

MARIA CRISTINA DE CASTRO RIBEIRO

MESTRADO EM ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSOLUÇÃO DE HIDROXIAPATITE
EM
PRESENÇA DE CATIONES METÁLICOS

UNIVERSIDADE DO PORTO

1 9 9 4

**Aos meus pais,
ao Eduardo
e à Francisca**

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar gostaria de agradecer ao meu orientador, Prof. Mário Barbosa, pelo seu interesse, disponibilidade, amizade, paciência e oportunidades de trabalho que me proporcionou ao longo da realização desta dissertação.

Gostaria igualmente de agradecer ao Prof. Adélio Machado da Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, pelas suas sugestões e pela paciente e valiosa colaboração prestada na realização deste trabalho.

À Eng. Maria de Lurdes do Instituto Geológico e Mineiro desejo agradecer todo o valioso apoio prestado na realização dos estudos de difracção de raios X.

Ao Eng. Carlos Sá do Centro de Materiais da Universidade do Porto agradeço todo o apoio na realização do trabalho de microscopia electrónica de varrimento.

Ao Prof. Martyn Davies agradeço ter-me proporcionado a realização de um estágio no Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade de Nottingham.

Ao Andrew Tudor e Stuart Leadley da Universidade de Nottingham agradeço todo o apoio que me foi concedido na realização dos estudos de espectroscopia de Raman e infravermelho e de análise de superfícies.

À D. Nina Maio da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto agradeço a amizade sempre demonstrada e os ensinamentos e apoio prestados na realização das análises de espectrofotometria de absorção atómica e espectrofotometria de UV/Vísivel.

À Eng. Paula Silva da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto agradeço a contribuição dada na realização do trabalho de termogravimetria.

À Dra. Isabel Lopez Valero da firma Osteosynth agradeço ter-me facultado a utilização de um programa de cálculo termodinâmico.

Ao Instituto de Engenharia Biomédica e ao Departamento de Engenharia Metalúrgica da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto agradeço o acolhimento e as condições de trabalho que me proporcionaram para a realização deste trabalho de dissertação.

Gostaria de igual modo de agradecer a todos os meus familiares, amigos e colegas de trabalho que me incentivaram, ouviram e aconselharam durante a realização desta dissertação e que muito contribuíram para a sua concretização.

Finalmente gostaria de agradecer o apoio financeiro prestado quer pela JNICT, através da atribuição de uma bolsa de mestrado (BM/157/90-IC) e através do projecto 195/90, quer pela comunidade europeia, através do projecto BRITE/EURAM (BREU 0172C).

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS

ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABELAS.....	V
LISTA DE ABREVIATURAS.....	VII
INTRODUÇÃO.....	VIII
I SÍNTESE TEÓRICA.....	1
1.1. Estado actual dos conhecimentos.....	1
1.1.1. Biomateriais.....	1
1.1.2. Os metais usados como biomateriais	2
1.1.3. Os cerâmicos de fosfato de cálcio	4
1.1.4. A estrutura da hidroxiapatite.....	9
1.1.5. A hidroxiapatite usada como revestimento.....	10
1.1.6. Implicações da utilização de implantes revestidos.....	11
1.2. Técnicas Experimentais	14
1.2.1. Espectrofotometria de absorção atómica - atomização por chama	15
1.2.2. Espectrofotometria de UV/ Visível.....	16
1.2.3. Microscopia electrónica de varrimento - microanálise por dispersão de energias.....	17
1.2.4. Espectroscopia de Raman e Infravermelho.....	18
1.2.5. Análise de Superfícies	20
1.2.5.1. Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS).....	20
1.2.5.2. Espectroscopia de massa de iões secundários (SIMS)	21
1.2.6. Análise Termogravimétrica	23
1.2.7. Difracção de raios X.....	24
II MÉTODOS EXPERIMENTAIS	26
2.1. Materiais e soluções usadas	26
2.2. Descrição das experiências e da preparação das amostras.....	28
2.3. Técnicas Experimentais	29
2.3.1. Espectrofotometria de absorção atómica - atomização por chama	29
2.3.2. Espectrofotometria de UV/ Visível.....	30

2.3.3.	Microscopia electrónica de varrimento - microanálise por dispersão de energias.....	32
2.3.4.	Espectroscopia de Raman e de Infravermelho.....	32
2.3.5.	Análise de Superfícies	35
2.3.5.1.	Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS).....	35
2.3.5.2.	Espectroscopia de massa de iões secundários - tempo de voo (ToF-SIMS)	35
2.3.6.	Análise Termogravimétrica	35
2.3.7.	Difracção de raios X.....	36
III APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS.....		38
3.1.	Influência do meio na dissolução da hidroxiapatite.....	38
3.1.1.	Influência do pH.....	38
3.1.2.	Influência do ácido láctico como meio simulador de infecção	41
3.2.	Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da hidroxiapatite.....	43
3.2.1.	Dissolução.....	43
3.2.2.	Composição e estrutura.....	54
3.2.2.1.	Microscopia electrónica de varrimento - Microanálise por dispersão de energias.....	54
3.2.2.2.	Espectroscopia de Raman e Infravermelho	64
3.2.2.2.1.	Espectroscopia de Raman	64
3.2.2.2.2.	Espectroscopia de Infravermelho.....	72
3.2.2.3.	Análise de superfícies.....	75
3.2.2.3.1.	Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS).....	75
3.2.2.3.2.	Espectroscopia de massa de iões secundários - tempo de voo (ToF-SIMS).....	76
3.2.2.4.	Análise Termogravimétrica.....	80
3.2.2.5.	Difracção de raios X.....	86
IV DISCUSSÃO GERAL DOS RESULTADOS.....		101
4.1.	Hidroxiapatite.....	101
4.2.	Influência do pH e do meio na dissolução da hidroxiapatite	102
4.3.	Influência dos cátions Ti Al e V na dissolução da hidroxiapatite.....	104
4.4.	Observações globais	114
V CONCLUSÕES		117
VI SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO		120
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		121
ANEXO A		130
ANEXO B.....		134

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1- Diagrama de energia representativo do efeito de Raman.	19
Fig. 2 - Representação esquemática da câmara Debye-Scherrer.....	25
Fig. 3 - Representação esquemática de uma película de filme após ensaio.....	25
Fig. 4 - Distribuição granulométrica do pó de hidroxiapatite.....	27
Fig. 5 - Curva de calibração de fósforo.	31
Fig. 6 - Esquema da preparação de amostras em pó para análise por espectroscopia de Raman.	33
Fig. 7 - Influência do pH na dissolução da HAp.....	38
Fig. 8 - pH final versus pH inicial.....	39
Fig. 9 - Influência da concentração de ácido láctico na dissolução da HAp.	41
Fig. 10 - Comportamento de dissolução da HAp nos dois meios distintos.....	42
Fig. 11 - pH final versus pH inicial (soluções com ácido láctico).	42
Fig. 12 - Influência da concentração de Ti na dissolução da HAp.	43
Fig. 13 - Variação do pH com a concentração inicial de catião Ti.	44
Fig. 14 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de 500 ppm de catião Ti.....	44
Fig. 15 - Influência do catião Ti na dissolução da HAp (gráfico comparativo).	45
Fig. 16 - Influência do catião Al na dissolução da HAp.....	46
Fig. 17 - Variação do pH com a concentração inicial de catião Al.....	47
Fig. 18 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de catião Al (500 ppm).....	48
Fig. 19 - Influência do catião Al na dissolução da HAp (gráfico comparativo).....	48
Fig. 20 - Influência do catião V na dissolução da HAp.....	49
Fig. 21 - Variação do pH com a concentração inicial de catião vanádio.....	50
Fig. 22 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de catião V (500 ppm).	51

Fig. 23 - Influência do cátion vanádio na dissolução da HAp (gráfico comparativo).....	52
Fig. 24 - Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da HAp ([Ca]).....	53
Fig. 25 - Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da HAp ([P]).....	53
Fig. 26 - Comparação das curvas pH final versus pH inicial para os três cátions metálicos.....	54
Fig. 27 - Espectros EDS de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em: a) solução 0,9% NaCl; b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de cátion Ti.....	55
Fig. 28 - Ca/P e Ti/P versus concentração inicial de cátion Ti.....	56
Fig. 29 - Espectros EDS de pós obtidos após incubação de HAp em: soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de cátion Ti: a) tempo de incubação de 5 min.; b) tempo de incubação de 10 dias.....	57
Fig. 30 - Espectro EDS da amostra designada por "mistura" (tempo de incubação: 10 dias).....	58
Fig. 31 - Espectros EDS de zonas distintas de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de cátion Al.....	59
Fig. 32 - Ca/P e Al/P versus concentração inicial de cátion Al.....	59
Fig. 33 - Espectros EDS de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em: a) solução 0,9% NaCl; b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de cátion Al.....	60
Fig. 34 - Espectros EDS de pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de cátion Al: a) tempo de incubação 5 min.; b) tempo de incubação 10 dias.....	61
Fig. 35 - Cristais de Sulfato de Cálcio.....	62
Fig. 36 - Ca/P e V/P versus concentração inicial de cátion V.....	62
Fig. 37 - Espectros EDS de zonas distintas de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em: a) e b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de cátion V; c) solução 0,9% NaCl.....	63
Fig. 38 - Sobreposição dos espectros de Raman de: HAp; hidróxido de cálcio; fosfato tricálcico- β ; mistura (80:20) de fosfato tricálcico- β e hidróxido de cálcio; carbonato de cálcio.....	65
Fig. 39 - Sobreposição dos espectros de Raman de pós de HAp com diferentes percentagens de fase cristalina. As percentagens de fase cristalina diminuem pela ordem: verde, vermelho e azul.....	66
Fig. 40 - Sobreposição dos espectros de Raman da HAp e de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de cátion Ti.....	67

Fig. 41 - Sobreposição dos espectros de Raman da HAp e de pós obtidos após diferentes tempos de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.....	68
Fig. 42 - Espectros de Raman de: a) mistura sólida (1:1) de TiO_2 e HAp; b) mistura sólida (1:1) de TiO_2 e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti; c) TiO_2	70
Fig. 43 - Sobreposição dos espectros de Raman da amostra designada por "mistura" (a vermelho) e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% de NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (a verde).....	71
Fig. 44 - Sobreposição dos espectros da amostra designada por "mistura" obtida após diferentes tempos de incubação: 2h (a vermelho), 120h (a verde), 240h (a azul).....	71
Fig. 45 - Sobreposição do espectro de infravermelho da HAp (a vermelho) com o correspondente espectro de Raman (a verde).	73
Fig. 46 - Sobreposição dos espectros de infravermelho da HAp (a vermelho) e do pó obtido após 2h de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (a verde).	73
Fig. 47 - Sobreposição dos espectros de infravermelho da HAp (a vermelho) e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (a verde).	74
Fig. 48 - Espectros ToF-SIMS de iões positivos de a) HAp; b) pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 200 ppm de catião Ti; c) idem com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.	77
Fig. 49 - Espectros ToF-SIMS de iões negativos de: a) HAp m/z 0-100; b) HAp m/z 100-200; c) pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 200 ppm de catião Ti; d) idem com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.	79
Fig. 50 - Curvas TG/DTG - HAp.	80
Fig. 51 - Curvas TG/DTG - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	81
Fig. 52 - Curvas TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.....	82
Fig. 53 - Curvas TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Al.....	83
Fig. 54 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 500 ppm.....	85
Fig. 55 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 1000 ppm.....	85
Fig. 56 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 2000 ppm.....	86
Fig. 57 - Radiogramas de: a) HAp; b) HAp incubada em solução 0,9% NaCl por	

um período de 10 dias; c) idem por um período de 230 dias.....	88
Fig. 58 - Radiogramas da: a) HAp; b) HAp após aquecimento a 1000°C durante 1h.....	88
Fig. 59 - Difractograma da: a) HAp; b) HAp após aquecimento a 1000°C durante 1h.....	89
Fig. 60 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti e do pó designado por "mistura", obtido após igual tempo de incubação.....	90
Fig. 61 - Difractogramas dos pós obtidos após 230 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti e do pó designado por "mistura", obtido após igual tempo de incubação.....	90
Fig. 62 - Radiogramas dos pós obtidos após 230 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti, da HAp e do pó designado por "mistura", obtido após igual tempo de incubação.	91
Fig. 63 - Radiogramas dos pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti, por um período de: a) 5 dias; b) 10 dias; c) 230 dias.....	92
Fig. 64 - Difractogramas dos pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti: a) 37°C; b) 65°C.	93
Fig. 65 - Difractogramas dos pós obtidos após aquecimento a 1000°C da amostra designada por "mistura" e das fases provenientes de 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.....	95
Fig. 66 - Difractogramas dos pós obtidos após aquecimento a 100°C(b)) e a 250°C(c)) dos sólidos obtidos após 379 dias de incubação de HAp em solução de 0,9% NaCl com uma concentração de catião Ti de 500 ppm, e do sólido não aquecido (a)).....	96
Fig. 67 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl, com diferentes concentrações de catião Al.	97
Fig. 68 - Radiogramas de: a) HAp b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de catião Al por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.	97
Fig. 69 - Difractogramas de: a) HAp; b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de catião Al por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.....	98
Fig. 70 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião V.....	99
Fig. 71 - Radiogramas de: a) HAp; b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de catião V por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.	100
Fig. 72 - Difractogramas de: a) HAp; b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de catião V por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.....	100

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Níveis de metais (ppm) em tecidos adjacentes a implantes (l.d.-limite de detecção).....	3
Tabela 2 - Concentração (ppm) de alguns elementos metálicos no sangue, plasma e soro humano (adaptada de referência 21).....	3
Tabela 3 - Composição de diferentes fosfatos de cálcio e respectivos produtos de solubilidade a 37°C [23, 24].....	6
Tabela 4 - Técnicas analíticas utilizadas no desenvolvimento experimental do tema de dissertação e objetivos da sua utilização.	14
Tabela 5 - Concentração (ppm) de elementos metálicos pesquisados no pó de hidroxiapatite.	26
Tabela 6 - Preparação do reagente de desenvolvimento de côr.	31
Tabela 7 - Condições instrumentais usadas na obtenção dos difractogramas.....	36
Tabela 8 - Sobressaturações β da brushite (DCPD), monetite (DCP), fosfato octacálcico (OCP) e fosfato tricálcico amorfo (TCPA), em função do pH, a 37°C.	40
Tabela 9 - Concentração de catião Al na fase líquida após incubação.....	46
Tabela 10 - Concentração de catião Al na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião Al de 500 ppm).....	48
Tabela 11 - Concentração de catião V na fase líquida após incubação.	50
Tabela 12 - Concentração de catião V na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião V de 500 ppm).	51
Tabela 13 - Valores experimentais das relações elementares Ca/P, Ti/P, P/O, Ti/Ca, Ti/(Ca+Ti), P/(Ca+Ti), para diferentes concentrações de catião Ti.....	75
Tabela 14 - Valores experimentais das relações elementares Ca/P, Ti/P, P/O, Ti/Ca, Ti/(Ca+Ti), P/(Ca+Ti), para diferentes tempos de incubação.....	76
Tabela 15 - Relação de áreas dos picos de Ti e Ca para pós obtidos após incubação de HAP em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.....	78

Tabela 16 - Relação de áreas dos picos de Ti e Ca para pós obtidos após incubação de HAp por diferentes períodos de tempo, em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.....	78
Tabela 17 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti e pó designado por "mistura".....	82
Tabela 18 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Al.....	84
Tabela 19 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião V.....	84
Tabela 20 - Valores das distâncias recticulares do espectro da HAp, intensidades (mF-muito forte, F-forte, m-média, f-fraca) e índices dos planos.....	87
Tabela 21 - Dados comparativos dos compostos caracterizados em [90] e do composto em estudo.....	93
Tabela 22 - Fases cristalinas identificadas nos pós submetidos a ciclo térmico.	95
Tabela 23 - Número previsível de moléculas de água para cada perda média de peso observada (situação I).....	108
Tabela 24 - Número previsível de moléculas de água para cada perda média de peso observada (situação II)	110

LISTA DE ABREVIATURAS

OCP	- Octacalcium phosphate
DCPD	- Dicalcium phosphate dihydrate
HAp	- Hidroxiapatite
β -TCP	- β -Tricalcium phosphate
TCPM	- Tetracalcium phosphate monoxide
BCP	- Bifasic calcium phosphate
ACP	- Amorphous calcium phosphate
UV	- Ultra Violeta
XPS	- X ray Photoelectron Spectroscopy
Tof-SIMS	- Time of flight - Secondary Ion Mass Spectrometry
EDS	- Energy Dispersive Spectroscopy
WDS	- Wavelength Dispersive Spectroscopy
ESCA	- Electron Spectroscopy for Chemical Analysis
TG	- Termogravimetria
ATG	- Análise termogravimétrica
Nd-YAG	- Neodymium doped-Yttrium Aluminum Garnet
TCPA	- Tricalcium phosphate amorphous
Kps	- Constante de produto de solubilidade
MEV	- Microscopia Electrónica de Varrimento
JCPDS	- Joint Commitee on Powder Diffraction Standards
PDF	- Powder Diffraction File

INTRODUÇÃO

De entre os fosfatos de cálcio bioactivos, a hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) tem sido extensivamente estudada como material de substituição óssea. Este composto apresenta boas características de biocompatibilidade, quando implantado quer em tecidos moles, quer em tecidos duros, conduzindo a uma forte e íntima ligação com o osso. A principal limitação na sua utilização clínica como implante de sustentação de carga, deve-se à fragilidade mecânica que apresenta. Contrariamente, os metais e ligas metálicas usadas em implantologia, em que se inclui o titânio e suas ligas, possuem propriedades mecânicas superiores às da hidroxiapatite. São, no entanto, conhecidos resultados experimentais que evidenciam que, apesar do excelente comportamento à corrosão destes materiais, se verifica a ocorrência de processos activos de dissolução *in vivo*. Os iões metálicos assim libertados interferem com a dissolução dos cristalitos de hidroxiapatite presentes no tecido ósseo que rodeia os implantes, provocando o aparecimento de estados de hipocalcemia e hiperfosfatémia, bem como a ocorrência de condrocalcinose e hemocromatose.

Uma forma de se ter um compromisso entre propriedades mecânicas e bioactividade, consiste na utilização da hidroxiapatite sob a forma de um fino revestimento aplicado sobre um substrato metálico. O comportamento a longo prazo deste tipo de implantes depende de uma baixa dissolução da hidroxiapatite e da integridade da interface metal-revestimento. Uma diminuição do pH associada à ocorrência de processos inflamatórios ou infecciosos que acompanham o processo de implantação, pode ter, no entanto, graves consequências na estabilidade do revestimento, bem como na própria hidroxiapatite como principal constituinte mineral ósseo. Por sua vez, a presença de ácido láctico, um dos produtos resultantes quer da actividade osteoclástica, quer do metabolismo das bactérias em meio infectado, pode também, de alguma forma, influenciar a dissolução do referido cerâmico.

Um outro factor de grande importância a ter em conta na integridade da

interface e do revestimento em próteses metálicas, consiste na ocorrência de libertação de íons metálicos como consequência da corrosão do substrato. Apesar da crescente utilização de próteses ortopédicas revestidas com hidroxiapatite, são escassas as informações sobre o modo como os cátions assim libertados poderão influenciar a estabilidade da hidroxiapatite.

Os objectivos gerais do trabalho desenvolvido e descrito nesta dissertação consistiram em:

- Determinar a influência do meio na dissolução da hidroxiapatite:
 - influência do pH,
 - influência da presença de ácido láctico como meio simulador de infecção.
- Determinar a influência dos íons titânio(IV), alumínio(III) e vanádio(IV), na:
 - cinética de dissolução,
 - composição e
 - estrutura cristalina,de partículas de hidroxiapatite (acção sobre o revestimento e sobre o osso).

Esta dissertação encontra-se organizada da seguinte forma: no primeiro capítulo é feita uma abordagem teórica do tema bem como das técnicas experimentais utilizadas; no segundo capítulo são referidos os materiais e soluções usadas bem como a preparação das amostras e as condições em que decorreu o trabalho experimental. Seguidamente (capítulo três), são apresentados e comentados os resultados obtidos, sendo feita a discussão geral dos mesmos no capítulo quarto. Por fim, são apresentadas as conclusões retiradas deste trabalho, sendo igualmente indicadas sugestões para trabalhos futuros.

I SÍNTESE TEÓRICA

1. 1. Estado actual dos conhecimentos

1.1.1. Biomateriais

Segundo a definição acordada por consenso na conferência da Sociedade Europeia de Biomateriais realizada em Chester em 1986, um biomaterial consiste num material não vivo usado como instrumento médico, com a finalidade de interagir com sistemas biológicos [1]. A utilização de um biomaterial tem como objectivo substituir uma parte ou uma função do organismo de uma forma segura, económica e fisiologicamente aceitável [2].

Quando o biomaterial é colocado no corpo humano, estabelece-se um contacto com os tecidos vivos de que resulta a criação de pelo menos uma interface entre o material e o sistema biológico [3]. É a estabilidade a longo prazo desta interface que determina o sucesso ou insucesso de um implante.

De acordo com Hench [2], o biomaterial “ideal” para implantes será aquele que se comporta como se fosse equivalente ao tecido onde é inserido. Esta sua afirmação pressupõe dois axiomas por si propostos:

- o tecido na interface deverá ser o tecido normal do receptor;
- a resposta do material a um estímulo físico deverá ser idêntica à do tecido que substitui.

Os biomateriais podem interagir passivamente com o meio fisiológico em que são inseridos ou podem sofrer alterações microestruturais e químicas que, por sua vez, conduzirão a uma modificação da natureza da interface. De modo semelhante, a presença de um material protésico pode perturbar o ambiente biológico, gerando um meio de natureza diferente. Na prática, a resposta adversa do receptor é frequentemente um factor fortemente limitativo à aplicação de biomateriais [4].

1.1.2. Os metais usados como biomateriais

De entre os materiais passíveis de serem usados em implantologia, destacam-se os materiais metálicos. A filosofia do seu desenvolvimento e aplicação é baseada essencialmente em duas condições:

- elevada resistência mecânica;
- baixa velocidade de degradação no organismo.

A resistência mecânica que os metais apresentam, torna-os insubstituíveis para a maior parte das aplicações ortopédicas, apesar dos recentes desenvolvimentos na área dos cerâmicos e polímeros. São exemplos destes materiais, os aços inoxidáveis, as ligas de cobalto, e o titânio e suas ligas (sendo a liga mais vulgarmente usada a Ti-6Al-4V), cuja elevada resistência à corrosão se deve à formação e manutenção de camadas superficiais de óxidos protectores. Os seus principais campos de aplicação consistem em próteses da anca e do joelho e placas de osteossíntese. No entanto, o corpo humano constitui um ambiente muito agressivo para estes materiais, conduzindo frequentemente ao seu insucesso prematuro, devido a fenómenos de corrosão, desgaste, ou combinação de ambos. Por sua vez, estes processos são responsáveis pela libertação de iões tóxicos, que se acumulam nos tecidos em torno do implante e se dispersam por outras partes do corpo, com consequências nefastas para o organismo. Aspectos como a natureza da libertação dos iões metálicos, a sua distribuição e os efeitos biológicos por si provocados, constituem actualmente assuntos de preocupação constante para a comunidade científica e médica.

Muitos têm sido os estudos, realizados *in vitro* [5-11] e *in vivo* [12-16], com o objectivo de avaliar o comportamento de metais e ligas usadas na concepção de implantes. Nos estudos *in vivo*, células sanguíneas, soro e urina, são utilizados como indicadores de fácil acesso da libertação e transporte de iões metálicos. Um outro método de avaliação desta mesma libertação, consiste na análise de tecidos retirados da zona em contacto com o implante. Resultados experimentais *in vivo*, revelaram a presença de elementos metálicos nestes tecidos, devida quer a fenómenos de desgaste, quer à ocorrência de processos activos de dissolução superficial [17]. Em termos clínicos, verifica-se que muitos pacientes apresentam sensibilidade aos metais constituintes das próteses, com a consequente ocorrência de respostas inflamatórias agudas e, por vezes, a formação de células gigantes de corpo estranho. Estes factos provocam um efeito adverso no comportamento do implante com o aparecimento de dor, inchaço, necrose dos tecidos e, em alguns

casos, desprendimento do mesmo [18]. Os iões metálicos libertados de materiais usados em implantologia, podem ainda afectar as funções imunológicas. Bravo e colaboradores [19], mostraram, em estudos realizados *in vitro*, que o estímulo da proliferação dos linfócitos era alterado pela presença de Co, Ni ou Fe no meio.

Na tabela 1 são apresentados valores de concentração de elementos metálicos libertados de próteses ortopédicas, em tecidos envolvendo implantes. Na tabela 2, estão representadas as concentrações de alguns elementos metálicos no plasma, sangue e soro humano [21].

Tabela 1 - Níveis de metais (ppm) em tecidos adjacentes a implantes (l.d.-limite de detecção).

Material de implante	Ti	Fe	Co	Cr	Ni
Ti [12]	2000				
[20]	< l.d.				
	73000				
316 L [20]		300- 20000		< l.d. -10000	< l.d. 1400
Co-Cr-Mo [20]		90- 3650	< l.d. 2200	< l.d. 10200	< l.d. 1500

Tabela 2 - Concentração (ppm) de alguns elementos metálicos no sangue, plasma e soro humano (adaptada de referência 21).

Elemento	Sangue	Plasma	Soro
Al	0,39	0,32	0,23
Fe	447	1,1	1,09
Cr	0,006 - 0,11	0,026 - 0,16	0,002 - 0,02
Ni	0,01 - 0,05	0,054	0,003
Co	0,0002 - 0,04	0,00007 - 0,012	0,0002-0,062
Mo	0,001	0,013	0,006
Ti	0,054	0,01 - 0,11	0,09
V	< 0,00002	0,056	0,000066

A questão da toxicidade *in vivo* dos implantes cirúrgicos constitui, no entanto, um assunto de difícil abordagem, dado que as respostas tóxicas nem sempre ocorrem na zona de implantação, mas sim em órgãos de eliminação ou acumulação dos elementos considerados nefastos, como os pulmões ou o fígado. Por exemplo, Woodman e colaboradores [22] observaram a existência de elevados níveis de titânio nos pulmões, baço, e fígado, bem como a presença de nodos linfáticos, em animais com implantes de titânio. Os mesmos autores verificaram, também, um aumento substancial e progressivo da quantidade de alumínio nos

pulmões e nodos linfáticos de macacos com implantes porosos de liga de titânio.

1.1.3. Os cerâmicos de fosfato de cálcio

O recente progresso na ciência cerâmica resultou no desenvolvimento de uma ampla escolha de materiais com propriedades químicas, físicas e mecânicas que os tornam adequados para implantações de longo prazo em organismos vivos. São exemplo destes materiais os cerâmicos de fosfatos de cálcio, cujo potencial osteogénico foi reportado ao início dos anos vinte, mas que somente nos anos sessenta começaram a ser extensivamente investigados para aplicações ortopédicas e dentárias [23]. O interesse na sua utilização resulta da perfeita biocompatibilidade e bioactividade que apresentam, da possibilidade de biodegradação [24] e da sua semelhança em composição com a apatite biológica, se bem que o mineral ósseo apresente uma composição mais complexa, pois, para além de iões cálcio e fosfato, contém ainda iões hidrogenofosfato, carbonato, magnésio, sódio, e numerosos elementos vestigiais [25]. Nas interfaces dos implantes de fosfato de cálcio, o osso encontra-se geralmente ligado directamente à superfície do implante, sem que se verifique a intervenção de uma camada de tecido fibroso [3].

Os cerâmicos de fosfato de cálcio podem ser produzidos com propriedades próximas das dos tecidos duros, por exemplo: tensões compressivas da ordem dos 5000 kg/cm² (esmalte 3500 kg/cm²), e macroporosidades com valores variando de aproximadamente zero (esmalte) até mais de 50% (osso esponjoso) [26]. Não é, portanto, surpreendente que estes materiais possam ser utilizados para substituir a maior parte dos tecidos duros.

Outras características vantajosas que apresentam incluem [23]:

- componentes químicos normais para os ambientes biológicos;
- oportunidade de ligação a tecidos duros e moles;
- condução mínima de calor;
- introdução de uma barreira física e química quando usados como revestimento;
- propriedades mecânicas de elasticidade relativamente semelhantes às do osso;

- controlo das velocidades de degradação *in vivo* através das propriedades do material;
- oportunidade de adicionar biomoléculas às superfícies e influenciar as respostas dos tecidos.

No entanto, não se podem esquecer as suas possíveis limitações [27]:

- baixa resistência mecânica à fadiga e à fractura para algumas formas estruturais;
- biodegradação sob condições biológicas e materiais adversas;
- susceptibilidade a alguns procedimentos de esterilização e manuseamento;
- baixa adesão substrato-revestimento.

A escolha do tipo e forma de material, oferece uma vasta variedade de composições de implante e configurações de acordo com aplicações clínicas específicas [28]:

1) Materiais para substituição:

- i) Enchimento - aplicações em que não se espera que o material de enxerto possua uma função mecânica inicial;
- ii) Substituição - aplicações em que se exige ao material uma função mecânica;

2) Materiais de fixação de fracturas;

3) Revestimentos para fixação;

4) Implantes administradores de medicamentos - aplicações em que o implante liberta localmente substâncias activas.

Na tabela 3 estão referidos os principais fosfatos de cálcio. Estes materiais são essencialmente caracterizados pela sua razão atómica Ca/P, sendo a sua actividade metabólica tanto maior quanto menor for esta razão [23]. Os fosfatos de cálcio de relação Ca/P mais reduzida (OCP, DCPD), são muito solúveis e a sua biodegradabilidade é mais rápida que a formação de um novo tecido duro [24]. Consequentemente, não são usados para preparação de biomateriais. O seu

interesse poderá resultar do facto de serem considerados como promotores da calcificação. O fosfato tetracálcico monóxido (Ca/P=2) não foi experimentado *in vivo* provavelmente devido às dificuldades de síntese, realizada a 1400°C sob vazio [24, 29]. Os fosfatos de cálcio mencionados na tabela 3, constituem composições limite; com efeito, existe um vasto domínio de composições não estequiométricas, em particular entre OCP e HAp [24].

Tabela 3 - Composição de diferentes fosfatos de cálcio e respectivos produtos de solubilidade a 37°C [23, 24].

Nome da Fase	Fórmula Química	Ca/P	Produto de Solubilidade
Brushite (DCPD)	$\text{Ca HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,00	$1,87 \times 10^{-3}$
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8 \text{H}_2 (\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	$5,01 \times 10^{-15}$
Fosfato tricálcico β (β -TCP)	$\text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$	1,50	$2,83 \times 10^{-30}$
Hidroxiapatite (HAp)	$\text{Ca}_{10} (\text{PO}_4)_6 (\text{OH})_2$	1,67	$2,35 \times 10^{-59}$
Fosfato tetracálcico monóxido (TCPM)	$\text{Ca}_4 (\text{PO}_4)_2 \text{O}$	2,00	-

Em geral, os cerâmicos de fosfato de cálcio incluem partículas monolíticas, sistemas de fase única porosos e sólidos, como a HAp ou o fosfato tricálcico (TCP), misturas de fases de HAp e TCP e compostos semelhantes, com uma variedade de componentes secundários como fluoreto, e catiões manganês, magnésio e carbonato [23].

Existem dois biomateriais de fosfato de cálcio correntemente comercializados e extensivamente estudados:

- HAp - $\rightarrow \text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
- Fosfato tricálcico $\rightarrow \beta - \text{Ca}_3 (\text{PO}_4)_2$

O seu comportamento *in vivo* depende da sua estrutura, textura e composição [30].

No estudo da biodegradação dos fosfatos de cálcio importa primeiramente proceder a uma caracterização apropriada do material por forma a se saber se se trata de HAp pura, fosfato tricálcico β , ou um bifásico (BCP), ou seja, uma mistura de β -TCP e HAp [31], dado que alguns biomateriais de fosfato de cálcio são misturas intencionais ou acidentais de HAp e fosfato tricálcico, apresentando uma composição química caracterizada por uma razão Ca/P entre 10:6 (1,67) e 3:2 (1,5)

[32].

Não existem fosfatos de cálcio completamente insolúveis e, portanto, o conceito de bioreabsorção é relativo. No entanto, é vulgar considerar-se a HAp como sendo um material de superfície reactiva não reabsorvível e o fosfato tricálcico um material bioreabsorvível [33].

O β -TCP não tem equivalente no sistema ósseo ou dentário normal, sendo observado unicamente em certas mineralizações patológicas (por exemplo, cálculos dentários ou salivários) [24]. Este material deve a sua eficácia ao tipo, velocidade e extensão de reacção com o ambiente em que se insere.

A vantagem da utilização de uma prótese de material reabsorvível resulta do facto de esta ser substituída por osso normal, eliminando, portanto, quaisquer problemas funcionais ou de biocompatibilidade a longo prazo. A sua maior desvantagem, no entanto, é que, durante o processo de remodelação, a capacidade de a prótese sustentar carga é significativamente diminuída, podendo resultar em colapso mecânico [2]. Isto restringe a utilização de biomateriais totalmente reabsorvíveis a implantes em que as solicitações mecânicas são reduzidas.

Devido também ao facto de grandes quantidades de material poderem ser substituídas, é necessário que o biomaterial consista unicamente de substâncias metabolicamente aceitáveis, o que impõe limitações consideráveis na concepção deste tipo de implantes [34]. Como resultado da sua degradação pode verificar-se a libertação de contaminantes, caso o cerâmico não seja puro, provocando o aparecimento de respostas inflamatórias [31]. Os fosfatos de cálcio porosos são, até ao momento, os únicos materiais com sucesso na substituição de tecidos duros reabsorvíveis [30].

Para efeitos práticos, a HAp sintética é química e cristalograficamente semelhante à que ocorre naturalmente no osso [35]. Como seria de esperar, é um material extremamente compatível. *In vivo*, a HAp densa fica recoberta com um fosfato de cálcio hidratado em que a razão Ca/P cresce com o tempo [36], o que favorece a resposta óssea.

Os níveis de libertação de iões cálcio e fosfato de materiais reabsorvíveis e pouco degradáveis, têm sido avaliados por diferentes métodos, tais como a sua determinação no soro e urina, e em diferentes modelos animais, sem que se tenham obtido quaisquer resultados anómalos [36]. Para além disso, não se verificaram reacções particulares ou patológicas em estudos histológicos detalhados, nomeadamente do fígado, do que se pode concluir que os iões cálcio e

fosfato resultantes da dissolução destes cerâmicos são integrados no sistema regulador usual do organismo e depositados ou removidos pelas vias normais [36].

A biodegradação ou bioreabsorção do material de implante é caracterizada por alterações nas suas propriedades físico-químicas após implantação, podendo ser considerada como uma combinação dos seguintes processos [31]:

- 1) Físicos - abrasão, fractura e desintegração;
- 2) Químicos - dissolução, aumento da concentração local de cálcio e fósforo conduzindo à formação de fases de superfície: fosfato de cálcio amorfo (ACP), fosfato dicálcico dihidratado (DCPD), fosfato octacálcico (OCP), e HAp impura semelhante à apatite óssea;
- 3) Biológicos - redução do pH provocada por actividades celulares e fagocitárias, com o consequente aumento da velocidade de biodegradação devido à dissolução do implante cerâmico de fosfato de cálcio (o encapsulamento tenderá a diminuir a extensão da biodegradação).

Com os cerâmicos de HAp verifica-se que a desintegração raramente tem lugar e, portanto, a biodegradação está limitada à dissolução físico-química [37]. Van Blitterswijk e colaboradores [38] verificaram que nos primeiros meses após implantação, a perda em espessura da HAp é de alguns micra. Em meses subsequentes aumenta para cerca de 15 micra e após um ano não se verifica mais dissolução. A degradação da HAp será, portanto, relevante para implantes porosos com uma elevada relação área de superfície/volume. Isto significa que para implantes de grande dimensão, a degradação não será visível, mas que implantes macroporosos muito pequenos, com grandes fracções de volume ocupadas por poros, serão significativamente reduzidos em volume no período de um ano [37].

A degradação dos cerâmicos de fosfato de cálcio começa pela dissolução das suas juntas de grão [39, 40]. Os cristais assim separados do cerâmico podem ser fagocitados. Os grãos de β -TCP são solubilizados nas células (bioreabsorção), enquanto que os grãos de HAp, mais insolúveis, são transportados para os gânglios linfáticos e, ao longo do seu percurso, são muito fracamente dissolvidos pelas células [40].

É actualmente aceite que a HAp densa é praticamente inerte [33] e não será

reabsorvida por actividade celular a menos que o pH desça abaixo de 6 [27].

1.1.4. A estrutura da hidroxiapatite

A hidroxiapatite possui uma estrutura cristalina do tipo hexagonal, pertencendo ao grupo espacial $P6_3/m$, sendo os respectivos parâmetros de rede: $a_0 = b_0 = 9,418\text{\AA}$ e $c_0 = 6,884\text{\AA}$ [41, 42]. No entanto, a hidroxiapatite se for pura e livre de lacunas pode ocorrer numa forma muito semelhante à monoclinica pseudo-hexagonal com um grupo espacial $P2_1/b$.

O nome "apatites" é dado a um grupo de sólidos caracterizados pela fórmula química $M_{10}^{2+} \cdot (XO_4)_6^{3-} \cdot Z_2^{2-}$, em que se inclui a hidroxiapatite. Estes compostos são frequentemente não estequiométricos; uma mole de apatite pode conter menos de 10 moles de iões metálicos nas posições M^{2+} , e menos de 2 moles de aniões nas posições Z^{2-} . No entanto, o número de moles de aniões nas posições $(XO_4)^{3-}$ é constante e igual a 6 [41, 43].

A rede cristalina das apatites oferece múltiplas possibilidades de substituição que deixam invariável a sua estrutura cristalográfica [41, 43, 44]. Este facto permite entender a complexidade das apatites, incluindo as de origem biológica. Com efeito, as diferentes apatites derivam da hidroxiapatite por substituição total ou parcial de catiões. Assim, os catiões Ca^{2+} podem ser parcialmente ou totalmente substituídos por outros catiões, nomeadamente Sr^{2+} , Ba^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , ou mesmo Na^+ , La^{3+} , Al^{3+} . Por sua vez, os aniões PO_4^{3-} podem ser substituídos por outros trivalentes, AsO_4^{3-} , VO_4^{3-} mas também por aniões bivalentes, SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , ou tetravalentes, SiO_4^{4-} . Os aniões monovalentes OH^- podem ser substituídos pelos iões F^- , Cl^- , Br^- , ou mesmo por iões bivalentes O^{2-} , S^{2-} , CO_3^{2-} . Uma outra propriedade importante das apatites é a possibilidade de admitirem lacunas. Estas não existem nunca nos locais PO_4^{3-} , restringindo-se aos locais catiónicos Ca^{2+} ou aniónicos OH^- . A presença de lacunas e de substituições catiónicas ou aniónicas, conduz a modificações importantes nos equilíbrios de cargas locais, nas simetrias locais e a distorções sensíveis da malha [45].

As apatites constituem estruturas particularmente estáveis, podendo tolerar variações de composição consideráveis. Com efeito, a sua razão atómica Ca/P pode variar entre a da hidroxiapatite ($Ca/P = 1,67$) e a do fosfato octacálcico ($Ca/P = 1,33$) [41].

1.1.5. A hidroxiapatite usada como revestimento

Nos últimos anos, tem existido um interesse considerável na utilização de materiais biocerâmicos como revestimento de outros materiais de implante, nomeadamente metais e ligas metálicas, tanto da parte dos investigadores como dos clínicos [23, 46].

Os materiais usados para revestimento, como HAp, fosfato tricálcico e biovidros, exibem osteocondução [46] e têm um comportamento bioactivo bem documentado. No entanto, como possuem propriedades mecânicas limitadas, especialmente resistência à fractura e susceptibilidade à corrosão sob tensão [47], a sua utilização não é adequada em aplicações de sustentação de carga [46]. A fragilidade que apresentam quando submetidos a esforços de tracção, torna-os mecânicamente inferiores ao osso e metais, sendo as suas características adequadas a solicitações essencialmente compressivas. A utilização ideal destes materiais como implantes é sob a forma de um fino revestimento sobre um material de substrato mais resistente [46, 48]. Consegue-se assim combinar as boas propriedades de ligação ao osso do revestimento, com as propriedades mecânicas do substrato [39], e promover simultâneamente interacções biomecânicas e bioquímicas [28] no organismo.

Inicialmente, as próteses ortopédicas eram implantadas no corpo humano usando para sua fixação um cimento ósseo (polimetilmetacrilato) [49]. No entanto, à utilização de cimentos ósseos estão associados vários problemas, nomeadamente: libertação de calor durante a sua polimerização, podendo conduzir à destruição das células adjacentes e reabsorção do osso, libertação de monómeros tóxicos que não reagiram, e degradação, provocando colapso dos implantes quando em serviço [50]. Com o desenvolvimento, no início dos anos setenta, das técnicas de revestimento por projecção por plasma, a necessidade de utilização de cimento ósseo para implantação pôde ser eliminada em muitas aplicações [49].

A projecção por plasma é a técnica mais usada para produzir revestimentos com utilização em aplicações clínicas, apresentando uma série de vantagens de que advém o seu sucesso, nomeadamente em termos económicos, dada a rapidez do método [51]. Neste processo são utilizadas temperaturas superiores a 10000°K, conseguidas através de uma tocha de plasma [52]. As partículas pulverizadas de hidroxiapatite (50-100 μm) são injectadas no jacto de plasma e impelidas contra um substrato [50], atingindo velocidades de cerca de 400 m/s [53]. O revestimento é obtido pelo impacto de cada partícula fundida sobre o substrato e

posteriormente sobre o revestimento já formado e, portanto, a adesão será à partida controlada por factores mecânicos.

O facto de não ser necessário aquecer o material do substrato até à temperatura de sinterização do pó cerâmico constitui uma outra vantagem do método [48]. A temperatura que o substrato atinge é relativamente baixa ($<200^{\circ}\text{C}$) [51], devido ao rápido arrefecimento das partículas de cerâmico individuais [23]. Desta forma, as propriedades mecânicas do substrato metálico não são postas em causa, dado que a degradação derivada da oxidação ou crescimento de grão é minimizada [51]. No entanto, devido à necessidade de temperaturas extremamente elevadas para amolecer as partículas de cerâmico e às grandes velocidades de arrefecimento envolvidas no processo, podem ocorrer alterações de fase no revestimento, e este deixar de ser composto unicamente por HAp e incluir outras fases, nomeadamente β -TCP, bem como fosfato de cálcio amorfo [23]. Uma outra consequência da utilização de temperaturas elevadas consiste na alteração da composição do pó por volatilização de um ou mais componentes [46]. A projecção por plasma pode ainda alterar a cristalinidade do material de revestimento. Uma vez que a velocidade de degradação por dissolução no organismo parece ser favorecida pela presença de fase amorfa, é de extrema importância a avaliação da cristalinidade do revestimento.

Na projecção por plasma, é possível o controlo robótico da manipulação da pistola, o que contribui para obter reprodutibilidade do revestimento, um aspecto vital em aplicações clínicas [51]. O processo permite ainda variações nos parâmetros de projecção por forma a controlar a composição e microestrutura do revestimento [51]. A porosidade deste depende das condições de projecção e do material a ser projectado e pode variar entre 3-20% [53]. A espessura dos revestimentos de apatite em substratos metálicos varia de 30 μm a algumas centenas de μm , devendo corresponder a uma situação de compromisso, isto é, os revestimentos deverão ser tão finos quanto possível por forma a que as propriedades mecânicas do material do substrato predominem, mas suficientemente espessos para resistirem à dissolução e efeitos ambientais quando em serviço [46].

1.1.6. Implicações da utilização de implantes revestidos

Os revestimentos cerâmicos de fosfato de cálcio constituem uma alternativa para a fixação de implantes de longo prazo, uma vez que, devido à presença na sua superfície de fosfatos de cálcio solúveis, são capazes de interagir com o osso

circundante [52]. Após inserção no organismo, os implantes porosos revestidos são firmemente ligados ao osso por crescimento das células para o interior dos poros do revestimento [49]. Em particular, a utilização de HAp é promissora, dado possuir, como já foi referido, uma estrutura química e cristalográficamente semelhante à da HAp do osso natural, o que eliminará efectivamente problemas de biocompatibilidade [52].

Estudos publicados mostram ocorrer diversos efeitos benéficos resultantes da utilização de implantes metálicos revestidos com HAp e outros cerâmicos de fosfato de cálcio, nomeadamente [23]:

- redução do tempo de recuperação;
- mais rápida adaptação do implante ao tecido circundante;
- ligação do implante ao osso mais firme;
- redução da libertação de iões metálicos.

Existem, no entanto, na literatura, resultados bastante variáveis quanto à resistência da ligação, composição de fase, solubilidade e comportamento *in vivo* dos revestimentos de fosfato de cálcio, o que constitui um indício de diferenças significativas, quer na composição dos revestimentos, quer nos processos de revestimento, design dos implantes e seu posicionamento, bem como nos próprios métodos de teste usados para estes materiais [23].

O funcionamento, com sucesso, de um implante revestido com um cerâmico, depende das características do material do substrato, da integridade do revestimento, e da resistência da ligação substrato/revestimento, que deve ser suficiente para garantir que o colapso interfacial não ocorra durante o tempo de vida do implante [46, 48].

Os materiais correntemente usados como substratos têm propriedades microestruturais e mecânicas bem caracterizadas. Para além das alterações na estrutura e composição de cada constituinte, o método de revestimento pode ainda criar uma interface com propriedades distintas dos mesmos [47].

Características como a estabilidade, a imobilidade e o comportamento a longo prazo de implantes não cimentados, estão directamente dependentes da coesividade e da resistência da ligação revestimento/substrato [49]. É necessária uma interface bem ligada para permitir a transmissão adequada de tensões do tecido circundante para o material do substrato mais resistente, por forma a

garantir a ausência de concentração das mesmas no revestimento e na região interfacial [46]. Idealmente, esta região deveria ser pelo menos tão resistente quanto o próprio revestimento [46]. A baixa adesão dos revestimentos obtidos por projecção por plasma constitui um motivo de preocupação [51]. A adesão dos revestimentos ao substrato é considerada como sendo dominada por ligação mecânica às irregularidades da superfície [51, 54], mais do que por ligação química entre o substrato e o revestimento, uma consequência das baixas temperaturas do substrato associadas à projecção por plasma [51]. No entanto, a ligação HAp-Ti tem sido usada para explicar a relativamente mais elevada adesão que se verifica entre a HAp e substratos de Ti e suas ligas [24, 25, 37, 47].

Um outro aspecto crítico para a estabilidade da interface de um material revestido com HAp, é a influência que os iões metálicos resultantes da degradação do substrato podem ter nessa mesma interface.

