

FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS A PARTIR DE
NANO-HIDROXIAPATITA

RODOLFO SIQUEIRA DE ALMEIDA

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE – UENF

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL – 2006

FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS A PARTIR DE
NANO-HIDROXIAPATITA

RODOLFO SIQUEIRA DE ALMEIDA

Dissertação apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia, da Universidade
Estadual do Norte Fluminense, como parte
dos requisitos para a obtenção de título de
Mestre em Engenharia e Ciência dos
Materiais.

Orientador: Prof. DSc. Rubén Sánchez Rodríguez

CAMPOS DOS GOYTACAZES – RJ
ABRIL - 2006

FICHA CATALOGRÁFICAPreparada pela Biblioteca do **CCT / UENF****18/2008**

Almeida, Rodolfo Siqueira de

Formulação e caracterização de biocompósitos a partir de nano-hidroxiapatita / Rodolfo Siqueira de Almeida. – Campos dos Goytacazes, 2006.

ix, 117 f.. : il.

Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) -- Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Materiais Avançados. Campos dos Goytacazes, 2006.

Orientador: Rubén Sánchez Rodríguez.

Área de concentração: Polímeros

Bibliografia: f. 109-117

1. Polihidroxibutirato 2. Compósito 3. Hidroxiapatita I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciência e Tecnologia. Laboratório de Materiais Avançados II. Título

CDD 620.14

FORMULAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOCOMPÓSITOS A PARTIR DE
NANO-HIDROXIAPATITA

RODOLFO SIQUEIRA DE ALMEIDA

Dissertação apresentada ao Centro de
Ciência e Tecnologia, da Universidade
Estadual do Norte Fluminense, como parte
dos requisitos para a obtenção de título de
Mestre em Engenharia e Ciência dos
Materiais.

Aprovada em 06 de Abril de 2006

Comissão Examinadora:

DSc. Filiberto González García– (Doutor em Ciência e Tecnologia de Polímeros) –
UERJ

DSc. Sílvia Menezes Farias (Doutora em Engenharia e Ciência dos Materiais) –
CCTA/UENF

DSc. Raúl Ernesto López Palacio (Doutor em Engenharia Mecânica) –
LAMAV/CCT/UENF

DSc. Rubén Sánchez Rodríguez (Doutor em Ciência e Tecnologia de Polímeros) –
LAMAV/CCT/UENF(orientador)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela vida e oportunidade de realização deste trabalho.

Aos meus pais, Paulo e Lucy, pelo apoio e incentivo em mais esta importante etapa de minha vida.

À minha namorada Elaine Nascimento, pelo amor, apoio, incentivo, companheirismo e compreensão.

Aos meus irmãos Paulo e Guilherme, cunhadas Angélica e Eleonora, e sobrinhos, pelo apoio e bons momentos proporcionados nas horas de lazer.

Ao prof. Rubén Sánchez, pela seriedade, cooperação, apoio e incentivo.

Ao prof. Marcelo Filgueiras, pelo apoio como coordenador do PPGECM da UENF.

Aos meus colegas de Sepol, prof. Raul, Teresa, Rosemberg, Rosimara, Djalma, Helena, Marcelo, Juliana, Fernanda Andrade, Fernanda Stofel, Érica e Liliane, pela cooperação e apoio.

Aos amigos e colegas do LAMAV, em especial Mônica, Thereza, Angélica, Elisa, Cristiane, Shirlene, Ronaldo, Frederico, Aurélio, Bruno, Luciano e Josemar, pela cooperação e apoio.

Aos professores do LAMAV, em especial Eduardo Atem, Sérgio Neves e Angelus, pela cooperação.

Aos técnicos do LAMAV Ronaldo, Carlan e Renan pela cooperação.

À técnica Rosane do LCFIS/UENF, pela ajuda e análises de raios-X.

Às professoras do LCQUI/UENF, Cristiane e Cristina pela cooperação.

Ao técnico Robson do LCQUI/UENF pelas análises de área superficial.

Aos técnicos do LCA/CBB/UENF Marcelo e Ari pelas análises realizadas.

À professora Cheila Gonçalves Mothé da EQ-UFRJ, por ser uma das principais incentivadoras na realização desta dissertação.

Aos professores do PEMM da COPPE-UFRJ, Tsuneharu Ogasawara, Glória Soares e Ericksson Almendra, e aos doutorandos deste programa Frederico e Vinícius, pela ajuda e disponibilização de equipamentos para realização de análises e experimentos.

À técnica do CBPF Débora, pelas análises de raios-X.

A todos aqueles que de alguma maneira contribuíram para a realização desta dissertação.

Resumo

Título: Formulação e caracterização de biocompósitos a partir de nano-hidroxiapatita

Autor: Rodolfo Siqueira de Almeida

Orientador: Prof. DSc. Rubén Sánchez Rodríguez

Palavras chaves: polihidroxibutirato, hidroxiapatita, compósito

Enxertos ósseos sintéticos são necessários para preencher ossos defeituosos ou substituir ossos fraturados. Nanocristais de hidroxiapatita (HAP) foram sintetizados pelo método de precipitação via úmida, seguido ou não por tratamento hidrotérmico (TH). A HAP foi caracterizada estruturalmente, química e morfologicamente por DRX, TGA, FTIR, ICP-AES, MET e área superficial pelo método BET. Foram obtidos nanocristais de HAP apresentando estrutura cristalina, composição e morfologia similares a apatita natural presente nos ossos. Compósitos polihidroxibutirato (PHB)/nano-HAP foram preparados através de um método de suspensão. Num primeiro grupo o PHB foi misturado com HAP após TH e num segundo grupo com HAP antes do TH, este último com posterior TH do compósito. Variou-se as proporções entre as fases nos compósitos do primeiro grupo e nos do segundo a quantidade de nano-HAP no compósito foi cerca de 70 % (em massa). Os compósitos foram caracterizados por DRX, FTIR, TGA, DSC, DMA, compressão diametral e MEV. A estabilidade térmica do PHB nos compósitos do primeiro grupo foi diminuída, a temperatura de fusão foi levemente diminuída, a cristalinidade foi reduzida e a porosidade aumentou pela incorporação dos nanocristais de HAP. O módulo de elasticidade alcançou o valor de 3,0 GPa (compósito com ~70% de HAP). Para esse grupo micrografias de MEV mostraram uma boa homogeneidade entre as fases com indicação de formação de interface. Os compósitos do segundo grupo apresentaram após o TH diminuição na cristalinidade do PHB, aumento na cristalinidade da HAP e indicação de formação de interface. Os resultados mostram que os compósitos PHB/nano-HAP têm potencial para enxertia óssea.

Abstract

Title: Formulation and characterization of biocomposites from nano-hydroxyapatite

Author: Rodolfo Siqueira de Almeida

Thesis supervisor: Prof. DSc. Rubén Sánchez Rodríguez

Keywords: polyhydroxybutyrate, hydroxyapatite, composite

Synthetic bone grafts are necessary to fill bone defects or to replace fractured bones. Hydroxyapatite nanocrystals (nano-HAP) were synthesized through wet precipitation method, followed or not by hydrothermal treatment (HT). HAP was characterized by using XRD, TGA, FTIR, ICP-AES, TEM, and BET method. The obtained HAP nanocrystals have similar crystal structure, phase composition and morphology as natural apatite crystals in bone. Polyhydroxybutyrate (PHB)/nano-HAP composites were prepared by suspension method. In the first group, PHB was mixed with HAP after HT, and in the second group PHB was mixed with HAP before HT, it was furthered carried out HT of composite. The nano-HAP content in the first group composites was variable. In the second group the nano-HAP amount was about 70 wt %. The composites were characterized by using XRD, FTIR, TGA, DSC, DMA, diametral compression, and SEM. Thermal stability of PHB in the first group of composites was decreased, the melting temperature was slightly decreased, the crystallinity was reduced while porosity increased by the addition of HAP nanocrystals. The modulus reached the value of 3.0 GPa (composite with ~70 wt % HAP). For this group SEM images showed a good homogeneity between the phases with indication of interface formation. The second group of composites showed after HT that PHB crystallinity was decreased, HAP crystallinity was increased and there was indication of interface formation. The results showed that PHB/nano-HAP composites have potential for bone grafting.

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA	1
1.1- INTRODUÇÃO	1
1.2- OBJETIVOS	4
1.3- JUSTIFICATIVA	5
CAPÍTULO 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
2.1- POLIHIDROXIALCANOATOS (PHA's)	5
2.2- HIDROXIAPATITA (HAP)	8
2.3- COMPÓSITOS	16
2.4- NANOCOMPÓSITOS	20
2.4.1- NANOCOMPÓSITO POLÍMERO/SILICATO EM CAMADA (PLSN)	20
2.4.2- ESTADO DA ARTE DOS NANOCOMPÓSITOS PHB/ARGILA E PHB-HV/ARGILA	21
2.4.3-“CERAMERS”	22
2.5- ESTRUTURA ÓSSEA	23
2.6- BIOMATERIAIS UTILIZADOS EM IMPLANTES ÓSSEOS	25
2.7- ESTADO DA ARTE DO SISTEMA HIDROXIAPATITA/POLÍMERO	30
2.7.1- COMPÓSITOS HAP/POLÍMEROS	30
2.7.1.1- COMPÓSITOS HAP/POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE (PEAD)	32
2.7.1.2- COMPÓSITOS HAP/ POLI (D,L- LACTÍDEO)(PDLLA)/ POLI (E- CAPROLACTONA) (PCL)	35
2.7.1.3- COMPÓSITOS HAP/PLA	35
2.7.1.4- COMPÓSITOS HAP/PEEK	36
2.7.1.5- COMPÓSITOS HAP/PHB E HAP/PHB-PHV	37
2.7.2- NANOCOMPÓSITOS HAP/POLÍMEROS	39
2.7.2.1- NANOCOMPÓSITOS HIDROXIAPATITA DEFICIENTE EM CÁLCIO (D-HAP)/PLA	40
2.7.2.2- NANOCOMPÓSITOS HAP/PLLA	40
2.7.2.3- NANOCOMPÓSITOS HAP/COL	40
2.7.2.4- NANOCOMPÓSITOS HAP/COL, HAP/CHS E HAP/CHS/COL	41
2.7.2.5- NANOCOMPÓSITOS HAP/GELATINA(GEL)	41
2.7.2.6- NANOCOMPÓSITOS HAP/POLIAMIDA (PA)	42
2.7.2.7- NANOCOMPÓSITOS HAP/(PM(PMA-ALA))	42
2.7.2.8- NANOCOMPÓSITOS D-HAP/PAA	43
2.7.2.9- NANOCOMPÓSITOS HAP/CS	43
CAPÍTULO 3- MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS	44

3.1 – MATERIAIS	44
3.1.1 – PRODUTOS	44
3.1.2 – EQUIPAMENTOS	44
3.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL	45
3.2.1 – POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB)	45
3.2.2 – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAP)	46
3.2.2.1- OBTENÇÃO DA HAP	46
3.2.2.2- CARACTERIZAÇÃO DA HAP	50
3.2.2.3- RESUMO DAS ATIVIDADES DE SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DA HAP	53
3.2.3- FORMULAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	54
3.2.3.1- FORMULAÇÃO DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	54
3.2.3.2- CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	55
3.2.3.3- AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANÁLISE DA REGIÃO DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	57
3.2.3.4- RESUMO DAS ATIVIDADES DE FORMULAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	59
CAPÍTULO 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1- CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAP)	60
4.1.1- IDENTIFICAÇÃO DAS FASES CRISTALINAS E DETERMINAÇÃO DE TAMANHO DE CRISTALITO E CRISTALINIDADE	60
4.1.2- CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DE TAMANHO DE CRISTAL	63
4.1.3- DETERMINAÇÃO DA ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA	66
4.1.4- DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA	68
4.1.5- DETERMINAÇÃO DA RAZÃO MOLAR Ca/P	70
4.1.6- COMPORTAMENTO TÉRMICO	71
4.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP	75
4.2.1- ANÁLISE DA ESTABILIDADE TÉRMICA POR TGA	77
4.2.1.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	77
4.2.1.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)	80
4.2.2- ANÁLISE DA ESTRUTURA CRISTALINA POR DRX	81
4.2.2.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	81

4.2.2.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)	83
4.2.3- ANÁLISE DA CRISTALINIDADE DO PHB POR DSC	84
4.2.3.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	84
4.2.3.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)	87
4.2.4- ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE AS FASES POR FTIR	90
4.2.4.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	90
4.2.4.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)	95
4.2.5 - AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANÁLISE DAS REGIÕES DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO	98
4.2.5.1 - DETERMINAÇÃO DA TENSÃO DE RUPTURA E MÓDULO DE ELASTICIDADE	98
4.2.5.2 - ANÁLISE DA REGIÃO DE FRATURA POR MEV	100
4.2.5.3 - AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS	105
CAPÍTULO 5- CONCLUSÕES	107
CAPÍTULO 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	109

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1- ESTRUTURA QUÍMICA DO PHB	7
FIGURA 2.2- ESTRUTURA QUÍMICA DO P(3HB-3HV)	8
FIGURA 2.3- ESTRUTURA DA HIDROXIAPATITA – CÉLULA UNITÁRIA	11
FIGURA 2.4- CLASSIFICAÇÃO DE MATERIAIS COMPÓSITOS	17
FIGURA 2.5- OSSO HUMANO LONGO	24
FIGURA 2.6- RESISTÊNCIA A FRATURA VERSUS MÓDULO DE YOUNG DE BIOMATERIAS UTILIZADOS PARA SUBSTITUIÇÃO ÓSSEA	29
FIGURA 3.1- ETAPAS DA OBTENÇÃO DA HAP1 E HAP2	48
FIGURA 3.2- APARELHAGEM UTILIZADA NA SÍNTESE DA HAP	49
FIGURA 3.3- AUTOCLAVE UTILIZADA NO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DA HAP	49
FIGURA 3.4- FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA HAP	53
FIGURA 3.5- FLUXOGRAMA DE OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP	59
FIGURA 4.1- DIFRATOGRAMAS DE RAIOS-X OBTIDOS PARA AS HAP'S SINTETIZADAS	60
FIGURA 4.2- INTENSIDADES RELATIVAS DOS PICOS CARACTERÍSTICOS DA HAP	61
FIGURA 4.3- EIXOS DO CRISTAL DA HAP EM FORMA DE BASTÃO	61
FIGURA 4.4- FOTOS DE MET DA HAP1ATH(B) (AUMENTO DE 50000 VEZES)	64
FIGURA 4.5- FOTOS DE MET DA HAP1DTH(B) (AUMENTO DE 50000 VEZES)	64
FIGURA 4.6- FOTOS DE MET DA HAP1DTH(A) (AUMENTO DE 50000 VEZES)	65
FIGURA 4.7- FOTOS DE MET DA HAP1DTH(A) COM AUMENTO DE 150000 E 250000 VEZES (RESPECTIVAMENTE)	65
FIGURA 4.8- FOTO DE MET DA HAP2DTH (AUMENTO DE 50000 VEZES)	66
FIGURA 4.9- ESPECTROS DE FTIR DAS HAP1DTH E HAP2DTH	68
FIGURA 4.10- TERMOGRAMA DA HAP1DTH	71
FIGURA 4.11- TERMOGRAMA DA HAP2DTH	71
FIGURA 4.12- COMPARAÇÃO DOS TERMOGRAMAS DA HAP1DTH E HAP2DTH	74
FIGURA 4.13- MICROGRAFIAS DE MEV DA REGIÃO DE FRATURA DE COMPÓSITOS OBTIDOS PELAS DUAS DIFERENTES METODOLOGIAS	76
FIGURA 4.14- TERMOGRAMA DO PHB PURO E COMPÓSITOS PRODUZIDOS	78
FIGURA 4.15- TERMOGRAMA DO COMPÓSITO PHB/HAP1ATH (30/70) (ANTES E DEPOIS DO TH)	80
FIGURA 4.16- DIFRATOGRAMAS DA HAP1DTH, DO PHB E DO COMPÓSITO PHB/HAP1DTH (30/70)	82
FIGURA 4.17- DIFRATOGRAMAS DA HAP2DTH, DO PHB E DO COMPÓSITO PHB/HAP2DTH (30/70)	82
FIGURA 4.18- DIFRATOGRAMAS DA HAP1ATH, DO PHB, E DO PHB/HAP1ATH (30/70), ANTES E DEPOIS DO TH	83

FIGURA 4.19-TERMOGRAMAS DE DSC REFERENTES AO RESFRIAMENTO, PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS PHB/HAP (REALIZADOS COM A HAP DEPOIS DO TH)	84
FIGURA 4.20- TERMOGRAMAS DE DSC RELATIVOS AO SEGUNDO AQUECIMENTO, PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS PHB/HAP (REALIZADOS COM A HAP DEPOIS DO TH)	85
FIGURA 4.21- TERMOGRAMAS DE DSC DO RESFRIAMENTO DO PHB PURO E DO COMPÓSITO PHB/HAP1 (30/70) (ANTES E DEPOIS DO TH)	88
FIGURA 4.22- TERMOGRAMAS DE DSC DO SEGUNDO AQUECIMENTO DO PHB PURO E DO COMPÓSITO PHB/HAP1 (30/70) (ANTES E DEPOIS DO TH)	89
FIGURA 4.23- ESPECTROS DE FTIR DO PHB, DA HAP1dTH E DO COMPÓSITO PHB/HAP1dTH (30/70)	92
FIGURA 4.24- ESPECTROS DE FTIR DO PHB, DA HAP2dTH E DO COMPÓSITO PHB/HAP2dTH (30/70)	93
FIGURA 4.25- ESPECTROS DE FTIR DO PHB, DA HAP1AdTH E DO COMPÓSITO PHB/HAP1AdTH (30/70) (LAMA)	94
FIGURA 4.26- ESPECTROS DE FTIR DO PHB, HAP1ATH, HAP1dTH E PHB/HAP1ATH (30/70), ANTES E DEPOIS DO TH	95
FIGURA 4.27- ESPECTROS DE FTIR DA HAP1dTH E PHB/HAP1ATH (30/70), ANTES E DEPOIS DO TH	96
FIGURA 4.28- MICROGRAFIAS POR MEV PARA O PHB PURO (COM AUMENTOS DE 500X, 1000X E 3000X, RESPECTIVAMENTE)	101
FIGURA 4.29- MICROGRAFIAS POR MEV PARA O COMPÓSITO PHB/HAP1 (70/30) (COM AUMENTOS DE 500X, 1000X E 3000X, RESPECTIVAMENTE)	102
FIGURA 4.30- MICROGRAFIAS POR MEV PARA O COMPÓSITO PHB/HAP1 (30/70) (AMOSTRA A) (COM AUMENTOS DE 500X, 1000X E 3000X, RESPECTIVAMENTE)	103
FIGURA 4.31- MICROGRAFIAS POR MEV PARA O COMPÓSITO PHB/HAP1 (30/70) (AMOSTRA B) (COM AUMENTOS DE 500X, 1000X E 3000X, RESPECTIVAMENTE)	104
FIGURA 4.32- RESULTADOS DO DMA DO COMPÓSITO PHB/HAP1 (30/70) (COM HAP APÓS TH) E DO PHB PURO	105

ÍNDICE DE TABELAS

TABELA 2.1- PROPRIEDADES MECÂNICAS DO OSSO HUMANO	24
TABELA 2.2- PROPRIEDADES MECÂNICAS DE BIOMATERIAIS POLIMÉRICOS TÍPICOS	26
TABELA 2.3- PROPRIEDADES MECÂNICAS DE BIOMATERIAIS METÁLICOS TÍPICOS	27
TABELA 2.4- PROPRIEDADES MECÂNICAS DE BIOMATERIAIS CERÂMICOS TÍPICOS	27
TABELA 2.5- ESTADO DA ARTE DE COMPÓSITOS DO SISTEMA HAP/POLÍMEROS	31
TABELA 2.6- ESTADO DA ARTE DE NANOCOMPÓSITOS DO SISTEMA HAP/POLÍMEROS	39
TABELA 3.1- MODIFICAÇÕES NO PROCEDIMENTO DE OBTENÇÃO DA HAP1 PARA OBTER-SE A HAP2	48
TABELA 4.1- TAMANHOS DOS CRISTALITOS E GRAUS DE CRISTALINIDADE OBTIDOS PARA AS HAP'S SINTETIZADAS	62
TABELA 4.2- MEDIDAS DAS DIMENSÕES DOS CRISTAIS PARA AS HAP'S SINTETIZADAS	63
TABELA 4.3- MEDIDAS DE ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (MÉTODO BET) OBTIDAS PARA AS HAP'S SINTETIZADAS	66
TABELA 4.4- PERDAS DE MASSA DAS HAP'S SINTETIZADAS	73
TABELA 4.5- RESULTADOS DA COMPRESSÃO UNIAXIAL	75
TABELA 4.6- QUANTIDADE REAL DE HAP E TEMPERATURA DE DEGRADAÇÃO OBTIDA PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS PRODUZIDOS	79
TABELA 4.7- QUANTIDADE REAL DE HAP E TEMPERATURA DE DEGRADAÇÃO OBTIDA PARA OS COMPÓSITOS PHB/HAP1ATH (30/70), ANTES E DEPOIS DO TH	81
TABELA 4.8- TEMPERATURAS DE CRISTALIZAÇÃO PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS PHB/HAP (REALIZADOS COM HAP DEPOIS DO TH)	85
TABELA 4.9- RESULTADOS DE DSC PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS PHB/HAP (REALIZADOS COM A HAP DEPOIS DO TH)	86
TABELA 4.10- TEMPERATURAS DE CRISTALIZAÇÃO PARA O PHB PURO E OS COMPÓSITOS PHB/HAP (REALIZADOS COM A HAP ANTES DO TH)	88
TABELA 4.11- RESULTADOS DE DSC PARA OS COMPÓSITOS PHB/HAP1 (30/70) (ANTES E DEPOIS DO TH)	89
TABELA 4.12- VALORES DE TENSÃO NA RUPTURA E MÓDULO D E ELASTICIDADE OBTIDOS PARA O PHB PURO E COMPÓSITOS SINTETIZADOS	98

CAPÍTULO 1- INTRODUÇÃO, OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

1.1- INTRODUÇÃO

Biomaterial é um termo usualmente aplicado a tecidos ou materiais, de origem natural ou sintética, usados para reproduzir a função de tecidos vivos e atuar em conjunção com eles. Esses materiais vêm sendo usados desde antigas civilizações, sendo reportados a presença de olhos, orelhas, dentes e narizes artificiais em múmias egípcias. Através dos séculos, os avanços em materiais sintéticos, técnicas cirúrgicas e métodos de esterilização têm permitido o uso de biomateriais de muitas formas.

Existe uma necessidade de substituição do osso que é perdido devido a eventos traumáticos ou não. O osso perdido pode ser substituído por um tecido ósseo endógeno (do próprio paciente) ou exógeno (de um doador), cada qual apresentando alguns problemas. O uso de osso endógeno envolve uma cirurgia adicional e esse osso é disponível somente em quantidades limitadas. O osso exógeno apresenta como algumas desvantagens uma possível rejeição pelo receptor, transmissão de doenças junto com o implante, além da performance desse osso ser significativamente inferior a do osso endógeno. Sendo assim, enxertos ósseos sintéticos se mostram necessários para preencher defeitos ósseos ou para substituir ossos fraturados, e existe uma crescente necessidade de fabricação dos mesmos.

De acordo com dados estatísticos, ocorrem cerca de 6,3 milhões de fraturas todos os anos nos Estados Unidos, sendo que cerca de 550 000 desses casos requer algum tipo de enxerto ósseo. As vendas de enxertos ósseos excederam US\$ 980 milhões em 2001 nos EUA e foram cerca de US\$1,16 bilhões em 2002, valor que é esperado dobrar em 2006. Na Europa, a quantidade de procedimentos de enxertia óssea foi reportado ter sido 287 300 em 2000, sendo previsto que tenha aumentado para cerca de 479 079 em 2005. Em 2000, o uso mundial de enxertos ósseos foi cerca de 1 milhão e em aproximadamente 15% das cirurgias se utilizaram enxertos ósseos sintéticos (Murugan e Ramakrishna, 2005).

A hidroxiapatita (HAP) tem sido utilizada em aplicações clínicas para preenchimento de defeitos ósseos em função de sua compatibilidade e bioatividade. Ela pode se ligar ao osso através do mecanismo de osteocondução. Entretanto, sua

fragilidade e baixa resistência a fadiga no meio fisiológico limita seu uso para reparo ou substituição em regiões em que se é necessário suportar um considerável carregamento. Para essas aplicações a combinação da bioatividade da HAP com a resistência mecânica e dureza dos polímeros pode resultar num material bioativo com boas propriedades mecânicas. Sendo assim, os compósitos poliméricos constituem uma importante alternativa para superar algumas deficiências dos materiais homogêneos (metais, cerâmicos e polímeros). A ampla gama de combinações de materiais oferece a possibilidade de se sintetizar compósitos poliméricos com propriedades desejadas, tais como dureza, resistência mecânica, biodegradação e bioatividade.

Para aumentar a interface entre as partículas de HAP e o tecido ósseo, alguns pesquisadores desenvolveram compósitos parcialmente reabsorvíveis. Foram reforçados polímeros reabsorvíveis tais como poli(ácido láctico) (PLA), gelatina e polihidroxibutirato (PHB) com partículas bioativas. Durante a implantação, como a matriz polimérica reabsorve, cada vez mais partículas bioativas entram em contato com o tecido em crescimento, dessa forma alcançando boa integração do biomaterial com o osso (Ramakrishna et al., 2001). Entre os polímeros utilizados nesses compósitos, pode-se destacar o PHB, que é um β -hidroxiácido (um poliéster linear) de ocorrência natural e que possui a capacidade de se degradar e reabsorver no ambiente do corpo humano, fazendo dele um candidato adequado como matriz para compósitos biodegradáveis e bioativos para implantes, os quais guiarão o crescimento do tecido e serão eventualmente substituídos pelo tecido que virá a ser formado (Chen e Wang, 2002).

O osso natural é composto de componente inorgânico (principalmente HAP parcialmente carbonatada em escala nanométrica) e compostos orgânicos (principalmente colágeno). O tamanho nanométrico do componente inorgânico no osso natural é considerado como um importante fator para as propriedades mecânicas do osso. Melhor osteocondutividade pode ser alcançada se a HAP sintética puder se assemelhar aos minerais do osso em composição, tamanho e morfologia. Além disso, a HAP de tamanho nanométrico pode ter outras propriedades especiais devido ao seu pequeno tamanho e grande área superficial específica (Wei e Ma, 2004).

Nanocompósitos HAP/polímero, onde a HAP se encontra em dimensões nanométricas dispersa na matriz polimérica, têm sido preparados por várias metodologias e utilizando-se várias matrizes poliméricas como PLA e colágeno. A resistência mecânica de tais compósitos tem mostrado significativa melhora em comparação as matrizes poliméricas puras, além de apresentarem bioatividade fornecida pela nano-HAP.

Neste trabalho se buscou sintetizar nanocristais de HAP semelhantes em composição, estrutura e morfologia aos cristais de apatita encontrados nos ossos. Posteriormente foram formulados compósitos PHB/nano-HAP através de uma metodologia de suspensão empregando-se variações na quantidade e tamanho de partícula da HAP utilizada. Os compósitos foram caracterizados e seu potencial analisado para aplicações na área de enxertia óssea.

1.2- OBJETIVOS

1.2.1- OBJETIVO GERAL

Formular e caracterizar compósitos formados a partir de PHB e nanocristais de HAP, visando sua aplicação como biomaterial para enxertia óssea.

1.2.2- OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- (1) Sintetizar HAP pelo método de precipitação via úmida e realizar tratamento hidrotérmico, visando a obtenção de nanocristais e caracterizá-los;
- (2) Formular compósitos a partir de suspensão da HAP, obtida antes e após tratamento térmico, e PHB;
- (3) Caracterizar os compósitos formulados e analisar possíveis melhoramentos na interação entre as fases e propriedades mecânicas dos mesmos.

1.3- JUSTIFICATIVA

A região de Campos dos Goytacazes possui considerável tradição sucroalcooleira. Nesse sentido, pode ser observado o potencial da região em relação a produção de polímeros biodegradáveis à partir de recursos renováveis. Como exemplo de viabilidade de produção de polímeros à partir de recursos renováveis no Brasil, pode-se considerar que desde Dezembro de 2000, a PHB Industrial, no estado de São Paulo, adquiriu a capacidade de produzir entre 4 e 5 toneladas mensais do biopolímero à partir da sacarose presente no açúcar, sendo toda a produção exportada. Apesar do PHB ser mais caro do que os polímeros convencionais, custando cerca de US\$ 4 a US\$ 5, dependendo da aplicação, contra cerca de US\$ 1 do polipropileno, que é um polímero sintético, ele é considerado competitivo, principalmente no mercado externo na área de bioembalagens e biomédica. Sendo assim, seria interessante para a região de Campos dos Goytacazes o desenvolvimento de materiais de elevado valor agregado no sentido de estimular o desenvolvimento de novas indústrias como a PHB Industrial.

O PHB é um polímero que possui uma ampla gama de aplicações, entre as quais pode-se destacar na área biomédica, as que se referem a implantes de substituição óssea e a microcápsulas de liberação prolongada de fármacos. O desenvolvimento de um material compósito constituído de PHB e nano-HAP visa contribuir na busca de biomateriais cada vez mais adequados as necessidades humanas.

CAPÍTULO 2- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1- POLIHIDROXIALCANOATOS (PHA's)

Os polihidroxicanoatos (PHA's) formam uma família de poliésteres que são sintetizados como material de reserva no interior de bactérias na forma de grânulos. Esses biopolímeros são uma reserva de carbono e energia para esses microorganismos (Anderson e Dawes, 1990). Embora a proporção de PHA nas células seja normalmente inferior a 30%, sob condições de fermentação de excesso de carbono e limitação de nitrogênio, o PHA responde por cerca de 70% do peso da célula seca (Choi, 2003).

Pode ser considerado o mais viável economicamente entre os PHA's o poli-3 (ou β)-hidroxibutirato (PHB), cuja estrutura química é mostrada na figura 2.1 e que tem como uma das fontes de carbono para a sua produção a glicose. O PHB possui parâmetros próprios de um termoplástico, como temperatura de fusão cristalina $T_m \cong 180^\circ\text{C}$ e até aproximadamente 70% de cristalinidade. Como reflexo de sua síntese via enzimática, o PHB é completamente isotático e suas propriedades físicas têm sido comparadas com as do polipropileno isotático, especialmente as ligadas a alta resistência a tração associada a alta resistência ao impacto (Campbel, 2000) (Choi, 2003). O PHB possui estrutura cristalina ortorrômbica com parâmetros $a = 0,576 \text{ nm}$, $b = 1,320 \text{ nm}$ e $c = 0,596 \text{ nm}$. Estudos de difração de raios-X (DRX) mostraram que numa faixa de temperatura entre 30 e 160°C a cristalinidade decresce linearmente com a temperatura e o parâmetro a varia linearmente com a temperatura enquanto b e c não se alteram (Skrbic e Divjakovic, 1998). O PHB apresenta temperatura de transição vítrea $T_g \cong 5^\circ\text{C}$ e em relação a sua estabilidade térmica observa-se uma mudança no peso molecular em temperaturas superiores a 170°C , encontrando-se perda total de massa entre 225 e 300°C (Koning, 1995).

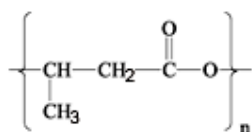


Figura 2.1- Estrutura química do PHB.

O PHB é um polímero que possui características físicas e mecânicas semelhantes às de alguns polímeros sintéticos, derivados do petróleo. Do ponto de vista ambiental ele tem a vantagem de se biodegradar muito mais rapidamente do que esses polímeros. Os polímeros commodities, entre os quais os piores em relação a degradação são o polipropileno (PP), poli (tereftalato de etileno) (PET), poliestireno (PS) e poli (cloreto de vinila) (PVC), pois são praticamente imunes ao ataque de enzimas que são responsáveis pelo processos de oxidação biológica, levam mais de 100 anos para se decompor, enquanto que os polímeros biodegradáveis se decompõem em torno de 12 meses, dependendo do meio onde se encontram. Em fossas sépticas, a perda de massa chega a 90% em seis meses, enquanto em aterros sanitários a degradação atinge 50% em 280 dias (Campbel, 2000).

Apesar de haverem algumas controvérsias sobre a biodegradabilidade do PHB no corpo humano, há uma evidência segura para a degradação “in vivo” do PHB. Uma relativamente recente pesquisa revelou que um “patch” temporário baseado em PHB resistiu a secreções intestinais por um período de tempo suficientemente longo. O material degradou completamente após 26 semanas de implantação no interior de intestinos de ratos (Zhao et al., 2003).

O PHB pode apresentar algumas desvantagens em comparação com os termoplásticos convencionais, sendo sua fragilidade talvez a maior delas. No sentido de superar esse problema, pode-se biosintetizar um material muito menos frágil e igualmente biodegradável, o copolímero com poli-3-hidroxibutirato-co-hidroxivalerato P(3HB-3HV), através de alterações na biossíntese como a seleção de bactérias e fonte de carbono. A estrutura do P(3HB-3HV) está representada na figura 2.2. A presença de até 30% do co-monômero HV não muda muito o grau de cristalinidade quando comparado ao PHB (homopolímero), mas introduz mudanças na morfologia dos cristais que conferem ao copolímero uma melhor resposta ao impacto e

aumenta a extensão na qual o material pode ser esticado antes de sua ruptura (Campbel, 2000).

O PHB pode ser utilizado em um vasto campo de aplicações, principalmente onde a biodegradabilidade é valorizada, entre as quais pode-se citar: embalagens (para produtos de limpeza, higiene, cosméticos e farmacêuticos), sacos e vasilhames para fertilizantes e defensivos agrícolas, vasos para mudas e produtos injetados (brinquedos e material escolar). Além dessas, em vista da sua propriedade de barreira a gases, também por ser aprovado pela FDA (“Food and Drug Administration”) para uso em embalagens alimentícias, o PHB pode ser utilizado em embalagens de alimentos de papel cartonado do tipo longa vida, utilizados para o envase de sucos naturais, leite pasteurizado e bebidas isotônicas. Por ser um polímero biocompatível e ter os produtos de degradação enzimática facilmente absorvidos pelo organismo humano, pode ser utilizado em produtos destinados a área médico-farmacêutica, como fios de sutura, cápsulas que liberam gradualmente medicamentos na corrente sanguínea e particularmente próteses ósseas (Vasconcelos, 2002).

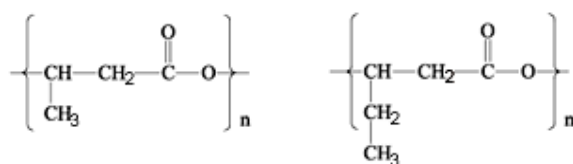


Figura 2.2- Estrutura química do P(3HB-3HV).

2.2- HIDROXIAPATITA (HAP)

O crescente interesse em fosfatos de cálcio sintéticos têm conduzido vários estudos detalhando novas rotas ou modificações de velhos métodos para produzi-los. Apesar da ênfase prévia ter sido restrita a controlar a estequiometria dos produtos, o objetivo mais recente é também controlar a morfologia, como requerido para aplicações específicas. Entre os métodos disponíveis, aqueles baseados em precipitação a partir de soluções aquosas são os mais adequados para a preparação de quantidades apreciáveis de apatitas necessárias para o processamento em corpos cerâmicos e em associação com diferentes matrizes. A dificuldade com a

maioria dos métodos de precipitação convencionais utilizados é a síntese de ortofosfatos bem definidos e reproduzíveis. Problemas podem surgir por causa de fatores relacionados a precipitação, como pH, temperatura, razão Ca/P dos reagentes, etc. Quando estes não são precisamente controlados, como usualmente, podem levar a produtos levemente diferentes em estequiometria, cristalinidade, morfologia, etc., fatores estes que podem contribuir para o diferente comportamento “in vivo/in vitro” descrito na literatura (Lorenzo e Regí, 2000).

