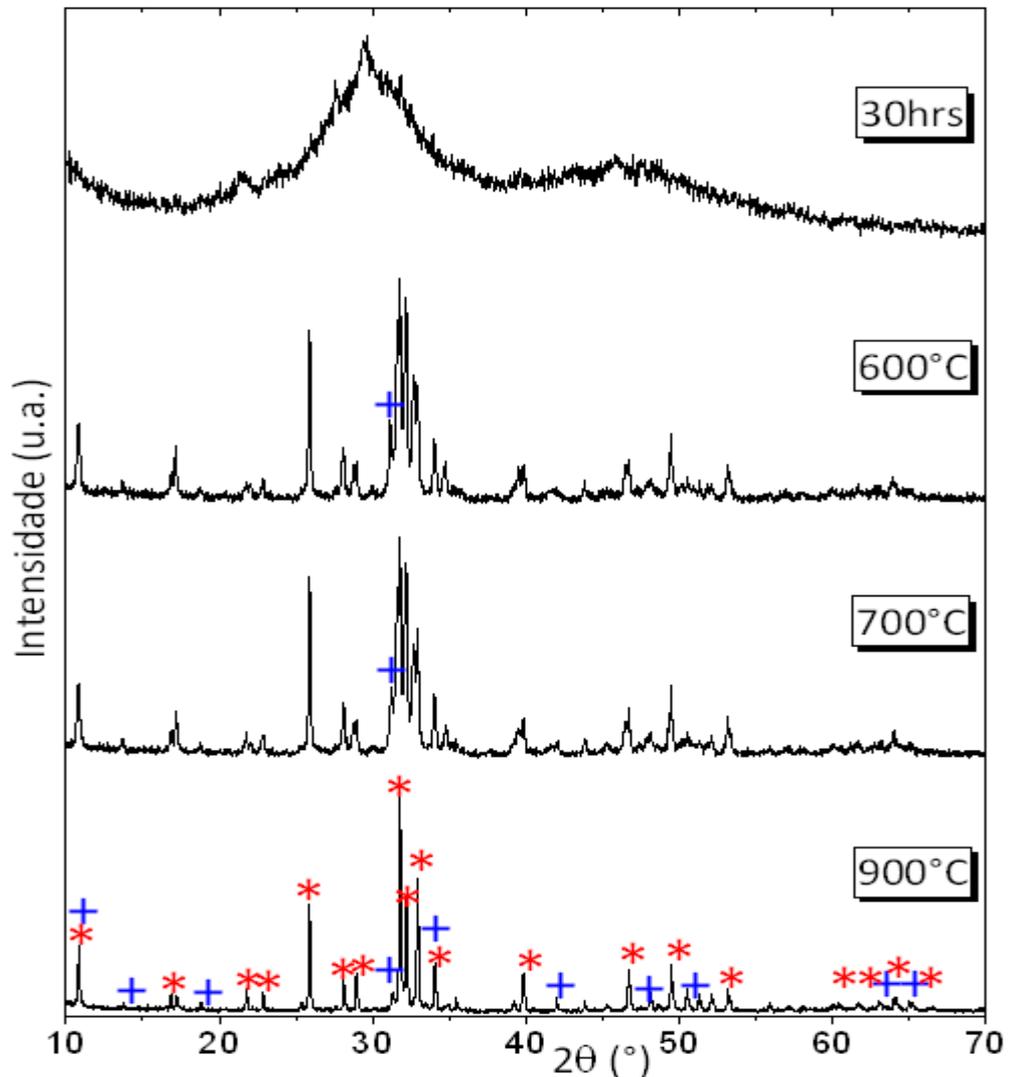
**Figura 3.3: Evolução estrutural da HapSi(x=0,1) com a Temperatura, onde os asteriscos identificam a fase associada à Hidroxiapatita e a cruz a fase associada à TCP.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.3 observa-se o Padrão de difração para a síntese de Hidroxiapatita dopada com Silício para  $x=0,1$  % molar, HapSi( $x=0,1$ ), a 30hrs de moagem encontra-se um Padrão de difração similar ao encontrado na Figura 4.1. A presença do silício facilitou a transformação da fase TCP para HapSi( $x=0,1$ ) para a temperatura de 600 °C, para 700 e 900 °C confirmou-se a diminuição do TCP e o aumento nas reflexões associadas a fase HapSi( $x=0,1$ ).

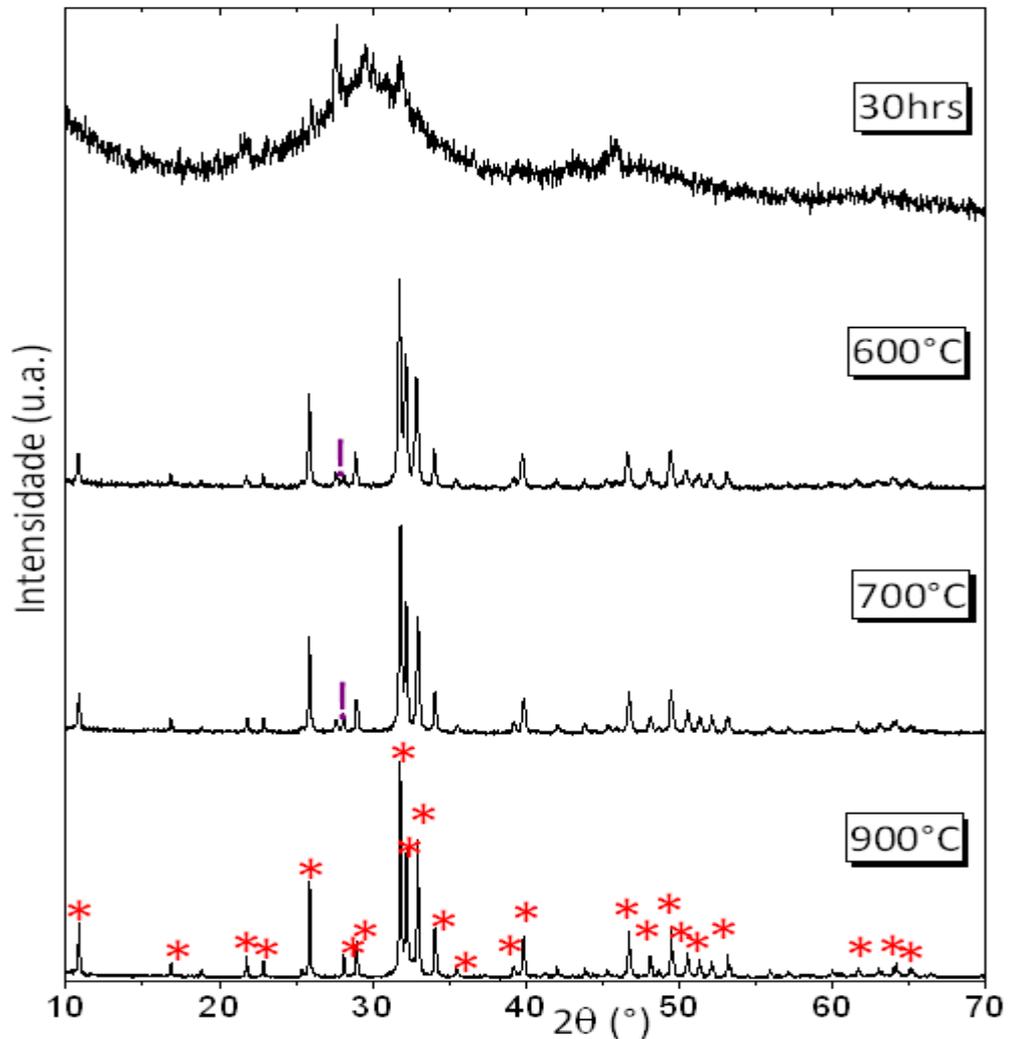
**Figura 3.4: Evolução estrutural da HapSi(x=0,2) com a Temperatura, onde os (\*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita e (+) a fase associada à TCP.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na figura 3.4, apresenta-se o Padrão de difração para as amostras de HapSi(x=0,2). Para o padrão a 600°C observa-se uma grande diminuição no pico principal associado a fase TCP e conseqüentemente um aumento considerável na intensidade do pico principal da fase apatítica, depois disso, para 700 e 900°C obtemos as fases correspondentes ao TCP e HapSi(x=0,2).

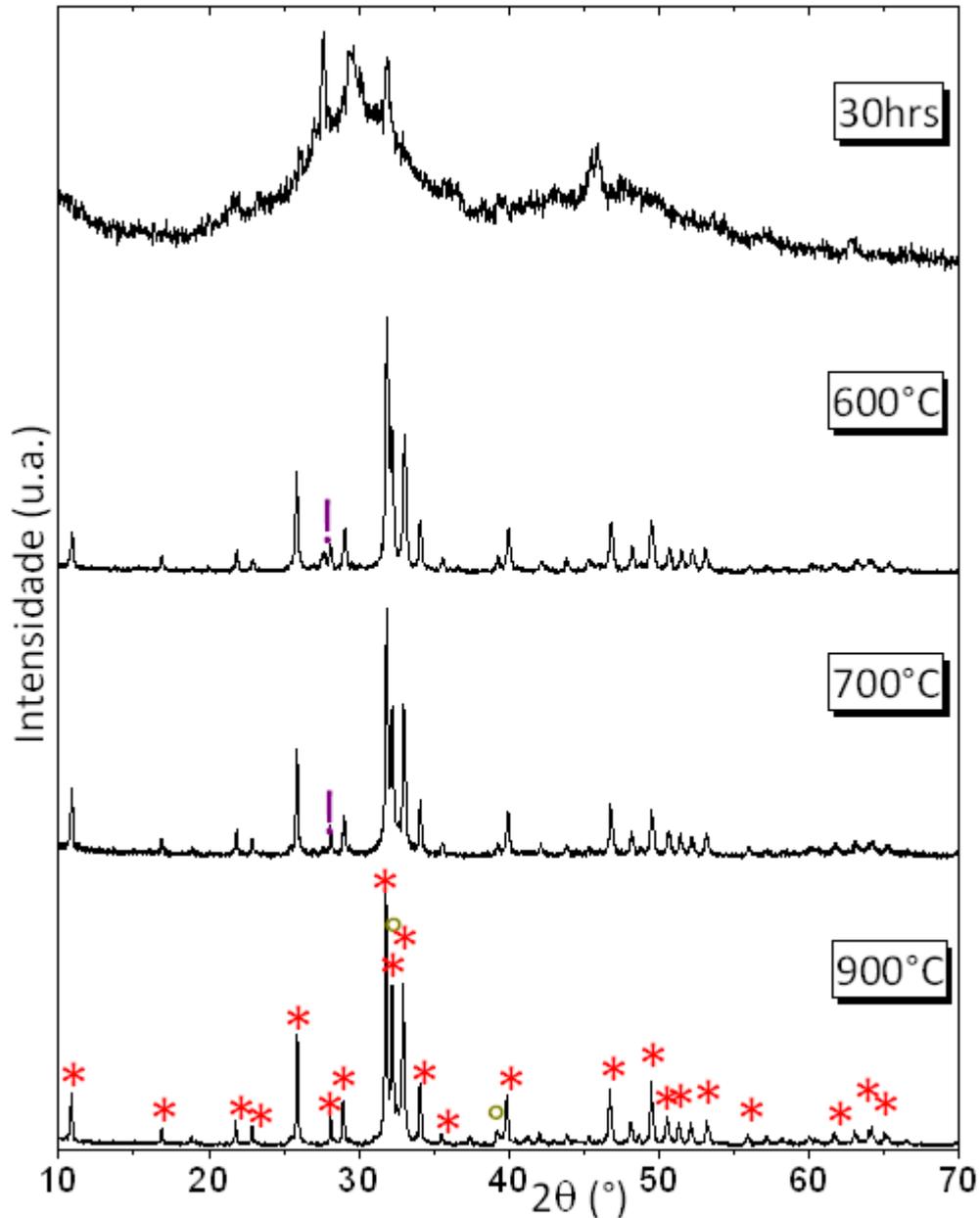
**Figura 3.5: Evolução estrutural da HapSi(x=0,5) com a Temperatura, onde os (\*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita e o (!) à aparição da fase Quartzo.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.5. apresenta-se o Padrão de difração para as amostras de HapSi(x=0,5), no padrão para 30hrs de moagem, observou-se que ainda existe a presença de picos correspondentes ao  $CaSiO_3$ , após o tratamento térmico a 600°C observa-se a fase correspondente ao Quartzo ( $SiO_2$ ) e a fase HapSi(x=0,5), para 700°C observou-se as mesmas fases e uma diminuição na largura dos picos de difração. Após a 900°C observou-se a fase única de hidroxiapatita dopada com 0,5 % molar.

**Figura 3.6: Evolução estrutural da HapSi(x=0,7) com a Temperatura, onde os (\*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita, o (!) ao Quartzo e os (°) ao Oxido de Cálcio.**

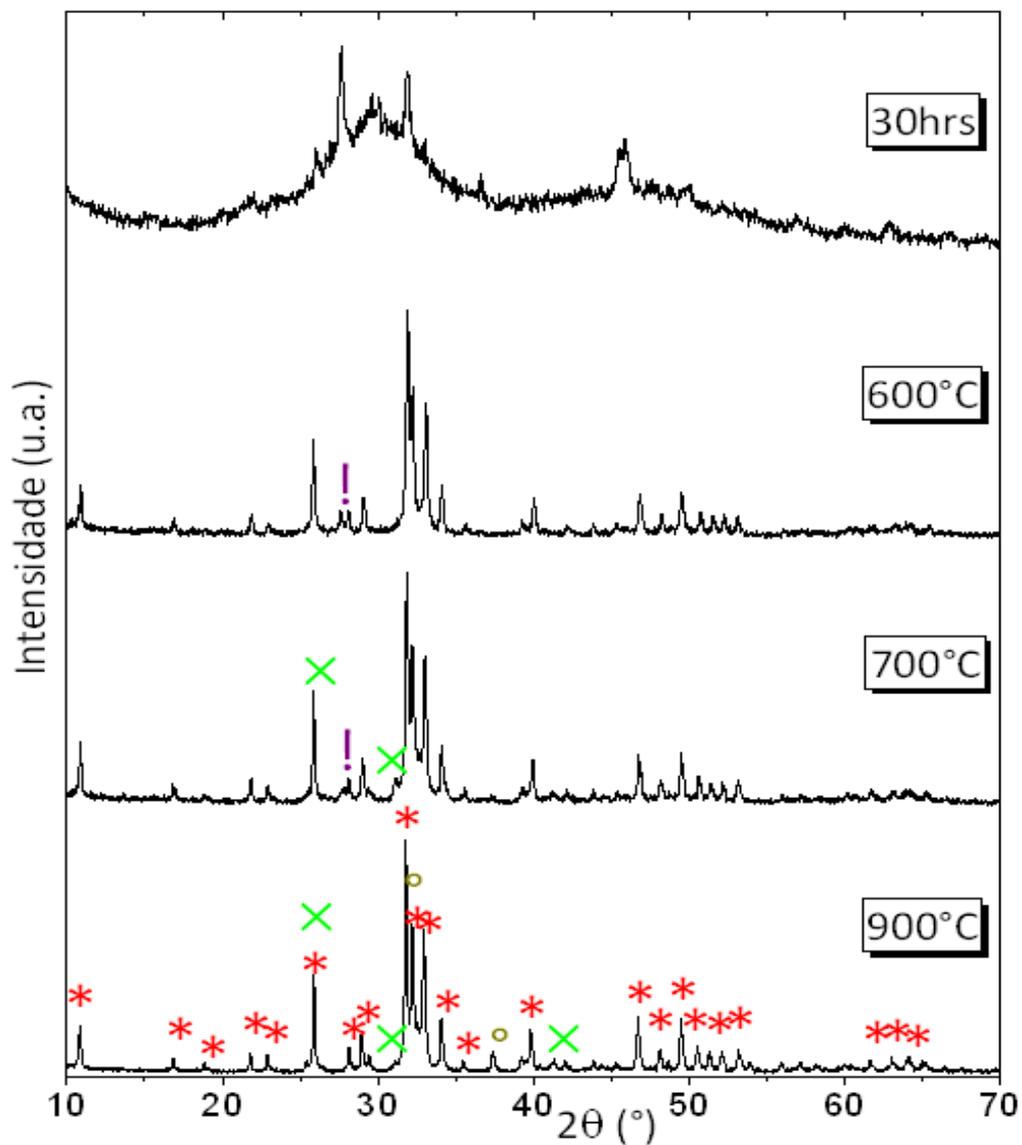


Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.6 apresentam os resultados para a Hidroxiapatita dopada com 0,7 % molar de silício. Observou-se que para as 30hrs de moagem os picos associados

ao  $CaSiO_3$  são maiores, logo após a  $600^\circ C$  apresenta-se a fase de Hidroxiapatita com a presença do pico principal de  $SiO_2$ , um comportamento semelhante, podemos observar para o padrão a  $700^\circ C$ . Para  $900^\circ C$ , observou-se a presença de duas fases, a correspondente a HapSi(x=0,7) e ao Oxido de cálcio (CaO).

**Figura 3.7: Evolução estrutural da HapSi(x=1,0) com a Temperatura, onde os (\*) identificam a fase associada à Hidroxiapatita, o (!) ao Quartzo, (°) ao Oxido de Cálcio e a (X) ao Silicato de Cálcio.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.7 apresenta-se o padrão corresponde a hidroxiapatita dopada com 1,0% molar de silício. Nota-se claramente que após as 30hrs de moagem, ainda podemos observar a presença da fase associada ao  $CaSiO_3$ , para o tratamento térmico 600°C observa-se a presença da fase corresponde ao Quartzo ( $SiO_2$ ) assim como da HapSi(x=1,0), para os 700°C devido a grande quantidade de  $SiO_2$  remanescente formou-se as fases correspondentes a HapSi(x=1,0),  $Ca_2SiO_4$  e Quartzo ( $SiO_2$ ), logo após para o tratamento a 900°C observou-se as fases finais correspondentes a HapSi(x=1,0), Oxido de cálcio (CaO) e o  $Ca_2SiO_4$ .

### 3.2. Análise Estrutural (Quantitativo) – O Método Rietveld

As análises quantitativas foram feitas com o uso do Método de Rietveld a partir dos dados de difração de raios X em pó. O programa usado foi o FullProf [50].

Para o desenvolvimento do método foi necessário o seguinte:

- Dados experimentais numéricos em formato livre;
- Um arquivo que possui os valores numéricos correspondentes ao Background;
- Um arquivo que possua as informações instrumentais do equipamento usado.