Não existem na bibliografia informações sobre a forma como a HAp se poderá comportar face à libertação de elementos metálicos, desconhecendo-se se o seu comportamento será unicamente de barreira física à passagem desses elementos, ou se, por outro lado, ocorrerão fenómenos químicos conducentes à estabilização ou degradação da mesma.

No entanto, os efeitos dos elementos metálicos na estabilidade da hidroxiapatite como constituinte mineral ósseo, têm sido relacionados com várias situações patológicas. Por exemplo, a acção inibidora do catião alumínio sobre a formação da hidroxiapatite foi associada a estados de hipocalcémia e hiperfosfatémia, em doentes submetidos a hemodiálise por períodos prolongados [55-58]. Resultados *in vitro* obtidos por Blumenthal e Cosma [59], indicam existir um efeito inibidor da formação da apatite pelos catiões titânio e vanádio, confirmando um estudo anterior de Gerber e Perren [60]. Estes factos levantam a questão de a libertação de iões de implantes poder comprometer a mineralização biológica na interface dos mesmos.

1.2. Técnicas Experimentais

Neste subcapítulo, é feita uma introdução teórica às técnicas analíticas usadas no desenvolvimento experimental do tema de dissertação. Na tabela 4 encontram-se descritos de forma sucinta os objectivos de utilização de cada técnica.

Tabela 4 - Técnicas analíticas utilizadas no desenvolvimento experimental do tema de dissertação e objectivos da sua utilização.

Técnica Analítica	Objectivos
Espectrofotometria de absorção atómica - atomização por chama	Quantificação da concentração de Ca e outros metais em amostras líquidas
Espectrofotometria de UV /visível	Quantificação da concentração de P em amostras líquidas
Microscopia electrónica de varrimento - microanálise por dispersão de energias	Observação da superfície de amostras sólidas e análise semi-quantitativa das mesmas
Espectroscopia de Raman e Infravermelho	Identificação de grupos funcionais e ligações químicas em amostras sólidas
Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS)	Análise química de amostras sólidas
Espectroscopia de massa de iões secundários - tempo de voo (ToF-SIMS)	Identificação qualitativa de diversos elementos em amostras sólidas
Análise termogravimétrica	Medição da variação de massa de amostras sólidas em função da temperatura
Difracção de raios X	Identificação de fases cristalinas e detecção de alterações estruturais em amostras sólidas

1.2.1. Espectrofotometria de absorção atômica - atomização por chama

A espectrofotometria de absorção atômica com atomização por chama, é uma técnica de análise espectrofotométrica, baseada na absorção de radiação, idealmente monocromática, por espécies atômicas na fase de vapor [61].

A técnica envolve a aspiração da solução que constitui a amostra, com nebulização para uma chama de ar/acetileno (temperatura $\approx 2300^{\circ}\text{C}$), ou de protóxido de azoto/acetileno (temperatura $\approx 2900^{\circ}\text{C}$), onde ocorre decomposição química dos compostos presentes em átomos livres dos elementos (vapor atômico), que absorvem radiação a comprimentos de onda característicos [62].

Como fonte de radiação utiliza-se geralmente uma lâmpada de cátodo oco, cujo cátodo é composto pelo elemento a ser analisado (ou por uma liga do mesmo), e o ânodo por tungsténio. A lâmpada é preenchida com um gás inerte (argon, hélio ou neon) sob pressão reduzida. Por aplicação de uma voltagem adequada aos electrodos, o gás é ionizado positivamente e os iões produzidos são acelerados em direcção ao cátodo, provocando a formação de uma nuvem de átomos do elemento a determinar, em estados electrónicos excitados. Quando os átomos regressam ao estado fundamental, emitem radiação constituída por linhas de comprimentos de onda característicos. Por meio de um monocromador, selecciona-se a radiação de uma destas linhas (em geral a que corresponde à passagem do primeiro estado excitado para o fundamental), que se faz incidir sobre a chama. Parte da radiação gerada desta forma, é absorvida pelos átomos do elemento a analisar formados na chama. A baixas concentrações, a absorção obedece à lei de Beer-Lambert, sendo a quantidade de energia absorvida proporcional à concentração de átomos, para uma gama de concentração limitada:

$$\text{Absorvância} = \log(I_0/I_t) \propto c$$

I_0 = Intensidade da radiação incidente emitida pela fonte de luz

I_t = Intensidade da radiação transmitida (não absorvida)

c = concentração da amostra

Medindo a absorvância da amostra em estudo a um comprimento de onda característico do elemento a analisar, é possível, a partir dos resultados obtidos em medições sobre padrões (calibração) e por interpolação, determinar a concentração desse elemento.

Numa análise por absorção atômica, embora a ocorrência de interferências

seja globalmente limitada, estas podem ser de dois tipos: espectrais e químicas. As interferências influenciam o número de átomos livres no feixe óptico capazes de absorver radiação. Factores tais como formação de um precipitado na amostra antes da sua entrada no nebulizador são críticos, bem como as características físicas das soluções, como viscosidade, tensão superficial, densidade, pH e pressão de vapor, uma vez que todos estes parâmetros influenciam a nebulização [63]. Para a obtenção de resultados precisos, os padrões e amostras deverão ser tão semelhantes quanto possível, relativamente aos parâmetros físicos referidos, o que exige o máximo de semelhança das respectivas matrizes. Outras formas de interferência consistem na existência ou formação de compostos refractários à decomposição e na ionização de átomos, que implicam um decréscimo da sua concentração na chama e, conseqüentemente, um decréscimo da absorvância.

1.2.2. Espectrofotometria de UV/ Visível

A medição da absorção de radiação ultravioleta e visível (200-800 nm) por espécies moleculares em solução constitui um dos métodos mais usados para análise quantitativa de elementos e compostos em sistemas químicos e bioquímicos, e tem por base as seguintes etapas [64]:

- i) A produção, por reacção química com reagentes apropriados, de espécies moleculares absorventes adequadas em solução, em quantidades relacionáveis com a concentração da espécie a ser determinada (desenvolvimento de côr);
- ii) A selecção de um comprimento de onda que permita que sejam feitas medições precisas da extensão da absorção pelas espécies absorventes (em geral, o máximo de uma banda);
- iii) A determinação da intensidade da radiação, que passa através de uma dada espessura da solução absorvente (geralmente mantida numa cuvete de comprimento de percurso conhecido), relativamente à intensidade do mesmo feixe de radiação, quando este passa através de uma célula de referência, contendo o solvente ou uma solução adequada de branco, ou, melhor, da correspondente absorvância, $A = \log (I_0 / I_t)$.

A solução a analisar, deverá possuir as seguintes propriedades, requeridas para uma medição espectrométrica adequada:

- a) a espécie corada deverá ser estável durante um tempo suficiente para

permitir uma medição precisa. A instabilidade pode surgir como resultado de muitos factores, como sejam, oxidação pelo ar, decomposição fotoquímica, temperatura, ou até devido às próprias condições da solução, como tipo de solvente usado ou pH;

- b) não deve ocorrer a formação de material insolúvel ou coloidal, por exemplo, por hidrólise lenta ou outro tipo de reacção com o solvente.

Tal como na espectrofotometria de absorção atómica, a absorvância pode ser relacionada com a concentração através da lei Beer-Lambert. A determinação da concentração em solução da espécie a analisar faz-se construindo previamente um gráfico de calibração de absorvância versus concentração, usando, para o efeito, soluções padrão de concentração conhecida.

1.2.3. Microscopia electrónica de varrimento - microanálise por dispersão de energias

Em microscopia electrónica de varrimento, produzem-se, por bombardeamento de uma amostra sólida com um feixe de electrões, diversas radiações contendo informação sobre a composição química da amostra examinada. A análise local de materiais, com base na caracterização do espectro de emissão de raios X, constitui uma das técnicas presentemente mais difundidas de microanálise.

A microanálise por raios X é um método de análise química que permite determinar a composição elementar de um microvolume de material, sendo compatível com os modos habituais de observação em microscopia electrónica e apresentando elevada sensibilidade, resolução e rapidez.

Os sistemas utilizados para a análise dos espectros de emissão de raios X, baseiam o seu modo de funcionamento num dos seguintes métodos [65] :

- a determinação do espectro de energias dos fotões emitidos, por medição directa da energia absorvida por um sistema detector que aproveita as propriedades ionizantes da radiação - métodos de dispersão de energia (EDS);

- a determinação do espectro de comprimentos de onda utilizando as propriedades ondulatórias dos raios X - métodos de dispersão de comprimentos de onda (WDS).

Os métodos de dispersão de energia são particularmente adequados à

integração com os microscópios electrónicos, em que interessa associar a microanálise à observação com alta resolução de amostras com morfologia complexa. Por comparação da intensidade das riscas espectrais características (subtraído o fundo contínuo) de uma amostra, com a respectiva intensidade média nas mesmas condições instrumentais, para amostras de elementos puros (ou de composição bem conhecida), é possível determinar, com elevado grau de aproximação, a composição elementar da amostra.

O quociente intensidade de emissão da amostra/intensidade do padrão é apenas um valor aproximado da concentração do elemento em causa, cuja precisão depende da composição global da amostra. É, no entanto, possível fazer a correcção deste valor, com base em modelos de base teórica e experimental para o processo de interacção do feixe de electrões e geração de raios X. Estes modelos têm em atenção o efeito da variação do número atómico (Z) nas condições de excitação e os efeitos de absorção de raios X (A) e fluorescência (F), no padrão e na amostra em estudo. Pressupõe-se que as condições instrumentais de excitação e medição se mantêm constantes, o que requer que a superfície da amostra (e padrão) seja polida, por forma a que a sua orientação seja conhecida.

O cálculo dos factores de correcção considerando os fenómenos descritos pode ser realizado segundo diversos modelos, sendo o método ZAF dos mais usados. Neste método, os factores de correcção anteriormente referidos, são calculados para obter um factor de correcção final -ZAF-, através de um processo iterativo.

Um método mais recente -PROZA-, integra o cálculo da influência das condições de excitação e absorção de raios X característicos e permite a obtenção de resultados mais precisos, em particular nos casos em que a correcção necessária é mais significativa, isto é, para a análise de elementos leves [65].

Estes métodos de correcção requerem a análise simultânea de todos os elementos que constituem a região em estudo, isto é, a análise a 100%.

1.2.4. Espectroscopia de Raman e Infravermelho

A espectroscopia de Raman é um método importante para a elucidação da estrutura molecular de diferentes substâncias, por permitir a caracterização de grupos funcionais ou ligações químicas em moléculas [66].

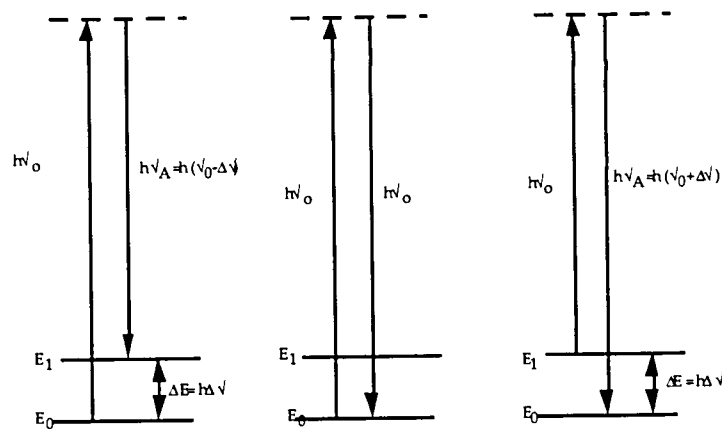


Fig. 1- Diagrama de energia representativo do efeito de Raman.

Qualitativamente, o efeito de Raman pode ser explicado da seguinte forma (figura 1) [66]: quando radiação monocromática de frequência adequada ν_0 , incide numa substância e é absorvida, a energia das moléculas que absorvem radiação é aumentada de uma quantidade $h\nu_0$. Quando uma molécula relaxa, e volta elasticamente ao estado inicial, a radiação emitida tem a mesma frequência ν_0 da radiação incidente (difusão de Rayleigh). No entanto, pode acontecer que a molécula volte inelasticamente a um nível diferente do estado original e, conseqüentemente, a frequência ν_R da radiação emitida será diferente da incidente (difusão de Raman). Em particular, se a molécula fica num nível energético superior ao original, a frequência ν_R da luz emitida será inferior a ν_0 (banda de Stokes). Se a molécula se encontra inicialmente num estado excitado, pode regressar a um nível inferior ao estado inicial. Neste caso a frequência ν_R da radiação emitida será superior a ν_0 (banda anti-Stokes). Ou seja, na difusão de Raman, a frequência ν_R da radiação difusa será: $\nu_R = \nu_0 \pm \Delta\nu$, em que $\Delta\nu$ depende da separação dos níveis moleculares de energia, constituindo, portanto, uma característica da molécula. Conseqüentemente, as bandas de Stokes e anti-Stokes, posicionam-se simetricamente relativamente a ν_0 , a frequência da radiação incidente, dado referirem-se à mesma diferença de energia ΔE . Uma banda de Raman será, portanto, caracterizada não só pela sua frequência absoluta mas também por $\Delta\nu$, que representa a diferença de frequência entre a radiação difusa e a incidente.

A espectroscopia de Raman constitui uma ferramenta importante para a avaliação de biomateriais e um método bastante adequado para estudos em campos biológicos e biomédicos. Quando comparada com a espectroscopia de infravermelho, apresenta algumas vantagens. A sua particular utilidade deriva da

simplicidade da preparação das amostras e do elevado grau de resolução espacial conseguido com a utilização de radiação laser focada, o que facilita o estudo de materiais heterógeneos [67]. A técnica pode ser aplicada directamente a amostras gasosas, líquidas e sólidas (cristalinas e amorfas), de qualquer tamanho e forma, e dado tratar-se de uma técnica não invasiva, pode ser usada para monitorizar um biomaterial a um nível molecular, antes e após implantação [66]. Se bem que os espectros de Raman estejam relacionados com os espectros de absorção de infra-vermelho, as regras de selecção que governam as transições permitidas para cada um dos dois fenómenos são diferentes e as técnicas devem ser consideradas complementares em vez de alternativas. Por exemplo, as vibrações activas na difusão por Raman podem ser inactivas para absorção no infra-vermelho e vice-versa [68].

1.2.5. Análise de Superfícies

1.2.5.1. Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS)

A espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS), também conhecida como espectroscopia electrónica para análise química (ESCA), é baseada no efeito fotoeléctrico e é uma das técnicas analíticas de superfície mais usadas, permitindo obter informação sobre a composição química [69, 70].

Para uma análise XPS, a amostra é colocada num ambiente de ultra vácuo ($< 10^{-6}$ Pa) e irradiada com uma fonte de raios X monocromática de baixa energia, que provoca a emissão de fotoelectrões das orbitais atómicas dos elementos presentes na superfície. Estes electrões possuem uma energia característica do elemento e da orbital de que são emitidos. Com a utilização desta técnica é possível não só identificar os elementos presentes na superfície da amostra mas também determinar a forma como eles ocorrem quimicamente [69, 71]. Por contagem do número de electrões detectado em cada nível de energia, é gerado um espectro de picos correspondente aos elementos na superfície. A área sob cada pico é uma medida da quantidade relativa de cada elemento presente, enquanto que a forma e a posição dos picos reflecte o ambiente químico de cada elemento.

A XPS é uma técnica de análise de superfície, uma vez que só os electrões que deixam a superfície sem perda de energia contribuirão para o pico de cada elemento. Os electrões originários de zonas mais profundas ($> 10\text{nm}$) ou não são capazes de abandonar a superfície, devido a perdas de energia provocadas por

colisões, ou escapam desta com considerável perda de energia.

A qualidade de informação fornecida pelo método XPS, combinada com a sua capacidade de gerar dados bem correlacionados com as interações biológicas observadas, tornam esta técnica uma das mais valiosas, na análise de superfícies, para o estudo de biomateriais [70].

Os tipos de informação que podem ser obtidos por utilização desta técnica são os seguintes [71]:

- identificação de todos os elementos presentes na superfície, com excepção do hidrogénio e hélio, em concentrações superiores a 0,1 da % atómica;
- determinação da concentração aproximada dos referidos elementos ($\pm 10\%$);
- profundidade média de informação da ordem de 10-250 Å;
- resolução espacial de 8-150 μm ;
- capacidade de determinar, através do desvio químico, o ambiente químico (estado de ligação) da maior parte dos elementos.

Devido ao grande desenvolvimento que se tem verificado na instrumentação e análise de dados, esta técnica tem conseguido um considerável aumento na sua capacidade de obtenção de informação útil.

Actualmente permite analisar áreas muito pequenas (100 μm em diâmetro), dado a instrumentação permitir obter imagens elementares resolvidas espacialmente [72]. Para além disso, têm sido feitos estudos por forma a aumentar a capacidade de obter informação química desde a camada mais superficial de uma amostra até ao seu interior, isto é, a obtenção de perfis em profundidade [72]. Estes desenvolvimentos estão intimamente relacionados com o desenvolvimento de novas fontes de raios X e de técnicas de análise de dados.

1.2.5.2. Espectroscopia de massa de iões secundários (SIMS)

A espectroscopia de massa de iões secundários (SIMS), baseia-se no facto de que, quando uma superfície sólida é bombardeada com iões de energia suficientemente elevada, emite não só fotões, electrões e partículas neutras, mas também iões secundários, carregados positiva e negativamente, que originam espectros de massa, característicos da composição química da superfície emissora

[73].

A amostra a ser examinada é bombardeada com um feixe de iões (por exemplo, Ar^+ , Cs^+ , N^{2+} ou O^{2+}) com uma energia na gama de 1-20 KeV [69]. Os iões de bombardeamento ou iões primários, penetram no material, transferindo a sua energia cinética para a rede de átomos. Uma fracção desta energia atinge a superfície da amostra e provoca a emissão de átomos ou grupos de átomos. Alguns destes fragmentos são ionizados e a análise do material emitido, com um espectrómetro de massa, permite obter espectros de intensidade de sinal (proporcional à concentração de cada espécie) em função da razão massa/carga dos componentes catiónicos ou aniónicos [71, 72].

O grau de ionização determina a sensibilidade da técnica para uma dada espécie e é fortemente dependente da natureza da mesma e do "ambiente químico" da superfície.

Dependendo das condições de operação, a espectroscopia de massa de iões secundários pode ser classificada em:

- SIMS estática - cujo objectivo é estudar a composição de superfície no regime de monocamada e em que são utilizadas baixas energias de feixe de iões primários, bem como baixas densidades de corrente;
- SIMS dinâmica - em que se pretende caracterizar películas finas e camadas de superfície até vários μm de profundidade e as densidades de corrente utilizadas são mais elevadas.

A técnica de SIMS permite a identificação qualitativa de todos os elementos da superfície, incluindo o hidrogénio, e possibilita a distinção entre isótopos do mesmo elemento. Fornece, ainda, informação sobre a estrutura de compostos moleculares presentes na superfície da amostra [74].

O método possui uma sensibilidade de detecção ao nível das partes por milhão, com um volume mínimo de amostra (0,2 - 0,5 nm de profundidade). Para além da informação sobre a composição, em profundidade de cerca de duas monocamadas atómicas, a SIMS permite obter informação espacial resolvida a duas dimensões, como sejam imagens de iões adsorvidos, varrimentos de linhas elementares e imagens de constituintes superficiais [68].

Em particular a Tof (tempo de voo) -SIMS, dado o tipo de analisadores de massa que utiliza, permite uma maior resolução, sensibilidade e maior gama de valores mássicos analisados.

1.2.6. Análise Termogravimétrica

A análise térmica inclui um grupo de técnicas nas quais são medidas propriedades físicas específicas dos materiais, em função da temperatura. Em particular, na termogravimetria (TG) ou análise termogravimétrica (ATG), medem-se variações de massa associadas com reacções ou transições de fase induzidas termicamente. Este tipo de análise térmica permite registar directamente a perda de massa da amostra em função da temperatura ou tempo (quando se opera sob condições isotérmicas), para transições que envolvem desidratação ou decomposição. Os resultados obtidos através de uma análise termogravimétrica, são, portanto, úteis na caracterização de materiais, bem como na investigação da termodinâmica e cinética das reacções e transições resultantes do aquecimento de materiais.

As curvas termogravimétricas são características de um dado composto ou material, devido à sequência única de transições físicas e reacções químicas que ocorrem em gamas de temperatura definidas [68]. As velocidades destes processos induzidos termicamente são geralmente função da estrutura molecular. As variações de massa resultam de ligações físicas e químicas que se quebram e formam, a temperaturas elevadas, com perdas de substâncias voláteis.

As amostras são colocadas numa mufla, no prato de uma balança de deflexão. Esta balança está equipada com um dispositivo que detecta qualquer desvio do seu travessão e aplica uma força compensadora que é proporcional à variação de massa, refazendo desta forma novamente o zero da balança. Esta força é então registada quer directamente, quer através de um transdutor. O sistema registador deve permitir o registo contínuo tanto da temperatura como da massa, bem como o registo periódico do tempo, permitindo assim que sejam assinaladas todas as particularidades do termograma. O sistema de controlo do forno permite quer a programação linear de aquecimento, quer a manutenção de uma temperatura fixa. Esse controlo realiza-se, em geral, através da utilização de um termopar colocado tão próximo quanto possível do enrolamento da mufla. Um estabilizador da corrente que alimenta a mufla evita possíveis variações acidentais da temperatura.

A termogravimetria, tal como qualquer outro tipo de análise térmica, é afectada pelas condições experimentais, bem como pelas características da amostra, nomeadamente, tamanho das partículas, densidade de empacotamento, quantidade de amostra, condutividade térmica do material e sua capacidade calorífica, e facilidade de libertação dos gases formados, bem como da atmosfera

envolvente da amostra [68].

1.2.7. Difracção de raios X

A difracção de raios X de pós é uma das técnicas experimentais mais usadas na ciência de materiais. É uma técnica não destrutiva que permite a identificação de compostos cristalinos e a detecção de alterações estruturais produzidas num material por processos físico-químicos. Esta aplicação da técnica baseia-se no facto de cada substância cristalina apresentar um espectro de difracção único e característico.

Para estudos analíticos de difracção, a amostra cristalina é pulverizada (é moída até se obter um pó fino homogéneo). A amostra ideal de pó contém um número muito elevado de pequenos cristalitos orientados aleatoriamente e, consequentemente, é de esperar que, quando um feixe de raios X atravessa o material a ser analisado, um número significativo esteja orientado de forma a preencher a condição de Bragg para reflexão a partir de todos os espaçamentos polares possíveis [75]:

$$n\lambda = 2d \sin \theta$$

θ - ângulo do feixe difractado relativamente ao feixe directo;

λ - radiação característica do elemento do anticâtodo da âmpola de raios X;

d - distância interplanar.

O método fotográfico é um método clássico extensivamente usado para registar espectros de difracção de pós. A câmara de Debye-Scherrer, representada esquematicamente na figura 2, é talvez o instrumento mais vulgarmente utilizado para este fim.

A câmara funciona do seguinte modo: um feixe oriundo de um tubo de raios X é filtrado para produzir um feixe aproximadamente monocromático (geralmente a linha K "alfa" de cobre ou molibedénio), que é colimado, através da passagem num tubo estreito, e incide na amostra, colocada no centro da câmara. A câmara é cilíndrica e equipada para manter um filme fotográfico em torno da sua parede interior, onde serão registados os cones de difracção como círculos concêntricos (intersecções dos cones com o filme). O diâmetro interno do cilindro é de 5,73 ou 11,46 cm e, portanto, cada milímetro de filme é equivalente a 1,0 ou 0,5 graus

respectivamente. A amostra é mantida no centro do feixe, através de uma montagem apropriada.

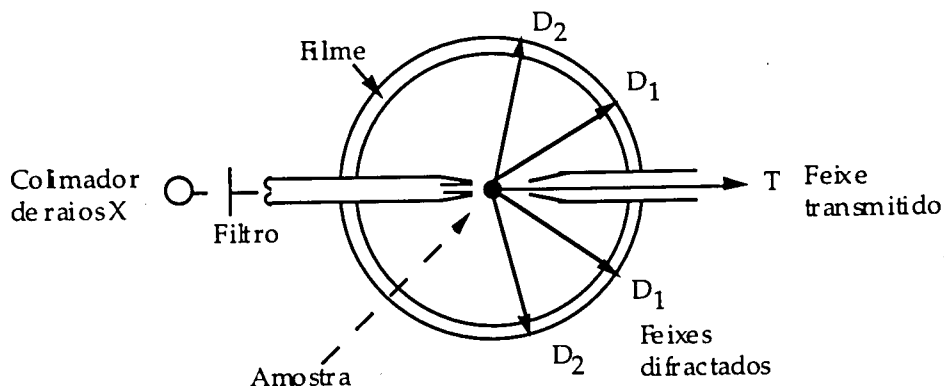


Fig. 2 - Representação esquemática da câmara Debye-Scherrer.

Na figura 3 está representado o aspecto de um radiograma (filme após ensaio). Cada par de linhas D_1 , D_2 , etc. representa a difracção de uma série de planos cristalinos equidistantes (d). A distância (em mm) medida na película entre dois arcos (intersecções dos cones de difracção com a superfície cilíndrica envolvente) corresponde ao ângulo 4θ e a partir do valor de θ são calculados os espaçamentos interplanares d pela equação de Bragg [76].

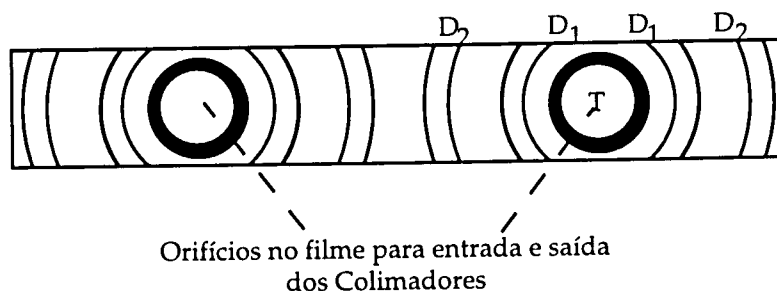


Fig. 3 - Representação esquemática de uma película de filme após ensaio.

O uso de câmaras de pó é presentemente restrito a amostras muito pequenas ou a estudos de detalhe exigindo grande exactidão, já que vêm sendo substituídas pelos difractómetros, que permitem maior rapidez na obtenção de resultados e maior facilidade na preparação da amostra. O difractómetro caracteriza-se por incluir um medidor de intensidade dos raios difractados a diversos ângulos 2θ (cintilador), em vez do registo fotográfico dos mesmos.

II MÉTODOS EXPERIMENTAIS

2.1. Materiais e soluções usadas

Hidroxiapatite:

Foi utilizada hidroxiapatite cristalina em pó de elevada pureza, fornecida pela empresa CAM Implants (Merck 2196). Procedeu-se à determinação dos seguintes elementos no pó de hidroxiapatite usado: Ti, Al, V, Fe, Cr, Ni, Mn, Cu, Pb, Mg e Zn. Para tal, três amostras de 500 mg de hidroxiapatite foram dissolvidas com 4 ml de ácido clorídrico concentrado cada e diluídas a 50 ml com água desionizada. As concentrações médias obtidas após análise por espectrofotometria de absorção atômica são as indicadas na tabela 5.

Tabela 5 - Concentração (ppm) de elementos metálicos pesquisados no pó de hidroxiapatite.

Ti	Al	V	Fe	Cr	Ni	Mn	Cu	Pb	Mg	Zn
<1	1,5	<1	2,4	<1	<1	<1	<1	2	16,2	<1

A caracterização granulométrica e determinação da área superficial específica da hidroxiapatite, permitiu concluir que o material apresentava uma granulometria menor ou igual a 32 μm (figura 4) e uma área superficial específica de 69,8 m^2/g .

Por difracção de raios X, não foi detectada a presença de qualquer outra fase, em teor superior a 5%. A razão molar Ca/P obtida quer por análise dispersiva de energias quer por determinação analítica da concentração de Ca (espectrofotometria de absorção atômica) e P (espectrofotometria de UV visível), em amostras previamente dissolvidas com ácido clorídrico concentrado, foi de 1,67 ($\pm 0,02$), correspondendo ao valor estequiométrico da hidroxiapatite.

Soluções

As soluções foram preparadas com água desionizada, previamente destilada, e com reagentes químicos p.a. ou semelhantes.

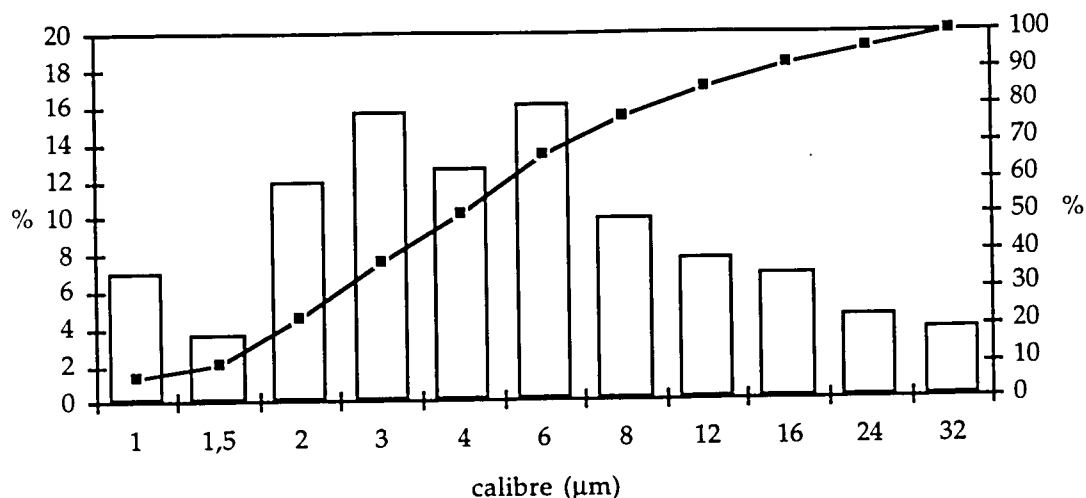


Fig. 4 - Distribuição granulométrica do pó de hidroxiapatite.

A solução de base utilizada na preparação das amostras, consistiu numa solução isotônica de 0,9% de NaCl, simuladora do meio fisiológico.

Com vista ao estudo da influência do pH na dissolução da hidroxiapatite, foram preparadas, a partir da solução base, soluções com diferentes valores de pH, tendo este sido ajustado através de adições de ácido clorídrico diluído. As concentrações de ácido correspondentes situavam-se na gama de $9,87 \times 10^{-3}$ mM a 31,52 mM.

Com o objectivo de se estudar o comportamento da HAp num meio simulador de infecção, foram preparadas, a partir da solução de 0,9% de NaCl, soluções com diferentes concentrações de ácido láctico, compreendidas entre $3,33 \times 10^{-6}$ mM e $2,6 \times 10^{-2}$ mM.

Para realizar as experiências de determinação da influência dos catiões Ti(IV), Al(III) e V(IV), na dissolução, composição e estrutura da hidroxiapatite, foram adicionadas à solução base diferentes concentrações destes catiões, na gama de 1 a 2000 ppm. Ao longo do texto, as valências dos catiões não serão indicadas por forma a simplificar a prosa.

As soluções de catiões metálicos foram preparadas a partir de padrões Titrisol da Merck, com as seguintes referências: TiCl_4 em 18% HCl - ref. 9946; AlCl_3 em água - ref. 9967; VOSO_4 em 8,6% H_2SO_4 - ref. 9994.

Inicialmente, começou-se por utilizar uma solução de cloreto de vanádio (Sigma ref. V-5880). No entanto esta teve de ser substituída por uma solução de

sulfato de vanadilo, já que era extremamente ácida e não permitia obter elevados teores de elemento metálico em solução em presença da hidroxiapatite sólida, visto conduzir à sua total dissolução.

2.2. Descrição das experiências e da preparação das amostras

Os ensaios de dissolução consistiram na incubação de hidroxiapatite em diferentes meios, nomeadamente:

- solução 0,9% de NaCl;
- solução 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de HCl diluído;
- solução 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido láctico diluído;
- solução 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Ti(IV);
- solução 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Al(III);
- solução 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião V(IV).

A relação sólido/líquido usada foi de 500mg/50ml e as amostras foram inseridas em frascos de polietileno e mantidas a 37°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$) numa estufa equipada com um agitador orbital, durante tempos de incubação variados. A velocidade de rotação, mantida ao longo das experiências, foi de 250 rpm. Para cada condição de ensaio foram usadas no mínimo três amostras.

Foi determinada a variação do pH com o tempo e a composição do meio, tendo-se procedido para tal à medição do pH de cada solução antes de adicionada à hidroxiapatite, sendo este pH referenciado na apresentação dos resultados como pH inicial.

Após ensaio as amostras foram centrífugadas (centrífuga Sigma 2-15) a 4000 rpm, durante 10 minutos. O líquido foi separado do sólido por decantação, após centrifugação, tendo cada uma das fases assim obtida sido caracterizada como se descreve seguidamente.

Amostras líquidas:

Nas amostras líquidas, foi medido o pH (pH final) e, posteriormente procedeu-se à análise do teor em Ca e elemento metálico usado no ensaio, por

espectrofotometria de absorção atômica (atomização por chama), bem como à determinação do seu teor em P total (espectrofotometria de UV/vísivel).

Amostras sólidas:

Os cristais de hidroxiapatite ensaiados foram submetidos a cinco operações de lavagem com água desionizada, com vista à eliminação dos iões sódio e cloreto oriundos da solução de incubação, e secos numa estufa a 60°C durante 24 horas. Seguidamente foram objecto de estudos distintos, nomeadamente:

- i) Espectrofotometria de absorção atômica-atomização por chama;
- ii) Espectrofotometria de UV/Vísivel;
- iii) Microscopia electrónica de varrimento e microanálise;
- iv) Espectroscopia de Raman e de Infravermelho;
- v) Análise termogravimétrica;
- vi) Análise de superfícies;
- vi) Difracção de raios X.

2.3. Técnicas Experimentais

2.3.1. Espectrofotometria de absorção atômica - atomização por chama

Os teores em catião cálcio e catião metálico na fase líquida foram determinados usando um espectrofotómetro de absorção atômica, da marca Instrumentation Laboratory (I.L.), modelo 357. Dado os níveis destes elementos serem da ordem das partes por milhão (ppm), foi usada a atomização por chama de protóxido de azoto/acetileno em queimador da marca IL, modelo 43005-01. Como fonte de radiação foram usadas lâmpadas de cátodo oco.

As soluções foram analisadas tal qual, ou submetidas a diluições, dependendo do teor do elemento a analisar.

As amostras sólidas com diferentes concentrações de alumínio e vanádio foram dissolvidas com ácido clorídrico concentrado, tendo-se procedido à análise do teor em elemento metálico. No caso das amostras com titânio, somente as de

baixa concentração inicial (≤ 100 ppm), foram dissolvidas com ácido clorídrico (4ml), já que não se conseguiu, por utilização do referido ácido, a dissolução total de amostras mais concentradas. Outras alternativas foram testadas, nomeadamente a utilização de água régia, ácido nítrico concentrado, ácido fluorídrico, e misturas dos referidos ácidos, tendo-se igualmente recorrido à digestão em forno de micro-ondas com diferentes condições de ataque. A dissolução nunca foi, no entanto, completa.

Na análise de todas as amostras, procurou-se eliminar os possíveis efeitos de matriz, tendo-se procedido à preparação dos padrões e do branco com uma matriz o mais próxima possível da das soluções.

2.3.2. Espectrofotometria de UV/ Visível

A concentração total de fósforo nas amostras líquidas foi determinada por um método colorimétrico, o chamado método do ácido ascórbico. O seu princípio baseia-se no facto de o molibdato de amónio e o tartarato duplo de potássio e antimónio reagirem em meio ácido com o anião ortofosfato, formando o ácido fosfomolibdico. Este, por sua vez, é reduzido pelo ácido ascórbico, originando um composto de coloração azul, cuja absorvância máxima ocorre e é lida no espectrofotómetro ao comprimento de onda de 880 nm [77].

As medições foram efectuadas usando um espectrofotómetro de UV/visível de marca Shimadzu, modelo UV-1201. Procedeu-se inicialmente à construção da curva de calibração do aparelho.

Curva de calibração:

Começou-se por preparar uma solução padrão em água desionizada, com uma concentração em fósforo de 2,5 mg/l, a partir de dihidrogenofosfato de potássio, previamente seco durante 1 hora a 105°C. Seguidamente pipetaram-se, para balões graduados de 100 ml, 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 7,0 e 10 ml de solução padrão de fósforo. Completou-se o volume até 50 ml com água desionizada. Adicionaram-se umas gotas de solução de fenoltaleína a cada balão. Nos casos em que a solução era alcalina (coloração rósea), procedeu-se à adição, gota a gota, de solução de ácido sulfúrico 5,58 M, até à cor rósea desaparecer. Após adição de 10 ml de reagente de desenvolvimento de côr, completou-se o volume até 100 ml e aguardou-se 10 a 30 minutos o desenvolvimento da côr, tendo-se lido seguidamente a absorvância das soluções. Na figura 5 está representada a curva de calibração obtida.

O reagente de desenvolvimento de cor foi preparado no momento de utilização, para evitar possíveis alterações com o tempo. Na tabela 6 estão indicados as soluções usadas na sua preparação, bem como os respectivos volumes.

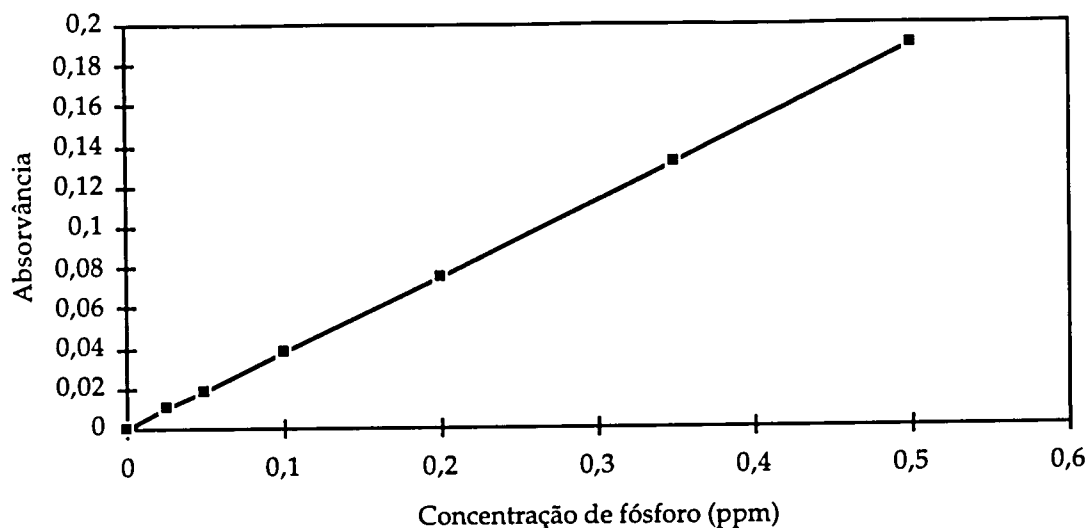


Fig. 5 - Curva de calibração de fósforo.

Tabela 6 - Preparação do reagente de desenvolvimento de cor.

Solução	Volume (ml)
Solução de ácido ascórbico (17,6 g/l)	30
Solução de tartarato duplo de potássio e antimônio (2,74 g/l)	5
Solução de molibdato de amônio (40 g/l)	15
Solução de ácido sulfúrico (2,52 M)	30

Determinação do fósforo total nas amostras líquidas

O procedimento seguido para a determinação do fósforo total nas amostras líquidas foi muito semelhante ao anteriormente descrito para obtenção da curva de calibração. Pipetaram-se para matrizes de 100 ml, 50 ml da amostra tal qual ou diluída de acordo com o teor previsto em fósforo. Juntou-se 1 ml de solução de ácido sulfúrico 2,52 M e 0,4 g de persulfato de amônio e levou-se à ebulição suave durante 30 minutos, tendo-se evitado a secagem da amostra através da adição de pequenas porções de água desionizada. A amostra foi seguidamente transferida

para um balão volumétrico de 100 ml, adicionaram-se 10 ml de reagente de desenvolvimento de côm e completou-se o volume com água desionizada. Após desenvolvimento da côm e decorridos 10 a 30 minutos, procedeu-se à leitura da absorvância. Esta foi convertida em concentração por meio da curva de calibração.

2.3.3. Microscopia electrónica de varrimento - microanálise por dispersão de energias

A morfologia das amostras sólidas foi estudada por microscopia electrónica de varrimento, com um microscópio electrónico de varrimento de marca JEOL, modelo JSM-35C, acoplado a um espectrómetro de dispersão de energias Tracor, modelo TN 2000, tendo-se procedido sempre que necessário ao registo fotográfico da microestrutura encontrada.

A microanálise por dispersão de energias foi efectuada usando uma energia de excitação de 15 KeV e um tempo de recolha de espectros de 120 segundos. Para este efeito, partículas sólidas individualizadas das diferentes amostras, foram coladas, com cola de carbono, a um suporte de cobre.

Procedeu-se à determinação da composição elementar das amostras, por comparação da intensidade das riscas espectrais características das mesmas (subtraído o fundo contínuo), com as respectivas intensidades de amostras padrão, de composição bem conhecida, medidas em condições instrumentais semelhantes. Para cada amostra, foram analisadas três zonas gerais distintas, tendo-se igualmente procedido à análise de zonas particulares, naturalmente individualizadas. Foi também registado o espectro característico de cada zona analisada. No cálculo dos factores de correcção, foi usado o método PROZA.

2.3.4. Espectroscopia de Raman e de Infravermelho

Os espectros de Raman foram obtidos num espectrofotómetro Bruker FRS 106 FTA, em conjunção com um banco óptico Bruker IFS 88 FT-IR, usando como fonte de excitação um laser bombado Nd-YAG, operando na zona próxima do infravermelho, a 1,064 μm .

A resolução espectral com que se obtiveram os espectros foi de 6 cm^{-1} . A potência do laser usada, bem como o número de varrimentos, variou de acordo com as características da amostra.

Cada amostra em pó a ser examinada foi compactada num suporte em forma de disco, de acordo com a representação esquemática indicada na figura 6.

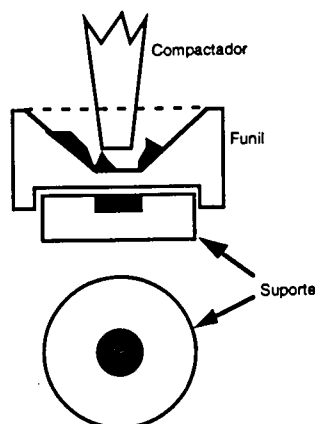


Fig. 6 - Esquema da preparação de amostras em pó para análise por espectroscopia de Raman.

Os espectros de infravermelho foram obtidos num espectrofotômetro Bruker IFS 88 FTIR. As amostras foram preparadas em discos de brometo de potássio.

Espectroscopia de Raman

Começou-se por analisar o pó de hidroxiapatite usado, tendo-se procedido igualmente à análise de compostos de cálcio mais simples, relacionáveis de alguma forma com a hidroxiapatite, com o objectivo de facilitar a interpretação dos espectros obtidos. Assim, foi analisado hidróxido de cálcio (Ca(OH)_2 Sigma), carbonato de cálcio (CaCO_3 Sigma) (os iões carbonato podem substituir iões fosfato ou hidróxilo na rede da hidroxiapatite), e fosfato tricálcico (fornecido pelo Queen Mary College), frequentemente presente nos pós comerciais de hidroxiapatite, bem como uma mistura (80:20) de fosfato tricálcico e hidróxido de cálcio.

Com o objectivo de se avaliar a sensibilidade da espectroscopia de Raman à variação da percentagem de fase cristalina presente nas amostras em estudo, foram obtidos espectros de dois pós adicionais de hidroxiapatite fornecidos pela empresa Plasma Coatings, com diferentes percentagens de fase cristalina.

Procedeu-se, ainda, ao traçado de espectros de amostras de hidroxiapatite tratadas por um período de 10 dias em soluções de 0,9% de NaCl com diferentes pHs.

Igualmente, obtiveram-se os espectros de colecções de amostras de hidroxiapatite tratadas com catiões metálicos, para estudar a influência dos catiões

Ti, Al e V na estrutura da mesma. Para investigar a influência da concentração de elemento metálico e do tempo de incubação nos espectros, foram analisadas amostras referentes a concentrações em cátions alumínio e titânio entre 100 a 2000 ppm e um tempo de incubação de 10 dias, bem como amostras referentes a uma concentração de cátion metálico de 500 ppm e diferentes tempos de incubação.

No caso das amostras incubadas com cátion vanádio, só foi possível obter o espectro de Raman para amostras referentes a concentrações reduzidas (100 ppm), dado que para as referentes a concentrações elevadas (500 ppm), a informação espectral surgia mascarada por fenómenos de fluorescência.

Por forma a facilitar a interpretação dos espectros encontrados para as amostras referentes a diferentes concentrações de cátion titânio, tentou-se encontrar no mercado um fosfato de titânio que pudesse servir como padrão de referência. Como este tipo de composto não era comercializado, foi feita uma tentativa de preparação do mesmo por precipitação. Para isso, foi preparada, em água desionizada, uma solução 0,02M em $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ e 0,01M em TiCl_4 , da qual se adicionaram 50 ml a 500 mg de hidroxiapatite, tendo sido as amostras incubadas e tratadas de acordo com as condições descritas no subcapítulo 2.2. Ao longo do texto estas amostras passarão a ser referidas como "mistura".

Com o objectivo de investigar a presença de óxido de titânio nas amostras ricas neste elemento, foram ainda obtidos espectros das seguintes misturas:

- mistura de 1:1 de TiO_2 e HAp;
- mistura de 1:1 de TiO_2 e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% de NaCl com uma concentração de 500 ppm de cátion Ti;

bem como o espectro do óxido de titânio.

Espectroscopia de infravermelho

Foi feito o traçado do espectro de infravermelho de amostras de hidroxiapatite e de amostras obtidas em experiências referentes a uma concentração de 500 ppm de cátion Ti e tempos de incubação de 2 horas e 10 dias.

2.3.5. Análise de Superfícies

2.3.5.1. Espectroscopia fotoelectrónica de raios X (XPS)

Para obtenção dos espectros de XPS, foi usado um analisador VG Scientific ESCALAB MKII e fonte de raios X Mg K α ($h\nu=1253,6$ eV). Para todas as amostras, foi registado um varrimento geral (0-1000 eV) e varrimentos estreitos nas regiões C1s, O1s, P2p 3/2, Ca2p 3/2 e Ti2p 3/2.

A montagem das amostras em pó foi feita sobre fita adesiva, em suportes de aço inoxidável.