A razão atômica Ca/P nos fosfatos de cálcio pode ser variada entre 1,5 e 2 para produzir compostos abrangendo do tetrafosfato de cálcio ($\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$) ao fosfato tricálcico (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$). A degradabilidade dos fosfatos de cálcio geralmente varia com a razão Ca/P, sendo então a mais alta a do TCP.

Pode-se representar a família de minerais apatita, que cristaliza em um prisma rômboico hexagonal, pela seguinte fórmula geral:

$\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$, onde:

M = Ca, Sr, Ba, Pb, Na, K, Mn, Zn, Cd, Mg, Fe(II), Al, C, elementos terras-raras (freqüentemente Ce) e outros;

Z = P, V, As, Si, S, Ge e outros;

X = F, Cl, OH, Br e outros (Pinchuk e Ivanchenko, 2003).

As apatitas existem espalhadas na natureza como principais constituintes de rochas ígneas e metamórficas, e em grandes depósitos em vários lugares do mundo. A forma predominante entre as apatitas é a apatita de cálcio, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$. Substituindo-se o ânion X^- por OH^- na fórmula anterior tem-se a hidroxiapatita (HAP) na sua forma estequiométrica. A HAP ocorre raramente na natureza e sua estrutura é mostrada na figura 2.3. De uma forma mais geral a HAP pode ser representada como $\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$; $0 \leq x \leq 2$ (Lorenzo e Regí, 2000) (Luo e Nieh, 1995) (Fulmer et al, 1992) (Eanes, 1980).

Na área de biomateriais a HAP continua a ser o mais importante entre os fosfatos de cálcio estudados, pois é de grande interesse biológico, por ser o principal constituinte mineral (de 30 a 70% em massa) dos ossos e dentes dos seres vertebrados. Assim sendo, a HAP sintética possui propriedades de biocompatibilidade e bioatividade, o que a torna substituta do osso humano em implantes e próteses (a HAP é aprovada pela FDA para utilização em humanos como substituto ósseo), daí o grande interesse em sua produção. Na ortopedia

existe também um particular interesse em usá-la como revestimento de próteses metálicas para promover a ligação interfacial estável entre o material implantado e o tecido vivo. Também devido à sua alta capacidade de adsorver e/ou absorver moléculas, a HAP se mostra um excelente suporte para ação prolongada de drogas anticancerígenas no tratamento de tumores ósseos. A introdução de drogas anticancerígenas em blocos de HAP porosa permite que o tratamento da doença seja realizado com a liberação gradual da droga no organismo, o que torna essa técnica atrativa, pois combina o tratamento do tumor com a substituição do osso doente (Mavropoulos, 1999). Microesferas de HAP foram carregadas com gentamicina e foi produzido um compósito plástico usando alginato de sódio, que foram comprimidos em cilindros a baixa pressão. Embora a liberação da droga ter sido somente por um período de sete dias, esse sistema pode ser aplicado como um compósito plástico resistente a infecção para aplicações de preenchimento ósseo. Como um estudo preliminar, microesferas de HAP foram carregadas com insulina e cobertas com copolímero etileno/álcool vinílico (EVOH) para prolongar a liberação (Paul e Sharma, 2003).

Quanto a utilização na área odontológica, pode ser citado que para evitar-se perda óssea depois de uma restauração ou extração de um dente a HAP é frequentemente utilizada. Em implante para substituição de raiz pinos de titânio revestidos com HAP são usados.

A HAP sintética não possui aplicações somente na área biomédica. HAP tem sido aplicada como adsorvente em cromatografia líquida, em virtude de sua grande afinidade por proteínas. A capacidade de adsorção da HAP está relacionada à estrutura do poro e à natureza físico-química da superfície do sólido. Outras aplicações da HAP incluem sensores de gases, catalisadores, além da remoção de metais pesados e dejetos industriais de águas e solos contaminados (Mavropoulos, 1999).

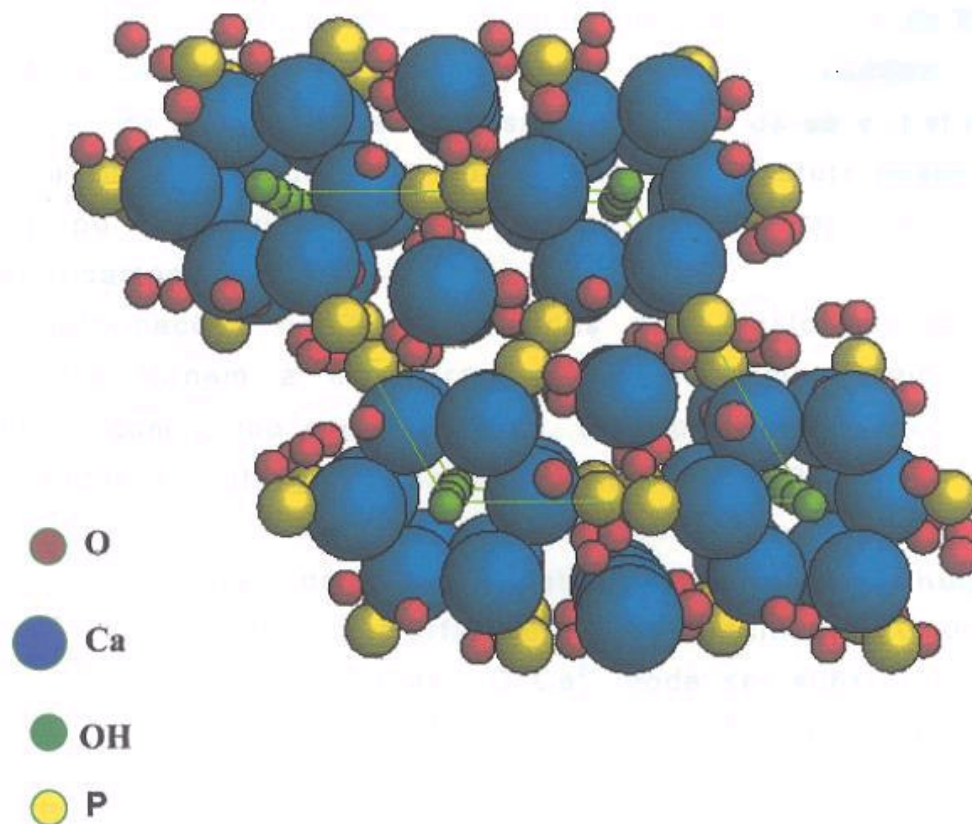


Figura 2.3 – Estrutura da hidroxiapatita - célula unitária – (Kay et al, 1964).

A HAP policristalina tem um alto módulo de elasticidade (40-117 GPa). A razão Ca/P ideal da HAP (estequiométrica) é 1,67, porém em composições estáveis esta razão pode ser estendida para 1,5. A densidade calculada para a HAP é 3,219 g/cm³. A HAP do osso pode se apresentar em forma de camadas, com um tamanho muito pequeno, aproximadamente (1,5-3,5 nm) X (5,0-10,0 nm) X (40,0-50,0 nm) (Zhang e Gonsalves, 1997) (Fulmer et al, 1992). Os cristais de apatita do osso duro podem ser também encontrados na forma de agulha, com um tamanho de 5-20 nm por 60 nm. Sabe-se que o tamanho dos mesmos pode variar e são provavelmente relacionados aos íons F⁻ e CO₃²⁻ neles contidos, além de outros fatores.

A HAP cristaliza no sistema hexagonal e tem as dimensões de unidade de célula unitária de $a = 0,9432\text{--}0,9418\text{ nm}$ e $c = 0,6881\text{--}0,6884\text{ nm}$ e o seu plano de difração de raio-x máximo é (2 1 1) (Luo et al., 1995) (Elliot, 1994) (Kay, 1964).

Substituições catiônicas e aniônicas isomorfas podem ocorrer com grande facilidade na estrutura da HAP. O Ca^{2+} pode ser substituído por Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} , Fe^{2+} , etc; os grupos fosfatos por vanadatos e carbonatos, e as hidroxilas por flúor, cloro e carbonatos. Com essas substituições podem ocorrer alterações nos parâmetros de rede, nas dimensões dos cristais, na cristalinidade, na textura superficial, na estabilidade e na solubilidade da estrutura da hidroxiapatita (Mavropoulos, 1999).

Biologicamente, o flúor é uma das impurezas mais importantes da hidroxiapatita dos tecidos calcificados. O flúor pode ser incorporado a HAP substituindo os grupos OH^- , tornando a estrutura mais hexagonal, mais estável e menos solúvel que a hidroxiapatita estequiométrica. Nas hidroxiapatitas de ossos e dentes, os carbonatos ocupam sítios dos íons fosfato e dos íons OH^- numa razão de 10:1. Nas carboapatitas sintéticas do tipo A, os íons carbonato localizam-se em canais e ocupam os mesmos sítios que os íons hidroxila. Nas carboapatitas do tipo B, os íons carbonato ocupam os sítios dos íons fosfatos. As carboapatitas do tipo B têm composição similar ao tecido ósseo e dentário (Miyake et al, 1990).

Os pós de HAP sintéticos podem ser amorfos ou policristalinos com vários graus de cristalinidade de acordo com o seu preparo. Durante a sinterização, a pressão e/ou a temperatura tende a dar um produto acabado de HAP policristalina, que varia em porosidade. Métodos de obtenção de pós de HAP e de produtos acabados de HAP são descritos na literatura. HAP pode ser inclusive obtida pelo tratamento químico de corais naturais, que apresenta como uma vantagem o fornecimento de grandes amostras de material altamente poroso (Pinchuk e Ivanchenco, 2003).

Várias técnicas têm sido usadas para a preparação de pós de HAP. Duas importantes maneiras para a preparação de pós de HAP são os métodos úmidos e as reações no estado sólido.

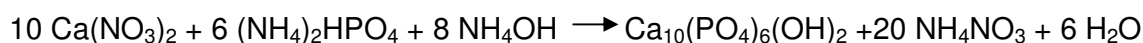
Os métodos úmidos podem ser divididos em três grupos: precipitação, técnica hidrotérmica e hidrólise de outros fosfatos de cálcio. Dependendo da técnica, materiais com variada morfologia, estequiometria e nível de cristalinidade podem ser obtidos.

Na precipitação, que parece ser a rota mais comumente utilizada, a temperatura não excede $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ e cristais de tamanho nanométrico podem ser obtidos. Os cristais podem apresentar a forma de lâminas, agulhas, bastões ou

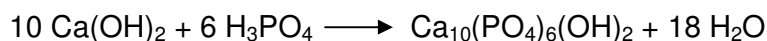
partículas de eixos iguais. Sua cristalinidade e razão Ca/P dependem fortemente das condições de preparação e são em muitos casos mais baixas do que para HAP estequiométrica bem cristalizada (Kweh et al., 1999) (Suchanek e Yoshimura, 1998).

Entre as rotas de precipitação, a reação de: (1) Nitrato de cálcio com fosfato de amônio dibásico; e (2) Ácido fosfórico com hidróxido de cálcio; são as duas mais reportadas na literatura.

O primeiro método requer o uso de amônia aquosa para manter o pH da reação em torno de nove. A reação para este método é dada por:



A maior desvantagem deste método é que a pureza dos pós de HAP precipitados é afetada pela pureza do nitrato de cálcio. Além disso, o excesso de amônia e sub-produtos amoniacaais devem ser removidos por lavagem extensiva. Em contraste com o primeiro método, o segundo método tem a vantagem de apresentar como único sub-produto água:



Estudos preliminares têm notado que a temperatura de reação, a concentração dos reagentes, a taxa de mistura dos reagentes e o tempo de residência podem afetar as características gerais da HAP produzida. Outras fases secundárias tais como TCP podem ser produzidas conforme diferentes valores de pH da reação (Kweh et al., 1999).

A técnica hidrotérmica usualmente fornece HAP com alto grau de cristalinidade e com razão Ca/P próxima ao valor estequiométrico. Seu tamanho de cristal está na faixa de nanômetros a milímetros.

A hidrólise de outros fosfatos de cálcio, como o TCP, necessita de baixas temperaturas (usualmente abaixo de 100 °C) e resulta em agulhas ou lâminas tendo o tamanho situado na escala micrométrica. Na maioria dos casos, porém, o produto da hidrólise é altamente não estequiométrico (razão Ca/P na faixa de 1,50-1,71).

Um problema geral relacionado aos métodos úmidos é a presença de íons carbonato e/ou outras impurezas no látice da HAP cristalizada.

As reações no estado sólido usualmente fornecem um produto estequiométrico e bem cristalizado, mas requerem relativamente altas temperaturas e longo tempo de tratamento térmico. Entretanto, a sinterabilidade de tais pós é usualmente baixa.

Existem também técnicas alternativas para a preparação de pós de HAP, tais como eletrocristalização, spray-pirólise, liofilização, irradiação de microondas e sol-gel. Esta última técnica tem atraído muita atenção recentemente (Suchanek e Yoshimura, 1998). O método sol-gel oferece uma mistura a nível molecular dos precursores cálcio e fósforo, que é capaz de melhorar a homogeneidade química da HAP resultante a uma extensão significativa, em comparação com os métodos convencionais.

Uma possibilidade interessante é a produção de pós de apatita pobremente cristalinos e com pequeno tamanho de partícula, que são subsequenteemente processados em associação com matrizes para manter suas características e potencial (Lorenzo e Regí, 2000).

As propriedades mecânicas do produto acabado de HAP puro são pobres. Pode-se tomar como exemplos:

- Resistência a fratura (K_{IC}): $\sim 1,0 \text{ MPa.m}^{1/2}$ (osso humano: $2-12 \text{ MPa.m}^{1/2}$);
- Módulo de Weibull (n)(em ambientes úmidos): 5-12 (baixo) (indica baixa confiança nos implantes de HAP).

Sendo assim, o produto acabado de HAP não pode ser usado como implante fortemente carregado, tais como dentes e ossos artificiais. As aplicações médicas da HAP são limitadas a pequenos implantes não carregados, pós, revestimentos e a implantes porosos pouco carregados.

De maneira a melhorar a confiança do produto acabado de HAP, vários reforços (cerâmicos, metálicos ou poliméricos) têm sido utilizados.

A preparação da HAP cerâmica densa pura com propriedades mecânicas superiores é possível se o pó de HAP de partida for estequiométrico, ou seja, tiver a razão molar Ca/P igual a 1,67.

A HAP porosa tem sido amplamente utilizada como substituinte ósseo. Ela apresenta forte ligação ao osso. Além disso, os poros fornecem um encaixe mecânico levando a uma fixação mais firme do material (Suchanek e Yoshimura, 1998).

O tecido ósseo cresce bem dentro dos poros, aumentando a resistência do implante de HAP. Entretanto, o tamanho de poro mínimo, requerido para não permitir o crescimento do osso circundante junto com o fluxo sanguíneo é de aproximadamente $100\mu\text{m}$. Estes poros grandes diminuem a resistência do implante

significativamente, deste modo, implantes de HAP porosa não podem ser fortemente carregados e são usados para preencher somente pequenos defeitos ósseos.

A maneira clássica de fabricar um produto acabado de HAP poroso (tamanho de poro de 100-600 μm) é a sinterização do pó de HAP com apropriados aditivos de criação de póros (por exemplo parafina, naftaleno ou peróxido de hidrogênio) que desprendem gases em temperaturas elevadas. HAP pode também ser moldada dentro de esqueleto de CaCO_3 , que é então dissolvido, levando a uma rede porosa.

Como existe um limite das aplicações da HAP devido a baixa confiança mecânica, a preparação de compósitos cerâmicos baseados em HAP pode parcialmente resolver o problema. Além disso, compósitos de HAP podem ser fabricados para controlar propriedades biológicas do implante (bioatividade, biodegradação, etc.). Em anos recentes, muitos reforços, incluindo partículas, laminados, whiskers, fibras longas, zircônia parcialmente estabilizada (PSZ) e nanopartículas (nanocompósitos) têm sido utilizados no produto acabado de HAP para melhorar sua confiança.

Uma vantagem do compósito é um aumento de dureza e resistência do produto acabado de HAP. Entretanto, a introdução de materiais estranhos na matriz de HAP pode levar a diminuição da biocompatibilidade e pode promover a decomposição da HAP com a formação de TCP. A presença de TCP na HAP aumenta sua biodegradabilidade e a susceptibilidade do crescimento lento da trinca. Além disso, o processo de decomposição pode ter uma influência negativa na densificação do compósito devido a formação de uma nova fase e evaporação de água, diminuindo conseqüentemente a resistência do mesmo (Suchanek e Yoshimura, 1998).

De maneira geral, a bioatividade da HAP reforçada com materiais bioinertes seria menor do que a bioatividade da HAP pura. Um outro efeito indesejado ligado a maioria dos reforços da HAP é um aumento do módulo de elasticidade do material. No caso da diferença de módulo de elasticidade entre implante e osso vir a ser muito grande, então mais carga é transmitida através do implante. Conseqüentemente, a resistência do osso cicatrizado é baixa.

Vidros bioativos, desenvolvidos por Hench a quase 30 anos atrás, exibem alta bioatividade e biocompatibilidade. A combinação de vidros bioativos com HAP resulta em biocerâmicas com propriedades mecânicas melhoradas sem perda da biocompatibilidade e da bioatividade.

De maneira geral, os cimentos ósseos de fosfato de cálcio são misturas de pós de fosfato de cálcio tais como CaHPO_4 e TCP com água ou um outro líquido (como H_3PO_4). A mistura se transforma em HAP durante a aplicação, formando um corpo poroso uniforme a 37°C (Suchanek e Yoshimura, 1998).

2.3 – COMPÓSITOS

Pode-se dizer que um esforço combinado de pesquisa e desenvolvimento em materiais compósitos começou em 1965. Desde o início da década de 60 do século passado tem existido um aumento na demanda por materiais que são mais duros e mais resistentes, contudo mais leves, em campos tão diversos quanto a área aeroespacial, energia e construção civil.

Um compósito pode ser conceituado como sendo qualquer material multifásico que exiba uma proporção significativa das propriedades de ambas as fases que o constituem, de tal modo que é obtida uma melhor combinação de propriedades. Os materiais compósitos podem ser classificados em três divisões principais: compósitos reforçados com partículas, compósitos reforçados com fibras e compósitos estruturais, como mostra a figura 2.4.

Muitos materiais compósitos são constituídos por apenas duas fases, denominadas matriz e fase dispersa, sendo que a matriz é contínua e envolve a fase dispersa. As propriedades desses compósitos são uma função das propriedades das fases constituintes, das suas quantidades relativas e da geometria da fase dispersa. Esta última diz respeito a forma, tamanho, distribuição e orientação das partículas.

Nos compósitos reforçados com partículas a fase dispersa apresenta eixos iguais, ou seja, as dimensões das partículas são aproximadamente as mesmas em todas as direções. Esses compósitos podem ser subclassificados como: compósitos com partículas grandes e compósitos reforçados por dispersão (Callister, 2000).

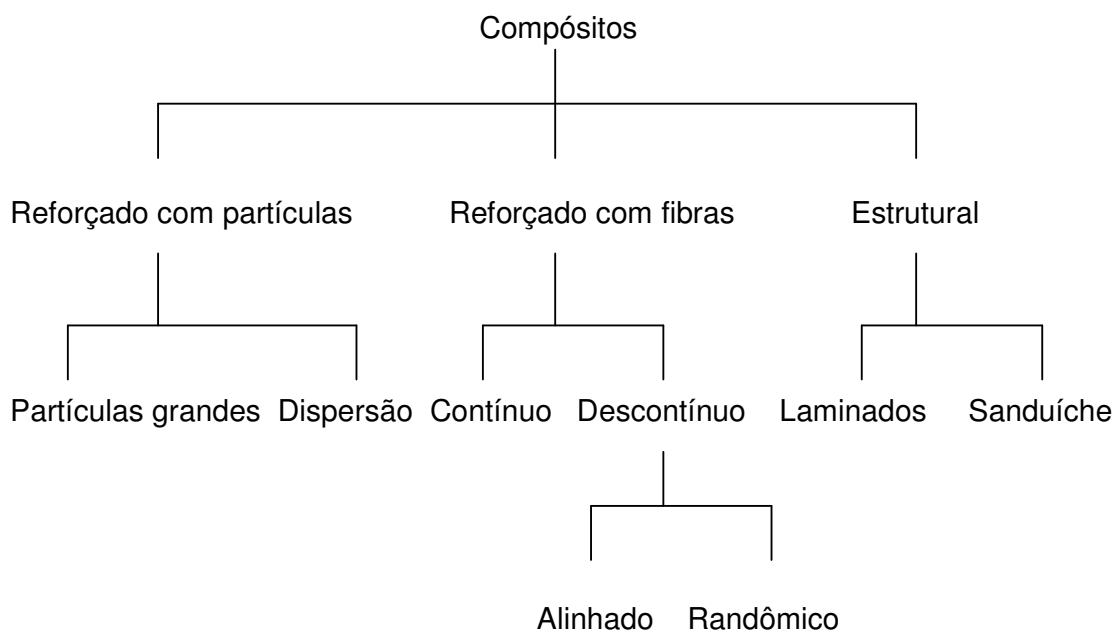


Figura 2.4- Classificação de materiais compósitos (Callister, 2000)

Os compósitos com partículas grandes apresentam interações partícula – matriz que não podem ser tratadas num nível atômico ou molecular, sendo empregada ao invés disso a mecânica do contínuo. Para a maior parte desses compósitos a fase particulada é mais dura e mais rígida do que a matriz. Essas partículas de reforço tendem a restringir o movimento da fase matriz na vizinhança de cada partícula. Essencialmente, a matriz transfere parte da tensão aplicada às partículas, as quais suportam uma fração da carga. O grau de reforço ou melhoria do comportamento mecânico depende de uma ligação forte na interface matriz partícula.

Os compósitos reforçados por dispersão têm partículas geralmente muito menores do que as do caso anterior, com diâmetros entre 10 e 100 nm. As interações partícula-matriz que levam ao aumento de resistência ocorrem no nível atômico ou no nível molecular. Enquanto a matriz suporta a maior parte de uma carga que é aplicada, as pequenas partículas dispersas evitam ou dificultam o movimento de discordâncias. Dessa maneira, a deformação plástica é restringida de tal modo que o limite de escoamento e o limite de resistência a tração, bem como a dureza, são melhorados (Callister, 2000).

Pode-se considerar compósitos de matriz metálica e de matriz cerâmica, além dos que possuem matriz polimérica.

Compósitos poliméricos são materiais nos quais pelo menos um dos componentes, não necessariamente a matriz, é de natureza polimérica. O termo compósito polimérico foi usado originalmente para definir combinações de polímeros com não polímeros, como por exemplo a fibra de vidro. Existem muitos exemplos importantes de fibras poliméricas que são utilizadas para reforçar plásticos e sistemas poliméricos multicamadas.

Uma interface pode ser conceituada como sendo a superfície limitante entre a matriz e o reforço através da qual uma descontinuidade em algum parâmetro ocorre. A interface em um compósito é de grande importância devido sua área superficial interna ser muito grande.

Pode-se considerar as seguintes razões para o surgimento de interfaces em sistemas poliméricos:

- Podem ser as superfícies entre duas fases quimicamente distintas e insolúveis que estão em equilíbrio entre si;
- Podem existir entre dois componentes miscíveis que ainda não atingiram o equilíbrio, talvez por características de baixa difusão do sólido ou alta viscosidade do material.

Pode-se considerar que como numa cadeia onde a ligação mais fraca dita as propriedades de resistência mecânica do todo, o comportamento mecânico do compósito reflete a interação entre as várias fases. Ou seja, se não existe nenhuma ligação entre elas, seja ela química ou física, como forças de valência secundárias, a resposta do material, para pequenas tensões pelo menos, será como se a matriz contivesse buracos de forma idêntica a carga. Numa maior tensão a deformação da matriz pode afetar a carga mais rígida, desse modo produzindo uma fricção mecânica ou efeito relacionado que permitirá a carga gerar algum desenvolvimento de influência na resposta da amostra. Se existe adesão entre as duas fases então até mesmo a baixas tensões uma transferência de tensão pode ocorrer sobre a interface, permitindo assim a carga repartir a tensão e dessa maneira, fornecer um efeito reforçador. Se a interface é muito rígida em virtude de uma interação muito forte, surge uma possibilidade de piora em algumas propriedades que exigem alguma flexibilidade na interface, possivelmente a fim de dissipar o excesso de energia.

Uma interfase ocorre quando o material que forma a fase dispersa tem sua superfície quimicamente ativada ou coberta para promover adesão a matriz

(Cogswell, 1992). Para uma particular aplicação e um esperado campo de forças, o planejamento de um compósito útil pode requerer algum compromisso na interação e resistência interfacial, e uma maneira de se obter isto seria interpor uma pequena proporção de um terceiro componente entre os outros dois (Sheldon, 1982).

Dentre os mecanismos que explicam a adesão dentro de uma interfase fibra-matriz temos: molhamento, ligação química, encaixe mecânico e Interação cristalina (Cogswell, 1992).

Como dito de forma similar anteriormente, materiais compósitos são formados quando pelo menos dois materiais diferentes são misturados para formar um monólito. Para os compósitos convencionais, a mistura de fases tipicamente ocorre em uma escala macroscópica (μm). Em comparação, como será descrito mais adiante, um nanocompósito é formado quando a mistura de fases ocorre numa escala nanométrica. As propriedades gerais de um material compósito são determinadas não somente pelos componentes originais, mas também pela morfologia de fase do compósito e propriedades interfaciais. Nanocompósitos exibem normalmente propriedades de performance melhoradas quando comparadas com a dos compósitos convencionais devido a sua morfologia de fase única e propriedades interfaciais melhoradas. Por essas razões, compósitos orgânico-inorgânicos nanoestruturados têm atraído considerável atenção no âmbito da pesquisa fundamental e das aplicações (Pinnavaia e Beall, 2000).

2.4- NANOCOMPÓSITOS

O termo nanocompósito é comumente usado em duas áreas distintas da ciência dos materiais: polímeros e cerâmicos (Kornmann, 2003).

Nanocompósitos são uma nova classe de compósitos (poliméricos), que são polímeros com carga, nos quais no mínimo uma dimensão das partículas dispersas se encontra em escala nanométrica (10^{-9} m) (Alexandre e Dubois, 2000).

A literatura apresenta nanocompósitos de matrizes poliméricas reforçadas por nanocargas tais como sílica precipitada e óxidos sílica-titânio sintetizados pelo processo sol-gel, silicatos, whiskers de celulose, zeólitas, dispersões coloidais de polímeros rígidos (Kornmann, 2003), hidroxiapatita, entre outras. Pode-se observar que dentre a literatura referente aos nanocompósitos poliméricos, existe uma significativa quantidade de trabalhos dos nanocompósitos polímero/silicato em camada (PLSN) em virtude dos melhoramentos trazidos pelos mesmos, os quais serão descritos a seguir.

2.4.1- NANOCOMPÓSITO POLÍMERO/SILICATO EM CAMADA (PLSN)

Os PLSN's foram primeiramente relatados em 1961, quando Blumstein demonstrou a polimerização de monômeros vinílicos intercalados na montmorilonita (MMT) (Pinnavaia e Beall, 2000). Pode-se considerar que as interações polímero-argila foram ativamente estudadas durante os anos sessenta e no início dos anos setenta. Somente por volta de 1990 foi que pesquisadores da Toyota descobriram a possibilidade de construir uma nanoestrutura à partir de um polímero e uma argila organofílica. Esse novo material baseado na poliamida 6 e MMT organofílica mostrou melhoramentos significativos nas propriedades mecânicas, propriedades de barreira e resistência térmica quando comparados com a matriz polimérica pura, e isso com uma pequena quantidade de argila (4% p/p) (Kornmann, 2003). De maneira geral, tem-se que os PLSN's frequentemente exibem uma extraordinária melhora nas propriedades quando comparados com o polímero puro ou com os micro e macro-compósitos convencionais. Tendo uma dispersão em nanoescala, que resulta numa alta razão de aspecto e área superficial, a eficiência do reforço dos PLSN's pode ser significativamente melhor do que as cargas minerais convencionais.

Entre os benefícios potenciais dos PLSN's podemos citar: elevado módulo de elasticidade, maior resistência mecânica e ao calor, menor taxa de liberação de calor, melhor módulo de flexão, diminuição da permeabilidade a gases e inflamabilidade, fácil fluidez, estabilidade dimensional, boa aparência superficial e aumento da biodegradabilidade de polímeros biodegradáveis (Ray e Okamoto, 2003).

Uma descoberta que estimulou o renascimento do interesse nos PLSN's, além do relato do grupo de pesquisa de Toyota do nanocompósito nylon-6/MMT, para o qual quantidades muito pequenas de carregamento de silicato em camada resultou numa considerável melhora das propriedades mecânicas e térmicas, foi a observação, feita por Vaia e colaboradores, de que é possível "misturar por fusão" polímeros com silicatos em camada sem o uso de solventes orgânicos.

Esforços têm sido conduzidos globalmente usando quase todos os tipos de matrizes poliméricas na síntese de PLSN's, dentre as quais pode-se citar: polímeros vinílicos (exemplo: PVA), polímeros obtidos por condensação (exemplos: nylon 6, PET, PC e PU), poliolefinas (exemplos: PP e PE), polímeros de especialidade (exemplo: PANI) e polímeros biodegradáveis (exemplos: PHB e PLA) (Ray e Okamoto, 2003).

2.4.2- ESTADO DA ARTE DOS NANOCOMPÓSITOS PHB/ARGILA E PHB-HV/ARGILA

J. E. Gardolinski et al., em trabalho de 2000, reagiram caulinita, um argilo mineral 1:1 dioctaédrico composto estruturalmente de camadas assimétricas, com dimetil sulfóxido (DMSO) líquido produzindo $K(DMSO)_{0,4}$. Nanocompósitos de kaolinita organicamente modificada/poli(óxido de etileno) (PEO) e de kaolinita organicamente modificada/PHB foram preparados com técnica de fusão simples a 130°C e 180°C respectivamente, sob ar atmosférico. Esse método mostrou ser útil para preparar compósitos híbridos com índice de intercalação de 78,9% e 77,3% para o PEO e o PHB respectivamente. Os nanocompósitos têm mostrado ter arranjos ordenados em monocamadas "achataadas", tais que as expansões intercamadas determinadas por DRX foram 0,399 nm e 0,453 nm para o K-PEO e K-PHB respectivamente. Os nanocompósitos exibiram estabilidade térmica melhorada como comprovada por análises de TGA e DSC. Investigações por MEV demonstraram que o processo de intercalação provoca uma severa degradação da

morfologia do precursor kaolinita por um mecanismo envolvendo inicialmente a expansão da intercamada de kaolinita e propagação da superfície de fissura. Entretanto, um filme polimérico intercalado compacto e homogêneo pode ser obtido. Essa provável degradação pode estar relacionada também a preparação da amostra ou as condições de medida.

W. M. Choi, em artigo de 2003, sintetizou pelo método de mistura no estado fundido nanocompósitos organoargila/PHB-HV usando a MMT organicamente modificada “cloisite 30B”. Uma estrutura intercalada foi formada devido a forte interação da ligação de hidrogênio entre o PHB-HV e a organoargila. A organoargila nanoscopicamente dispersa aumentou a temperatura e a taxa de cristalização do PHB-HV, indicando que a organoargila foi um efetivo agente nucleador na matriz polimérica. Além disso, os nanocompósitos mostraram um aumento significativo nas propriedades de tração, com boa estabilidade térmica. Devido a cristalização muito lenta e as pobres propriedades mecânicas do copolímero PHB-HV, a fabricação desses nanocompósitos se mostra interessante para aumentar as aplicações do PHB-HV.

2.4.3- “CERAMERS”

“Ceramers” são materiais híbridos produzidos pela incorporação de espécies oligoméricas ou poliméricas com cristais inorgânicos pelo processo sol-gel.

As técnicas sol-gel consistem na formação de uma rede tridimensional de matéria inorgânica (gel) à partir de soluções coloidais ou moleculares do precursor (sol). Esta reação ocorre em um meio aquoso ou não aquoso, por exemplo pela diminuição da quantidade de água, por mudança no valor de pH ou da superfície de carga (potencial zeta) do sol, ou por outros meios que podem levar a gelação do líquido precursor. Uma ampla variedade de métodos podem ser utilizados, produzindo pequenas esferas uniformes ou pós (Thummler e Oberacker, 1993).

2.5- ESTRUTURA ÓSSEA

O osso possui vários níveis de organização, o que o torna difícil de ser analisado. Seus principais constituintes são colágeno (20%p/p), fosfato de cálcio (69%p/p) e água (9%p/p). Adicionalmente, outros materiais orgânicos como proteínas, polissacarídeos e lipídios estão também presentes em pequenas quantidades. O colágeno, que possui baixo módulo de elasticidade e pode ser considerado como matriz, está na forma de pequenas microfibras. O diâmetro dessas microfibras variam de 100 a 2000 nm e estão alinhadas no osso ao longo das principais direções de tensão. Fosfato de cálcio na forma de HAP cristalizada e/ou fosfato de cálcio amorfo fornece rigidez ao osso, em virtude da HAP possuir alto módulo de elasticidade. Os cristais de HAP, presentes na forma de pratos ou agulhas, têm aproximadamente 40-60 nm de comprimento, 20 nm de largura e 1,5-5 nm de espessura. Eles estão depositados paralelamente as fibras de colágeno, de tal modo que a maior dimensão dos cristais está ao longo do eixo longo da fibra. O osso pode se remodelar e se adaptar ao meio mecânico, o que é geralmente conhecido como lei de Wolff. A densidade do osso vivo é influenciada pela condição de tensão aplicada a ele. Uma maior tensão aplicada leva a um osso mais denso. Contrariamente, se a tensão aplicada é menor do que a carga fisiológica normal, a massa óssea diminui e leva o osso a enfraquecer-se. O osso é um material anisotrópico porque suas propriedades são direcionalmente dependentes e o osso maduro existe em duas formas principais: compacto (cortical) e trabecular (esponjoso), os quais são mostrados na figura 2.5. Algumas propriedades biomecânicas desses ossos são mostradas na tabela 2.1. Como um compósito orgânico-cerâmico, o osso exhibe alta resistência e relativamente alto módulo de elasticidade. A alta resistência está relacionada não somente com a presença de colágeno, mas também a complicada microestrutura fibrosa.

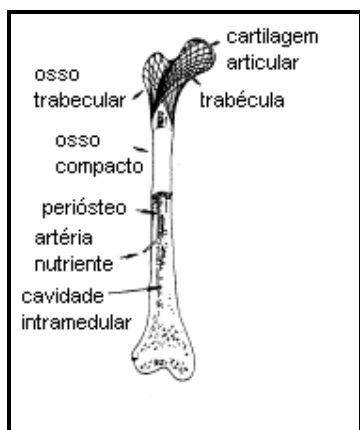


Figura 2.5 – Osso humano longo (adaptado de Park, 1987).

Sob excessivo impacto ou carregamento o osso sofre fratura, e existem muitos tipos de fraturas ósseas dependendo do tamanho da fissura, orientação, morfologia e localização (Ramakrishna et al., 2001) (Suchanek e Yoshimura, 1998).