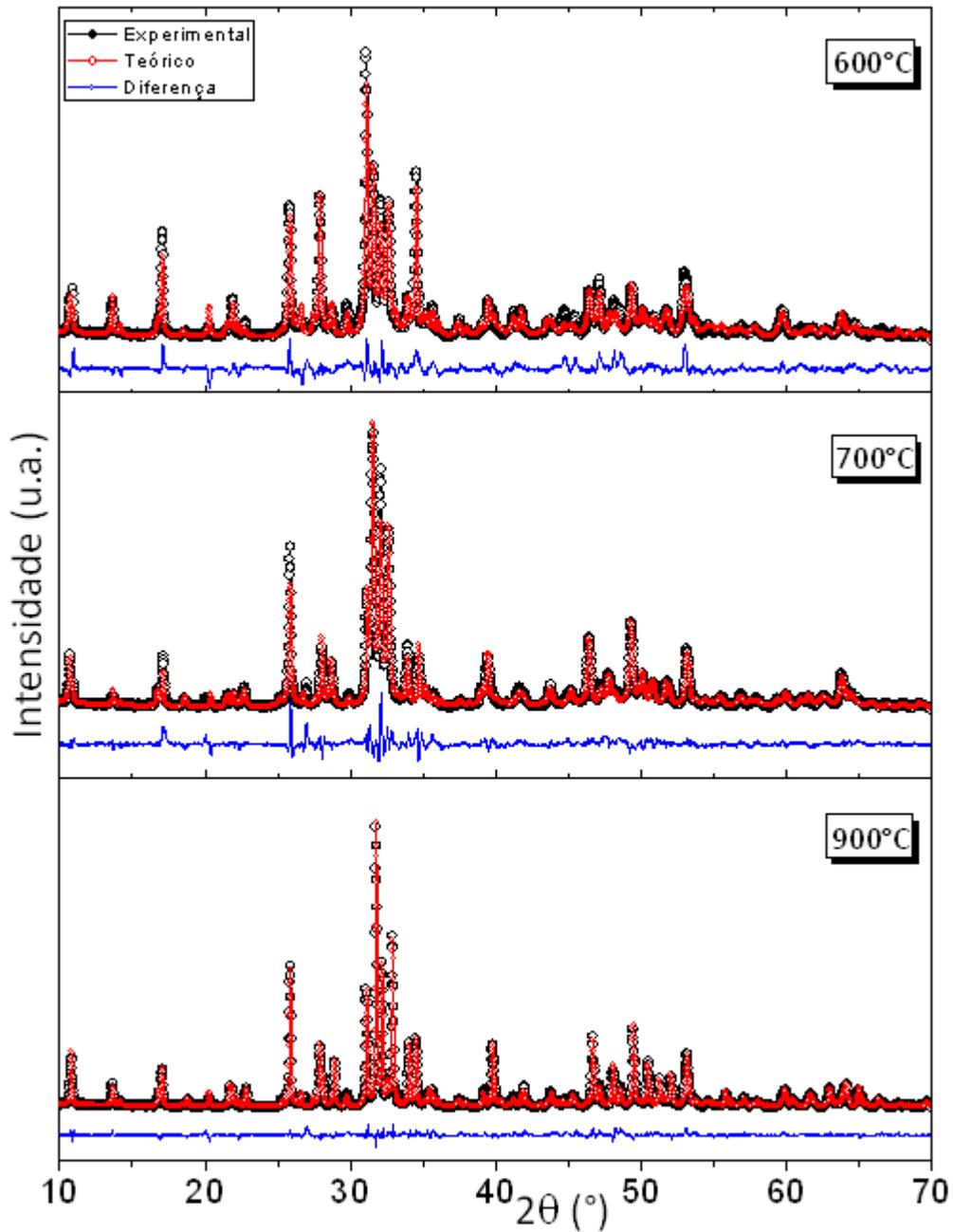
Os refinamentos seguiram o seguinte ordem:

- Termos correspondentes ao Background;
- Fator de escala (este fator mexe nas intensidades dos perfis de difração);
- Zero Point, este parâmetro corrige os deslocamentos horizontais no padrão de difração, que é consequência de um mau alinhamento do difratômetro;
- Parâmetros relacionados a la célula unitária ( $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ );
- Parâmetros Y e Z, associados ao tamanho dos cristais;
- Os parâmetros de assimetria;
- As posições atômicas e os deslocamentos anisotrópicos;
- Fatores de ocupação.

Os procedimentos usados e a ordem do refinamento variam de perfil em perfil, alguns parâmetros foram refinados e logo fixados, em outros não foram possíveis deixar “soltos” os parâmetros pois eles não conseguiam convergir, não existe uma ordem específica para o refinamento dos dados que representem algum tipo de arranjo estrutural, pois todo perfil diferente representa “problemas” estruturais diferentes.

Nas figuras correspondentes aos refinamentos a continuação, a linha preta indica o perfil experimental, a linha vermelha o perfil simulado pelo MR e a linha azul a diferença entre as dois.

**Figura 3.8: Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,0) com a Temperatura.**



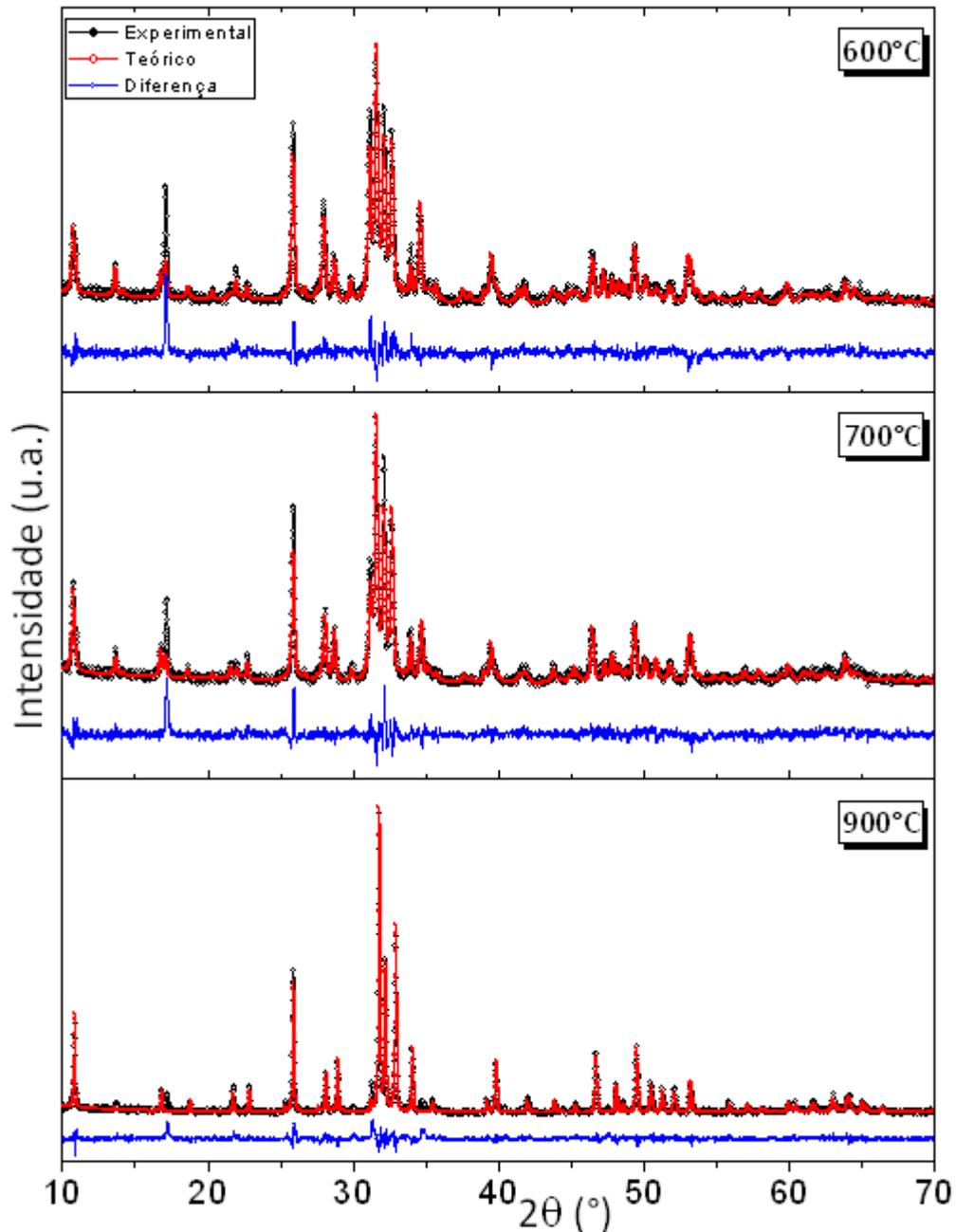
*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.*

A Figura 3.8 corresponde as amostras de Hidroxiapatita sem dopagem HapSi(x=0,0), elas apresentam uma crescente evolução dos tamanho dos cristais segundo o aumento da temperatura, assim como a redução da fase TCP e o

aumento da fase corresponde a HapSi(x=0,0). Logo após do aquecer o material a 900°C obtemos a presença de duas fases, uma associada à hidroxiapatita com 71,54 % em massa, e a outra associada ao fosfato tricálcico com 28,46 % em massa, além disso foram obtidos os tamanhos médios dos cristalitos onde para a hidroxiapatita obtivemos 152,54 nm e para o TCP 112,47 nm.

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi: Rp: 8.22, Rwp: 12.0, Rexp: 4.84, Chi2: 6.17.

**Figura 3.9: Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,1) com a Temperatura.**



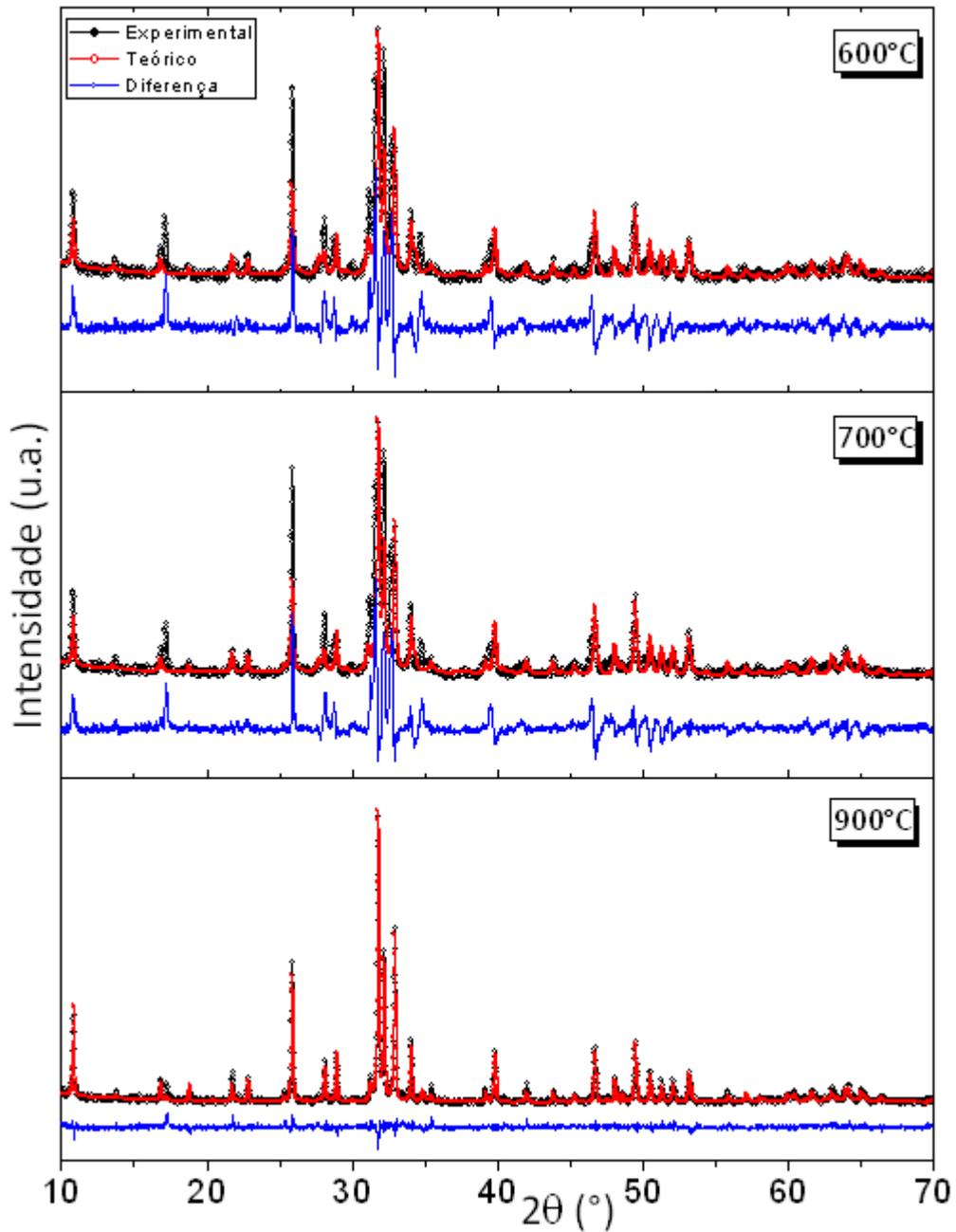
*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.*

A Figura 3.9 corresponde as amostras de Hidroxiapatita com dopagem de silício HapSi(x=0,1). Observou-se uma tendência à orientação preferencial (OP) para o plano (002) no perfil a 600°C corresponde à fase TCP. Além disso, a OP para

700°C diminui consideravelmente, assumindo-se a possibilidade de uma fratura nos planos cristalográficos dificilmente estáveis devido à quantidade de dopagem, assim como aos defeitos originados pelo método de síntese. Para 900°C são observados uma melhor estabilidade estrutural para as duas fases formadas, e uma diminuição da fase TCP com a introdução do silício na estrutura, os valores obtidos logo após do refinamento foram 96,76 % em massa para a Hidroxiapatita e um 3,24 % em massa

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi:  
Rp: 11.6, Rwp: 16.0, Rexp: 10.18, Chi2: 2.48.

**Figura 3.10: Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,2) com a Temperatura.**



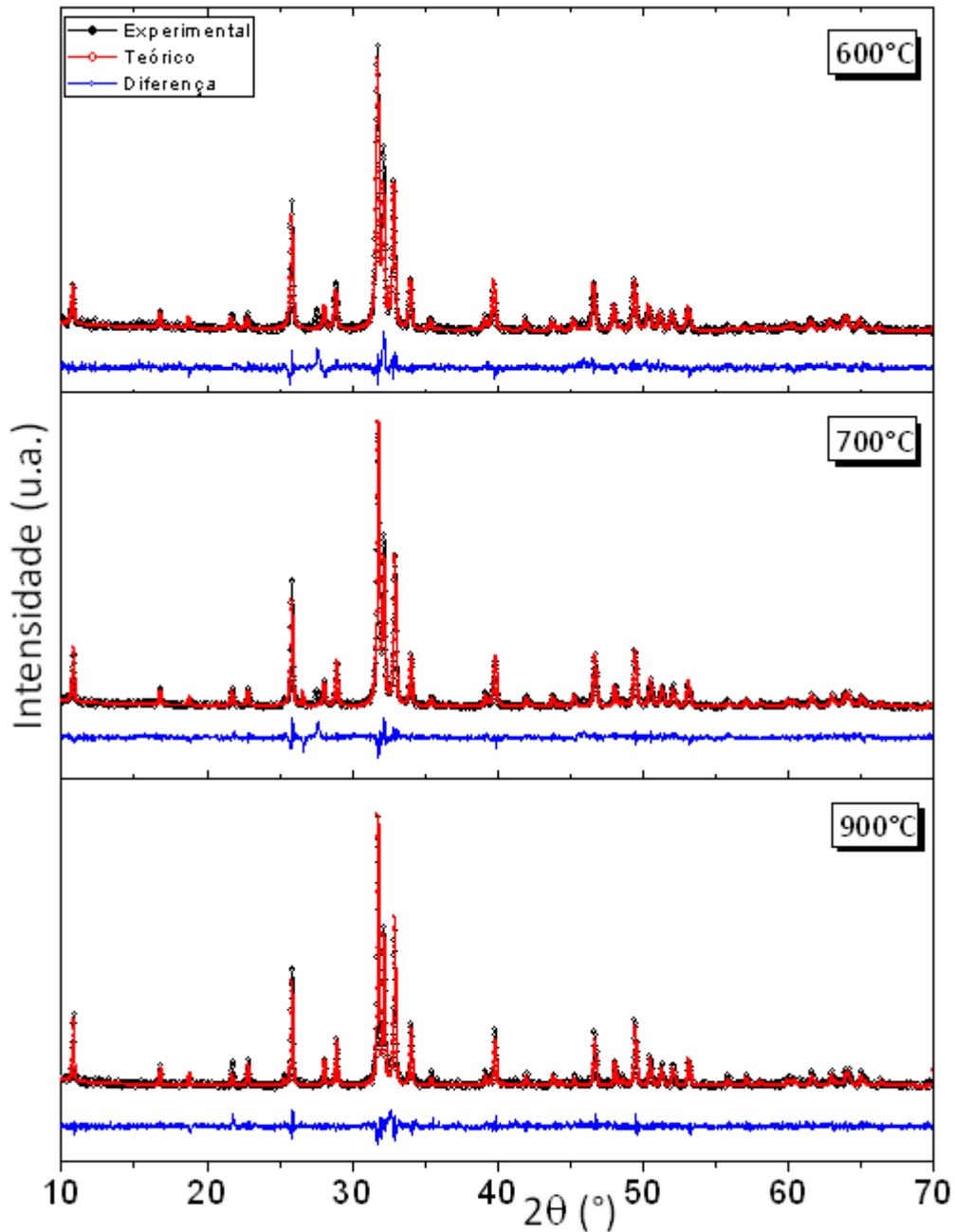
*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.*

Na Figura 3.10 temos o refinamento Rietveld para a amostra de hidroxiapatita com silício ao 0,2% molar HapSi(x=0,2). Durante o refinamento dos dados dessa amostra, encontramos algumas dificuldades em lidar com a existência de uma fase

metaestável correspondente à transição da fase TCP ao HapSi(x=0,2), a introdução do silício na estrutura do TCP foi deslocando gradualmente a posição do pico principal correspondente a fase TCP, este deslocamento foi observado somente para os picos mais intensos da presente fase, isto nos indica uma redução da distância entre planos da estrutura TCP e a quebra dos planos cristalográficos menos estáveis devido ao material dopante e ao método de síntese. Para temperatura 700°C este efeito é mais pronunciado, e a diminuição da fase TCP é mais visível, o processo de estabilização da TCP em HapSi(x=0,2) foi observado a 900°C com a obtenção de TCP a 8,32 % e HapSi(x=0,2) a 91,68 % em massa.