Foram analisadas amostras sólidas de hidroxiapatite, após terem sido incubadas por um período de 10 dias em soluções de 0,9% de NaCl, com diferentes concentrações de catião Ti, nomeadamente 200, 400, 500 e 1000 ppm. Procedeu-se igualmente à análise de amostras referentes a uma concentração inicial de 500 ppm de titânio, incubadas por diferentes períodos de tempo, nomeadamente, 30 minutos, 24h, 120h e 10 dias.

2.3.5.2. Espectroscopia de massa de iões secundários - tempo de voo (ToF -SIMS)

As amostras analisadas por XPS foram igualmente analisadas por ToF-SIMS. Os espectros foram obtidos através de um espectrómetro VG-Ionex IX 23S, equipado com uma fonte pulsada de metal líquido. Foi usado um feixe primário de 30 KeV de iões Ga $^{+}$ (densidade de fluxo iónico $=2\times10^{-11}$ A cm $^{-2}$), a um ângulo de incidência de 38° e focado numa área de 0,6 mm x 0,6 mm. Os iões secundários resultantes foram acelerados a 5 KeV para a análise, por aplicação de uma polarização à amostra. A compensação de carga foi alcançada usando um feixe electrónico pulsado, operando a uma energia efectiva de 250 eV e uma densidade de corrente de 1×10^{-8} A cm $^{-2}$. Para cada amostra foram recolhidos os espectros de iões secundários, positivos e negativos, na gama m/z 0-800, usando um feixe total de iões primários não superior a 2×10^{11} iões cm $^{-2}$.

As amostras em pó foram montadas sobre fita adesiva em suportes de aço inoxidável.

2.3.6. Análise Termogravimétrica

Foi estudado por termogravimetria o comportamento da hidroxiapatite, do

composto $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, e de amostras obtidas em experiências com diferentes concentrações de íons metálicos, nomeadamente 500, 1000 e 2000 ppm, incubadas durante 10 dias, tendo sido usado para o efeito, um sistema de análise térmica Metler TA 4000, equipado com uma termobalança TG 50, com uma precisão de $\pm 2^\circ \text{C}$ e uma sensibilidade de $1 \mu\text{g}$, associada a um processador TC 11.

Os ensaios foram realizados em ar, com um caudal de aproximadamente $200 \text{ cm}^3/\text{min}$.

As amostras foram aquecidas a uma velocidade de 5°C por minuto, de 25°C até 1000°C , tendo permanecido a esta temperatura durante 10 minutos.

O processador usado permitia o tratamento gráfico e numérico dos dados obtidos, nomeadamente o cálculo da derivada das curvas de variação de massa da amostra com a temperatura e o tempo.

2.3.7. Difracção de raios X

Através da técnica de difracção de raios X, foram analisadas amostras sólidas, com vista à identificação da fase ou fases presentes, bem como à avaliação da cristalinidade das mesmas.

Previamente ao seu estudo, os materiais foram pulverizados por forma a garantir a sua homogeneidade.

As condições instrumentais de trabalho estão indicadas na tabela 7.

Tabela 7 - Condições instrumentais usadas na obtenção dos difractogramas.

Difractómetro	Philips PW 1710
Ampola	Anticátodo de Cu; foco largo Potência: 40KV; 20mA
Fenda	De recepção : 0,2 mm
Monocromador	Grafite; feixe difractado
Detector	Proporcional
Amostra	Pó em lamela de vidro
Velocidade de varrimento	$0,3^\circ/2\theta$ /min.

Foi também usado o método da câmara Debye-Scherer, quando requerida maior sensibilidade e para quantidades muito reduzidas de amostra. Utilizou-se para o efeito uma câmara do tipo da representada esquematicamente na figura 2.

A amostra foi centrada e posicionada coaxialmente com uma película fotográfica envolta em torno da parede interna da câmara cilíndrica, por forma a nele serem registados os cones de difracção. Nos radiogramas obtidos foi medida a distância entre os dois arcos (intersecções dos cones de difracção com a superfície cilíndrica envolvente), que corresponde ao ângulo 4θ e a partir do valor de θ foram calculados os espaçamentos interplanares d pela equação de Bragg.

Começou-se por analisar o pó de hidroxiapatite usado em todo o trabalho, tendo-se igualmente procurado avaliar a influência do tempo de incubação na estrutura cristalina da hidroxiapatite. Para tal, foram obtidos os difractogramas e radiogramas da hidroxiapatite tal qual e do sólido obtido após sua incubação numa solução de 0,9% de NaCl, por períodos de tempo de 10 e 230 dias.

Foi igualmente estudada a influência da concentração dos cátions Ti, Al e V, e do tempo de incubação, na estrutura da hidroxiapatite, tendo para o efeito sido analisadas amostras de hidroxiapatite após incubação por diferentes períodos de tempo em soluções com diferentes concentrações de catião metálico.

Dada a dificuldade surgida na identificação dos compostos formados em presença de titânio, pelo facto de estes serem pouco cristalinos, mesmo para tempos de incubação superiores a um ano (379 dias), procurou-se aumentar a sua cristalinidade actuando na temperatura de incubação. Para tal procedeu-se à incubação de amostras a temperaturas superiores a 37°C , nomeadamente a 65°C , por um período de 10 dias, tendo-se posteriormente procedido à sua análise.

Igualmente com o objectivo de aumentar a cristalinidade do(s) composto(s) ricos em titânio, procedeu-se ao aquecimento a 1000°C , em ar, dos sólidos resultantes da incubação de hidroxiapatite em soluções de 0,9% de NaCl com concentrações de 240, 400, 500, 1000 e 2000 ppm de catião Ti e da amostra designada por "mistura". As amostras permaneceram àquela temperatura durante 1 hora, tendo sido depois arrefecidas dentro do forno até à temperatura ambiente. A hidroxiapatite foi igualmente submetida ao mesmo ciclo térmico. Procedeu-se, posteriormente, à obtenção dos difractogramas respectivos.

A fase sólida obtida por incubação com 500 ppm de catião Ti durante 379 dias, foi ainda aquecida a diferentes temperaturas (100°C , 250°C), para estudo da evolução e transformações de fase ocorridas em função da temperatura de aquecimento.

III APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

3.1. Influência do meio na dissolução da hidroxiapatite

Seguidamente são apresentados os resultados obtidos no estudo da dissolução da hidroxiapatite em meios distintos, nomeadamente, soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido clorídrico e soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido láctico.

3.1.1. Influência do pH

Na figura 7 está representada a variação da extensão de dissolução da hidroxiapatite com o pH para um tempo de incubação de 10 dias. Foram testados vários tempos de ensaio, nomeadamente 30 minutos, 2h, 6h, 24h e 10 dias, tendo-se obtido concentrações estacionárias de Ca e P após um período de 2h.

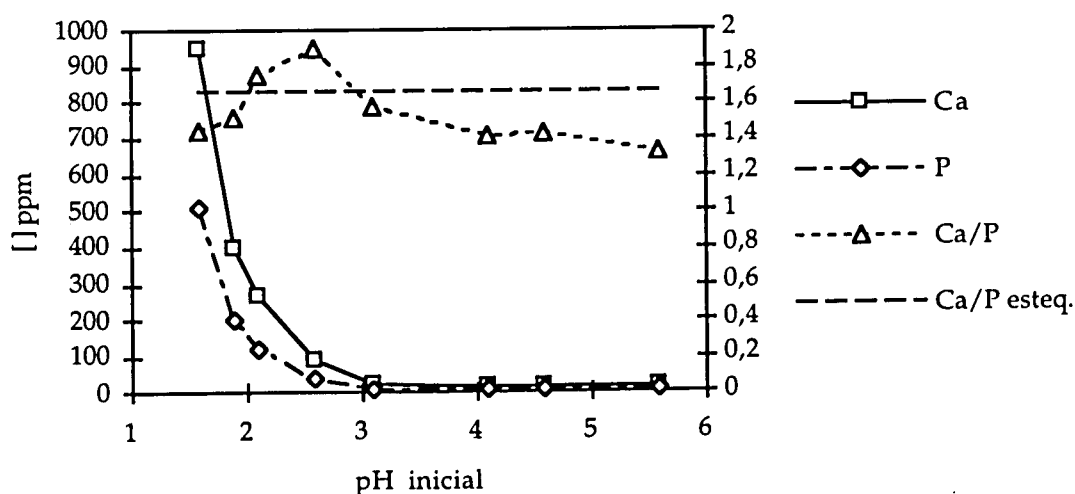


Fig. 7 - Influência do pH na dissolução da HAp.

Nota: Por forma a facilitar a visualização dos resultados, não foram incluídas nos gráficos de concentrações elementares barras de erro. É no entanto de referir, que o desvio padrão observado para os valores considerados no cálculo da concentração média (representada graficamente), foi sempre

inferior a 5%. Os valores médios usados no traçado de todos os gráficos incluídos neste capítulo, encontram-se tabelados no anexo A.

Por observação da figura 7, verifica-se que a um aumento da concentração de H^+ está associado um aumento da concentração de Ca e P na fase líquida. A razão molar Ca/P determinada nas soluções, não corresponde, no entanto, ao valor de 1,67 encontrado para o sólido, e característico da hidroxiapatite estequiométrica, exibindo um máximo a $pH=2,6$. Para valores de pH inferiores a 2,1 e iguais ou superiores a 3,1, a razão Ca/P é menor que a estequiométrica. A deficiência em Ca ou o excesso de P na solução não se deve possivelmente à hidroxiapatite usada, mas sim a um comportamento de dissolução incongruente, apresentado pela mesma, e referido igualmente na literatura [78, 79].

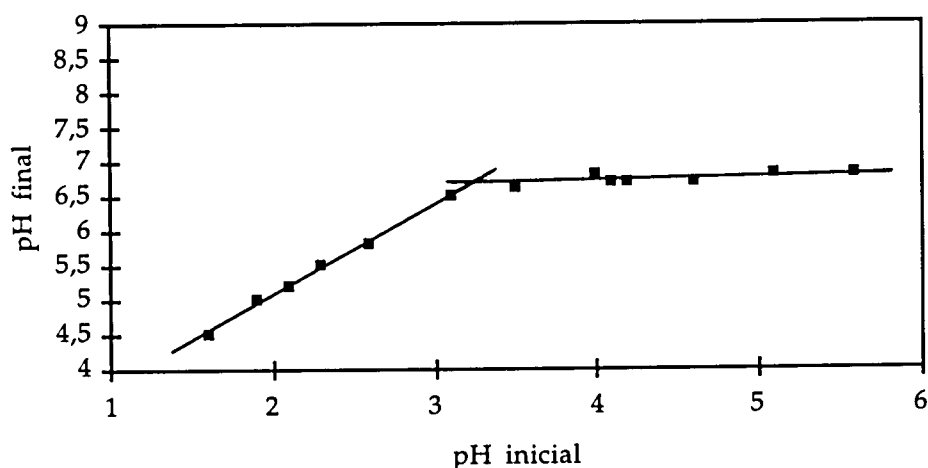


Fig. 8 - pH final versus pH inicial.

A variação de pH associada à dissolução da hidroxiapatite, obtida em experiências com tempo de incubação de 10 dias, está representada na figura 8. Para soluções com diferentes concentrações de ácido clorídrico e com valores de pH inicial inferiores a 3,2, o pH final varia quase linearmente com o inicial. Para valores de pH inicial superiores a este valor, o pH final estabiliza em cerca de 6,8, ficando a solução como que tamponada. Uma outra hipótese a considerar é a de que a cinética de dissolução, para valores de pH inicial superiores a 6,0, seja de tal modo lenta, que, para o tempo de incubação envolvido, não se verifiquem variações de concentração dos elementos Ca e P em solução.

Foi também investigada a possibilidade de reprecipitação de hidroxiapatite ou de outras fases suas precursoras, nomeadamente brushite,

DCPD, ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), monetite, DCP, (CaHPO_4), fosfato octacálcico, OCP, ($\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) ou fosfato tricálcico amorfo, TCPA, ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$), para as soluções usadas experimentalmente. Para tal foram calculadas através da utilização de um programa de computador da autoria de L. Madsen [80], as sobressaturações das fases referidas, para as condições utilizadas.

Termodinamicamente é necessário que a sobressaturação (β) de uma fase seja superior à unidade, para que ela possa precipitar, ou seja, é necessário que o quociente de reacção (produto das actividades das espécies químicas que a constituem elevadas aos respectivos coeficientes estequiométricos), seja superior ao seu produto de solubilidade.

Para o caso da hidroxiapatite, a sobressaturação é dada por:

$$\begin{aligned}\beta_{\text{HAp}} &= a^5 (\text{Ca}^{2+}) a^3 (\text{PO}_4^{3-}) a (\text{OH}^-) / K_{\text{ps}} (\text{HAp}) = \\ &= [a^5 (\text{Ca}^{2+}) a^3 (\text{HPO}_4^{2-}) K(\text{água}) / a^4 (\text{H}^+)] / K_{\text{ps}} (\text{HAp})\end{aligned}$$

Tabela 8 - Sobressaturações β da brushite (DCPD), monetite (DCP), fosfato octacálcico (OCP) e fosfato tricálcico amorfo (TCPA), em função do pH, a 37°C.

pH	β (DCPD)	β (DCP)	β (OCP)	β (TCPA)
1,6	$4,606 \times 10^{-1}$	<u>$1,184 \times 10^0$</u>	$8,166 \times 10^{-3}$	$6,617 \times 10^{-3}$
1,9	$2,629 \times 10^{-1}$	$6,756 \times 10^{-1}$	$3,520 \times 10^{-3}$	$4,999 \times 10^{-3}$
2,1	$1,793 \times 10^{-1}$	$4,608 \times 10^{-1}$	$1,983 \times 10^{-3}$	$4,128 \times 10^{-3}$
2,3	$1,202 \times 10^{-1}$	$3,091 \times 10^{-1}$	$1,089 \times 10^{-3}$	$3,381 \times 10^{-3}$
2,6	$6,742 \times 10^{-2}$	$1,733 \times 10^{-1}$	$4,573 \times 10^{-4}$	$2,532 \times 10^{-3}$
3,1	$2,453 \times 10^{-2}$	$6,305 \times 10^{-2}$	$1,003 \times 10^{-4}$	$1,527 \times 10^{-3}$
3,5	$1,024 \times 10^{-2}$	$2,633 \times 10^{-2}$	$2,709 \times 10^{-5}$	$9,868 \times 10^{-4}$
4,0	$2,789 \times 10^{-3}$	$7,169 \times 10^{-3}$	$3,847 \times 10^{-6}$	$5,148 \times 10^{-4}$
4,1	$2,204 \times 10^{-3}$	$5,666 \times 10^{-3}$	$2,703 \times 10^{-6}$	$4,577 \times 10^{-4}$
4,2	$1,627 \times 10^{-3}$	$4,183 \times 10^{-3}$	$1,715 \times 10^{-6}$	$3,933 \times 10^{-4}$
4,6	$3,979 \times 10^{-4}$	$1,023 \times 10^{-3}$	$2,074 \times 10^{-7}$	$1,945 \times 10^{-4}$
5,1	$1,534 \times 10^{-4}$	$3,943 \times 10^{-3}$	$4,964 \times 10^{-8}$	$1,208 \times 10^{-4}$
5,6	$9,833 \times 10^{-5}$	$2,528 \times 10^{-4}$	$2,547 \times 10^{-8}$	$9,668 \times 10^{-5}$

Na tabela 8 apresentam-se os resultados do cálculo da sobressaturação para as diversas fases acima referidas quando $\beta_{\text{HAp}} = 1$. Para todos os valores de pH inicial compreendidos entre 1,6 e 5,6 (valores experimentais de pH), o valor da sobressaturação β é sempre inferior a 1, excepto no caso de um pH inicial de 1,6, em que é susceptível de precipitar a monetite, dado a sua sobressaturação

residual ser superior à unidade (tabela 8). Devido no entanto ao seu valor ser muito próximo do de equilíbrio ($\beta=1$), não é provável que ocorra precipitação. Para todos os restantes valores de pH, a precipitação de qualquer das fases referidas não é viável, pelo que os valores de concentração de Ca e P encontrados em solução são os relativos à dissolução da hidroxiapatite para as condições envolvidas, não sendo de prever a formação de outras fases ricas em Ca e P, com o consequente consumo destes elementos.

3.1.2. Influência do ácido láctico como meio simulador de infecção

A figura 9 representa os resultados obtidos nas experiências realizadas com o objectivo de investigar a influência do ácido láctico na dissolução da hidroxiapatite. Nela estão representadas as concentrações de Ca e P na fase líquida, obtidas após incubação da hidroxiapatite por um período de 10 dias, em soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido láctico e na ausência de ácido clorídrico. Verifica-se que para valores de pH iniciais inferiores a 3,8, o aumento da concentração de ácido láctico em solução provoca um aumento da concentração de Ca, o mesmo se verificando para o P. A relação Ca/P encontrada no líquido é sempre bastante inferior a 1,67, variando entre 1,13 e 0,82.

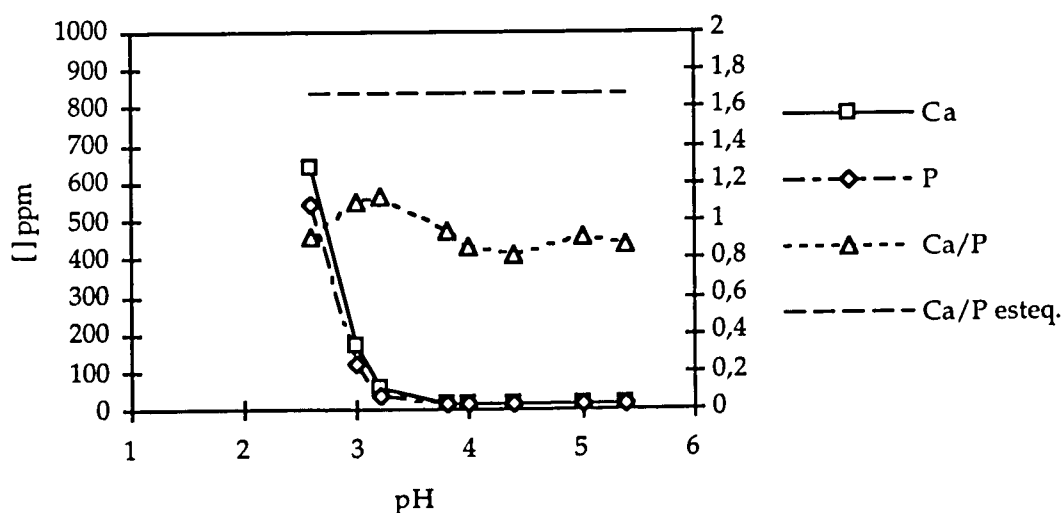


Fig. 9 - Influência da concentração de ácido láctico na dissolução da HAp.

É de realçar o facto de a presença de ácido láctico aumentar a extensão da dissolução da hidroxiapatite para valores de pH inicial iguais ou inferiores a 3,2, dado conduzir a concentrações de Ca e P na fase líquida, superiores às encontradas para soluções de 0,9% de NaCl em que o ajuste de pH foi feito com

ácido clorídrico (figura 10). No entanto, verifica-se que a dissolução não ocorre de forma estequiométrica, uma vez que a concentração de Ca em solução é inferior à que seria de esperar face à concentração de P presente. É de admitir, portanto, a hipótese de ter ocorrido precipitação de lactato de cálcio, com a consequente diminuição do teor de Ca na fase líquida. Para valores de pH iniciais superiores a 3,2, o efeito do aumento da concentração de ácido láctico não se faz sentir, como pode ser observado na figura 10.

Em termos de variação de pH durante as experiências, a tendência é para o pH final estabilizar num valor médio de 6,9 (figura 11) semelhante ao obtido nas experiências sem ácido láctico, para valores de pH inicial, iguais ou superiores a 3,8 (figura 8).

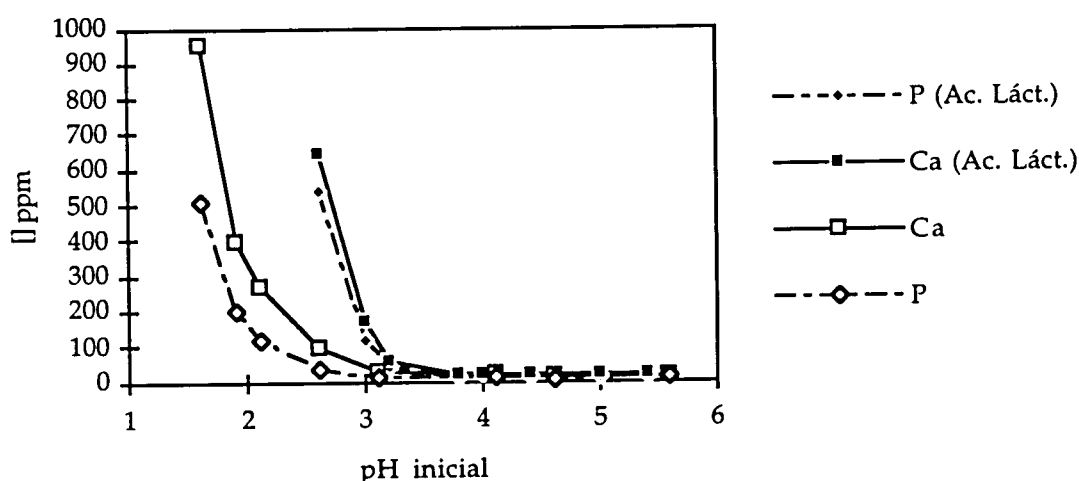


Fig. 10 - Comportamento de dissolução da HAp nos dois meios distintos.

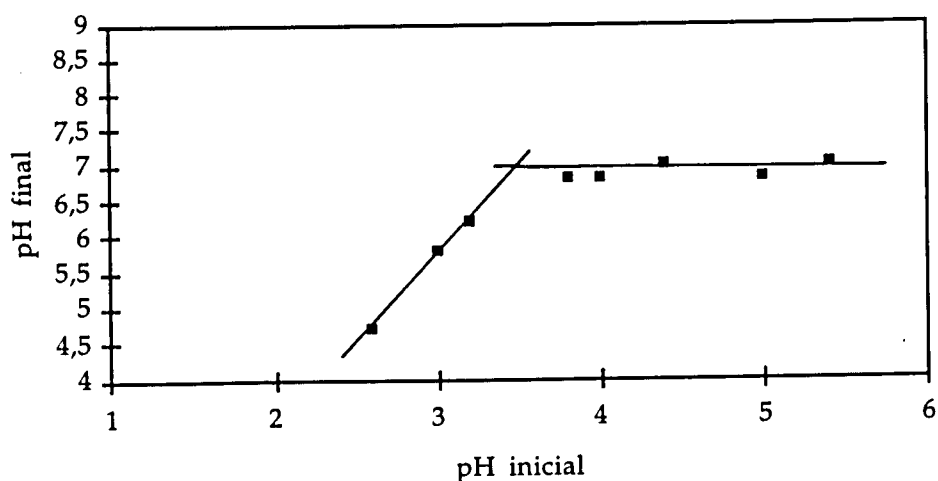


Fig. 11 - pH final versus pH inicial (soluções com ácido láctico).

3.2. Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da hidroxiapatite

3.2.1. Dissolução

Influência do cátion Ti

A figura 12 representa a concentração de Ca e P na fase líquida, em função da concentração inicial de cátion Ti, em experiências com um tempo de incubação de 10 dias. Para concentrações crescentes mas inferiores a 500 ppm de cátion metálico em solução, observa-se um aumento da concentração de Ca e P na fase líquida. Para teores superiores de cátion Ti, a concentração de Ca estabiliza, contrariamente à de P, que vai decrescendo. As concentrações de Ca e P obtidas não são, no entanto, as que seriam de esperar para uma dissolução estequiométrica, conduzindo a valores de razão Ca/P superiores a 1,67 e crescentes com o aumento da concentração de Ti em solução (figura 12).

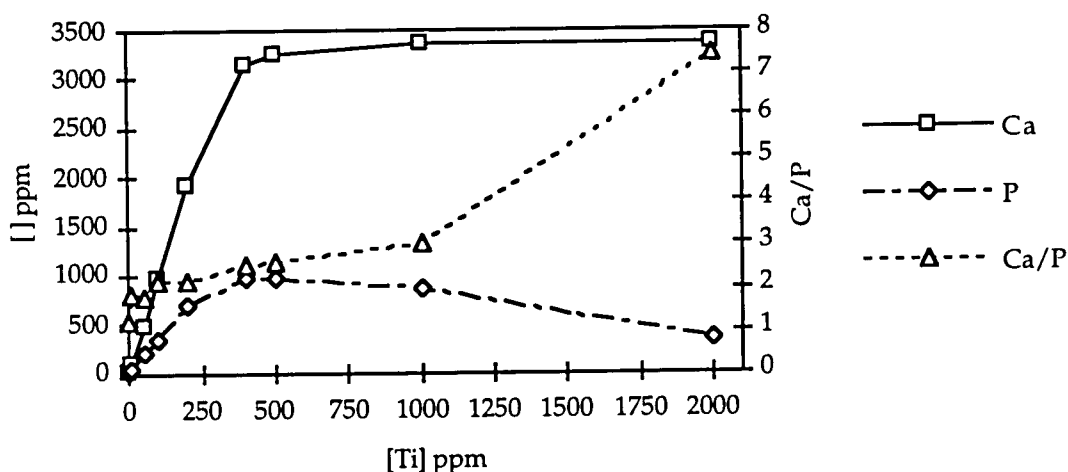


Fig. 12 - Influência da concentração de Ti na dissolução da HAp.

À presença do cátion Ti parece, portanto, estar associada a inibição da passagem do anião fosfato para a solução, sendo de admitir a hipótese de ocorrência de reacção química entre ambos, com formação de um novo composto.

A pesquisa de cátion Ti na fase líquida após incubação, conduziu a valores de concentração inferiores a 1 ppm, pelo que praticamente todo o Ti se encontra incorporado no sólido. Esta observação foi confirmada por análise química somente para as amostras com teores em Ti iguais ou inferiores a 100 ppm dado que para concentrações superiores de cátion metálico, não foi possível dissolver completamente os sólidos.

Em termos de variação de pH com a concentração de catião Ti, observa-se que, durante o período de incubação, o pH da solução evolui para valores mais básicos, possivelmente como resultado da dissolução da hidroxiapatite, que conduz a um aumento da concentração de iões OH^- em solução. Verifica-se, no entanto, que para concentrações crescentes de catião metálico, os valores de pH inicial e pH final se vão aproximando (figura 13), o que sugere uma menor contribuição dos iões OH^- libertados pela hidroxiapatite.

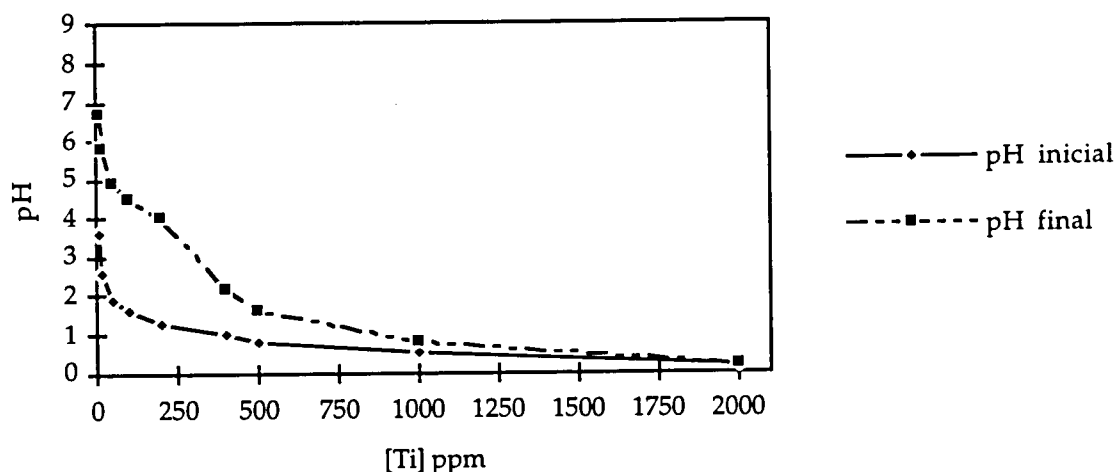


Fig. 13 - Variação do pH com a concentração inicial de catião Ti.

Os resultados obtidos para as concentrações de Ca e P na fase líquida, em experiências referentes a uma concentração inicial de 500 ppm de catião Ti e tempos de incubação variáveis (de 5 minutos a 10 dias), indicam que se atingem concentrações praticamente estacionárias destes elementos logo após os primeiros 5 minutos de incubação (figura 14).

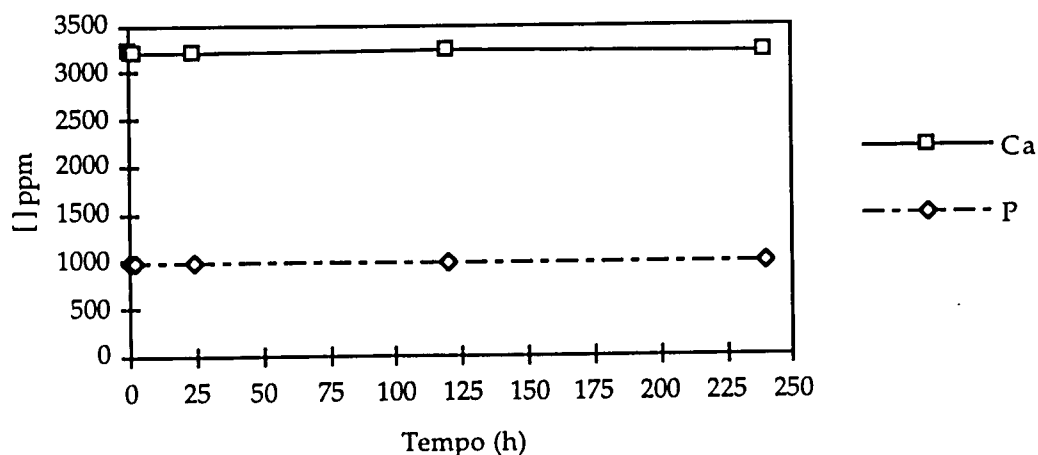


Fig. 14 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de 500 ppm de catião Ti.

Verifica-se, igualmente, que a incorporação de titânio na fase sólida ocorre muito rapidamente, uma vez que para um tempo de incubação de 5 minutos, a concentração de catião Ti em solução é já inferior a 1 ppm, mantendo-se constante após decorridos 10 dias de ensaio.

Na figura 15 representa-se a variação da concentração de Ca e P com o pH inicial (pH medido antes de as soluções serem adicionadas à hidroxiapatite), para experiências referentes a diferentes concentrações de catião Ti e tempos de incubação de 10 dias. Uma vez que as adições de catião metálico foram feitas sob a forma de uma solução ácida de cloreto de titânio, valores mais baixos de pH correspondem a concentrações mais elevadas de metal. Na mesma figura (figura 15), estão também representadas as concentrações de Ca e P determinadas em soluções com pH inicial variável e na ausência de catião Ti, após estas terem sido incubadas com hidroxiapatite. Para valores de pH inicial correspondentes a concentrações de Ti inferiores a 50 ppm ($\text{pH} > 1,9$), o efeito da presença do catião Ti na dissolução da hidroxiapatite não se distingue do efeito do pH dado que, para essa gama de valores, as curvas são praticamente sobreponíveis. Para um valor de pH inicial correspondente a uma concentração de 500 ppm de Ti ou superior ($\text{pH} \leq 0,8$), a mesma comparação não é viável já que toda a hidroxiapatite nas soluções sem Ti foi dissolvida. Para concentrações intermédias, a presença de catião Ti provoca uma diminuição da concentração de P em solução face à que seria de esperar devido unicamente a um efeito de pH. Por sua vez, para a gama de concentrações referida, a concentração de Ca não é significativamente afectada pela presença de Ti.

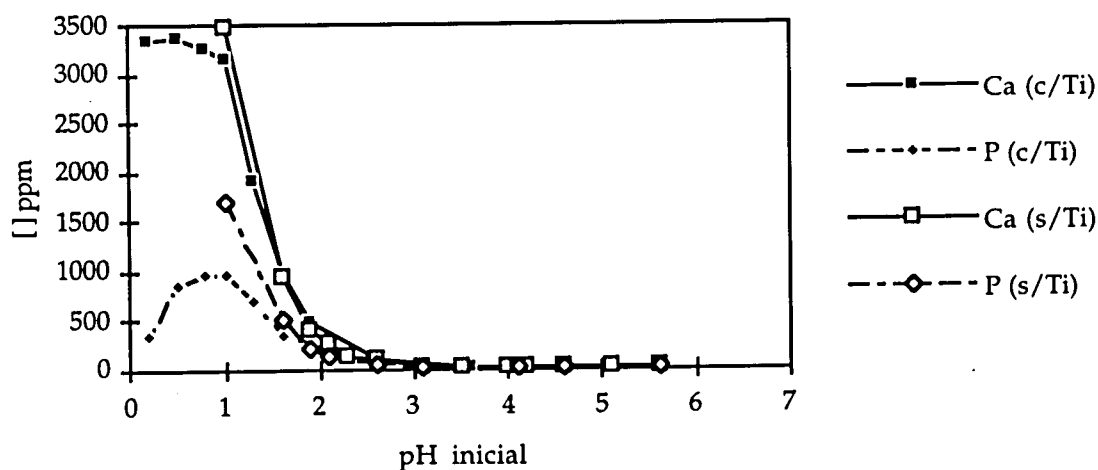


Fig. 15 - Influência do catião Ti na dissolução da HAp (gráfico comparativo).

Influência do catião Al

A figura 16 representa a concentração de Ca e P na fase líquida, em função da concentração inicial de catião Al, em experiências com um tempo de incubação de 10 dias. Verifica-se existir uma relação praticamente linear entre a concentração de catião Al adicionado e a concentração de Ca em solução. Relativamente à concentração de P, esta mantém-se aproximadamente estável na gama de concentrações de Al de 200 a 500 ppm, aumentando significativamente para concentrações superiores deste catião metálico.

A razão Ca/P na fase líquida aumenta com o aumento do teor de catião Al em solução, até uma concentração inicial de 500 ppm, diminuindo para valores superiores de concentração. No entanto, esta razão mantém-se sempre superior ao valor estequiométrico.

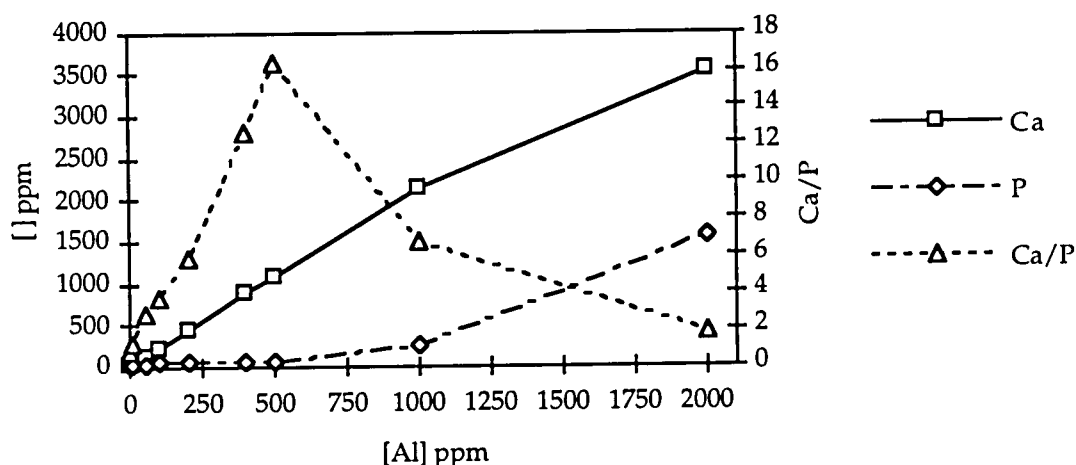


Fig. 16 - Influência do catião Al na dissolução da HAp.

Tabela 9 - Concentração de catião Al na fase líquida após incubação.

conc. inicial (ppm)	conc. fase líquida (ppm)
1	< 1
10	< 1
50	< 1
100	< 1
200	< 1
400	< 1
500	< 1
1000	121,2
2000	1810

Para as amostras mais concentradas em Al (2000 ppm), a fase líquida apresentou-se bastante turva, devido possivelmente à presença de um precipitado muito fino, impossível de separar por centrifugação ou filtração. Consequentemente, procedeu-se ao seu ataque com ácido clorídrico concentrado previamente à sua análise. O teor em Al encontrado nestas amostras foi particularmente elevado (tabela 9). Relativamente à variação de pH com a concentração de elemento metálico, observa-se que durante a incubação este evolui para valores mais básicos, até uma concentração inicial de catião Al próxima de 1000 ppm, valor a partir do qual os pHs finais decrescem (tornam-se mais ácidos) relativamente aos iniciais (figura 17). O valor de pH final referente a soluções com uma concentração de catião Al de 2000 ppm, pode, no entanto, não ser o indicado dado as soluções se encontrarem turvas. Em presença de concentrações elevadas de Al (1000 e 2000 ppm), verifica-se um consumo de iões OH^- da solução, sendo de adiantar a hipótese de formação de um composto rico em ião hidróxido. Dada a tendência que o catião Al^{3+} apresenta para formar hidroxocomplexos poliméricos, é de supor que estas espécies estejam presentes no sólido obtido.

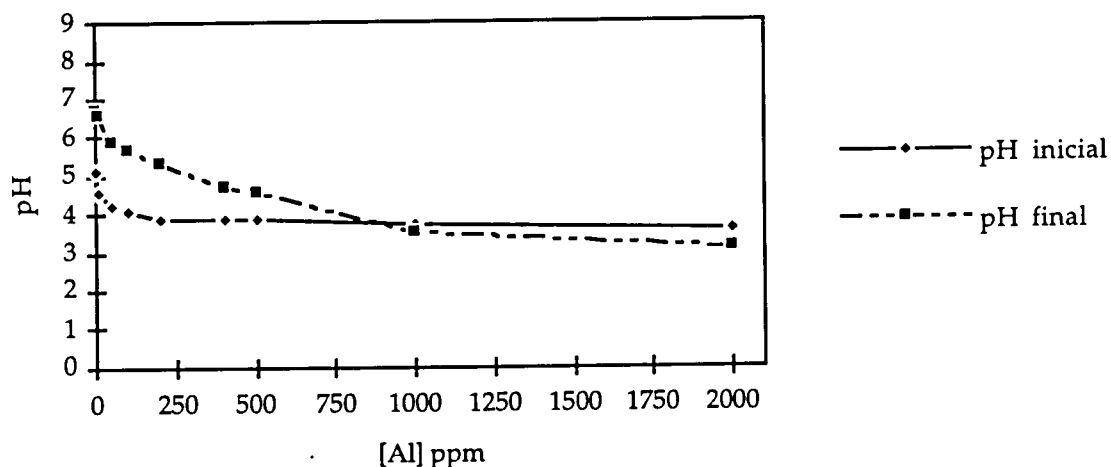


Fig. 17 - Variação do pH com a concentração inicial de catião Al.

Quanto à influência do tempo de incubação na dissolução da hidroxiapatite em presença de catião Al (500 ppm), verifica-se que a concentração de Ca em solução aumenta ligeiramente com o tempo de incubação, o mesmo acontecendo com a concentração de P (figura 18). Somente para um tempo de incubação de 5 minutos é que a concentração de Al encontrada em solução, foi superior a 1 ppm (tabela 10), pelo que se conclui que, nos restantes casos, praticamente todo o Al se encontra incorporado no sólido.

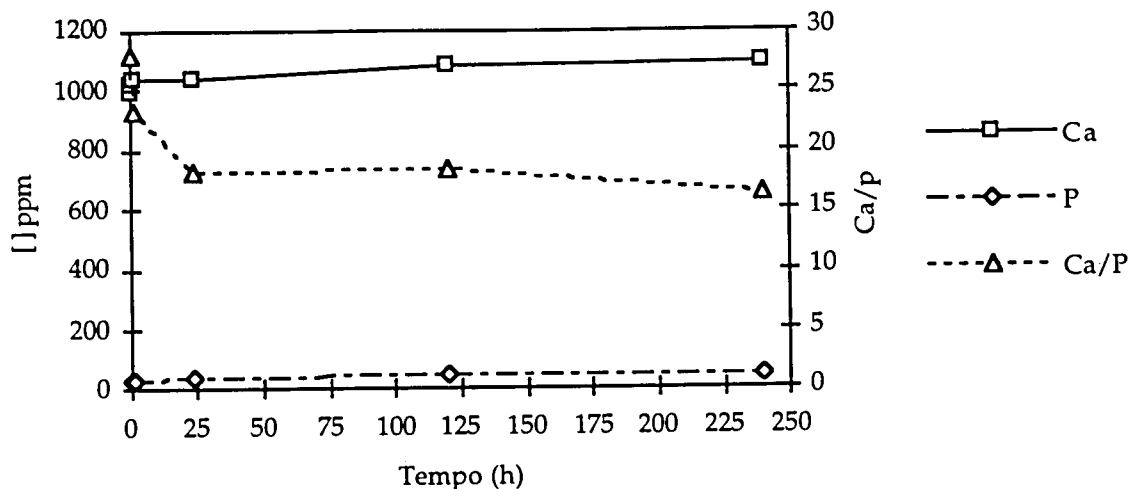


Fig. 18 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de catião Al (500 ppm).

Tabela 10 - Concentração de catião Al na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião Al de 500 ppm).

tempo de incubação (h)	[Al] ppm
5/60	230
30/60	<1
2	<1
24	<1
120	<1
240	<1

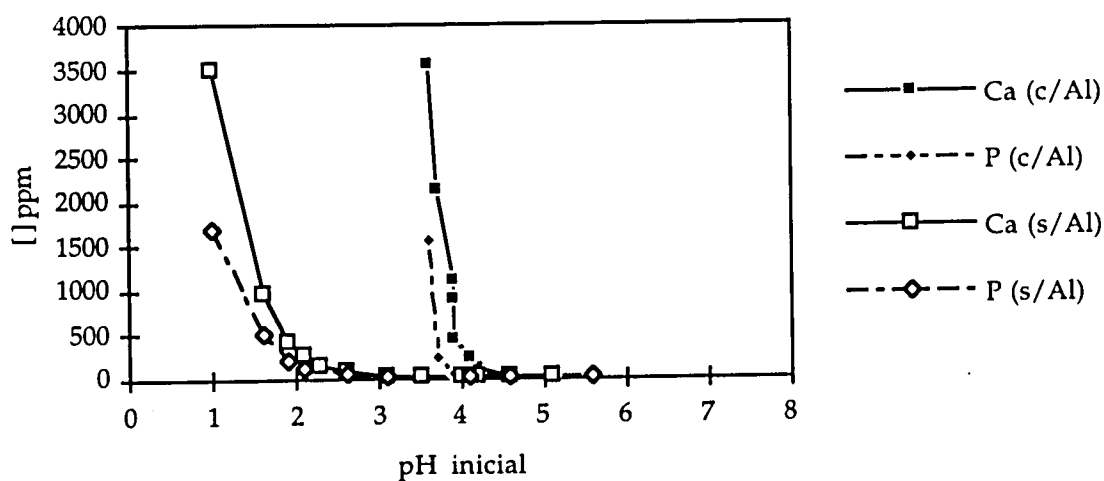


Fig. 19 - Influência do catião Al na dissolução da HAp (gráfico comparativo).

A figura 19 permite distinguir o efeito do catião Al na dissolução da

hidroxiapatite, do efeito da diminuição de pH que a sua presença provoca. Uma vez que o catião Al é adicionado sob a forma de uma solução ácida (cloreto de alumínio), a maiores concentrações de catião metálico em solução correspondem menores valores de pH inicial. A figura 19 mostra que a presença de Al tem um efeito muito significativo no aumento da concentração de Ca e P em solução, efeito este claramente distinto do provocado por uma diminuição de pH do meio de incubação.

Influência do catião V

Na figura 20 estão representados os resultados obtidos para as concentrações de Ca e P na fase líquida, em função da concentração inicial de catião V, em experiências com um tempo de incubação de 10 dias.

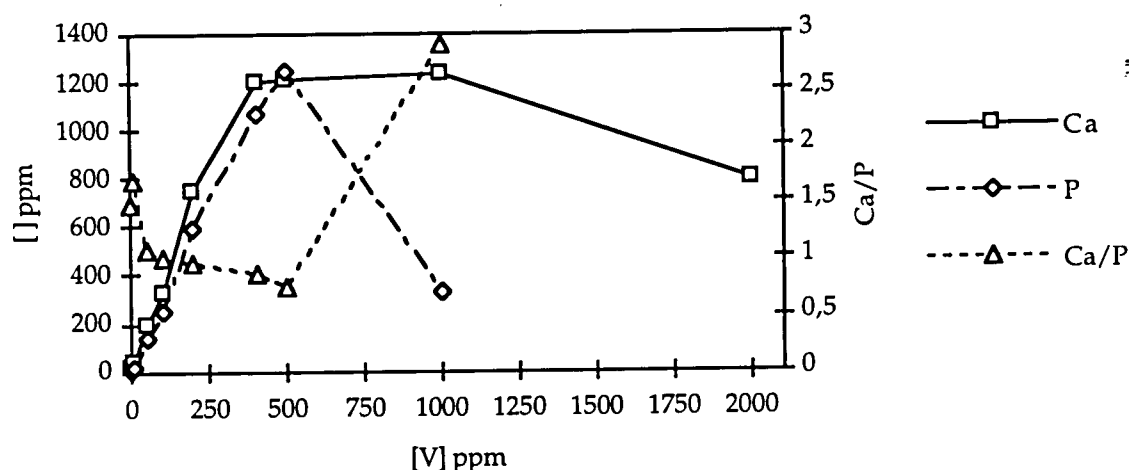


Fig. 20 - Influência do catião V na dissolução da HAp.

Verifica-se que para concentrações de V até 1000 ppm, a concentração de Ca aumenta com o aumento da concentração de catião metálico em solução, diminuindo, porém, para uma concentração de catião V de 2000 ppm.

Relativamente ao fósforo, o seu teor em solução aumenta até valores de concentração inicial de catião V de 500 ppm, diminuindo para uma concentração de 1000 ppm. As determinações de P nas soluções mais concentradas em V (2000 ppm), não foram reprodutíveis, pelo que a sua representação não é contemplada no gráfico da figura 20. A irreprodutibilidade de resultados deve-se, provavelmente, ao facto de a concentração de catião V em solução após incubação ser bastante elevada (tabela 11), conferindo ao líquido uma cor azul muito intensa (a solução de sulfato de vanadilo é azul turquesa). Se bem que as soluções tenham sido submetidas a elevadas diluições

(4000x) previamente à sua análise, é possível que tenham ocorrido interferências no método colorimétrico usado na determinação de fósforo (método do ácido ascórbico).