Tabela 2.1 – Propriedades mecânicas do osso humano

Tipo de osso	Compacto (direção longitudinal)	Compacto (direção transversal)	Trabecular
Módulo de Young (GPa)	17,0 -18,9	11,5	0,05-0,5
Resistência a tração (MPa)	124 - 174	49	10-20
Resistência a compressão (MPa)	170 - 193	133	7-10

2.6- BIOMATERIAIS UTILIZADOS EM IMPLANTES ÓSSEOS

Simplificadamente, biomaterial é um material que interage com sistemas biológicos.

Biomateriais são materiais que são biocompatíveis, e biocompatibilidade é um termo que indica a habilidade de um material atuar com uma resposta apropriada do hospedeiro, numa aplicação específica. Em simples termos ele implica em compatibilidade ou harmonia do biomaterial com sistemas vivos. Wintermantel e Mayer estenderam essa definição e distinguiram entre compatibilidade superficial e estrutural de um implante. Compatibilidade superficial significa o quanto está adequada a superfície do implante com os tecidos hospedeiros. Compatibilidade estrutural é a adaptação ótima ao comportamento mecânico dos tecidos hospedeiros. Então, compatibilidade estrutural se refere as propriedades mecânicas do material implantado, tais como módulo de elasticidade, resistência, dureza e transmissão de carga ótima (mínima diferença de deformações interfaciais) da interface tecido/implante. Interações ótimas entre o biomaterial e o hospedeiro são alcançadas quando ambas compatibilidades, superficial e estrutural são encontradas. Além disso, deve ser observado que o sucesso de um biomaterial no corpo também depende de muitos outros fatores, tais como a técnica cirúrgica (grau de trauma intrínseco ao processo de implantação, métodos de esterilização, etc.), condições de saúde e atividades do paciente.

A experiência clínica indica claramente que nem todos os materiais em circulação (comumente usados materiais de engenharia) são adequados para aplicações biomédicas. Os vários materiais utilizados em aplicações biomédicas podem ser agrupados em: metais, cerâmicos, polímeros e compósitos feitos à partir de várias combinações de metais, cerâmicos e polímeros. Pesquisadores também classificaram os materiais em alguns tipos, tais como bioinertes e bioativos, bioestáveis e biodegradáveis, etc. (Ramakrishna et al., 2001).

Uma ampla gama de polímeros como polietileno (PE), poliuretano (PU), poli (metacrilato de metila) (PMMA), poli (tereftalato de etileno) (PET), poli (éter-éter-cetona) (PEEK) e poli (ácido láctico) (PLA) são amplamente usados em várias aplicações biomédicas, por serem disponíveis numa ampla variedade de composições, propriedades e formas (sólidos, fibras, tecidos, filmes e gels), e poderem ser fabricados prontamente em formas e estruturas complexas. Entretanto

eles tendem a ser muito flexíveis e muito frágeis para suportar a demanda mecânica de certas aplicações como implantes em cirurgia ortopédica. Algumas propriedades mecânicas de polímeros utilizados como biomateriais são mostradas na tabela 2.2. Eles também podem absorver líquidos e inchar, lixiviar produtos indesejáveis (como monômeros, cargas, plastificantes e antioxidantes) dependendo de sua aplicação e uso. Além disso, os processos de esterilização (autoclave, óxido de etileno e irradiação de ^{60}Co) podem afetar as propriedades do polímero (Ramakrishna et al., 2001).

Tabela 2.2 – Propriedades mecânicas de biomateriais poliméricos típicos (Black e Hastings, 1998)

Polímero	Módulo de Young (GPa)	Resistência a tração (MPa)
Borracha de silicone (SR)	0,008	7,6
Poliuretano (PU)	0,02	35
Politetrafluoroetileno (PTFE)	0,5	27,5
Polietileno (PE)	0,88	35
Poliacetal (PA)	2,1	67
Polimetilmetacrilato (PMMA)	2,55	59
Polisulfona (PS)	2,65	75
Poli (tereftalato de etileno) (PET)	2,85	61
Polihidroxibutirato (PHB)	3,5	40
Polieteretercetona (PEEK)	8,3	139

Os metais são conhecidos por sua alta resistência mecânica, ductilidade, e resistência a fadiga. Deficiências de muitos metais incluem baixa biocompatibilidade, corrosão, dureza muito alta comparada aos tecidos, alta densidade e liberação de íons metálicos que podem causar reações alérgicas dos tecidos (Ramakrishna et al., 2001). Metais e ligas que são bem sucedidos como biomateriais incluem: ouro,

tântalo, aço inoxidável, liga Co-Cr e ligas de titânio. Algumas propriedades mecânicas de materiais metálicos típicos são mostradas na tabela 2.3.

Tabela 2.3 – Propriedades mecânicas de biomateriais metálicos típicos (Black e Hastings, 1998)

Liga metálica	Módulo de Young (GPa)	Resistência a tração (MPa)
Amálgama	30	58
Liga de titânio	116	965
Aço inoxidável	190	586
Liga Co-Cr	210	1085

Cerâmicos são conhecidos por sua boa compatibilidade, resistência a corrosão e alta resistência a compressão. Desvantagens das cerâmicas incluem: fragilidade, baixa resistência a fratura, dificuldade de fabricação, baixa confiança mecânica, falta de resiliência e alta densidade (Ramakrishna et al., 2001). São cerâmicas biocompatíveis amplamente consideradas: hidroxiapatita, alumina, zirconia, biovidro (ou vidro bioativo) e carbono. Algumas propriedades mecânicas de materiais cerâmicos típicos são mostradas na tabela 2.4.

Tabela 2.4 – Propriedades mecânicas de biomateriais cerâmicos típicos (Black e Hastings, 1998)

Material cerâmico	Módulo de Young (GPa)	Resistência a tração (MPa)
Biovidro	35	42
Hidroxiapatita	95	50
Zirconia	220	820
Alumina	380	300

Os compósitos poliméricos fornecem uma alternativa para superar muitas deficiências dos materiais homogêneos mencionados acima (Ramakrishna et al., 2001). Como exemplos de compósitos poliméricos utilizados como biomateriais podemos citar: HAP/PE, fibra de carbono (CF)/polietileno de ultra alto peso molecular (UHMWPE) e CF/PEEK.

Cada tipo de biomaterial tem seus aspectos positivos que são particularmente adequados para uma aplicação específica (Ramakrishna et al., 2001). Considerando a compatibilidade estrutural ou mecânica com os tecidos, metais ou cerâmicos são escolhidos para aplicações em tecidos duros, e polímeros para aplicações em tecidos moles. De acordo com as tabelas 2.1, 2.3 e 2.4, temos que os módulos de elasticidade de metais e cerâmicos são pelo menos 10-20 vezes mais altos do que os dos tecidos duros. Um dos maiores problemas na cirurgia ortopédica é a diferença de dureza entre o osso e o implante metálico ou cerâmico. Na repartição da carga entre o osso e o implante, a quantidade de tensão transmitida para cada um deles está diretamente relacionada a sua dureza. Deste modo, o osso é insuficientemente carregado comparado ao implante, e esse fenômeno é denominado “stress-shielding” ou “stress protection”. Muitos investigadores têm mostrado que o grau de “stress-shielding” é proporcional ao grau de diferença de dureza. O “stress-shielding” afeta a reconstrução do osso e o processo de cicatrização levando a um aumento da porosidade do osso (também conhecido como atrofia óssea). Tem sido identificado que a adequação de dureza do implante ao tecido hospedeiro limita o efeito do “stress-shielding” e produz a reconstrução desejada do tecido. A esse respeito, o uso de materiais de baixo módulo tais como os polímeros parece interessante. Entretanto, a baixa resistência associada com o baixo módulo elástico prejudica seu uso potencial.

Visto que os polímeros reforçados com fibras (compósitos poliméricos) exibem simultaneamente baixo módulo de elasticidade e alta resistência, eles são sugeridos para várias aplicações ortopédicas. Um mérito adicional dos compósitos é que pelo controle das frações volumétricas e arranjo global e local da fase de reforço, as propriedades e forma de um implante podem ser variadas e feitas sob medida para satisfazer as condições mecânicas e fisiológicas dos tecidos hospedeiros. Observa-se que os materiais compósitos oferecem um maior potencial de biocompatibilidade estrutural do que os materiais monolíticos homogêneos. Eles têm de modo aceitável adequada resistência mecânica. Além disso, os tecidos humanos são essencialmente compósitos com propriedades anisotrópicas, que dependem das funções e arranjos estruturais de vários componentes (como colágeno, elastina e hidroxiapatita) dos tecidos. Por exemplo, as propriedades mecânicas longitudinais do osso cortical são mais altas do que as propriedades na direção transversal (ver tabela 2.1). Essas similaridades têm levado ao

desenvolvimento de biomateriais compósitos. Outras razões para o desenvolvimento de biomateriais compósitos poliméricos incluem: ausência de corrosão e falha por fadiga de ligas metálicas e liberação de íons metálicos tais como níquel e cromo que podem causar perda do implante, desconforto do paciente, e reações alérgicas da pele; e baixa resistência a fratura de materiais cerâmicos que fazem deles uma não muito boa escolha para aplicações de suporte de carga (Ramakrishna et al., 2001).

Propriedades mecânicas de biomateriais disponíveis para substituição óssea são mostradas na figura 2.6. Nessa figura, a tenacidade a fratura (K_{IC}) foi considerado como um parâmetro que caracteriza a confiança mecânica.

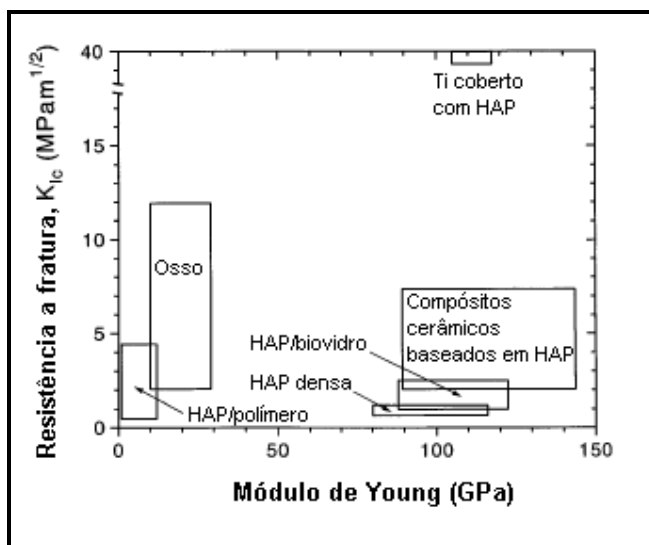


Figura 2.6 – Resistência a fratura versus módulo de Young de biomateriais utilizados para substituição óssea (Suchanek et al, 1997).

HAP e compósitos HAP/biovidro (vidro bioativo) são os mais biocompatíveis entre os biomateriais apresentados. Porém, os seus valores de K_{IC} estão abaixo ou no menor limite do osso, fazendo com que esses materiais não possam ser usados como implantes de carregamento pesado.

Os compósitos cerâmicos baseados em HAP estão na faixa de K_{IC} do osso, e o K_{IC} das ligas de titânio cobertas com HAP excedem em algumas vezes o limite superior do K_{IC} do osso. Entretanto, tanto os compósitos cerâmicos baseados em HAP quanto as ligas de titânio cobertas com HAP apresentam valores do módulo de Young muito elevados e também problemas relacionados ao seu processamento, além de suas características biológicas serem insuficientes.

Os compósitos HAP/polímero possuem valores do módulo de Young próximos ao do osso e exibem uma confiança mecânica muito boa. Infelizmente, problemas

relacionados a bioatividade diminuída ou a toxicidade de compósitos biodegradáveis são sérias desvantagens.

De maneira geral, no caso de quase todos os materiais biocerâmicos apresentados, com o aumento da confiabilidade mecânica a biocompatibilidade diminui.

Assim sendo, a fabricação de um implante de substituição óssea se mostra um desafio para a ciência dos materiais.

2.7- ESTADO DA ARTE DO SISTEMA HIDROXIAPATITA/POLÍMERO

2.7.1- COMPÓSITOS HAP/POLÍMEROS

O desenvolvimento de compósitos HAP/polímero começou em 1981 com os trabalhos de Bonfield e colaboradores utilizando PEAD como matriz. Bonfield observou que uma significativa tensão de cisalhamento interfacial era gerada pela diferença do módulo de elasticidade entre o osso e o material implantado, o que levava a perda dos implantes realizados com os biomateriais existentes até então, como as ligas metálicas e materiais cerâmicos. Mesmo utilizando cimento ósseo para melhor fixar o material implantado ao osso, a diferença entre o módulo de elasticidade ainda existia entre os três componentes do sistema (osso – cimento ósseo – material implantado), permanecendo o potencial para a perda do implante. Sendo assim, Bonfield sugere o material PEAD/HAP, o qual possuindo módulo de elasticidade similar ao osso e biocompatibilidade dos componentes individualmente, seria uma maneira de superar esse problema.

Na tabela 2.5 são mostradas as metodologias de preparação e os métodos de caracterização presentes em relatos anteriores (referências) que representam o estado da arte dos compósitos do sistema HAP/polímeros. Abaixo dessa tabela os polímeros presentes nesses artigos são agrupados e complementações a respeito dos trabalhos são realizadas.

Tabela 2.5 – Estado da arte de compósitos do sistema HAP/polímeros

Compósito	Autor-ano	Metodologia de preparação	Técnicas de caracterização
HAP/PEAD	Bonfield et al.-1981	Técnica de misturação-moldagem por compressão	Análise por ultrassom (para medir o módulo de Young)
HAP/PLA	Higashi et al.-1985	(1) Prensagem a quente; (2) Polimerização à partir de látices; (3) Fusão do polímero e mistura com HAP.	Avaliação “in vitro” e “in vivo”
HAP/PHB	Luklinska e Bonfield-1997	[Não mencionado]	Avaliação “in vivo” (com MEV e MET)
HAP/PHB	Rodriguez et al.- 2000	Impregnação	Compressão, MEV
HAP/ PHB e HAP/PHB-PHV)	Galego et al.-2000	Homogeneização-prensagem a quente	Análise térmica, DRX, FTIR, resistência mecânica
HAP/PEAD	Wang et al.-2000	“Compounding” e graftização	FTIR, DSC
HAP/(PDLLA/PCL)	Ural et al.-2000	Moldagem por compressão	Micrografia ótica, MEV
HAP/PEAD	Wang e Bonfield-2001	“Compounding”(usando extrusora)	MEV, EDX, fratura por impacto criogênica, tração, FTIR
HAP/PHB	Ni e Wang-2002	“Compounding”- laminação-moldagem por compressão	Avaliação “in vitro”(MEV, TF-XRD, FTIR, DMA)
HAP/PHB-PHV	Chen e Wang-2002	“Compounding” (usando reômetro de torque)	MEV, TGA, DSC, DMA, microdureza, avaliação “in vitro”
HAP/PEAD, HAP/PMMA	Cheang e Khor-2003	“Compounding” (usando reômetro de torque)	Tração, MEV
HAP/PEAD(e outros)	Souza et al.-2003	“Compounding”(usando extrusora)- moldagem por injeção	Tração, impacto, microdureza, WAXD, DRX (Debye), microscopia ótica, MEV
HAP/PEEK	Bakar et al.-2003	“Compounding”- granulação- moldagem por injeção	Tração, fadiga, avaliação “in vivo”
HAP/PEEK	Tang et al.-2004	“Melt compounding”- moldagem por injeção	Tração quasi- estática, MEV, fadiga, microscopia ótica, DSC

2.7.1.1- COMPÓSITOS HAP/POLIETILENO DE ALTA DENSIDADE (PEAD)

Os compósitos HAP/PEAD são os pioneiros do sistema HAP/polímero, e atualmente ainda são estudados.

M. Wang et al., em trabalho publicado em 2000, citam que entre os fatores que afetam as propriedades térmicas, físicas e mecânicas de um compósito de matriz polimérica se encontram a estrutura e o peso molecular da matriz, o tipo e quantidade do reforço e condições experimentais tais como modificação da matriz e tratamento do reforço com agente de acoplamento. Também citam que o PE é apolar e hidrofóbico, conseqüentemente somente encaixe mecânico existe entre as partículas de HAP e a matriz de PE em um compósito HAP/PEAD convencionalmente processado. De maneira a alcançar uma boa afinidade entre esses dois constituintes do compósito, é desejável para o PE produzir alguma polaridade. Geralmente uma polimerização por enxerto de um monômero polar, tal como o ácido acrílico, em poliolefinas, melhora a adesão entre a carga e o polímero. O uso de agentes de acoplamento para ligação molecular entre uma matriz polimérica e cargas inorgânicas também aumenta a adesão interfacial. Sendo assim, o trabalho apresenta duas técnicas para melhorar a condição interfacial: o uso de HAP tratada com silano e a aplicação de enxerto polimérico para o PE. Concluiu-se que a presença de silanização e grafitização foi confirmada por análises químicas e espectroscópicas. Sabe-se por antecipação que com as interações químicas entre a carga e a matriz, as propriedades mecânicas dos novos compósitos será melhorada.

M. Wang e W. Bonfield, em trabalho publicado em 2001, apresentam resultados obtidos de estudos detalhados de estrutura e propriedades dos compósitos quimicamente acoplados descritos no parágrafo anterior. Citam que um módulo de elasticidade mais próximo ao osso do compósito HAP/PEAD mostra uma esperança de resolver o problema da reabsorção óssea que têm sido encontrados com o uso de implantes feitos de materiais convencionais tais como metais e cerâmicos que possuem muito maiores valores do módulo elástico do que o do osso cortical humano. Citam também que uma das aplicações clínicas desse material é para reconstrução de osso orbital e aumento de volume. No sistema simples HAP/PEAD existem somente duas fases: partículas de HAP dispersas e contínuo PEAD. Então, somente acoplamento mecânico que tem resultado do encolhimento

do polietileno sobre as partículas de HAP, durante o processamento do compósito é alcançado entre o reforçamento da HAP e a matriz de PE. Conseqüentemente, as propriedades mecânicas do compósito HAP/PEAD que é manufaturado via uma rota convencional estabelecida leva a uma menor ligação ao osso cortical humano e a aplicação para suporte de carga desse material compósito é limitada. Materiais similares sofrem da desvantagem de propriedades mecânicas inadequadas e podem somente ser usados em aplicações de baixo suporte de carga. Para aplicações de maior suporte de carga, aumentos significativos no módulo elástico e resistência mecânica são requeridos para o compósito. Concluiu-se que a introdução de HAP acoplada com silano e PE graftizado com ácido acrílico resultaram em novos compósitos HAP/PEAD com melhorada ductilidade e resistência a tração, embora seu módulo de elasticidade tenha sido diminuído levemente quando a percentagem em volume de HAP foi de 40 %.

R. A. Souza et al., em trabalho de 2003, cita que em termos de polímeros degradáveis utilizados como biomateriais em aplicações clínicas pode-se destacar o PLA, poli (ácido glicólico) (PGA) e seus copolímeros. Em relação a performance mecânica, o PGA exhibe tipicamente valores de módulo de elasticidade e tensão de ruptura de 6,5-7,0 GPa e de 57-100 MPa respectivamente. Em termos de comportamento de degradação, a respectiva perda de massa é completa num período entre 60 e 80 dias. A indução de anisotropia por meio de técnicas de auto reforçamento tem gerado uma melhora adicional na dureza para esse sistema. Valores de módulo de elasticidade até 13 GPa têm sido obtidos por auto reforçamento do PGA repuxado a quente. Apesar de uma boa performance mecânica exibida por esses sistemas, alguns estudos indicam que os implantes PLA/PGA possam gerar respostas inflamatórias devido a lixiviação de componentes de baixo peso molecular e produtos ácidos, os quais constituem as maiores desvantagens desses sistemas. Concluiu-se que foi possível desenvolver compósitos reforçados com HAP com propriedades mecânicas que podem permitir o seu uso no campo ortopédico. A técnica não convencional de moldagem por injeção denominada “orientação controlada de cisalhamento em moldagem por injeção” (SCORIM) foi empregada com sucesso para induzir um forte caráter anisotrópico nos compósitos processados e melhorar sua performance mecânica.

P. Cheang e K. A. Khor, em trabalho de 2003, envolvendo também o compósito HAP/PMMA, além do compósito HAP/PEAD, estudaram os efeitos do

carregamento e morfologia do pó nas propriedades mecânicas desses compósitos. Os resultados dos testes de tração mostraram um aumento no módulo de elasticidade com um aumento no carregamento do pó para ambos os sistemas poliméricos utilizando dois tipos de pós de HAP. Em comparação, a resistência a tração do compósito diminuiu com o aumento de carregamento do pó além de 10% (vol) de HAP. O mais alto módulo de elasticidade foi observado nos compósitos contendo pós de “spray dried” HAP (SDHAP) por causa do encaixe mecânico melhorado surgindo da superfície porosa. A resistência a tração dos compósitos contendo o pó de HAP esferoidizada por chama (FSHAP) foi maior na matriz PMMA, porém menor na matriz PEAD. Esse comportamento é característico da integridade do pó e da ligação na interface entre os dois materiais. Para o sistema FSHAP/PMMA, a resistência coesiva da partícula de FSHAP é maior do que a resistência de ligação interfacial resultante da falha na interface. Essa resistência de ligação interfacial é maior do que a resistência coesiva do pó de SDHAP poroso que responde pela maior resistência a tração do compósito FSHAP/PMMA. No sistema SDHAP/PEAD, a fratura da partícula de SDHAP ocorreu por causa da menor resistência coesiva do pó poroso de SDHAP comparada a resistência de ligação interfacial entre SDHAP e o PEAD. A investigação tem mostrado que a resistência a tração do compósito é fortemente dependente da integridade da partícula considerando que o módulo de elasticidade é mais dependente da ligação interfacial. O tratamento com microondas aumenta o módulo de elasticidade dos compósitos HAP/PMMA por promover ligação interfacial. O seu efeito na resistência a tração é mais aparente se o reforço é dependente na interação interfacial (exemplo FSHAP/PMMA). As melhores propriedades mecânicas foram alcançadas pelo uso do pó de HAP esferoidizado seguido por um tratamento com microondas do compósito para conseguir uma combinação de alto módulo de elasticidade, resistência a tração e dureza.

2.7.1.2- COMPÓSITOS HAP/ POLI (D,L- LACTÍDEO)(PDLLA)/ POLI (E- CAPROLACTONA) (PCL)

E. Ural et al., em 2000, estudaram dois diferentes copolímeros elastoméricos, d,l-lactídeo e ϵ -caprolactona, com diferentes pesos moleculares (M_n : 108 000 e 40 000), que foram sintetizados por polimerização de abertura de anel dos respectivos dímeros. Diferentes quantidades de pó de HAP foram carregadas entre os copolímeros de maneira a obter materiais de preenchimento ósseo para aplicações de não suporte de carga. Esses compósitos são leves, mecanicamente fracos, altamente flexíveis e facilmente modelados manualmente. A percentagem de alongamento diminuiu, enquanto o módulo de Young e o limite (superior) de escoamento aumentou com o carregamento de HAP. Os copolímeros foram degradados em soluções Ringer em cerca de 6 semanas. A distribuição de peso molecular se tornou de certa forma mais larga durante a degradação. A incorporação de HAP reduziu significativamente a taxa de degradação. Devido as propriedades físicas únicas e taxas de degradação adequadas, esses compósitos bioativos contendo HAP foram considerados como novos materiais de preenchimento ósseo. Os copolímeros e compósitos já têm sido implantados em ossos de cobaias e regenerações de tecido ósseo muito promissoras sem quaisquer efeitos colaterais foram observadas.

2.7.1.3- COMPÓSITOS HAP/PLA

S. Higashi et al., em artigo de 1985, cita que polímeros biodegradáveis como PLA e PGA têm sido desenvolvidos e comercializados para uso como suturas cirúrgicas absorvíveis. Os polímeros biodegradáveis são biocompatíveis, reabsorvíveis, metabolizados e subseqüentemente substituídos por tecidos. Suas propriedades mecânicas e capacidade de reabsorção podem ser modificadas pela alteração dos seus pesos moleculares, ou seja, quanto menor o peso molecular dos polímeros, mais rápida será a reabsorção. A taxa de reabsorção também pode ser controlada pela modificação da razão de composição do PLA ao PGA no estágio de síntese de copolímeros. Pesquisa básica tinha sido realizada para utilizar esses polímeros como “bone plates” e parafusos ou arames para fixação de ossos fraturados. Entretanto esses esforços tinham desvelado o dilema de manter fortes

propriedades mecânicas contra rápida capacidade de reabsorção. A demorada absorção dos polímeros de alto peso molecular que têm fortes propriedades mecânicas parece reduzir a vantagem da biodegradabilidade. Esse problema parece impedir o uso prático dos polímeros biodegradáveis com dispositivos de fixação de fratura. Os resultados do presente estudo demonstraram que polímeros de alto peso molecular não foram reabsorvidos rapidamente, embora sua biocompatibilidade com o tecido ósseo aumentou pela incorporação da HAP.

2.7.1.4- COMPÓSITOS HAP/PEEK

M. S. Abu Bakar et al., em artigo de 2003, utilizaram HAP esférica produzida via método úmido usando hidróxido de cálcio e ácido fosfórico como materiais de partida. O processo de esferoidização envolve “spray-drying” seguido por “flame-spraying”. As propriedades físicas da HAP obtida foram: densidade, $3,158 \times 10^3$ Kg/m³; tamanho de partícula, 3-100µm, tamanho médio, 25,7 µm; e área superficial específica $3,1 \times 10^5$ m²/m³. Um novo compósito bioativo com PEEK foi desenvolvido com até 40% em volume de HAP. Para os compósitos suficientemente carregados contendo 20-30 %(vol) de HAP, as características mecânicas foram: módulo de Young, 5 a 7 GPa ; resistência a tração, 49-59 MPa; duração da fadiga de 24,6-32,4 MPa a 10^6 ciclos, e eles aproximam-se do “regime” do osso cortical (o osso natural de uma maneira geral pode alcançar de 3 a 30 GPa). O uso de uma nova técnica para garantir uma exposição máxima de HAP particulada e porosidade nos compósitos quando modelados nos implantes e testados “in vivo” sugerem favorável bioatividade e biocompatibilidade. O material apresenta uso promissor para aplicações de suporte de carga em implantes médicos, dispositivos e armações estruturais.

S. M. Tang et al., em trabalho de 2004, utilizaram HAP preparada por via úmida à partir de hidróxido de cálcio e ácido fosfórico, seguido por “flame-spraying”, tendo obtido um pó de HAP esferoidizado com as mesmas especificações do trabalho de M. S. Abu Bakar et al. de 2003. Concluiu-se que o fato de todas as amostras do compósito passadas a um carregamento cíclico a 50% UTS (e abaixo) e a alta estimada resistência a fadiga para amostras HAP-20 e HAP-30 a 1 milhão de ciclos (66% e 69% UTS, respectivamente) sugerem que o compósito é um material promissor resistente a fadiga para aplicações biomédicas. Uma reorientação

da cadeia polimérica e “cristalização induzida por tensão” são o que acredita-se melhorar o módulo de elasticidade e a “resistência a tração residual” durante o carregamento cíclico. O desenvolvimento da perda por fadiga dos compósitos começa com uma falha na interface matriz-carga, seguida por uma iniciação e propagação de trincas da matriz à partir do lugar de separação matriz-carga, e subsequente desenvolvimento de maiores trincas na matriz à partir de trincas menores que causam a falha final. Então, a ligação matriz-carga é uma questão crítica que necessita ser dirigida para o melhoramento da performance desse tipo de material.

2.7.1.5- COMPÓSITOS HAP/PHB E HAP/PHB-PHV

Z. B. Luklinska e W. Bonfield em trabalho de 1997 estabeleceram a morfologia e cristalografia da interface do osso com o implante do compósito HAP/PHB durante um período de implantação de 6 meses “in vivo”. Foi verificado que o mecanismo de ligação do osso ao implante ocorreu pela degradação da matriz de PHB, o que levou a formação de novos cristalitos entre as partículas de HAP originais no compósito HAP/PHB, assim como na superfície das partículas de HAP. Uma área de difração e obtenção de imagem de alta resolução selecionadas identificaram os cristalitos recentemente formados como HAP, indicando as propriedades bioativas do compósito no ambiente do corpo.

R. S. Rodriguez et al., em trabalho publicado em 2000, utilizaram uma razão 70/30 para os compósitos HAP/PHB e obtiveram para o módulo de Young um valor de 0,6 GPa, o qual se encontra próximo ao do osso esponjoso (0,5 GPa). A análise pelo MEV depois do teste mecânico, indicou que a superfície da região fraturada apresentou uma média densidade superficial com distribuição de fase homogênea sem áreas de segregação do polímero significativas e denota a presença de cavidades e porosidade (cerca de 20% da área superficial) com 1,3-6,5 μm de diâmetro, distribuído pelo volume total, que foi considerado como importante para o compósito ser utilizado como implante para crescimento de tecido ósseo.

N. Galego et al. em artigo de 2000, utilizando HAP sintética com diâmetro de partícula de 0,1 mm, estudaram o PHB, P(β HB-co-x β HV) e seus compósitos com HAP. À partir dos resultados concluiu-se que o compósito P(β HB-co-8% β HV)/HAP (30% p/p) possui propriedades mecânicas comparáveis a aquelas dos ossos

humanos e assim sendo, de interesse para estudo como material de implante ósseo de fixação de fratura.

L. J. Chen e M. Wang, em artigo de 2002, produziram compósitos HAP/PHB-PHV contendo até 30% em volume de partículas biocerâmicas. As partículas de HAP foram bem dispersas e homogeneamente bem distribuídas na matriz de PHB-PHV. Isso demonstrou que o módulo e microdureza dos compósitos aumentou com um aumento em percentagem em volume das partículas de HAP. O estudo “in vitro” mostrou a aumentada habilidade dos compósitos de induzir a formação de apatita semelhante ao osso, indicando a bioatividade dos compósitos. Em virtude da biodegradabilidade, os compósitos têm potencial para aplicações médicas.

J. Ni e M. Wang, em trabalho de 2002, afirmaram que a incorporação de partículas de HAP no PHB resultou num compósito tendo maior dureza do que o PHB. Como o PHB apresenta um módulo de Young relativamente alto entre todos os polímeros biocompatíveis, pode ser deduzido que os compósitos HAP/ PHB contendo altas percentagens de HAP podem ter valores do módulo de Young que estão na faixa do osso cortical. Uma camada de apatita biologicamente ativa se forma em um curto período no compósito HAP/PHB após a imersão em um fluido corporal simulado (SBF), demonstrando uma alta bioatividade “in vitro” do compósito. As propriedades mecânicas e a bioatividade do compósito podem ser programadas sob medida pela variação da percentagem em volume de HAP no compósito. O módulo de armazenamento do compósito aumenta inicialmente com o tempo de imersão em SBF, o que é devido a formação da camada de apatita na superfície do compósito e diminui após imersão prolongada em SBF, exibindo degradação do compósito em um ambiente simulado do corpo. Assim sendo, o compósito apresenta potencial como um material bioativo e biodegradável para aplicações em substituição e regeneração de tecidos duros.

2.7.2- NANOCOMPÓSITOS HAP/POLÍMEROS

Na tabela 2.6 podem ser observadas metodologias de preparação e métodos de caracterização presentes em referências que representam o estado da arte dos nanocompósitos do sistema HAP/polímeros. Abaixo dessa tabela complementações a respeito dos trabalhos são realizadas.

Tabela 2.6 – Estado da arte de nanocompósitos do sistema HAP/polímeros

Nanocompósito	Autor-ano	Metodologia de preparação	Técnicas de caracterização
d-HAP/PLA	Deng et al.- 2001	“cast”	MET, tração e MEV
HAP/Col	Kikuchi et al.- 2001	Co-precipitação (titulação simultânea)	Análise térmica, MET e resistência a flexão de 3 pontos
HAP/Col, HAP/ChS e HAP/Col/ChS	S. –H. Rhee et al.- 2001	Co-precipitação (titulação simultânea)	DRX e difração de elétrons
HAP/PA66	Huang et al.- 2003	Solução	DRX, tração, resistência e módulo de flexão, impacto, MEV
HAP/PA	Jie et al.- 2003	Co-solução	IR, XPS, MET, XRD
HAP/GEL	Chang et al.- 2003	Co-precipitação (titulação simultânea)	XRD, DT/TGA, FTIR, MET e difração de elétrons
HAP/GEL	Chang et al.- 2003	Co-precipitação (titulação simultânea)	FTIR, MET e difração de elétrons
HAP/(PM(PMA-ala))	Li et al.- 2003	Polimerização in-situ	Resistência mecânica e biodegradação
d-HAP/PAA	Liou et al.- 2003	Formação in-situ	MET e análise térmica
HAP/CS	Hu et al.- 2004	Hibridização in-situ	Propriedades mecânicas, DRX, MET, MEV e absorção de água
HAP/PLLA	Wei e Ma- 2004	Separação de fases induzida termicamente	MEV, DSC, compressão e adsorção de proteínas
HAP/Col	Kikuchi et al.- 2004	Co-precipitação (titulação simultânea)	MET, resistência a flexão de 3 pontos e reações biológicas
HAP/Col	Kikuchi et al.- 2004	Co-precipitação (titulação simultânea)	Análise térmica, MET, resistência a flexão de 3 pontos, UV-VIS e outros

2.7.2.1- NANOCOMPÓSITOS HIDROXIAPATITA DEFICIENTE EM CÁLCIO (D-HAP)/PLA

X. Deng et al. (2001) concluíram que houve a obtenção de nanocompósitos na forma de filmes semi-transparentes de aproximadamente 0,1mm de espessura e que a análise pelo MEV indicou um contato próximo entre a matriz e a carga. O MET indicou uma dispersão homogênea dos nanocristais na matriz a um nível microscópico. O módulo de elasticidade para os nanocompósitos aumenta com o carregamento de d-HAP. O limite (superior) de escoamento para os nanocompósitos não foi minado pela presença de nanocristais. E esta preservação da resistência mecânica dos nanocompósitos pode ser devido a dispersão homogênea dos nanocristais de d-HAP na matriz de PLA assim como uma boa adesão interfacial.

2.7.2.2- NANOCOMPÓSITOS HAP/PLLA

G. Wei e P. X. Ma (2004) concluíram que as nanopartículas de HAP (nano-HAP) foram incorporadas com sucesso na armação porosa de PLLA. A incorporação de nano-HAP melhorou as propriedades mecânicas (o módulo de elasticidade melhorou significativamente quando a proporção de nano-HAP foi de 30 % do compósito e alcançou 8,3 MPa quando a razão de nHAP para o PLLA foi 50:50) e adsorção de proteínas dos compósitos de armação (“composite scaffolds”) enquanto manteve alta porosidade e microarquitetura adequada.

2.7.2.3- NANOCOMPÓSITOS HAP/ COLÁGENO (COL)

M. Kikuchi et al. (2001) concluíram que os compósitos obtidos têm uma nanoestrutura similar ao osso. O alinhamento da HAP e colágeno foi auto-organizado devido a interação química entre eles. O compósito indicou propriedades mecânicas de aproximadamente 40 MPa em resistência a flexão e 2,5 GPa no módulo de Young.

M. Kikuchi et al. (2004) concluíram que as ligações cruzadas com glutaraldeído (GA) foram induzidas com sucesso para os compósitos HAP/Col. A quantidade de ligações cruzadas foram facilmente controladas com as quantidades de GA adicionadas no reator. A ligação cruzada no compósito melhorou sua

resistência mecânica. Paralelamente, a taxa de reabsorção “in vivo” foi reduzida sem qualquer reações tóxicas, incluindo inflamação.