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi:  
Rp: 9.99, Rwp: 13.3, Rexp: 10.57, Chi2: 1.59.

**Figura 3.11: Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,5) com a Temperatura.**



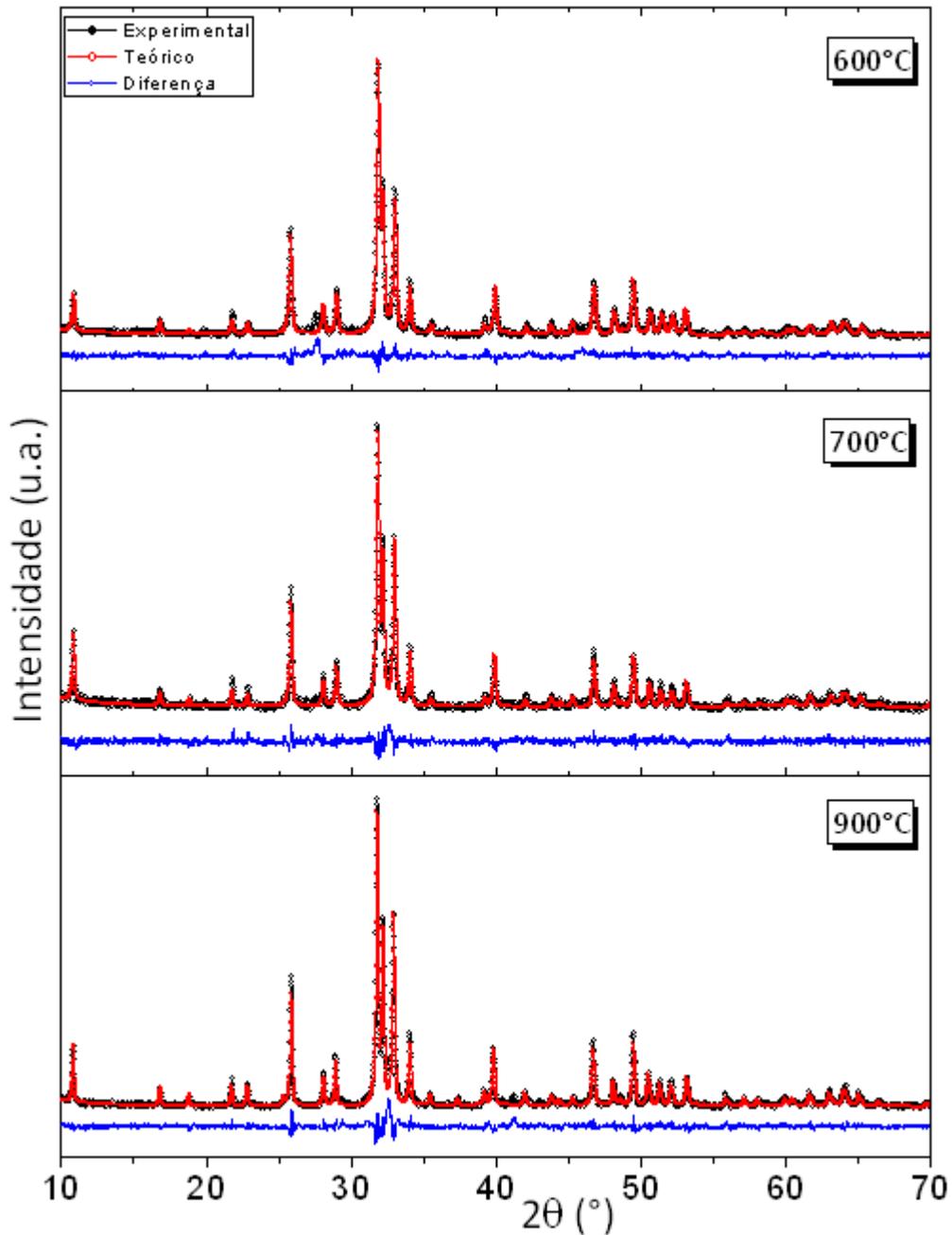
Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.

Na Figura 3.11 temos o refinamento Rietveld dos dados da amostra de hidroxiapatita com silício ao 0,5% molar HapSi(x=0,5). O refinamento apresentou uma fase apatítica quase única, isso porque a presença do  $SiO_2$  como fase

secundária surgiu apenas para temperaturas de 600° e 700 °C em aproximadamente 1% em massa, e para temperatura de 900°C essa fase desaparece ficando somente a fase única HapSi(x=0,5).

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi:  
Rp: 14.6, Rwp: 19.8, Rexp: 16.42, Chi2: 1.45

**Figura 3.12: Refinamento Rietveld da HapSi(x=0,7) com a Temperatura.**



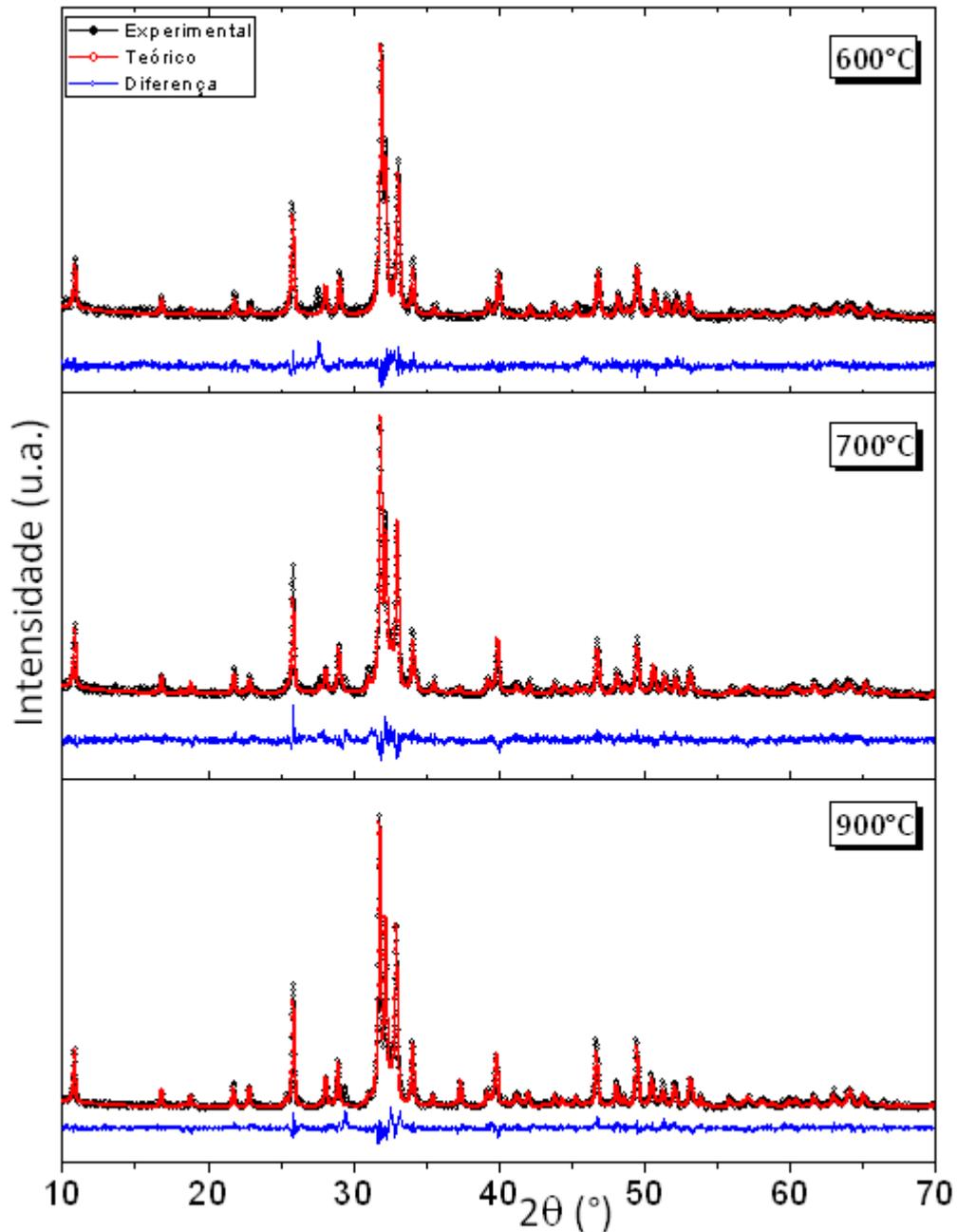
*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.*

Na Figura 3.12 temos o refinamento Rietveld dos dados da amostra de hidroxiapatita com silício ao 0,7% molar HapSi(x=0,7). Podemos observar para temperaturas de 600° e 700°C a uma presença de quase 1% de  $SiO_2$  e o restante

de HapSi(x=0,7) como fases no perfil de difração, para temperatura de 900°C, observou-se a participação das fases de HapSi(x=0,7) em 99,28 % e CaO em 0.72 % em massa.

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi:  
Rp: 10.2, Rwp: 14.0, Rexp: 8.99, Chi2: 2.41.

**Figura 3.13: Refinamento Rietveld da HapSi(x=1,0) com a Temperatura.**



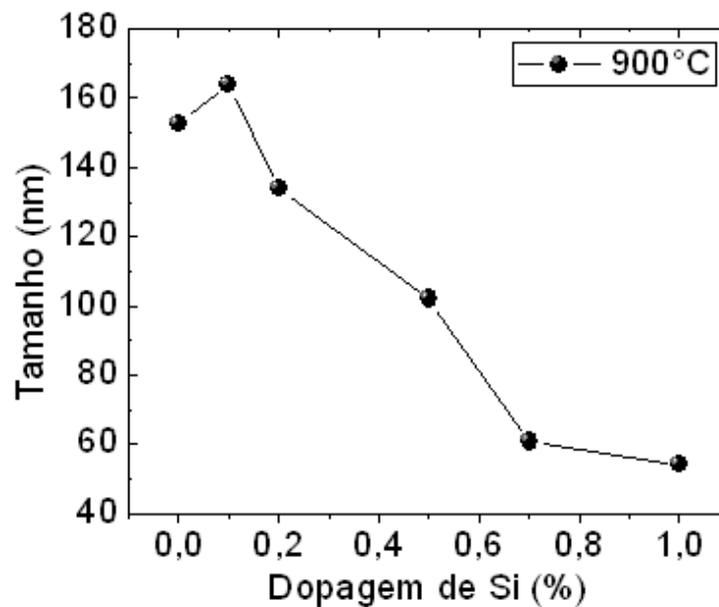
*Fonte: Imagem feita pelo Autor fazendo uso dos dados experimentais obtidos nas medidas e os calculados obtidos pelo programa FullProf.*

A Figura 3.13 corresponde a amostra de hidroxiapatita com silício ao 1,0% molar HapSi(x=1,0). Apresenta-se para 600°C a presença do Quartzo em quantidades de quase 1% e o restante do HapSi(x=1,0), para 700°C apresentou-se

ainda a presença do Quartzo em 1%, além disso, a aparição da fase  $Ca_2SiO_4$  em 12,51 % e por ultimo a fase HapSi(x=1,0) em 86,49 % em massa. Para 900°C a presença da fase associada a HapSi(x=1,0) diminui a 84,67 % contribuindo a formação da fase associada ao  $Ca_2SiO_4$  em 13,43 % e um remanescente de CaO com 1,90 % em massa.

E os índices que indicam a qualidade do refinamento para o perfil a 900°C foi: Rp: 9.51, Rwp: 12.9, Rexp: 8.92, Chi2: 2.08.

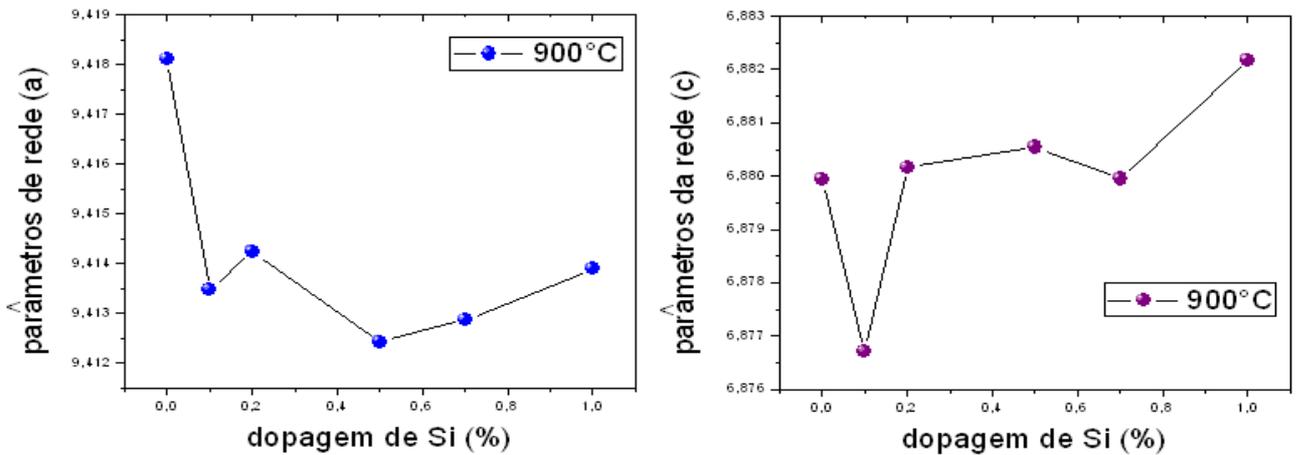
**Figura 3.14: Variação do tamanho dos cristalitos da HapSi a 900°C com o porcentagem do dopagem.**



*Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.*

Na Figura 3.14 podemos verificar a diminuição progressiva dos tamanhos dos cristais com o aumento da quantidade da dopagem do Silício.

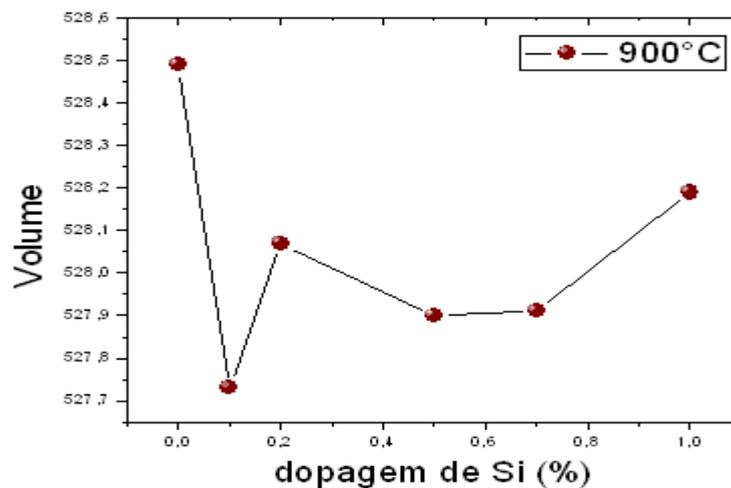
**Figura 3.15a: Mudanças nos parâmetros da rede a e c para as amostras a 900°C segundo a quantidade do dopagem.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

Na Figura 3.15a apresenta-se as variações nas dimensões dos parâmetros da rede da Hidroxiapatita para os diferentes % molares de substituição.

**Figura 3.15b: Variações no volume da HapSi a 900°C segundo os porcentagem do dopagem.**



Fonte: Imagem feita pelo autor usando dados experimentais e o programa Origin Pro.

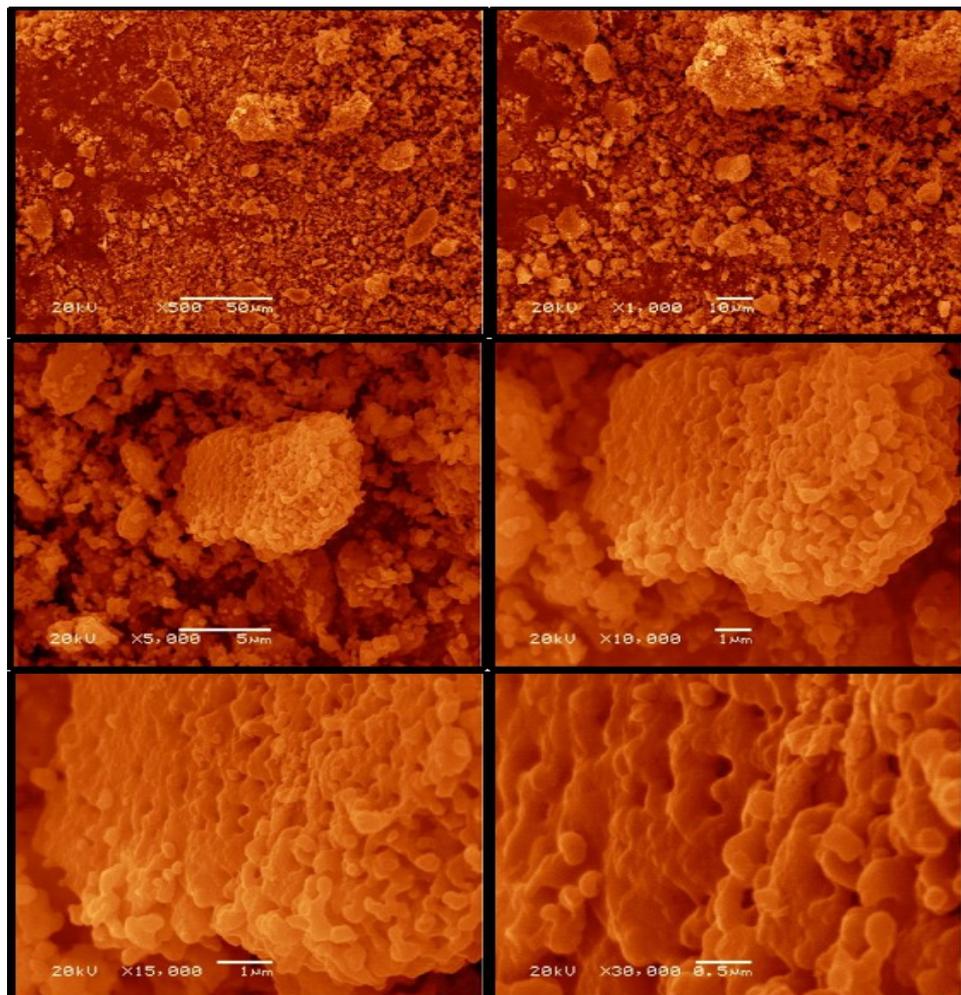
Na Figura 3.15b apresenta-se as variações do Volume em função da quantidade de dopagem.