Tabela 11 - Concentração de catião V na fase líquida após incubação.

conc. inicial (ppm)	conc. fase líquida (ppm)
1	< 1
10	< 1
50	2
100	7
200	1,7
400	< 1
500	< 1
1000	35,3
2000	1969,5

Na figura 21 está representada a variação do pH das amostras líquidas durante a incubação, para diferentes concentrações iniciais de catião vanádio em solução. Observa-se que, após a incubação, o pH se torna menos ácido, verificando-se uma aproximação dos valores de pH inicial e pH final à medida que a concentração em V é aumentada.

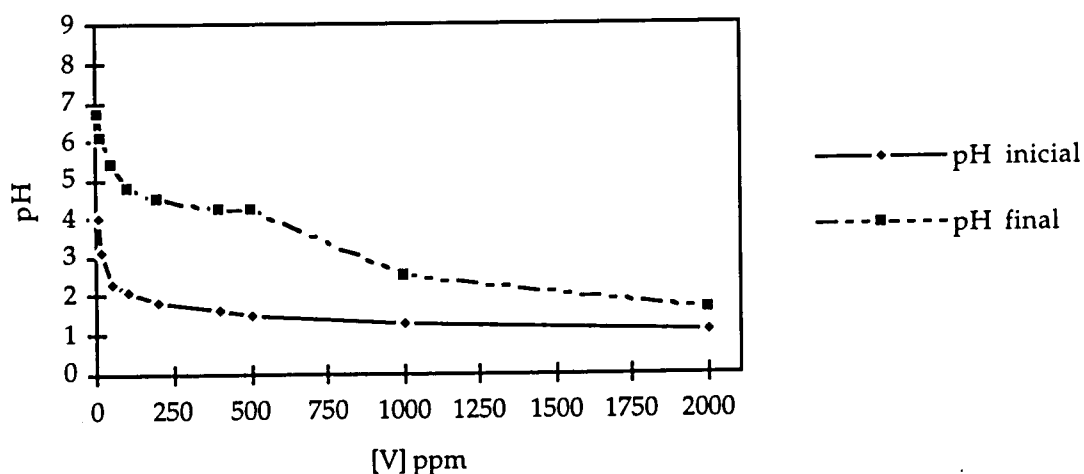


Fig. 21 - Variação do pH com a concentração inicial de catião vanádio.

Quanto à influência do tempo de incubação na dissolução da hidroxiapatite em presença de catião V (500 ppm), observa-se que a concentração de Ca diminui ligeiramente com o aumento do tempo de incubação, o mesmo se verificando com a concentração de P (figura 22). Após

os primeiros 5 minutos de incubação, ainda se encontra em solução aproximadamente 80% do vanádio inicialmente presente nas amostras (tabela 12). No entanto, o seu teor vai decrescendo até que, para um tempo de incubação de 24 horas, já praticamente todo o catião metálico se encontra incorporado na fase sólida.

Tabela 12 - Concentração de catião V na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião V de 500 ppm).

tempo de incubação (h)	[V] ppm
5/60	403,6
30/60	376,5
2	313,3
24	<1
120	<1
240	<1

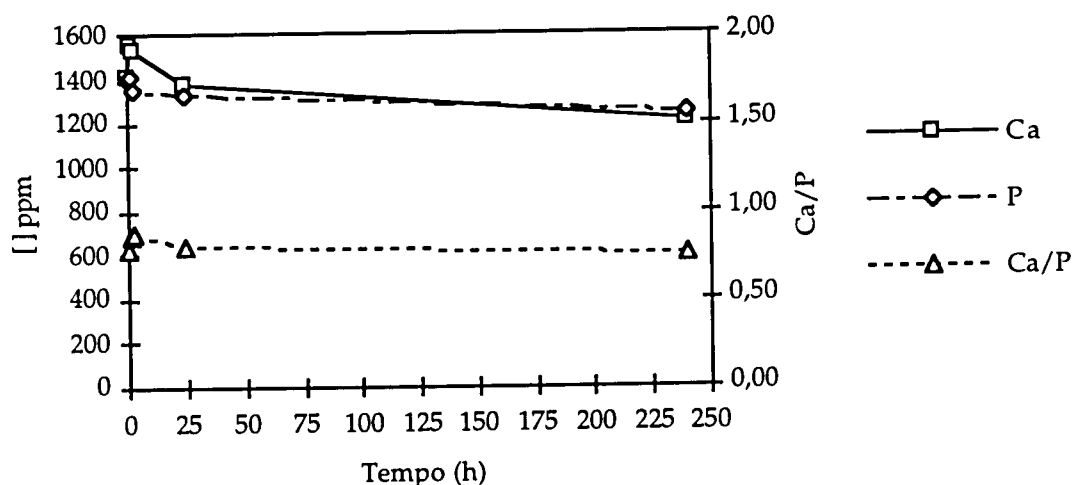


Fig. 22 - Efeito do tempo de incubação na dissolução da HAp, em presença de catião V (500 ppm).

Relativamente à influência do catião vanádio na dissolução da hidroxiapatite (figura 23) verifica-se que para concentrações iniciais superiores a 50 ppm, o seu efeito se diferencia do efeito da diminuição de pH que a sua adição provoca. Na referida figura, a menores valores de pH correspondem maiores concentrações de catião V dado a solução usada ser ácida. Para uma concentração inicial de V igual ou superior a 1000 ppm, a presença do catião metálico provoca uma diminuição da concentração de Ca em solução, face à que seria esperada devido unicamente a um efeito de pH. Em relação ao fósforo, para uma concentração inicial de catião V de 1000 ppm, verifica-se

igualmente um decréscimo da sua concentração em solução, quando comparada com a obtida para soluções de incubação com igual pH e em que o cátion metálico está ausente.

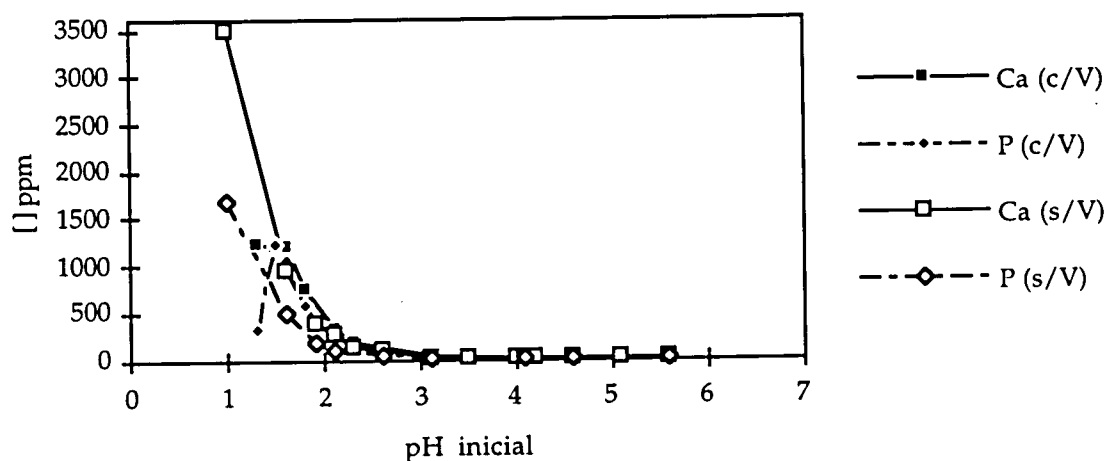


Fig. 23 - Influência do cátion vanádio na dissolução da HAp (gráfico comparativo).

Comparação da influência dos diferentes cátions metálicos na dissolução da hidroxiapatite

A hidroxiapatite apresenta comportamentos de dissolução distintos face à presença de cada um dos cátions usados. Essas diferenças são claramente evidenciadas quando se compara a variação de concentração de Ca e P em solução com o aumento de concentração de cátion metálico.

Como já foi referido anteriormente, observa-se que no caso do Al, a remoção de Ca da hidroxiapatite se faz de uma forma aproximadamente linear com o aumento da concentração de cátion metálico (figura 24). À presença do cátion Al está, portanto, associado um aumento da concentração de Ca em solução. Para a gama de concentrações de Al usadas, a remoção de Ca da hidroxiapatite nunca chega a ser total, partindo do princípio de que estão ausentes fenómenos de precipitação.

Por sua vez, a presença de Ti em solução provoca igualmente um aumento linear da concentração de Ca em solução até uma concentração inicial de 500 ppm de Ti (figura 24). A partir deste teor de cátion metálico, porém, o aumento da concentração de Ti em solução não provoca a saída de mais Ca. Este elemento não é, no entanto, removido totalmente do sólido permanecendo no mesmo em baixa concentração.

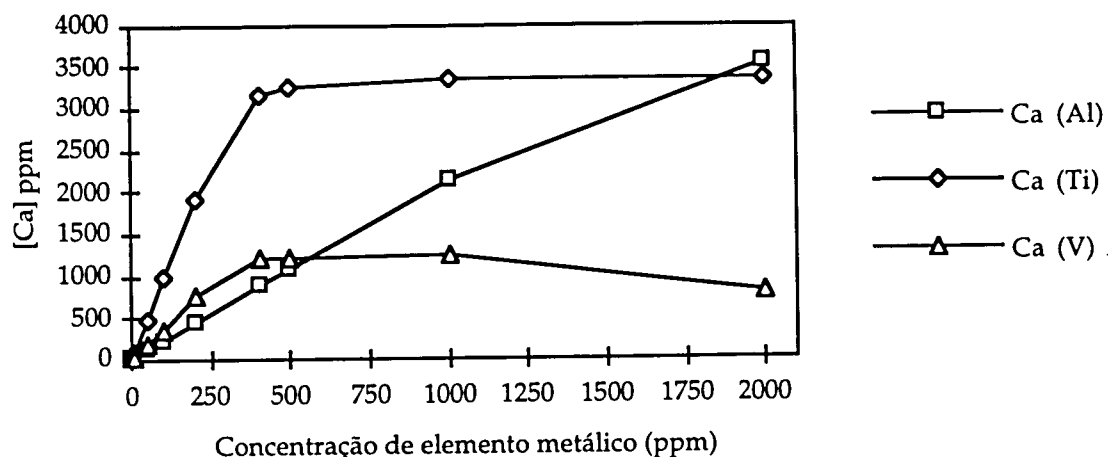


Fig. 24 -Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da HAp ([Ca]).

Quanto à acção do V, ela assemelha-se de certa forma à observada para o Ti, conduzindo, no entanto, a sua presença a concentrações de Ca em solução inferiores às verificadas para os mesmos teores de Ti. É de realçar, no entanto, o facto de para valores de concentrações iniciais de V superiores a 500 ppm, a concentração de Ca em solução diminuir com o aumento da concentração de V.

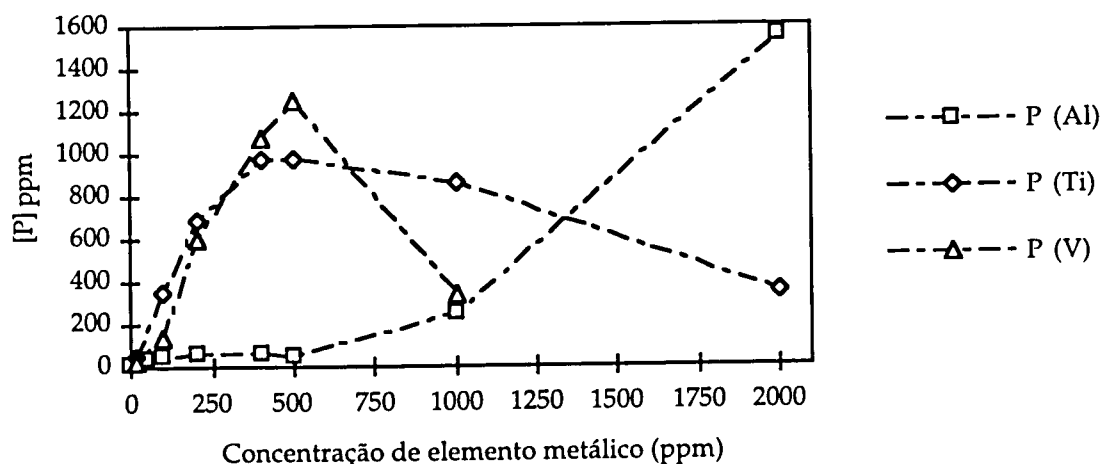


Fig. 25 - Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da HAp ([P]).

Relativamente à concentração de fósforo em solução, ela é crescente com o aumento do teor de titânio bem como com o aumento do teor de vanádio, até uma concentração de 500 ppm de catião metálico (figura 25). Para concentrações superiores, verifica-se um decréscimo do teor de P em solução. Contrariamente, a presença de catião Al em concentrações superiores a 500 ppm provoca um aumento bastante acentuado do teor de P. Para concentrações inferiores de Al, a variação da concentração de P praticamente não se faz sentir

com o aumento de teor do elemento metálico.

A variação de pH (pH final versus pH inicial) das soluções de incubação da hidroxiapatite, em presença, respectivamente, de diferentes concentrações de catião Ti e catião V, é semelhante à observada para as soluções de incubação da hidroxiapatite na ausência de cátions metálicos (figura 26) (na gama de valores em que a comparação é viável). O mesmo não se verifica quanto à variação de pH das soluções em que o catião Al está presente. A curva pH inicial versus pH final relativa a este elemento afasta-se significativamente das restantes, sugerindo que a presença de Al em solução conduz ao consumo de iões hidróxido da mesma, possivelmente como consequência da precipitação de hidroxissais (fosfatos) de alumínio.

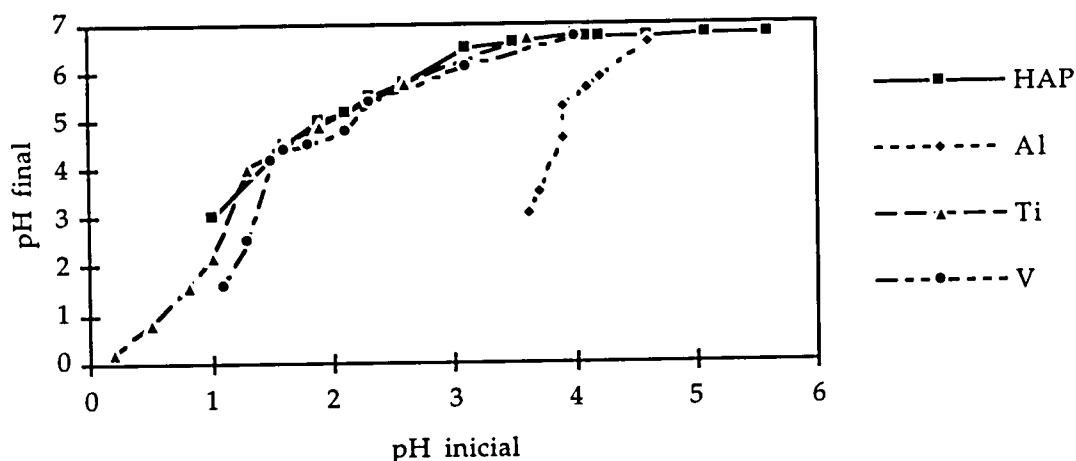


Fig. 26 - Comparação das curvas pH final versus pH inicial para os três cátions metálicos.

3.2.2. Composição e estrutura

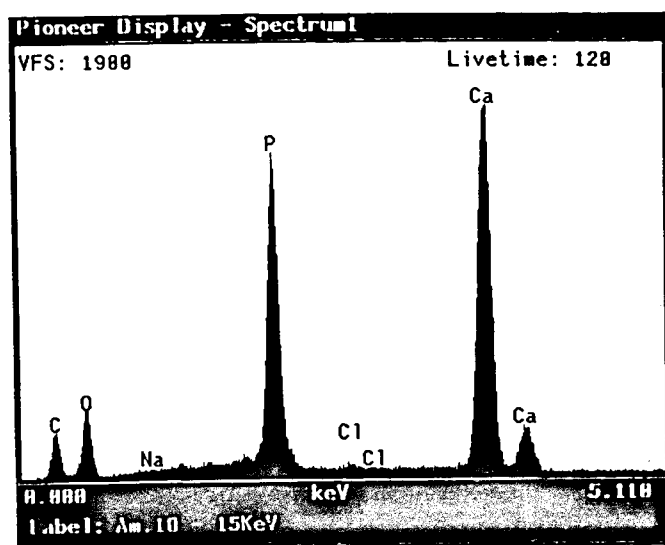
3.2.2.1. Microscopia electrónica de varrimento - Microanálise por dispersão de energias

Titânio

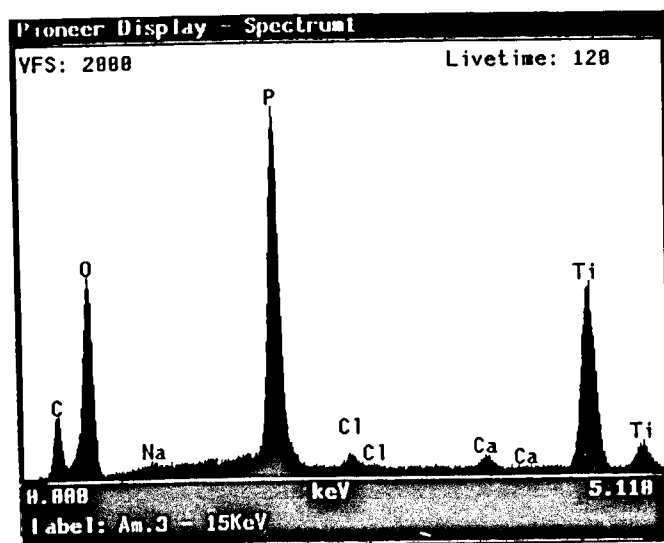
As amostras sólidas ricas em Ti obtidas após incubação da hidroxiapatite em soluções de 0,9% de NaCl com concentrações de 500, 1000 e 2000 ppm de catião metálico, são constituídas por partículas muito finas, formando naturalmente aglomerados aquando da secagem. Os resultados obtidos da sua microanálise em zonas distintas, são bastante reprodutíveis, indicando tratar-se de sólidos muito homogêneos.

Por observação microscópica (MEV), foi possível isolar partículas de dimensões de cerca de $1\mu\text{m}$ e proceder à sua microanálise, tendo-se sempre verificado a presença simultânea, e em proporções relativas muito próximas, dos elementos P e Ti. Este facto exclui a possibilidade de o titânio estar presente no sólido unicamente sob a forma de óxido.

Na figura 27 está representado o espectro EDS da hidroxiapatite, bem como o de uma amostra obtida com uma concentração inicial de catião titânio de 500 ppm, ambas incubadas por um período de 10 dias, numa solução de 0,9% NaCl. A comparação dos espectros mostra um decréscimo do pico de Ca (a sua % atómica reduz-se a um valor inferior a 1%), associado a um aumento do pico de Ti, enquanto o pico de P se mantém constante.



a)



b)

Fig. 27 - Espectros EDS de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em: a) solução 0,9% NaCl; b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.

Para amostras referentes a diferentes concentrações de Ti na solução mãe, a razão Ca/Ti diminui à medida que a concentração de Ti aumenta e o oposto é observado para a razão Ti/P, o que sugere que o Ti substitui o Ca na rede da hidroxiapatite ou que ocorre precipitação de um novo composto à base de fósforo e titânio (figura 28). É de realçar o facto de o(s) fenómeno(s) envolvido(s) ocorrer(em) de forma contínua para teores crescentes de catião Ti, parecendo, no entanto, ficar(em) completos para uma concentração próxima de 400 ppm.

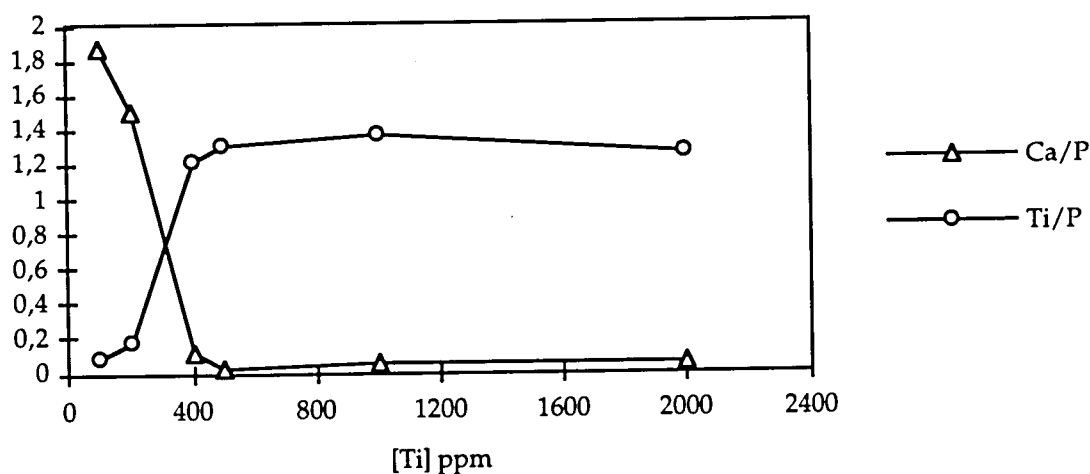
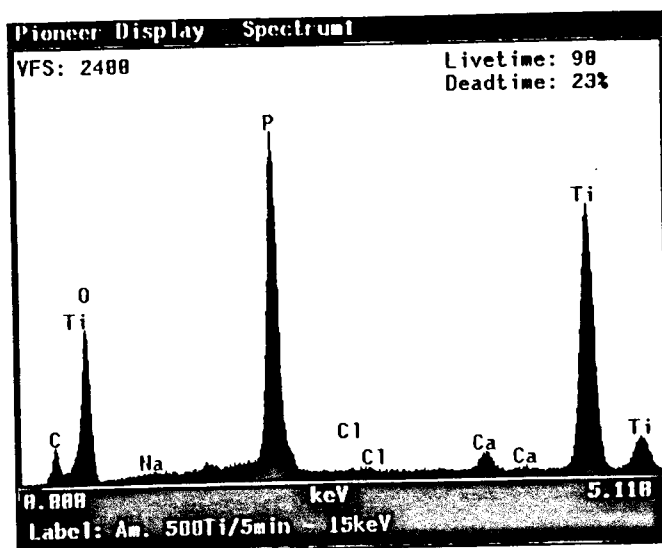


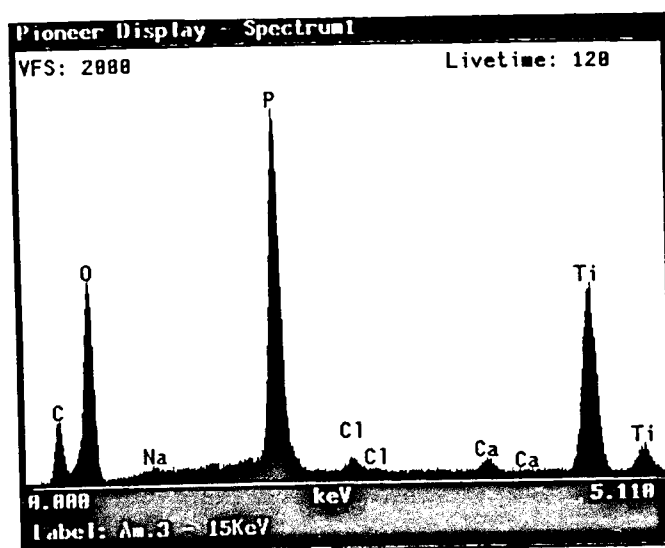
Fig. 28 - Ca/P e Ti/P versus concentração inicial de catião Ti.

A análise dos sólidos por energias dispersivas permitiu ainda constatar que a formação do composto rico em fósforo e titânio ocorre muito rapidamente, visto serem obtidos espectros praticamente idênticos para amostras referentes a tempos de incubação de 5 minutos e 10 dias, para a mesma concentração inicial de Ti (500 ppm) (figura 29), mantendo-se as razões elementares Ca/P e Ti/P independentes do tempo de incubação.

Obteve-se igualmente o espectro de uma amostra com uma concentração inicial de 500 ppm de Ti, à qual foi adicionada uma quantidade de ácido clorídrico concentrado (4 ml) equivalente à necessária para se obter a dissolução total de 500 mg de hidroxiapatite. A amostra foi seguidamente lavada com água desionizada e seca numa estufa a 60°C, por um período de 24 horas. As proporções relativas dos elementos P e Ti mantiveram-se praticamente inalteradas. Esta observação suporta a hipótese de ocorrência de reacção química entre o Ti e a hidroxiapatite, com a consequente formação de uma ou mais fases ricas em P e Ti, menos solúveis que a hidroxiapatite.



a)



b)

Fig. 29 - Espectros EDS de pós obtidos após incubação de HAp em: soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti: a) tempo de incubação de 5 min.; b) tempo de incubação de 10 dias.

Foi ainda analisada a amostra convencionalmente designada por "mistura" (tentativa de precipitação de um fosfato de titânio), cuja preparação se encontra descrita no subcapítulo 2.3.4. (pág. 34). Foram detectados os elementos Ti, P e O, sendo a razão Ti/P próxima da verificada para as amostras com hidroxiapatite e uma concentração inicial de 500 ppm de Ti. A concentração de sódio no sólido é praticamente nula, mantendo-se este elemento como vestigial (figura 30).

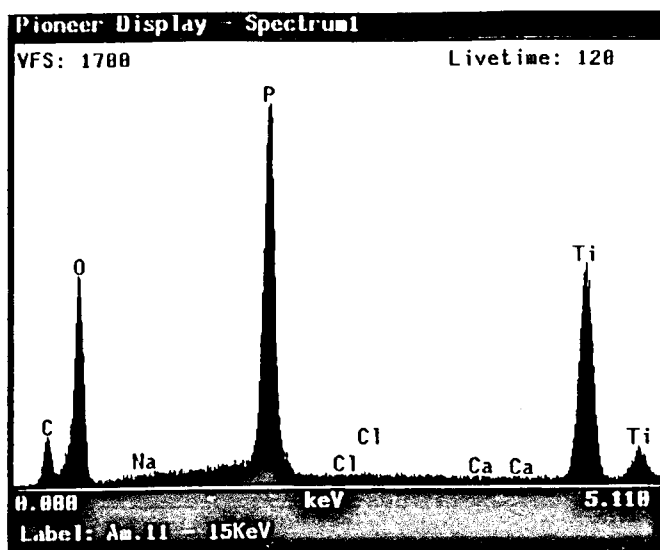
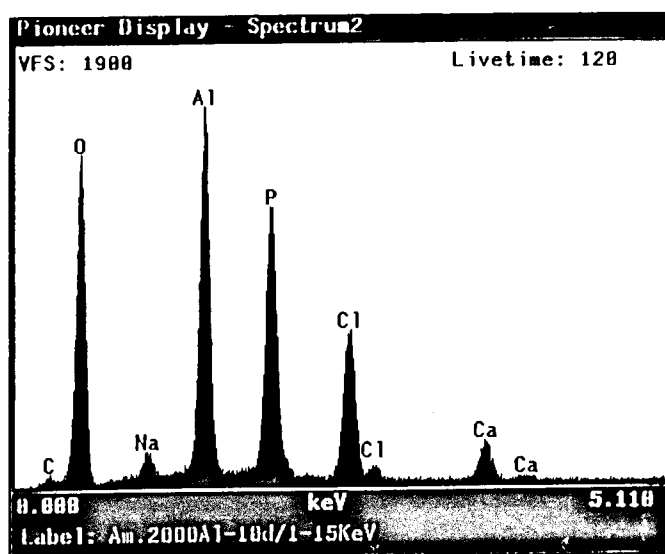


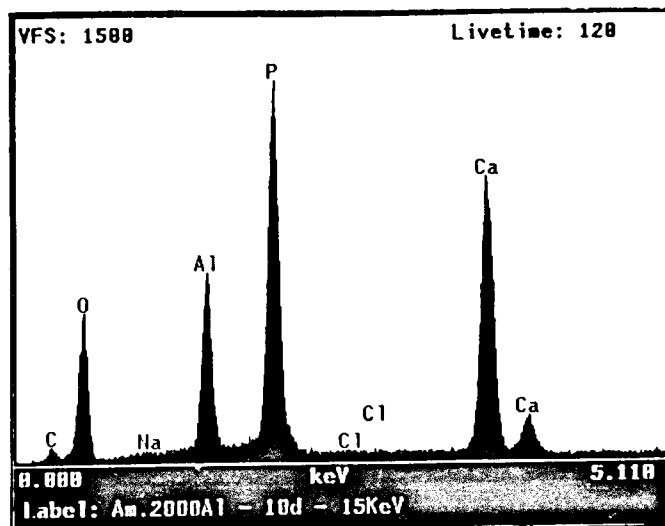
Fig. 30 - Espectro EDS da amostra designada por "mistura" (tempo de incubação: 10 dias).

Alumínio

As amostras obtidas após incubação da hidroxiapatite em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de cátion Al, apresentaram-se, de uma forma geral, homogêneas, excepto as relativas a uma concentração inicial de 2000 ppm, em que se verificou a existência de zonas muito ricas em Ca, Al, P e O, e zonas em que a concentração de Ca foi drasticamente reduzida e a razão Al/P incrementada, surgindo igualmente cloro e sódio em abundância (figura 31 a) e b)).



a)



b)

Fig. 31 - Espectros EDS de zonas distintas de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de catião Al.

Nestas amostras, foi detectada a existência de cloreto de sódio à superfície. No entanto, a quantidade de cloro existente é superior à que seria de esperar se a sua presença se devesse unicamente a uma contaminação pelo soluto, consequência de uma lavagem deficiente do sólido.

Para teores crescentes de Al em solução, verifica-se o aumento da relação Al/P e o decréscimo da razão Ca/P (figura 32).

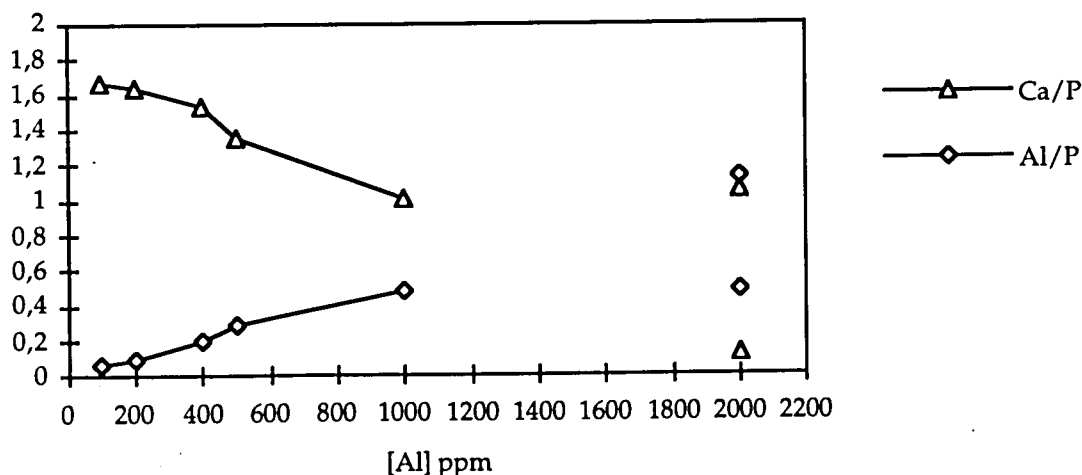
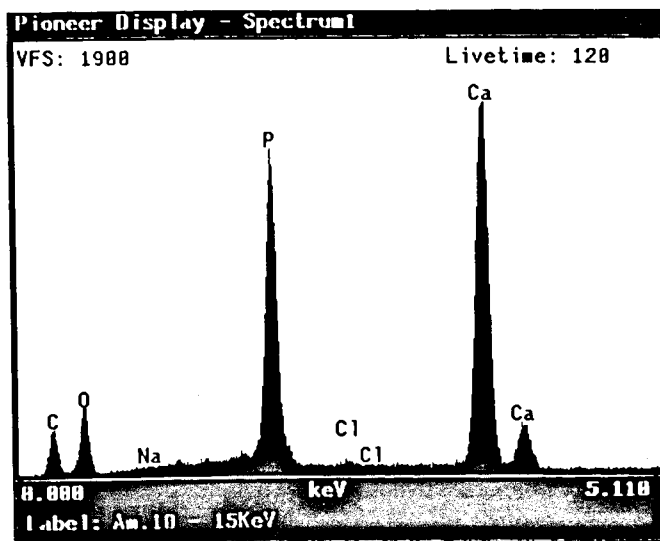


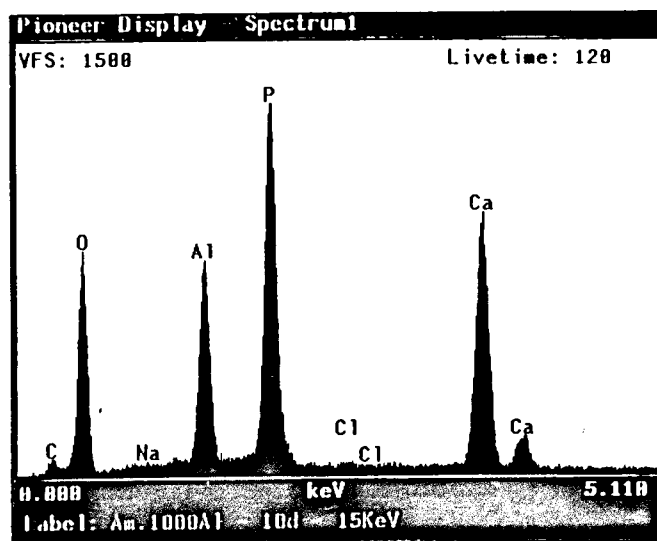
Fig. 32 - Ca/P e Al/P versus concentração inicial de catião Al.

No entanto, só para amostras referentes a concentrações iniciais de Al iguais ou superiores a 500 ppm, é que a hipótese de ocorrência de substituição do Ca pelo Al surge evidenciada nos respectivos espectros, por comparação

com o da hidroxiapatite (figura 33).



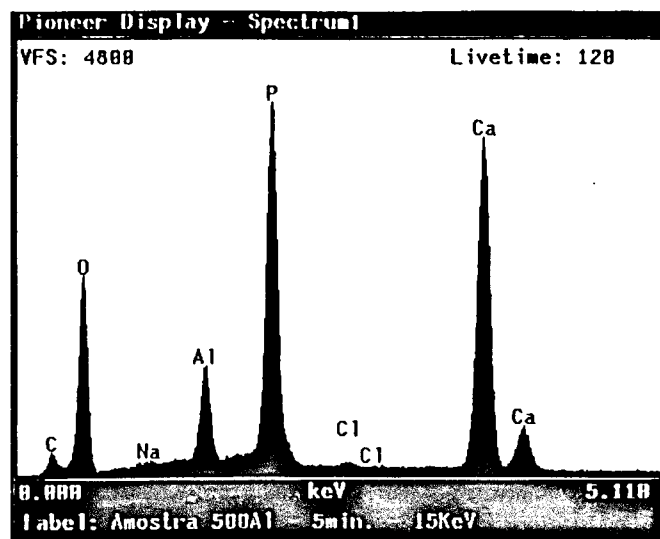
a)



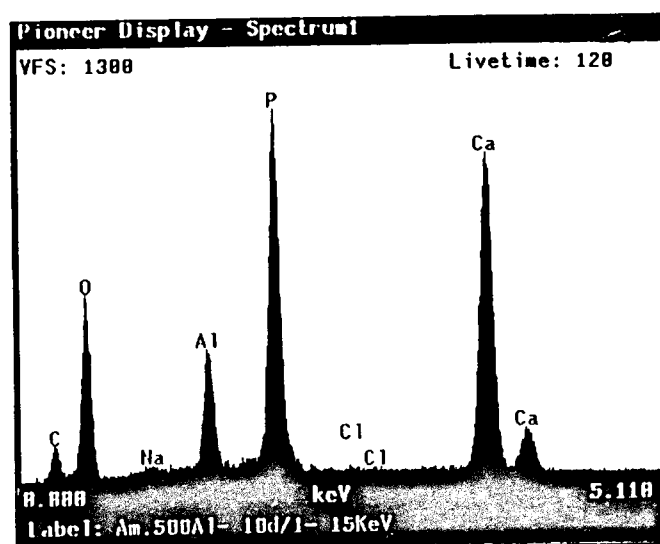
b)

Fig. 33 - Espectros EDS de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAP em: a) solução 0,9% NaCl; b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de catião Al.

O tempo de incubação não parece ter influência significativa na interacção do Al com a hidroxiapatite, dado as razões elementares Ca/P e Al/P se manterem estáveis com o seu aumento, para amostras com uma concentração inicial de 500 ppm de catião metálico (figura 34).



a)



b)

Fig. 34 - Espectros EDS de pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Al: a) tempo de incubação 5 min.; b) tempo de incubação 10 dias.

Vanádio

Como foi referido no subcapítulo 2.1., o vanádio foi adicionado à hidroxiapatite sob a forma de uma solução de sulfato de vanadilo. Consequentemente, a presença de enxofre é detectada em algumas das amostras analisadas, mesmo após lavagem das mesmas. Isto deve-se ao facto de o sulfato reagir com o cálcio em solução, dando origem a uma fase de sulfato de cálcio, que surge sob a forma de agulhas, nas amostras com elevada

concentração inicial de cátion vanádio (figura 35).



Fig. 35 - Cristais de Sulfato de Cálcio.

Com o aumento da concentração de V na solução de incubação, verifica-se um decréscimo da razão Ca/P no sólido, enquanto que a relação V/P se mantém estável na gama de concentrações de 100 a 500 ppm, aumentando significativamente para uma concentração de 1000 ppm (figura 36).

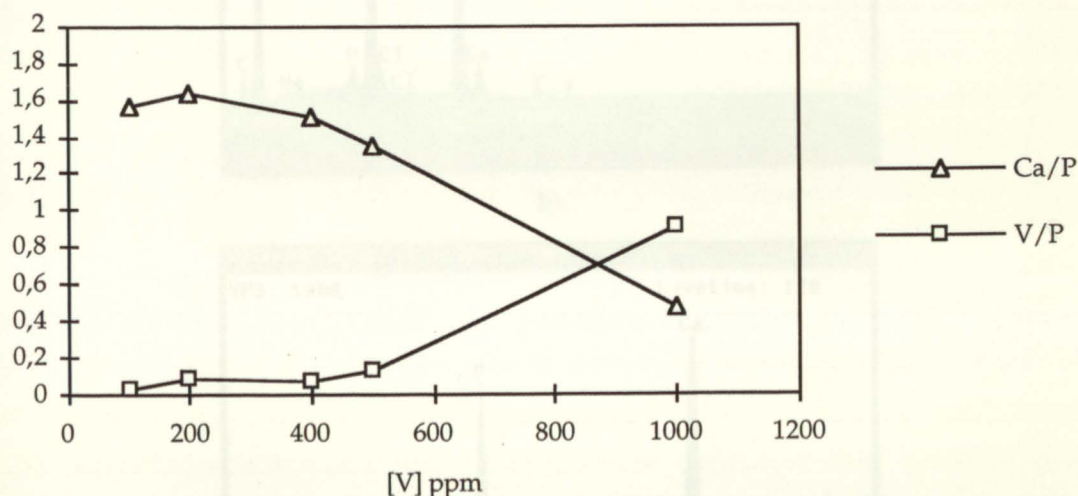
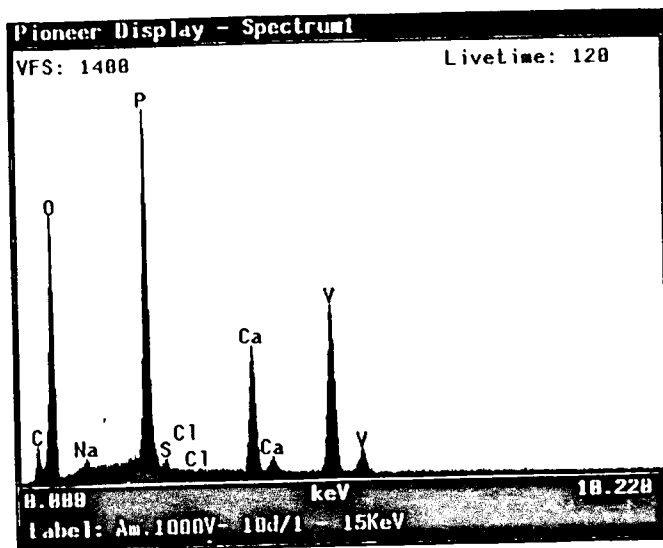
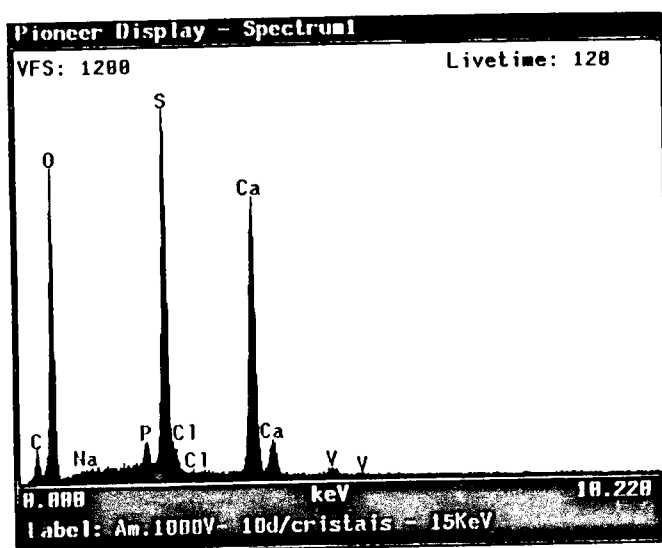


Fig. 36 - Ca/P e V/P versus concentração inicial de cátion V.

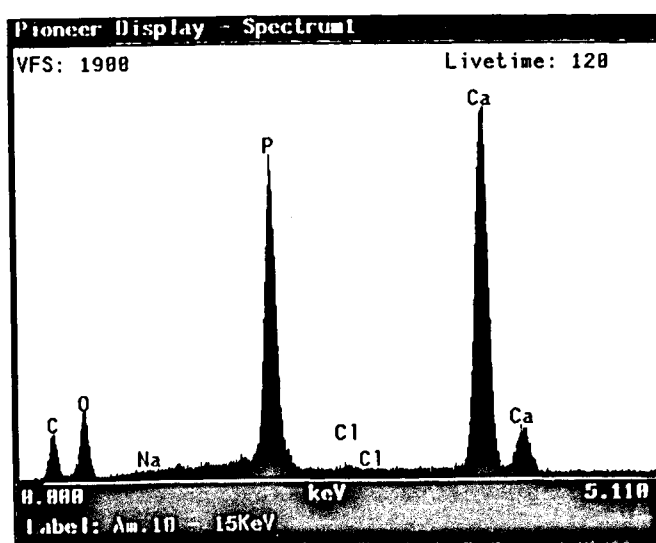
Para amostras referentes a uma concentração inicial de vanádio de 1000 ppm, o espectro da globalidade da amostra é o representado na figura 37 a), verificando-se igualmente a presença de cristais ricos em Ca e S (figura 37 b)). A comparação com o espectro da hidroxiapatite (figura 37 c)), sugere a ocorrência de substituição do Ca pelo V, mantendo-se elevada a concentração de P.



a)



b)



c)

Fig. 37 - Espectros EDS de zonas distintas de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em: a) e b) solução 0,9% NaCl com uma concentração de 1000 ppm de catião V; c) solução 0,9% NaCl.

Para uma concentração de 2000 ppm de catião V em solução, os sólidos obtidos são constituídos unicamente por cristais de sulfato de cálcio.

A interação do vanádio com a hidroxiapatite, para uma concentração inicial de catião metálico de 500 ppm, parece ser praticamente independente do tempo de incubação para o intervalo de 5 minutos a 10 dias, não se verificando diferenças significativas nos espectros das correspondentes amostras. No entanto, por observação microscópica, foi possível constatar o aparecimento de cristais de sulfato de cálcio em amostras com tempos de incubação longos (5 e 10 dias).

3.2.2.2. Espectroscopia de Raman e Infravermelho

3.2.2.2.1. Espectroscopia de Raman

Todas as amostras analisadas por Raman apresentaram espectros bastante reprodutíveis.

Na figura 38 estão representados os espectros obtidos para a hidroxiapatite, o hidróxido de cálcio, o fosfato tricálcico- β , o carbonato de cálcio e para a mistura sólida (80:20) de fosfato tricálcico- β e hidróxido de cálcio.

A hidroxiapatite, bem como o hidróxido de cálcio, são bons difusores da radiação, e os respectivos espectros apresentam uma óptima razão sinal/ruído, sem fluorescência.

A hidroxiapatite pura, apresenta um espectro semelhante ao do hidróxido de cálcio, com duas bandas que dominam todo o espectro a 773 cm^{-1} (com uma inflexão a 690 cm^{-1}) e a 1144 cm^{-1} e com uma banda menos intensa a 959 cm^{-1} , associada ao grupo fosfato [81 - 83]. Por sua vez, o hidróxido de cálcio apresenta duas bandas características a 801 e 724 cm^{-1} , em contraste com o relativamente mais complexo espectro produzido pelo fosfato tricálcico, que exibe bandas a 1131 , 1091 , 1060 , 988 (a mais intensa), 900 , 589 , 562 , 418 e 393 cm^{-1} . Verifica-se, no entanto, que o hidróxido de cálcio é melhor difusor da radiação Raman que o fosfato de cálcio. Este facto está evidenciado no espectro da mistura (80:20) dos dois compostos, que apresenta bandas a 987 , 802 e 725 cm^{-1} , sendo as mais intensas as que advêm da presença do hidróxido de cálcio. A banda vibracional característica do grupo fosfato (988 cm^{-1}) [81 - 83], praticamente desapareceu na mistura. Estas observações, sugerem uma maior contribuição do grupo OH para o espectro da hidroxiapatite relativamente ao grupo fosfato e podem, de

alguma forma, justificar as características do espectro da hidroxiapatite. Os resultados obtidos por Tudor e colaboradores [81] evidenciam igualmente o acima referido. Contrariamente, outros autores [84] obtiveram espectros de hidroxiapatite comercial em que a região mais sensível do espectro se situa próxima de 960 cm^{-1} , que corresponde a uma banda associada ao grupo fosfato.