Em outro trabalho no ano de 2004, M. Kikuchi et al. concluíram que o nanocompósito HAP/Col foi sintetizado usando o mecanismo de auto-organização entre as superfícies de colágeno e de HAP. Este compósito demonstrou excelente biocompatibilidade e atividades biointegrativas, equivalente ao osso autógeno e muito melhor do que outros materiais ósseos artificiais.

2.7.2.4- NANOCOMPÓSITOS HAP/Col, HAP/ChS E HAP/ChS/Col

S.-H. Rhee et al. (2001) estudaram ordenações configuracionais biomiméticas de nanocristais de HAP em biorgânicos, Col, ChS e suas misturas. Um mesmo arranjo configuracional de cristais de HAP em fibra de Col e na mistura de fibras de Col e ChS pode ser obtido. Os diferentes difratogramas de elétron de cristais de HAP nas fibras de Col e ChS pode ser explicado por diferentes configurações macromoleculares das fibrilas de Col e ChS que compõem suas fibras. Esses resultados podem ser aplicados para desenvolver um substituto ósseo que imita o arranjo configuracional peculiar dos cristais de HAP encontrados no osso e sua detalhada composição orgânica.

2.7.2.5- NANOCOMPÓSITOS HAP/GELATINA(GEL)

M. C. Chang et al. (2003), que sintetizaram nanocompósitos utilizando um processo biomimético, verificaram que a quantidade de gelatina influenciou grandemente a nucleação e o desenvolvimento dos nanocristais de HAP. Os nanocompósitos co-precipitados mostraram formação de ligação química entre os nanocristais de HAP e as macromoléculas de GEL e têm uma estrutura auto-organizada junto com as fibrilas de GEL.

Num outro trabalho em 2003, Chang et al. concluíram à partir da preparação dos nanocompósitos HAP/GEL ligados cruzadamente por glutaraldeído (GA) que uma grande mudança conformacional foi induzida por uma pequena quantidade de GA adicionada e que a ligação cruzada induziu um auto-arranjo entre os “random coils” individuais do gel mineralizado.

2.7.2.6- NANOCOMPÓSITOS HAP/POLIAMIDA (PA)

M. Huang et al. (2003), sintetizaram os nanocompósitos HAP/PA66 numa razão 50/50 (p/p), sabendo-se que esta alta razão em peso é um fator essencial para manter a bioatividade e o módulo de elasticidade deste compósito. Os resultados de distribuição de tamanho de partícula (PSD), MET e DRX mostraram que as partículas de HAP na lama de HAP são cristais de nano apatita. À partir das análises de DRX e MEV está claramente compreendido que, devido ao papel da ligação de hidrogênio, a ligação química é formada entre a nano HAP e o PA66 no compósito obtido. Como resultado, a resistência da interface de ligação entre os nanocristais de HAP em forma de agulha e a matriz de PA66 é forte e quase nenhuma partícula de HAP apareceu na superfície de fratura do compósito. Logo, as propriedades mecânicas do compósito são significativamente melhoradas.

Os resultados indicaram que a morfologia, estrutura cristalina e cristalinidade dos nanocristais de HAP em forma de agulha após o tratamento hidrotérmico são similares a aqueles dos finos cristais de apatita nos tecidos ósseos do corpo. Os nanocristais de HAP com morfologia de agulha não são somente uma carga bioativa ideal, como também melhoram as propriedades mecânicas do compósito HAP/PA66.

W. Jie et al. (2003), usaram lama de nHAP e solução de poliamida para preparar um nanocompósito HAP/PA bioativo com alta quantidade de HAP, boa homogeneidade e ligação química interfacial. Quando comparado ao osso natural, o nanocompósito sintético pode ser considerado como sendo um biomaterial semelhante ao osso, a nHAP fornece a bioatividade para o compósito, formando uma ligação com o osso natural e o polímero é responsável pela resistência mecânica e dureza. Além disso, o nanocompósito sintético pode ser um dos melhores materiais bioativos para reparo ou substituição de osso que suporta uma quantidade considerável de carga.

2.7.2.7- NANOCOMPÓSITOS HAP/(PM(PMA-ALA))

H. Li et al. (2003), sintetizaram HAP em forma de agulha sob condições hidrotérmicas à partir de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ e $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$, onde o comprimento das agulhas foi controlado com a utilização de dispersante adequado da ordem de microns a cerca de 80 nm. A resistência mecânica do nanocompósito foi grandemente

melhorada, cerca de 2 a 3 vezes em relação a do PM(PMA-ala). Além disso, o nanocompósito apresentou uma menor perda de massa e uma melhor preservação do módulo de elasticidade. Essas novas propriedades indicam que a adição de HAP no polianidrido pode não somente melhorar a resistência mecânica como também melhorar a sustentação da integridade mecânica durante o processo de biodegradação, o que é benéfico para a aplicação na reabilitação de fratura óssea.

2.7.2.8- NANOCOMPÓSITOS D-HAP/PAA

S. –C. Liou et al. (2003), observaram que a formação in situ de nanocristais de d-HAP em forma de agulha com uma estrutura de compósito núcleo-casca foi sintetizada na presença de PAA de alto peso molecular. O desenvolvimento estrutural dos nanocompósitos foi manipulado em uma razão de aspecto de 4-10. Concluiu-se que é mais instrutivo utilizar os nanocristais de d-HAP em forma de agulha para formar nanocompósitos de diferentes formas para uma quantidade de aplicações biomédicas e de engenharia.

2.7.2.9- NANOCOMPÓSITOS HAP/CS

Q. Hu et al. (2004) concluíram que um nanocompósito com alta resistência mecânica foi preparado, e isso foi devido a estrutura em camadas confirmadas por MEV. As propriedades mecânicas iniciais de resistência a flexão e módulo de flexão do compósito foram 86 MPa e 3,4 GPa respectivamente, o que é 2-3 vezes mais forte do que a do PMMA e de cerâmicos ósseos. Nanopartículas de HAP identificadas por MET e DRX foram bem dispersas nos compósitos HAP/CS, o que também pode ser provado pela aparência transparente do compósito. A adição de HAP pode reduzir a absorção de água, que prolonga a preservação de propriedades mecânicas do compósito HAP/CS sob condição de mistura.

CAPÍTULO 3 – MATERIAIS E MÉTODOS EXPERIMENTAIS

3.1 – MATERIAIS

3.1.1 – PRODUTOS

Os polímeros, reagentes e solventes utilizados nesta dissertação foram os seguintes:

Polihidroxibutirato (PHB), PHB Industrial, após purificação (ver 3.2.1 (A));
Ácido Nítrico padrão analítico (PA), 65%, Reagen, como recebido;
Fosfato de Amônio Dibásico PA, Vetec, como recebido;
Hidróxido de Amônio PA, Vetec, como recebido;
Nitrato de Cálcio Tetrahidratado PA, Riedel-de Haën, como recebido;
Clorofórmio PA, Vetec, como recebido;
Etanol PA, 95%, Vetec, como recebido.

3.1.2 – EQUIPAMENTOS

Os equipamentos utilizados nesta dissertação foram os seguintes:

Analizador dinâmico-mecânico - DMA modelo 2980 TA Instruments (CCT-UENF);
Analizador termogravimétrico, SDT 2960, TA Instruments (CCT-UENF);
Autoclaves Parr, modelo 4842 (com copos de aço inox e Inconel) (COPPE-UFRJ);
Autosorb-1 Quantachrome (CCT-UENF);
Banho termostático, Fanem (CCT-UENF);
Bomba peristáltica Masterflex L/S standard drive, modelo 7519-20 (CCT-UENF);
Calorímetro exploratório diferencial - DSC modelo 2010TA Instruments (CCT-UENF);
Centrífuga Damon/ IEC Division, IEC B-20 A (EQ-UFRJ);
Controlador de agitação Janke & Kunkel, Ika-Werk, RW 20 (COPPE-UFRJ);
Difratômetro de pó HZG-4 de Freiburger Prazisiosmechanik (CBPF);

Espectrofotômetro de infra-vermelho com transformada de fourier, IR Prestige-21 Shimadzu (CCT-UENF);

Espectrômetro de emissão atômica com fonte de plasma, ICP-AES, Varian, Liberty- Series II (CBB-UENF);

Estufas: Estufa de cultura, Fanen, modelo 002 CB (CCT-UENF);

Precision Scientific Co. (EQ-UFRJ);

Manta de aquecimento, Fisatom (CCT-UENF);

Máquina universal de ensaios Instron, modelo 5582 (com 100 kN de capacidade) (CCT-UENF);

Medidores de pH: Digimed, medidor de pH DMPH-2 (COPPE-UFRJ);

Micronal, PHmetro B374 (CCT-UENF);

Microscópio eletrônico de transmissão, JEM-2000 FX (COPPE-UFRJ);

Microscópio eletrônico de varredura Jeol, modelo JSM-6460 LV (COPPE-UFRJ);

Rotaevaporador, Fisatom (CCT-UENF);

Spray Drier, Lab-plant, SD-04 (CCT-UENF);

Ultra-som Thornton T14 (CCT-UENF);

Ultra-turrax t25 (CCT-UENF).

3.2 – METODOLOGIA EXPERIMENTAL

3.2.1 – POLIHIDROXIBUTIRATO (PHB)

A) Purificação do PHB

O PHB, comercializado na forma de pellets, apresentou os pesos moleculares médios viscosimétrico, numérico e ponderal, respectivamente, $M_v = 887\,000$ g/mol, $M_n = 4\,957$ Da, $M_w = 33\,330$ Da e dispersão de 6,72. Ele foi purificado de acordo com o seguinte procedimento:

- i) O PHB foi adicionado em CHCl_3 e essa mistura foi deixada em refluxo;
- ii) Após a dissolução, o PHB na solução formada foi precipitado em etanol seguindo a proporção 1(solução):10(etanol), sendo essa mistura mantida por agitação até obter-se uma solução translúcida, concomitantemente com a precipitação do PHB;

iii) Deixou-se decantar a solução e depois sifonou-se o sobrenadante de CHCl_3 e etanol;

iv) Secou-se o precipitado de PHB+etanol em estufa a vácuo.

B) Dissolução do PHB em clorofórmio

O PHB foi purificado (como em 3.2.1 (A)) antes da dissolução em Clorofórmio. 1%(p/p) de PHB purificado foi adicionado a 99%(p/p) de Clorofórmio, sendo que essa mistura foi colocada numa manta de aquecimento e mantida sob refluxo até a completa dissolução do PHB. Adicionalmente um aparelho de ultra-som foi utilizado para auxiliar a dissolução da fração cristalina do PHB.

3.2.2 – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAP)

3.2.2.1- Obtenção da HAP

Os nanocristais de hidroxiapatita utilizados na preparação dos compósitos foram sintetizados pelo método de precipitação via úmida, utilizando-se a rota em que se reage nitrato de cálcio com fosfato de amônio dibásico. Essa rota foi escolhida com o intuito de se obter um precipitado de HAP que, após tratado hidrotêrmicamente, gera nanocristais de HAP em lama, com morfologia, composição e estrutura cristalina semelhantes a apatita presente nos ossos. A rota segue a seguinte reação:



Os procedimentos de obtenção das HAP's utilizados nessa dissertação foram baseados principalmente nos métodos de obtenção descritos por Deng et al. (2001), Zhang e Gonsalves (1997), Yubao et al. (1994), Andrade (1994) e Jarcho et al. (1976). Dois tipos diferentes de HAP, denominadas HAP1 e HAP2, foram produzidas através de diferentes condições de síntese e tratamento hidrotérmico. A HAP1 antes do tratamento hidrotérmico foi denominada HAP1aTH e após o tratamento hidrotérmico HAP1dTH. Para a HAP2 somente foram apresentados resultados após o tratamento hidrotérmico, sendo denominada HAP2dTH. Em alguns casos uma letra colocada entre parênteses, especificando uma determinada amostra, foi utilizada no final da denominação da HAP.

Para a obtenção da HAP1 foi seguido o seguinte procedimento:

- i) 100mL de uma solução 0,5 M de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ foi preparada em água milli-Q . O pH da solução foi ajustado para 10 -11 usando NH_4OH , e essa solução foi colocada em um reator de 2 bocas. 100 mL de uma solução 0,3 M de $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, também preparada com água milli-Q, pH=10 -11, ajustado por NH_4OH , foi então gotejada lentamente (fluxo de 125 mL/h) com o auxílio de uma bomba peristáltica, na solução de Nitrato de Cálcio acima, essa mantida por agitação mecânica constante. A razão molar Ca/P dos reagentes foi 1,67. A reação ocorreu em ar atmosférico e a temperatura ambiente. O tempo de formação do precipitado levou em torno de uma hora, sendo que o mesmo e a solução mãe foram mantidos por agitação por mais 1-2 horas e ao final uma lama de HAP foi então obtida;
- ii) A lama de HAP obtida em (i) foi centrifugada duas vezes com água milli-Q utilizando-se uma velocidade de 10000 rpm por 15 minutos;
- iii) O precipitado centrifugado foi então posto num copo de Teflon com água milli-Q numa razão sólido-solução de 2%, e colocado em autoclave a 140°C e 3 atm por 2 horas para tratamento hidrotérmico;
- iv) Após tratamento hidrotérmico, a lama foi guardada em frasco fechado até sua utilização;
- v) A secagem da lama, quando ocorreu, foi feita em estufa a 60°C por 24 horas e um pó branco foi obtido.

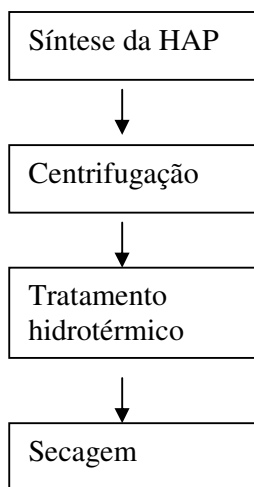
Na obtenção da HAP2 algumas modificações, apresentadas na tabela 3.1, foram realizadas em relação ao procedimento de obtenção da HAP1.

Tabela 3.1 – Modificações no procedimento de obtenção da HAP1 para obter-se a HAP2.

Síntese			Tratamento hidrotérmico	
Temperatura da reação (°C)	Fluxo (mL/h)	Tempo de reação (min)	Volume de líquido no copo (mL)	Pressão (atm)
80	260	15	115	~1,5

Além das modificações mostradas na tabela 3.1, houve um período de envelhecimento de ~16 horas do término da síntese até o tratamento hidrotérmico da HAP2 e uma alteração na sequência de etapas para a obtenção da HAP2 em relação a HAP1, sendo estas duas sequências mostradas na figura 3.1.

(1) HAP1



(2) HAP2

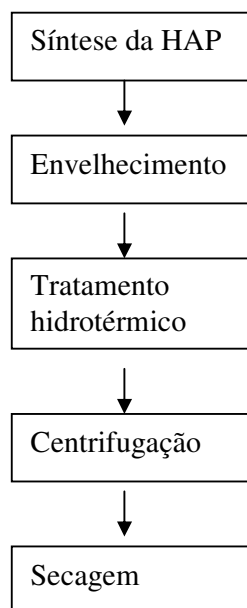


Figura 3.1- Etapas da obtenção da HAP1 e HAP2.

A figura 3.2 mostra um esquema da aparelhagem que foi utilizada na síntese da HAP. Fotos da autoclave (com copo de Inconel) usada no tratamento hidrotérmico da HAP podem ser vistas na figura 3.3.

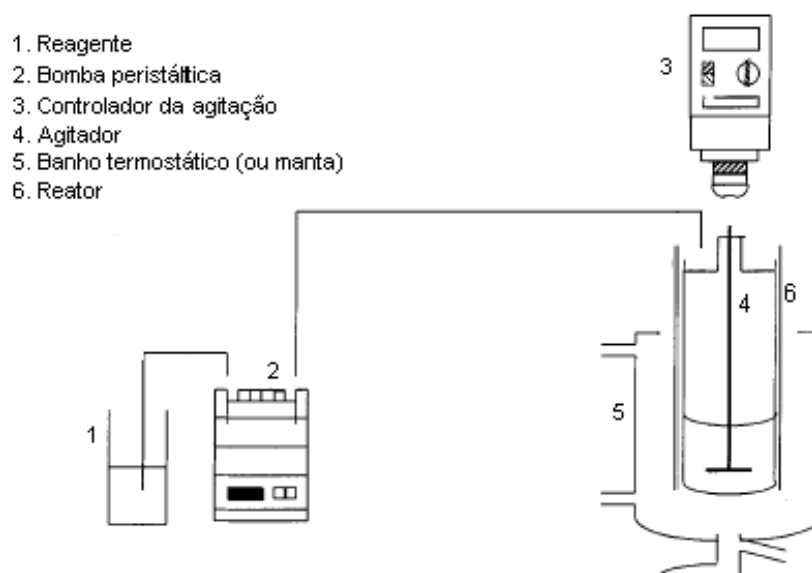


Figura 3.2 – Aparelhagem utilizada na síntese da HAP.



Figura 3.3 – Autoclave utilizada no tratamento hidrotérmico da HAP.

3.2.2.2- CARACTERIZAÇÃO DA HAP

A) Difração de raios-X (DRX)

Difratogramas de raios-X foram realizados para identificar os nanocristais obtidos, sendo os mesmos comparados com dados contidos em fichas JCPDS. Também foram realizadas medidas para determinação do tamanho do cristalito e do grau de cristalinidade das apatitas obtidas. Os difratogramas de raios-X foram obtidos utilizando-se radiação $\text{CuK}\alpha$ em 40 mA, 40 kV. As varreduras foram realizadas com valores de 2θ entre 10° e 100° e passo de 0,05 graus/s.

Foi realizada a medição do tamanho do cristalito à partir do plano [002], diretamente dos difratogramas das HAP's obtidas, utilizando-se a equação de Scherrer:

$$L = K \cdot \lambda / \beta \cdot \cos\theta, \text{ onde:}$$

L: Tamanho médio do cristalito;

K: Constante relacionada a forma do cristalito. Foi utilizado o valor de 0,9;

λ : Comprimento de onda da radiação de raio-X. Foi utilizado o valor de 1,5418 Å;

β : Largura do pico a meia altura (rad);

θ : Posição do pico ($2\theta/2$).

Para análise de cristalinidade foi utilizada a seguinte equação:

$$X_c = 1 - (V_{112/300} / I_{300}), \text{ onde:}$$

X_c : Grau de cristalinidade;

$V_{112/300}$: Intensidade do vale entre as reflexões (112) e (300);

I_{300} : Intensidade da reflexão (300).

B) Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

Microscopia eletrônica de transmissão foi utilizada para se determinar o tamanho e a morfologia dos cristais das HAP's obtidas. As amostras foram preparadas por gotejamento de uma gota de suspensão 0,1% (p/p) HAP/etanol, onde o etanol foi utilizado como dispersante, em uma grade de cobre para MET de 300 mesh coberta com Formvar e filme de carbono deixando-se evaporar o solvente completamente a temperatura ambiente.

C) Área superficial específica

A área superficial específica das partículas de HAP foi calculada utilizando-se o método BET à partir de isotermas de adsorção de nitrogênio. As seguintes condições foram utilizadas:

Massa da amostra: 150-300 mg

Temperatura de saída do gás (N_2): 100°C

Tempo de saída do gás: 1h

Tempo de análise: 5-6h

D) Espectrofotometria de infra-vermelho (FTIR)

FTIR foi utilizado para se analisar a estrutura e composição das HAP's obtidas. As amostras foram preparadas pelo método do KBr, onde utilizou-se 200 mg de KBr com cerca de 1-2 mg de HAP. Os espectros de FTIR foram obtidos sobre uma faixa de 4000-400 cm^{-1} , utilizando-se 60 scans com uma resolução de 0,5 cm^{-1} .

E) Espectrometria de emissão atômica com plasma indutivamente acoplado (ICP/AES)

Utilizada para se determinar as quantidades de cálcio e fósforo presentes nas HAP's obtidas, sendo as quais necessárias para a determinação da razão molar Ca/P.

O procedimento utilizado para a abertura das amostras foi o seguinte:

Solução 1:

- i) Pesou-se 0,05 g de amostra;
- ii) Solubilizou-se com 2 mL de solução de HNO_3 5%;
- iii) Completou-se a solução até 50 mL com água milli-Q.

Solução 2:

- i) Retirou-se uma alíquota de 0,05 mL do balão de 50 mL da solução 1;
- ii) Completou-se a solução até 10 mL com HNO_3 0,25% (com essa solução foi realizada a leitura).

F) Análise termogravimétrica (TGA)

Foi realizada para se analisar a estrutura e a estabilidade térmica a partir das perdas de massa das HAP's obtidas. Utilizou-se 17-18mg do pó com taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ em atmosfera de ar, da temperatura ambiente até a temperatura de 1400°C .

3.2.2.3- RESUMO DAS ATIVIDADES DE OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA HAP

Um fluxograma contendo as atividades de obtenção e caracterização da HAP é mostrado na figura 3.4.

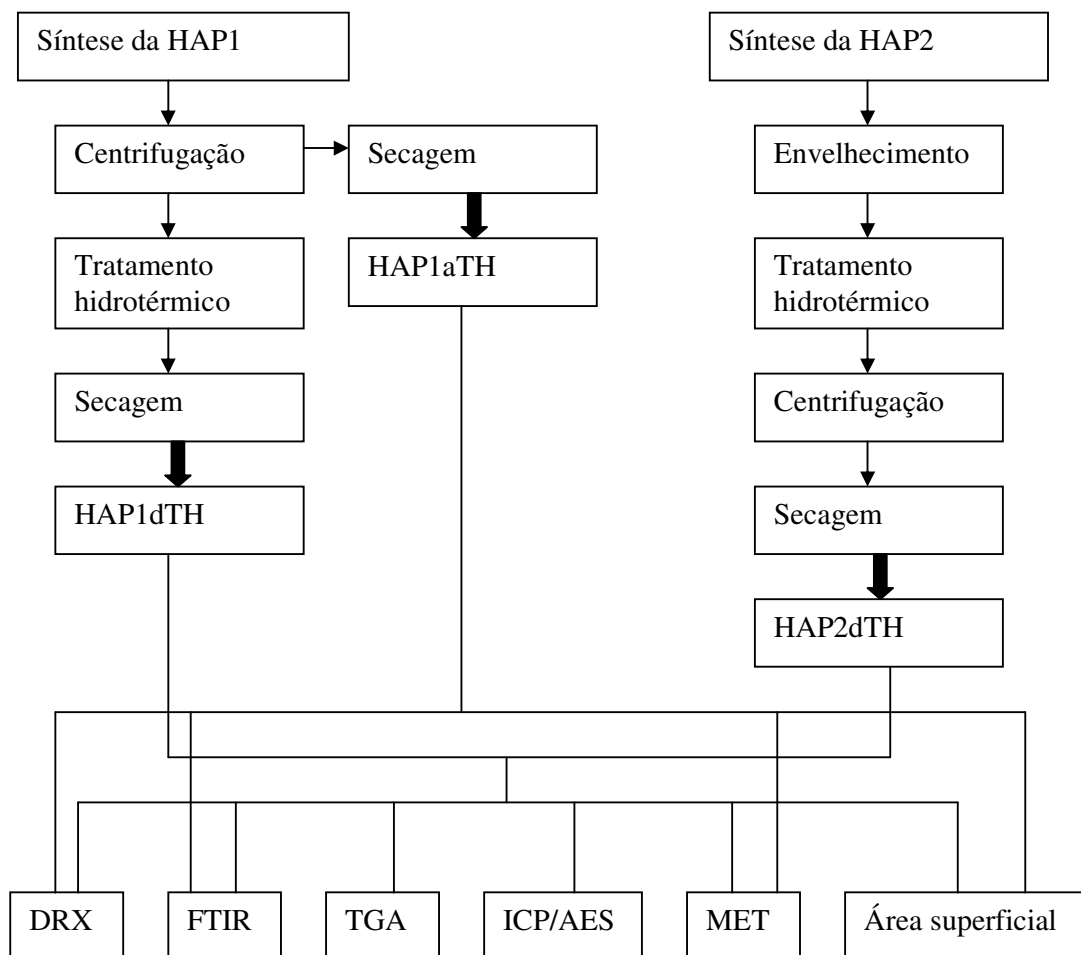


Figura 3.4 – Fluxograma de obtenção e caracterização da HAP.

3.2.3 – FORMULAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP

3.2.3.1- FORMULAÇÃO DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP

Os compósitos formulados foram divididos em dois grupos de acordo com a cristalinidade da HAP utilizada na síntese (antes ou depois do TH, o que indica baixa ou alta cristalinidade da mesma, respectivamente) e interesse de estudo.

A dispersão da lama de nano-HAP é melhor do que a dos pós secos (ou sinterizados, os quais não foram obtidos nessa dissertação), que geralmente ocasionam rígidos agregados entre as partículas no processo de secagem (e sinterização), as dimensões são menores e a área superficial específica, ou seja, a energia superficial, é maior para esta lama de nano-HAP.

Para o primeiro grupo utilizou-se no processo de preparação dos compósitos uma proporção PHB/nano-HAP variável, em que foram empregados tanto a lama de HAP quanto o pó seco da HAP após o tratamento hidrotérmico (se o compósito tiver sido formulado com a lama de HAP, isso será indicado no nome do mesmo), no sentido de compararmos a interação entre as fases e o comportamento mecânico desses compósitos. No segundo grupo produziu-se o compósito PHB/HAP 30/70 (em massa), onde foi utilizado HAP sem TH (baixa cristalinidade). Esse compósito sofreu posterior TH visando observar-se mudanças na cristalinidade do mesmo, além de mudanças na interação entre as fases.

Foi utilizada uma mesma metodologia, por suspensão, na obtenção dos compósitos PHB/nano-HAP. Para a proporção PHB/HAP 30/70 (em peso) teve-se:

Em becher contendo 2,8 g de HAP com 420 mL de água mili-Q sob agitação com ultra-turrax a 9500 rpm foi gotejada uma solução contendo 1,2 g de PHB com 140 mL de clorofórmio (solubilizada anteriormente com o auxílio de refluxo e ultra-som). Ao final da adição deixou-se o material decantar, retirou-se o sobrenadante com o auxílio de pipeta e o decantado foi colocado para secar em estufa a 70°C por 16 horas.

Obs.: Por vezes, foram utilizadas maiores ou menores quantidades de PHB e HAP em relação as citadas acima. Em todos os casos foi mantida a mesma proporção para os volumes de clorofórmio e água mili-Q utilizados em cada variação.

3.2.3.2- CARACTERIZAÇÃO DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP

Os compósitos PHB/nano-HAP foram caracterizados utilizando-se as técnicas colocadas a seguir.

A) Análise termogravimétrica (TGA)

Foi utilizada para se determinar a composição efetiva e a estabilidade térmica dos compósitos. As condições de operação utilizadas foram as seguintes:

Massa inicial da amostra: 17-26 mg

Faixa de temperatura: 25 - 1400°C

Taxa de aquecimento: 10°C/min

B) Difração de raios-X (DRX)

DRX foi utilizada para se analisar a composição de fase e a cristalinidade dos compósitos obtidos utilizando-se HAP depois do TH e dos compósitos realizados com HAP antes do TH, sofrendo posterior TH da HAP contida nesses compósitos.

C) Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Utilizada para se estudar o comportamento de fusão e cristalização dos compósitos, porosidade dos mesmos e cristalinidade da matriz polimérica. As condições de operação utilizadas foram as seguintes:

Massa inicial da amostra: 10-11 mg

2 ciclos térmicos de 20°C/min até 190°C.

O grau de cristalinidade (X_c) do PHB nos compósitos foi calculado à partir da seguinte fórmula:

$$X_c = \Delta H_m / \Delta H_m^0$$

onde ΔH_m foi a entalpia de fusão medida e ΔH_m^0 foi a entalpia de fusão para o polímero 100% cristalino. Para o PHB totalmente cristalino foi determinado ΔH_m^0

como sendo 122 J/g, à partir do valor de cristalinidade do PHB encontrado através do seu difratograma de raios-X.

A porosidade (ϵ) foi dada por:

$$\epsilon = (D_S - D_m)/D_S$$

sendo D_m a densidade da matriz, que foi calculada por massa e volume. À partir da altura e diâmetro de um cilindro da matriz foi obtido o volume do mesmo e sua massa por balança analítica. D_S é a densidade do esqueleto calculada por:

$$D_S = 1 / \{[(1-X_h)/D_p] + [X_h/D_h]\}$$

onde D_h é a densidade do pó da nanoHAP com o valor de 3,16 g/cm³. X_h é a porcentagem da nanoHAP no compósito e D_p é a densidade do polímero, calculada de acordo com a seguinte equação:

$$D_p = 1 / \{[(1-X_c)/D_a] + [X_c/D_c]\}$$

em que X_c é o grau de cristalinidade do polímero. A densidade do PHB amorfo (D_a) é 1,177 g/cm³ e a densidade do PHB 100% cristalino (D_c) é 1,260 g/cm³.

D) Espectrofotometria de infra-vermelho (FTIR)

Para analisar interações entre as fases dos compósitos obtidos.

3.2.3.3- AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANÁLISE DA REGIÃO DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP

A) Ensaio de compressão diametral

Os ensaios de compressão diametral foram realizados em uma máquina universal de ensaios Instron, com velocidade de 1 mm/min. Os corpos de prova cilíndricos (compósitos do primeiro grupo) apresentaram as seguintes dimensões (medidas com paquímetro):

Espessura: 2-4 mm;

Diâmetro: 13 mm.

A tensão de ruptura à tração (σ_d) (em MPa) para a compressão diametral das amostras foi determinada à partir da equação:

$$\sigma_d = 2P/\pi bw$$

onde,

P : carga aplicada (em N);

b : diâmetro da amostra (mm);

w : espessura da amostra (mm).

A carga de compressão máxima na fratura foi obtida à partir do registro das curvas de carga-deflexão.

O módulo de elasticidade à compressão diametral (E^*) foi obtido à partir da inclinação da porção elástica linear inicial (da curva carga-deflexão) utilizando-se a seguinte expressão:

$$E^* = \Delta P / \Delta \epsilon = \tan \alpha$$

Onde,

ΔP : Variação da carga aplicada no intervalo considerado;

$\Delta \epsilon$: Variação da deflexão no intervalo considerado.

B) Análise da região de fratura dos compósitos PHB/nano-HAP por microscopia eletrônica de varredura (MEV)

MEV foi utilizada para se observar a composição de fases na região de fratura dos testes de compressão diametral dos compósitos e do PHB puro. As amostras foram fixadas ao porta-amostras com fita de carbono e cobertas com uma fina camada de ouro.

C) Análise Dinâmico Mecânica (DMA)

DMA foi uma das técnicas utilizadas para se avaliar o comportamento mecânico dos compósitos (parte do primeiro grupo).

Os corpos de prova utilizados nos testes de flexão de dois pontos no DMA tiveram aproximadamente as seguintes dimensões: 17,5 mm X 15,0 mm X 3,0 mm. Esses corpos de prova foram preparados de acordo com o seguinte procedimento:

(i) Pó seco do compósito (ou PHB puro) foi colocado em pequenas quantidades e prensado num molde metálico várias vezes a temperatura ambiente com carga de 2 ton (pressão de 40 MPa) até um total preenchimento desse molde pelo material prensado;

(ii) Prensou-se o molde com o material utilizando-se a mesma carga aplicada em (i) e temperatura de 140°C por 30 min para o PHB puro por 3 horas (3 aquecimentos de uma hora intercalados) para o compósito PHB/HAP 70/30 (em massa), deixando-se o molde resfriar a temperatura ambiente, quando o corpo de prova foi retirado do mesmo.

Os testes foram realizados nas seguintes condições:

Frequência: 1 Hz (frequência fisiológica)

4°C/min até 190°C.

3.2.3.4- RESUMO DAS ATIVIDADES DE FORMULAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP

Um fluxograma mostrando as etapas de obtenção e caracterização dos compósitos PHB/nano-HAP pode ser observado na figura 3.4.

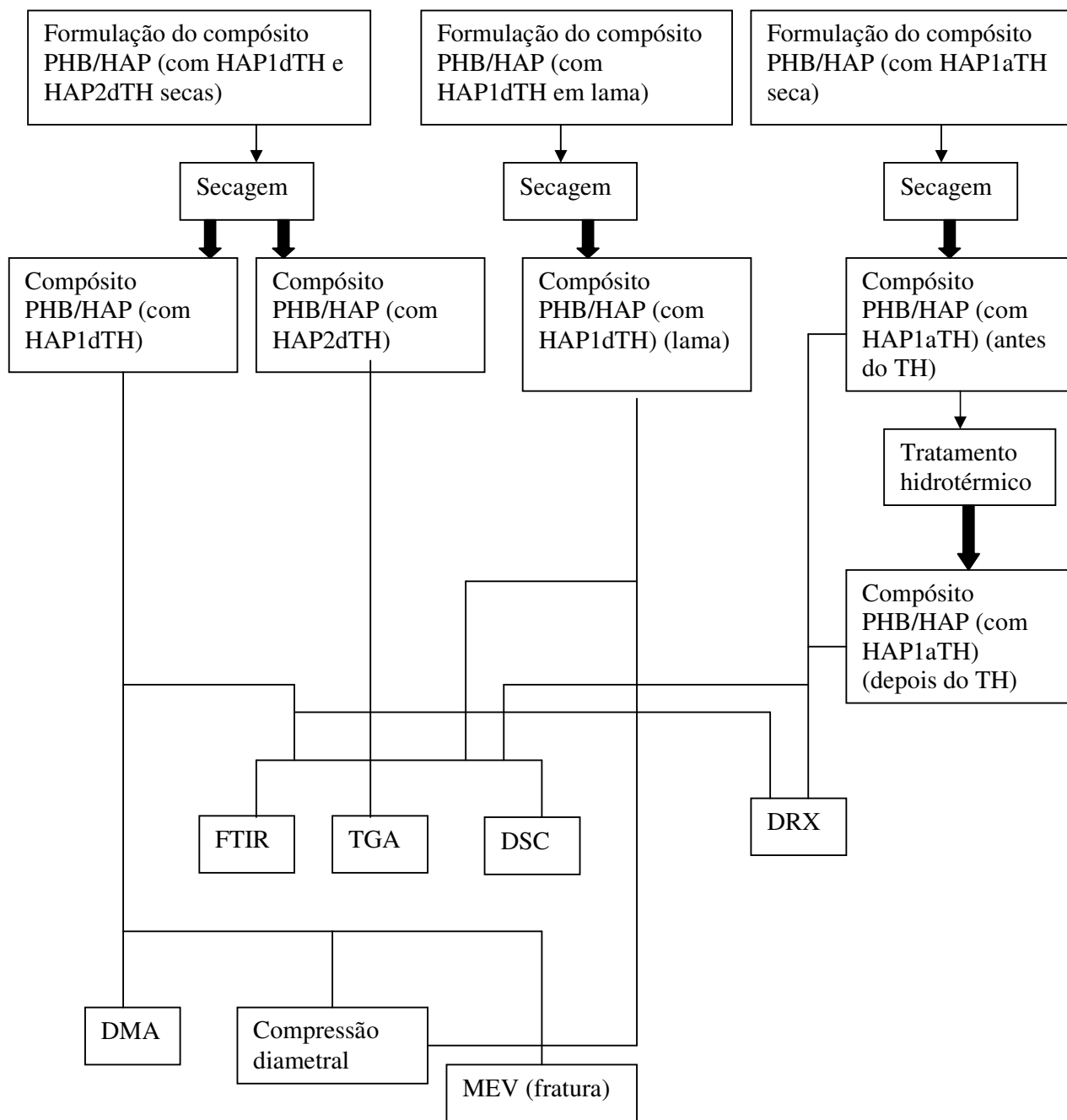


Figura 3.5 - Fluxograma de obtenção e caracterização dos compósitos PHB/nano-HAP.