### 3.3 Análise da Morfologia

#### 3.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Durante as medidas de MEV, encontramos uma grande dificuldade relacionada ao fato de que o HapSi é um material não condutor, durante as medidas a sua não condutividade piorava com o aumento do dopagem, para tentar corrigir este efeito, as amostras em pó foram depositas sobre uma fita de carbono, em seguida foram depositas partículas de Ouro, pela técnica de Sputtering.

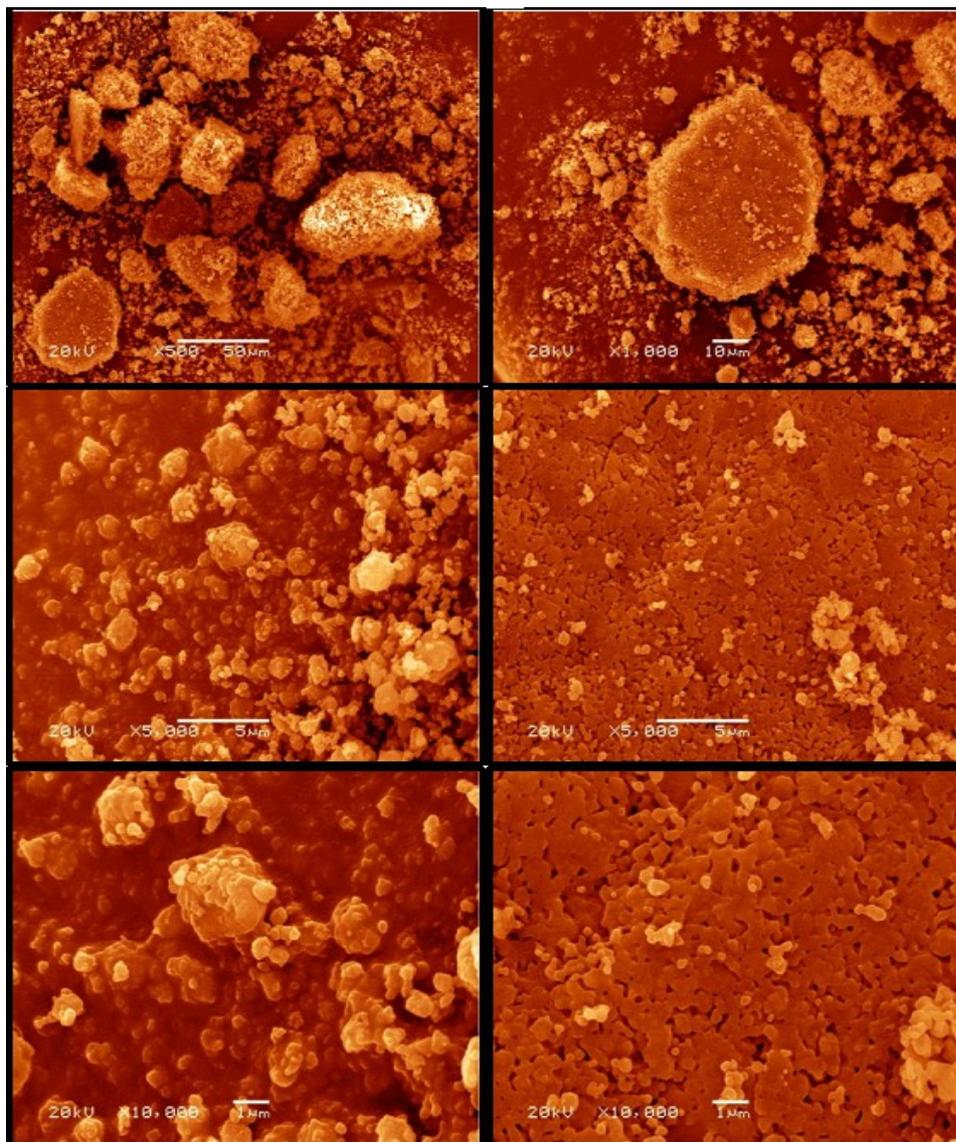
**Figura 3.16: Imagem morfológica da HapSi(x=0,0).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

As análises feitas por MEV validaram aspectos morfológicos das amostras, na Figura 3.16 apresenta-se imagens de Hidroxiapatita sem dopagem e a 900°C, foram feitas imagens a diferentes aumentos, observou-se uma grande porosidade do material, e grãos relativamente organizados.

**Figura 3.17: Imagem morfológica da HapSi(x=0,1).**



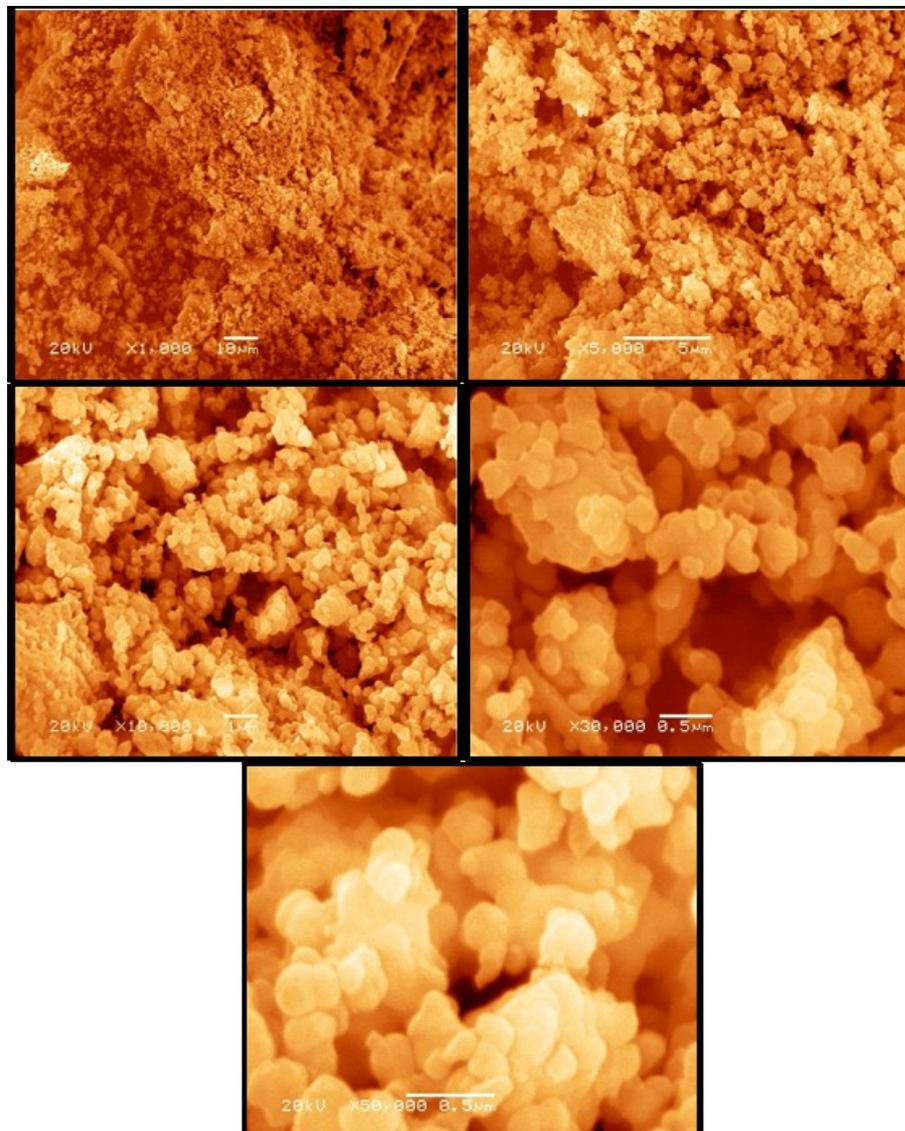
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

Na Figura 3.17, temos a HapSi(x=0,1), observou-se aglomerados muito

grandes, além disso, a superfície ainda manteve-se porosa.

Na Figura 3.18 a vista panorâmica mostrou-se mais desorganizada em comparação a amostra sem dopagem, a introdução do Silício na estrutura da Hidroxiapatita reduziu o tamanho dos cristais, esse efeito aumento com a quantidade de dopagem.

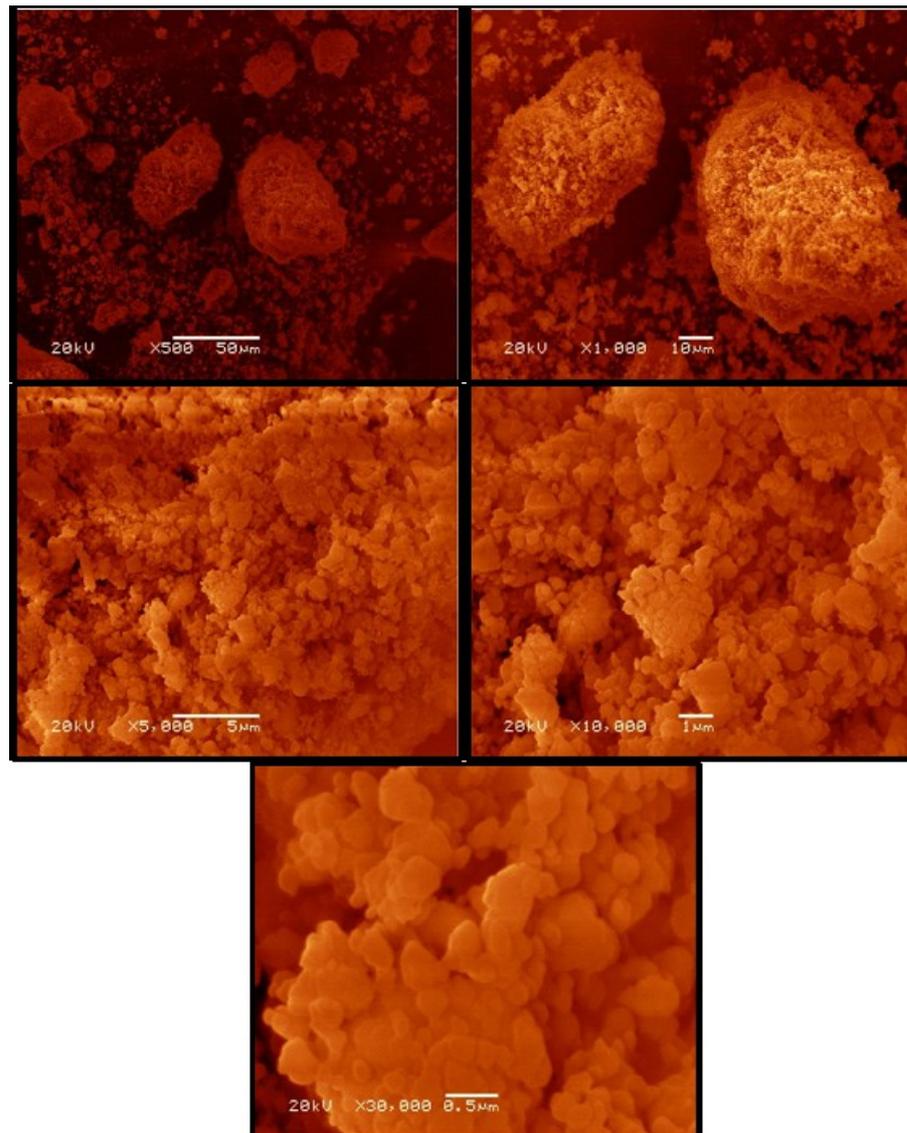
**Figura 3.18: Imagem morfológica da HapSi(x=0,2).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

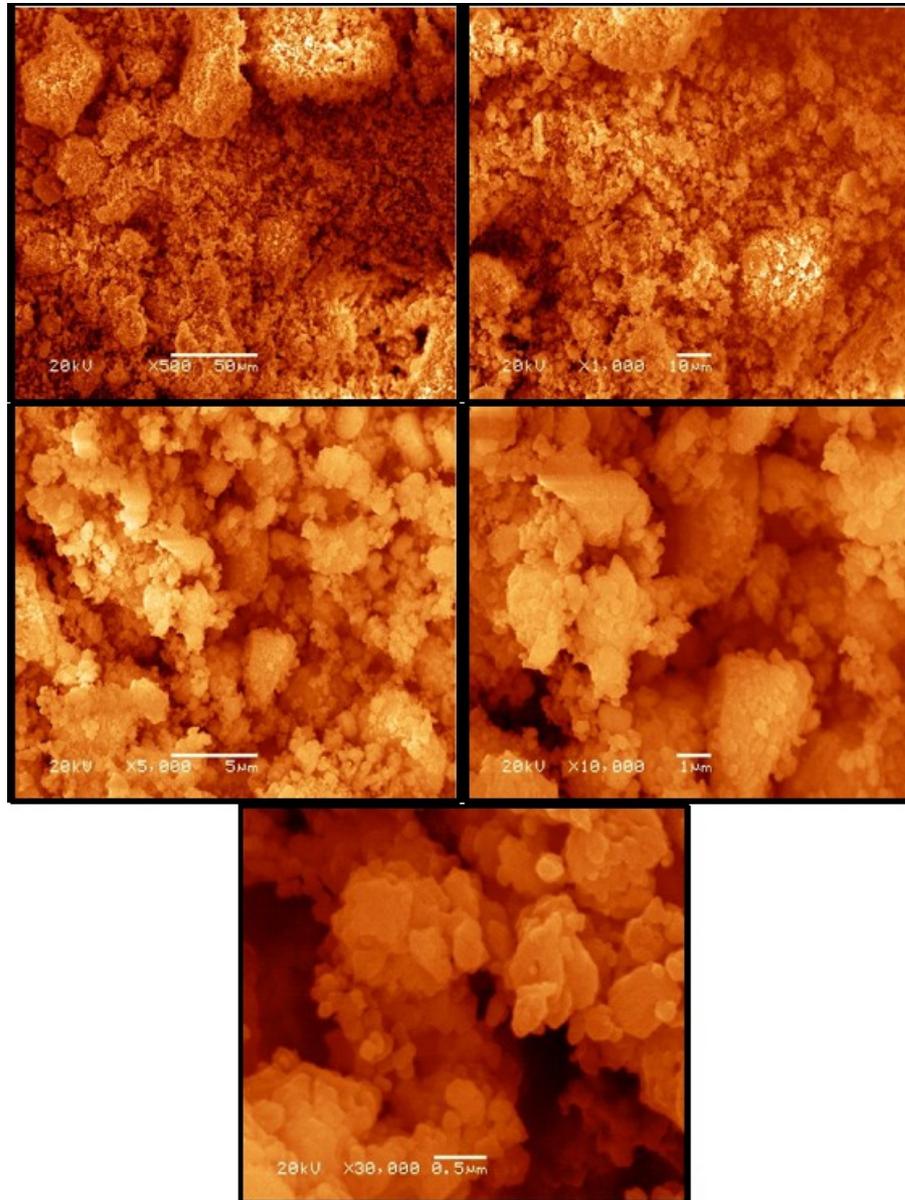
Nas Figuras 3.19, 3.20 e 3.21 observou-se uma grande diminuição dos grãos observados nas amostras com quantidades de dopagem menores.

**Figura 3.19: Imagem morfológica da HapSi(x=0,5).**



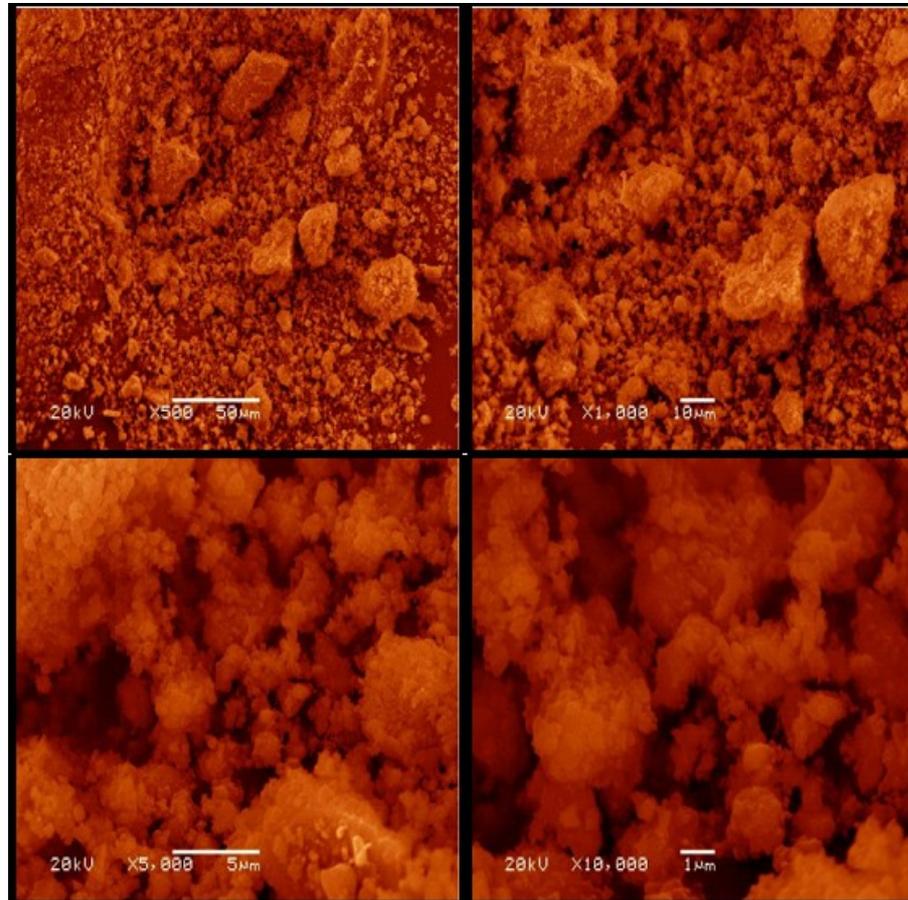
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.20: Imagem morfológica da HapSi(x=0,7).**



*Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.*

**Figura 3.21: Imagem morfológica da HapSi(x=1,0).**



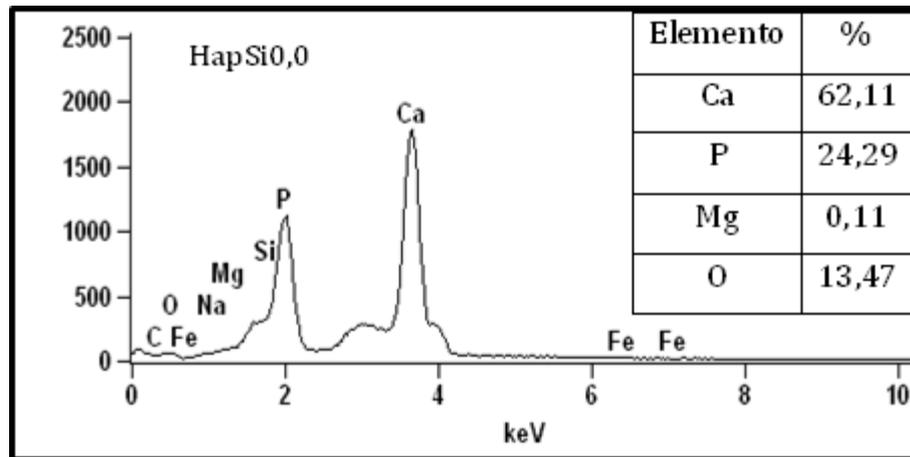
*Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.*

### 3.3.2 Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva

Para o conjunto de amostras sem dopagem a 900°C e com dopagem em todas as concentrações a 900°C foram feitas análises elementais para verificar a existência de algum tipo de impureza e/ou para confirmar os resultados obtidos na caracterização feita por DRX.