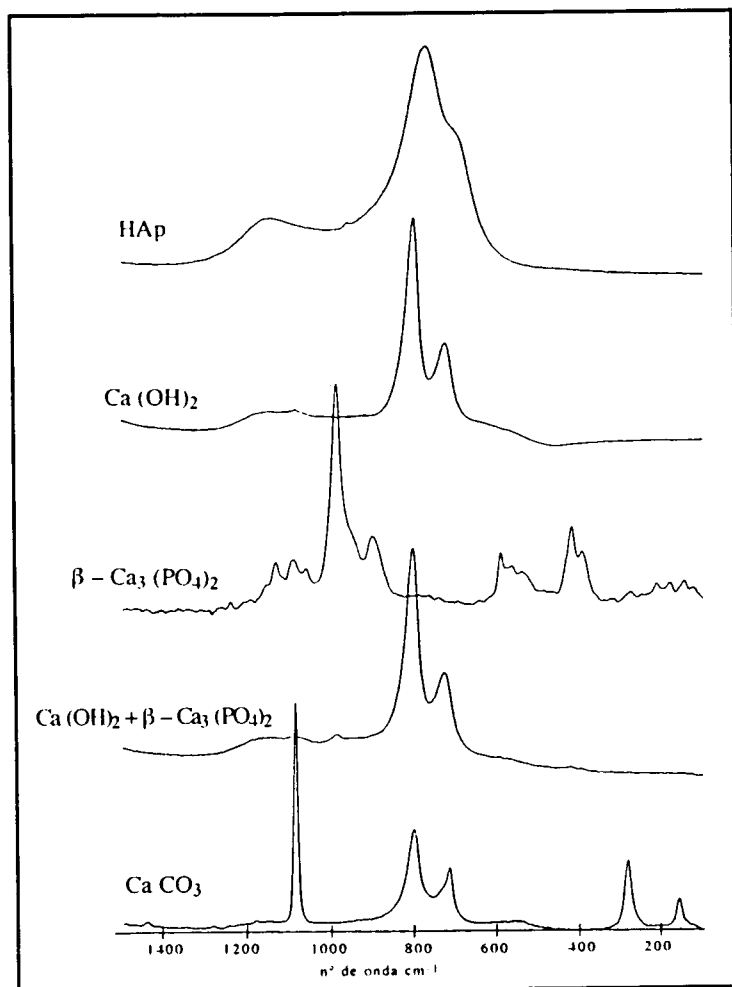


Fig. 38 - Sobreposição dos espectros de Raman de: HAp; hidróxido de cálcio; fosfato tricálcico- β ; mistura (80:20) de fosfato tricálcico- β e hidróxido de cálcio; carbonato de cálcio.

Os espectros de Raman de amostras de hidroxiapatite tratadas, por um período de 10 dias, com soluções de 0,9% de NaCl com diferentes pHs, mostraram-se idênticos aos da hidroxiapatite pura.

Relativamente ao ião carbonato, este não parece estar presente na hidroxiapatite, pelo menos em quantidade significativa, uma vez que a sua banda mais intensa (1086 cm^{-1}) [82], não surge no espectro da mesma.

Influência da % de fase cristalina nos espectros de Raman da hidroxiapatite:

Na figura 39 estão representados os espectros de Raman de pós de hidroxiapatite com diferentes percentagens de fase cristalina. Com a diminuição da % de fase cristalina da hidroxiapatite, verifica-se um alargamento das suas bandas características, bem como um deslocamento da banda mais intensa, de 773 cm^{-1} para valores superiores, nomeadamente 794 e 828 cm^{-1} (figura 39).

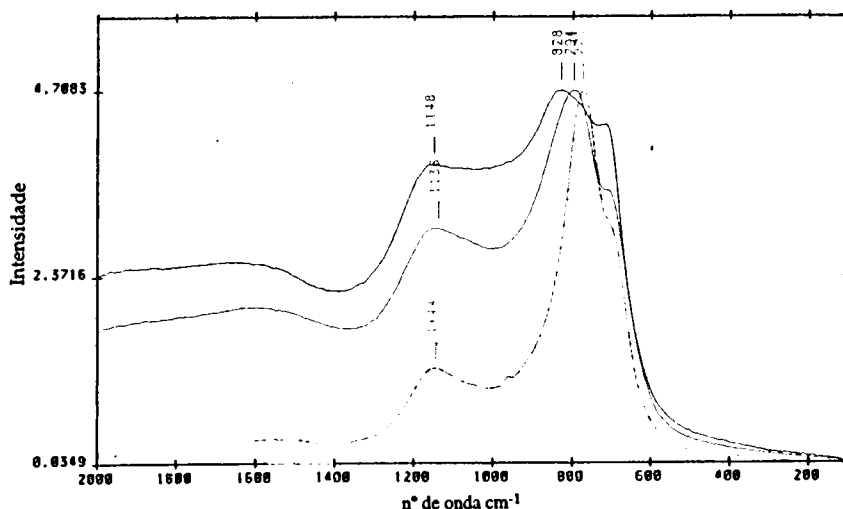


Fig. 39 - Sobreposição dos espectros de Raman de pós de HAp com diferentes percentagens de fase cristalina. As percentagens de fase cristalina diminuem pela ordem: verde, vermelho e azul.

Constata-se, igualmente, que, com um aumento da natureza amorfa da hidroxiapatite, a inflexão observada a 690 cm^{-1} , emerge como uma banda a 712 cm^{-1} (724 cm^{-1} no $\text{Ca}(\text{OH})_2$), o que pode estar associado a uma contribuição do grupo OH para o espectro resultante.

Efeito da presença de catiões metálicos nos espectros de Raman da hidroxiapatite:

Titânio

Na figura 40 estão representados os espectros de Raman obtidos de amostras referentes a diferentes concentrações de catião titânio e a um tempo de incubação de 10 dias, bem como o espectro da hidroxiapatite pura.

O titânio tem um efeito drástico na estrutura da hidroxiapatite, o que se reflecte nos correspondentes espectros. Para uma concentração de titânio de 100 ppm, não existem diferenças entre o espectro do sólido obtido e da hidroxiapatite pura, mas para concentrações da ordem dos 360 ppm, as amostras obtidas apresentam novas bandas que se tornam progressivamente mais intensas e melhor definidas à medida que a concentração de catião aumenta.

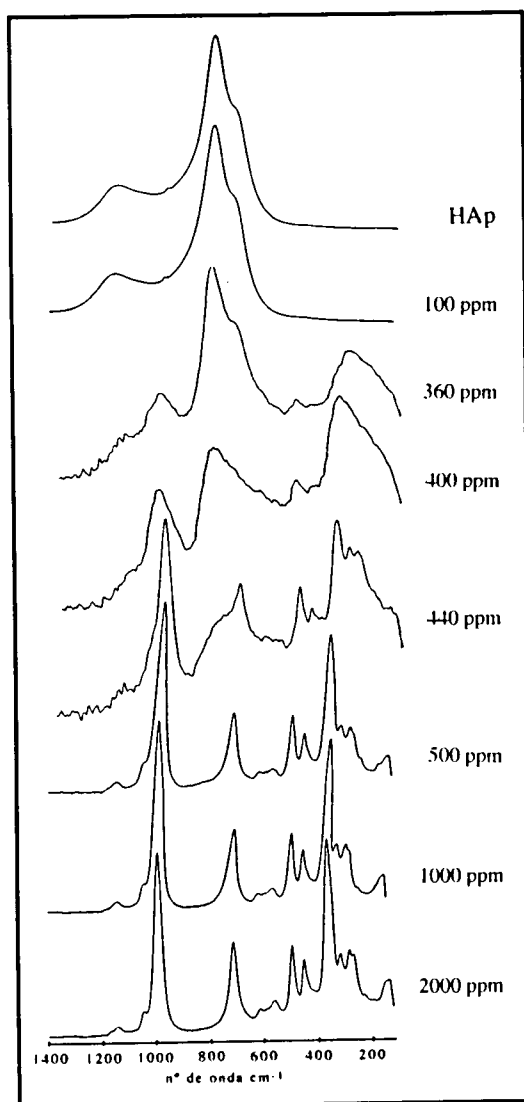


Fig. 40 - Sobreposição dos espectros de Raman da HAp e de pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

Para as amostras referentes a uma concentração de titânio de 400 ppm, o espectro de Raman é dominado por quatro bandas, a 1003, 774 (possivelmente relativa ao grupo OH), 479 e 278 cm^{-1} . Estas bandas sofrem alterações consideráveis nas amostras referentes ao intervalo de concentração de 400-500 ppm, como pode ser observado na figura 40. O espectro da amostra para uma

concentração de 500 ppm é relativamente mais complexo, com bandas mais estreitas, nomeadamente a 987 (relativa ao grupo fosfato), 708, 484, 439 (possivelmente também relativa ao grupo fosfato), 348, 300, 265 e 120 cm^{-1} . Este facto sugere a ocorrência de uma reacção entre o catião titânio e a hidroxiapatite com a consequente formação de um novo composto à base de fosfato.

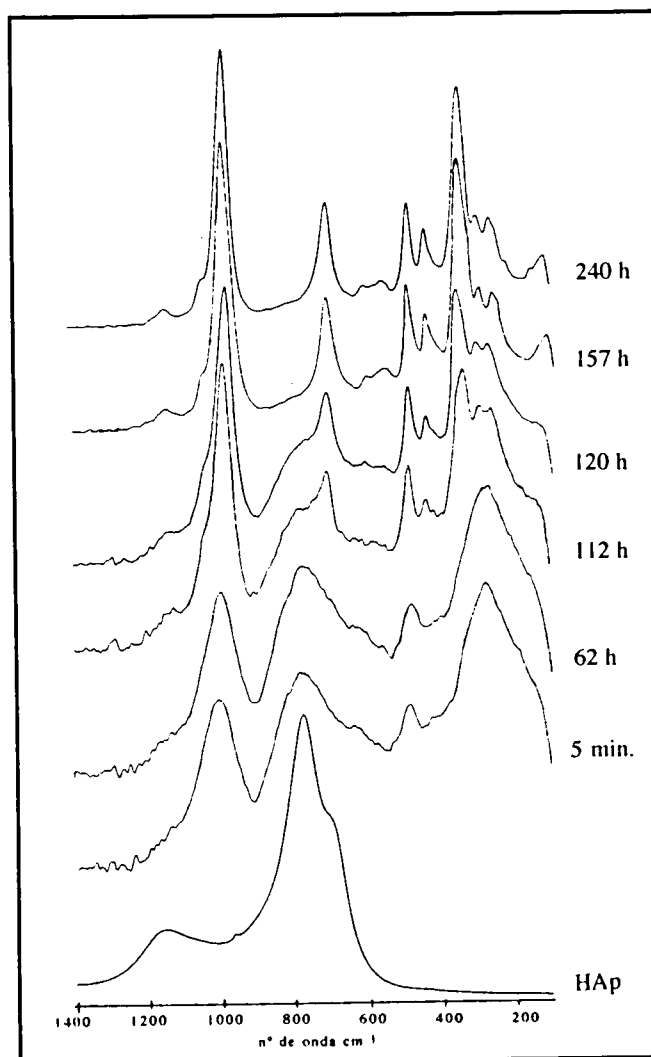


Fig. 41 - Sobreposição dos espectros de Raman da HAp e de pós obtidos após diferentes tempos de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.

Os espectros de Raman das amostras referentes a concentrações em catião titânio de 1000 e 2000 ppm, exibem bandas semelhantes às obtidas para 500 ppm, mas ligeiramente mais estreitas. A alteração na largura das bandas sugere um aumento da cristalinidade do composto, para concentrações crescentes do catião titânio na solução de incubação.

Os espectros das amostras obtidas com uma concentração de titânio de 500 ppm, após diferentes tempos de incubação, estão representados na figura 41.

Verifica-se que mesmo para amostras referentes a um tempo de ensaio bastante reduzido (5 minutos), o espectro apresenta diferenças significativas relativamente ao da hidroxiapatite, sendo dominado por quatro bandas largas que se alteram consideravelmente (ganham intensidade e tornam-se mais nítidas) até um tempo de incubação de 10 dias. A formação do composto de fosfato com titânio incorporado, depende, portanto, do tempo de incubação, verificando-se uma evolução do composto com o tempo, muito semelhante à que ocorre com o aumento da concentração.

Na figura 42, estão representados os espectros obtidos para as seguintes misturas:

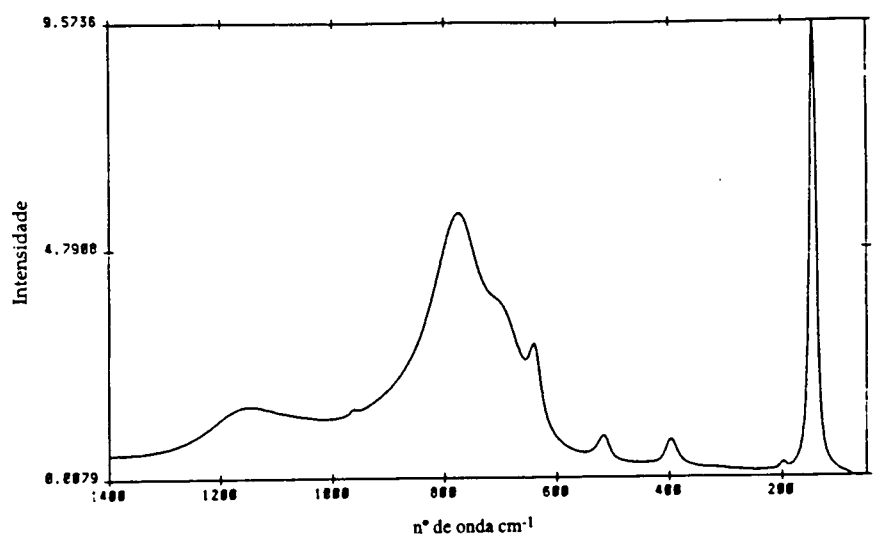
- mistura sólida (1:1) de TiO_2 e HAp (fig. 42 a));
- mistura sólida (1:1) de TiO_2 e do pó obtido após dias de incubação de HAp em solução 0,9% de NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (fig. 42 b));

bem como o espectro do óxido de titânio (fig. 42 c)).

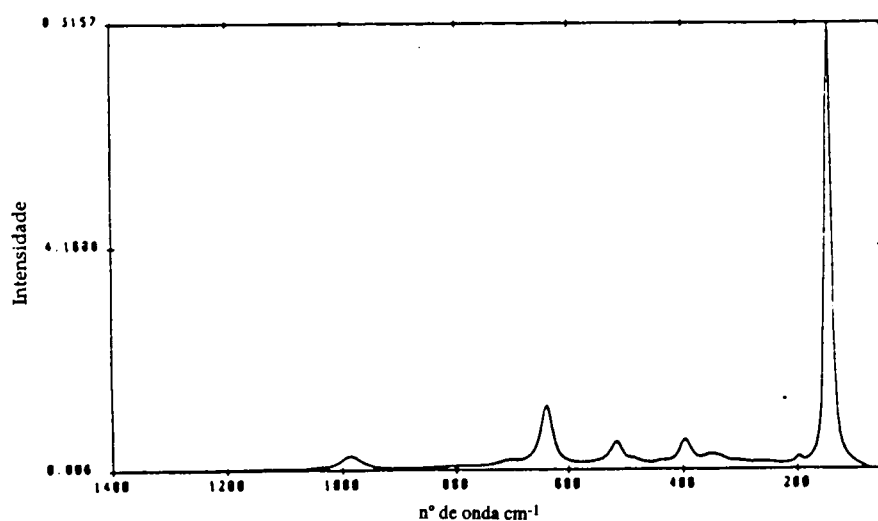
Com estas amostras pretendeu-se averiguar a possibilidade de a substância obtida consistir numa simples mistura de hidroxiapatite e óxido de titânio(IV), de se ter formado unicamente um óxido de titânio(IV), ou, ainda, de ter ocorrido a formação de duas fases distintas, nomeadamente, de um óxido de titânio(IV) e de um possível fosfato do mesmo elemento.

O espectro de TiO_2 (identificado por difracção de raios X como sendo anatase) é caracterizado por um pico intenso a 144 cm^{-1} , que, caso corresponda ao que surge a 142 cm^{-1} nas amostras com titânio, se apresenta com muito maior intensidade. Quando se comparam os espectros representados nas figuras 42 a) e 42 b), o efeito mais significativo observado é o de que o óxido de titânio(IV) produz espectros Raman muito mais intensos que o composto que contém titânio. Isto é evidenciado pelo facto de a mistura exibir praticamente só as bandas do óxido de titânio(IV). Os resultados sugerem portanto, que o óxido de titânio(IV) não é o constituinte principal da composição da fase sólida formada.

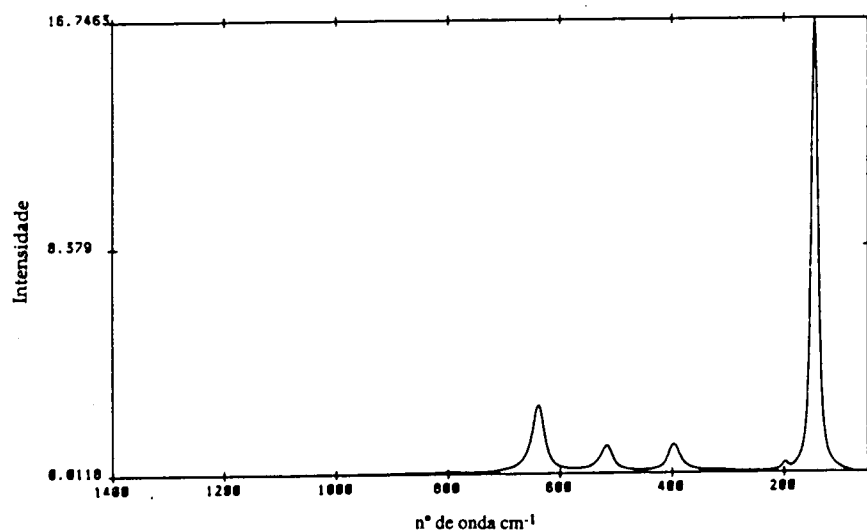
Por comparação do espectro do composto rico em titânio, com o correspondente à mistura TiO_2 +HAp, pode-se também concluir que o novo composto não se comporta como uma simples mistura das referidas fases, confirmando-se que o catião titânio em solução reage com a hidroxiapatite para formar uma nova fase sólida.



a)



b)



c)

Fig. 42 - Espectros de Raman de: a) mistura sólida (1:1) de TiO_2 e HAp; b) mistura sólida (1:1) de TiO_2 e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti; c) TiO_2 .

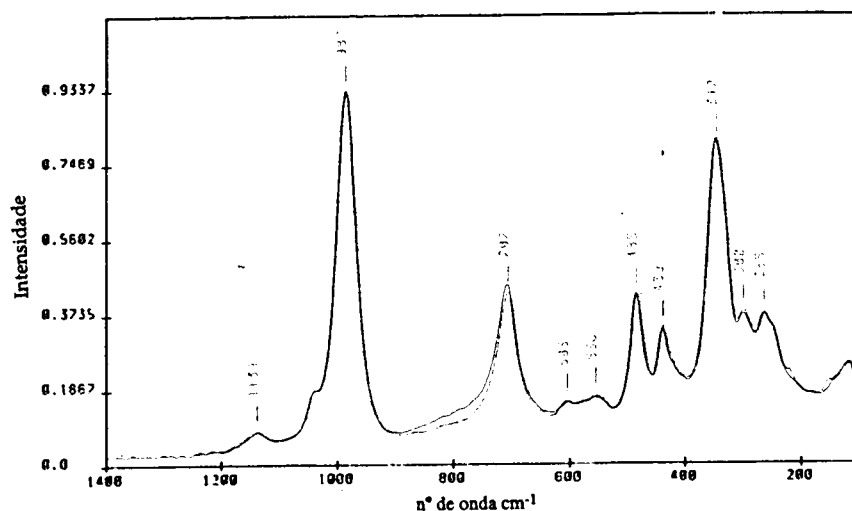


Fig. 43 - Sobreposição dos espectros de Raman da amostra designada por "mistura" (a vermelho) e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% de NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (a verde).

Na figura 43, encontram-se sobrepostos os espectros de uma amostra referente a uma concentração inicial de 500 ppm de catião titânio, incubada por um período de 10 dias, e do sólido designado por "mistura", cuja preparação se encontra descrita na página 34, obtido após incubação pelo mesmo período de tempo. Não se observam diferenças significativas nos dois espectros, sugerindo que em ambos os casos está presente o mesmo composto.

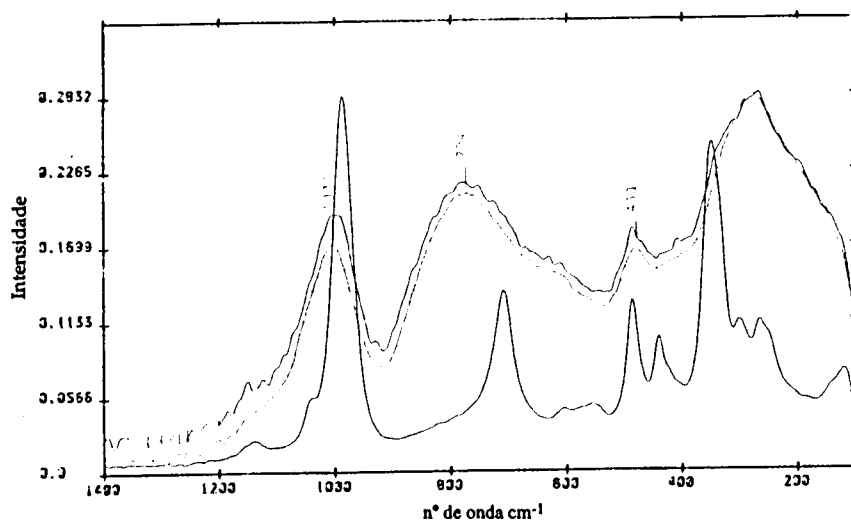


Fig. 44 - Sobreposição dos espectros da amostra designada por "mistura" obtida após diferentes tempos de incubação: 2h (a vermelho), 120h (a verde), 240h (a azul).

É de realçar, no entanto, o facto de a cinética de formação do composto em causa não ser idêntica para ambas as preparações, dado o espectro da amostra designada por "mistura", quando incubada por um período de 120 h (figura 44) ainda não apresentar a complexidade do espectro referente à outra preparação (HAp incubada numa solução de 0,9% de NaCl com 500 ppm de catião Ti) (figura 41).

Alumínio

Os espectros de Raman obtidos para as amostras referentes a concentrações iniciais em catião metálico de 100, 500, 1000 e 2000 ppm e um tempo de incubação de 10 dias, não diferem do da hidroxiapatite pura, o que sugere que, para as condições referidas, o alumínio não foi integrado na hidroxiapatite em quantidade suficiente para alterar a sua natureza cristalina e molecular de forma detectável por espectroscopia de Raman.

Vanádio

Os espectros de Raman das amostras referentes a uma concentração inicial de catião metálico de 100 ppm e tempos de incubação de 2 horas e 10 dias, não apresentam diferenças significativas, quando comparados com o espectro da hidroxiapatite. Observa-se, no entanto, que a presença do catião vanádio parece ter algum efeito na cristalinidade da hidroxiapatite, uma vez que se verifica um alargamento da banda mais intensa (773 cm^{-1}), para a amostra referente a um tempo de incubação de 2 horas, relativamente à correspondente ao espectro de hidroxiapatite pura, a qual, porém, se torna mais estreita para a amostra referente a um tempo de incubação de 10 dias. A banda característica do grupo fosfato (959 cm^{-1}) não foi alterada. Para uma concentração superior de catião vanádio (500 ppm), não se obteve qualquer informação espectral relevante, devido à presença de fenómenos de fluorescência.

3.2.2.2. Espectroscopia de Infravermelho

Na figura 45, está representado o espectro de infravermelho da hidroxiapatite pura. Nele podem ser identificadas as frequências correspondentes aos modos vibracionais característicos do grupo PO_4^{3-} , nomeadamente a 1093 , 1034 , 962 , 604 e 565 cm^{-1} [67, 81, 84, 85], bem como a frequência característica do grupo OH^- , a 631 cm^{-1} [67, 81, 84].

A 1639 cm^{-1} surge uma banda muito ténue, correspondendo

possivelmente a água adsorvida [82, 84, 85].

A percentagem de carbonato na hidroxiapatite é extremamente reduzida, conduzindo a uma muito baixa absorção nas regiões de 1415-1500 cm^{-1} , e absorção nula na zona de 879 cm^{-1} do espectro (zonas características das bandas do grupo CO_3^{2-}) [81, 82, 85].

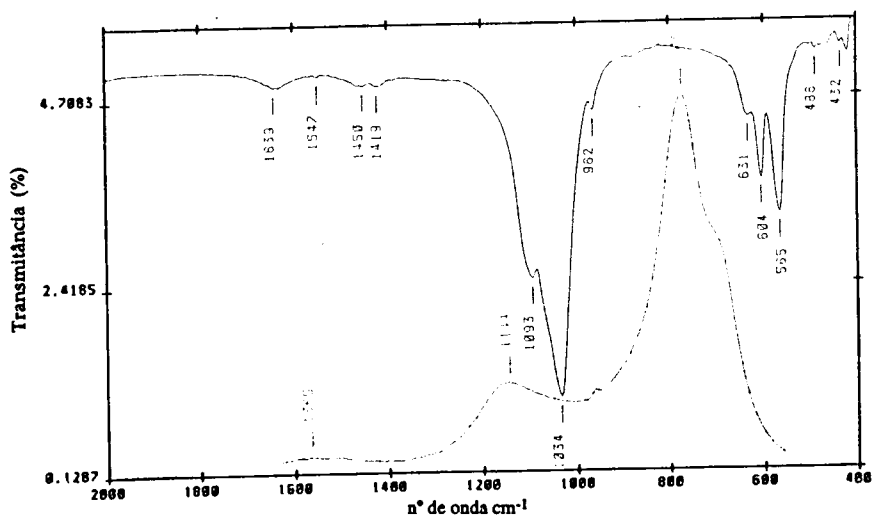


Fig. 45 - Sobreposição do espectro de infravermelho da HAP (a vermelho) com o correspondente espectro de Raman (a verde).

Na figura 46, apresentam-se sobrepostos os espectros da hidroxiapatite pura e de uma amostra referente a uma concentração inicial de 500 ppm de Ti, e um tempo de incubação de 2 horas.

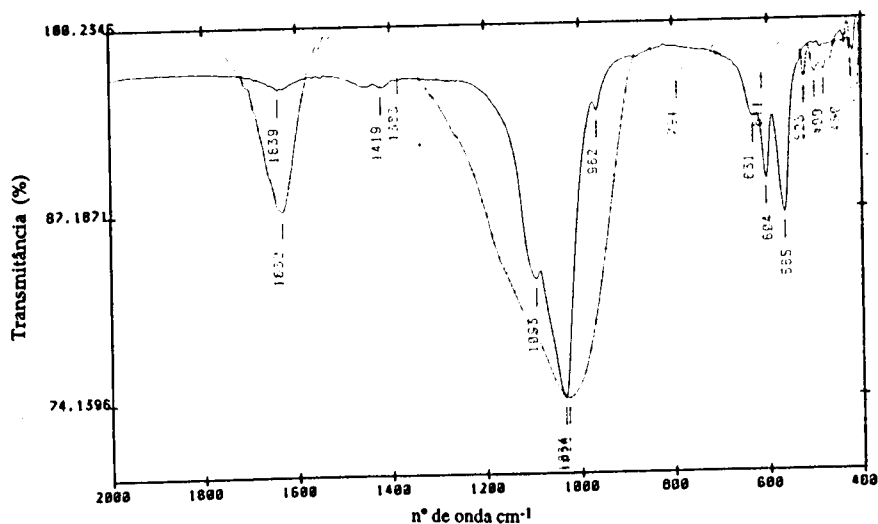


Fig. 46 - Sobreposição dos espectros de infravermelho da HAP (a vermelho) e do pó obtido após 2h de incubação de HAP em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti (a verde).

Com a presença do cátion Ti verifica-se o aparecimento no espectro de infravermelho de novas bandas pouco intensas, no intervalo de 400 a 523 cm^{-1} . As bandas, que surgem no espectro da hidroxiapatite a 565 e 604 cm^{-1} , características do grupo fosfato, são praticamente eliminadas, bem como a referente à ligação OH. As bandas a 1093, 1034 e 962 cm^{-1} , igualmente características do grupo PO_4^{3-} , reduzem-se a uma só, a 1026 cm^{-1} , mais larga, indicando uma possível diminuição da cristalinidade do composto envolvido, comparativamente com a da hidroxiapatite.

A banda característica da água a 1632 cm^{-1} torna-se muito mais intensa, sugerindo tratar-se de um composto hidratado.

Com o aumento do tempo de incubação para 10 dias (figura 47), o espectro mostra um deslocamento da banda de maior intensidade, característica do grupo PO_4^{3-} , bem como da banda que para um tempo de incubação de 2 horas surge assinalada a 791 cm^{-1} , para valores inferiores de número de onda. A primeira surge também parcialmente resolvida em vários componentes.

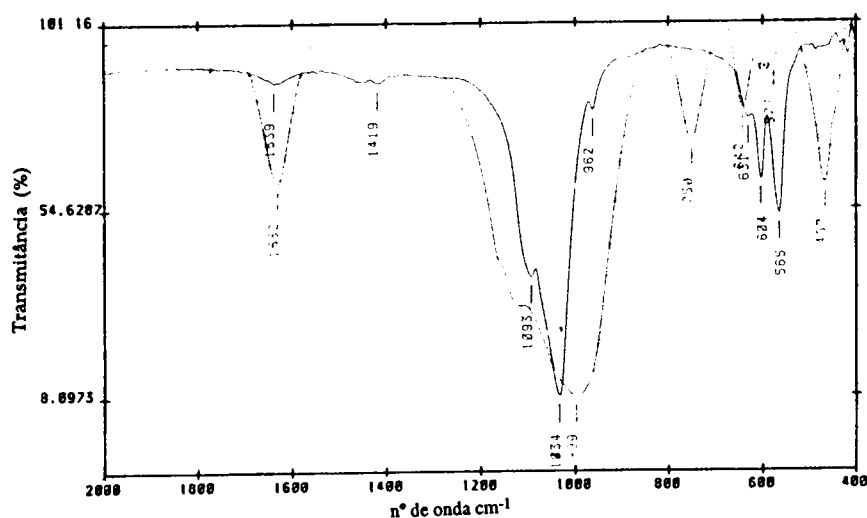


Fig. 47 - Sobreposição dos espectros de infravermelho da HAp (a vermelho) e do pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de cátion Ti (a verde).

No intervalo de 650 a 450 cm^{-1} , emergem três novas bandas, respectivamente a 642 cm^{-1} (possivelmente devido à presença do grupo OH) [67, 81, 84], 577 e 467 cm^{-1} (ambas referentes ao grupo PO_4^{3-}) [67, 81, 84, 85].

A banda a 1632 cm^{-1} , característica da água, mantém praticamente a sua intensidade com o aumento do tempo de incubação.

3.2.2.3. Análise de superfícies

3.2.2.3.1. Espectroscopia fotoelectrónica de raios-X (XPS)

Os espectros de XPS não mostraram evidência de contaminação das amostras analisadas por silício, proveniente do substrato adesivo. No entanto, foi detectada a presença de cloro e carbono. A contaminação de cloro deve-se ao facto de as amostras terem sido incubadas numa solução de 0,9% de NaCl. Embora os sólidos tenham sido submetidos a 5 ciclos de lavagem seguidos de centrifugação, aquele elemento não foi completamente eliminado. A presença de carbono deve-se, possivelmente, a contaminação atmosférica.

Os valores experimentais das razões elementares Ca/P, Ti/P, P/O, Ti/Ca, Ti/(Ca+Ti), P/(Ca+Ti), obtidos para amostras de hidroxiapatite incubadas em soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Ti, são representados na tabela 13.

Tabela 13 - Valores experimentais das relações elementares Ca/P, Ti/P, P/O, Ti/Ca, Ti/(Ca+Ti), P/(Ca+Ti), para diferentes concentrações de catião Ti.

[Ti] ppm	$\frac{\text{Ca}}{\text{P}}$	$\frac{\text{Ti}}{\text{P}}$	$\frac{\text{P}}{\text{O}}$	$\frac{\text{Ti}}{\text{Ca}}$	$\frac{\text{Ti}}{\text{Ca+Ti}}$	$\frac{\text{P}}{\text{Ca+Ti}}$
200	0,95	0,15	0,20	0,15	0,87	0,91
400	0,07	0,62	0,17	8,45	0,89	1,44
500	0,02	0,61	0,16	32,83	0,97	1,59
1000	0,02	0,54	0,17	35,50	0,97	1,79

Para a concentração inicial de 200 ppm, a razão Ca/P encontrada (0,95), afasta-se significativamente da razão estequiométrica característica da hidroxiapatite (1,67). Para concentrações de titânio em solução superiores a 200 ppm, a razão Ca/P diminui drasticamente, verificando-se o oposto para a razão Ti/P. Os resultados obtidos sugerem que o titânio reage com a hidroxiapatite dando origem à formação de um fosfato de titânio. À presença de Ti no sólido está associada uma diminuição da concentração de Ca no mesmo, sendo esta tanto menor quanto maior o teor de catião metálico em solução. Para teores de Ti da ordem dos 500 ppm ou superiores, a razão Ca/P mantém-se constante e com um valor bastante reduzido (0,02), o que indica que permanece no sólido muito pouco cálcio.

O facto de a razão P/O se manter praticamente constante com o aumento da concentração de Ti está igualmente de acordo com a formação de um fosfato

de titânio, como consequência da interação em meio hidrotermal do catião referido com a hidroxiapatite.

Tabela 14 - Valores experimentais das relações elementares Ca/P, Ti/P, P/O, Ti/Ca, Ti/(Ca+Ti), P/(Ca+Ti), para diferentes tempos de incubação.

Tempo de incubação (h)	$\frac{Ca}{P}$	$\frac{Ti}{P}$	$\frac{P}{O}$	$\frac{Ti}{Ca}$	$\frac{Ti}{Ca+Ti}$	$\frac{P}{Ca+Ti}$
0,5	0,05	0,62	0,17	11,56	0,92	1,47
24	0,05	0,57	0,18	11,03	0,92	1,60
120	0,04	0,66	0,15	16,56	0,94	1,42
240	0,02	0,61	0,16	32,83	0,97	1,59

Como se pode observar na tabela 14, após incubação de amostras de hidroxiapatite em soluções de 0,9% de NaCl com uma concentração de 500 ppm de Ti, por um período de 30 minutos, obtêm-se valores de razões elementares muito próximos dos obtidos após 240 h de incubação, pelo que se pode concluir que os fenômenos envolvidos ocorrem rapidamente, nos primeiros minutos de incubação.

3.2.2.3.2. Espectroscopia de massa de íões secundários - tempo de voo (ToF-SIMS)

Como foi referido no capítulo de métodos experimentais, foram obtidos espectros de massa de íões positivos e negativos. Os resultados relativos a cada tipo de espectro são apresentados seguidamente:

ToF-SIMS de íões positivos

Na figura 48 está representado o espectro ToF-SIMS de íões positivos da hidroxiapatite bem como de amostras correspondentes a concentrações iniciais de Ti de 200 e 500 ppm. Observa-se que o espectro da hidroxiapatite é dominado pelo ião Ca a m/z 40. O pico assinalado a m/z 57 corresponde a $CaOH^+$. O catião Ti não se encontra presente como contaminante, dado não surgir assinalado a m/z 48.

Analogamente ao verificado por análise XPS dos sólidos obtidos após incubação da hidroxiapatite em soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião metálico, a presença de Ti é detectada nas amostras em estudo, já que surge um pico correspondente a íões positivos com m/z 48. Com o aumento da concentração de Ti em solução, verifica-se um aumento da

intensidade relativa deste pico (m/z 48) e uma diminuição da intensidade do correspondente ao cálcio (m/z 40) (figura 48), o que suporta a ocorrência de incorporação de Ti no sólido com perda de Ca para a solução.

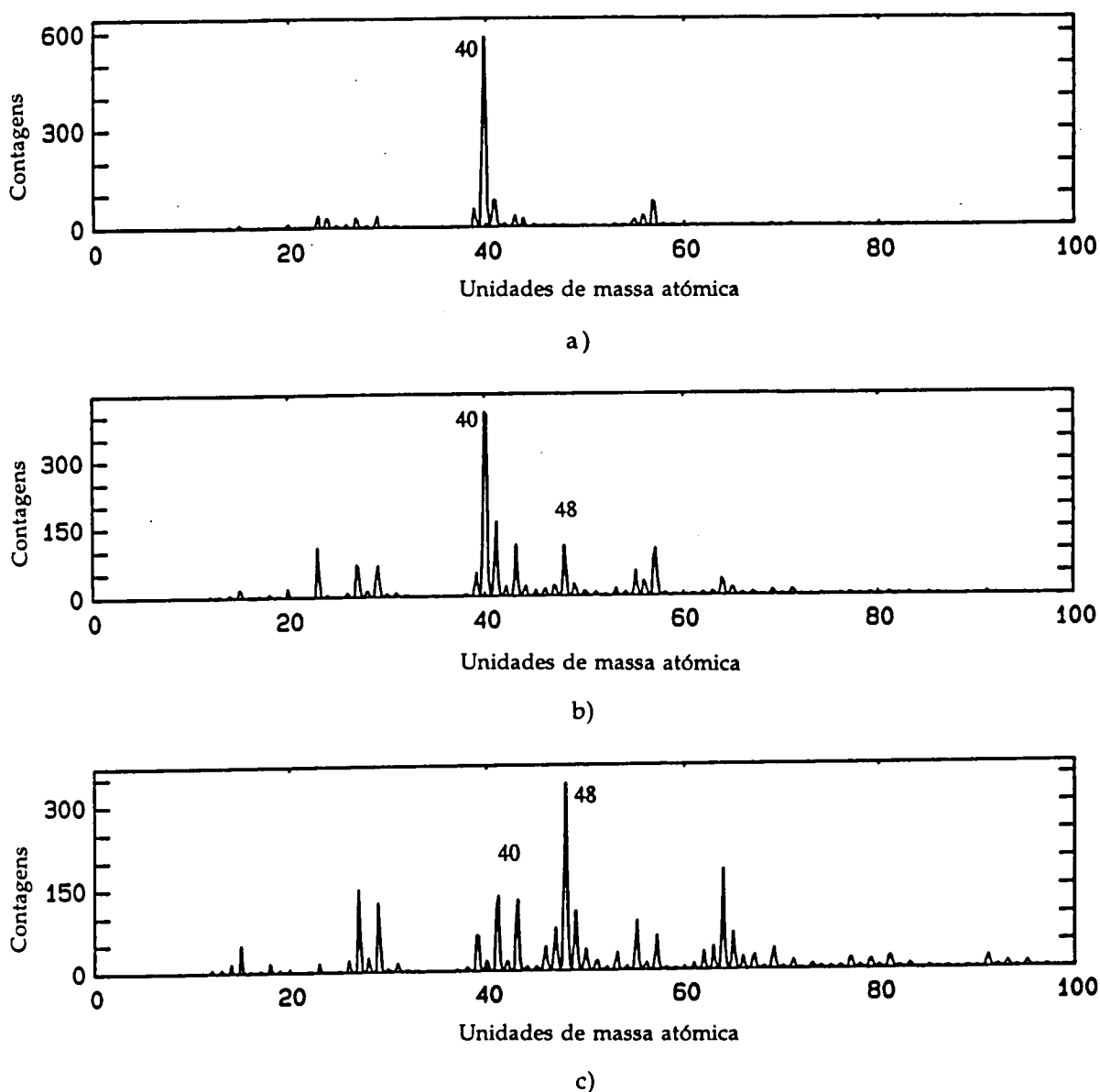


Fig. 48 - Espectros ToF-SIMS de íons positivos de a) HAp; b) pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 200 ppm de catião Ti; c) idem com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.

Para estabelecer uma relação semi-quantitativa entre o Ca e o Ti na superfície das amostras analisadas, foi feita a análise da razão de áreas dos respectivos picos característicos. Verificou-se que a quantidade de Ti detectada no sólido em estudo aumenta com a concentração de catião presente na solução de incubação e que a razão de áreas atinge um patamar a 500 ppm (tabela 15).

Tabela 15 - Relação de áreas dos picos de Ti e Ca para pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

[Ti] ppm	Relação de Áreas m/z 48
	(m/z 48)+(m/z 40)
200	0,16
400	0,84
500	0,94
1000	0,92

Na tabela 16, está representada a razão de áreas para as amostras sólidas obtidas após incubação da hidroxiapatite por diferentes períodos de tempo, em soluções de 0,9% de NaCl, com uma concentração de 500 ppm de Ti.

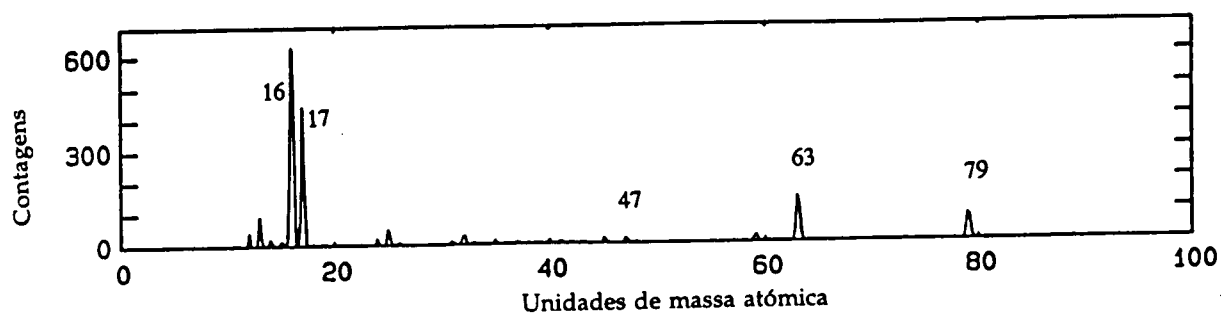
Tabela 16 - Relação de áreas dos picos de Ti e Ca para pós obtidos após incubação de HAp por diferentes períodos de tempo, em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti.

Tempo de incubação (h)	Relação de Áreas m/z 48
	(m/z 48) + (m/z 40)
0,5	0,90
24	0,90
120	0,92
240	0,94

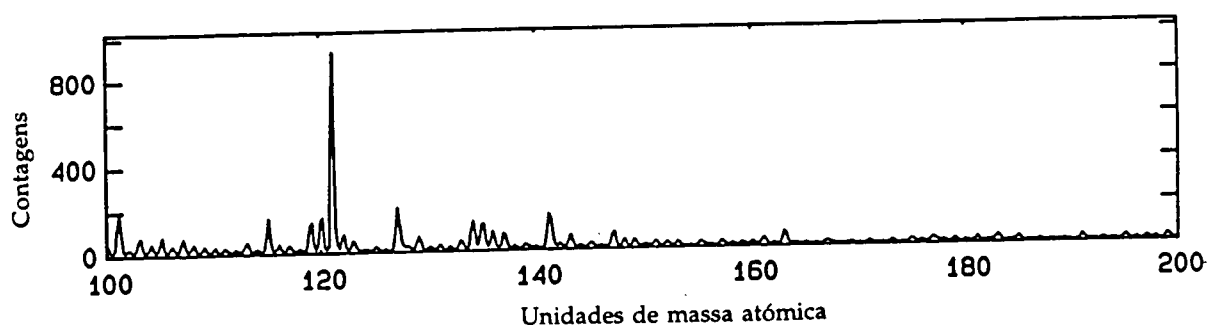
Estes dados confirmam o que foi observado na análise de XPS, isto é que a incorporação do Ti no sólido, ocorre rápida e quase completamente durante os primeiros 30 minutos de incubação, já que a sua concentração se mantém constante com o aumento do tempo de incubação para além deste valor.

Tof-SIMS de iões negativos

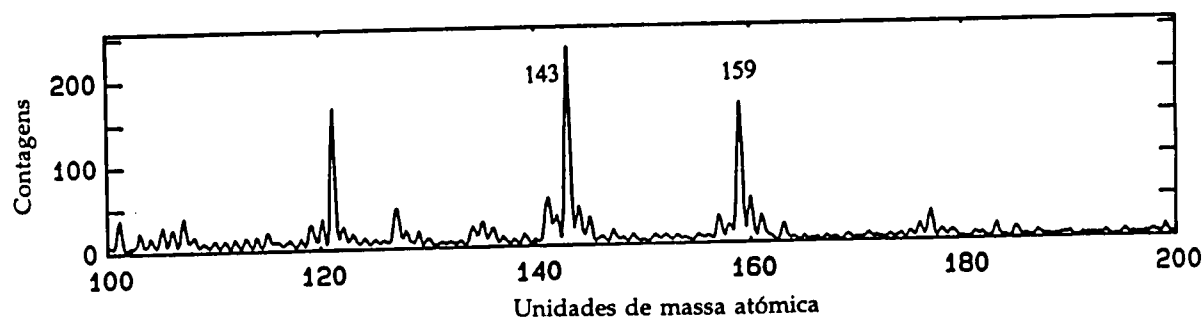
Os espectros de iões negativos de Tof-SIMS obtidos para a HAp e para amostras de HAp incubadas em soluções de 0,9% de NaCl com concentrações de Ti de 200 e 500 ppm, estão representados na figura 49.



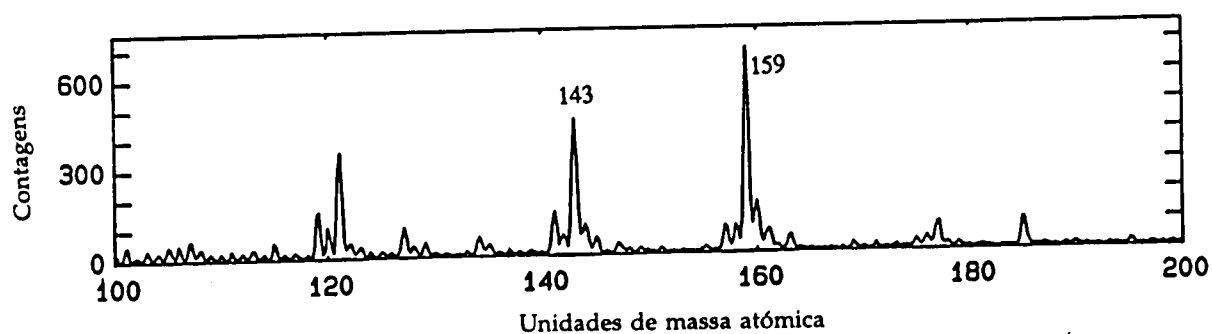
a)



b)



c)



d)

Fig. 49 - Espectros Tof-SIMS de íons negativos de: a) HAp m/z 0-100; b) HAp m/z 100-200 ; c) pó obtido após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com uma concentração de 200 ppm de cátion Ti; d) idem com uma concentração de 500 ppm de cátion Ti.

Os aniões de massa m/z 16 e 17 podem ser atribuídos a O^- e OH^- , respectivamente, e os aniões de massa m/z 47, 63 e 69, podem ser atribuídos à fragmentação dos grupos de ortofosfato presentes na hidroxiapatite, isto é, PO^- , PO_2^- e PO_3^- , respectivamente. Para uma concentração de 200 ppm de Ti, verifica-se o aparecimento de iões a m/z 143 e m/z 159, identificados respectivamente como $[TiPO_4]^-$ e $[TiO.PO_4]^-$.