CAPÍTULO 4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1- CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA (HAP)

Os resultados da caracterização das HAP's obtidas são apresentados a seguir.

4.1.1- IDENTIFICAÇÃO DAS FASES CRISTALINAS E DETERMINAÇÃO DE TAMANHO DE CRISTALITO E CRISTALINIDADE

Difratogramas de raios-X do pó para as HAP's sintetizadas são mostrados na figura 4.1, onde se observa concordância com os picos característicos da HAP descritos na ficha JCPDS 86-0740 para a HAP. As intensidades relativas para uma HAP reportada na literatura são mostradas na figura 4.2.

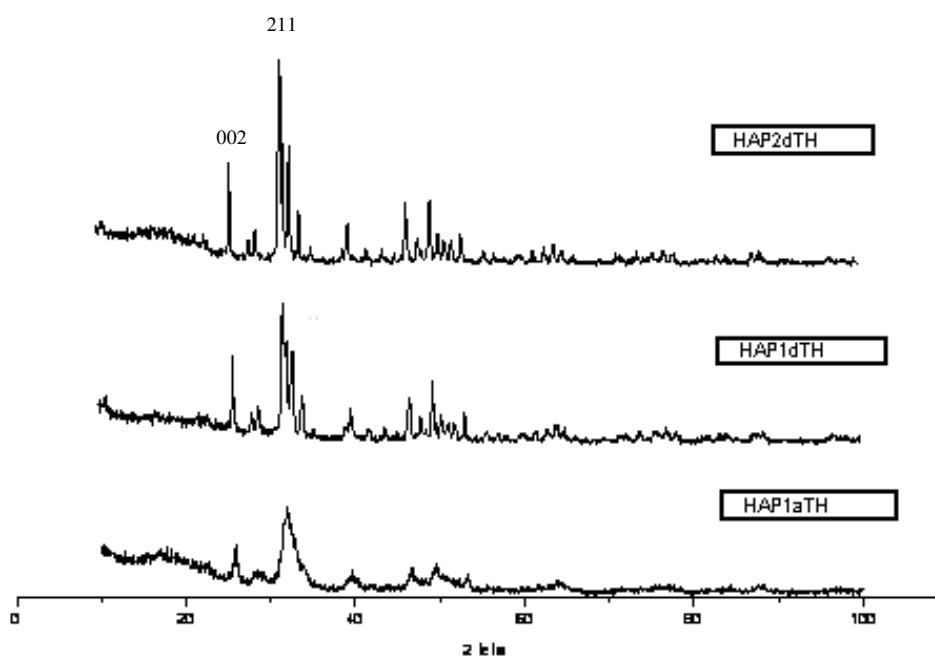


Figura 4.1- Difratogramas de raios-X obtidos para as HAP's sintetizadas.

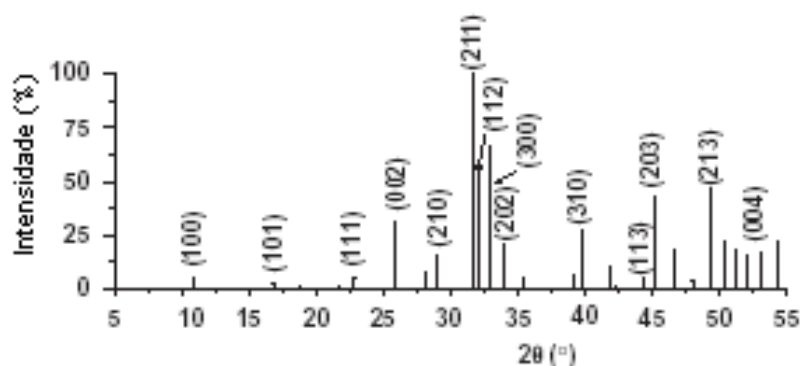


Figura 4.2- Intensidades relativas dos picos característicos da HAP (Rusu et al., 2005).

Não foram encontrados picos referentes a outras fases de fosfatos de cálcio. À partir dos difratogramas, através da medição da largura a meia altura do pico característico [002] da HAP, a dimensão do cristalito ao longo do eixo c (figura 4.3) foi calculada utilizando-se a equação de Scherrer. Para propósitos quantitativos o pico [002] ($2\theta=26^\circ$) é recomendado em virtude do mesmo ser bem resolvido e não apresentar nenhuma interferência (Rusu et al., 2005). Também se determinou o grau de cristalinidade das HAP's obtidas. Esses resultados podem ser observados na tabela 4.1.

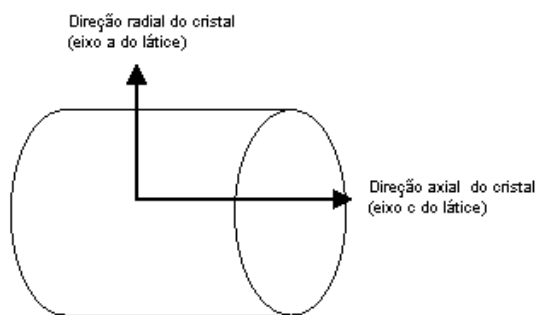


Figura 4.3- Eixos do cristal da HAP em forma de bastão.

Tabela 4.1- Tamanhos dos cristalitos e graus de cristalinidade obtidos para as HAP's sintetizadas.

Amostras	Tamanho de cristalito (nm)	Grau de cristalinidade (%)
HAP1aTH	22	30
HAP1dTH	37	71
HAP2dTH	43	91

Tem-se que a HAP1aTH (figura 4.1), obtida a 25°C antes do TH apresenta uma estrutura apatítica pobremente cristalizada. Após o tratamento hidrotérmico (HAP1dTH) nota-se uma estrutura apatítica com uma maior cristalinidade e maior tamanho de cristalito, o que pode ser explicado pela reação de hidrólise do fosfato de cálcio amorfo durante esse tratamento.

Entre as amostras que sofreram tratamento hidrotérmico nota-se um alto grau de cristalinidade e maior tamanho de cristalito para a amostra de HAP2dTH em relação a amostra de HAP1dTH.

De acordo com Lorenzo (2000), que produziu HAP's partindo de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e NH_4OH , com diferentes temperaturas de reação (25-90°C), um maior tamanho de cristalito é obtido com uma maior temperatura de reação. Sendo assim, antes do tratamento hidrotérmico uma maior cristalinidade e tamanho de cristalito foi obtido para a HAP2 em relação a HAP1. Essa relação permaneceu após o mesmo.

4.1.2- CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E DETERMINAÇÃO DE TAMANHO DE CRISTAL

As fotos de MET (figuras 4.4 a 4.8) para amostras de HAP sintetizadas foram realizadas com o objetivo de se observar a morfologia e se determinar as dimensões dos cristais.

Tabela 4.2- Medidas das dimensões dos cristais para as HAP's sintetizadas.

Amostras	Comprimento médio do cristal (nm)	Largura média do cristal (nm)	Variação do comprimento (nm)	Variação da largura (nm)
HAP1aTH(B)	23	12	11 - 39	11 – 22
HAP1dTH(B)	53	22	28 - 78	17 – 33
HAP1dTH(A)	47	25	21 - 79	16 – 32
HAP2dTH	62	33	40 - 80	20 - 40

A partir das dimensões dos cristais observados nas fotos obtidas das HAP's sintetizadas (tabela 4.2), pode-se verificar para a HAP1(B) que antes do tratamento hidrotérmico (HAP1aTH(B)) foram obtidas pequenas partículas irregulares com um comprimento médio de 23 nm. Após o tratamento hidrotérmico (HAP1dTH(B)) essas transformaram-se em cristais apresentando forma de bastão uniformes com um comprimento médio de 53 nm e largura média de 22 nm, sendo essa última similar ao comprimento médio das partículas iniciais.

A comparação entre as HAP1dTH e HAP2dTH mostra um maior comprimento e largura média para a última, o que corrobora com os resultados obtidos para o tamanho de cristalito calculado à partir dos difratogramas de raios-X e com a área superficial específica.

Nota-se que a partir da observação do difratograma da HAP1aTH que o pico característico (002) é o mais bem definido entre os demais. Isso mostra que mesmo o precipitado de baixa cristalinidade obtido tem uma tendência para o crescimento preferencial (ou cristalização) ao longo da direção (002) do eixo c. Em virtude dessa tendência, as pequenas partículas irregulares da HAP1aTH(B) são capazes de crescer continuamente ao longo da direção do eixo c (002) nos nanocristais em forma de bastão da HAP1dTH (amostras A e B).

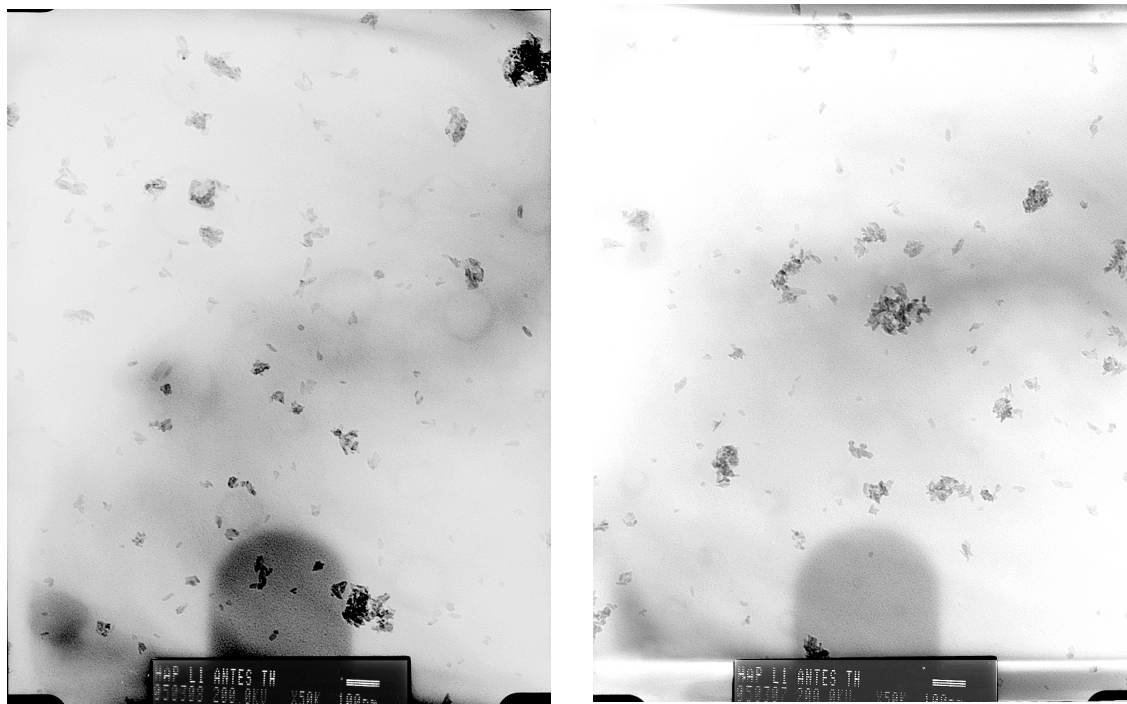


Figura 4.4- Fotos de MET da HAP1aTH(B) (aumento de 50000 vezes).

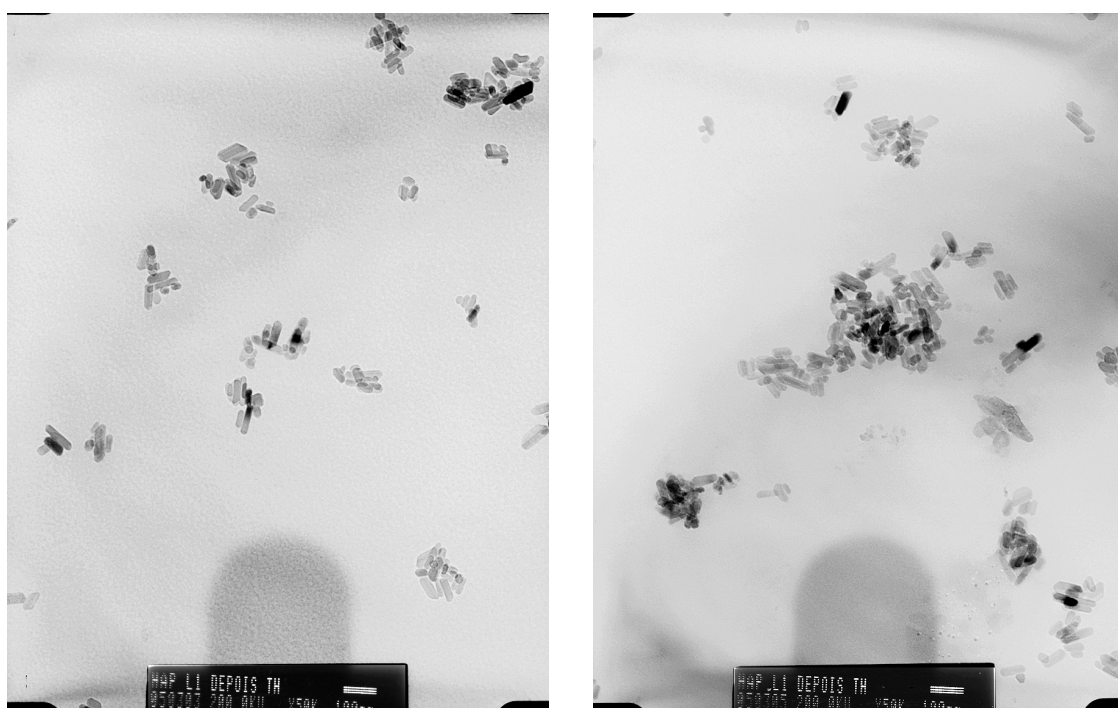


Figura 4.5- Fotos de MET da HAP1dTH(B) (aumento de 50000 vezes).

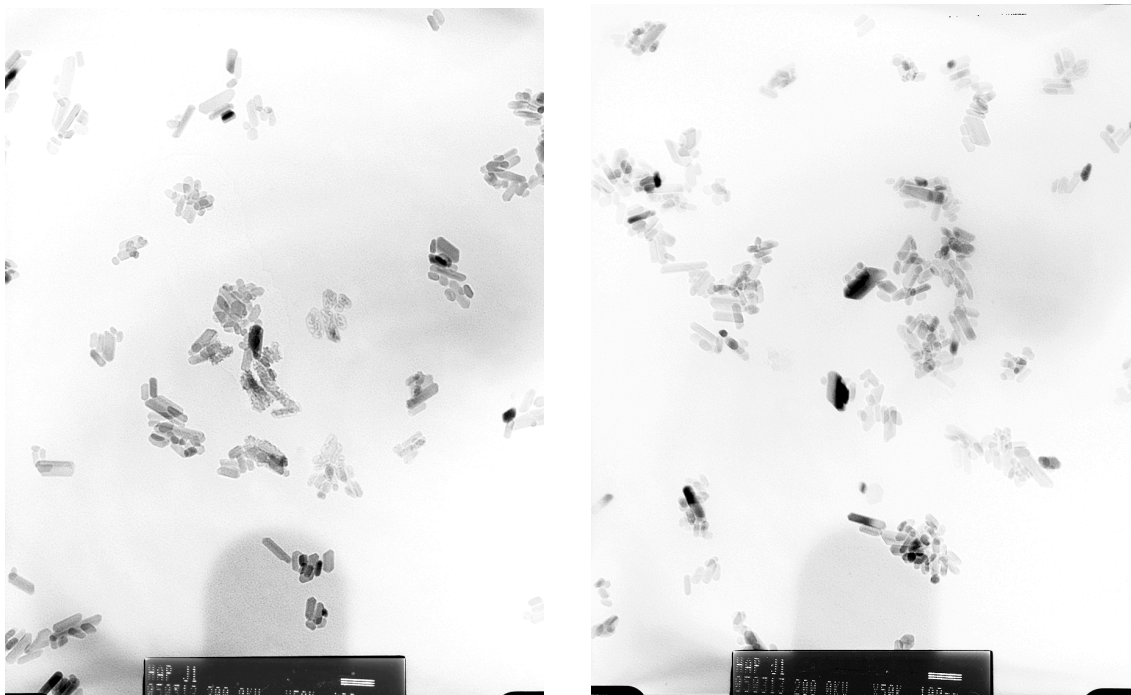


Figura 4.6- Fotos de MET da HAP1dTH(A) (aumento de 50000 vezes).

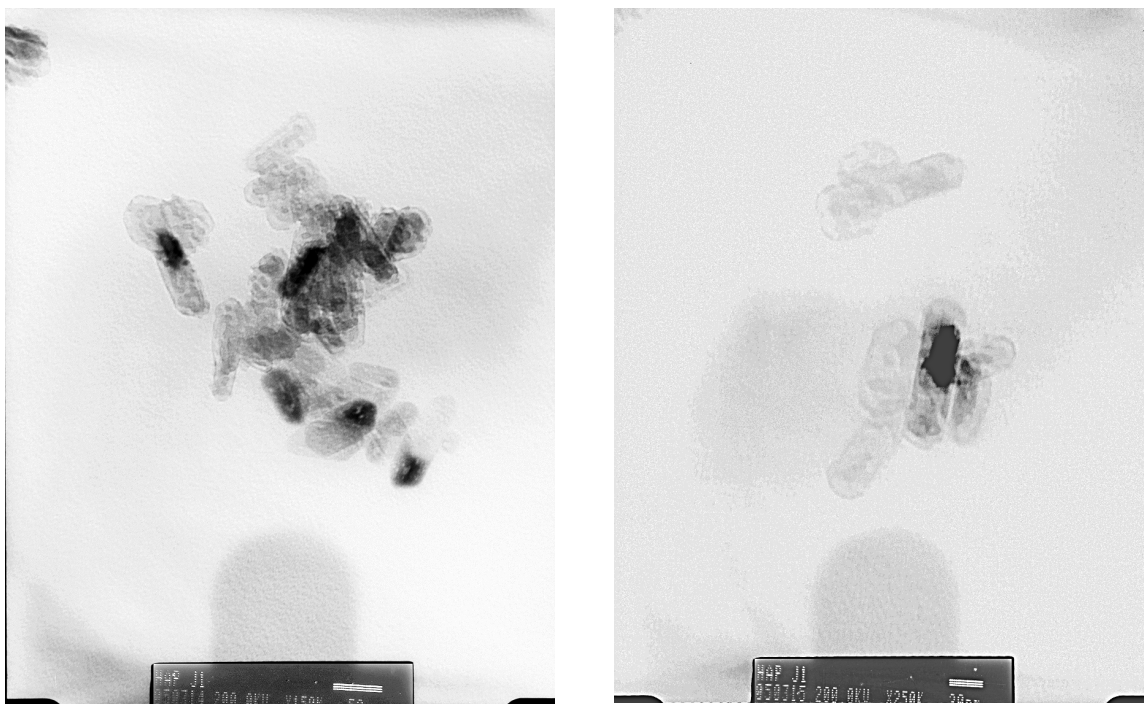


Figura 4.7- Fotos de MET da HAP1dTH(A) com aumento de 150000 e 250000 vezes (respectivamente).

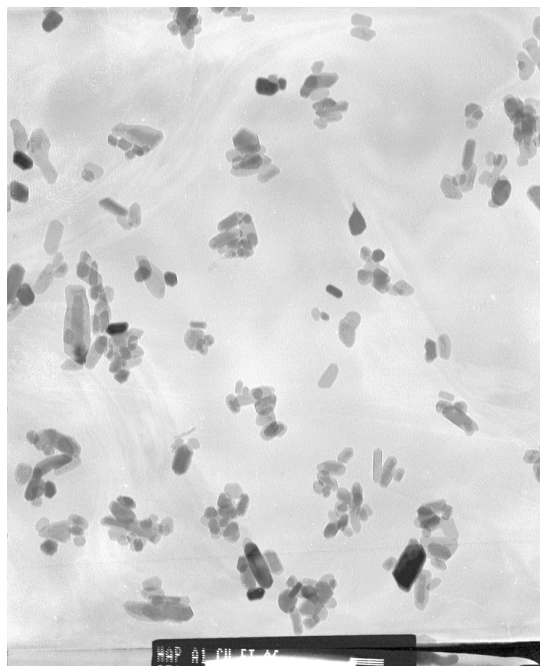


Figura 4.8- Foto de MET da HAP2dTH (aumento de 50000 vezes).

4.1.3- DETERMINAÇÃO DA ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA

Foram determinadas as áreas superficiais específicas das HAP's sintetizadas, antes e após o tratamento hidrotérmico, através de fisiossorção. Os resultados obtidos para as áreas superficiais específicas, pelo método BET, estão listados na tabela 4.3.

Tabela 4.3- Medidas de área superficial específica (método BET) obtidas para as HAP's sintetizadas.

Amostras	Área superficial específica (m ² /g)
HAP1aTH	86,3
HAP1dTH	62,3
HAP2dTH	41,5

Para a HAP1 temos que a área superficial específica antes do tratamento hidrotérmico se apresenta maior do que depois dele em virtude de termos um menor tamanho de partícula antes do tratamento hidrotérmico, conforme esperado.

Comparando a HAP1dTH com a HAP2dTH temos que o aumento da temperatura da reação aumenta o tamanho de partícula e conseqüentemente diminui a área superficial específica.

Lorenzo (2000) (citado em 4.1.1) reportou que a área superficial específica das HAP's por ele produzidas diminuiu quando a temperatura de reação foi aumentada. Sabendo-se que a área superficial específica está relacionada ao tamanho de partícula pode-se concluir que a temperatura da reação não tem somente influência no tamanho e forma do cristal como também no tamanho de partícula.

4.1.4- DETERMINAÇÃO DA ESTRUTURA E COMPOSIÇÃO QUÍMICA

Os espectros de FTIR obtidos para as HAP's após o tratamento hidrotérmico estão representados na figura 4.9.

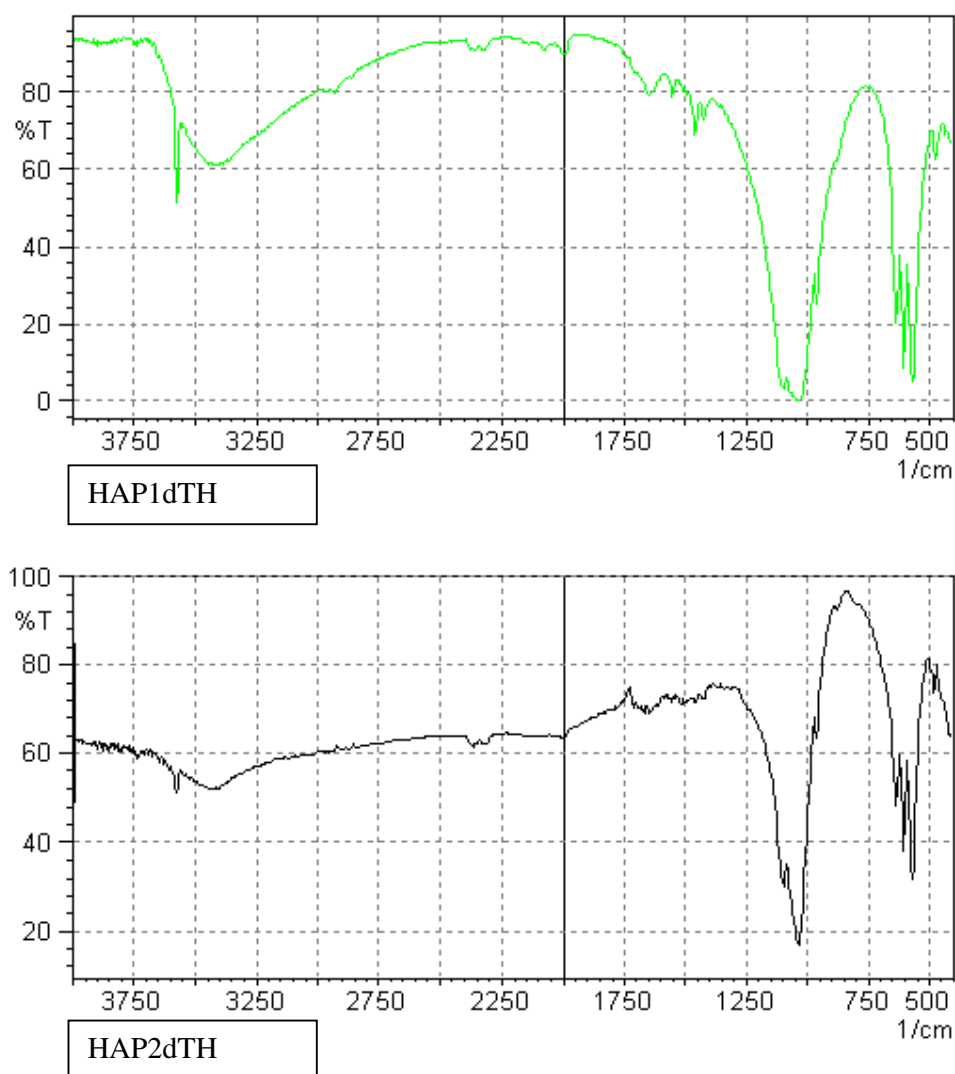


Figura 4.9- Espectros de FTIR das HAP1dTH e HAP2dTH.

Para o espectro da HAP1dTH tem-se que os picos em 474, 564, 606, 962, 1037 e 1100 cm^{-1} são devidos aos agrupamentos atômicos associados ao PO_4^{3-} . A banda em 643 cm^{-1} diz respeito ao movimento de vibração relacionado aos íons OH^- e a banda em 3571 cm^{-1} é devido as vibrações de estiramento desses íons. A presença de água adsorvida é indicada pelas bandas em 1652 e 3430 cm^{-1} . A banda em 880 cm^{-1} é característica do estiramento da ligação P-OH, devido a presença do grupo HPO_4^{2-} , o que sugere a formação de uma HAP não estequiométrica. A

presença dessa banda a 880 cm^{-1} , juntamente com as bandas em 1424 e 1457 cm^{-1} , são atribuídas ao íon carbonato substituindo o sítio do grupo PO_4^{3-} , o que é característico da HAP carbonatada do tipo B. Adicionalmente, a banda em 1508 cm^{-1} pode ser atribuída a vibração C-O no grupo CO_3^{2-} . Tem-se que a banda em 1555 cm^{-1} é causada pela substituição do íon CO_3^{2-} no sítio do OH^- , o que caracteriza uma HAP carbonatada do tipo A. Pode-se também observar que a banda em 1457 cm^{-1} é mais forte do que a 1424 cm^{-1} , o que é devido a contribuição da HAP carbonatada do tipo A. Conclui-se que no caso dessa HAP, a mesma sofreu a inclusão de carbonato em sua estrutura tanto no sítio dos íons PO_4^{3-} quanto no dos OH^- , juntamente com uma possível inclusão do íon HPO_4^{2-} .

Em relação ao espectro da HAP2dTH, os picos indicando a presença do grupo PO_4^{3-} estão em $476, 566, 603, 961, 1034$ e 1094 cm^{-1} . As bandas em 635 e 3571 se referem ao grupo OH^- . Água é identificada pelas bandas em $1642, 1665$ e 3434 cm^{-1} . Observa-se o aparecimento da banda em 875 cm^{-1} pela possível presença do grupo HPO_4^{2-} . Essa mesma banda pode indicar a presença do grupo CO_3^{2-} substituindo o PO_4^{3-} no sítio B. Outras indicações de substituição do grupo PO_4^{3-} por CO_3^{2-} são dadas pelas bandas em 1423 e 1462 cm^{-1} . O pico em 1520 cm^{-1} se encontra dentro da faixa de presença do grupo CO_3^{2-} . A banda em 1561 cm^{-1} pode ser devido a substituição de CO_3^{2-} no sítio A. Para essa HAP pode-se concluir que a mesma sofreu inclusão de CO_3^{2-} nos sítios A e B e possivelmente do grupo HPO_4^{2-} na sua estrutura, o mesmo que ocorreu para a HAP1dTH.

Pode-se concluir que foram obtidas HAP's carbonatadas do tipo AB com bandas que indicam a presença de PO_4^{3-} , OH^- , H_2O , HPO_4^{2-} e CO_3^{2-} .

Nota-se que os picos relativos ao grupo PO_4^{3-} em 1037 e 1100 cm^{-1} no espectro da HAP1dTH se encontram mais largos e achatados em relação aos respectivos 1034 e 1094 cm^{-1} da HAP2dTH (mais finos). Isso pode ser explicado devido a uma maior cristalinidade da HAP2dTH em relação a HAP1dTH, como mostrado nos seus respectivos difratogramas de raios-X (figura 4.1 e tabela 4.1). Essa colocação corrobora com o reportado por Tadic et al. (2002), que relata ser possível obter-se informações sobre cristalinidade a partir dos espectros de infravermelho, principalmente pelas bandas encontradas nas regiões $590\text{-}610\text{ cm}^{-1}$ e 1000 cm^{-1} .

4.1.5- DETERMINAÇÃO DA RAZÃO MOLAR Ca/P

A determinação quantitativa de Cálcio (Ca) e Fósforo (P) por ICP-AES para as HAP's sintetizadas permitiram a obtenção das suas razões molares Ca/P.

O valor de 1,71 da razão molar Ca/P, determinado para a HAP1dTH(A), se encontra pouco acima da relação apresentada para a HAP estequiométrica, que é 1,67. Como se identificou a formação de HAP's carbonatadas, com inclusão de CO_3^{2-} nos sítios A e B, por FTIR, tem-se que a localização de grupos CO_3^{2-} no sítio do PO_4^{3-} pode explicar um valor da razão Ca/P maior que 1,67. Pelo valor encontrado tem-se que a quantidade de CO_3^{2-} na substituição é baixa. Adicionalmente observa-se que o mesmo se encontra na faixa da apatita biológica, que se encontra entre 1,50 e 1,85 (Murugan, 2006). É importante salientar que a razão molar Ca/P na apatita biológica depende de certos fatores, como a idade do indivíduo.

O valor da razão Ca/P encontrado para a HAP2dTH foi 2,48, o qual pode ser considerado bastante elevado e fora do esperado pelo observado, por exemplo, no seu espectro de FTIR, onde nota-se bandas pouco pronunciadas referentes a substituição de PO_4^{3-} por CO_3^{2-} . Problemas no manuseio e/ou no preparo das amostras (principalmente no preparo do branco) de HAP2dTH podem ter ocorrido gerando esse valor.

4.1.6- COMPORTAMENTO TÉRMICO

Os termogramas realizados para amostras de HAP1dTH e HAP2dTH podem ser observados separadamente, e com as perdas de massa indicadas nos intervalos de temperatura considerados, nas figuras 4.10 e 4.11, respectivamente.

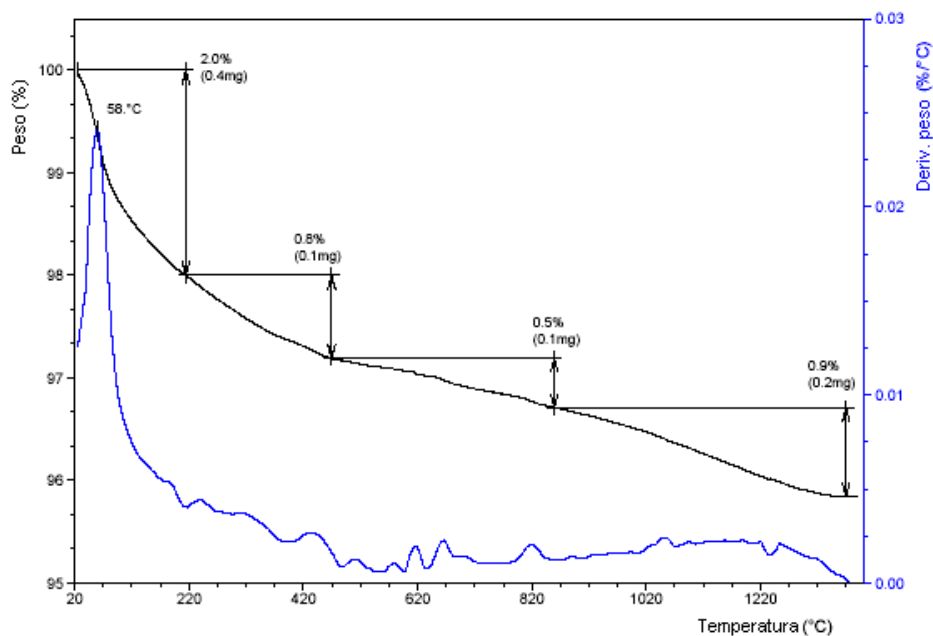


Figura 4.10- Termograma da HAP1dTH.

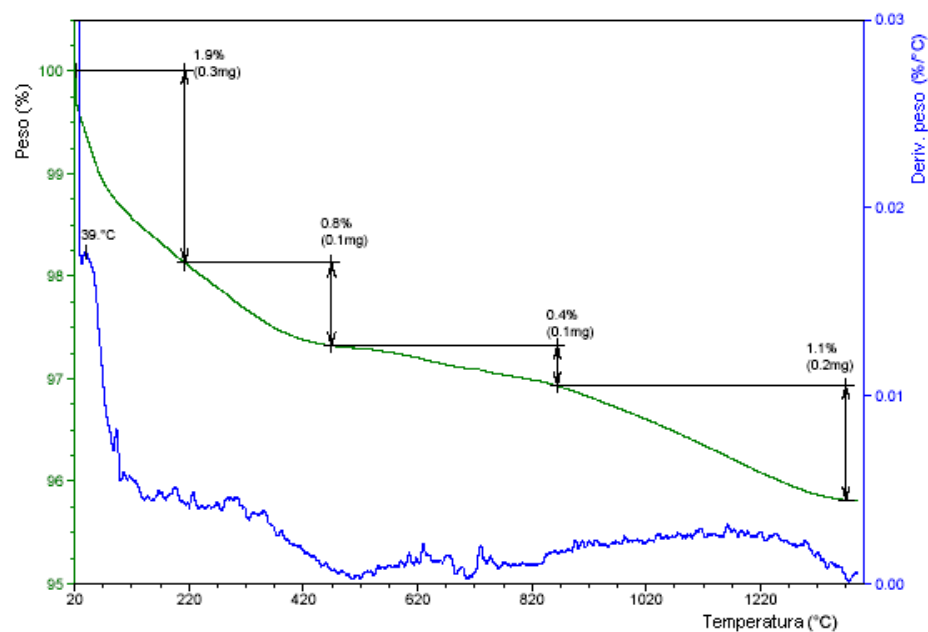
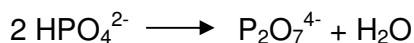


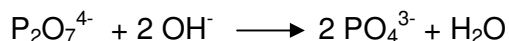
Figura 4.11- Termograma da HAP2dTH.

Tanto para a Hap1dTH quanto para a HAP2dTH temos que no primeiro intervalo de temperatura considerado, 20-210°C, a perda de massa é atribuída a presença de água adsorvida. Entre 210-470°C há a possível eliminação de água intersticial, além de CO₂ adsorvido, CO₃²⁻ e HPO₄²⁻. Esse último sofre a seguinte decomposição:



De acordo com o reportado por Krajewski et al. (2005), o início da perda de CO₃²⁻ nas HAP's carbonatadas em ar pode ser notada ocorrer entre 400-500°C e normalmente completada entre 800-1000°C, dependendo do tempo e composição.

As perdas de massa na faixa entre 470-860°C podem ser devido, além da perda de CO₃²⁻, a desidroxilação e a decomposição de P₂O₇⁴⁻ de acordo com a reação:



No último intervalo considerado, 860-1400°C, as perdas podem ser atribuídas a descarbonatação e desidroxilação.