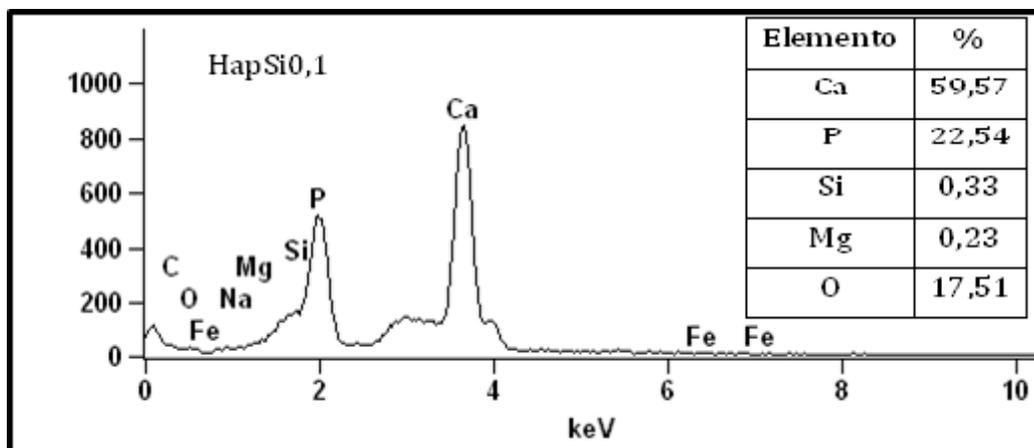
A preparação das amostras foram feitas depositando o pó sobre uma fita de carbono e os resultados obtidos são apresentados nas seguintes figuras:

**Figura 3.21: Imagem morfológica da HapSi(x=1,0).**



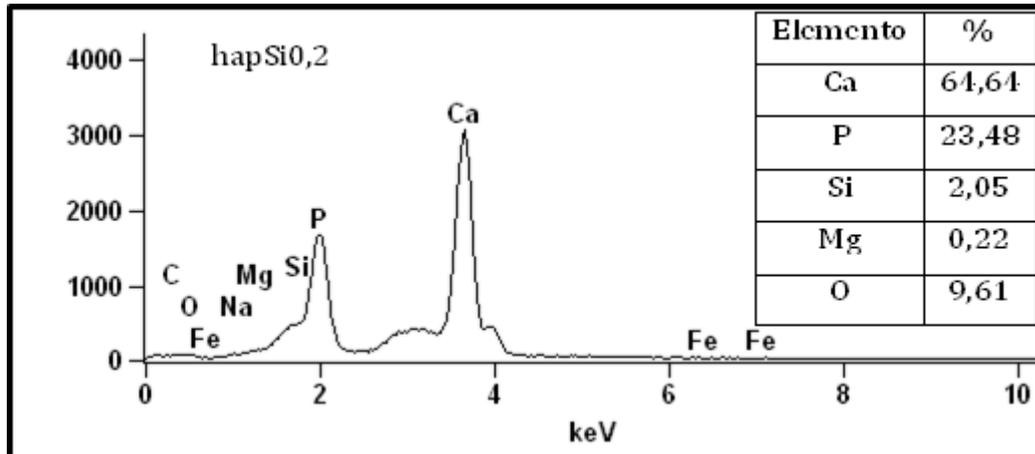
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.23: Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,1) tratada a 900°C.**



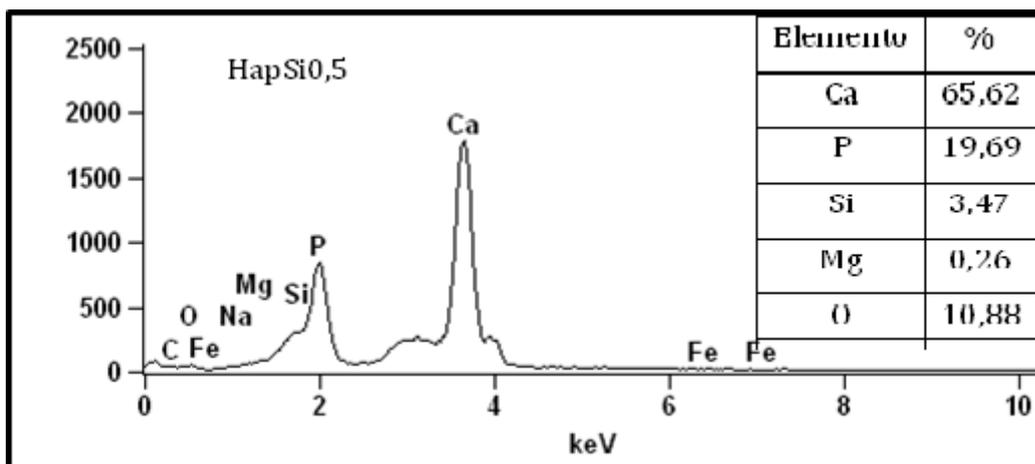
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.24: Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,2) tratada a 900°C.**



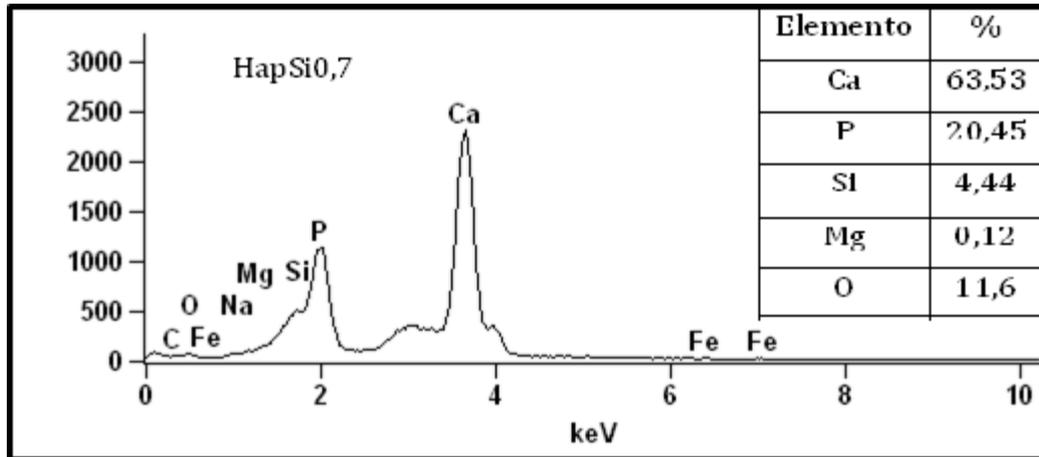
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.25: Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,5) tratada a 900°C.**



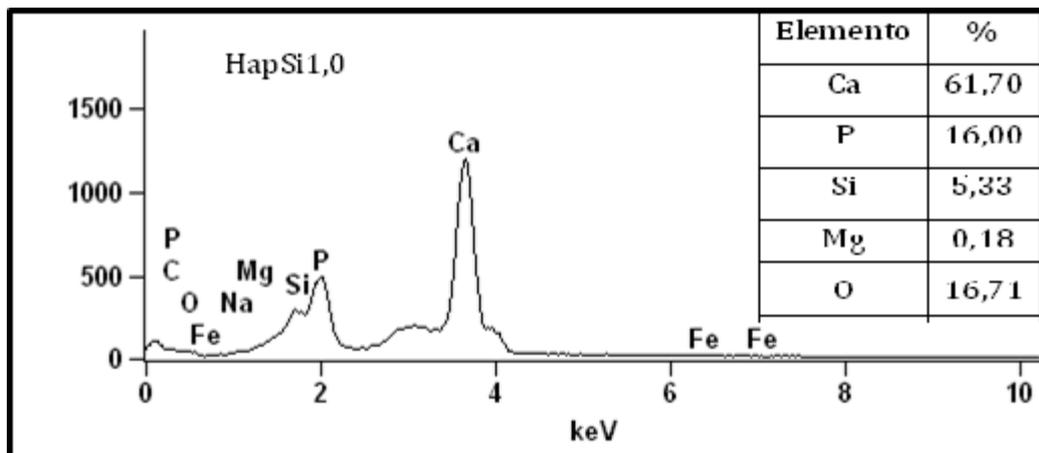
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.26: Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=0,7) tratada a 900°C.**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.27: Ensaio de EDX para o análises elementais da amostra de HapSi(x=1,0) tratada a 900°C.**

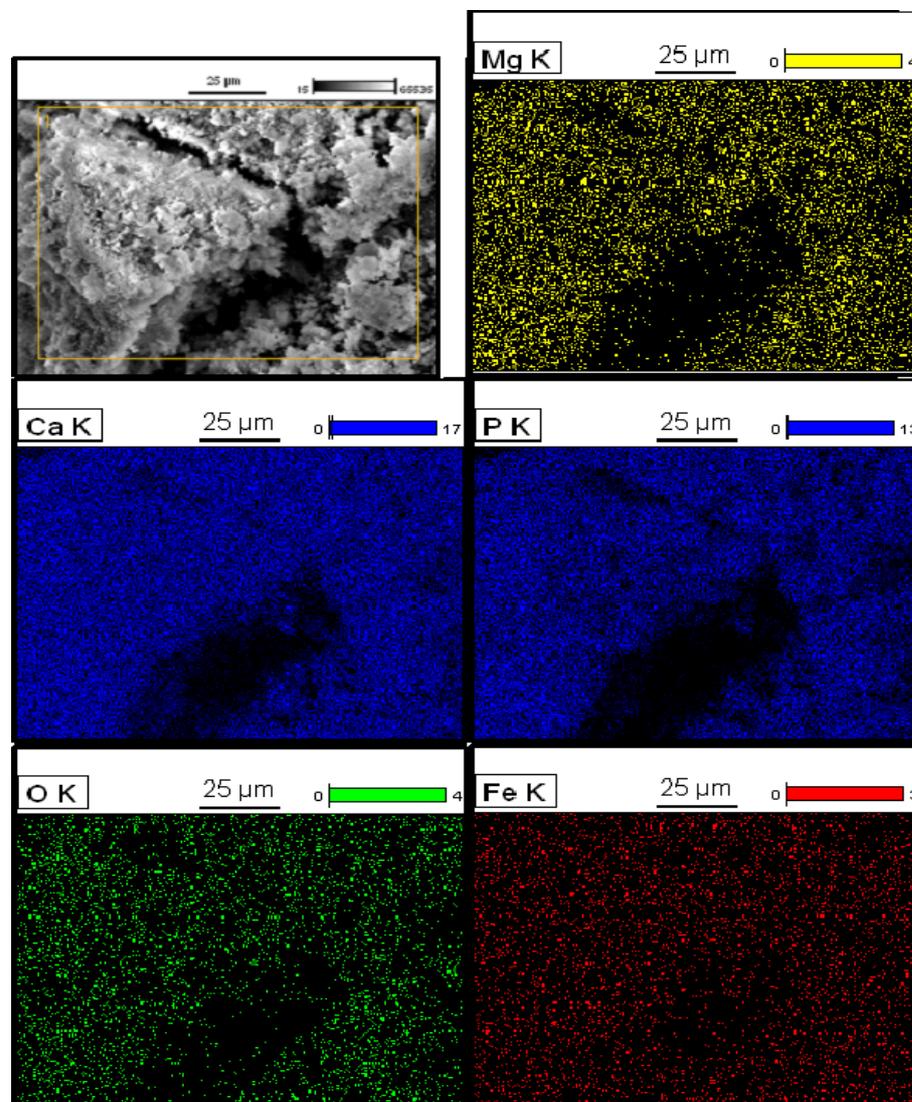


Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

### 3.3.3 Mapeamento Químico (MPQ)

Foram feitas análises da superfície das amostras de Hidroxiapatita sem dopagem e com dopagem, com o objetivo de verificar a homogeneidade das mesmas.

**Figura 3.28: Mapeamento Químico HapSi(x=0,0).**



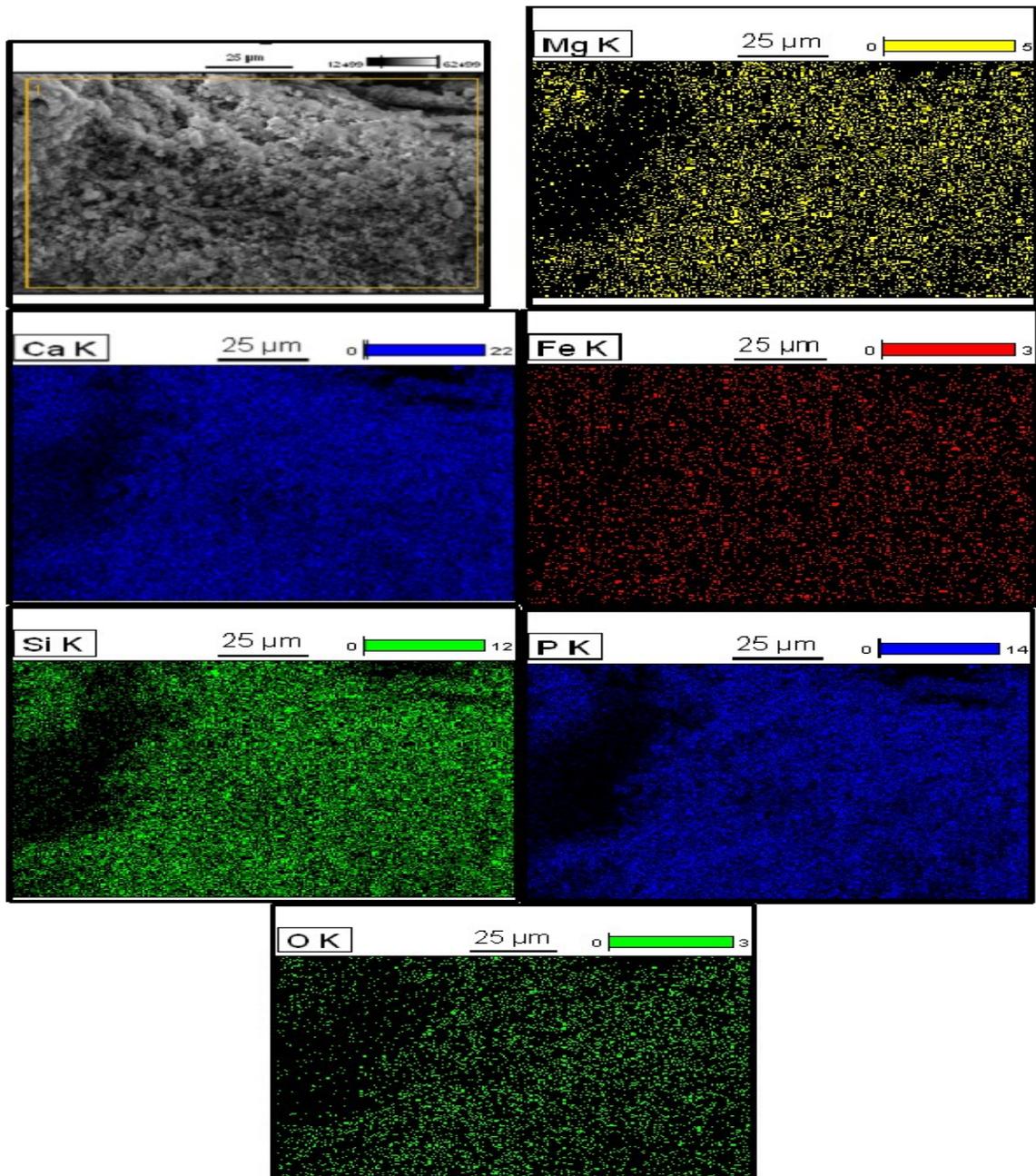
Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

Na Figura 3.28 apresenta-se o mapeamento químico da HapSi(x=0,0). Podemos visualizar as regiões ocupadas pelos átomos do nosso material. Observou-se uma escala que indica a comparação relativa da participação de cada grupo de átomos presentes na amostra. Por exemplo, nota-se a presença majoritária das linhas do Cálcio (K alfa) e do Fósforo (K alfa) os valores relativos assumidos para estes átomos são 17 e 13 respectivamente, em menor proporção encontra-se o Magnésio e o Ferro, resultados que são confirmados por EDX e os seus respectivos valores relativos 4 e 3, e por ultimo, temos a participação de Oxigênio o qual é possuidor de um abaixa densidade eletrônica, o qual dificulta alguns tipos de análises, mais ainda apresenta-se com um valor relativo de 4.

As cores com as quais são apresentadas os análises do MPQ não tem relação alguma com o tipo de átomo presente na amostra, é usado só para diferenciar as regiões com átomos diferentes, assim como a sua distribuição sobre a superfície da amostra.