Com o aumento da concentração de Ti (500 ppm), as intensidades relativas dos iões m/z 143 e m/z 159, também aumentam.

Os resultados obtidos sugerem que o Ti se encontra incorporado nos sólidos, sob a forma de um fosfato de titânio.

3.2.2.4. Análise Termogravimétrica

Hidroxiapatite

A análise termogravimétrica da hidroxiapatite indica que o composto perde em média 6,2 % da sua massa inicial desde a temperatura ambiente até à temperatura final de ensaio (1000°C) (figura 50).

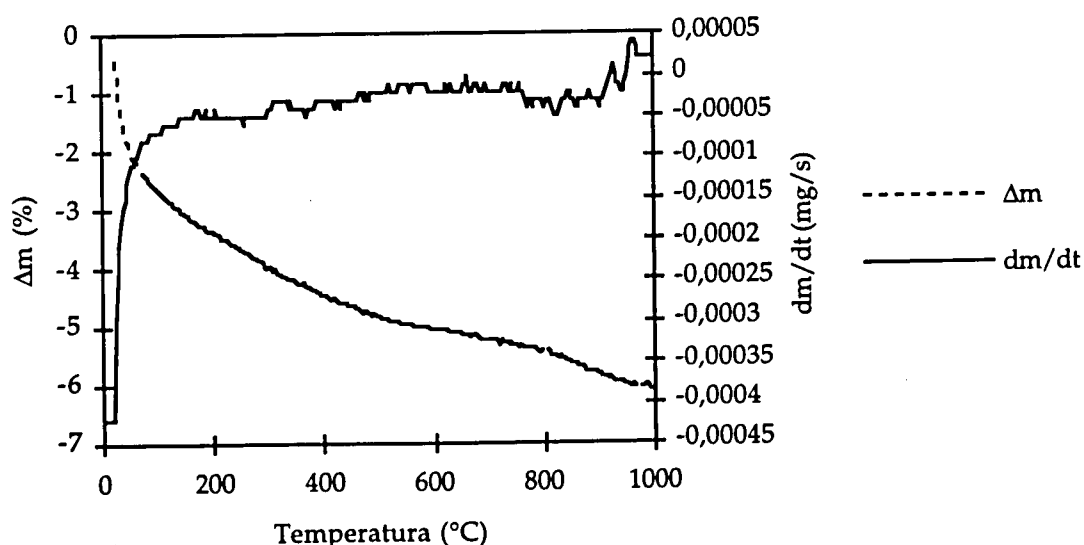
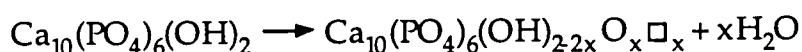


Fig. 50 - Curvas TG/DTG - HAp.

De acordo com Legeros e colaboradores [87], as apatites sintéticas, preparadas por via hidrotermal, apresentam dois tipos de água, nomeadamente água adsorvida e água de cristalização. Os mesmos autores referem que estas hidroxiapatites são geralmente não estequiométricas, devendo-se a sua não estequiometria à presença de HPO_4^{2-} . A água de

cristalização nestes compostos pode portanto resultar da substituição de iões OH^- na rede apatítica por moléculas de H_2O , ou substituição de iões PO_4^{3-} por HPO_4^{2-} .

No intervalo de 25 a 200°C , a diminuição de massa da hidroxiapatite verificada experimentalmente, deve-se possivelmente à perda reversível de humidade residual à sua superfície. Entre 200 e 400°C , a perda de massa observada poder-se-ia atribuir à presença de água de cristalização, não parecendo no entanto ser o caso, dado tratar-se de um fenómeno contínuo ao qual não corresponde uma temperatura de transformação bem definida. A reduzida perda de massa verificada acima de 850°C , pode corresponder a uma ligeira desidratação irreversível da hidroxiapatite, consequência da decomposição dos iões hidróxido de acordo com a reacção, que conduz à formação de oxihidroxiapatite [41, 88, 89]:



($\square$ corresponde a lacunas nas posições de OH na rede).

Durante o arrefecimento e na presença de vapor de água, a reacção de equilíbrio, desloca-se para a esquerda, estabilizando a hidroxiapatite. Os ensaios de análise térmica foram realizados numa atmosfera de ar pelo que o produto final obtido após ensaio continua a ser hidroxiapatite, de acordo com a reacção acima indicada.

Procedeu-se igualmente à análise termogravimétrica do composto $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ cujo termograma se encontra representado na figura 51.

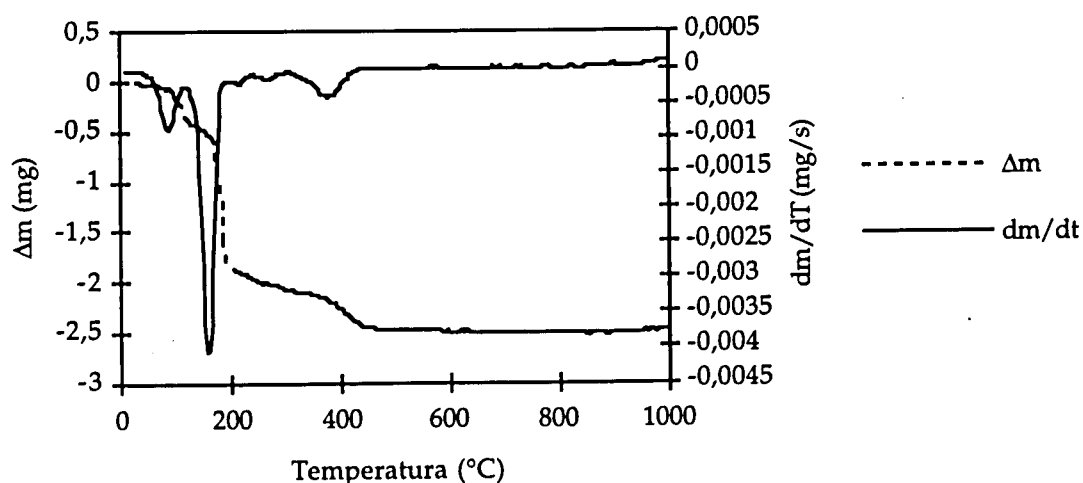


Fig. 51 - Curvas TG/DTG - $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Titânio

O comportamento térmico das amostras obtidas nas experiências realizadas com diferentes concentrações iniciais de catião Ti é muito semelhante (figura 52), sendo o valor médio da percentagem de perda de massa relativo a cada tipo de amostra ensaiada o representado na tabela 17. Este facto indica que, os fenómenos térmicos que ocorrem no intervalo de temperaturas considerado (25-1000°C) são semelhantes, pelo que as amostras deverão ser idênticas quanto aos compostos que as integram.

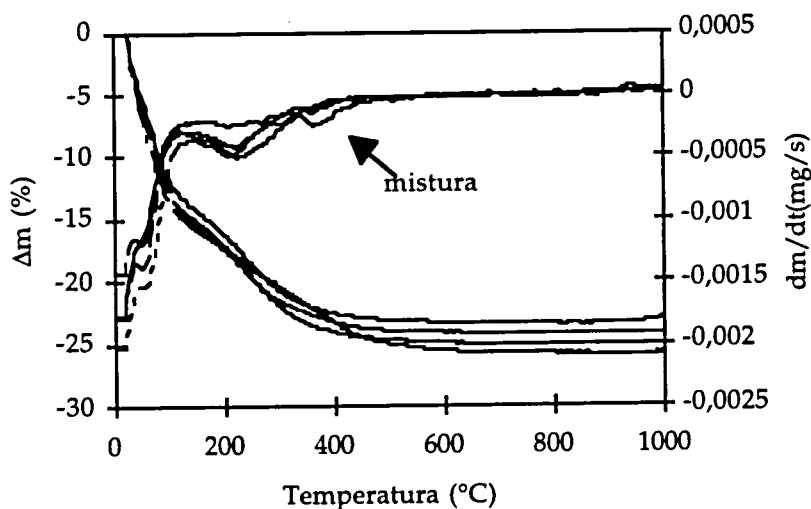


Fig. 52 - Curvas TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

Tabela 17 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti e pó designado por "mistura".

Designação das amostras	Δm (%)
500 ppm Ti	24,7
1000 ppm Ti	25,0
2000 ppm Ti	24,1
Mistura	25,8

A perda de massa inicia-se à temperatura ambiente, continuando até uma temperatura próxima de 420°C, onde praticamente estabiliza. Até cerca de 190°C, a diminuição de massa verificada deve-se possivelmente à perda de água adsorvida e água de cristalização. No intervalo de 190 a 270°C ocorre uma variação significativa na velocidade de perda de massa, sendo máxima a

decomposição do(s) composto(s) envolvido(s) a uma temperatura próxima de 250°C.

Os sólidos designados por "mistura" cuja preparação se encontra descrita no subcapítulo 2.3.4., pág. 34, apresentam um comportamento térmico semelhante ao dos obtidos por incubação de hidroxiapatite em soluções com diferentes concentrações de catião Ti, se bem que a transformação verificada para estas amostras a 250°C, surja nas amostras de mistura a uma temperatura mais elevada ($\approx 400^\circ\text{C}$) e de uma forma menos evidente. No entanto, o valor médio obtido para a perda de massa é da mesma ordem de grandeza, como se pode observar na tabela 17.

Alumínio

As amostras obtidas em experiências com diferentes concentrações de catião Al têm igualmente um comportamento térmico muito idêntico para as condições de ensaio usadas (figura 53), verificando-se, no entanto, uma perda de massa percentual mais reduzida para as amostras referentes a concentrações iniciais de catião metálico de 500 ppm (tabela 18). Para estas amostras observa-se uma ligeira inflexão da curva de Δm (%), à temperatura de 830°C, indicando a ocorrência de um fenómeno térmico acompanhado de uma ligeira perda de massa.

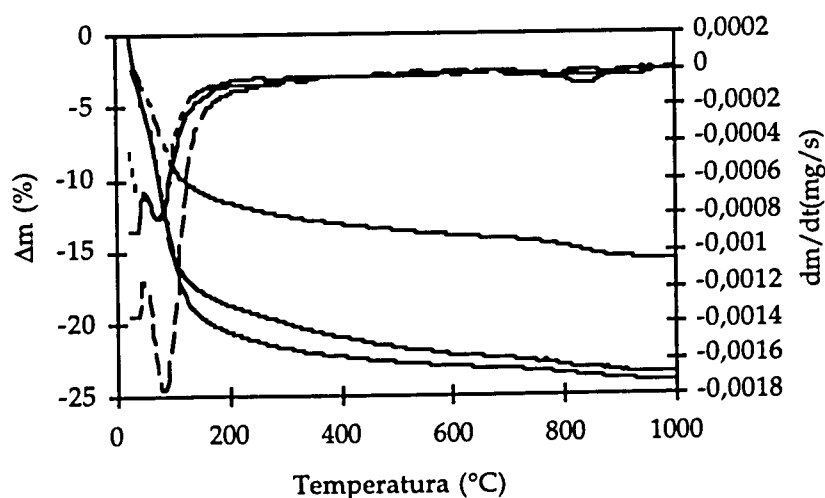


Fig. 53 - Curvas TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Al.

Tabela 18 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Al.

Designação das amostras	Δm (%)
500 ppm Al	15,6
1000 ppm Al	24,0
2000 ppm Al	23,3

Para amostras mais concentradas (1000 e 2000 ppm), verifica-se uma diminuição acentuada de massa até aproximadamente 200°C, possivelmente devido a perda de água adsorvida e de cristalização. Para temperaturas superiores, a diminuição de massa ocorre de uma forma contínua, com tendência para estabilizar. A perda de massa verificada poderá ser consequência da despolimerização de hidroxocomplexos poliméricos presentes no sólido.

Vanádio

O comportamento térmico observado para as amostras obtidas nas experiências com diferentes concentrações de vanádio apresentou-se muito dependente da concentração inicial de catião metálico. Na tabela 19 estão representados os valores médios de perda de massa para as amostras estudadas.

Tabela 19 - Δm (%) nos ensaios de TG/DTG - Pós obtidos após incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião V.

Designação das amostras	Δm (%)
500 ppm V	20,6 %
1000 ppm V	33,4%
2000 ppm V	22,3%

A análise termogravimétrica de amostras referentes a uma concentração inicial de catião vanádio de 500 ppm, indica a ocorrência de uma diminuição de massa até uma temperatura próxima de 200°C, que corresponde possivelmente a perda de água adsorvida e água de cristalização (figura 54). De 200 a 800°C, o(s) composto(s) resultante(s), sofre(m) uma ligeira diminuição de massa, verificando-se neste intervalo um máximo na curva dm/dt para uma temperatura de aproximadamente 520°C. Entre 800 e 1000°C, ocorre novamente uma decomposição térmica conducente a uma perda significativa de massa, sendo a temperatura correspondente de transformação de aproximadamente 950°C.

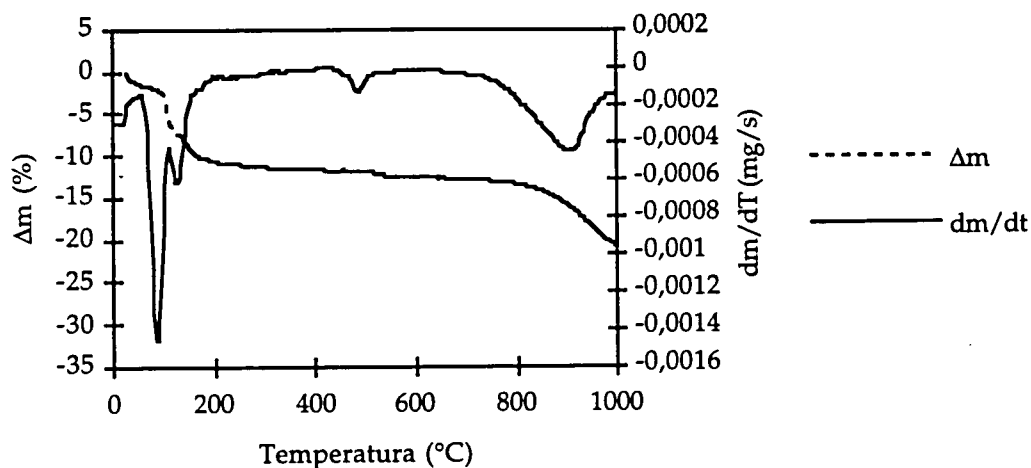


Fig. 54 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 500 ppm.

As amostras referentes a uma concentração inicial de V de 1000 ppm (figura 55), apresentam um comportamento térmico muito semelhante ao verificado para amostras menos concentradas em catião metálico (500 ppm) no intervalo de temperaturas de 25 a 400°C, se bem que o valor médio de perda de massa correspondente seja mais elevado (tabela 19). Entre 200 e 580°C, o sólido mantém-se praticamente estável, verificando-se unicamente a ocorrência de um ligeiro aumento de massa, a que corresponde um mínimo na curva dm/dt a uma temperatura de 460°C. Este facto poderá estar relacionado com a ocorrência de um processo de oxidação. No intervalo de temperaturas de 580 a 850 °C surge nova decomposição térmica que se processa em duas etapas e de que resulta um produto que se apresenta estável até à temperatura final de ensaio (1000 °C).

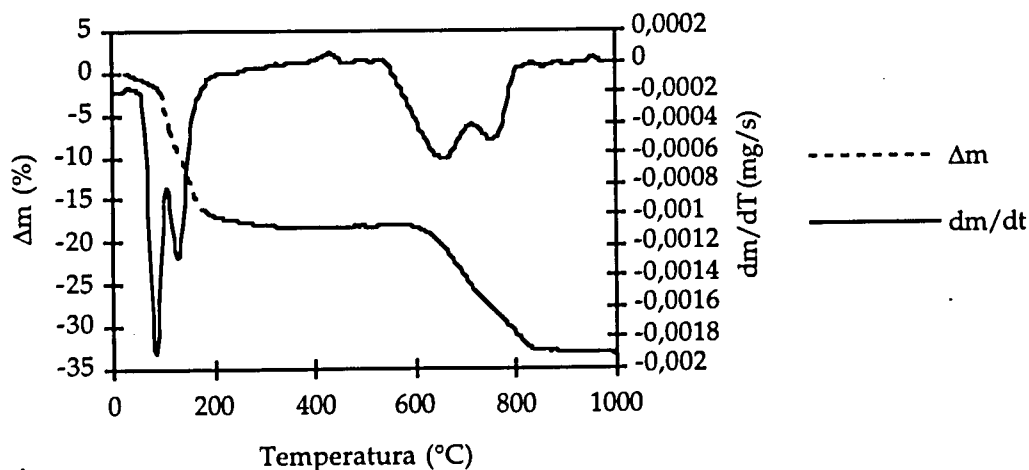


Fig. 55 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 1000 ppm.

Parte do sólido analisado sofreu fusão durante o ensaio, dando origem a uma mistura onde é evidente a presença de mais de uma fase. O mesmo fenómeno foi observado para as amostras com uma concentração inicial de 500 ppm de V. A análise por difracção de raios X dos resíduos sólidos obtidos, permitiu identificar as seguintes fases: 500 ppmV- HAp (PDF: 9-432), V_2O_5 (PDF: 9-387), $Ca_3V_2O_8$ (PDF: 28-347), 1000 ppmV- V_2O_5 , γ - $CaSO_4$ (PDF: 26-329), β - $Ca_2P_2O_7$ (PDF: 9-346).

As amostras referentes a uma concentração inicial de 2000 ppm (figura 56), apresentam um comportamento térmico característico de um composto de elevada pureza. A perda de massa inicia-se a aproximadamente 85°C continuando até cerca de 170°C, devendo-se possivelmente a uma perda de água de cristalização. Esta perda ocorre num único passo e o composto anidro resultante, mantém a sua massa constante até à temperatura final de ensaio (1000°C). A velocidade de decomposição do sólido em estudo é máxima a uma temperatura de 128°C.

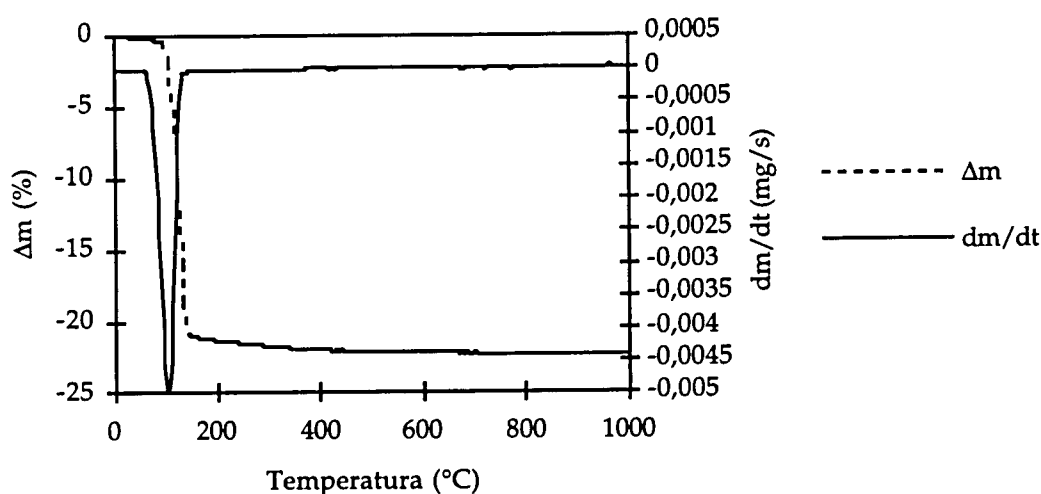


Fig. 56 - Curvas TG/DTG - Concentração inicial de catião V de 2000 ppm.

3.2.2.5. Difracção de raios X

Na tabela 20, estão representadas as distâncias recticulares (d_{obs} - distância observada), resultantes da leitura do radiograma da hidroxiapatite (figura 57 a)), e as distâncias calculadas (d_{calc} - distância calculada) utilizando os parâmetros teóricos da rede cristalina : $a_0 = 9,418 \text{ \AA}$, $c_0 = 6,884 \text{ \AA}$ [41, 42].

Os valores observados são muito próximos dos referidos na ficha de difracção (JCPDS-PDF: 9-432) (d_{calc}), sendo o desvio inferior a 4%. Não é evidenciada a presença de qualquer outra fase, pelo que se trata de

hidroxiapatite pura ou com teores inferiores a 5% de outros compostos cristalinos. O radiograma apresenta, no entanto, halos aos pequenos ângulos, que podem ser em parte provenientes da fase amorfa da hidroxiapatite, o que indica que a hidroxiapatite usada não é 100% cristalina. A presença dos halos referidos pode ainda dever-se à absorção preferencial do espectro contínuo da radiação utilizada, uma vez que este é obtido por transmissão e a radiação não é totalmente monocromática. O espectro contínuo que a acompanha, apesar de filtrado, tem um comprimento de onda mínimo $\lambda_{\min}=12400/40000=0,31\text{\AA}$ que atinge o máximo de intensidade a cerca de $2\lambda_{\min}=0,62\text{\AA}$, para as condições de excitação (40KV).

Tabela 20 - Valores das distâncias recticulares do espectro da HAp, intensidades (mF-muito forte, F-forte, m-média, f-fraca) e índices dos planos.

d (obs.) (Å)	d (calc.) (Å)	I (visual)	hkl
10,155	-	m	-
8,036	8,155	F	100
6,223	-	m	-
5,199	5,260	m	101
4,647	4,711	f	110
3,910	4,077	m	200
	3,887		111
3,398	3,437	F	002
3,052	3,087	F	210
2,768	2,813	mF	211
	2,778		112
2,641	2,718	m	300
2,576	2,628	m	202
2,493	2,529	f	301
2,239	2,296	F	310
	2,262		212
2,124	2,149	m	311
2,048	2,062	m	113
1,921	1,943	F	222
1,875	1,890	m	312
1,827	1,840	F	213
1,782	1,806	f	321
1,763	1,779	f	410
1,707	1,721	F	004
	1,723		411
1,636	1,644	m	322
	1,643		223
1,599	1,611	f	313
1,567	1,587	m	501
	1,585		204
1,528	1,530	m	331
1,494	1,502	m	214
	1,504		421
1,464	1,475	m	502
1,445	1,465	F	510

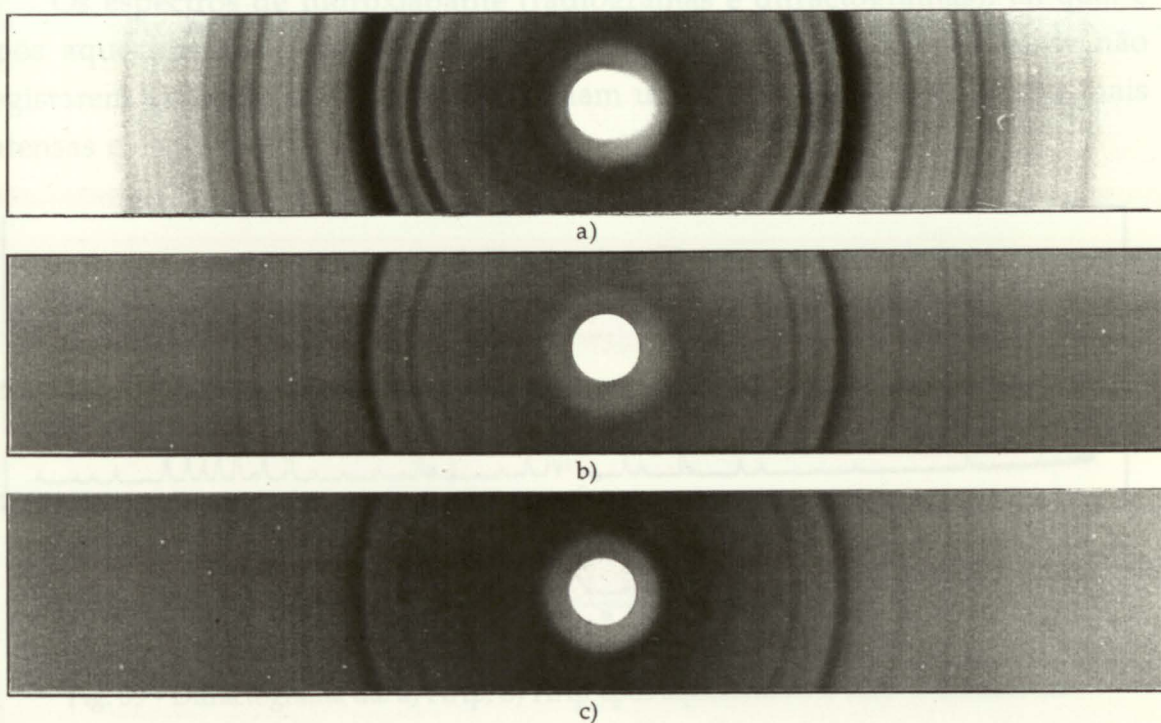


Fig. 57 - Radiogramas de: a) HAp; b) HAp incubada em solução 0,9% NaCl por um período de 10 dias; c) idem por um período de 230 dias.

Os espectros de difracção da hidroxiapatite para tempos de incubação de 10 dias e 230 dias em soluções de 0,9% de NaCl, mostram alterações significativas na sua estrutura. Com o aumento do tempo de incubação, a hidroxiapatite sofre um processo de alteração estrutural (incluindo dissolução) que afecta a sua cristalinidade, isto é, arranjo estrutural (defeitos e desordem na rede cristalina), que não deve ser confundida com a distorção e tamanho dos cristalitos (amorfização mecânica).

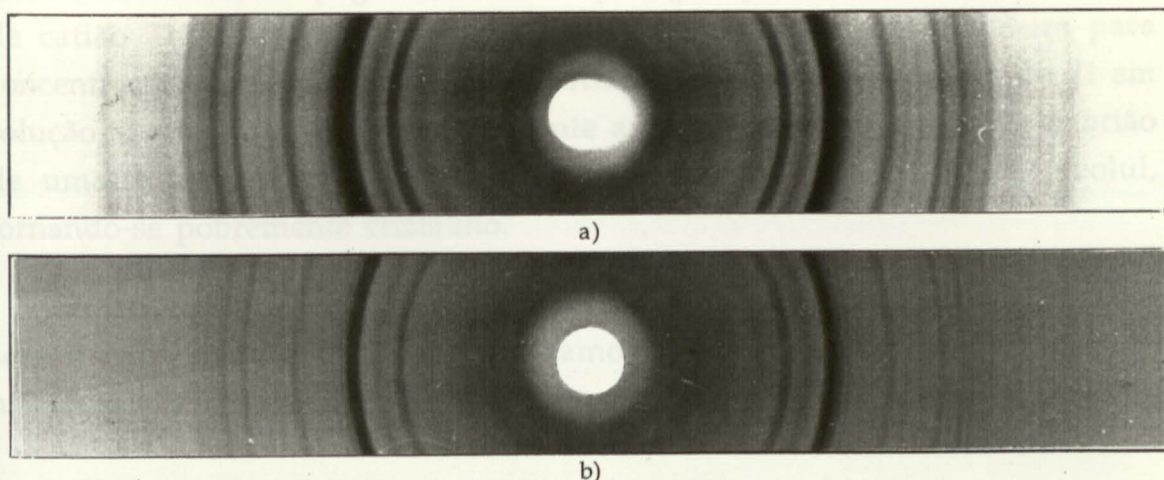


Fig. 58 - Radiogramas da: a) HAp; b) HAp após aquecimento a 1000°C durante 1h.

Os espectros de hidroxiapatite (radiogramas e difractogramas), tal qual e após aquecimento a 1000°C durante 1 hora (figuras 58 e 59)), além de não registarem qualquer outra fase, evidenciam uma melhor resolução (riscas mais intensas e estreitas).

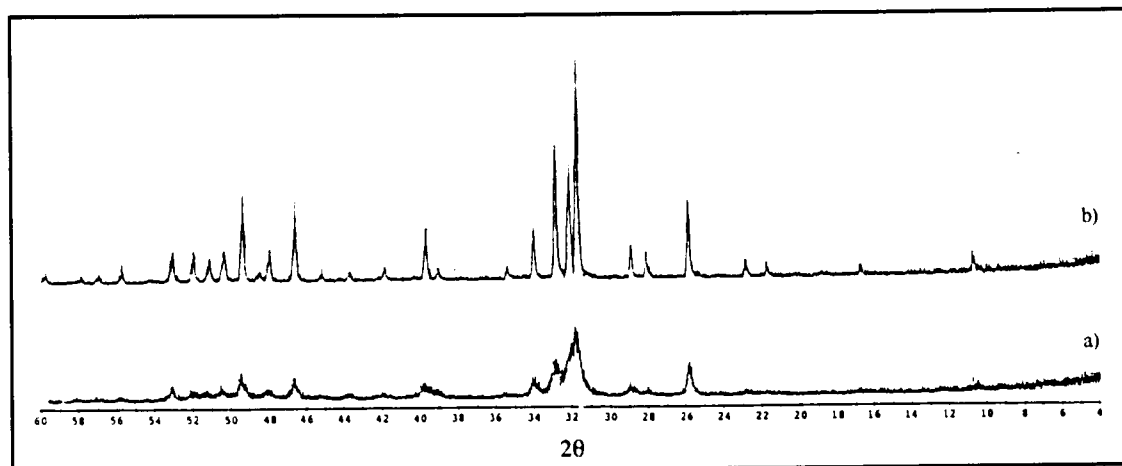


Fig. 59 - Difractograma da: a) HAp; b) HAp após aquecimento a 1000°C durante 1h.

Influência da presença dos cátions Ti, Al e V, na estrutura cristalina da hidroxiapatite

Titânio

Na figura 60, estão representados os difractogramas da fase sólida resultante do tratamento da hidroxiapatite com soluções de NaCl com diferentes concentrações de cátion Ti, incubadas durante 10 dias, bem como para a amostra designada por "mistura" (tentativa de precipitação de um fosfato de titânio a partir de hidrogenofosfato de sódio hidratado e solução de cloreto de titânio, ver pág. 34), incubada por igual período de tempo. A adição de cátion Ti à hidroxiapatite provoca a destruição da sua estrutura para concentrações próximas de 400 ppm. Aumentando a concentração de Ti em solução, o sólido formado, praticamente amorfo, parece constituir o embrião de uma nova fase que, para concentrações mais elevadas de Ti, evolui, tornando-se pobremente cristalino.

Relativamente à "mistura", verifica-se que o seu espectro é muito semelhante ao característico das amostras obtidas por incubação da hidroxiapatite nas soluções mais concentradas em Ti (500, 1000 e 2000 ppm).

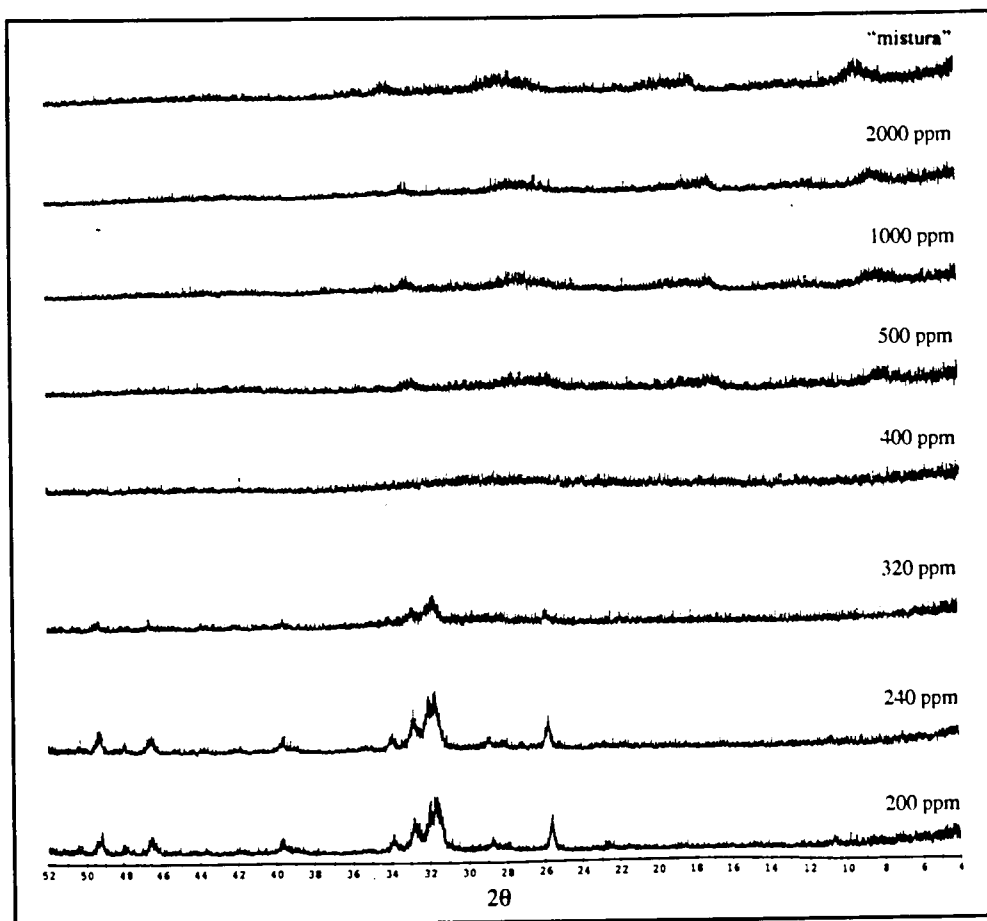


Fig. 60 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAP em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de cátion Ti e do pó designado por "mistura", obtido após igual tempo de incubação.

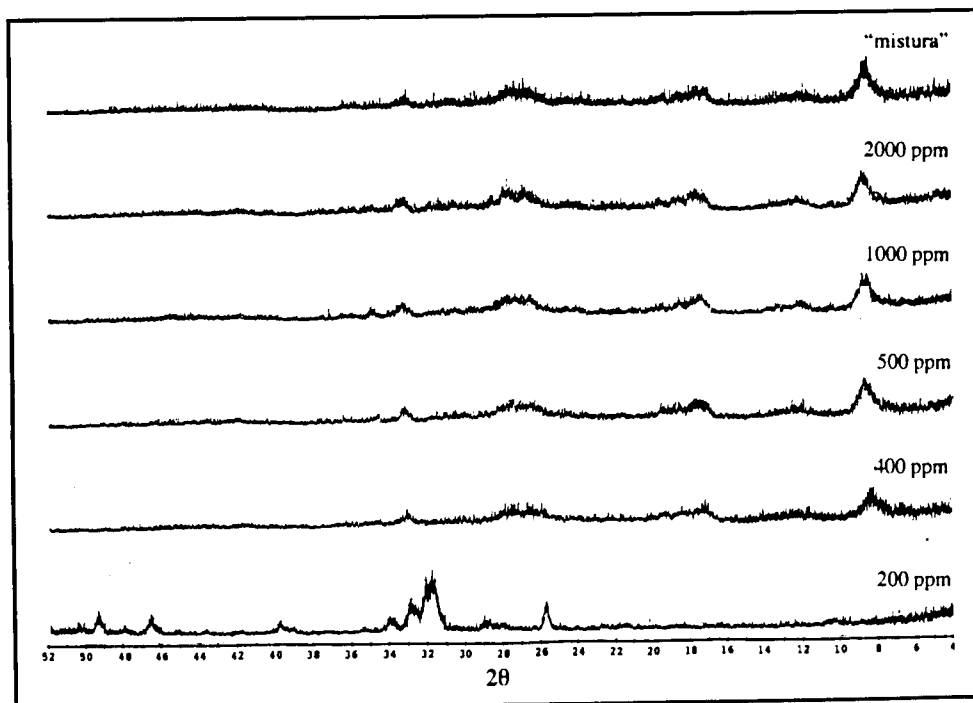


Fig. 61 - Difractogramas dos pós obtidos após 230 dias de incubação de HAP em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de cátion Ti e do pó designado por "mistura", obtido após igual tempo de incubação.

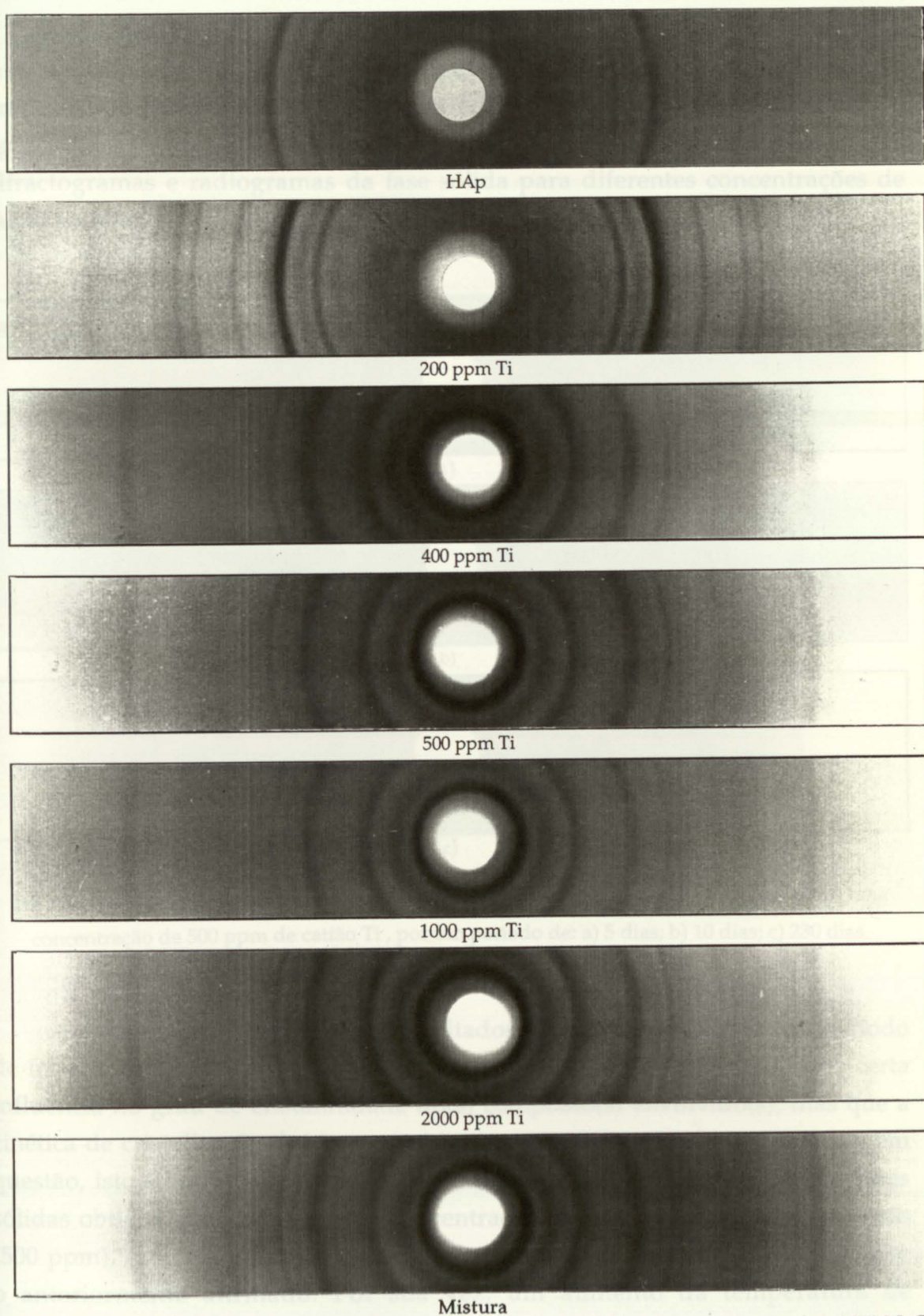


Fig. 62 - Radiogramas dos pós obtidos após 230 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti, da HAp e do pó designado por "mistura", obtidos após igual tempo de incubação.

Estudos subsequentes revelaram que a formação e cristalinidade da nova fase identificada são função da temperatura e do tempo de incubação e praticamente independentes da concentração de Ti para teores de 1000 e 2000 ppm. Nas figuras 61 e 62 estão representados, respectivamente, os difractogramas e radiogramas da fase sólida para diferentes concentrações de catião metálico e um período de incubação de 230 dias.

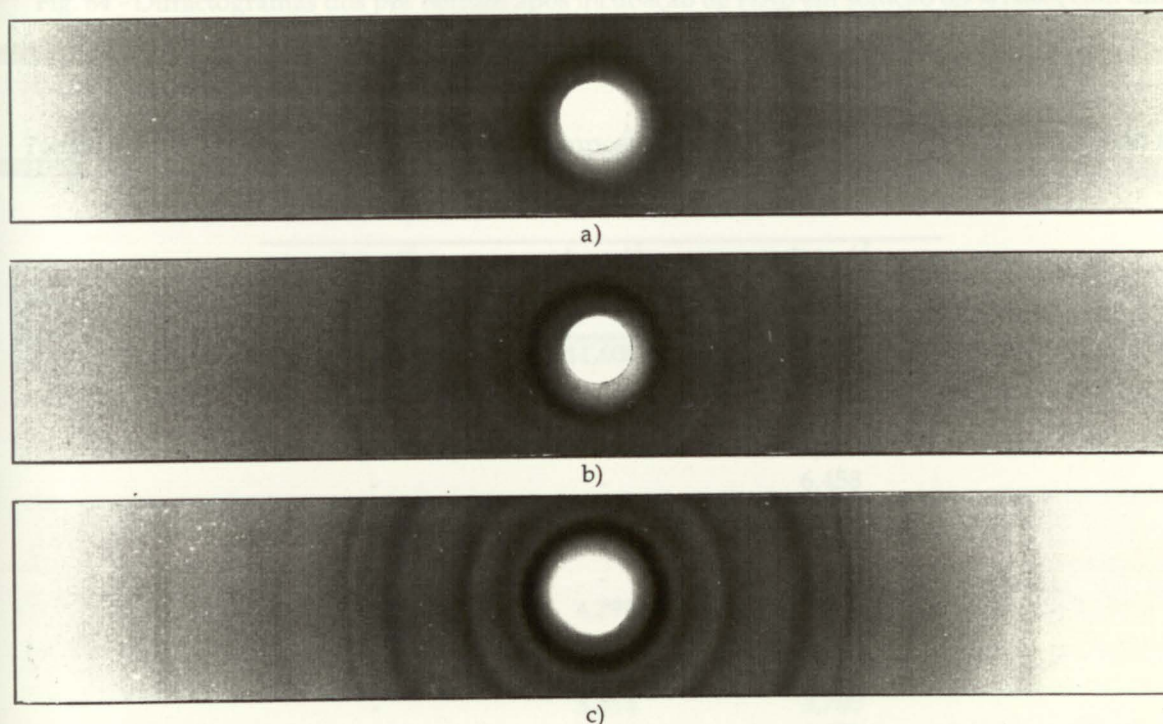


Fig. 63 - Radiogramas dos pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti, por um período de: a) 5 dias; b) 10 dias; c) 230 dias.

A comparação desta série de resultados com os obtidos para um período de incubação de 10 dias (figura 60), mostra que o factor tempo tem uma certa influência no grau de cristalinidade do(s) composto(s) envolvido(s), mas que a cinética de cristalização do(s) mesmo(s) é bastante lenta para a temperatura em questão, isto é, 37°C. Na figura 63, estão representados os diagramas das fases sólidas obtidas, para uma mesma concentração de Ti da solução de tratamento (500 ppm), e vários períodos de incubação. A sua análise confirma igualmente o anteriormente afirmado. Por sua vez, um aumento da temperatura de incubação, parece promover o aumento da cristalinidade da fase sólida, o que é evidenciado pelos difractogramas da figura 64.

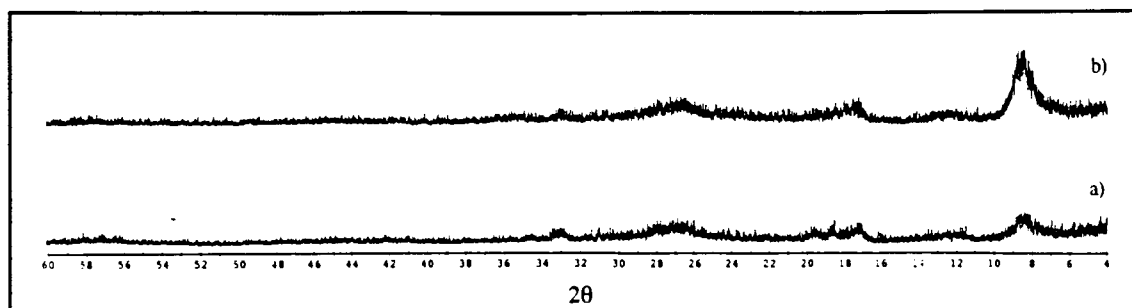


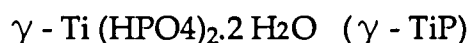
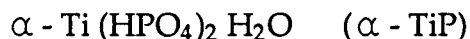
Fig. 64 - Difractogramas dos pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 500 ppm de catião Ti: a) 37°C; b) 65°C.

Tabela 21 - Dados comparativos dos compostos caracterizados em [90] e do composto em estudo.

$d_{obs}/\text{\AA}$ α - TiP	$d_{obs}/\text{\AA}$ γ - TiP	$d_{obs}/\text{\AA}$ Composto em estudo
-	11,600	-
-	-	10,669
-	-	9,054
7,604	-	7,557
-	-	6,458
-	5,560	5,193
-	-	4,854
-	-	4,530
4,261	4,297	-
4,232	-	-
4,046	3,951	4,077
-	3,854	3,705
3,457	3,558	3,579
3,422	3,450	3,373
-	3,300	-
3,150	3,170	3,144
3,026	3,058	2,913
2,876	-	2,810
-	2,786	2,710
2,611	-	2,651
2,585	2,590	2,550
2,533	2,552	-
2,503	2,526	-
2,494	2,450	2,460
2,390	-	-
2,374	2,336	-
2,244	2,217	-
2,157	2,150	2,144
2,022	2,080	2,054
1,960	1,986	1,984
1,942	1,951	-
1,875	-	-
1,865	1,846	1,839

Assim, a fase sólida rica em Ti, resultante dos ensaios realizados, tem um

espectro de raios X semelhante aos espectros dos fosfatos de Ti estudados por Christensen [90], ou, melhor, um espectro comparável com o resultante da sobreposição das fases α e γ (tabela 21). Estas fases α e γ são compostos de estrutura em camadas (layer structure) do tipo hidrogenofosfato de titânio hidratado:



Acontece, no entanto, que para as diferentes concentrações de Ti estudadas e para as condições de ensaio utilizadas, a fase em estudo apresenta sempre as mesmas características microestruturais, o que sugere que o material formado consiste numa única fase, não parecendo, portanto, tratar-se de uma mistura das fases α e γ .