Lazic et al. (2001) preparou HAP's não carbonatadas através da reação de Ca(OH)₂ e H₃PO₄ à partir de soluções aquosas alcalinas pelo método de titulação lenta em atmosfera inerte com temperatura de precipitação na faixa 22-95°C. Ele realizou análise termogravimétrica até 900°C e considerou as perdas até 200°C relativas a água adsorvida, que ficaram na faixa de 2-2,52% (peso) e a perda de massa total ficou entre 4 e 6,5% (peso), dependendo da cristalinidade e estequiometria das amostras.

Tampieri et al. (2000) obteve HAP's carbonatadas por precipitação partindo de Ca(OH)₂ e H₃PO₄, variando a temperatura entre 35 e 95°C. Os resultados da análise termogravimétrica em ar até 1500°C mostraram um ganho de massa de 1% (devido a carbonatação) até 80°C, seguido de perda de ~3,5% até 600°C devido a água adsorvida e ~4% de perda por descarbonatação e desidroxilação até 1500°C.

Ashok et al. (2003) sintetizou HAP's não carbonatadas e sem HPO₄²⁻ a partir de CaCl₂.2H₂O e Na₂HPO₄. A análise termogravimétrica mostrou uma perda de massa de 5% entre 30 e 140°C devido a água adsorvida e de 2% entre 250 e 410°C, creditada a perda de água adsorvida e de látice. Não houve perda posterior até 1200°C.

Krajewski et al. (2005) e Landi et al. (2003 e 2004) produziram HAP's carbonatadas utilizando reagentes contendo carbonato ou fluxo de carbono como fonte de carbonato e obtiveram as seguintes perdas de massa totais por análise termogravimétrica respectivamente: 6,6-16,0% (até 1400°C); ~15% (até 1450°C, em CO₂) e 14% (até 1400°C, em ar).

Os termogramas da HAP1dTH e HAP2dTH apresentaram perdas de massa similares nos intervalos de temperatura considerados, como mostram os dados na tabela 4.4 e nos termogramas agrupados para efeito de comparação na figura 4.12. As perdas de massa totais apresentaram o mesmo valor de 4,2%, o que indica um baixo valor de perda de massa total, comparativamente com dados apresentados na literatura para HAP's carbonatadas e não carbonatadas. Pode-se concluir que comparativamente ao que apresenta a literatura, as HAP's obtidas neste trabalho apresentaram boa estabilidade térmica.

Tabela 4.4- Perdas de massa das HAP's sintetizadas

Faixa de temperatura (°C)	Massa perdida (%)	
	HAP1dTH	HAP2dTH
20-210	2,0	1,9
210-470	0,8	0,8
470-860	0,5	0,4
860-1400	0,9	1,1
20-1400	4,2	4,2

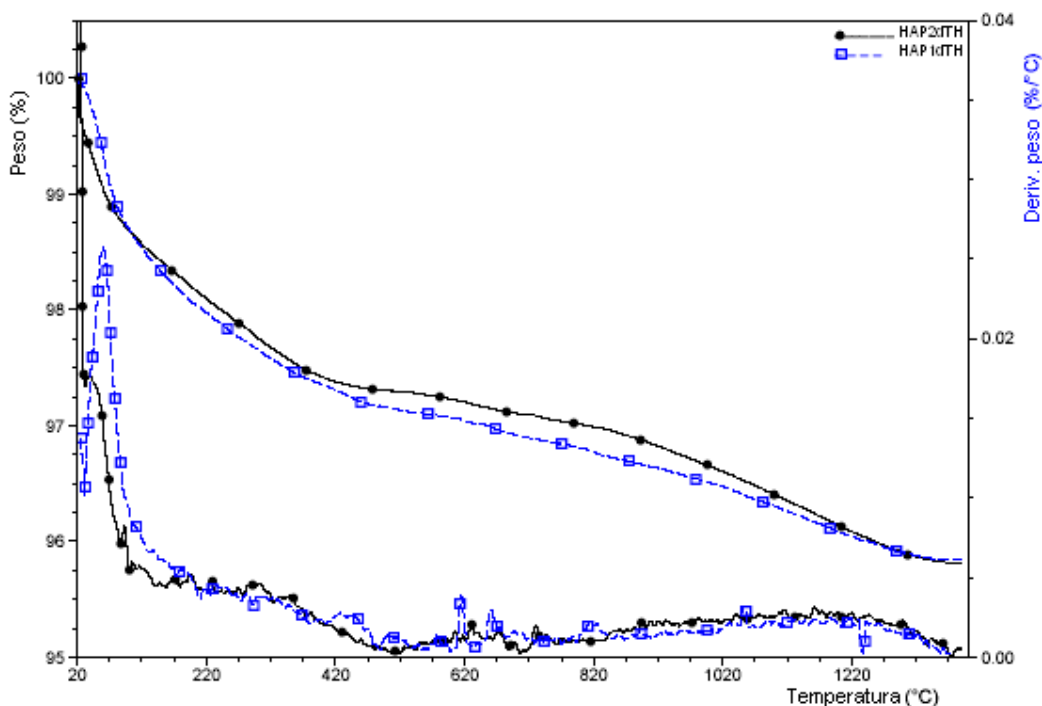


Figura 4.12- Comparação dos termogramas da HAP1dTH e HAP2dTH.

Pela análise dos resultados de caracterização das HAP's obtidas através das duas metodologias empregadas, pode-se considerar que os nanocristais de HAP sintetizados apresentaram estrutura cristalina, composição e morfologia similares a apatita natural presente nos ossos. Adicionalmente, confirmou-se o quanto a variação dos parâmetros de síntese interfere no resultado final. A temperatura de 80°C foi utilizada no sentido de se minimizar a quantidade de CO_2 no meio reacional, o que se relaciona diretamente com a quantidade de CO_3^{2-} incorporada na estrutura da HAP. Por análise dos espectros de FTIR foi notado que essa quantidade foi baixa nos dois casos (< 1% em massa), quantidade essa calculada usando metodologia descrita por Murugan et al. (2003). A cristalinidade encontrada para os dois casos pode ser considerada apropriada para a finalidade da HAP a ser empregada na preparação dos compósitos.

4.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP

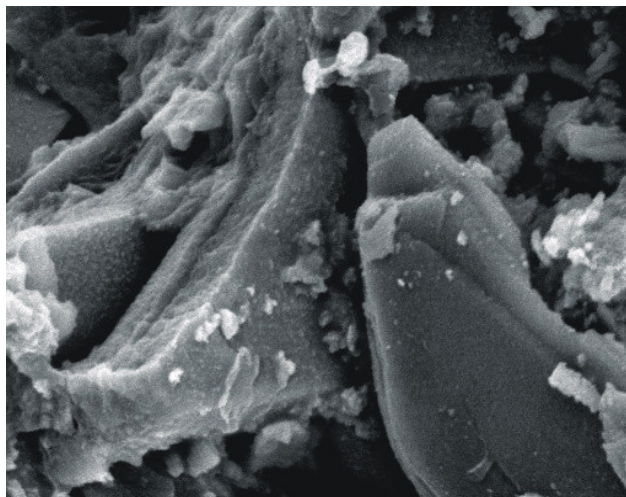
Em trabalhos anteriores do grupo foram realizados estudos preliminares de biocompósitos à partir de uma matriz de PHB e micropartículas (100 µm de diâmetro) de HAP obtida à partir de corais. Compósitos foram formulados utilizando-se diferentes metodologias e empregando-se diferentes quantidades de HAP (de 50 a 90% em massa) (sabe-se que para um compósito HAP/polímero exibir bioatividade o mesmo deve conter no mínimo 40% em massa de HAP). Esses estudos mostraram que os compósitos que apresentaram melhores propriedades mecânicas foram os que utilizaram a relação PHB/HAP de 30/70 (p/p). Essa quantidade de HAP se encontra similar a de fosfato de cálcio (~69% em massa) encontrada nos ossos.

Esses compósitos PHB/HAP 30/70 (p/p) foram formulados utilizando-se duas metodologias. Na primeira (metodologia A) os dois componentes secos são homogeneizados e colocados num molde metálico a 176°C, onde uma pressão de 20 MPa é aplicada durante 30 minutos. Numa segunda metodologia (metodologia B) a HAP seca é adicionada ao polímero solubilizado, seguido pela evaporação do solvente. Logo após, a mistura é prensada a frio e depois a 170°C, agora com pressão de 20 MPa durante 15 minutos. Para esses compósitos (obtidos pelas duas metodologias) foram realizados testes de compressão uniaxial (tabela 4.5) e as regiões de fratura dos mesmos foram analisadas por MEV (figura 4.13) (Moreira, 2000).

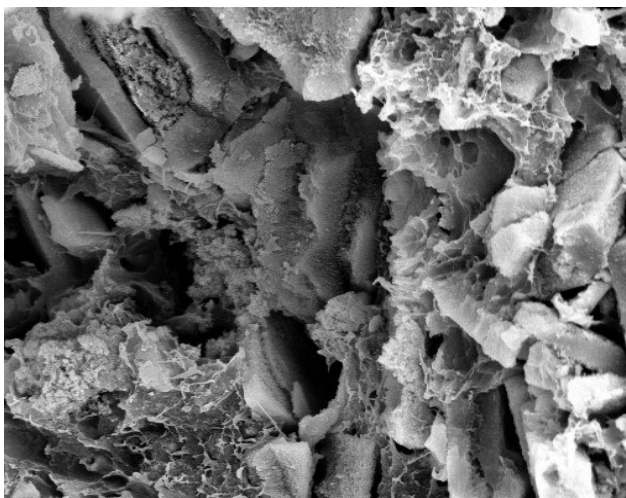
Tabela 4.5- Resultados da compressão uniaxial (Moreira,2000)

Amostras	Resistência a compressão (MPa)	Módulo de Young (GPa)
Metodologia A	62,69	3,71
Metodologia B	11,28	0,54

Nota-se que as propriedades mecânicas nesses compósitos foram grandemente dependentes da metodologia de produção dos mesmos.



M01



M02

Figura 4.13- Micrografias de MEV da região de fratura de compósitos obtidos pelas duas diferentes metodologias.

As micrografias de MEV da região de fratura dos compósitos produzidos pela metodologia A apresentaram (micrografia M01-figura 4.13):

- Distribuição irregular das fases;
- Baixa porosidade a partir de uma estrutura lamelar;
- Fase polimérica segregada.

Para os compósitos preparados seguindo a metodologia B as micrografias de MEV na região de fratura (micrografia M02- figura 4.13) mostraram (em relação a metodologia A):

- Maior homogeneidade do compósito;
- Compósito mais poroso.

Apesar dos pontos positivos apontados na morfologia do compósito obtido pela metodologia B os resultados da avaliação mecânica para o mesmo foram consideravelmente inferiores.

A partir desses resultados, na formulação de novos compósitos dedicou-se especial atenção a interface PHB-HAP. Com este propósito, utilizou-se cristais de HAP de nível nanométrico (~10-100 nm). Com a incorporação desses nanocristais de HAP presentes numa lama (e também de um aglomerado desses nanocristais formando partículas micrométricas) no PHB visou-se melhorar a dispersão desses cristais no mesmo (dispersão mais uniforme), melhorar a interação entre as fases presentes (uma maior área superficial da HAP favorece um maior contato superficial com o PHB) e conseqüentemente melhorar propriedades mecânicas do compósito. A área superficial específica e a dimensão da carga são parâmetros muito importantes para se controlar a performance dos compósitos (Huang et al., 2003), assim como a bioatividade.

Os resultados da caracterização e avaliação das propriedades mecânicas dos compósitos PHB/nano-HAP, produzidos através da técnica de suspensão, realizados com as nano-HAP's sintetizadas com e sem tratamento hidrotérmico são apresentados.

4.2.1- ANÁLISE DA ESTABILIDADE TÉRMICA POR TGA

4.2.1.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

Observa-se que a temperatura de degradação térmica do PHB nos compósitos PHB/nano-HAP, onde utilizou-se quantidades próximas a 70% (em massa) de nano-HAP (figura 4.14 e tabela 4.6) é diminuída com uma maior incorporação da mesma. Tem-se que os compósitos PHB/nano-HAP degradam a uma temperatura menor do que a do PHB puro, ou seja, a estabilidade térmica dos compósitos é menor, e essa é diminuída com o aumento da quantidade de nano-

HAP. Pode-se considerar que as perdas de massa relativas a água adsorvida e intersticial da HAP que ocorrem até a temperatura de $\sim 470^{\circ}\text{C}$ (como mostrado anteriormente) influenciaram no abaixamento da temperatura de degradação desses compósitos.

Nota-se (tabela 4.6), de uma forma geral, que no compósito onde se utilizou a HAP2dTH houve uma pequena tendência da temperatura de degradação ser maior do que nos compósitos formulados com a HAP1dTH, mesmo sabendo-se que o compósito com HAP2dTH conteve menor quantidade de HAP na formulação. Nos compósitos onde utilizou-se a HAP1dTH não se observa diferença significativa na temperatura de degradação entre os compósitos onde utilizou-se HAP1dTH seca e o que se utilizou lama de HAP1dTH (menor tamanho de partícula).

As diferenças entre as quantidades teóricas (antes da preparação) e as reais (após a preparação) podem ser atribuídas ao método de preparação dos compósitos, que gera perdas de massa durante o mesmo e decorrentes diferenças nas proporções finais dos mesmos. Uma maior diferença entre as quantidades teóricas e reais tem a maior probabilidade de ocorrer nos compósitos preparados com lama de HAP, ao invés da HAP seca, pois a determinação da massa de HAP na lama antes do preparo do compósito acontece de forma aproximada.

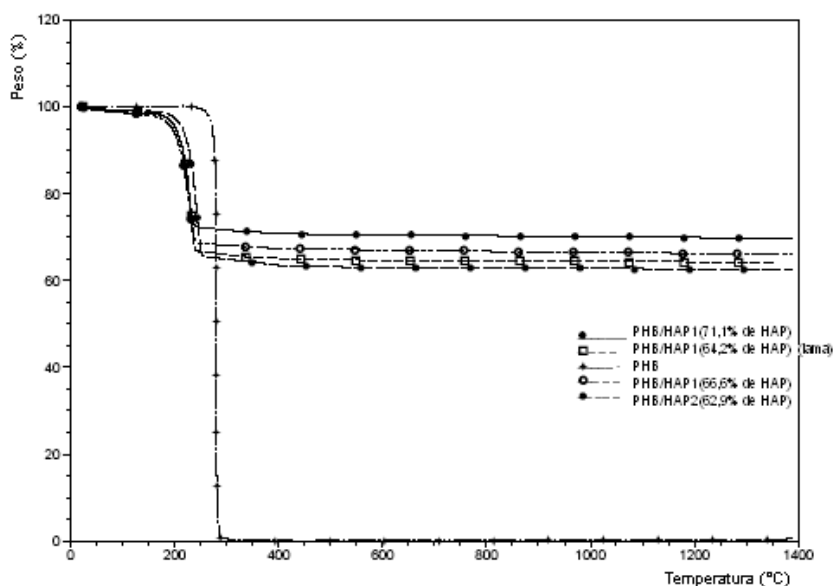


Figura 4.14- Termograma do PHB puro e compósitos produzidos.

Tabela 4.6- Quantidade real de HAP e temperatura de degradação obtida para o PHB puro e compósitos produzidos

Amostra	Quantidade teórica de HAP (% massa)	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de degradação (°C)
PHB puro	0	0	280,8
PHB/HAP2dTH	70	62,9	243,5
PHB/HAP1dTH	70	64,2	232,7
(lama)			
PHB/HAP1dTH (A)	70	66,6	229,1
PHB/HAP1dTH (B)	70	71,1	228,1

Chen e Wang (2002) estudaram por TGA o comportamento de compósitos polihidroxibutirato-polihidroxivalerato (PHB-PHV)/HAP utilizando-se diferentes proporções de HAP. Observou-se que a temperatura de degradação do polímero PHB-PHV foi de forma geral diminuída com o aumento da incorporação de partículas de HAP.

Zhang et al. (2006) analisaram o comportamento térmico de compósitos nano-HAP/poliamida 66 (PA66) com diferentes proporções de HAP. Notou-se que os compósitos degradaram a uma maior temperatura do que o PA66, ou seja, os compósitos apresentaram maior estabilidade térmica do que o PA66. Entretanto a faixa da temperatura de degradação mostrou-se mais estreita para os compósitos a medida que se aumentou a quantidade de HAP no compósito. Justificou-se uma maior estabilidade térmica para os compósitos em relação ao PA66 em virtude de interações entre as fases, devido a formação de pontes de hidrogênio entre o grupo amida ($-\text{NH}-\text{C}=\text{O}$) do PA66 e o grupo hidroxila ($-\text{OH}$) da nano-HAP.

Estudos de compósitos polietere tercetona (PEEK)/HAP com diferentes proporções por TGA foram realizados por Meenan et al. (2000), donde se concluiu que um aumento na quantidade da HAP nessas misturas leva a uma diminuição na temperatura de degradação on-set do PEEK de até 13°C para uma amostra contendo 63% (em massa) de HAP. Com o auxílio do termograma da HAP, percebe-se claramente a contribuição do componente cerâmico em amostras com uma maior quantidade do mesmo em virtude da perda de água adsorvida para a HAP em baixas temperaturas (80-120°C) e de uma lenta desidroxilação da HAP quando a temperatura aumenta na faixa 200-750°C.

4.2.1.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)

Foi produzido o compósito PHB/HAP1aTH (30/70) onde utilizou-se nano-HAP antes do TH. Posteriormente, foi realizado o TH para o compósito visando um aumento de tamanho e da cristalinidade dos nanocristais da fase HAP, que se encontra misturada ao PHB, podendo com isso trazer possível melhora na interação entre as fases.

Os termogramas dos compósitos PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH, podem ser observados na figura 4.15.

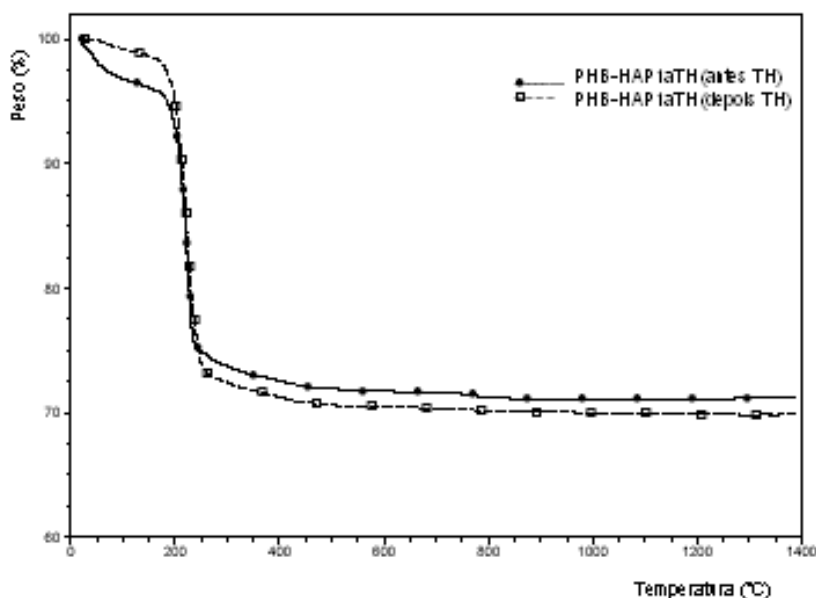


Figura 4.15- Termograma do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH).

A partir do observado na tabela 4.7 nota-se que ocorreu uma diminuição da quantidade de HAP e da temperatura de degradação do compósito após o TH. Essa diminuição da quantidade de HAP pode ter ocorrido durante o TH do compósito.

Tabela 4.7- Quantidade real de HAP e temperatura de degradação obtida para os compósitos PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH

Amostra	Quantidade teórica de HAP (% massa)	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de degradação (°C)
PHB puro	0	0	280,8
PHB/HAP1aTH (antes do TH)	70	74,7	224,8
PHB/HAP1aTH (depois do TH)	70	69,9	222,7

4.2.2- ANÁLISE DA ESTRUTURA CRISTALINA POR DRX

4.2.2.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

Observa-se grande semelhança dos difratogramas das HAP's HAP1dTH e HAP2dTH com os dos seus respectivos compósitos PHB/HAP1dTH (30/70) e PHB/HAP2dTH (30/70) (figuras 4.16 e 4.17). Nota-se que as posições dos picos nos difratogramas das HAP's não mudam nos dos compósitos. Tem-se uma pequena diminuição da cristalinidade nos difratogramas dos compósitos em relação aos das HAP's correspondentes utilizadas nesses compósitos.

A cristalinidade da fase PHB aparentemente diminuiu nos compósitos, como mostrado nos difratogramas dos mesmos. Isto pode indicar que a presença da nano-HAP e uma resultante interação entre as fases limita o número e o crescimento de cristais de PHB nos compósitos.

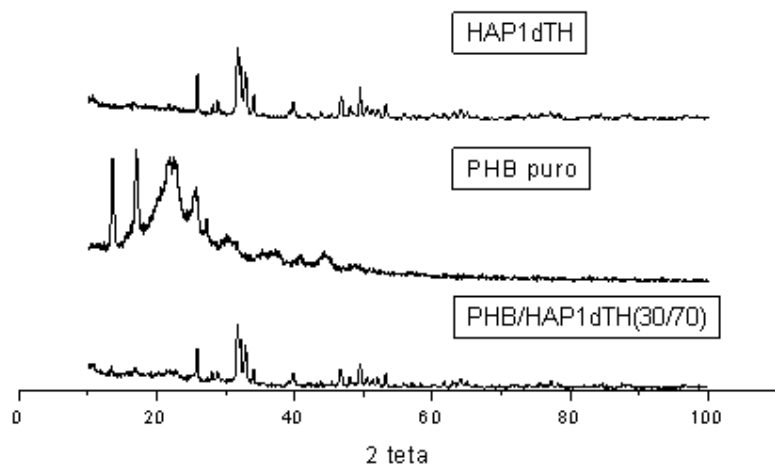


Figura 4.16- Difratomogramas da HAP1dTH, do PHB e do compósito PHB/HAP1dTH (30/70).

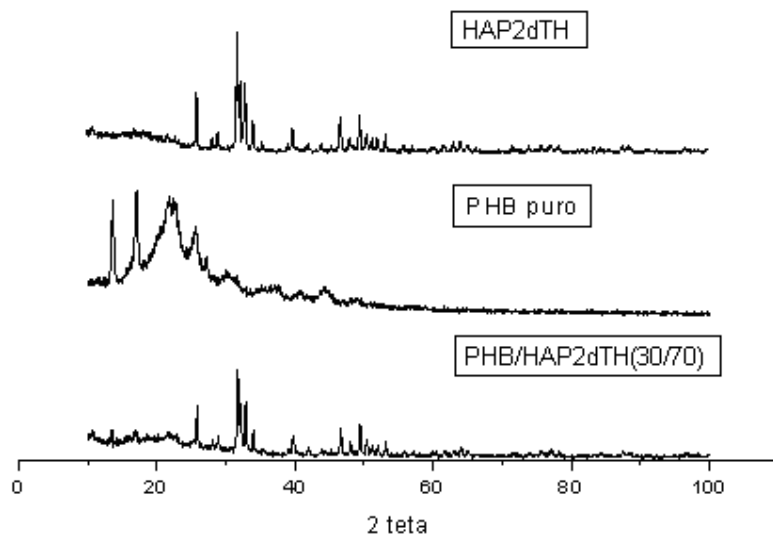


Figura 4.17- Difratomogramas da HAP2dTH, do PHB e do compósito PHB/HAP2dTH (30/70).

4.2.2.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)

Nota-se grande similaridade entre os difratogramas da HAP1aTH com o do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes do TH) (figura 4.18). Tem-se que as posições dos picos no difratograma da HAP não mudam no do compósito antes do TH.

Após o TH tem-se um aumento na cristalinidade da fase HAP como esperado, em virtude do aumento de cristalinidade dos nanocristais de HAP durante esse tratamento.

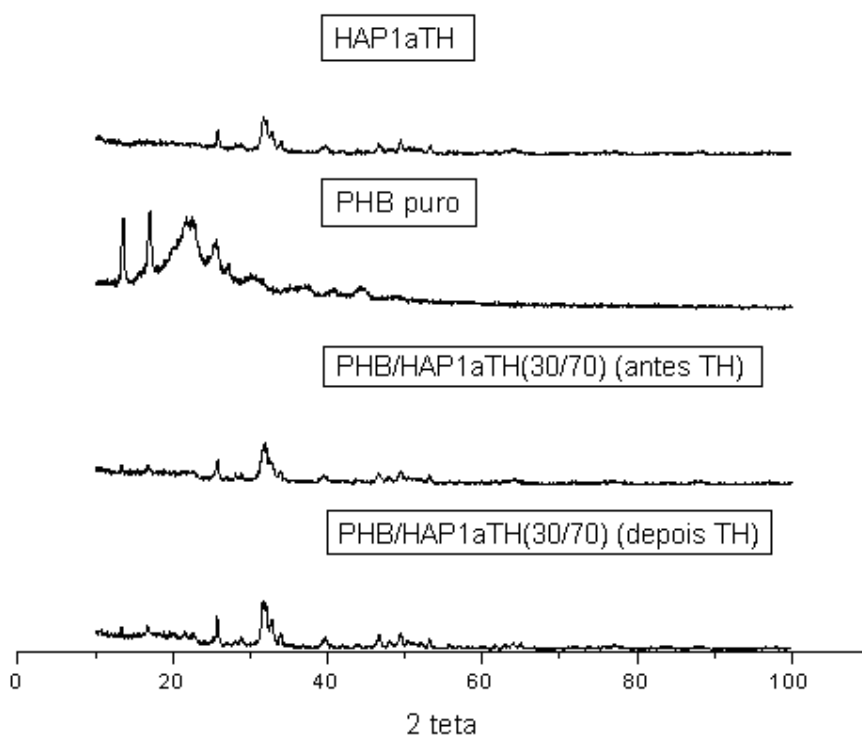


Figura 4.18- Difratogramas da HAP1aTH, do PHB, do PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH.

4.2.3- ANÁLISE DA CRISTALINIDADE DO PHB POR DSC

4.2.3.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

As temperaturas de cristalização para os compósitos (figura 4.19 e tabela 4.8) mostram uma diminuição não em números absolutos, mas indicam a medida que a quantidade de HAPdTH incorporada é maior, há a tendência de ter-se uma temperatura de cristalização menor do que a do PHB puro. Sendo assim, os compósitos, de forma geral, para se cristalizarem precisam de uma maior energia de cristalização em relação ao PHB puro.

As temperaturas de fusão para os compósitos em relação ao PHB puro (figura 4.20, tabela 4.9), com exceção do PHB/HAP1dTH (com 66,6 %, em massa, de HAP), diminuiram levemente a medida que se aumentou a incorporação de HAP.

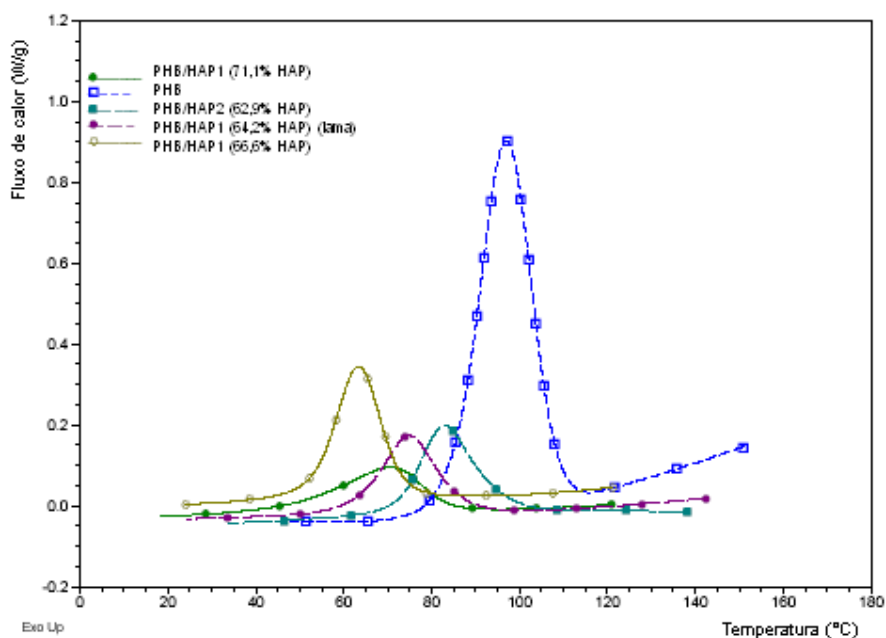


Figura 4.19- Termogramas de DSC referentes ao resfriamento, para o PHB puro e compósitos PHB/HAPdTH.

Tabela 4.8- Temperaturas de cristalização para o PHB puro e compósitos PHB/HAPdTH

Amostra	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de cristalização (°C)
PHB puro	0	96,7
PHB/HAP2dTH	62,9	82,8
PHB/HAP1dTH (lama)	64,2	74,8
PHB/HAP1dTH (A)	66,6	63,2
PHB/HAP1dTH (B)	71,1	69,8

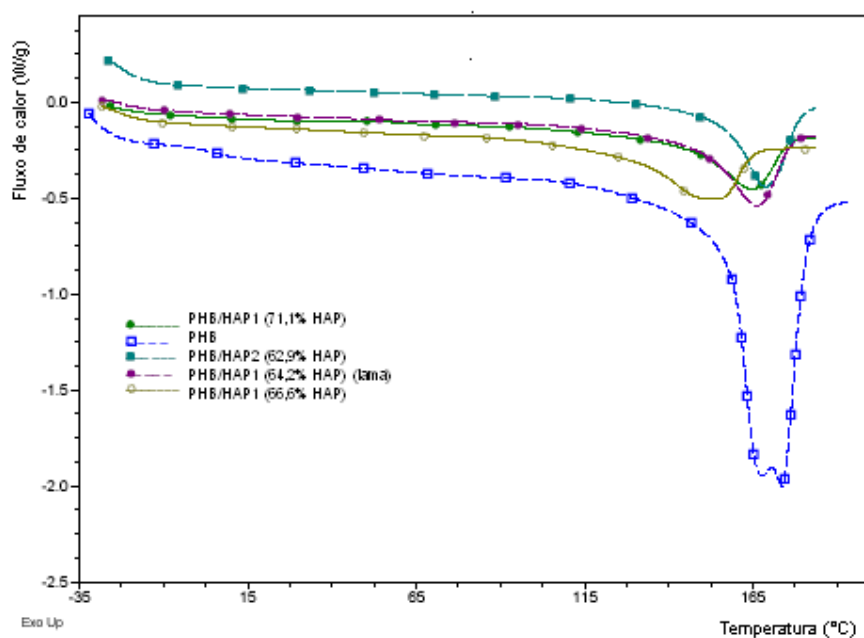


Figura 4.20- Termogramas de DSC relativos ao segundo aquecimento para o PHB puro e compósitos PHB/HAPdTH.

Tabela 4.9- Resultados de DSC para o PHB puro e compósitos PHB/HAP (realizados com a HAP depois do TH)

Amostra	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de fusão (°C)	Cristalinidade do PHB (%)	Porosidade (ε) (%)
PHB puro	0	173,5	72	3,22
PHB/HAP2dTH	62,9	168,6	17	38,8
PHB/HAP1dTH (lama)	64,2	165,8	18	39,4
PHB/HAP1dTH (A)	66,6	152,6	23	41,2
PHB/HAP1dTH (B)	71,1	164,6	15	46,1

A curva de DSC para o PHB puro apresentou dois picos de fusão, localizados em 167,8 e 173,5 °C (figura 4.20). Entretanto, as curvas dos compósitos apresentaram somente um pico de fusão. Os dois picos de fusão para o PHB estão relacionados com diferenças nos pesos moleculares do mesmo e também a diferença na morfologia dos cristais, a qual estaria associada a presença de defeitos nos mesmos. As massas moleculares não mudam em relação a história térmica do polímero, porém a morfologia dos cristais pode mudar. Para os compósitos a ocorrência de um único pico pode provavelmente ser devido a interações entre as moléculas de PHB e as partículas de nano-HAP. Essas últimas podem estar bloqueando o movimento dos cristalitos do PHB.

De uma mistura de nanocristais de HAP com o PHB durante a produção do compósito poderia se esperar um aumento da nucleação dos cristalitos no PHB após a secagem do compósito, aumentando assim a cristalinidade do polímero. Ao contrário, pode-se observar a partir dos valores apresentados na tabela 4.8 que existe uma tendência de diminuição na cristalinidade do PHB a medida que há um aumento na quantidade de HAP no compósito. Isto pode indicar que a adição das partículas de nano-HAP enfraquece a capacidade de cristalização do PHB, indicando também uma desestabilização dos cristalitos. Durante o tratamento térmico do compósito tem-se que aumentando a quantidade de nano-HAP adicionada na matriz de PHB maior será a viscosidade da massa fundida (fase polimérica) dos compósitos, e quanto maior a viscosidade da massa fundida mais

difícil se torna para as macromoléculas de PHB se rearranjarem regularmente para formar cristais.

Uma possível consequência da diminuição da cristalinidade do polímero com a adição das partículas de nano-HAP seria uma maior taxa de degradação “in vivo” para o compósito PHB/nano-HAP em relação ao PHB puro, conforme ocorrido com outros polímeros degradáveis que tiveram diminuição do grau de cristalinidade (Chen e Wang, 2002). Essa maior taxa de degradação “in vivo” para o compósito PHB/nano-HAP é um aspecto positivo. O PHB possui um fator essencial para sua aceitação quando incorporado por seres humanos (e outros mamíferos) que é a biocompatibilidade. Porém, ele apresenta uma taxa de degradação muito lenta no corpo em comparação com heteropolímeros. Uma razão para isso seria a alta cristalinidade apresentada para o PHB (60-90%), que faz com que uma degradação enzimática seja mais lenta. Sendo assim, os estudos médicos entre os PHA's se direcionam com maior intensidade para o copolímero P(HB-HV), que segundo Zinn e colaboradores (2001) é menos cristalino. Por isso, essa diminuição da cristalinidade do PHB no compósito PHB/nano-HAP em muito contribui para sua utilização como biomaterial.

Tem-se que quanto maior a quantidade incorporada de HAP maior a porosidade das amostras analisadas.

4.2.3.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)

A figura 4.21 mostra os termogramas de DSC do resfriamento das amostras do PHB puro e dos compósitos PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH). Observa-se que a temperatura de cristalização do compósito diminui após o TH (tabela 4.10). Logo, os compósitos para se cristalizarem precisam de uma maior energia de cristalização em relação ao PHB puro. E especialmente após o TH essa energia deve ser ainda maior do que antes desse tratamento.