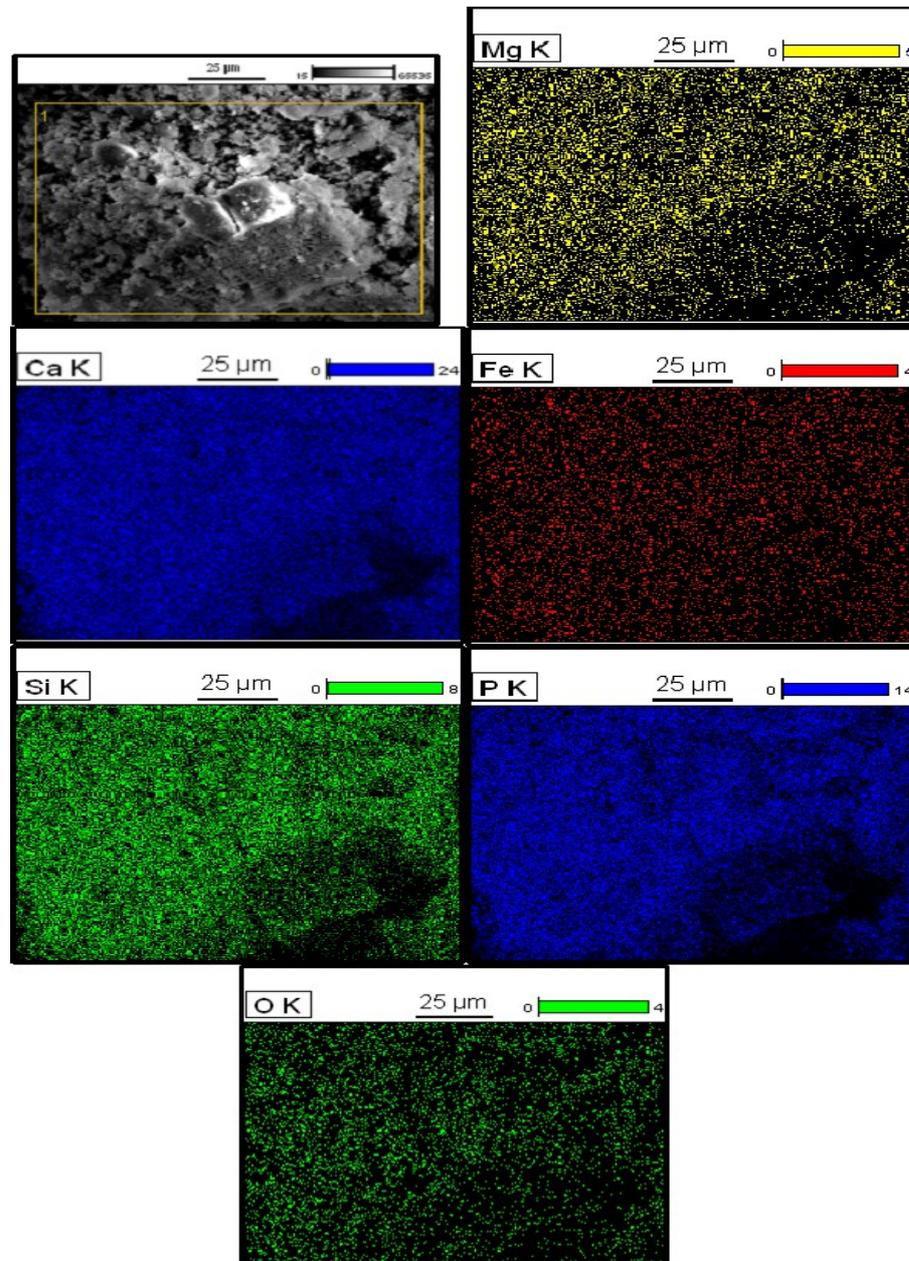
A partir da Figura 3.29 até a Figura 3.33 apresenta-se as imagens tomadas dos MPQ's para as diferentes dopagem de Silício na estrutura da Hidroxiapatita.

**Figura 3.29: Mapeamento Químico HapSi(x=0,1).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

**Figura 3.30: Mapeamento Químico HapSi(x=0,2).**

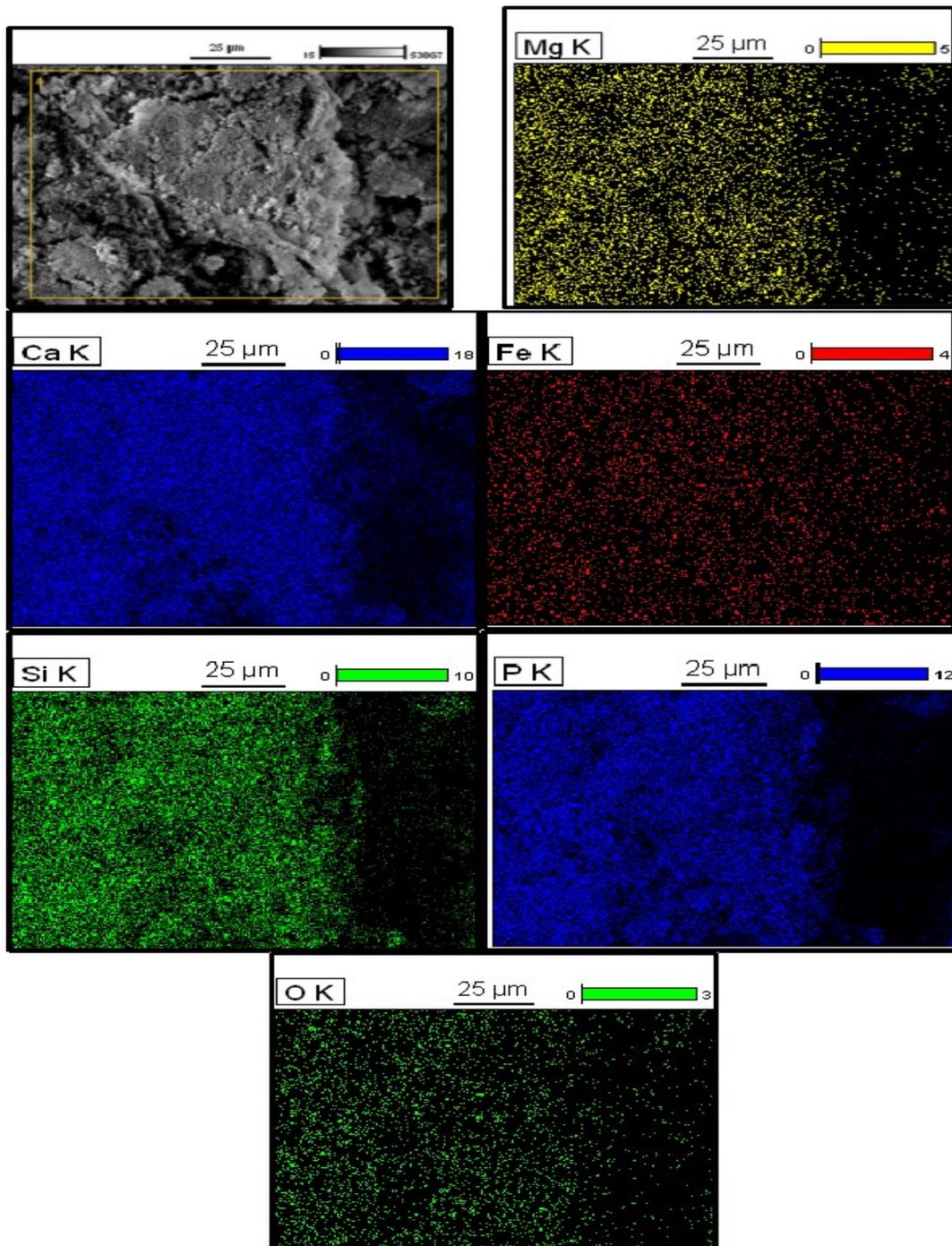


*Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.*

Na Figura 3.29 e 3.30 observa-se uma boa homogeneidade da distribuição dos átomos sobre a superfície da amostra, além disso, o nosso material dopante

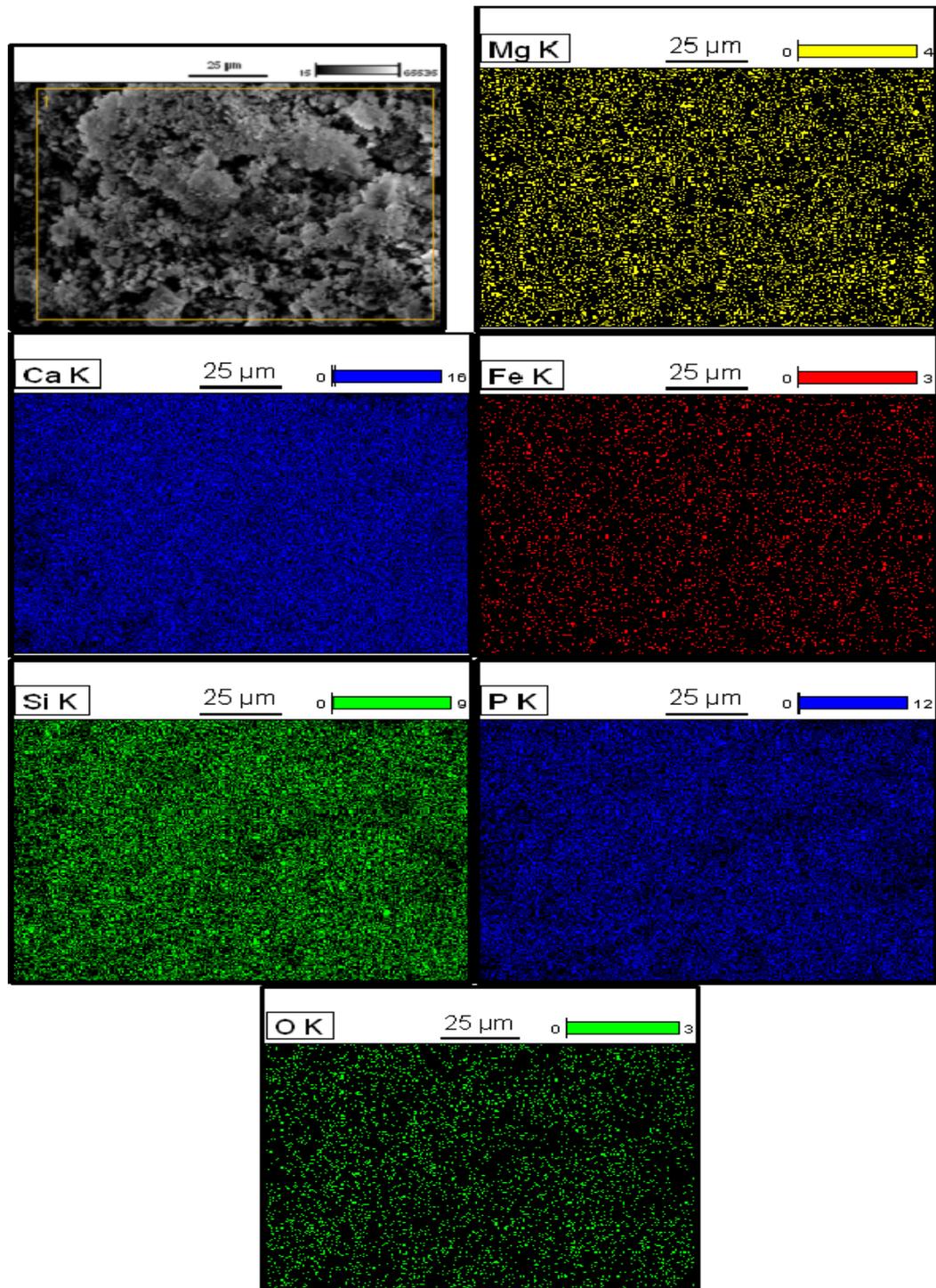
encontrou-se muito bem distribuído sobre toda a superfície de nosso material um efeito que se observa em todas as dopagem realizadas.

**Figura 3.31: Mapeamento Químico HapSi(x=0,5).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

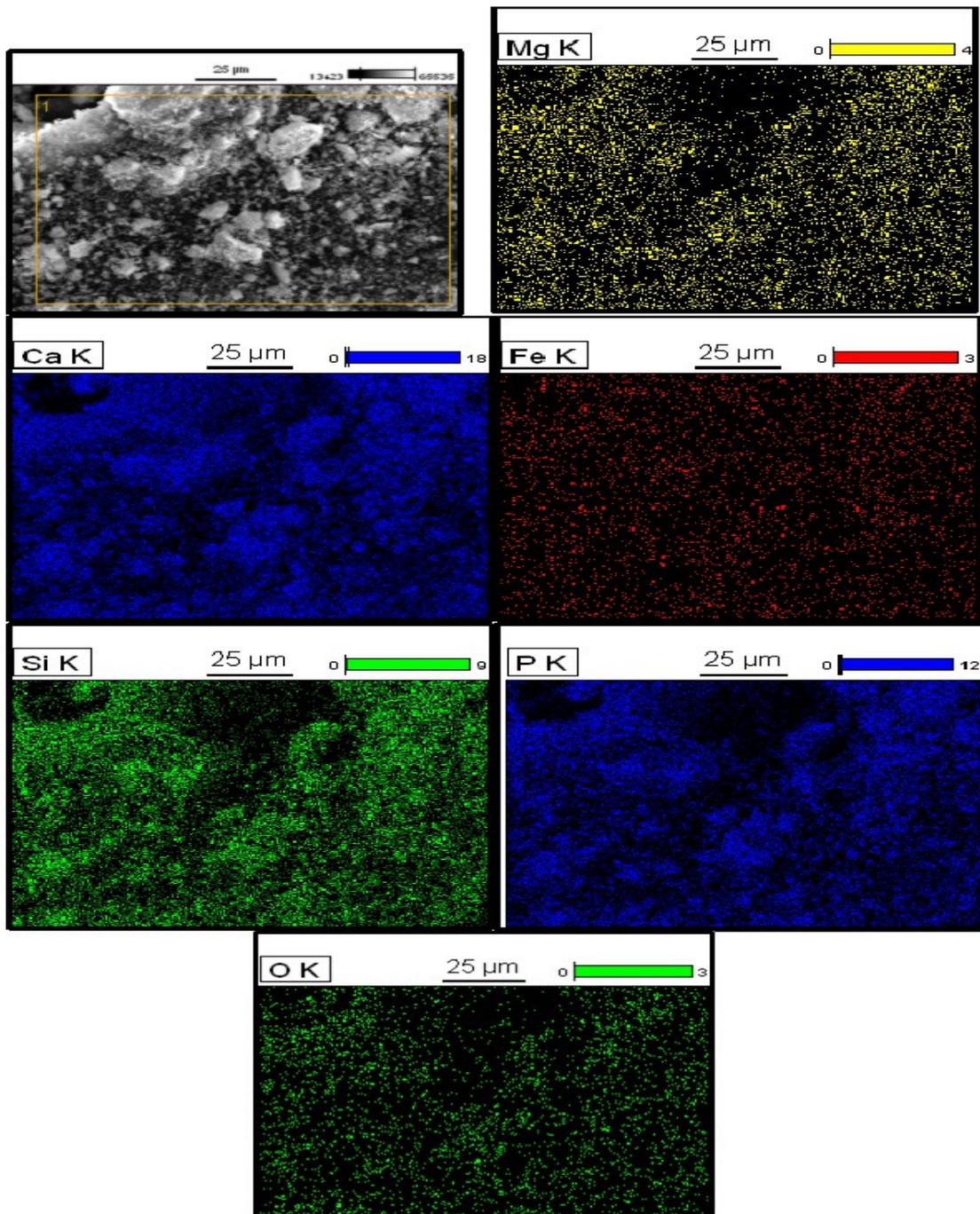
**Figura 3.32: Mapeamento Químico HapSi(x=0,7).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

Nas Figuras 3.31 à 3.33 o Ferro mantém sua baixa participação, o mesmo acontece com o Magnésio. O silício encontra-se melhor distribuído e as quantidades de Oxigênio diminuíram com a mesma proporção.

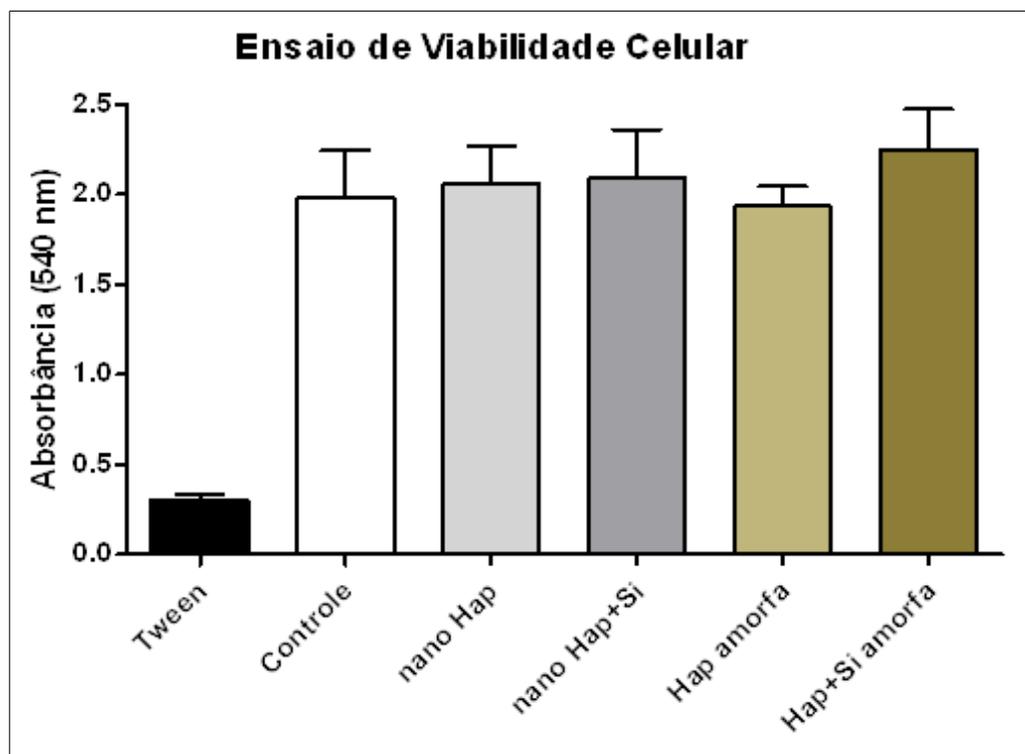
**Figura 3.33: Mapeamento Químico HapSi(x=1,0).**



Fonte: Centro de Microscopia Eletrônica - UFRGS.