Pode-se admitir, em virtude de se estar em presença de compostos com estrutura em camada, que as condições do meio possibilitam a formação de uma fase do tipo "mixed layered", isto é, uma mistura estrutural (1:1) dos dois politipos $\alpha - \text{TiP}$ e $\gamma - \text{TiP}$. Assim sendo, a camada unitária resultante, produto da combinação de $\alpha - \text{TiP}$ (7,6 Å-"layer") e $\gamma - \text{TiP}$ (11,6 Å-"layer"), terá a espessura de 19,2 Å (001) e os picos submúltiplos do espectro serão: 9,6 Å (002), 6,4 Å (003), 4,8 Å (004), 3,84 Å (005), para a estrutura considerada na sua totalidade. Estes valores ajustam-se com bastante aproximação aos dos picos mais importantes do espectro da fase em estudo, o que torna plausível admitir a hipótese de ela possuir uma estrutura do tipo "mixed layered". Esta conclusão pode ainda justificar, em parte, a dificuldade de indexação dos espectros destes compostos, o que foi constatado durante a consulta bibliográfica. O facto de os compostos envolvidos serem hidratados acresce ainda mais a dificuldade de identificação dos mesmos, uma vez que a presença de moléculas de água em número variável pode provocar fenómenos de dimorfismo.

Com o objectivo de aumentar a cristalinidade do(s) composto(s) de Ti em estudo e facilitar a sua identificação, procedeu-se, à semelhança do que foi feito para a hidroxiapatite, ao aquecimento até 1000 °C dos pós provenientes de 10 dias de incubação a 37°C de hidroxiapatite em soluções de 0,9% de NaCl com teores de Ti de: 240, 400, 500, 1000 e 2000 ppm. A figura 65 representa os difractogramas obtidos para estas amostras. Verificou-se que este aquecimento não promoveu o aumento da cristalinidade do(s) composto(s), tendo, no entanto, provocado alterações significativas nos mesmos, alterações essas que se traduziram no aparecimento de novas fases, identificadas pelos seus

espectros de raios X e indicadas na tabela 22.

Tabela 22 - Fases cristalinas identificadas nos pós submetidos a ciclo térmico.

Designação das Amostras	Fases identificadas
240 ppm Ti	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2^* + \text{HAp}$
400 ppm Ti	$\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6^\bullet$
500 ppm Ti	$\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6 + (\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7^\dagger + \text{TiP}_2\text{O}_7^\ddagger$
1000 ppm Ti	$\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6 + (\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{TiP}_2\text{O}_7$
2000 ppm Ti	$\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6 + (\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{TiP}_2\text{O}_7$
Mistura	$(\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7 + \text{TiP}_2\text{O}_7$

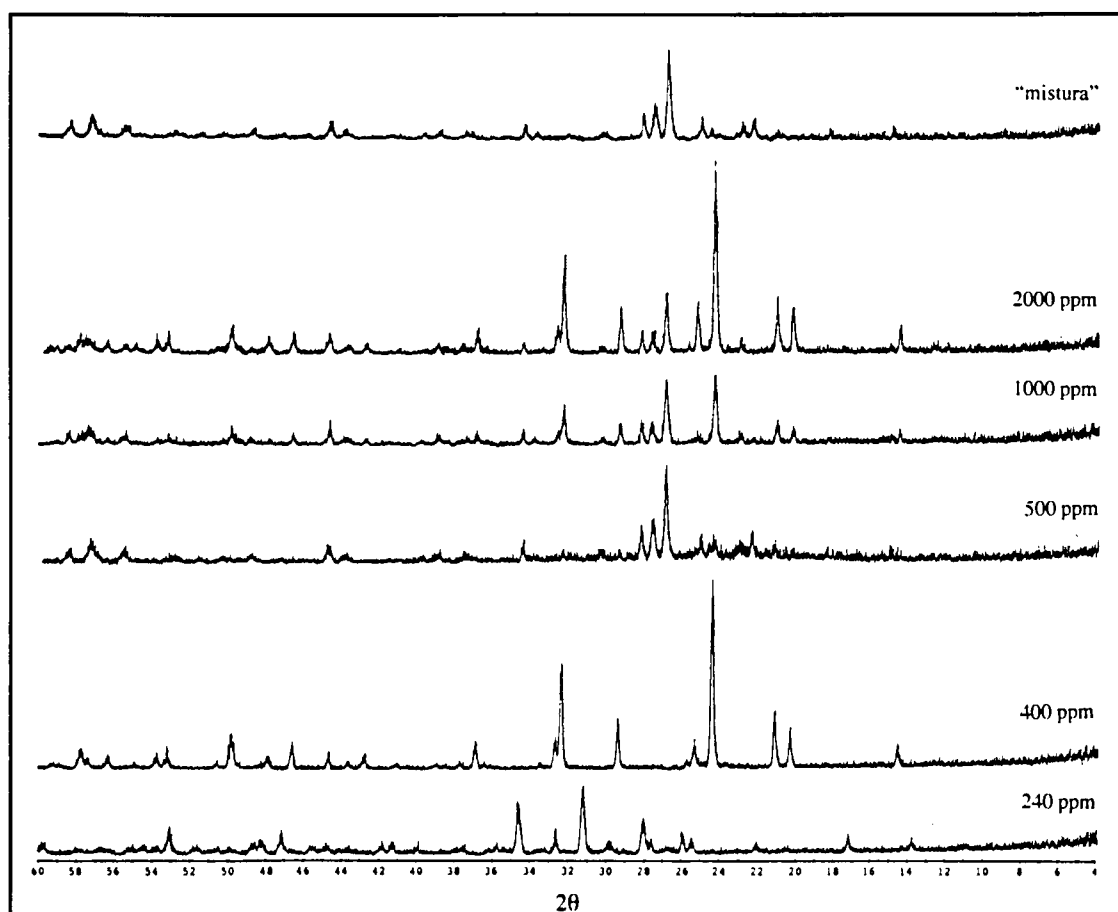


Fig. 65 - Difractogramas dos pós obtidos após aquecimento a 1000°C da amostra designada por "mistura" e das fases provenientes de 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

* PDF: 9-169

• PDF: 35-740

† PDF: 39-207

‡ PDF: 38-1468

O aquecimento a 100°C durante 1 hora do sólido resultante do tratamento de hidroxiapatite com uma solução de 0,9% de NaCl e 500 ppm de Ti, não provocou alterações significativas no mesmo (figura 66).

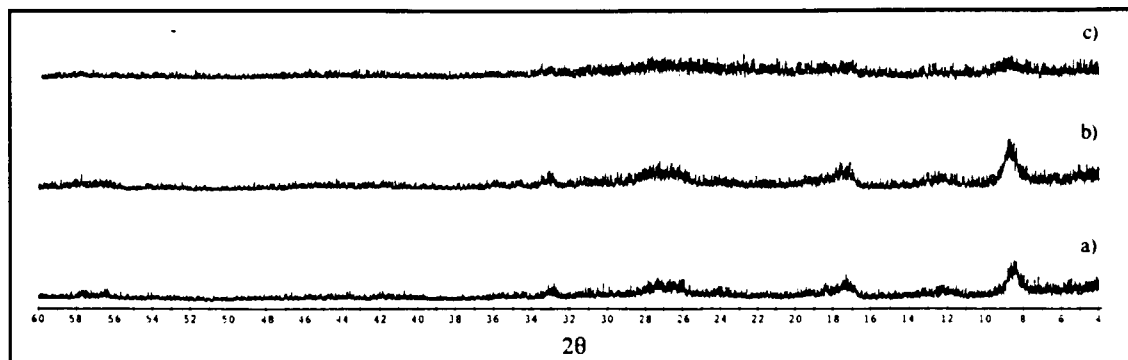
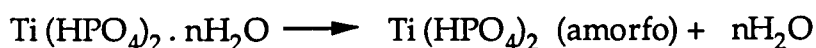


Fig. 66 - Difractogramas dos pós obtidos após aquecimento a 100°C(b)) e a 250°C(c)) dos sólidos obtidos após 379 dias de incubação de HAp em solução de 0,9% NaCl com uma concentração de catião Ti de 500 ppm, e do sólido não aquecido (a)).

No entanto, após aquecimento posterior a 250°C por igual período de tempo (temperatura a que por análise termogravimétrica se observa a perda total de possível água de constituição), verificou-se que a fase sólida se torna amorfa. Este facto confirma a existência de fosfatos hidratados, que quando aquecidos, perdem gradualmente a sua água de cristalização ($n\text{H}_2\text{O}$), transformando-se em fosfatos anidros amorfos.



Em resumo, pode-se concluir que o aumento de cristalinidade dos compostos que se obtêm (compostos hidratados) só pode ser concretizado por via húmida, dado que a água de cristalização é estruturalmente necessária para a sua existência. O aquecimento provoca a sua desidratação e consequente decomposição noutros compostos.

Alumínio

Na figura 67 estão representados os difractogramas dos sólidos obtidos após 10 dias de incubação da hidroxiapatite em soluções 0,9% de NaCl, com diferentes concentrações de catião Al. Para uma concentração de 200 ppm, observa-se ainda o espectro da hidroxiapatite, o qual se mantém para concentrações crescentes de catião metálico. Observa-se, no entanto, uma perda de definição do mesmo para teores mais elevados de Al (1000 e 2000 ppm), indicando uma tendência para a destruição da rede cristalina da hidroxiapatite.

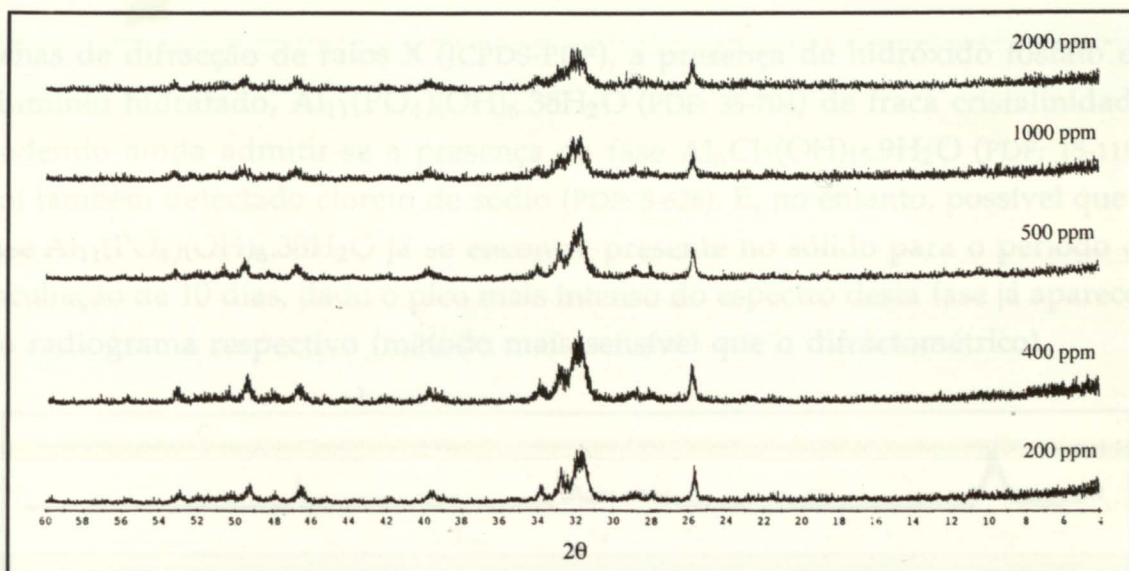


Fig. 67 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAp em soluções 0,9% NaCl, com diferentes concentrações de catião Al.

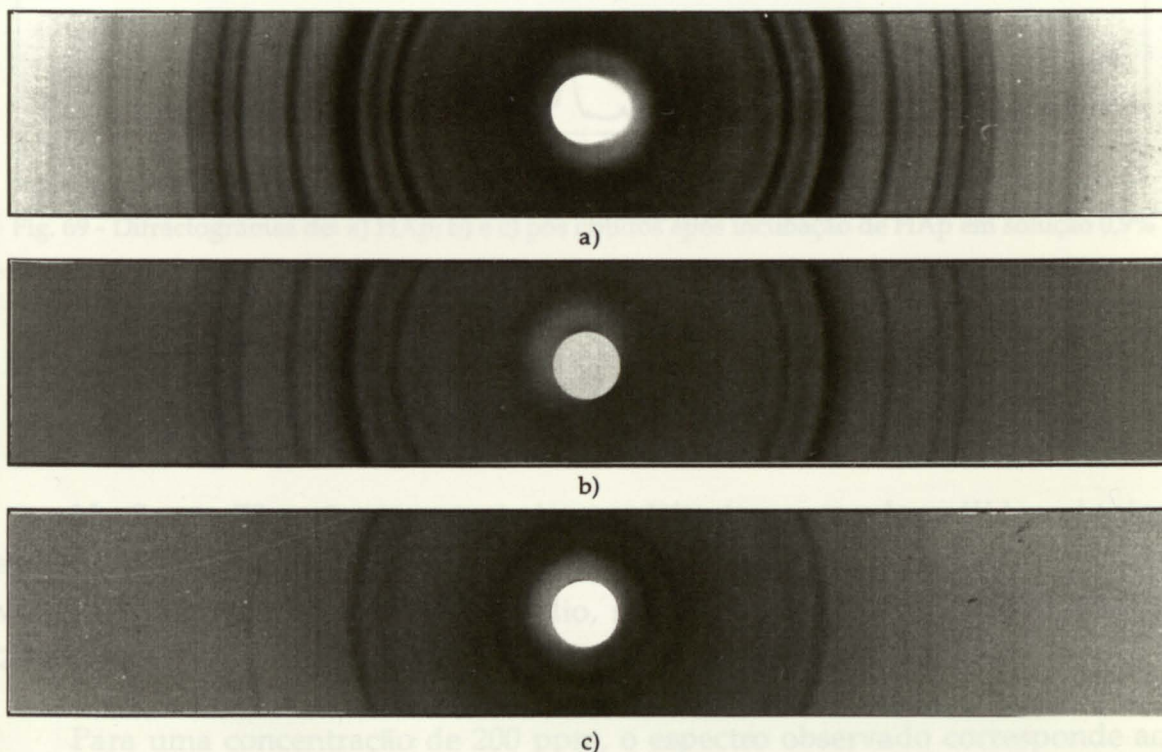


Fig. 68 - Radiogramas de: a) HAp b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de catião Al por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.

Aumentando o tempo de incubação para 60 dias, o espectro dos sólidos obtidos para concentrações de Al inferiores a 2000 ppm, continua a ser o da hidroxiapatite. Para 2000 ppm, a análise conjunta do difractograma e radiograma (figuras 69 e 68) respectivos, permitiu identificar, com base nas

fichas de difracção de raios X (JCPDS-PDF), a presença de hidróxido fosfato de alumínio hidratado, $\text{Al}_{11}(\text{PO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 38\text{H}_2\text{O}$ (PDF: 35-704) de fraca cristalinidade, podendo ainda admitir-se a presença da fase $\text{Al}_6\text{Cl}_3(\text{OH})_{15} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ (PDF: 15-119). Foi também detectado cloreto de sódio (PDF: 5-628). É, no entanto, possível que a fase $\text{Al}_{11}(\text{PO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 38\text{H}_2\text{O}$ já se encontre presente no sólido para o período de incubação de 10 dias, dado o pico mais intenso do espectro desta fase já aparecer no radiograma respectivo (método mais sensível que o difractométrico).

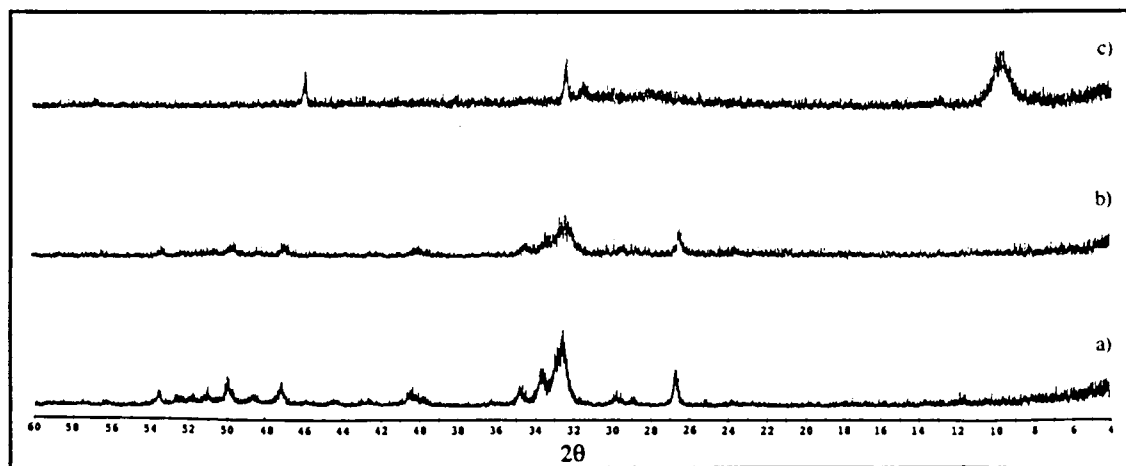


Fig. 69 - Difractogramas de: a) HAp; b) e c) pós obtidos após incubação de HAp em solução 0,9% NaCl com uma concentração de 2000 ppm de catião Al por um período de 10 dias e 60 dias respectivamente.

Vanádio

Na figura 70 estão representados os difractogramas dos sólidos obtidos após incubação da hidroxiapatite por um período de 10 dias em soluções com várias concentrações em catião vanádio, respectivamente 200, 400, 500, 1000 e 2000 ppm.

Para uma concentração de 200 ppm, o espectro observado corresponde ao da hidroxiapatite. Para valores superiores de concentração (400 e 500 ppm), surgem, para além da hidroxiapatite, duas novas fases, identificadas com base nas fichas de difracção de raios X (JCPDS-PDF), nomeadamente, sulfato de cálcio hidratado, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (PDF: 33-311) e fosfato de vanadilo hidratado, $\text{VOPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (PDF: 27-949).

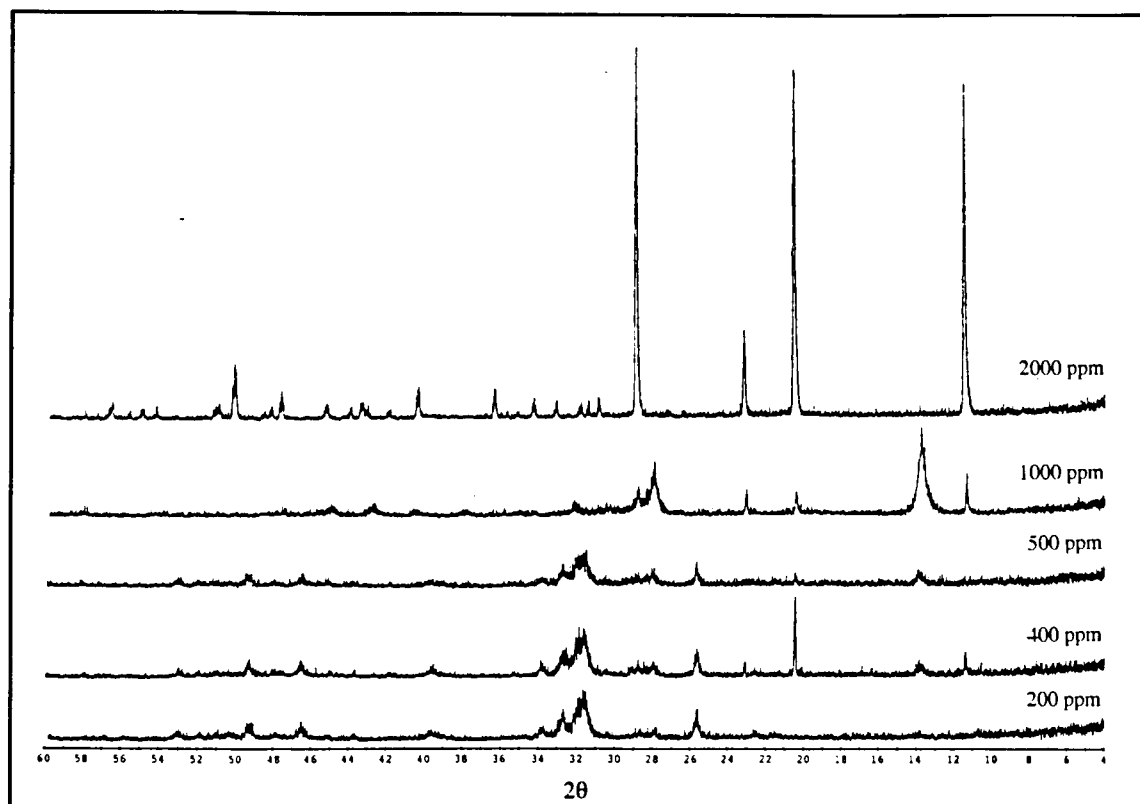


Fig. 70 - Difractogramas dos pós obtidos após 10 dias de incubação de HAP em soluções 0,9% NaCl com diferentes concentrações de catião V.

Para uma concentração de 1000 ppm de V, a hidroxiapatite deixa de estar presente, sendo o sólido essencialmente constituído por fosfato de vanádio, e sulfato de cálcio hidratados.

Para 2000 ppm de vanádio, a única fase existente é a de sulfato de cálcio hidratado, muito bem cristalizado.

O aumento do tempo de incubação de 10 dias para 60 dias, parece não introduzir alteração nas fases presentes, como se verifica pelos radiogramas e difractogramas obtidos para a concentração de 1000 ppm (figuras 71 e 72).

O facto de nos radiogramas surgirem anéis de difracção pontuados indica que a fase correspondente deverá ter uma granulometria superior a 15 μm [91].

Nota: Em anexo (anexo B) estão representados em tabelas os valores dos ângulos θ observados (θ_{obs}), distâncias recticulares observadas (d_{obs}) e intensidades relativas (I_{visual}), obtidos por leitura dos radiogramas.

IV DISCUSSÃO GERAL DOS RESULTADOS

4.1. Hidroxiapatite

Por análise de difracção de raios X não foi detectada a presença de qualquer fase estranha no pó de HAp usado em todo o trabalho, pelo que se concluiu tratar-se de HAp de elevada pureza ou com teores inferiores a 5% de outras fases (limite de detecção da técnica). Também o nível de contaminantes metálicos pesquisados na HAp se mostrou bastante inferior ao referido na bibliografia por outros autores para pós comerciais ou preparados em laboratório [92, 93]. O composto apresentava uma cristalinidade limitada, característica comum à hidroxiapatite natural como principal constituinte mineral ósseo. Na realidade, com excepção do esmalte dentário, que é relativamente bem cristalizado, os fosfatos de cálcio de tecidos calcificados são pouco cristalinos [94]. Por outro lado, os revestimentos de HAp obtidos por projecção por plasma também não apresentam geralmente elevada cristalinidade, uma vez que a temperatura atingida durante a projecção é em geral muito superior a 1887°K, o ponto de fusão da HAp [95], sendo portanto plausível que grandes quantidades de pó se tornem amorfas. Este tipo de revestimento consiste, essencialmente, segundo vários autores, de componentes pouco cristalinos ou completamente amorfos, caracterizados até ao momento como sendo HAp com ou sem outros fosfatos de cálcio [96-98].

Foi possível, no entanto, aumentar a cristalinidade do pó usado através de tratamento térmico, sem que se tenha formado qualquer outra fase detectável por difracção de raios X. Esta observação está de acordo com o que é referido por Rey e colaboradores [99], isto é, que a estabilidade térmica da HAp está relacionada com a respectiva relação Ca/P, e confirma o facto de a HAp de que se partiu ser estequiométrica. Segundo os referidos autores, quando a HAp estequiométrica é aquecida a 1000°C, o produto final que se obtém continua a ser hidroxiapatite pura, estequiométrica, enquanto que o aquecimento a essa temperatura de fosfatos de cálcio com razões Ca/P compreendidas entre 1,5 e 1,6, origina uma mistura de β -TCP e HAp. Por sua vez, compostos com razão

Ca/P superior a 1,67 originam uma mistura de CaO e HAp estequiométrica.

Pode-se, portanto, concluir que a HAp usada exhibe uma elevada estabilidade térmica na gama de temperaturas de 25-1000°C, facto igualmente suportado pela análise termogravimétrica, em que, para além de um possível fenómeno reversível de desidroxilação, só se observa a perda de água de hidratação.

4.2. Influência do pH e do meio na dissolução da hidroxiapatite

Influência do pH

A HAp óssea está sujeita a variações de pH resultantes da ocorrência de processos inflamatórios ou infecciosos que acompanham o processo de implantação, bem como resultantes da actividade osteoclástica. Estudos usando corantes indicadores sensíveis ao pH e microelctrodos, indicam que os osteoclastos promovem a dissolução do mineral ósseo por criação de um microcompartimento ácido adjacente à superfície do osso [100].

Neste trabalho, verificou-se experimentalmente que a extensão da dissolução da HAp é função da concentração de H^+ em solução (figura 7). A razão Ca/P determinada nas soluções de incubação da hidroxiapatite com diferentes valores de pH, não correspondeu, no entanto, ao valor de 1,67 encontrado no sólido e característico da HAp estequiométrica (figura 7). Este comportamento de dissolução incongruente foi já referido igualmente por outros autores [78, 79]. Yamashita e Kanazawa [44] consideram que a solubilidade incongruente da hidroxiapatite se deve à formação de camadas superficiais que podem consistir de várias fases, por exemplo: hidroxiapatite não estequiométrica, $Ca_2(HPO_4)(OH)_2$, Ca_2PO_4OH , $Ca_{10}(PO_4)_5(OH)_5$, $CaHPO_4 \cdot 2H_2O$, e $Ca_{12}(PO_4)_6(OH)_6$, bem como à presença de impurezas na rede cristalina ou a carbonato de cálcio adsorvido. Daí que os estudos termodinâmicos relativos ao composto se apresentem bastante complexos, o que se reflecte no facto de na bibliografia surgirem valores diferentes para o produto de solubilidade da hidroxiapatite. No entanto, é geralmente aceite que a hidroxiapatite apresenta um produto de solubilidade bem definido com $pK_{ps} = 115$ [101].

Influência da presença de ácido láctico

O ácido láctico é um dos produtos resultantes do metabolismo das bactérias em meio infectado [102]. Este ácido pode surgir em contacto com a hidroxiapatite também como resultado da actividade osteoclástica.

Neste trabalho, verificou-se que a presença de ácido láctico, conduz a um aumento da dissolução da hidroxiapatite para valores de pH inicial iguais ou inferiores a 3,2 (figura 10). É igualmente de supor que a presença de ácido láctico conduza à formação de lactatos de cálcio, dado a concentração de Ca em solução ser inferior à que seria de esperar face à concentração de P encontrada. Consequentemente, o valor da relação Ca/P determinado nas soluções de incubação mantém-se sempre bastante inferior ao valor de 1,67 característico da hidroxiapatite estequiométrica (figura 9). Para valores superiores de pH, o efeito do ácido láctico na dissolução da HAp, não se distingue do efeito da presença de ácido clorídrico.

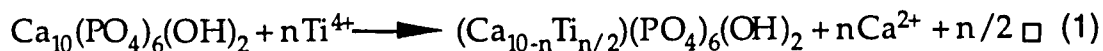
In vivo, mesmo numa situação de infecção, não será de esperar que o pH do meio fisiológico atinga os baixos valores para os quais se verificou que a presença de ácido láctico tem influência na dissolução da HAp ($\text{pH} \leq 3,2$). O valor de $\text{pH}=4,0$, constitui o limite inferior de acidez para o qual as bactérias mais vulgares nas infecções (p.ex. *staphylococcus aureus*), mantêm a capacidade de metabolizar a glucose que se encontra nos tecidos [102]. Esta situação de elevada acidez poderia simular, no entanto, o microambiente formado entre os osteoclastos e a HAp aquando do processo de reabsorção óssea. Os osteoclastos, sob a influência da hormona paratiroíde PTH, produzem ácido láctico em quantidades tais que ocorre uma descida local de pH suficiente para dissolver o material ósseo e para activar a matriz de enzimas "reabsorvedoras" [103]. Através da utilização de microelectrodos de pH, Etherington e colaboradores [100] demonstraram, em estudos realizados com culturas celulares, que os osteoclastos podem reduzir o pH, na zona de contacto com o disco de cultura, para um valor igual ou inferior a 3, em apenas alguns minutos. Os resultados obtidos nas experiências com ácido láctico sugerem que a eficácia da digestão óssea promovida pelos osteoclastos, poderá dever-se não só à capacidade de estas células desenvolverem condições de elevada acidez mas também ao tipo de ácido que produzem.

4.3. Influência dos cátions Ti, Al e V na dissolução da hidroxiapatite

Influência do cátion Ti

Relativamente à influência do cátion Ti na dissolução da HAp, os resultados obtidos experimentalmente sugerem que os mecanismos de interacção envolvidos poderão ser função da concentração de cátion metálico presente em solução.

O sólido obtido por incubação da HAp em soluções com uma concentração de cátion Ti igual ou inferior a 240 ppm, apresenta um espectro de raios X idêntico ao obtido para a HAp pura (figuras 58 a) e 60). Para uma concentração de 320 ppm de cátion Ti, ainda surgem no espectro de difracção de raios X do sólido alguns dos picos característicos da HAp, se bem que muito menos intensos. Por outro lado, os espectros de Raman para sólidos referentes a concentrações em cátion Ti iguais ou inferiores a 320 ppm, são idênticos ao obtido para a HAp pura (figura 40). Estes resultados indicam que, na gama de concentrações referida (≤ 320 ppm de cátion Ti), não ocorreu a formação de qualquer outro composto detectável por espectroscopia de Raman ou por difracção de raios X. No entanto, a análise das soluções sobrenadantes após incubação, revelou a ausência de cátion Ti, pelo que este se encontra incorporado no sólido, ou adsorvido superficialmente no mesmo, facto confirmado igualmente pela análise de energias dispersivas (figura 27), por XPS (tabela 15) e Tof-SIMS (figuras 48 e 49). Para os teores de Ti acima referidos, se bem que o efeito da presença do cátion nas concentrações de Ca em solução, não seja muito nítido (figura 15), estas são sempre ligeiramente superiores às observadas unicamente devido a um efeito de pH. Quanto à concentração de P em solução, se bem que crescente, mantém-se inferior à que seria de esperar unicamente devido a um efeito de pH. Esta análise sugere que a incorporação do cátion titânio na rede da HAp se poderá fazer por troca com o cátion Ca segundo:



em que $\square$ representa lacunas catiónicas.

A capacidade de a HAp admitir uma grande variedade de substituições iónicas na sua rede é conhecida e referida na bibliografia (ver pág. 9), se bem que não seja mencionada na mesma, a possibilidade de o Ti substituir o Ca na rede da HAp. Isto parece, no entanto, ser possível em termos dimensionais

dado o raio iónico do Ti^{4+} (0,68Å) ser inferior ao do Ca^{2+} (0,99Å). Caso esta substituição se verifique, será, no entanto de considerar a possibilidade de ocorrência de tensões electrostáticas na rede da HAp devido à diferença de cargas entre os dois catiões. Após tratamento térmico dos sólidos obtidos por incubação da HAp numa solução 0,9% de NaCl com uma concentração de 240 ppm de Ti, as fases identificadas por difracção de raios X consistem em HAp e β -TCP, facto que está de acordo com a hipótese de ocorrência de substituição de Ca pelo Ti. Ocorrendo substituição, a HAp deixaria de ser estequiométrica passando a sua razão Ca/P a ser inferior a 1,67. Consequentemente, o seu aquecimento a 1000°C, e de acordo com Rey e colaboradores [99], deveria originar uma mistura de β -TCP e HAp, o que foi verificado experimentalmente.

Um aumento dos teores de catião Ti em solução tem como consequência alterações significativas nos sólidos formados. Em presença de 400 ppm de catião Ti e para um tempo de incubação de 10 dias, a estrutura da HAp é completamente destruída e o sólido obtido apresenta-se amorfo. O respectivo espectro Raman é também distinto do da HAp, e torna-se mais complexo à medida que a concentração de Ti é aumentada. Por sua vez, a análise de difracção de raios X revelou que para teores de catião Ti superiores a 400 ppm, a fase amorfa evolui tornando-se mais cristalina (figuras 60 e 61).

Relativamente aos resultados obtidos por EDS e XPS, a sua análise isolada sugere uma possível substituição do Ca pelo Ti na rede da HAp atingindo-se aparentemente o limite da substituição para uma concentração de 500 ppm. A partir desta concentração, o Ti parece deixar de substituir o Ca e este permanece no sólido, se bem que em percentagem muito reduzida (espectros EDS). No entanto, aos valores de pH a que a presença de concentrações de Ti iguais ou superiores a 500 ppm conduzem, a HAp já deveria estar completamente dissolvida pelo que para esta gama de concentrações será aceitável considerar a ocorrência de um fenómeno de dissolução-precipitação: dissolução da hidroxiapatite seguida de precipitação do novo composto. É possível, também, que mesmo para concentrações mais baixas de catião metálico, este já seja o processo envolvido. Para teores de catião Ti iguais ou inferiores a 400 ppm, a concentração de P em solução é inferior à que seria de esperar unicamente devido a um efeito de pH, facto que suporta esta hipótese.

As espectroscopias de Raman e IV deram um contributo importante para a caracterização dos sólidos de baixa cristalinidade ricos em Ti. Contrariamente às técnicas de difracção de raios X, cuja informação para sólidos com baixa

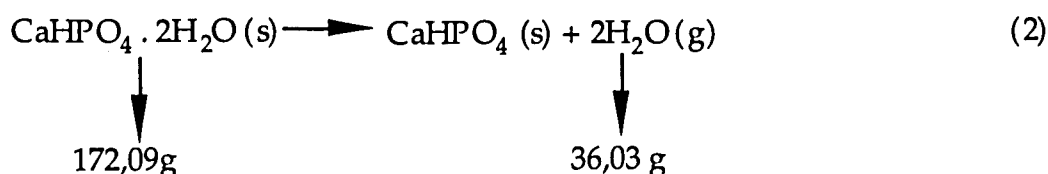
cristalinidade é muito limitada, as espectroscopias de Raman e IV, devido a serem técnicas sensíveis às massas atómicas e ao comprimento e força das ligações interatómicas, permitem obter informação sobre a composição e estrutura de materiais pouco cristalinos.

A análise de difracção de raios X identificou o composto formado a elevadas concentrações de catião Ti como sendo um hidrogenofosfato de Ti com um número indeterminado de moléculas de água: $\text{Ti}(\text{HPO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. A espectroscopia de IV confirmou igualmente tratar-se de um composto hidratado.

Relativamente à cinética de formação do novo composto, observa-se que esta é muito rápida, uma vez que após ensaios de 5 minutos, já não se detecta Ti em solução e as concentrações de Ca e P na mesma são muito próximas das verificadas para tempos de incubação mais elevados. Por sua vez, o sólido obtido apresenta um espectro de Raman completamente distinto do da HAp. Para tempos crescentes de incubação, os espectros tornam-se mais complexos, com o aparecimento de novas bandas vibracionais. O tempo de incubação influencia igualmente a cristalinidade do composto, o que se reflecte no estreitamento das bandas de Raman para tempos de incubação crescentes (figura 41), bem como nos espectros de difracção (figuras 60, 61 e 63).

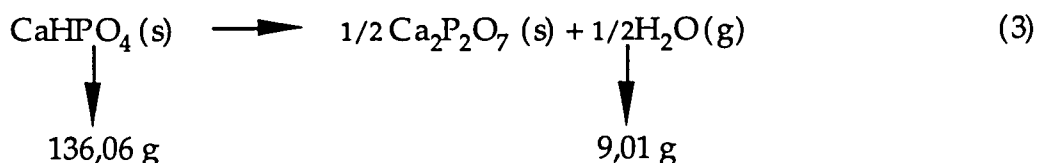
Por análise termogravimétrica, tentou-se determinar o número de moléculas de água envolvidas no hidrogenofosfato de titânio identificado por difracção de raios X. Procedeu-se igualmente à análise termogravimétrica de um composto conhecido: $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, com vista a estabelecer possíveis analogias com o composto em estudo. Começamos por analisar o termograma característico do $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (figura 51). Os fenómenos térmicos envolvidos consistem em perda de água de hidratação e, a uma temperatura próxima de 450°C , passagem a pirofosfato de cálcio:

perda de água de hidratação:



$$\Delta m(\%) = \frac{36,03}{172,09} \times 100 = 20,94\%$$

passagem a pirofosfato:



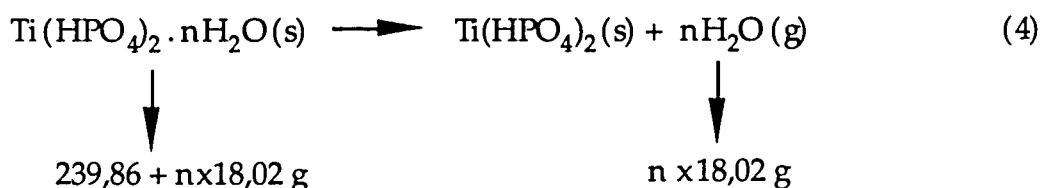
$$\Delta m(\%) = \frac{9,01}{136,06} \times 100 = 6,62\%$$

$$\text{Perda total esperada} = \frac{36,06 + 9,01}{172,09} \times 100 = 26,19\%$$

$$\text{Perda após ensaio} = 26,29\%$$

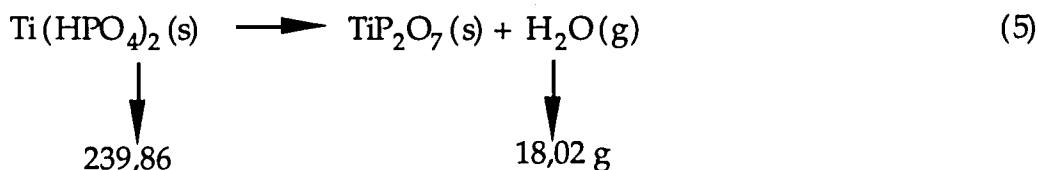
Admitindo uma decomposição semelhante do composto em estudo, ter-se-ia:

perda de água de hidratação:



$$\Delta m_{\text{hidratação}}(\%) = \frac{n \times 18,02}{239,86 + n \times 18,02} \times 100$$

passagem a pirofosfato:



$$\Delta m_{\text{pirofosfato}}(\%) = \frac{18,02}{239,86} \times 100$$

$$\Delta m_{\text{pirofosfato}}(\%) = 7,51\%$$

Os valores experimentais de perda de massa, permitem calcular n para os diferentes valores de concentração de Ti. Os valores para n são apresentados na tabela 22 sendo:

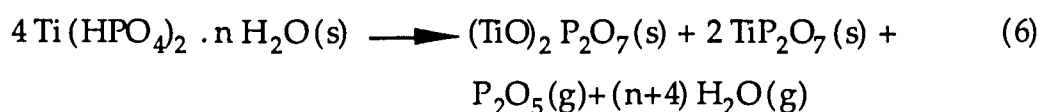
$$\Delta m = \frac{(n+1) 18,02}{239,86 + n \times 18,02} \quad \text{donde:}$$

$$n = \frac{13,31\Delta m - 1}{1 - \Delta m}$$

Tabela 23 - Número previsível de moléculas de água para cada perda média de peso observada (situação I).

Designação das amostras	$\Delta m(\%)$	n
500 ppm Ti	24,7	3,04
1000 ppm Ti	25,0	3,10
2000 ppm Ti	24,1	2,91
Mistura	25,8	3,28

No entanto, a análise por difracção de raios X do resíduo sólido obtido após análise termogravimétrica das amostras referentes a 500, 1000, e 2000 ppm de Ti, indicou a presença de três fases, nomeadamente $\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6$, $(\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7$, e TiP_2O_7 , as mesmas identificadas nas amostra sujeitas ao ciclo térmico, pelo que os fenómenos envolvidos não poderão ser unicamente os acima descritos. Na amostra designada por "mistura" (tentativa de precipitação de um fosfato de titânio a partir de hidrogenofosfato de sódio e cloreto de titânio, ver pág. 34), foram somente identificadas as fases $(\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7$ e TiP_2O_7 , dado não ter sido usado na sua preparação qualquer composto à base de cálcio. Estes resultados fazem prever que as amostras obtidas nas experiências com 500, 1000 e 2000 ppm de catião Ti sejam constituídas por duas fases: uma rica em Ca, Ti e P e uma outra rica em Ti e P (possivelmente o hidrogeno fosfato de Ti). A fase rica em Ca, não é provavelmente cristalina, dado não surgir identificada nos espectros de difracção. Estas observações estão de acordo com o facto de que quando se tentou dissolver as amostras ricas em Ti com vista à determinação da sua composição, a amostra designada por "mistura" ter sido completamente dissolvida por adição de ácido fluorídrico enquanto que nas restantes permaneceu um precipitado insolúvel, possivelmente a fase rica em Ca. Também a presença de uma segunda fase rica em Ti e P justificaria a observação de as razões elementares Ti/P obtidas por XPS para os sólidos relativos a concentrações iniciais de catião Ti de 400, 500 e 1000 ppm, serem superiores ao valor 0,50 característico do composto $\text{Ti}(\text{HPO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. Face às observações referidas a decomposição térmica do hidrogeno fosfato de titânio hidratado deverá processar-se de acordo com a seguinte equação:



perda de massa devida à libertação de P_2O_5 :

$$\frac{141,94}{959,43 + nx18,02}$$

perda de massa devida à libertação de água:

$$\frac{72,06+nx18,02}{959,43 + nx18,02}$$

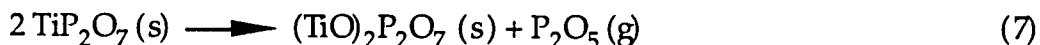
perda de massa total:

$$\Delta m = \frac{141,94+72,06+nx18,02}{959,43 + nx18,02} \quad \text{donde:}$$

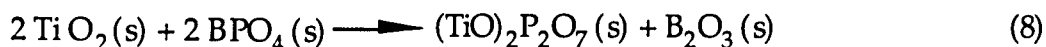
$$n = \frac{11,88-53,24\Delta m}{\Delta m-1}$$

Se bem que, em termos mássicos e de acordo com a equação acima referida, a fase TiP_2O_7 , exista em maior quantidade no resíduo sólido obtido após aquecimento ($\cong 40\%$), os seus picos principais surgem pouco resolvidos nos difractogramas, pelo que a fase apresenta baixa cristalinidade.

A presença da fase de pirofosfato de titanilo resulta da decomposição parcial do pirofosfato de titânio de acordo com:



Existem muito poucos dados bibliográficos sobre o composto pirofosfato de titanilo. Bamberger e colaboradores [104] num dos seus trabalhos referem a sua preparação por aquecimento a $1000^\circ C$ de óxido de titânio e fosfato de Boro:



Os autores verificaram igualmente ter ocorrido decomposição térmica do pirofosfato de Ti quando aquecido a $1150^\circ C$ por 24 h, dando lugar à formação de pirofosfato de titanilo.

A determinação do número de moléculas de água de hidrogenofosfato de titânio hidratado conduziu aos valores representados na tabela 23.

Face aos valores de n determinados, será de admitir que o número de moléculas de água de cristalização do composto $Ti(HPO_4)_2 \cdot nH_2O$, esteja compreendido no intervalo [1, 3], admitindo que a decomposição térmica do mesmo se processa de acordo com a equação 6.

Tabela 24 - Número previsível de moléculas de água para cada perda média de peso observada (situação II).

Designação das amostras	$\Delta_m(\%)$	n
500 ppm Ti	24,7	1,69
1000 ppm Ti	25,0	1,91
2000 ppm Ti	24,1	1,26
Mistura	25,8	2,51

Nos balanços de massas relativos às análises térmicas realizadas, pressupõe-se que a fase rica em Ca, que por aquecimento origina o composto $\text{CaTi}_4(\text{PO}_4)_6$, não é uma fase hidratada. Na realidade este pressuposto deve verificar-se, uma vez que na amostra designada por "mistura", em que não está presente a fase rica em Ca, a variação de massa é praticamente idêntica à encontrada para os sólidos obtidos por incubação da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

Influência do catião Al

A análise de difracção de raios X dos sólidos obtidos por incubação da HAp por um período de 10 dias, em soluções de 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Al, mostra que a estrutura da hidroxiapatite se mantém para todas as concentrações consideradas, se bem que para os teores mais elevados de Al (1000 e 2000 ppm) haja tendência para a destruição da rede da hidroxiapatite.

Para teores de catião metálico iguais ou inferiores a 500 ppm, não se encontra catião Al em solução após incubação, sendo de admitir que o mesmo tenha sido incorporado na rede da hidroxiapatite, sem provocar, no entanto, a destruição da sua estrutura (solução sólida).

A presença de Al tem um efeito muito significativo no aumento da concentração de Ca e P em solução, efeito este claramente distinto do provocado por uma diminuição de pH do meio de incubação, como se pode ver na figura 19. Esta observação, aliada ao facto de se ter verificado a existência de uma relação aproximadamente linear entre a concentração de catião Al adicionado e a concentração de Ca em solução, leva a admitir a possibilidade de o Al substituir o Ca na rede de hidroxiapatite. Por sua vez a concentração de P mantém-se relativamente estável na gama de concentrações considerada,

aumentando significativamente para teores crescentes de Al, provocando razões Ca/P no líquido sobrenadante elevadas. Essa substituição é suportada pelos espectros de EDS, em que a um aumento da razão Al/P nos sólidos está associada uma diminuição da razão Ca/P nos mesmos (figura 32).

Verifica-se igualmente que, para as concentrações mais elevadas (1000 e 2000 ppm), o Al se encontra presente em solução, após incubação, em concentrações respectivamente de 121,2 ppm e 1810 ppm. Uma hipótese explicativa para esta observação, e dada a tendência que o catião Al apresenta para formar hidroxocomplexos poliméricos, é que, para os teores de catião metálico envolvidos, as condições sejam favoráveis à precipitação de compostos do tipo dos identificados por difracção de raios X, nos sólidos referentes à concentração inicial de 2000 ppm de Al e um tempo de incubação de 60 dias. Esta hipótese explicaria igualmente o facto de se verificar uma diminuição do pH em solução após ensaio para estas duas concentrações, dado a formação do composto conduzir ao consumo de iões hidroxilo. A concentração deste(s) composto(s) deverá, no entanto, ser inferior a 5%, dado a sua presença não ser detectada nos respectivos difractogramas, sendo unicamente assinalado o seu pico mais intenso nos radiogramas.