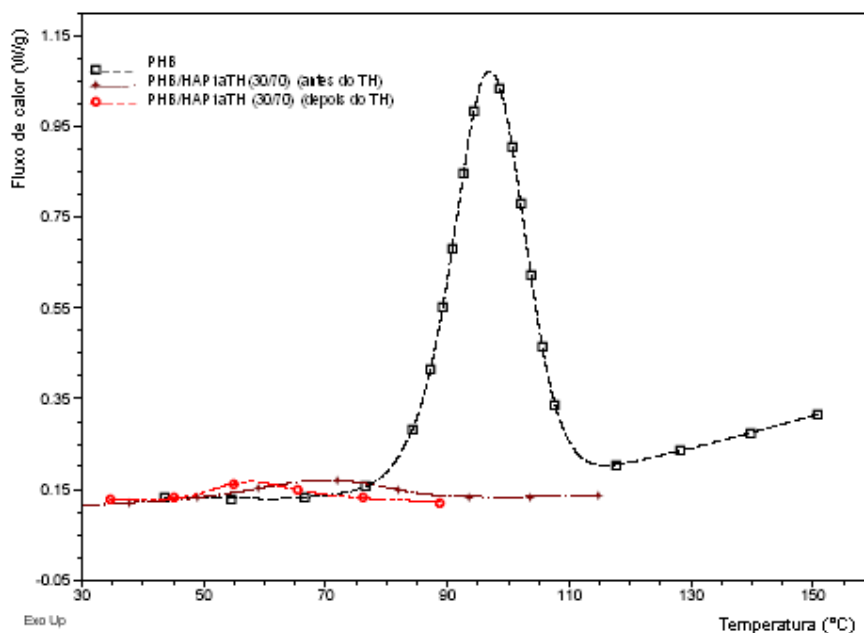


Figura 4.21- Termogramas de DSC do resfriamento do PHB puro e do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH).

Tabela 4.10- Temperaturas de cristalização para o PHB puro e os compósitos PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH)

Amostra	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de cristalização (°C)
PHB puro	0	96,7
PHB/HAP1aTH (antes do TH)	74,7	68,2
PHB/HAP1aTH (depois do TH)	69,9	57,6

Termogramas de DSC do segundo aquecimento do PHB puro e do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH) são mostrados na figura 4.22.

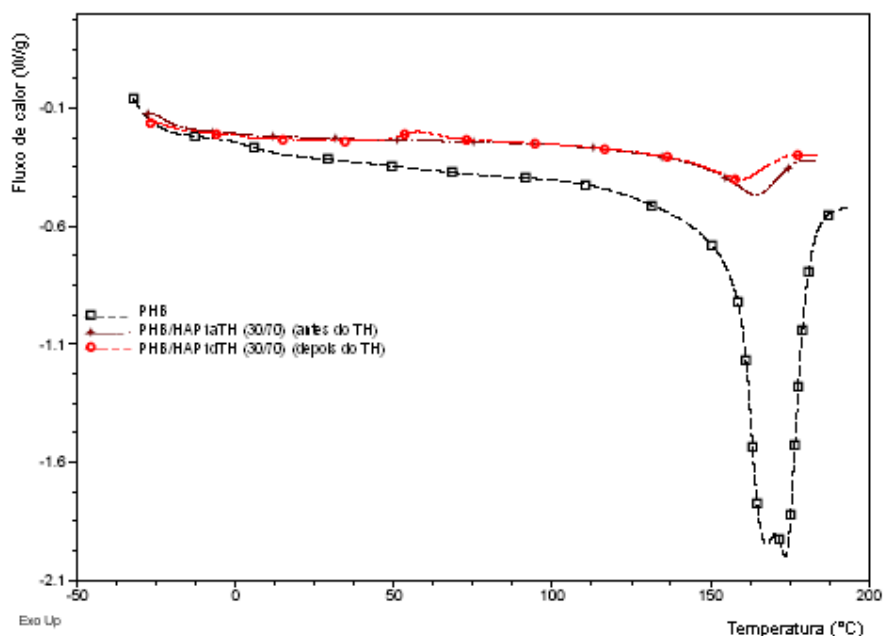


Figura 4.22- Termogramas de DSC do segundo aquecimento do PHB puro e do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH).

Tabela 4.11- Resultados de DSC para os compósitos PHB/HAPaTH1 (30/70) (antes e depois do TH)

Amostra	Quantidade real de HAP (% massa)	Temperatura de fusão (°C)	Cristalinidade do PHB (%)	Porosidade (ε) (%)
PHB puro	0	173,5	72	3,22
PHB/HAP1aTH (antes do TH)	74,7	164,1	10	45,9
PHB/HAP1aTH (depois do TH)	69,9	159,2	6	42,8

Observa-se na tabela 4.11 que a temperatura de fusão do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) e a cristalinidade do PHB nesse compósito diminuíram após o tratamento hidrotérmico. Porém, observando-se a diminuição da massa de HAP1aTH após o TH, se mostra delicado comentar a respeito da temperatura de fusão, mas pode-se considerar que em relação a cristalinidade do PHB, que a diminuição da cristalinidade do PHB após o TH pode estar relacionada com um

possível impedimento das moléculas de PHB se rearranjarem para formar cristalitos em virtude do aumento de cristalinidade da apatita presente no compósito.

A porosidade, considerando a perda de massa da HAP1aTH após o TH, pouco se alterou após o TH do compósito.

4.2.4- ANÁLISE DA INTERAÇÃO ENTRE AS FASES POR FTIR

4.2.4.1- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

O espectro de FTIR para o PHB (figuras 4.23 à 4.25) apresentou como bandas de maior intensidade as relativas ao estiramento da carbonila em 1280 e 1722 cm^{-1} . As bandas referentes ao estiramento da ligação C-O do grupo éster se localizam entre 1000 e 1300 cm^{-1} . Bandas devidas a deformação assimétrica da ligação C-H presentes nos grupos metileno e etileno podem ser notados em 1457 e 1381 cm^{-1} . Em 2977 cm^{-1} ocorre um pico em virtude de deformação axial simétrica e assimétrica do grupo CH_2 . Em 3436 cm^{-1} tem-se um pico relativo a presença do grupo OH, o qual pode ter relação com uma adsorção de água pela amostra.

Pode ser notado que o pico em 1457 cm^{-1} no PHB (e na HAP1dTH) se move para 1462 cm^{-1} no compósito PHB/HAP1dTH (30/70) (figura 4.23).

A banda em 643 cm^{-1} devido ao OH^- na HAP1dTH se encontra deslocada para 634 cm^{-1} no compósito PHB/HAP1dTH (30/70).

Uma banda devido a presença do íon PO_4^{3-} na HAP2dTH (figura 4.24) em 1034 cm^{-1} se encontra deslocada para 1043 cm^{-1} no compósito PHB/HAP2dTH (30/70). O pico localizado em 3571 cm^{-1} (íon OH^-) se move para 3579 cm^{-1} no compósito PHB/HAP2dTH (30/70).

A banda em 1049 cm^{-1} devido aos íons PO_4^{3-} na HAP1AdTH (figura 4.25) se desloca para a posição 1043 cm^{-1} no compósito PHB/HAP1AdTH (30/70) (lama). Uma banda em 3572 cm^{-1} , relativa aos íons OH^- , na HAP1AdTH, se encontra na posição 3581 cm^{-1} no compósito PHB/HAP1AdTH (30/70) (lama).

Jie e Yubao (2004) consideraram a partir de variações de 2 a 7 cm^{-1} nas posições dos picos do compósito nano-HAP/PA66 em relação aos picos originais da

nano-HAP e da PA66 que interações moleculares podem ter ocorrido entre a nano-HAP e a PA66 no compósito.

Os deslocamentos observados nos espectros dos compósitos PHB/HAP1dTH (30/70), PHB/HAP1AdTH (30/70) (lama) e PHB/HAP2dTH (30/70) em relação aos do PHB e da HAP1dTH, HAP1AdTH e HAP2 , respectivamente, podem ser causados pela formação de uma interface de interação. Jie (2003) descreveu haver uma atração entre os íons Ca^{2+} da nano-HAP e o grupo -COO^- (carboxila), que aparece no espectro do nanocompósito PA/HAP. Podendo isso ser causado pela formação de alguma interface de interação ou ligação entre o -OH da HAP e a amida (-CONH) na PA. Essa mesma atração pode estar ocorrendo entre os íons Ca^{2+} da HAP1dTH, HAP1AdTH e HAP2dTH e o grupo -COO^- do PHB nos compósitos PHB/HAP1dTH, PHB/HAP1AdTH (30/70) e PHB/HAP2dTH (30/70).

Nota-se que uma banda relativa a carbonila, originalmente no espectro do PHB em 1722 cm^{-1} , se encontra nesse mais larga do que em todos os espectros dos compósitos mostrados nas figuras 4.23 a 4.25. Esse fato pode ser devido a uma contribuição da fase amorfa e da fase cristalina sobrepostas nessa banda no espectro do PHB. Nos espectros dos compósitos essa banda aparece mais estreita, indicando uma diminuição significativa da cristalinidade na fase PHB nesses compósitos.

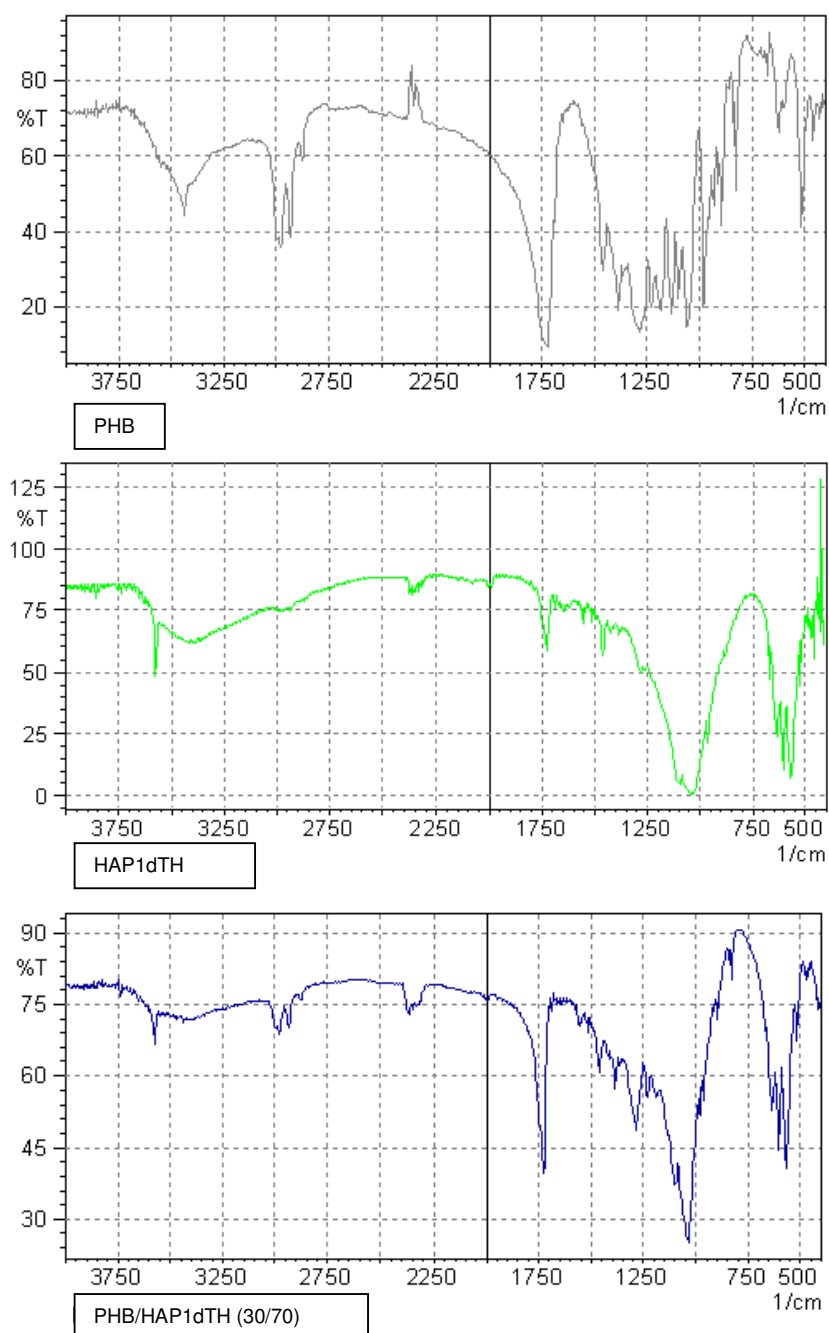


Figura 4.23- Espectros de FTIR do PHB, da HAP1dTH e do compósito PHB/HAP1dTH (30/70).

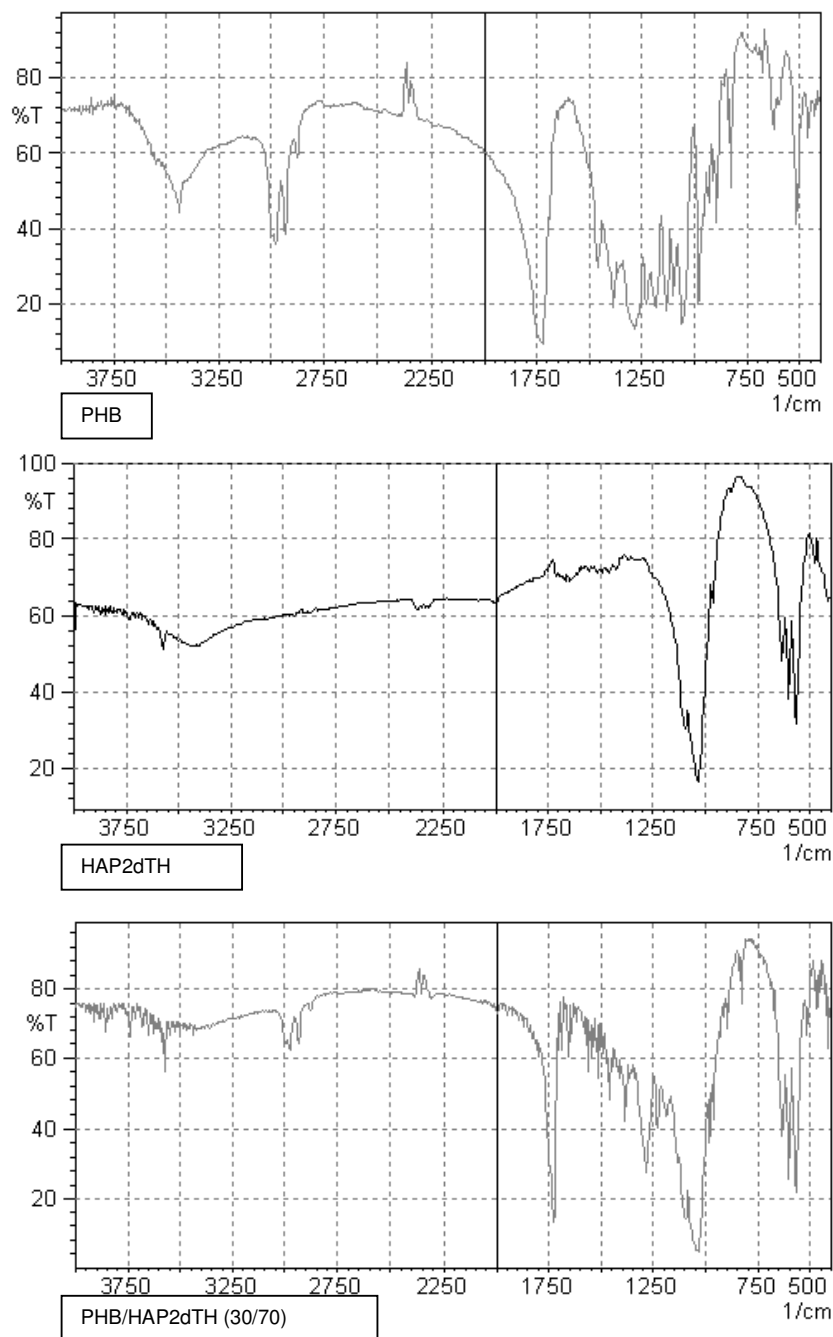


Figura 4.24- Espectros de FTIR do PHB, da HAP2dTH e do compósito PHB/HAP2dTH (30/70).

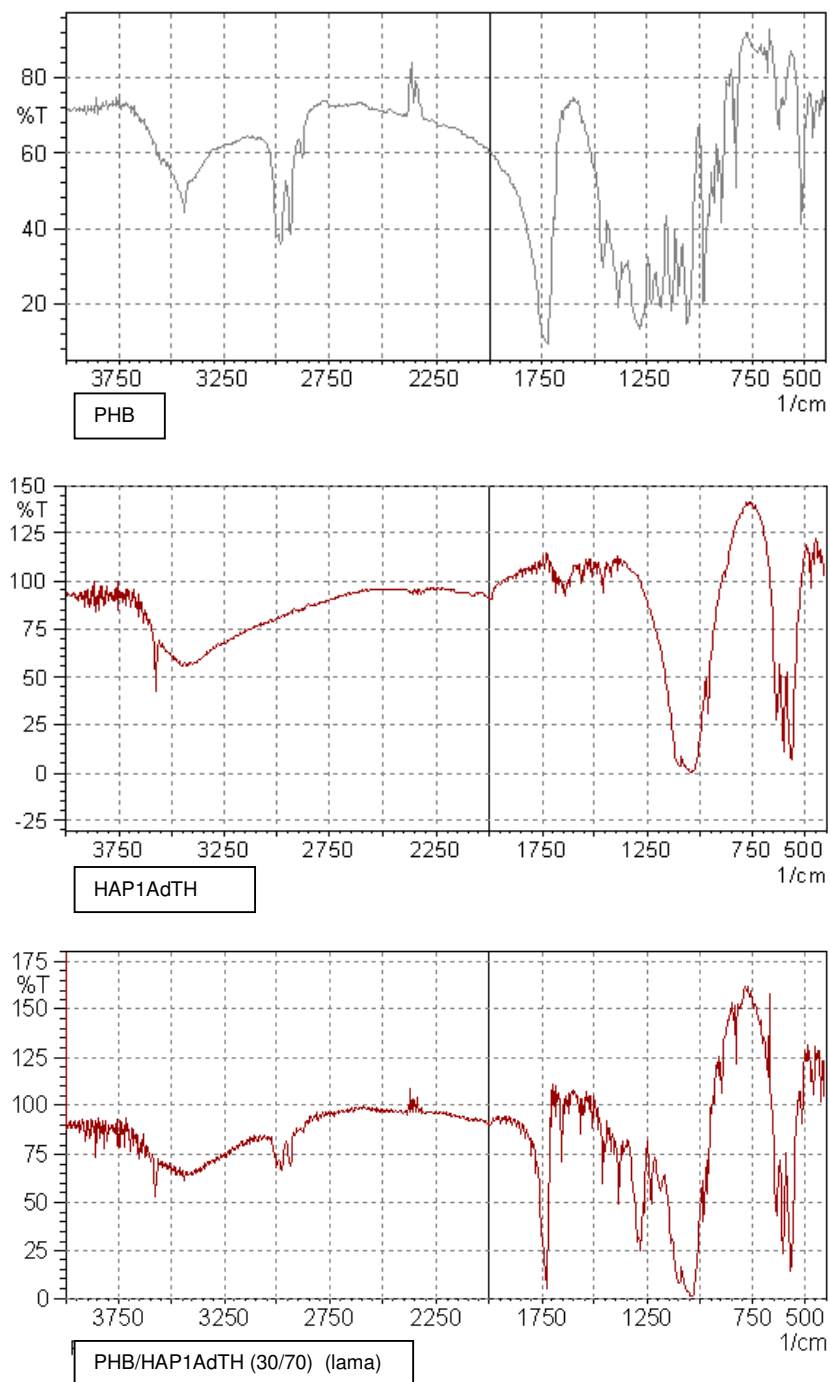


Figura 4.25- Espectros de FTIR do PHB, da HAP1AdTH e do compósito PHB/HAP1AdTH (30/70) (lama).

4.2.4.2- COMPÓSITO PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP ANTES DO TRATAMENTO HIDROTÉRMICO (COM POSTERIOR TRATAMENTO HIDROTÉRMICO DO COMPÓSITO)

Na HAP1aTH (figura 4.26) tem-se que as bandas referentes aos íons PO_4^{3-} são: 467, 565, 603, 961, 1034 e 1092 cm^{-1} . Para o íon OH^- tem-se as bandas 633 e 3568 cm^{-1} . A banda em 874 cm^{-1} pode indicar a presença do grupo HPO_4^{2-} . As bandas em 874, 1421 e 1454 cm^{-1} , devido ao CO_3^{2-} , são característicos da HAP carbonatada do tipo B. Em 1554 cm^{-1} tem-se uma banda referente ao CO_3^{2-} , relativa a formação de HAP carbonatada do tipo A. Pode-se supor então a formação de uma HAP carbonatada do tipo AB.

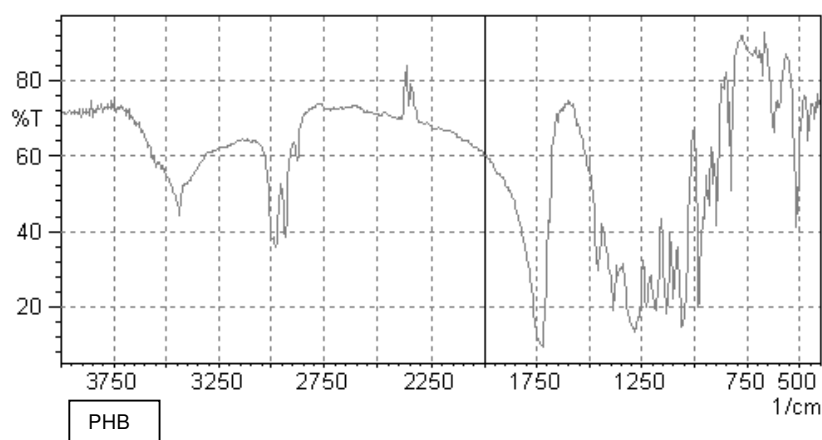
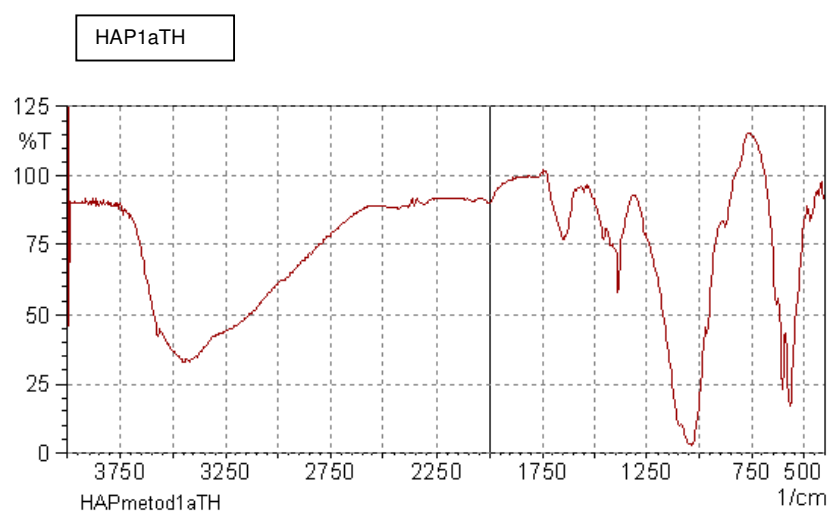


Figura 4.26- Espectros de FTIR do PHB e da HAP1aTH.



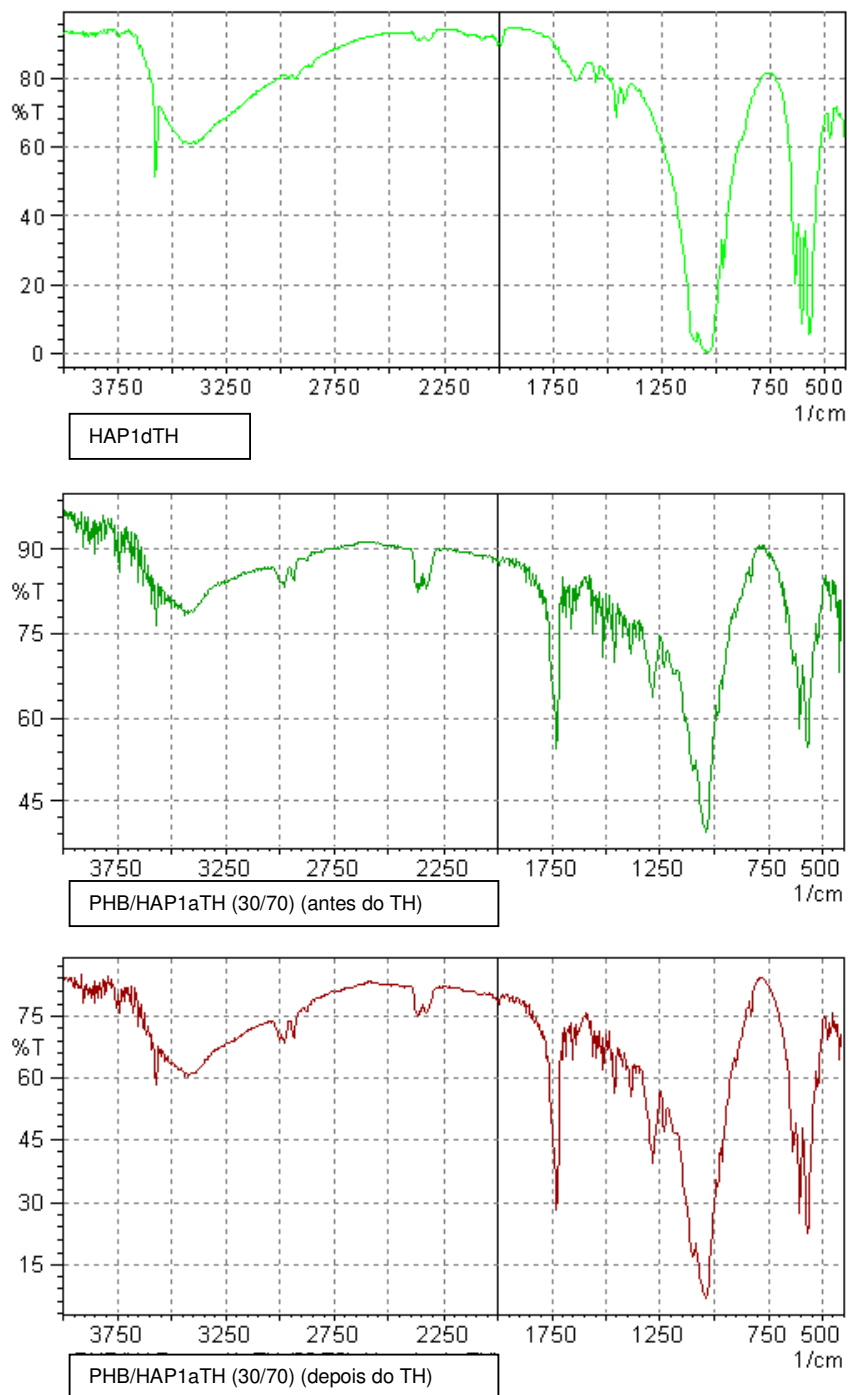


Figura 4.27- Espectros de FTIR da HAP1dTH e do compósito PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH.

A figura 4.26 mostra os espectros de FTIR do PHB e da HAP1aTH, e a figura 4.27 os espectros da HAP1dTH e do PHB/HAP1aTH (30/70) (antes e depois do TH). O pico em 1457 cm^{-1} no PHB se move para 1453 cm^{-1} no compósito PHB/HAP1aTH (30/70). Picos devido aos íons PO_4^{3-} na HAP1aTH, que são 467 , 1034 e 1092 cm^{-1} ,

no compósito PHB/HAP1aTH (30/70) (antes do TH) se movem para 458, 1031 e 1095 cm^{-1} , respectivamente.

Fazendo-se uma comparação entre as posições dos picos do compósito PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH, tem-se que o pico em 1453 cm^{-1} , antes do TH, é deslocado para 1457 cm^{-1} , depois do TH.

Observa-se que uma banda relativa a carbonila, no espectro original do PHB em 1722 cm^{-1} , se encontra nesse espectro mais larga do que nos espectros dos compósitos PHB/HAP1aTH (30/70), antes e depois do TH. Como nos casos analisados anteriormente, esse alargamento se deve a uma contribuição da fase amorfa e da fase cristalina sobrepostas nessa banda no espectro do PHB. No espectro do compósito PHB/HAP1aTH (30/70) antes do TH, essa banda aparece mais estreita, indicando uma diminuição significativa da cristalinidade na fase PHB nesse compósito. No espectro do compósito após o TH pode se notar um pequeno estreitamento na forma dessa banda, em relação a do compósito antes do TH, o que pode indicar que a cristalinidade do PHB diminuiu após esse tratamento.

4.2.5 - AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES MECÂNICAS E ANÁLISE DAS REGIÕES DE FRATURA DOS COMPÓSITOS PHB/NANO-HAP UTILIZANDO HAP APÓS TRATAMENTO HIDROTÉRMICO

4.2.5.1 - DETERMINAÇÃO DA TENSÃO DE RUPTURA E MÓDULO DE ELASTICIDADE

Dos ensaios de compressão diametral, onde se testaram amostras dos compósitos PHB/nano-HAP (com HAP após TH) em diferentes proporções e do PHB puro, foram obtidos valores de tensão de ruptura a tração e do módulo de elasticidade. Esses valores estão dispostos na tabela 4.12. Observou-se que tanto os compósitos PHB/nano-HAP quanto o polímero puro apresentaram um comportamento frágil nesse tipo de ensaio.

Tabela 4.12- Valores de tensão na ruptura e módulo de elasticidade para o PHB puro e compósitos obtidos

Amostra	Tensão de ruptura, σ_r (MPa)	Módulo de Elasticidade, E^* (GPa)
PHB puro	13,3	1,72
PHB/HAP1dTH (70/30)	8,03	0,875
PHB/HAP1dTH (50/50) (lama)	1,33	0,706
PHB/HAP1dTH (30/70) (A)	5,47	2,28
PHB/HAP1dTH (30/70) (B)	5,57	3,00
PHB/HAP1dTH (30/70) (lama)	1,84	2,53

Os resultados da tensão de ruptura para os compósitos PHB/HAP apresentaram valores menores do que para o PHB puro, revelando uma maior fragilidade para os compósitos nesse tipo de ensaio. Os valores encontrados de tensão na ruptura para os compósitos onde se utilizou lama de HAP durante a sua produção se encontram muito baixos quando comparados aos demais compósitos. Em virtude da semelhança na natureza das rupturas nos ensaios, pode-se comparar os valores de tensão na ruptura a tração obtidos nos ensaios de compressão diametral com os valores de tensão na ruptura obtidos em ensaios de tração uniaxial. Sendo assim, o valor da tensão na ruptura para o PHB puro está na faixa

do osso trabecular (10-20 MPa), enquanto o valor para o compósito PHB/HAP1dTH (70/30) se encontra próximo a essa faixa.

Os valores do módulo de elasticidade dos compósitos PHB/HAP com relações aproximadas 70/30 e 50/50 se encontraram abaixo dos valores encontrados para o PHB puro e os demais compósitos. Porém, as amostras dos compósitos com relações aproximadas PHB/HAP 30/70 apresentaram os maiores valores para o módulo de elasticidade. Os valores do módulo de elasticidade encontrados não podem ser comparados diretamente com os reportados obtidos através de testes de compressão ou tração uniaxial, em virtude das diferenças nas aplicações das cargas nos testes uniaxial e diametral. Os mesmos geram respostas (deformações) em uma e duas dimensões, respectivamente. Porém, pode-se afirmar que o módulo de elasticidade calculado para um determinado material a partir de resultados em ensaios de compressão diametral será sempre menor do que o obtido a partir de resultados em ensaios de tração e compressão uniaxial.

De acordo com Chen e Wang (2000), se mostra de grande importância uma distribuição homogênea de partículas biocerâmicas em compósitos destinados a aplicações médicas. Quando há um desenvolvimento de camadas de apatita biológica entre essas partículas e o tecido circundante, as partículas uniformemente distribuídas fornecerão sustentação para a prótese enquanto a matriz polimérica se degrada. Além disso, uma distribuição homogênea dessas partículas é importante para o compósito apresentar uma alta performance mecânica.

4.2.5.2 - ANÁLISE DA REGIÃO DE FRATURA POR MEV

Micrografias da região de fratura obtidas a partir dos ensaios de compressão diametral para o PHB puro e os compósitos PHB/HAP1dTH 70/30 e PHB/HAP1dTH 30/70 (amostras A e B) podem ser vistas nas figuras 4.28, 4.29, 4.30 e 4.31, respectivamente.

As micrografias para o PHB puro (figura 4.28) mostram uma estrutura lamelar com elevada densificação.

Nas micrografias para o compósito PHB/HAP1dTH 70/30 (figura 4.29) pode se observar uma estrutura porosa devido a uma considerável concentração de HAP nesta região de fratura.

Para a amostra A do compósito PHB/HAP1dTH 30/70 (figura 4.30) observa-se de forma geral uma boa homogeneidade, porém com alguma segregação da fase polimérica.

Na figura 4.31 as fotos para a amostra B do compósito PHB/HAP1dTH 30/70 mostram boa homogeneidade e elevada porosidade (principalmente observada na foto com maior aumento), devido a fase apatítica presente.

A partir da observação das regiões de fratura nas micrografias das figuras 4.28 a 4.31, tem-se que principalmente para as amostras dos compósitos PHB/HAP1 (30/70) uma boa homogeneidade entre as fases, o que pode significar uma melhora na interface em relação as dos compósitos mostrados na figura 4.13.

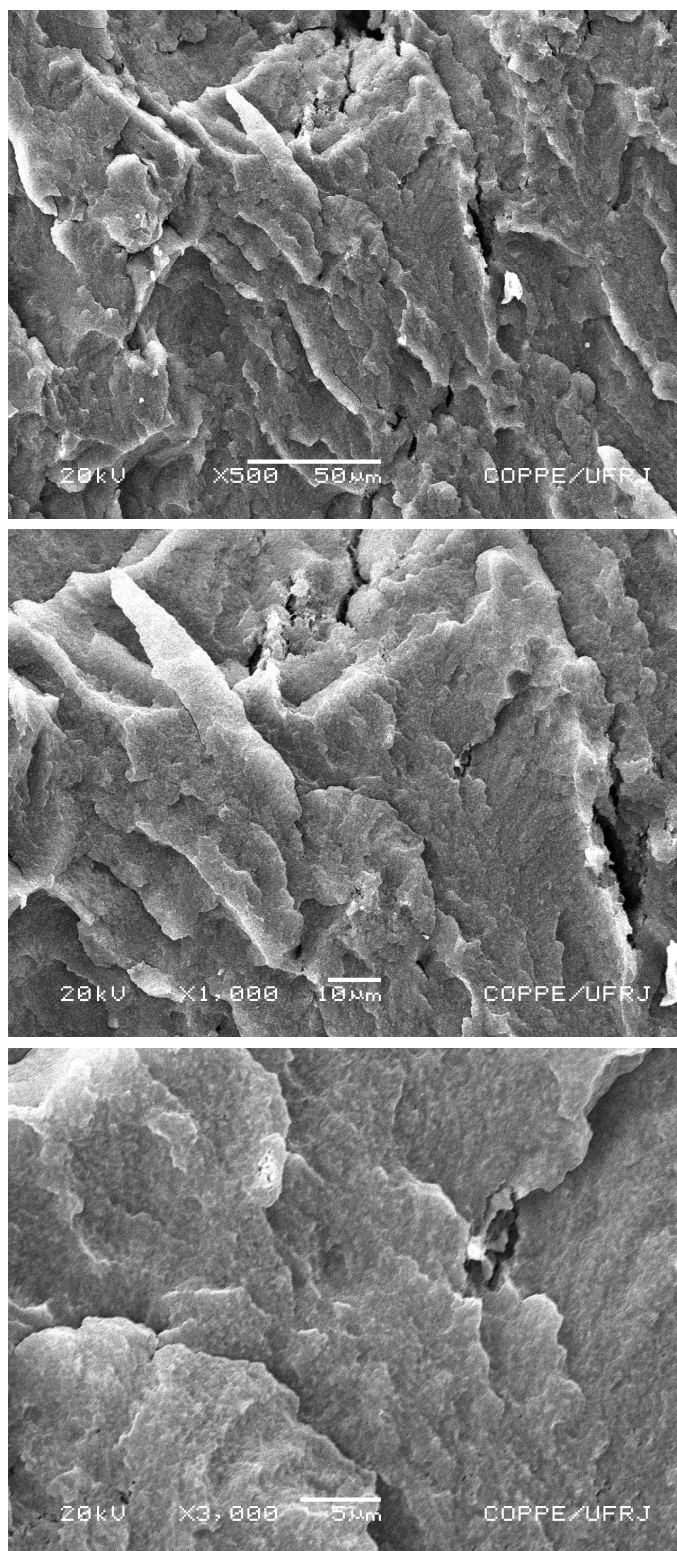


Figura 4.28- Micrografias por MEV para o PHB puro (com aumentos de 500X, 1000X e 3000X, respectivamente).