### 3.4. Avaliação da Citotoxicidade – MTT

**Figura 3.34: Teste de viabilidade celular pelo ensaio de MTT. Os resultados são expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (EPM).**

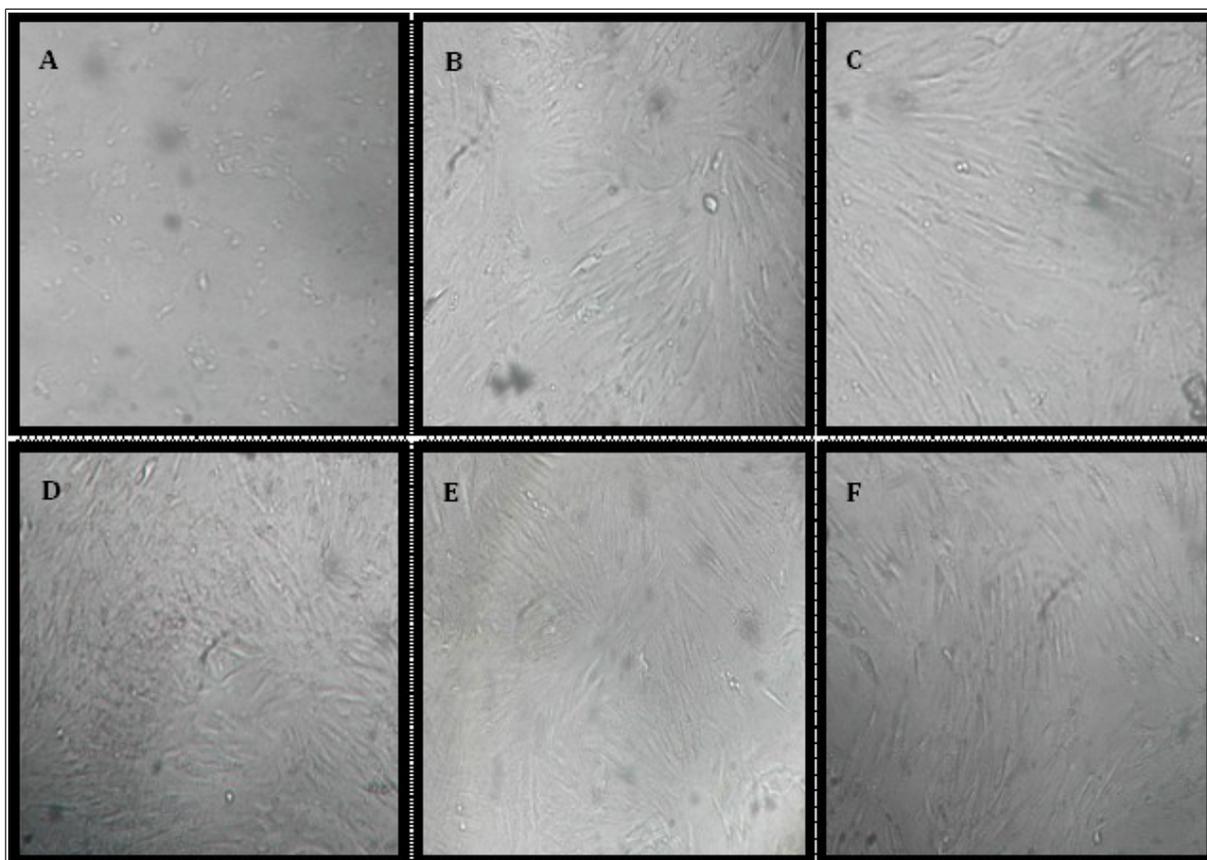


Fonte: ICBS - UFAL

A avaliação da viabilidade celular pelo ensaio de MTT demonstrou que não houve diferença significativa entre o GRUPO II (controle positivo) e os fibroblastos cultivados nos grupos experimentais (III, IV, V e VI), apresentando assim viabilidade em todos os grupos experimentais na concentração final obtida pelos extratos (12,5%). Todos os grupos (II, III, IV, V e VI) apresentaram diferença significativa ( $p \leq 0,0016$ ) quando comparados ao GRUPO I (controle negativo).

Além disso, pode-se afirmar que existem propriedades associadas ao tamanho dos cristais ou nanocristais de hidroxiapatita onde se acredita influenciam na biodegradabilidade ante as células encarregadas da regeneração óssea [55].

**Figura 3.35: Fotomicrografia dos fibroblastos durante o tratamento nos grupos avaliados.**



Fonte: ICBS - UFAL

Aspectos morfológicos da linhagem FGH 18hs após início do tratamento para o ensaio de MTT obtidos no aumento de 100x em microscópio invertido, em **A** – grupo I, **B** – grupo II, **C** – grupo III, **D** – grupo IV, **E** – grupo V e **F** – grupo VI.

## CONCLUSÕES

Os resultados após a caracterização estrutural, morfológica e da toxicidade dos pós de Hidroxiapatita com e sem dopagem de Silício são as seguintes:

- Foi possível avaliar o método de síntese (RMQ), assim como o produto obtido mediante a técnica de Difração de Raios X. Foram monitoradas via DRX para todos os tempos de moagem e observou-se que para 30hrs formou-se uma fase corresponde ao nano-fosfato de cálcio para concentrações menores do material do dopagem, e uma pequena porção remanescente do silicato de cálcio para altas quantidades de dopagem.
- Os resultados obtidos pelo Método Rietveld apresentaram para as amostras calcinadas a 900°C observou-se uma grande redução do tamanho dos cristais segundo o aumento da quantidade do material de dopagem. Além disso, para as concentrações de dopagem X= 0,5 e 0,7 % observou-se uma preferência para a existência da fase associada à Hidroxiapatita (HapSi) com fases secundárias relativamente menores ao 1% ( $SiO_2$  e  $CaO$ ).
- Os resultados das avaliações da proliferação celular MTT feitas nas amostras de nano-fosfato de cálcio (30 hrs de moagem) e a tratada a 900°C sem dopagem apresentaram uma menor evolução comparadas com as que foram dopadas a X=1,0 % de Silício para as 30 hrs de moagem e as tratadas a 900°C. Indicando assim, que o material preparado por RMQ é um bom candidato para o seu uso clínico, e que os dopagem feitas melhoram a suas propriedades de biocompatibilidade. Além disso, observou-se também que o tamanho dos cristais marcou uma grande diferença neste processo de proliferação celular, dando uma maior resposta às amostras com 30hrs de moagem.
- Foram observadas por Microscopia Eletrônica de Varredura a porosidade do

material e a redução do tamanho dos cristais, isso verificou os resultados obtidos pelo MR, assim como a homogeneidade das amostras observadas pelos mapeamentos químicos feitos nas amostras.

- Podemos concluir também que o carbonato de cálcio extraído da casca de ovo de galinha possui boa qualidade para a síntese de hidroxiapatita.

**APÊNDICE A**

Nesta seção é apresentado o formato do arquivo instrumental do Difratorômetro usado nas medidas.

```
Resolution Function of LCMMat - XRD obtained from Al2O3
! To be used with IRESO=1 in FullProf.2k (version > 1.6)
! 2theta-min step 2theta-max
  THRG 20.00 0.02 80.00
! Lambda1 Lambda2 Ratio(I2/I1)
  WAVE 1.540560 1.544390 0.5
! NPROF Shape1 Shape2 Shape3
  PROF 7 0.0 0.0 0.0
! S_L D_L
  ASYM 0.00000 0.00000
! Uins Vins Wins Xins Yins Zins
0.007477 -0.004837 0.002934 0.021926 0.016560 0.00000
```

## APÊNDICE B

Nesta seção são apresentados as informações estruturais obtidas pelo MR, basicamente as posições X, Y e Z, assim como os deslocamentos anisotrópicos para cada conjunto de átomos e as mudanças nos fatores de ocupação de cada sítio.

A notação usada para definir o fator de ocupação foi indicando a máxima ocupação geral por cada sítio atômico.

Tabela 1. Posições atômicas para a HapSi(x=0,0) a 600°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32504	0.48097	0.25000	6.00000
O2	0.58468	0.45992	0.25000	6.00000
O3	0.34359	0.25819	0.07050	11.77586
O4	0.00000	0.00000	0.19750	1.95342
H1	0.00000	0.00000	0.05400	1.68848
CA1	0.33333	0.66667	0.00260	4.00000
CA2	0.24794	0.99345	0.25000	5.97722
P1	0.39954	0.36612	0.25000	6.00000

Tabela 2. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,0) a 600°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.01244	0.04021	0.02430	0.03825	0.00000	0.00000
O2	0.04201	0.03257	-0.03790	0.01343	0.00000	0.00000
O3	0.04085	0.02303	0.01843	0.01429	-0.01481	-0.03426
O4	0.00070	0.00070	0.19178	-0.00035	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.03480	0.03480	0.02368	-0.01740	0.00000	0.00000
CA2	0.01538	0.00585	0.00186	-0.02619	0.00000	0.00000
P1	0.05397	0.03431	0.01297	0.03309	0.00000	0.00000

Tabela 3. Posições atômicas para a HapSi(x=0,0) a 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32348	0.47516	0.25000	6.00000
O2	0.57945	0.45405	0.25000	6.00000
O3	0.34245	0.25907	0.07050	11.45782
O4	0.00000	0.00000	0.16790	2.11142
H1	0.00000	0.00000	0.05400	1.68848
CA1	0.33333	0.66667	0.00260	4.00000
CA2	0.25107	0.99280	0.25000	5.99794
P1	0.40256	0.36965	0.25000	6.00000

Tabela 4. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,0) a 700°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.00527	0.03033	-0.00038	0.02113	0.00000	0.00000
O2	0.01754	0.01712	-0.01075	0.02141	0.00000	0.00000
O3	0.02531	0.02957	-0.01069	0.02757	-0.00558	-0.00913
O4	0.00574	0.00574	0.12526	-0.00287	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01306	0.01306	0.00464	-0.00653	0.00000	0.00000
CA2	0.01190	0.00860	-0.00147	0.00265	0.00000	0.00000
P1	0.01512	0.02721	-0.00179	0.02199	0.00000	0.00000

Tabela 5. Posições atômicas para a HapSi(x=0,0) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32504	0.48097	0.25000	6.00000
O2	0.58468	0.45992	0.25000	6.00000
O3	0.34359	0.25819	0.07050	11.77586
O4	0.00000	0.00000	0.19750	1.95342
H1	0.00000	0.00000	0.05400	1.68848
CA1	0.33333	0.66667	0.00260	4.00000
CA2	0.24794	0.99345	0.25000	5.97722
P1	0.39954	0.36612	0.25000	6.00000

Tabela 6. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,0) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.01244	0.04021	0.02430	0.03825	0.00000	0.00000
O2	0.04201	0.03257	-0.03790	0.01343	0.00000	0.00000
O3	0.04085	0.02303	0.01843	0.01429	-0.01481	-0.03426
O4	0.00070	0.00070	0.19178	-0.00035	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.03480	0.03480	0.02368	-0.01740	0.00000	0.00000
CA2	0.01538	0.00585	0.00186	-0.02619	0.00000	0.00000
P1	0.05397	0.03431	0.01297	0.03309	0.00000	0.00000

Tabela 7. Posições atômicas para a HapSi(x=0,1) a 600°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.33849	0.47246	0.25000	5.76260
O2	0.58568	0.45075	0.25000	5.56535
O3	0.34928	0.26693	0.07040	11.05405
O4	0.00000	0.00000	0.14715	2.10526
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.32852
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.24792	0.98522	0.25000	5.97489
P1	0.40517	0.37474	0.25000	5.90000
SI1	0.40517	0.37474	0.25000	0.10000

Tabela 8. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,1) a 600°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.04220	0.05486	0.08542	0.05967	0.00000	0.00000
O2	-0.03466	0.06235	0.03370	0.00026	0.00000	0.00000
O3	0.04189	0.03596	0.05368	0.04070	-0.01646	0.00797
O4	0.00688	0.00688	-0.00141	-0.00344	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.03800	0.03800	0.03636	-0.01900	0.00000	0.00000
CA2	0.03755	0.01700	0.01031	0.01907	0.00000	0.00000
P1	0.04991	0.01148	0.00389	0.00857	0.00000	0.00000
SI1	0.04991	0.01148	0.00389	0.00857	0.00000	0.00000

Tabela 9. Posições atômicas para HapSi(x=0,1) a 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32114	0.45895	0.25000	5.77041
O2	0.57610	0.43136	0.25000	5.71865
O3	0.35165	0.26304	0.07040	11.24399
O4	0.00000	0.00000	0.19460	2.09434
H1	0.00000	0.00000	0.05600	2.75615
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.25242	0.98558	0.25000	5.91886
P1	0.41133	0.37944	0.25000	5.90000
SI1	0.41133	0.37944	0.25000	0.10000

Tabela 10. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,1) a 700°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.01833	0.02389	0.01851	0.01387	0.00000	0.00000
O2	0.00362	0.06015	0.03162	0.04129	0.00000	0.00000
O3	0.02650	0.03689	0.01610	0.03399	-0.00489	-0.01846
O4	0.07973	0.07973	0.02356	-0.03986	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01368	0.01368	0.01854	-0.00684	0.00000	0.00000
CA2	0.02571	0.02212	0.00598	0.01048	0.00000	0.00000
P1	0.02170	0.04116	0.01306	0.03190	0.00000	0.00000
SI1	0.02170	0.04116	0.01306	0.03190	0.00000	0.00000

Tabela 11. Posições atômicas para HapSi(x=0,1) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32478	0.47874	0.25000	5.91928
O2	0.57936	0.45507	0.25000	5.99832
O3	0.35152	0.26963	0.07040	11.76807
O4	0.00000	0.00000	0.20460	2.03019
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.52864
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.24658	0.98988	0.25000	5.98971
P1	0.40072	0.37155	0.25000	5.90000
SI1	0.40072	0.37155	0.25000	0.10000

Tabela 12. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,1) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.00716	0.00596	0.04829	-0.00068	0.00000	0.00000
O2	-0.00011	0.06357	0.00539	0.02831	0.00000	0.00000
O3	0.01643	0.00001	0.03150	0.00568	-0.01125	-0.01158
O4	0.04854	0.04854	-0.04211	-0.02427	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01493	0.01493	0.02062	-0.00746	0.00000	0.00000
CA2	0.01457	0.01211	0.01343	0.00510	0.00000	0.00000
P1	0.00590	0.02239	0.01257	0.00827	0.00000	0.00000
SI1	0.00590	0.02239	0.01257	0.00827	0.00000	0.00000

Tabela 13. Posições atômicas para HapSi(x=0,2) a 600°C e 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32750	0.48420	0.25000	6.00000
O2	0.58680	0.46460	0.25000	6.00000
O3	0.34390	0.25820	0.07040	12.00000
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.85000
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.66000
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.24580	0.99250	0.25000	6.00000
P1	0.39850	0.36900	0.25000	5.80000
SI1	0.39850	0.36900	0.25000	0.20000

Tabela 14. Posições atômicas para HapSi(x=0,2) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.33142	0.47900	0.25000	5.94044
O2	0.57943	0.45241	0.25000	6.00000
O3	0.34985	0.26734	0.07040	11.70866
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.97853
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.64469
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.24891	0.99068	0.25000	5.93991
P1	0.40035	0.37287	0.25000	5.80000
SI1	0.40035	0.37287	0.25000	0.20000

Tabela 15. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,2) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.00023	0.01284	0.02778	0.00382	0.00000	0.00000
O2	0.00074	0.06739	0.01797	0.03198	0.00000	0.00000
O3	0.01313	0.00419	0.02303	0.00649	0.00422	0.00073
O4	0.03766	0.03766	-0.05712	-0.01883	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01330	0.01330	0.02275	-0.00665	0.00000	0.00000
CA2	0.01319	0.01442	0.01540	0.00801	0.00000	0.00000
P1	0.01426	0.02629	0.00757	0.01454	0.00000	0.00000
SI1	0.01426	0.02629	0.00757	0.01454	0.00000	0.00000

Tabela 16. Posições atômicas para HapSi(x=0,5) a 600°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32450	0.47337	0.25000	5.76664
O2	0.57530	0.45482	0.25000	5.73601
O3	0.34784	0.26112	0.07040	11.45799
O4	0.00000	0.00000	0.19260	1.82253
H1	0.00000	0.00000	0.05600	2.42651
CA1	0.33333	0.66667	0.00330	4.00000
CA2	0.24761	0.98958	0.25000	5.93857
P1	0.39782	0.37088	0.25000	5.50000
SI1	0.39782	0.37088	0.25000	0.50000

Tabela 17. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,5) a 600°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.01056	0.05934	0.04417	0.04668	0.00000	0.00000
O2	-0.02270	0.10724	0.06812	0.03394	0.00000	0.00000
O3	0.04430	0.03121	0.01464	0.03622	0.02752	0.02276
O4	-0.01113	-0.01113	0.01448	0.00557	0.00000	0.00000
H1	-0.00855	-0.00855	-0.00195	0.00428	0.00000	0.00000
CA1	0.03096	0.03096	0.03815	-0.01548	0.00000	0.00000
CA2	0.02402	0.00494	0.02052	0.00385	0.00000	0.00000
P1	0.07780	0.03961	-0.00206	0.04495	0.00000	0.00000
SI1	0.07780	0.03961	-0.00206	0.04495	0.00000	0.00000

Tabela 18. Posições atômicas para HapSi(x=0,5) a 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32589	0.47282	0.25000	5.90201
O2	0.57773	0.45296	0.25000	5.78937
O3	0.34793	0.26390	0.07040	11.50080
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.92932
H1	0.00000	0.00000	0.05600	2.17326
CA1	0.33333	0.66667	0.00330	4.00000
CA2	0.24529	0.98749	0.25000	5.95596
P1	0.40201	0.37277	0.25000	5.50000
SI1	0.40201	0.37277	0.25000	0.50000

Tabela 19. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,5) a 700°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.01085	0.01741	0.02041	0.01739	0.00000	0.00000
O2	-0.01417	0.08220	0.05172	0.02575	0.00000	0.00000
O3	0.01866	0.00496	0.01786	0.01311	0.02239	0.01306
O4	0.00460	0.00460	0.04772	-0.00230	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01740	0.01740	0.02127	-0.00870	0.00000	0.00000
CA2	0.01717	0.00807	0.01522	0.00511	0.00000	0.00000
P1	0.05083	0.02688	0.00423	0.02585	0.00000	0.00000
SI1	0.05083	0.02688	0.00423	0.02585	0.00000	0.00000