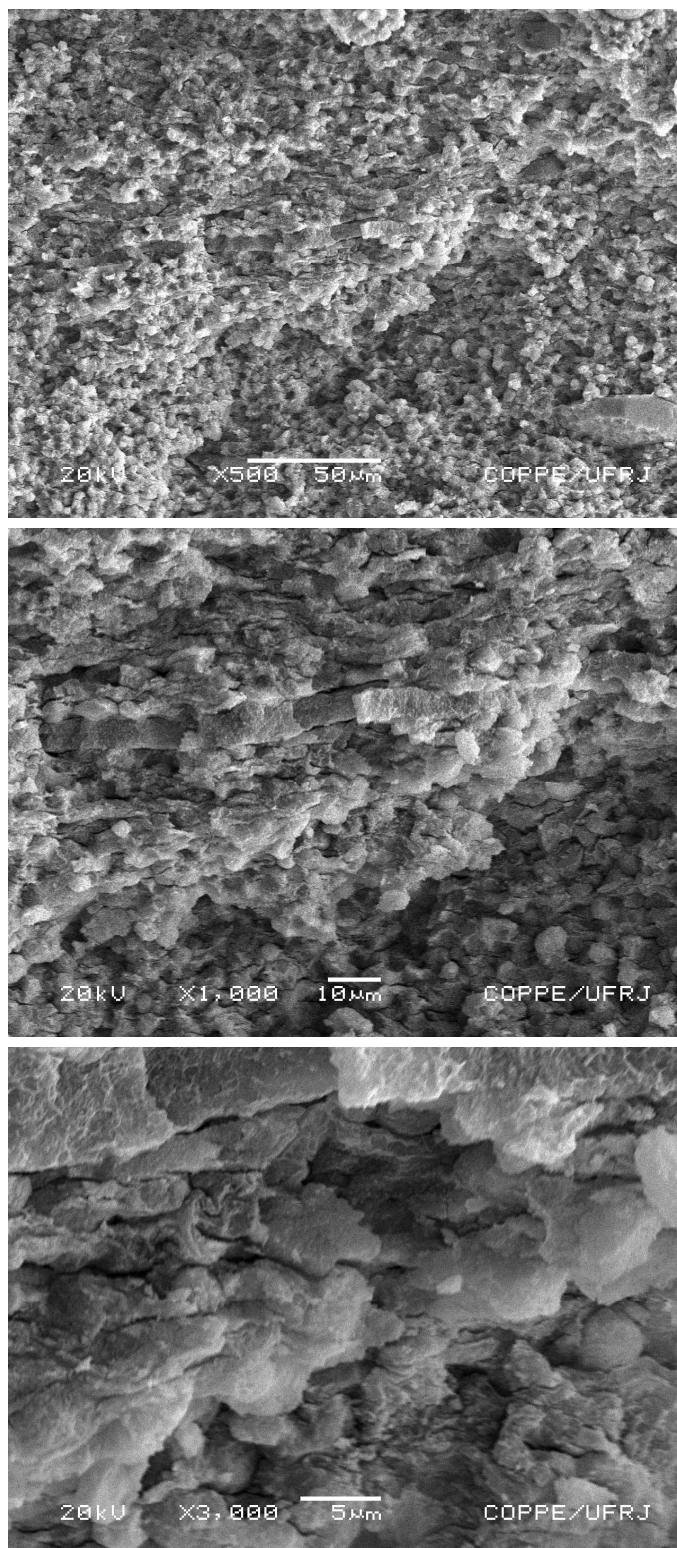


Figura 4.29- Micrografias por MEV para o compósito PHB/HAP1dTH (70/30) (com aumentos de 500X, 1000X e 3000X, respectivamente).

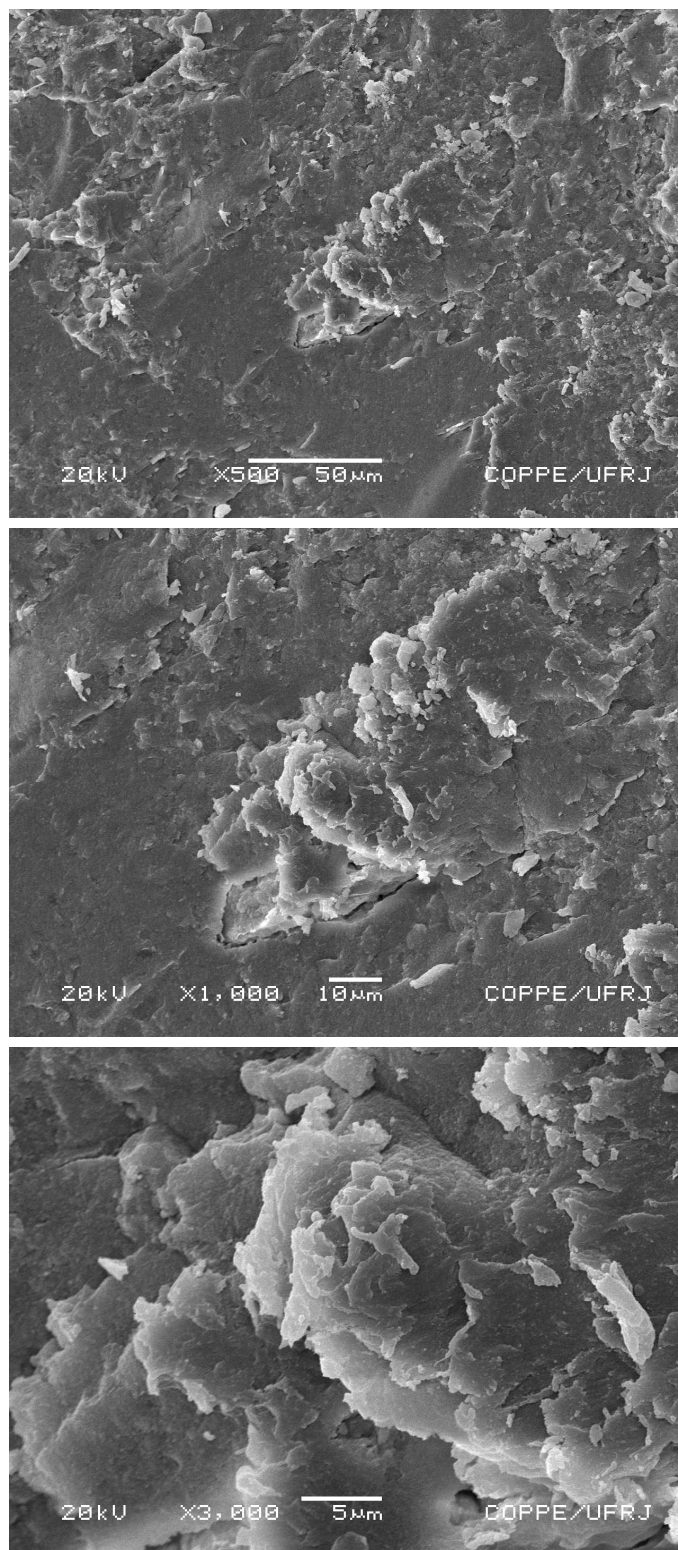


Figura 4.30- Micrografias por MEV para compósito PHB/HAP1dTH (30/70) (amostra A) (com aumentos de 500X, 1000X e 3000X, respectivamente).

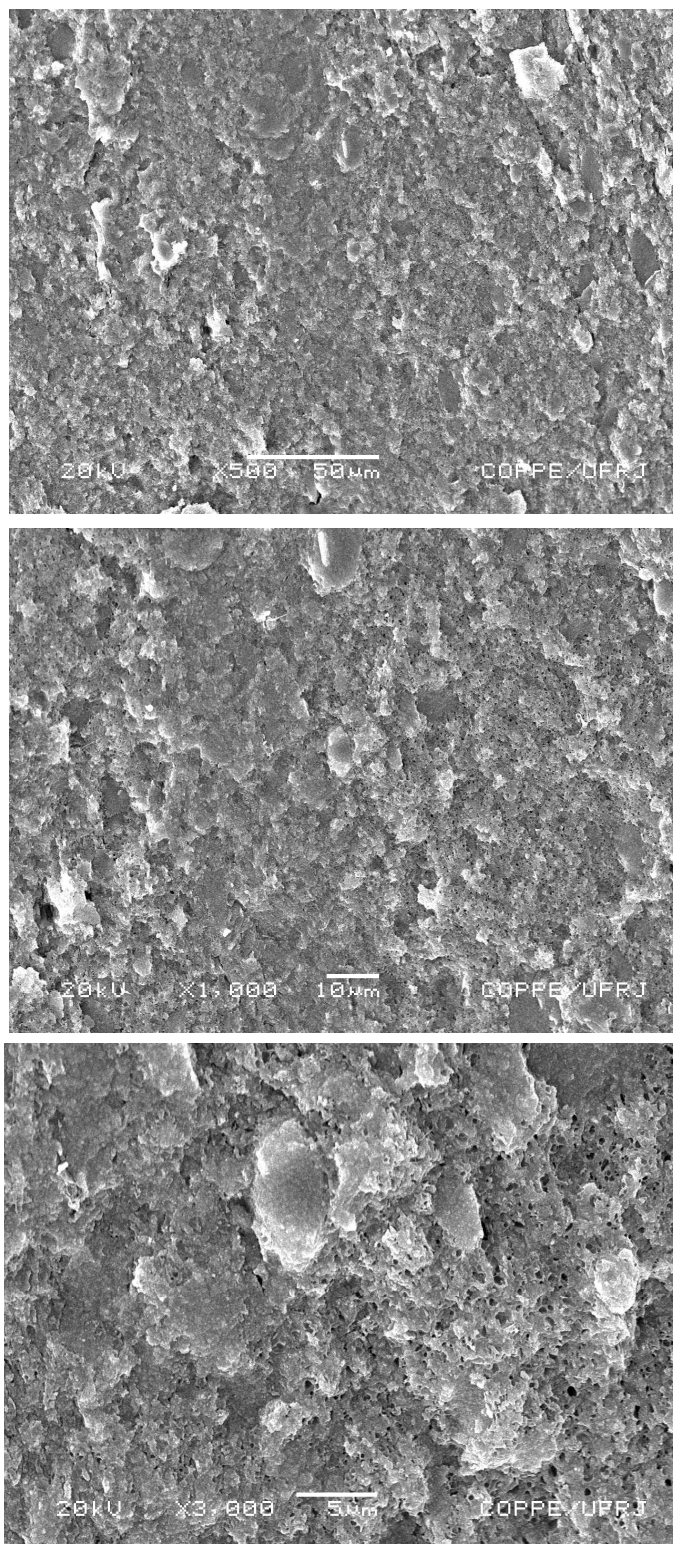


Figura 4.31- Micrografias por MEV para o compósito PHB/HAP1dTH (30/70) (amostra B) (com aumentos de 500X, 1000X e 3000X, respectivamente).

4.2.5.3 - AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADES VISCOELÁSTICAS

A realização da análise do compósito PHB/HAP1dTH(70/30) (com HAP depois do TH) e do PHB puro por DMA se mostra importante para um aprofundamento no estudo da interação entre as fases.

O módulo de armazenamento (E'), capacidade do material de armazenar energia mecânica sem dissipá-la, foi maior para o compósito PHB/HAP1dTH(70/30) em relação ao PHB puro (figura 4.32).

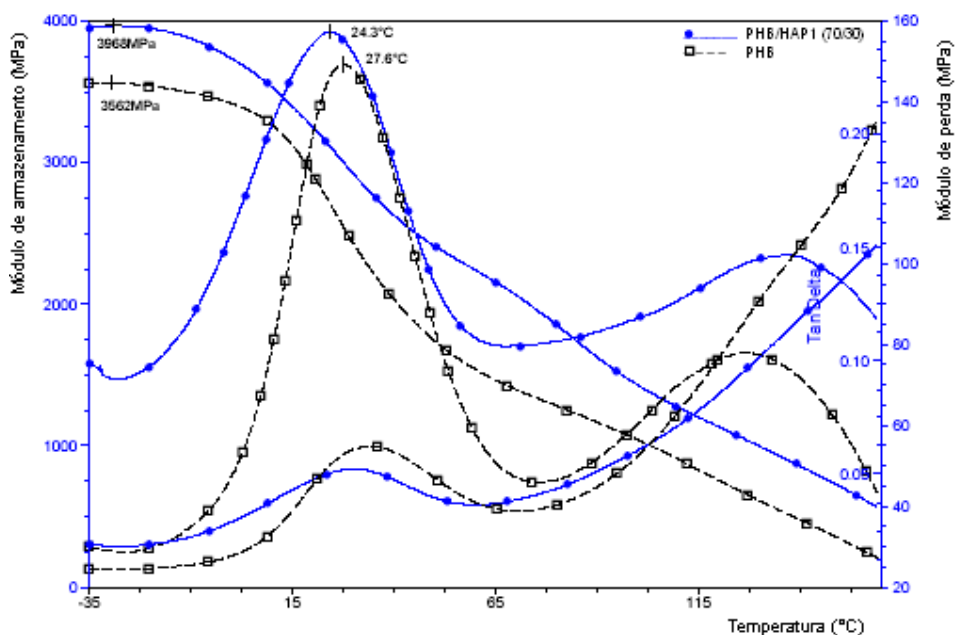


Figura 4.32- Resultados de DMA do compósito PHB/HAP1dTH (30/70) e do PHB puro.

O efeito que os nanocristais de HAP causam a fase PHB pode ser observado nas curvas do módulo de perda (E''). Entre 20-30°C, na região da transição vítrea observa-se na curva E'' uma maior largura, o que seria o indicativo da existência de diferentes microambientes no compósito PHB/HAP1dTH (30/70) pela presença da nano-HAP.

A temperatura de relaxação encontrada próxima a temperatura fisiológica (37°C) pode ser de grande importância em virtude do potencial desses materiais para aplicações clínicas (Mano et al.,1999). Esse fenômeno de dissipação pode melhorar a performance do implante quando sujeito a tensões cíclicas, que são

devidas aos movimentos dos pacientes em suas tarefas diárias. Nas curvas relativas a $\tan\delta$ (E''/E'), que quantifica a fricção interna (ou amortecimento), nota-se que entre 20-60°C a incorporação de ~30% (em massa) da HAP reduziu a capacidade de amortecimento do compósito. Uma possível explicação seria que a adição da HAP limita a mobilidade dos segmentos de cadeia da fase polimérica.

Tem-se que durante o ciclo de tensão, uma considerável quantidade de energia pode ser tida como dissipada na interface PHB-HAP em virtude da existência de ligação mecânica interfacial (Chen e Wang, 2002).

O módulo dinâmico (E^*) ($E' + iE''$) a 25°C para o PHB foi calculado como ~3,6 GPa, enquanto que para o compósito foi encontrado o valor de ~3,9 GPa. Na temperatura fisiológica os valores encontrados para esse módulo foram ~2,2 GPa para o PHB e ~2,8 GPa para o compósito.

Capítulo 5- Conclusões

A metodologia para obtenção de nanocristais de HAP utilizada, precipitação via úmida utilizando-se $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e NH_4OH em atmosfera de ar a 25°C e 80°C, seguida de tratamento hidrotérmico do precipitado, se mostrou eficiente, pois produziu HAP's carbonatadas similares em morfologia, tamanho de cristal e composição as encontradas no osso natural.

No que diz respeito a caracterização dos compósitos PHB/nano-HAP onde utilizou-se HAPdTH pode-se concluir:

A medida que a quantidade de HAPdTH aumenta na formulação dos compósitos PHB/HAPdTH tem-se uma tendência da temperatura de cristalização desse compósito ser menor do que a do PHB puro e de diminuição na cristalinidade da fase PHB. É importante notar-se que essa diminuição da cristalinidade do PHB no compósito PHB/nano-HAP em muito contribui para sua utilização como biomaterial, pois isso pode estar indicando uma maior taxa de degradação “in vivo” para esse compósito. As temperaturas de fusão para os compósitos em relação ao PHB puro diminuíram levemente e a porosidade do compósito aumentou com o aumento da quantidade da HAP incorporada a fase PHB.

Houveram indícios de que ocorreu formação de uma interface de interação entre as fases do compósito.

A avaliação mecânica dos compósitos com nano-HAP identificou a proporção PHB/HAP1dTH (30/70), onde utilizou-se a HAP seca, ao invés da lama de HAP, como a que obteve melhores performances em relação aos valores de módulo de elasticidade, comparando-se com as demais formulações.

Pelas micrografias de MEV pode-se observar em geral boa homogeneidade entre as fases PHB e HAP e se comprovar a obtenção de compósitos porosos.

Os compósitos PHB/nano-HAP (30-70) sintetizados utilizando-se HAP após o tratamento hidrotérmico podem ser considerados apresentarem uma maior interface e melhor interação (encaixe mecânico) entre as fases do que os compósitos PHB/HAP (com micropartículas de HAP de 100 µm de diâmetro) do trabalho anterior do grupo.

A boa homogeneidade e porosidade obtida para os compósitos, indica que a escolha do método de suspensão para a obtenção dos compósitos PHB/nano-HAP se mostrou válida para este caso em relação ao tradicional método de fusão, no qual

se mistura o pó de HAP mecanicamente com o PHB para se preparar um compósito PHB/HAP. Nesse último método é difícil assegurar alta quantidade de HAP no compósito com boa homogeneidade.

Quanto a caracterização dos compósitos PHB/nano-HAP onde utilizou-se HAPaTH, com posterior tratamento hidrotérmico do compósito concluiu-se:

Após o tratamento hidrotérmico do compósito a cristalinidade da fase HAP aparentemente aumentou e houve uma diminuição de cristalinidade da fase PHB no compósito.

O compósito PHB/nano-HAP 30-70 (em peso) com HAP antes do TH (e posterior TH) apresentou sinais de interação entre as fases.

De forma geral pode-se considerar que os compósitos formulados aparentemente se mostram promissores como biomaterial para enxertia óssea no que se refere a sua caracterização estrutural.

CAPÍTULO 6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afshar, A. et al. (2003). Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite. *Materials and Design*, 24:197-202.
- Alexandre, M., Dubois, P. (2000). Polymer-layered silicate nanocomposites: preparation, properties and uses of a new class of materials. *Materials Science and Engineering*, 28:1-63.
- Anderson, A. J., Dawes, E. A. (1990). Occurrence, metabolic role, and industrial use of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbiological Reviews*, 54 (4):450-472.
- Andrade, M. C. (1994). Cristalização hidrotérmica da hidroxiapatita. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Rio de Janeiro - RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 134 p.
- Ashok, M., Sundaram, N. M., Kalkura, S. N. (2003). Crystallization of hydroxyapatite at physiological temperature. *Materials Letters*, 57:2066-2070.
- Bakar, M. S. A., Cheang, P., Khor, K. A. (1999). Thermal processing of hydroxyapatite reinforced polyetheretherketone composites. *Journal of Materials Processing Technology*, 89-90:462-466.
- Bakar, M. S. A. et al. (2003). Tensile properties, tension-tension fatigue and biological response of polyetheretherketone- hydroxyapatite composites for load-bearing orthopedic implants. *Biomaterials*, 24:2245-2250.
- Black, J., Hastings, G. W. (1998). *Handbook of biomaterial properties*. London: Chapman and Hall.
- Bonfield, W. et al. (1981). Hydroxyapatite reinforced polyethylene – a mechanically compatible implant material for bone replacement. *Biomaterials*:185-186.
- Callister, W. D. (2000). *Ciência e engenharia dos materiais: uma introdução*. 5 ed. Rio de Janeiro: LTC S. A., 589 p.
- Campbel, I. M. (2000). *Introduction to synthetic polymers*. 2. ed. New York. Oxford University Press.
- Chang, M. C. et al. (2003a). Conformational change of hydroxyapatite/gelatin nanocomposite by glutaraldehyde. *Biomaterials*, 24:3087-3094.

- Chang, M. C. et al. (2003b). Preparation of hydroxyapatite-gelatin nanocomposite. *Biomaterials*, 24:2853-2862.
- Cheang, P., Khor K. A. (1996). Addressing processing problems associated with plasma spraying of hydroxyapatite coatings. *Biomaterials*, 17:537-544.
- Cheang, P., Khor K. A. (2003). Effect of particulate morphology on the tensile behaviour of polymer-hydroxyapatite composites. *Materials and Engineering A*, 345:47-54.
- Chen, F., Wang, Z. C., Lin, C. J. (2002). Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials. *Materials Letters*, 57:858-861.
- Chen, L. J., Wang, M. (2002). Production and evaluation of biodegradable composites based on PHB-PHV copolymer. *Biomaterials*, 23:2631-2639.
- Choi, W. M. et al. (2003). Preparation and characterization of poly(hydroxybutyrate co-hydroxyvalerate)-organoclay nanocomposites. *Journal of Applied Polymer Science*, 90:525-529.
- Cogswell, F. N. (1992). *Thermoplastic aromatic polymer composites*. Great Britain: Redwood Press Limited, 277p.
- Conz, M. B., Granjeiro, J. M., Soares, G. A. (2005). Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications as bone graft. *Journal of Applied Oral Science*, 13 (2):136-140.
- Deng, X., Hao, J., Wang, C. (2001). Preparation and mechanical properties of nanocomposites of poly(D, L-lactide) with Ca-deficient hydroxyapatite nanocrystals. *Biomaterials*, 22:2867-2873.
- Eanes, E. D. (1980). *Prog. Crystal Growth Caract.*, 3:3-15.
- Elliot, J. C. (1994). Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. *Studies in Inorganic Chemistry*, 18.
- Fulmer, M. T.; Martin, R. I.; Brown, P. W. (1992). Formation of calcium deficient hydroxyapatite at near-physiological temperature. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 3:299-305
- Galego, N. et al. (2000). Characterization and application of poly(β -hydroxyalkanoates) family as composite biomaterials. *Polymer Testing*, 19:485-492.

- Gardolinski, J. E. et al. (2000). Layered polymer-kaolinite nanocomposites. *Journal of Materials Science*, 35:3113-3119.
- Giannelis, E. P., Krishnamoorti, R., Manias, E. (1999). Polymer-silicate nanocomposites: model systems for confined polymers and polymer brushes. *Advances in Polymer Science*, 138:107-147.
- Hayek, E., Newesely, H. (1963). Pentacalcium monohydroxyorthophosphate (hydroxylapatite). *Inorganic Synthesis*, 7:63-65.
- Higashi, S. et al. (1985). Polymer-hydroxyapatite composites for biodegradable bone fillers. *Biomaterials*:183-187.
- Hong, Z. et al. (2004). Grafting polymerization of L-lactide on the surface of hydroxyapatite nano-crystals. *Polymer*, 45:6699-6706.
- Hu, Q. et al. (2004). Preparation and characterization of biodegradable chitosan/hydroxyapatite nanocomposite rods via in situ hybridization: a potencial material as internal fixation of bone fracture. *Biomaterials*, 25:779-785.
- Huang, M. et al. (2003). Synthesis and characterization of nano-HA/PA66 composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14:655-660.
- Jarcho, M. et al. (1976), Hydroxylapatite synthesis and characterization in dense polycrystalline form. *Journal of Materials Science*, 11:2027- 2035.
- Jie, W. et al. (2003). A study on nano-composite of hydroxyapatite and polyamide. *Journal of Materials Science*, 38:3303-3306.
- Jie, W., Yubao, L. (2004). Tissue engineering scaffold material of nano-apatite crystals and polyamide composite. *European Polymer Journal*, 40:509 -515.
- Jin, S., Gonsalves, K. E. (1999). Functionalized copolymers and their composites with polylactide and hydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 10:363-368.
- Kato, K. et al. (1997). In situ hydroxyapatite crystallization for the formation of hydroxyapatite/polymer composites. *Journal of Materials Science*, 32:5533-5543.
- Kay, M. I. et al. (1964). Crystal structure of hydroxyapatite. *Nature*, 204:1050-1055.
- Kikuchi, M. et al. (2001). Self organization mechanism in a bone-like hydroxyapatite/collagen nanocomposite synthesized in vitro and its biological reaction in vivo. *Biomaterials*, 22:1705-1711.

- Kikuchi, M. et al. (2004a). Biomimetic synthesis of bone-like nanocomposites using the self-organization mechanism of hydroxyapatite and collagen. *Composites Science and Technology*, 64:819-825.
- Kikuchi, M. et al. (2004b). Glutaraldehyde cross-linked hydroxyapatite/collagen self-organized nanocomposites. *Biomaterials*, 25:63-69.
- Koning, G. (1995). Physical properties of bacterial poly((R)-3-hydroxyalkanoates. *Canadian Journal of Microbiology*, 41 (1):303-309.
- Kornmann, X.. Synthesis and Characteristics of Thermoset-Clay Nanocomposites;
http://www.mb.luth.se/a_mpp/mpp_staff/Xavier.Kornmann/introduction.pdf;
acesso em 20/09/2003.
- Krajewsky, A. et al. (2005). Synthesis of carbonated hydroxyapatites: efficiency of the substitution and critical evaluation of analytical methods. *Journal of Molecular Structure*, 744 -747:221-228.
- Kweh, S. W. K., Khor, K. A., Cheang, P. (1999). The production and characterization of hydroxyapatite (HA) powders. *Journal of Materials Processing Technology*, 89-90: 373-377.
- Landi, E., Tampieri, A., Celloti, G. e Sprio, S. (2000). Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites. *Journal of the European Ceramic Society*, 20:2377-2387.
- Landi, E. et al. (2003). Carbonated hydroxyapatite as bone substitute. *Journal of the European Ceramic Society*, 23:2931-2937.
- Landi, E. et al. (2004). Influence of synthesis and sintering parameters on the characteristics of carbonate apatite. *Biomaterials*, 25:1763-1770.
- Lazic, S., Katanic-Popovic, J. , Zec, S. e Miljevic, N. (1996). Properties of hydroxyapatite crystallized from high temperature alkaline solutions. *Journal of Crystal Growth*, 165:124-128.
- Lazic, S. et al. (2001). The effect of temperature on the properties of hydroxyapatite precipitated from calcium hydroxide and phosphoric acid. *Thermochimica Acta*, 374: 13-22.
- Leite, H. M. E. (2004). Formulação e caracterização de matrizes de PHB para liberação controlada de fármacos. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF.

- Li, H. et al. (2003). Photo-crosslinking polymerization to prepare polyanhydride/needle-like hydroxyapatite biodegradable nanocomposite for orthopedic application. *Materials Letters*, 57:2848-2854.
- Liou, S. et al. (2003). Synthesis and characterization of needlelike apatitic nanocomposite with controlled aspect ratios. *Biomaterials*, 24:3981-3988.
- Liu, Q. et al. (1998). Polyacids as bonding agents in hydroxyapatite polyester-ether (PolyactiveTM 30/70) composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 9:23-30.
- Lorenzo, L. M. Rodríguez-, Regí, M. Vallet- (2000). Controlled crystallization of calcium phosphate apatites. *Chemistry of materials*, 12:2460-2465.
- Luklinska, Z. B., Bonfield, W. (1997). Morphology and ultrastructure of the interface between hydroxyapatite-polyhydroxybutyrate composite implant and bone. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8:379-383.
- Luo, P., Nieh, T. G. (1995). Sintesis of ultrafine hydroxyapatite particles by a spray dry method. *Materials Science and Engineering C3*:75-78.
- Mavropoulos, E. (1999). A hidroxiapatita como removedora de chumbo. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Rio de Janeiro - RJ, Fundação Oswaldo Cruz, 126 p.
- Mavropoulos, E. et al. (2003). Dissolution of calcium-deficient hydroxyapatite synthesized at different conditions. *Materials characterization*, 50:203-207.
- Meenan, B. J., Mc Clorey, C., Akay, M. (2000). Thermal analysis studies of poly(etheretherketone)/hydroxyapatite biocomposite mixtures. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 11:481-489.
- Miyake, M. et al. (1990). Synthetic carbonate apatites as inorganic cation exchangers. *J. Chem. Soc. Faraday Trans..* 86 (12):2303-2306.
- Moreira, M. F. (2000). Formulação e caracterização de biomateriais compósitos à partir de polímeros biodegradáveis para implantes ósseos. Monografia (Graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais). Campos dos Goytacazes, RJ - Universidade Estadual do Norte Fluminense – UENF, 67 p.
- Murugan, R., Rau, K. P., Kumar, T. S. S. (2003). Heat-deproteinated xenogeneic bone from slaughterhouse waste: physico-chemical properties. *Bull. Mater. Sci.*, 26 (5): 523-528.

- Murugan, R., Ramakrishna, S. (2005). Development of nanocomposites for bone grafting. *Composite Science and Technology*, 65:2385-2406.
- Nakahira, A. et al. (2002). Fracture behavior and biocompatibility evaluation of nylon-infiltrated porous hydroxyapatite. *Journal of Materials Science*, 37:4425-4430.
- Ni, J., Wang, M. (2002). In vitro evaluation of hydroxyapatite reinforced polyhydroxybutyrate composite. *Materials Science and Engineering*, 20:101-109.
- Orlovskii, V. P., Komlev, V. S., Barinov, S. M. (2002). Hydroxyapatite and hydroxyapatite-based ceramics. *Inorganic Materials*, 38(10):973-984.
- Park, J. B. (1987). *Biomaterials science and engineering*. New York: Plenum Press.
- Pereira, S. M. F. (2002). Biossíntese e caracterização de polihidroxibutiratos à partir de fontes renováveis. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Campos dos Goytacazes - RJ, Universidade Estadual do Norte Fluminense - UENF.
- Pezzoti, G. et al. (2002). In situ polymerization into porous ceramics: a novel route to tough biomimetic materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 13: 783-787.
- Pinchuk, N. D., Ivanchenko, L. A. (2003). Making calcium phosphate biomaterials. *Powder Metallurgy and Metal Ceramics*, 42 (7-8):357-371.
- Pinnavaia, T. J., Beall, G. W. (2000). *Polymer-clay nanocomposites*. John Wiley & Sons Ltd, England.
- Ramakrishna, S. et al. (2001). Biomedical applications of polymer-composite materials: a review. *Composites Science and Technology*, 61:1189-1224.
- Ray, S. S., Okamoto, M. (2003). Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Progress in Polymer Science*, 28:1539-1641.
- Rhee, S.-H., Suetsugu, Y., Tanaka, J. (2001). Biomimetic configurational arrays of hydroxyapatite nanocrystals on bio-organics. *Biomaterials*, 22:2843-2847.
- Rodríguez, R. S. et al. (2000). Morphological and mechanical characterization of polyhydroxybutyrate/hydroxyapatite as biomaterial composite. *Acta Microscopica*, 9 (A):7-8.
- Rosa, D. S. et al. (2002). Evaluation of PHB, PHB-V and PCL biodegradation in composted soil. *Polímeros*, 12 (4):311-317.

- Rusu, V. M. et al. (2005). Size –controlled hydroxyapatite nanoparticles as self-organized organic-inorganic composite materials. *Biomaterials*, 26:5414-5426.
- Sena, L. A. (2004). Produção e caracterização de compósitos hidroxiapatita-colágeno para aplicações biomédicas. Tese (Doutorado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) – Rio de Janeiro - RJ, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, 107 p.
- Paul, W., Sharma, C.P. (2003). Ceramic drug delivery: a perspective. *Journal of Biomaterials Applications*, 17:253-264.
- Sheldon, R. P. (1982). Composite polymeric materials. Applied science publishers ltd. London and New York, 213 p.
- Skrbic, Z., Divjakovic, V. (1998). Temperature influence on changes of parameters of the unit cell of biopolymer PHB. *Polymer*, 37 (3):505-507.
- Sousa, R. A. et al. (2003). Processing and properties of bone-analogue biodegradable and bioinert polymeric composites. *Composites Science and Technology*, 63:389-402.
- Suchanek, W., Yoshimura, M. (1998). Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. *Journal of Materials Research*, 13 (1):94-117.
- Tadic, D., Peters, F., Epple, M. (2002). Continuous synthesis of amorphous carbonated apatites. *Biomaterials*, 23:2553-2559.
- Tampieri, A. et al. (2000). Characteristics of synthetic hydroxyapatites and attempts to improve their thermal stability. *Materials Chemistry and Physics*, 64:54-61.
- Tang, S. M. et al (2004). Tension-tension fatigue behavior of hydroxyapatite reinforced polyetheretherketone composites. *International Journal of Fatigue*, 26:49-57.
- Thummler, F., Oberacker, R. (1993). An introduction to powder metallurgy. London.
- Ural, E. et al. (2000). Poly(D,L-lactide/ε-caprolactone)/hydroxyapatite composites. *Biomaterials*, 21:2147-2154.
- Vaia, R. A., Giannelis, E. P. (2001). Polymer composites: status and opportunities. *MRS Bulletin*:394-401.

- Vasconcelos, Y. (2002). Plástico de açúcar. *Pesquisa Fapesp*. 80:68-72.
- Wang, M., Deb, S., Bonfield, W. (2000). Chemically coupled hydroxyapatite-polyethylene composites: processing and characterization. *Materials Letters*, 44: 119-124.
- Wang, M., Bonfield, W. (2001). Chemically coupled hydroxyapatite-polyethylene composites: structure and properties. *Biomaterials*, 22:1311-1320.
- Wang, X. et al. (2002). Development of biomimetic nano-hydroxyapatite/poly(hexamethylene adipamide) composites. *Biomaterials*, 23:4787-4791.
- Wang, Y. W. et al. (2005). Evaluation of three-dimensional scaffolds made of blends of hydroxyapatite and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyhexanoate) for bone reconstruction. *Biomaterials*, 26:899 -904.
- Wei, G., Ma, P. X. (2004). Structure and properties of nano-hydroxyapatite/polymer composite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, 25:4749-4757.
- Yubao, L. et al. (1994a). Morphology and composition of nanograde calcium phosphate needle-like crystals formed by simple hydrothermal treatment. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 5:326-331.
- Yubao, L. et al. (1994b). Preparation and characterization of nanograde osteoapatite-like rod crystals. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 5:252-255.
- Yubao, L. et al. (1994c). Shape change and phase transition of needle-like non-stoichiometric apatite crystals. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 5:263-268.
- Zhang, S., Gonsalves, K. E. (1997). Preparation and characterization of thermally stable nanohydroxyapatite. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 8:25-28.
- Zhang, X., et al. (2006). Thermal and crystallization studies of nano-hydroxyapatite reinforced polyamide 66 biocomposites. *Polymer Degradation and Stability*, 91:1202-1207.

- Zhang, Y., Tanner, K. E. (2003). Impact behavior of hydroxyapatite reinforced polyethylene composites. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 14:63-68.
- Zhao, K., et al. (2003). Polyhydroxyalkanoate (PHA) scaffolds with good mechanical properties and biocompatibility. *Biomaterials*, 24:1041-1045.
- Zinn, M., Witholt, B., Egli, T. (2001). Occurrence, synthesis and medical application of bacterial polyhydroxyalkanoate. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53:5-21.