Tabela 20. Posições atômicas para HapSi(x=0,5) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.33306	0.47499	0.25000	5.82830
O2	0.57781	0.45426	0.25000	5.94671
O3	0.34693	0.26458	0.07040	11.60441
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.98783
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.94964
CA1	0.33333	0.66667	0.00230	4.00000
CA2	0.24946	0.99226	0.25000	5.95261
P1	0.39977	0.37194	0.25000	5.50000
SI1	0.39977	0.37194	0.25000	0.50000

Tabela 21. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,5) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	-0.00384	0.01936	0.01901	0.00271	0.00000	0.00000
O2	0.00250	0.04699	0.01929	0.02314	0.00000	0.00000
O3	0.02358	-0.00056	0.01784	0.00321	0.00360	0.00309
O4	0.00805	0.00805	0.01120	-0.00403	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.01355	0.01355	0.01330	-0.00678	0.00000	0.00000
CA2	0.00936	0.01055	0.01418	0.00345	0.00000	0.00000
P1	0.01038	0.03272	0.01098	0.01897	0.00000	0.00000
SI1	0.01038	0.03272	0.01098	0.01897	0.00000	0.00000

Tabela 22. Posições atômicas para HapSi(x=0,7) a 600°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32218	0.47578	0.25000	5.81873
O2	0.57839	0.45320	0.25000	5.78610
O3	0.34883	0.26168	0.07040	11.54049
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.88569
H1	0.00000	0.00000	0.05600	2.46095
CA1	0.33333	0.66667	0.00130	4.00000
CA2	0.24274	0.98682	0.25000	5.95823
P1	0.40205	0.37222	0.25000	5.30000
SI1	0.40205	0.37222	0.25000	0.70000

Tabela 23. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,7) a 600°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.01513	0.03512	0.02430	0.03993	0.00000	0.00000
O2	-0.00796	0.10087	0.07398	0.02913	0.00000	0.00000
O3	0.02717	0.01810	0.01104	0.02088	0.02180	0.01345
O4	-0.01094	-0.01094	0.00951	0.00547	0.00000	0.00000
H1	0.01659	0.01659	0.01162	-0.00829	0.00000	0.00000
CA1	0.02256	0.02256	0.01985	-0.01128	0.00000	0.00000
CA2	0.01474	0.00411	0.01444	-0.00406	0.00000	0.00000
P1	0.06716	0.02275	0.00249	0.03185	0.00000	0.00000
SI1	0.06716	0.02275	0.00249	0.03185	0.00000	0.00000

Tabela 24. Posições atômicas para HapSi(x=0,7) a 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32530	0.47486	0.25000	5.74256
O2	0.57716	0.45310	0.25000	5.91997
O3	0.35121	0.26891	0.07040	11.78114
O4	0.00000	0.00000	0.19460	1.82635
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.95293
CA1	0.33333	0.66667	0.00292	4.00000
CA2	0.24659	0.98617	0.25000	5.93386
P1	0.39938	0.37296	0.25000	5.30000
SI1	0.39938	0.37296	0.25000	0.70000

Tabela 25. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,7) a 700°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.00578	0.03019	0.04054	0.02744	0.00000	0.00000
O2	-0.03626	0.12836	0.07601	0.02257	0.00000	0.00000
O3	0.03837	0.00120	0.02288	0.01168	0.02996	0.02103
O4	-0.01038	-0.01038	0.03338	0.00519	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.02305	0.02305	0.02165	-0.01153	0.00000	0.00000
CA2	0.01667	0.00704	0.02034	-0.00052	0.00000	0.00000
P1	0.06895	0.03611	-0.00246	0.03508	0.00000	0.00000
SI1	0.06895	0.03611	-0.00246	0.03508	0.00000	0.00000

Tabela 26. Posições atômicas para HapSi(x=0,7) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32805	0.47821	0.25000	5.94422
O2	0.58112	0.45885	0.25000	5.94302
O3	0.34556	0.26083	0.07040	11.70737
O4	0.00000	0.00000	0.19321	1.91712
H1	0.00000	0.00000	0.05900	1.65872
CA1	0.33333	0.66667	0.00210	4.00000
CA2	0.25061	0.99632	0.25000	5.92624
P1	0.39461	0.36632	0.25000	5.30000
SI1	0.39461	0.36632	0.25000	0.70000

Tabela 27. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=0,7) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.00858	0.01456	0.02948	0.01480	0.00000	0.00000
O2	-0.01343	0.07822	0.05137	0.02009	0.00000	0.00000
O3	0.02577	0.00200	0.01430	0.00963	0.01656	0.01109
O4	-0.00487	-0.00487	0.01995	0.00243	0.00000	0.00000
H1	-0.00500	-0.00500	-0.03042	0.00250	0.00000	0.00000
CA1	0.01730	0.01730	0.01697	-0.00865	0.00000	0.00000
CA2	0.01248	0.01111	0.02097	0.00442	0.00000	0.00000
P1	0.02735	0.03065	0.00434	0.02427	0.00000	0.00000
SI1	0.02735	0.03065	0.00434	0.02427	0.00000	0.00000

Tabela 28. Posições atômicas para HapSi(x=1,0) a 600°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32418	0.47285	0.25000	5.72266
O2	0.57895	0.45580	0.25000	5.94829
O3	0.35243	0.26702	0.07040	11.27839
O4	0.00000	0.00000	0.17991	2.03400
H1	0.00000	0.00000	0.05600	2.21103
CA1	0.33333	0.66667	0.00253	4.00000
CA2	0.24563	0.99010	0.25000	5.96538
P1	0.39856	0.37187	0.25000	5.00000
SI1	0.39856	0.37187	0.25000	1.00000

Tabela 29. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=1,0) a 600°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.02194	0.04395	0.04388	0.04246	0.00000	0.00000
O2	-0.02378	0.15128	0.09277	0.03823	0.00000	0.00000
O3	0.03858	0.01098	0.00371	0.01758	0.01713	0.01202
O4	0.00614	0.00614	0.01152	-0.00307	0.00000	0.00000
H1	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000	0.00000
CA1	0.02712	0.02712	0.03014	-0.01356	0.00000	0.00000
CA2	0.01928	0.00551	0.02998	0.00058	0.00000	0.00000
P1	0.07832	0.04390	-0.00351	0.03544	0.00000	0.00000
SI1	0.07832	0.04390	-0.00351	0.03544	0.00000	0.00000

Tabela 30. Posições atômicas para HapSi(x=1,0) a 700°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.33040	0.48155	0.25000	5.89833
O2	0.58865	0.46339	0.25000	5.96408
O3	0.34467	0.25853	0.07040	11.81200
O4	0.00000	0.00000	0.19059	1.86077
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.78030
CA1	0.33333	0.66667	0.00247	4.00000
CA2	0.24819	0.99580	0.25000	5.91702
P1	0.39426	0.36567	0.25000	5.00000
SI1	0.39426	0.36567	0.25000	1.00000

Tabela 31. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi(x=1,0) a 700°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.01779	0.00565	0.01256	0.02072	0.00000	0.00000
O2	-0.00893	0.03862	0.04010	-0.00619	0.00000	0.00000
O3	0.04604	0.02240	0.01082	0.01784	0.01714	0.00408
O4	0.01046	0.01046	0.00368	-0.00523	0.00000	0.00000
H1	-0.02270	-0.02270	0.07004	0.01135	0.00000	0.00000
CA1	0.02681	0.02681	0.01786	-0.01340	0.00000	0.00000
CA2	0.01463	0.01070	0.02552	0.00110	0.00000	0.00000
P1	0.02862	0.02951	0.01820	0.02357	0.00000	0.00000
SI1	0.02862	0.02951	0.01820	0.02357	0.00000	0.00000

Tabela 32. Posições atômicas para HapSi(x=1,0) a 900°C.

Átomo	X	Y	Z	Fator Ocupação
O1	0.32835	0.48226	0.25000	5.97327
O2	0.58679	0.46334	0.25000	6.00000
O3	0.34261	0.25713	0.07040	11.89070
O4	0.00000	0.00000	0.19439	1.81023
H1	0.00000	0.00000	0.05600	1.40092
CA1	0.33333	0.66667	0.00253	4.00000
CA2	0.24783	0.99540	0.25000	5.98404
P1	0.39559	0.36557	0.25000	5.00000
SI1	0.39559	0.36557	0.25000	1.00000

Tabela 33. Fatores de deslocamento anisotrópicos para HapSi( $\chi=1,0$ ) a 900°C.

Átomo	B11	B22	B33	B12	B13	B23
O1	0.00864	0.01469	0.01337	0.01309	0.00000	0.00000
O2	0.00128	0.02463	0.04216	-0.00241	0.00000	0.00000
O3	0.03122	0.00896	0.01618	0.00746	0.00451	0.00185
O4	-0.00568	-0.00568	0.03728	0.00284	0.00000	0.00000
H1	-0.00577	-0.00577	-0.00795	0.00289	0.00000	0.00000
CA1	0.02290	0.02290	0.01613	-0.01145	0.00000	0.00000
CA2	0.02018	0.00542	0.02217	0.00376	0.00000	0.00000
P1	0.02499	0.01610	0.02240	0.01871	0.00000	0.00000
SI1	0.02499	0.01610	0.02240	0.01871	0.00000	0.00000

Fonte: Os dados gerados nas tabelas 1 ate a tabela 33 foram obtidos pelo autor com uso do programa FullProf.

Nota-se que foram só apresentados os detalhes estruturais após do refinamento Rietveld da fase associada à Hidroxiapatita por tratar-se do nosso ponto inicial e principal de estudo, mais detalhes poderão ser obtidos com o autor da Dissertação.

## REFERÊNCIAS

- [1] Ravaglioli A, Krajewski A. *Bioceramics: materials, properties and applications*. London: Chapman & Hall, 1992.
- [2] Santos A. *Interação entre Biomateriais e Tecido Ósseo*. Porto, 1998.
- [3] Arum S. Wagh. *Chemically Bonded Phosphate Ceramics. Twenty-First Century Materials with Diverse Applications*. Argonne, USA, 2004.
- [4] Buddy D. Ratner, Allan S. Hoffman, Frederick J. Schoen, Jack E. Lemons: *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Academic Press, 1996.
- [5] Joel W. Reida, Loughlin Tuckb, Michael Sayer, Karen Fargo, Jason A. Hendry: *Synthesis and characterization of single-phase silicon-substituted  $\alpha$ -tricalcium phosphate*. *Biomaterials* **27**: 2916; 2006.
- [6] Higashi S, Yamamuro T, Nakamura T, Ikada Y, Hyon S-H, Jamshidi K: *Polymer-hydroxyapatite composites for biodegradable bone fillers*. *Biomaterials* **7**: 183;1986.
- [7] Ohgushi H, Okumura M, Yoshikawa T, et al.: *Bone formation process in porous calcium carbonate and hydroxyapatite*. *J. Biomed. Mat. Res.* **26**: 885; 1992.
- [8] LeGeros R. Z. *Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review*, *Adv Dent Res.* **2**: 164; 1988.
- [9] James F. Shackelford: *Advanced Ceramics Volume 1 Bioceramics*. Rutgers University, USA, 2005.
- [10] Joon Park: *Bioceramics: Properties, Characterizations, and Applications*. Springer, 2008.
- [11] Peter Fratzl: *Collagen: Structure and Mechanics*. Springer, 2008.
- [12] Joon Park, R. S. Lakes: *Biomateriales: An Introduction*. Springer, 2007.
- [13] Anthony P. Hollander, Paul V. Hatton: *Biopolymer Methods in Tissue Engineering*. Humana Press & Totowa, New Jersey, 2004.
- [14] Zory Vlad Todres: *Organic Mechanochemistry and its Practical Applications*. Taylor & Francis, 2006.
- [15] M.I. Kay, R.A. Young, A.S. *Crystal Structure of Hydroxyapatite*. Posner, *Nature* **204**: 1050; 1964.

- [16] E.M. Carlisle. *Silicon: A Possible Factor in Bone Calcification*. Science **167**: 179; 1970.
- [17] E.M. Carlisle. *Silicon: a requirement in bone formation independent of vitamin D*. Calc. Tissue Int. **33**: 27; 1981.
- [18] Daniel Arcos, Juan Rodríguez-Carvajal, Maria Vallet-Regí: *The effect of the silicon incorporation on the hydroxylapatite structure. A neutron diffraction study*. Solid State Sciences **6**: 987; 2004.
- [19] Alexis M. Pietak, Joel W. Reid, Malcom J. Stott, Michael Sayer: *Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics*. Biomaterials **28**: 4023; 2007.
- [20] A.E. Porter, N. Patel, J.N. Skepper, S.M. Best, W. Bonfield, Biomaterials **24**: 4609; 2003.
- [21] R. A. Young: *The Rietveld Method*. Oxford University Press, 1993.
- [22] C. O. Paiva-Santos. *Tese de Doutorado*. São Paulo, Brasil, 1990.
- [23] B. D. Cullity. *Elements of X-ray diffraction*. Addison-Wesley publishing company, 1956.
- [24] R. A. Young. *The Rietveld Method*. Oxford University Press, 2002.
- [25] Georg Will. *Powder Diffraction: The Rietveld Method and the Two-Stage Method*. Springer, 2006.
- [26] C. O. Paiva-Santos, H. Gouveia, W. C. Las, J. A. Varela. *Gauss-Lorentz Size-Strain Broadening and Cell Parameters Analysis of MN doped SNO<sub>2</sub> Prepared by Organic Route*. Materials Structure **6**: Number 2; 1999.
- [27] R. J. HILL, I. C. MADSEN. *The Effect of Profile Step Width on the Determination of Crystal Structure Parameters and Estimated Standard Deviations by X-ray Rietveld Analysis*. J. Appl. Cryst. **19**: 10; 1986.
- [28] L. B. McCusker, R. B. Von Dreele, D. E. Cox, D. Louer and P. Scard: *Rietveld refinement guidelines*. J. Appl. Cryst. **32**: 36; 1999.
- [29] M. F. PERUTZ: *How W. L. Bragg Invented X-ray Analysis: A lecture given at the Royal Institution in London on 2 February 1990, in celebration of the centenary of Bragg's birth on 31 March 1890*. Acta Cryst. **A46**: 633; 1990.
- [30] Williams D.F. *Consensus and Definitions in biomaterials*. Elsevier, 11, 1984.

- [31] Muster D. *Biomateriaux et biomateriels en chirurgie osseuse et dentaire*. Encyclopedie Medio-Chirurgicale – Stomatologie, Vol 22-014-F-15. Paris: Editions Techniques, 2-26, 1993.
- [32] Hench LL, Wilson J. *Surface-active Biomaterials*. Science **226**: 630; 1984.
- [33] Hench LL, Wilson J. *Bioactive materials*. Mat. Res. Soc. Symp. Proc. **55**: 65; 1986.
- [34] M.I. Kay, R.A. Young, A.S. Posner, Nature **204**: 1050; 1964.
- [35] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, A. Hoshikawa. *Crystal structure analysis of  $\beta$ -tricalcium phosphate  $Ca_3(PO_4)_2$  by neutron powder diffraction*. Journal of Solid State Chemistry **175**: 272; 2003.
- [36] Samar J. Kalita, et al: *Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering*. Materials Science and Engineering **C 27**: 441, 2007.
- [37] Disponível em: < <http://www.portaldapesquisa.com.br/databases/sites> >, acesso em Dezembro 2011.
- [38] A. L. Patterson. *The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination*. Physical Review **56**: 978; 1939.
- [39] I.S. Neira, et al.. *Rational synthesis of a nanocrystalline calcium phosphate cement exhibiting rapid conversion to hydroxyapatite*. Mater. Sci. Eng. C **29**: 2124; 2009.
- [40] B. Nasiri-Tabrizi, et al: *Synthesis of nanosize single-crystal hydroxyapatite via mechanochemical method*. Materials Letters **63**: 543; 2009.
- [41] Shuo Zou, et al: *Crystal imperfection studies of pure and silicon substituted hydroxyapatite using Raman and XRD*. Journal of materials science: materials in medicine **16**: 1143; 2005.
- [42] Alexis M. Pietak, Joel W. Reid, Malcom J. Stott, Michael Sayer: *Silicon substitution in the Calcium Phosphate bioceramics*. Biomaterials **28**: 4023; 2007.
- [43] Mirtha Pillaca Quispe, Tesis de Licenciatura, UNMSM, Lima, Perú, 2011.

- [44] C. Rojas, Tesis de Maestría, UNMSM, Lima, Perú, 2009.
- [45] J. Quispe, Tesis de Maestría, UNMSM, Lima, Perú, 2005.
- [46] M. Taquire, Tesis de Licenciatura, UNMSM, Lima, Perú, 2010.
- [47] Peter Balaz, *Mechanochemistry in Nanoscience and Minerals Engineering*. Springer, 2008.
- [48] Suryanarayana, Pergamon Press, Oxford. C., 1999.
- [49] J. S. Benjamin, Metall Trans. **1**. *Mechanical Alloying for Fabrication of Advanced Engineering Materials*. 2943;1970.
- [50] J. Rodríguez-Carvajal, Physica B **192**. *Recent Advances in Magnetic Structure Determination by Neutron Powder Diffraction*. 55; 1993.
- [51] J. Quispe, M. Moreno, J. Montano, A. Guzman, A. Cavero, M. Arce, M. Pillaca. Revista de Investigación de Física UNMSM, **12**: 21; 2009.
- [52] Gouveia D. S., Coutinho A. C. S., Bressiani A. H. A., Bressiani J. C.: *Effect of Mg<sup>2+</sup> Addition During Hydroxiapatite nanoparticles synthesis using ultrasonic Irradiation*. Key Engineering Materials, **361**: 203; 2008.
- [53] Costa A. O., Assis M. C., Marques E. A., Plotkowski M. C.: *Comparative analysis of three methods to asses viability of mammalian cells in culture*. Biocell. **23**: 65; 1999.
- [54] J. L. Xu, K. A. Khor. *Chemical analysis of silica doped hydroxyapatite biomaterials consolidated by a spark plasma sintering method*. Journal of Inorganic Biochemistry **101**: 187, 2007.
- [55] C. Combes, C. Rey. *Amorphous calcium phosphates: Synthesis, properties and uses in biomaterials*. Acta Biomaterialia, Lowenstam HA. Minerals formed by organisms. Science 21 1126; 1981.
- [56] T. Santos, J. Dos Santos. *Hidroxiapatita Pura e dopada com Cr<sup>3+</sup>*. 2008.

[57] Carlisle EM; *Silicon: a possible factor in bone calcification*. Science **167**, 279, 1970.