O(s) composto(s) em causa deverão consistir num precipitado muito fino cuja separação não foi possível efectuar na totalidade por centrifugação, pelo que as soluções mais concentradas em Al se apresentaram turvas (especialmente a de 2000 ppm). Este facto explicaria a diminuição da razão Ca/P no líquido sobrenadante para esta gama de concentrações. A razão Ca/P diminui porque se mantém na solução uma fase sólida rica em fosfato, que após ataque ácido é dissolvida, provocando um aumento da concentração de iões fosfato em solução. Também o facto de nas amostras referentes a uma concentração inicial de 2000 ppm de Al surgir evidenciada, por EDS, a existência de zonas com composições distintas, nomeadamente zonas muito ricas em Ca, Al, P e O e zonas em que a concentração de Ca foi drasticamente reduzida e a razão Al/P incrementada, sugere igualmente, que para esta concentração e para um tempo de incubação de 10 dias, já ocorreu formação da fase de hidróxifosfato de alumínio. Uma vez que, nestas amostras, foi detectado cloro em quantidades superiores ao que seria de esperar se a sua presença se devesse unicamente a uma contaminação pelo soluto, é possível que também a fase rica em cloro igualmente detectada para uma concentração de 2000 ppm se encontre já presente no sólido para um tempo de incubação de 10 dias.

A espectroscopia de Raman dos sólidos não se mostrou sensível à

presença destes compostos, possivelmente por os seus teores serem muito reduzidos, para um tempo de incubação de 10 dias.

Os resultados da análise termogravimétrica indicam que, para uma concentração de 500 ppm de Al, já se forma uma fase hidratada, dado a perda média em massa verificada ser de 15,6%, valor superior ao observado para a HAp pura (6%). Para teores superiores de catião metálico em solução, a percentagem de fase(s) hidratada(s) no sólido aumenta, sendo, no entanto, a perda de massa muito semelhante para as concentrações de 1000 e 2000 ppm.

Se bem que seja objecto de alguma polémica, a presença de Al no organismo tem sido associada a distúrbios do foro neurológico, bem como a doenças ósseas, nomeadamente a osteoporose. Os pacientes submetidos a hemodiálise por longos períodos de tempo constituem um grupo de alto risco quanto à acumulação do metal. Estes pacientes desenvolvem frequentemente estados de hipocalcémia e hiperfosfatémia. Para combater a hiperfosfatémia, eram-lhes administrados oralmente fármacos ricos em alumínio (geis de alumínio), por forma a diminuir a assimilação de fosfato proveniente da alimentação. Em consequência disto e do uso de água não desmineralizada nos rins artificiais, os pacientes podem desenvolver um tipo característico de demência e de doenças ósseas. Tem-se demonstrado por várias técnicas experimentais que o Al é acumulado na interface osteoide-osso calcificado, sendo sugerido por vários autores [57, 58, 105] que a presença de Al está associado o surgimento de osteoporose.

Posner e Blumenthal [105] mostraram que o cloreto de alumínio atrasa a formação do mineral de fosfato de cálcio a partir de uma solução supersaturada e a transformação de fosfato de cálcio amorfo em HAp, para além de inibir o crescimento de cristais de HAp e provocar sólidos pouco cristalizados.

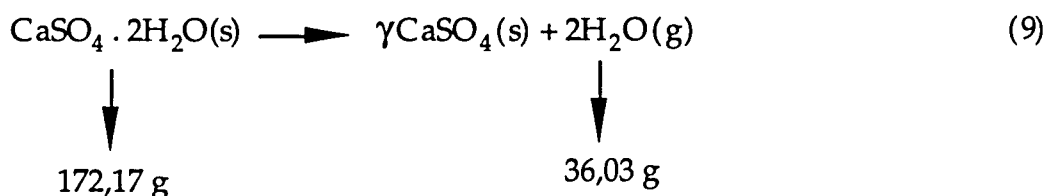
O mecanismo de actuação do Al nos processos de formação óssea não está ainda devidamente esclarecido. Christoffersen e colaboradores [57, 58] sugerem a possibilidade de o Al *in vivo* ser adsorvido nos cristais de osso, retardando a sua dissolução.

Os resultados obtidos neste trabalho, se bem que referentes a condições experimentais completamente distintas das utilizadas por Christoffersen e colaboradores [57, 58] dado os objectivos visados serem diferentes, indicam igualmente que, até determinados limites de concentração, o Al é incorporado na HAp. Esta incorporação ocorre, no entanto, com aumento da concentração

de Ca e P em solução, ou seja, com aumento da dissolução da HAp. O efeito do Al na dissolução da HAp é, portanto, função de factores como concentração de catião metálico e pH do meio. Numa situação de libertação de catião metálico como consequência da ocorrência de fenómenos de corrosão, os resultados obtidos sugerem que o Al promoverá um aumento e não inibição da dissolução da HAp.

Influência do catião V

Como foi referido no subcapítulo 2.1., as adições de catião V foram feitas a partir de uma solução de sulfato de vanádio. Consequentemente, a presença de anião sulfato conduziu à formação de sulfato de cálcio, cuja presença foi detectada por difracção de raios X nos sólidos obtidos por incubação de hidroxiapatite em soluções com concentrações de vanádio de 400, 500 e 1000 ppm. Para uma concentração de 2000 ppm, só este composto foi identificado. O termograma obtido para estas amostras corresponde à decomposição térmica do sulfato de cálcio hidratado, sendo as perdas mássicas observadas atribuíveis à perda de água de cristalização do composto, de acordo com a equação:



Perda total esperada:

$$\begin{aligned}
 \Delta m_{\text{hidratação}}(\%) &= \frac{36,03}{172,17} \times 100 \\
 &= 20,93\%
 \end{aligned}$$

Perda após ensaio: 22,3%

A análise por EDS indicou igualmente a presença de enxofre nos sólidos, tendo sido observados cristais de sulfato de cálcio para as adições mais elevadas de vanádio. Estas observações justificam o facto de, para amostras referentes a teores de V iguais ou superiores a 1000 ppm, a presença de catião metálico provocar uma diminuição da concentração de Ca em solução face à que seria de esperar devido unicamente a um efeito de pH.

Relativamente à concentração de fósforo, para uma concentração inicial de 1000 ppm de V, verifica-se igualmente um decréscimo significativo da sua concentração em solução quando comparada com a obtida para soluções de incubação com igual pH mas em que o catião metálico está ausente. Isto deve-se ao facto de, para esta concentração, o sólido já conter a fase de fosfato de vanadilo, identificada por difracção de raios X e igualmente presente para uma concentração de 400 e 500 ppm.

4.4. Observações globais

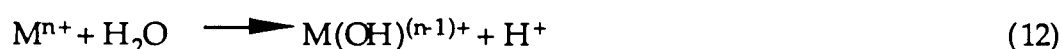
Os materiais metálicos usados em implantologia, em que se inclui o Ti e a liga Ti-6Al-4V, são capazes de passivar no meio fisiológico, através da formação de filmes finos, submicroscópicos e protectores, que estabelecem a resistência à corrosão destes materiais. Se bem que os filmes passivos tenham a propriedade de se autoregenerarem, a sua destruição local, devido a efeitos mecânicos ou electroquímicos, pode iniciar um processo de corrosão, com a consequente libertação de catiões metálicos para o organismo. Como foi referido na síntese teórica, os níveis de metais em tecidos envolvendo implantes podem atingir valores bastante elevados (tabela 1). A libertação de quantidades tão significativas de elementos metálicos pode relacionar-se com o facto de, na altura da implantação, existirem poros e defeitos à superfície do implante, cujo crescimento é favorecido pelo efeito combinado de carga e fluídos fisiológicos corrosivos (soluções salinas oxigenadas). No interior dos poros haverá tendência para acidificação como resultado da hidrólise de iões metálicos, podendo localmente o pH atingir valores muito reduzidos (p.ex. no caso do aço inoxidável, o pH no interior de um poro pode atingir o valor de zero).

No caso de próteses metálicas revestidas com HAp, a corrosão do substrato poderá afectar a integridade do revestimento. Nos revestimentos obtidos por projecção por plasma, a interface com o metal é uma área crítica de cuja estabilidade depende o comportamento do implante. Um revestimento obtido por este método não é 100% denso, permanecendo nele poros interfaciais. Estes poros têm a configuração de fendas, nas quais a concentração de oxigénio pode ser diminuída e, portanto, se podem desenvolver condições de acidez. Inicialmente, a oxidação do metal (equação 10) e a redução do oxigénio (equação 11) dão-se uniformemente em toda a superfície, incluindo a região do interstício.





Na superfície livre do metal, o oxigénio consumido, é rapidamente substituído por oxigénio vindo do seio do líquido. No interstício, a substituição é porém mais lenta, devido à dificuldade de difusão e a concentração de O_2 diminui. Consequentemente, diminui a redução de oxigénio, se bem que a dissolução do metal continue a ocorrer, o que tende a produzir um excesso de carga positiva na solução. Por sua vez, iões Cl^- migram para o interstício, de modo a neutralizarem electricamente a carga positiva surgida em consequência da dissolução do metal. Os iões M^{n+} hidrolizam-se de acordo com:

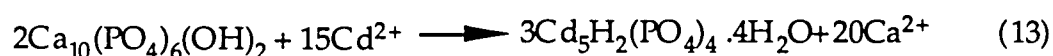


pelo que o pH no interior do poro baixa.

Uma vez que a dissolução da hidroxiapatite é função da acidez do meio, a estabilidade interfacial entre o substrato metálico e o revestimento cerâmico pode ser fortemente comprometida devido a um aumento da porosidade. Para além disso, os iões metálicos resultantes da corrosão do substrato podem influenciar o comportamento de dissolução da hidroxiapatite pondo em risco a sua eficácia como promotora da ligação entre o osso e o implante.

Como foi referido na introdução, um dos principais objectivos deste trabalho foi contribuir para o esclarecimento da forma como os iões titânio, alumínio e vanádio, interactuam com a hidroxiapatite. Tem sido sugerido na bibliografia [59, 106, 107] que a bioactividade dos revestimentos de HAp se deve, em parte, ao facto de estes se comportarem como barreira física à passagem dos catiões metálicos para os fluídos fisiológicos, reduzindo-se assim o possível efeito adverso dos produtos de dissolução do substrato metálico. No entanto, estudos realizados por Ducheyne e colaboradores, mostraram que, no caso de próteses de liga Ti-6Al-4V revestidas com HAp, embora o revestimento tenha um efeito importante em promover a ligação interfacial [108], ao mesmo tempo provoca a libertação de maiores concentrações de alumínio [109]. Os resultados obtidos neste trabalho, indicam que os catiões Ti, Al e V interferem com a dissolução da HAp e, dependendo da concentração em que se encontram, poderão ser incorporados na sua rede sem destruição da mesma ou poderão formar novos fosfatos metálicos à custa da sua dissolução. Estas observações alertam para o facto de os catiões metálicos libertados das próteses ortopédicas poderem influenciar a mineralização óssea, comprometendo consequentemente a osteointegração do implante. A capacidade da HAp

incorporar na sua rede catiões metálicos tem sido relacionada com o surgimento de patologias ósseas, como foi referido para o caso do Al. Baseado nesta propriedade da HAp, Aoki [110] propôs a hipótese de a doença surgida no Japão há 30 anos e denominada "itai-itai", se relacionar com a incorporação de iões Cd na HAp dos tecidos ósseos. Esta doença surgiu como resultado de poluição, provocando por vezes a morte dos pacientes. Segundo o autor, os iões Cd eram adsorvidos no osso, provocando infecção, bem como necrose dos tecidos, e impedindo o posterior crescimento do tecido ósseo. Em experiências realizadas *in-vitro*, Aoki verificou que os iões Cd trocavam rapidamente com os iões Ca da HAp com a consequente formação de fosfato de cádmio, de acordo com a reacção:



Por sua vez, os resultados obtidos neste trabalho fazem igualmente prever que a HAp, quando usada sob a forma de revestimento, evitará a passagem de catiões metálicos resultantes da corrosão do substrato metálico para o meio fisiológico. Dado, no entanto, a HAp ser um fosfato degradável, é possível que, a longo prazo, os elementos metálicos nela retidos possam ser fagocitados, com as consequências que daí advêm.

O facto de a HAp admitir uma grande variedade de substituições iónicas [41, 43, 44] em extensões variáveis pode conduzir a alterações significativas no seu desempenho como material de implante, nomeadamente no que diz respeito à sua biocompatibilidade, tipo de ligações com os tecidos envolventes, estabilidade no meio fisiológico e compatibilidade mecânica. Uma vez que a solubilidade dos fosfatos de cálcio depende da presença e proporção de iões estranhos na sua estrutura, alterando a composição e o método de síntese, será possível obter fosfatos com diferentes velocidades de reabsorção. Desta forma seria viável adequar a velocidade de reabsorção dos implantes, à velocidade de formação de novo osso. É nesta perspectiva que o estudo dos compostos encontrados neste trabalho, nomeadamente os de titânio, se torna potencialmente interessante no campo da implantologia.

V. CONCLUSÕES

Seguidamente são apresentadas as principais conclusões retiradas deste trabalho de dissertação.

- A hidroxiapatite apresenta um comportamento de dissolução incongruente conduzindo a razões Ca/P em solução variáveis.

- A extensão da dissolução da hidroxiapatite é função da concentração e tipo de ácido presente no meio de incubação.

- A presença de ácido láctico conduz a um aumento da dissolução da hidroxiapatite, para concentrações a que corresponde um pH inicial em solução igual ou inferior a 3,2.

- A adição de catião Ti à hidroxiapatite provoca a destruição da sua estrutura a partir de concentrações próximas de 400 ppm.

- Para valores inferiores de concentração, o catião metálico Ti é incorporado na hidroxiapatite sem que tenha sido identificada a formação de um novo composto.

- Para teores iguais ou superiores a 400 ppm em solução, ocorre a formação de hidrogenofosfato de titânio hidratado, $\text{Ti}(\text{HPO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$, $n=1-3$.

- A formação e cristalinidade da nova fase são função da temperatura e do tempo de incubação. O referido fosfato apresenta uma cinética de formação muito rápida, contrariamente à sua cinética de cristalização que é bastante lenta, para a temperatura de incubação de 37°C. Por sua vez, um aumento da temperatura de incubação promove o aumento da cristalinidade do composto.

- Dado tratar-se de um composto hidratado, o seu aquecimento a 250°C conduz a perda de água de cristalização com a consequente transformação em fosfato anidro amorfo. O aquecimento a uma temperatura mais elevada (1000°C) provoca a sua decomposição em TiP_2O_7 e $(\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7$.

- A presença de catião Al tem um efeito muito significativo no aumento da dissolução da hidroxiapatite, efeito este claramente distinto do provocado por uma diminuição de pH do meio de incubação. Verificou-se, igualmente, existir uma relação aproximadamente linear entre a concentração de catião Al adicionada e a concentração de Ca em solução. Estas duas observações levam a admitir a hipótese de o Al substituir o Ca na rede da hidroxiapatite.

- A hidroxiapatite, quando incubada por um período de 10 dias em soluções com diferentes concentrações de catião Al, mantém a sua estrutura, se bem que, para os teores mais elevados de catião metálico (1000 e 2000 ppm), se obtivesse evidência de destruição da rede cristalina da hidroxiapatite.

- Com o aumento do tempo de incubação para 60 dias e para uma concentração de catião Al de 2000 ppm, a análise por difracção de raios X permitiu identificar a presença de hidróxido fosfato de alumínio hidratado, $\text{Al}_{11}(\text{PO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 38\text{H}_2\text{O}$, de baixa cristalinidade, nos sólidos formados, podendo ainda admitir-se a presença da fase $\text{Al}_6\text{Cl}_3(\text{OH})_{15} \cdot 9\text{H}_2\text{O}$. É no entanto possível que a fase $\text{Al}_{11}(\text{PO}_4)(\text{OH})_6 \cdot 38\text{H}_2\text{O}$ já se encontre presente no sólido para o período de incubação de 10 dias.

- Relativamente à adição de catião V à hidroxiapatite, para um tempo de incubação de 10 dias e para uma concentração em solução de 200 ppm, a hidroxiapatite é a única fase identificada no sólido.

- Para valores superiores de concentração (400 e 500 ppm), surgem, para além da hidroxiapatite, duas novas fases, nomeadamente sulfato de cálcio hidratado, $\text{CaSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (consequência da adição do catião V se fazer a partir de uma solução de sulfato de vanadilo) e fosfato de vanadilo hidratado, $\text{VOPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

- Para uma concentração de 1000 ppm de V, a hidroxiapatite deixa de estar presente, sendo o sólido essencialmente constituído por fosfato de vanadilo e

sulfato de cálcio hidratados.

- Para 2000 ppm de V, a única fase existente é a de sulfato de cálcio muito bem cristalizado. O aumento do tempo de incubação de 10 dias para 60 dias, parece não introduzir alteração nas fases presentes.

Este trabalho permitiu contribuir para a elucidação da forma como os cátions Ti(IV), Al(III) e V(IV), libertados de próteses ortopédicas, poderão interagir com a hidroxiapatite. Os resultados obtidos permitem concluir que os cátions Ti, Al e V interferem com a dissolução da hidroxiapatite e, dependendo da concentração em que se encontram, poderão ser incorporados na sua rede sem destruição da mesma, ou poderão formar novos fosfatos metálicos à custa da sua dissolução. Estas observações fazem prever que os cátions metálicos libertados das próteses ortopédicas poderão influenciar a mineralização óssea, comprometendo a osteointegração do implante e, no caso de próteses revestidas, poderão afectar a estabilidade da interface substrato metálico-revestimento.

VI SUGESTÕES PARA TRABALHO FUTURO

Como trabalho futuro seria interessante investigar a influência de outros cátions metálicos na dissolução da hidroxiapatite, nomeadamente os cátions Fe, Cr, Ni, Co e Mo, igualmente passíveis de serem libertados de próteses ou substratos metálicos usados em implantologia.

Como foi referido na síntese teórica, os fosfatos de cálcio, quando usados como revestimento, promovem uma rápida ligação química entre o osso e o implante. No entanto, a sua eficácia pode ser comprometida devido à ocorrência de dissolução e falhas de adesão na interface revestimento-substrato. Por forma a evitar estes problemas, a utilização de hidroxiapatite dopada com iões metálicos, bem como a utilização de fosfatos metálicos, poderá constituir uma alternativa interessante à utilização de fosfatos de cálcio dado se tratar de compostos que poderão ter alguma afinidade química para a superfície do implante. Daí se sugerir como trabalho futuro o estudo das propriedades destes compostos, nomeadamente, a avaliação da sua compatibilidade biológica, com vista à sua possível utilização no campo dos biomateriais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Definitions in Biomaterials, Ed. D. F. Williams, Progress in Biomedical Engineering, 4, (Proceedings of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986).
- [2] Hench, L. L., Ethridge, E. C., Biomaterials-An Interfacial Approach, Academic Press, 1982.
- [3] Brunski, J. B., Hipp, J. A., Cochran, G. V. B., "The Influence of Biomechanical Factors at the Tissue Biomaterial Interface", Biomedical Materials and Devices, Vol. 110, Eds. Hanker, J. S., Giammara, B. L., Materials Research Society Symposium Proceedings, 1987.
- [4] Black, J., Orthopaedic Biomaterials in Research and Practice, Churchill Livingstone Inc., 1988.
- [5] Barbosa, M. A., "The Pitting Resistance of AISI 316 L Stainless Steel Passivated in Diluted Nitric Acid", Corrosion Sci., 23, 1983, 1293-1305.
- [6] Sousa, S. R., Barbosa, M. A., "Electrochemistry of AISI 316L Stainless Steel in Calcium Phosphate and Protein Solution", J. Mater. Sci.: Mater. in Med., 2, 1991, 19-26.
- [7] Sousa, S. R., Barbosa, M. A., "Corrosion Resistance of Titanium CP in Saline Physiological Solutions with Calcium Phosphate and Proteins", Clinical Materials, 14, 1993, 287-294.
- [8] Solar, R. J., Pollack, S. R., Korostoff, E., "In vitro Corrosion Testing of Titanium Surgical Implant Alloys: An Approach to Understanding Titanium Release from Implants", J. Biomed. Mater. Res., 13, 1979, 217-250.
- [9] Brown, S. A., Merritt, K., "Corrosion of Plates and Screws: An in Vitro Test Method", Corrosion and Degradation of Implant Materials, Eds. A. Fraker, C. Griffin, ASTM STP 859, 1985, 105-115.
- [10] Williams, R. L., Brown, S. A., Merritt, K., "Electrochemical Studies on the Influence of Proteins on the Corrosion of Implant Materials", Biomaterials, 9, 1988, 181-186.
- [11] Brown, S. A., Hughes, P., J., Merritt, K., "In Vitro Studies of Fretting Corrosion of Orthopedic Materials", J. Orthop. Res., 6, 1988, 572-579.

- [12] Meachim, Williams, D.F., "Changes in Nonosseous Tissue Adjacent to Titanium Implants", *J. Biomed. Mater. Res.*, 7, 1973, 555-572.
- [13] Brown, S. A., Merritt, K., Farnsworth, L. J., Crowe, T. D., "Biological Significance of Metal Ion Release", *Quantitative Characterization and Performance of Porous Implants for Hard Tissue Applications*, ASTM STP 953, Ed. J. E. Lemons, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1987, 163-181.
- [14] Brown, S. A., Merritt, K., Farnsworth, L. J., Crowe, T. D., "In Vitro and In Vivo Metal Ion Release", *J. Biomed. Mat. Res.*, 22, 1988, 321-338.
- [15] Merritt, K., Brown, S. A., Sharkey, N. A., "Blood Distribution of Nickel, Cobalt, and Chromium Following Intramuscular Injection into Hamsters", *J. Biomed. Mat. Res.*, 18, 1984, 991-1004.
- [16] Merritt, K., Brown, S. A., Sharkey, N. A., "The Binding of Metal Salts and Corrosion Products to Cells and Proteins in vitro", *J. Biomed. Mat. Res.*, 18, 1984, 1005-1015.
- [17] Black, J., "Systemic Effects of Biomaterials", *Biomaterials*, 5, 1984, 11-18.
- [18] Merritt, K., Brown, S. A., "Biological Effects of Corrosion Products from Metals", *Corrosion and Degradation of Implant Materials*, second symposium, ASTM STP 859, Eds. A. C. Fraker e C. D. Griffin, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1985, 195-207.
- [19] Bravo, I., Carvalho, G. S., Barbosa, M. A., Sousa, M., "Differential Effects of eight Metal Ions on Lymphocyte Differentiation Antigens in vitro", *J. Biomed. Mater. Res.*, 24, 1990, 1059-1068.
- [20] Pohler, O.E.M., "Degradation of Metallic Orthopedic Implants", *Biomaterials in Reconstructive Surgery*, Ed. L. R. Rubin, The C.V. Mosby Company, 1983.
- [21] *Environmental Chemistry of the Elements*, Ed. H. J. M. Bowen, Academic Press Inc., London, 1979.
- [22] Woodman, J. L., Jacobs, J. J., Galante, J. O., Urban, R. M., "Metal Ion Release from Titanium-Based Prosthetic Segmental Replacements of Long Bones in Baboons: A Long-Term Study", *J. Orthop. Res.*, 1, 1984, 421-430.
- [23] Koeneman, J., Lemons, J., Ducheyne, P., Lacefield, W., Magee, F., Calahan, Kay, J., "Workshop on Characterization of Calcium Phosphate Materials", *J. Applied Biomaterials*, 1, 1990, 79-90.
- [24] Heughebaert, J. C., Heughebaert, M., Roux, P., Bonel, G., "Biocéramiques à Base de Phosphate de Calcium", *Proceedings Congresso SFC 84*, Setembro, 1984, 528-531.

- [25] Lacout, J. L., Assarane, J., Trombe, J. C., "Chimie de L'état Solide - Sur la Fixation du Titane par les Minerals Phosphatés", C.R. Acad. Sc. Paris, Vol. 298, Série II, 5, 1984, 173-175.
- [26] De Groot, K., "Bioceramics Consisting of Calcium Phosphate Salts", *Biomaterials*, 1, 1980, 47-50.
- [27] Driessens, F. C. M., "Physiology of Hard Tissues in Comparison with the Solubility of Synthetic Calcium Phosphates", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 131-136.
- [28] Lemons, J. E. , "Significance of the Porosity and Physical Chemistry of Calcium Phosphate Ceramics: Orthopedic Uses", *Bioceramics: Material Characteristics versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 278-283.
- [29] Heughebaert, J. C., Bonel, G, "Composition, Structures and Properties of Calcium Phosphates of Biological Interest", *Biological and Biomechanical Performance of Biomaterials*, Eds. Christel, P., Meunier, A., Lee, A. J. C., Elsevier, 1986, 9-14.
- [30] Hench, L. L., Wilson, J., "Bioactive Materials", Vol. 55, Eds. Williams, J. M., Nichols, M. F., Zingg, W., *Materials Research Society Symposia Proceedings*, 1986, 65-75.
- [31] Le Geros, R. Z., Parsons, J. R., Daculsi, G., Driessens, F., Lee, D., Liu, S.T. Metsger, S., Peterson, D., Walker, M., "Significance of Porosity and Physical Chemistry of Calcium Phosphate Ceramics: Biodegradation-Bioresorption", *Bioceramics: Materials Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 268- 273.
- [32] Rey, Christian, "Calcium Phosphate Biomaterials and Bone Mineral. Differences in Composition, Structures and Properties", *Biomaterials*, 11, 1990, 13-15.
- [33] Klein, C. P. A. T., Driessen, A. A., De Groot, K, Hoof, Van Den, "Biodegradation Behavior of Various Calcium Phosphate Materials in Bone Tissue", *J. Biomed. Mat. Res.*, 17, 1983, 769-784.
- [34] Hench, L. L., "The Processing of Bioceramics", *Proceedings of the 3rd CIMTEC*, Rimini, May, 1976, 27-31.
- [35] Parsons, J. R., Ricci, J. L., Alexander, H., "Osteoconductive Composite Grouts for Orthopedic Use", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 190-207.

- [36] Heimke, G., Griss, P., "Tissue Interactions to Bone Replacement Materials", *Bioceramics of Calcium Phosphate*, Ed. De Groot, K., CRC Press Inc., 1983, 79-98.
- [37] De Groot, K., "Effect of Porosity and Physicochemical Properties on the Stability, Resorption, and Strength of Calcium Phosphate Ceramics", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 227-233.
- [38] Van Blitterswijk, C. A., Grote, J. J., De Groot, K., Daems, W. T., Kuypers, W., "The Biological Performance of Calcium Phosphate Ceramics in an Infected Implantation site: Part I", *J. of Biomed. Mat. Res.*, 20, 1986, 989-994.
- [39] Christel, P., Meunier, A., Dorlot, J. M., Crolet, J. M., Witvoet, J., Sedel, L., Boutin, P., "Biomechanical Compatibility and Design of Ceramic Implants for Orthopedic Surgery", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 234-255.
- [40] Heughebaert, J. C., "Biocéramiques Constitués de Phosphates de Calcium", *Silicates Industriels*, 3-4, 1988, 37-41.
- [41] Raemdonck, W. Van, Ducheyne, P., Meester, P., "Calcium Phosphate Ceramics", *Metal and Ceramic Biomaterials*, Vol 2, Ed. Ducheyne, P., Hastings, G. H., CRC Press, 1984, 143-166.
- [42] JCPDS - PDF (Fichas de Difracción de raios X).
- [43] G., Montel, Coll. Intern., CNRS, Paris, 230, 1975, 13-17.
- [44] Yamashita, K., Kanazawa, T., *Inorganic Phosphate Materials*, *Materials Science Monographs*, 52, Ed. Kanazawa T., Elsevier, 1989, 15-54.
- [45] Freche, M., Tese de Doutorado apresentada no Inst. Nac. Politécnico de Toulouse, 1989.
- [46] Bonfield, W., Lacefield, W., Clark, T., Kelly, B. S., Kelman, D., Lee, R., Page D., Renz, E., Soltész, U., Tolbert, J., Wolfhart D., "Biomechanical Stability and Design: Strength", *Bioceramics: Material Characteristics Versus in Vivo Behaviour*, Vol. 523, Eds. Ducheyne, P., Lemons, J., *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1988, 287-291.
- [47] Ducheyne, P., Radin, S., Cuckler, J. M., "Bioactive Ceramic Coatings on Metal: Structure-Property Relationships of Surfaces and Interfaces", *Bioceramics, Proceedings of 1st International Bioceramic Symposium*, Eds. Oonishi, H., Aoki, H., Saevai, K. Ishiyaku, Euro América, Inc., 1989, 365-374.

- [48] Lemons, J. E., "Hydroxyapatite Coatings", Clin. Orthop. Rel. Res., 235, 1988, 220-223.
- [49] Sahay, V., Lare, P. J., Hahn, H., "Physical and Mechanical Characterization of Porous Coatings for Medical and Dental Devices", Thermal Spray Research and Applications, Proceedings of the Third National Thermal Spray Conference, Long Beach, C. A, USA, 20-25 May, 1990, 425-430.
- [50] Saha, S., "Ceramics for Orthopaedic and Dental Applications", IEEE Engineering in Medicine and Biology Magazine, 1989, 37-39.
- [51] Yankee, S. J., Pletka, B. J., Luckey, H. A., Johnson, W. A., "Process for Fabrication Hydroxylapatite Coatings for Biomedical Applications", Thermal Spray Research and Applications, Proceedings of the Third National Thermal Spray Conference, Long Beach, C. A, USA, 20-25, May, 1990, 433-438.
- [52] Geesink, R. G. T. , De Groot, K., Klein, C. P. A. T., "Chemical Implant Fixation Using Hydroxyl-Apatite Coatings - The Development of a Human Total Hip Prosthesis for Chemical Fixation to Bone Using Hydroxyl-Apatite Coatings on Titanium Substrates", Clin. Orthop. Rel. Res., 225, 1987, 147-170.
- [53] Bernache Assolant, D., Biomaterials Degradation - Fundamental Aspects and Related Clinical Phenomena, Ed. M. A. Barbosa, E-MRS-Monographs, Vol. 1, 1991, 111-167.
- [54] Brown, S. A., "The Medical-Physiological Potencial of Plasma-Sprayed Ceramic Coatings", Thin Solid Films, 119, 1984, 127-139
- [55] Andress, D. L., Maloney, N. A., Endres, D. B., Sherrard, D. J., "Aluminum-Associated Bone Disease in Chronic Renal Failure: high prevalence in a long-term Dialysis Population", J. Bone Mineral Res, 1, 1986, 391-398.
- [56] Posner, A. S., Blumenthal, N. C., Boskey, A. L., "Model of Aluminum-induced Osteomalacia: Inhibition of Apatite Formation and Growth", Kidney International, 29, 1986, 17-19.
- [57] Christoffersen, M.R., Christoffersen, J., "The effect of Aluminum on the rate of Dissolution of Calcium Hydroxyapatite - A contribution to the understanding of Aluminum-Induced Bone Diseases", Calcif. Tissue Int., 37, 1985, 673-676.
- [58] Christoffersen, M. R., Thyregod, H. C., Christoffersen, J., "Effects of Aluminum(III), Chromium(III), and Iron(III) on the Rate of Dissolution of Calcium Hydroxyapatite Crystals in the Absence and Presence of Chelating Agent Desferrioxamine", J. Calcif. Tissue Int., 41, 1987, 27-30.
- [59] Blumenthal, N. C., Cosma, V., "Inhibition of Apatite Formation by Titanium and Vanadium ions", J. Biomed. Mater. Res., 23, 1989, 13-22.

- [60] Gerber, H., Perren, S. M., Evaluation of Biomaterials, Wiley-Chichester, England, 1980, 307-314.
- [61] Aluminum Accumulation in Patients with Chronic Renal Failure: Monitoring, Diagnosis and Treatment, Ed. D'Haese, P. C., E & Dstudio, Amsterdam/Antwerpen, 1988.
- [62] Christian, G. D., "Medicine, Trace Elements and Atomic Absorption Spectroscopy", Analytical Chemistry, 41, January, 1969, 24-40.
- [63] Athanasopoulos, N., "Flame Methods Manual for Atomic Absorption", GBC Scientific Equipment PTY LTD, 1993.
- [64] Denney, R.C., Sinclair, R., Visible and Ultraviolet Spectroscopy, Analytical Chemistry by Open Learning, Ed. David Mowthorpe, Thames Polytechnic, London, John Wiley & Sons, 1991.
- [65] Sá, C., "Curso de Introdução à Microscopia Electrónica de Varrimento e Microanálise por Raios X", CEMUP, 1993.
- [66] Bertoluzza, A., Fagnano, C., Monti, P., Simoni, R., Tinti, A., Tosi, M. R., Caramazza, R., "Raman Spectroscopy in the study of Biocompatibility", Clinical Materials, 9, 1992, 49-68.
- [67] Walters, M. A, Leung, Y. C., Blumenthal, N. C., Legeros, R Z., "A Raman and Infrared Spectroscopic Investigation of Biological Hydroxyapatite", J. Inorg. Biochem., 39, 1990, 193-200.
- [68] Willard, H. H., Merrit, L. L., Dean, J. A., Settle, F. A., "Instrumental Methods of Analysis", Wadsworth Publishing Company, Belmont, California, 1988.
- [69] Harris, P. G., Trigg, A. D., "Surface Analysis Techniques and their Application to Materials Characterization", Materials and Design, 9, May/June, 1988.
- [70] Ratner, B. D., Johnston A. B., Lenk, T. J., "Biomaterial Surfaces", J. Biomed. Mater. Res., 21, 1987, 59-90.
- [71] Ratner, B.D., "Characterization of Biomaterial Surfaces", Cardiovasc. Pathol., 2, 1993, 87-100.
- [72] Ratner, B. D., "The Surface Characterization of Biomedical Materials: How finely can we resolve Surface Structure?", Surface Characterization of Biomaterials, Ed. B. D. Ratner, Elsevier, 1988, 13-36.
- [73] Arkens, O., Ducheyne, P., "Methods for the Structural Determination of Metals and Ceramics", Metal and Ceramic Biomaterials, Vol I, Ed. Ducheyne, P., Hastings, G. H., CRC Press, 1984, 63-78.
- [74] Sykes, D.E., "Secondary Ion Mass Spectrometry", publicação interna de Loughborough University of Technology, Department of Physics, 1986.

- [75] E Douglas A. Skoog, Principles of Instrumental Analysis, Saunders College Publishing, 1985.
- [76] Formoso, M. L. L., "Diffractometria de Raios X", Técnicas Analíticas Instrumentais Aplicadas à Geologia, Cap. I, Ed. Gomes C.B., Edgard Blucherl, São Paulo, 1984, 2-42.
- [77] APHA/ AWWA/ WPCF, "Standard Methods for the examination of water and wastewater", 16 th edition, APHA Washington DC, 1985.
- [78] Levinskas, G. J., Neuman, W. F., "The Solubility of Bone Mineral - I. Solubility Studies of Synthetic Hydroxylapatite", J. Chem. Phys., 59, 1955, 164-168.
- [79] Kaufman, H. W., Kleinberg, I., "Studies on the Incongruent Solubility of Hydroxyapatite", Calcif. Tiss. Int., 27, 1979, 143-151.
- [80] Madsen, L. H. E., López-Valero, I., Lopez-Acevedo, V., Boistelle, R., "Aspects Physicochimiques de la Lithiase Urinaire", Nephrologie, 5, 1984, 151-154.
- [81] Tudor, A. M., Melia, C. D., Davies, M. C., Anderson, D., Hastings, G., Morrey, S., Santos, J. D., Barbosa, M., "The Analysis of Biomedical Hydroxyapatite Powders and Hydroxyapatite Coatings on Metallic Medical Implants by Near-IR Fourier Transform Raman Spectroscopy", Spectrochimica Acta, 49, 1993, 675-680.
- [82] Elliot, J. C., "Structure and Chemistry of the Apatites and other Calcium Orthophosphates", Elsevier, 1994.
- [83] Nakamoto, K., "Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds", John Wiley & Sons, 1978.
- [84] Weinlaender, M., Beumer, J., Kenney, E. B., Moy, P. K., Adar, F., "Raman Microprobe Investigation of the Calcium Phosphate Phases of three Commercially Available Plasma-Flame-Sprayed Hydroxyapatite-Coated Dental Implants", J. Mater. Sci.: Mater. in Med., 3, 1992, 397-401.
- [85] Willis, H. A., Van der Maas, J. H., Miller, R. G. J., "Laboratory Methods in Vibrational Spectroscopy", John Wiley & Sons, 1991.
- [86] Arends, J., Christoffersen, J., Christoffersen, M. R., Eckert, H., Fowler, B. O., Heughebaert, J. C., Nancollas, G. H., Yesinowski, J. P., Zawacki, S. J., "A Calcium Hydroxyapatite Precipitated from an Aqueous Solution - An International Multimethod Analysis", J. Crystal Growth, 84, 1987, 515-532.
- [87] Le Geros, R. Z., Bonel, G., Legros, R., "Types of H₂O in Human Enamel and in Precipitated Apatites", Calcif. Tiss. Res., 1978, 111-118.
- [88] Monma, H., Inorganic Phosphate Materials, Materials Science Monograph, 52, Ed. Kanazawa T., Elsevier, 1989, 55-78.

- [89] Trombe, J. C., Montell, G., "Some features of the incorporation of oxygen in different oxidation states in the Apatitic Lattice - I. On the Existence of Calcium and Strontium Oxyapatites", *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 40, 1978, 15-21.
- [90] Christensen, A. N., Andersen, E. K., Andersen, I. G. K., Alberti, G., Nielsen, M., Lehmann, M. S., "X-Ray Powder Diffraction Study of Layer Compounds. The Crystal Structure of a α -Ti(HPO₄).2H₂O and a Proposed Structure for γ -Ti(H₂PO₄)(PO₄).2H₂O", *Acta Chemica Scandinavica*, 44, 1990, 865-872.
- [91] Klug, H. P., Leroy, E. A., "X-Ray Diffraction Procedures for Polycrystalline and Amorphous Materials", John Wiley & Sons Inc., 1959.
- [92] Santos, J. D. S., "Development of Hydroxyapatite Glass Composites for Biomedical Applications", Tese de Doutorado, Univ. do Porto, FEUP, 1993.
- [93] Denissen, H., Mangano, C., Venini, G., "Hydroxylapatite Implants", Piccin Nuova Libreria, S.P.A., Padua, 1985.
- [94] Montel, G., Bonel, G., Heughebert, J. C., Trombe, J. C., Rey, C., "New Concepts in the Composition, Crystallization and Growth of the Mineral Component of Calcified Tissues", *J. Crystal Growth*, 53, 1981, 74-99.
- [95] Bhatnagar, V. M., *Mineral Mag.*, 37, 1969, 527-528.
- [96] Zyman, Z., Weng, J., Liu, X., Zhang, X., Ma, Z., "Amorphous Phase and Morphological Structure of Hydroxyapatite Plasma Coatings", *Biomaterials*, 14, 1993, 225-228.
- [97] Delecrin, J., Szmuckler-Moncler, S., Daculsi, G., Rieu, J., Duquet, B., "Ultrastructures, Crystallographic and Chemical Analysis of different Calcium Phosphate Plasma Coatings before Implantation", *Bioceramics*, Vol. 4, Eds. W. Bonfield, G. W. Hastings, K. E. Turner, Butterworth-Heinemann, Oxford, U.K., 1991, 311-315.
- [98] Ducheyne, P., Cuckler, J., Rabin, S., Nazar, E., "Plasma Sprayed Calcium Phosphate Ceramic Linings on Porous Metal Coatings for Bone Ingrowth", *Handbook of Bioactive Ceramics*, Vol. 2, Eds. T. Yamamuro, L. L. Hench, J. Wilson, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 1990, 123-131.
- [99] Rey, C., Frèche, M., Heughebaert, M., Heughebaert, J. C., Lacout, J. L., Leguble, A., Szilagyi, J., Vignoles, M., "Apatite Chemistry in Biomaterial Preparation, Shaping and Biological Behaviour", *Bioceramics*, Vol. 4, Eds. W. Bonfield, G. W. Hastings, K. E. Turner, Butterworth-Heinemann, Oxford, U.K., 1991, 57-64.
- [100] Silver, I. A., Murrills, R. J., Etherington, D. J., "Microelectrodes Studies on Acid Microenvironment beneath Adherent Macrophages and Osteoclasts", *Exper. Cell Res.*, 175, 1988, 266-276.

- [101] Chander, S., Fuersteneau, D. W., "Solubility and Interfacial Properties of Hydroxyapatite: a Review", Adsorption on and Surface Chemistry of Hydroxyapatite, Ed. D. N. Misra, Plenum Press, N. Y., 1984, 29-49.
- [102] Lehninger, A. L., Biochemistry, 417, Worth Publishers Inc., 1975.
- [103] Driessens, F. C. M., Verbeeck, "Relation between Physico-Chemical Solubility and Biodegradability of Calcium Phosphates", Implant Materials in Biofunction, Eds. C. de Putter, G.L. de Lange, K. de Groot, A. J. Lee, Advances in Biomaterials, Vol. 8, Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam, 1988.
- [104] Bamberger, C. E., Begun, G. M., "Synthesis and Characterization of Titanium Phosphates, TiP_2O_7 and $(\text{TiO})_2\text{P}_2\text{O}_7$, J. Less-Common Metals, 134, 1987, 201-206.
- [105] Posner, A. S., Blumenthal, N. C., "In vitro Model of Aluminum-induced Osteomalacia: inhibition of Hydroxyapatite Formation and Growth", Calcif. Tissue Int., 36, 1984, 439-441.
- [106] Cook, S. D., Thomas, K. A., Kay, J. F., Jarcho, M., "Hydroxyapatite-Coated Porous Titanium for use as an Orthopaedic Biologic Attachment System", Clin. Orthop., 230, 1988, 303-312.
- [107] Ribeiro, C. C., Barbosa, M. A., "Influence of Metal Ions on the Dissolution Behaviour of Hydroxyapatite", Bioceramics, Vol. 4, Eds., W. Bonfield, G. H. Hastings, K. E. Tanner, Butterworth-Heinemann, 1991, 145-153.
- [108] Ducheyne, P., Beight, J., Cuckler, J., Evans, B., Radin, S., "The Effect of Calcium Phosphate Coating Characteristics on Early Postoperative Bone Tissue Ingrowth", Biomaterials, 11, 1990, 531-540.
- [109] Ducheyne, P., Bianco, P. D., Kim, C. S., "Metal Ion Release Shielding and Bone Tissue Growth Enhancement by Calcium Phosphate Coatings on Porous Titanium Alloys", Biomaterials, 13, 1992, 617-624.
- [110] Aoki, H, Science and Medical Applications of Hydroxyapatite, JAAS, Tokyo, 1991.

ANEXO A

Resultados obtidos na dissolução da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido clorídrico.

pH inic.	pH final	[Ca]	[P]	Ca/P
1,0	3,0	3489,1	1685,0	1,60
1,6	4,5	950,8	505,9	1,45
1,9	5,0	397,1	201,5	1,52
2,1	5,2	267,3	118,1	1,75
2,6	5,8	92,8	37,8	1,90
3,1	5,8	28,5	13,9	1,58
4,1	6,8	16,1	8,8	1,41
4,6	6,7	15,2	8,2	1,43
5,6	6,8	15,0	8,5	1,32

pH inic.	pH final
1,0	3,0
1,6	4,5
1,9	5,0
2,1	5,2
2,3	5,5
2,6	5,8
3,1	6,5
3,5	6,6
4,0	6,8
4,1	6,7
4,2	6,7
4,6	6,7
5,1	6,8
5,6	6,8

Resultados obtidos na dissolução da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de ácido láctico.

pH inic.	pH final	[Ca]	[P]	Ca/P
2,6	4,7	642,9	541,8	0,92
3,0	5,8	169,0	118,3	1,10
3,2	6,2	59,3	40,7	1,13
3,8	6,8	18,3	15,0	0,94
4,0	6,8	18,0	16,1	0,86
4,4	7,0	16,4	15,5	0,82
5,0	6,8	17,9	15,2	0,91
5,4	7,0	16,9	14,9	0,88

Resultados obtidos na dissolução da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Ti.

[Ti]	pH inic.	pH final	[Ca]	[P]	Ca/P
1	3,6	6,7	22,1	14,2	1,20
10	2,6	5,8	103,4	43,1	1,85
50	1,9	4,9	480,0	208,1	1,78
100	1,6	4,5	975,7	347,1	2,17
200	1,3	4,0	1915,2	691,2	2,14
400	1,0	2,2	3158,4	973,9	2,51
500	0,8	1,6	3267,9	975,8	2,59
1000	0,5	0,8	3364,3	854,9	3,04
2000	0,2	0,2	3356,7	349,7	7,42

Concentração de Ca e P na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião Ti: 500 ppm).

Tempo (h)	[Ca]	[P]
5 / 60	3239,7	986,1
0,5	3203,7	985,6
2	3199,0	978,0
24	3219,4	984,5
120	3228,5	979,0
240	3210,6	975,8

Resultados obtidos na dissolução da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião Al.

[Al]	pH inic.	pH final	[Ca]	[P]	Ca/P
1	5,1	6,7	15,5	14,2	0,844
10	4,6	6,6	31,4	19,3	1,258
50	4,2	5,9	115,5	31,9	2,799
100	4,1	5,7	231,8	48,6	3,687
200	3,9	5,3	451,3	59,1	5,903
400	3,9	4,7	901,2	55,4	12,575
500	3,9	4,6	1093,8	51,7	16,354
1000	3,7	3,5	2144,3	243,6	6,804
2000	3,6	3,1	3554,7	1552,0	1,770

Concentração de Ca e P na fase líquida após diferentes tempos de incubação (concentração inicial de catião Al: 500 ppm).

Tempo (h)	[Ca]	[P]
5/60	998,3	20,1
0,5	1024,3	28,4
2	1037,3	34,3
24	1034,7	44,2
120	1081,6	45,3
240	1093,8	51,7

Resultados obtidos na dissolução da HAp em soluções 0,9% de NaCl com diferentes concentrações de catião V.

[V]	pH inic.	pH final	[Ca]	[P]	Ca/P
1	4,0	6,7	17,9	9,3	1,488
10	3,1	6,1	36,5	16,7	1,689
50	2,3	5,4	194,6	137,6	1,093
100	2,1	4,8	332,8	253,4	1,015
200	1,8	4,5	748,0	594,4	0,973
400	1,6	4,2	1205,9	1071,5	0,870
500	1,5	4,2	1210,4	1245,5	0,751
1000	1,3	2,5	1236,1	328,8	2,906
2000	1,1	1,6	792	-	-

Concentração de Ca e P na fase líquida após diferentes tempos de incubação
(concentração inicial de catião V: 500 ppm).

Tempo (h)	[Ca]	[P]
5/60	1413,1	1397,2
0,5	1557,5	1407,2
2	1530,6	1354,4
24	1376,1	1325,2
120	1314,3	1300,2
240	1210,4	1245,5

ANEXO B

Valores dos ângulos θ observados (θ_{obs}), distâncias recticulares observadas (d_{obs}) e intensidades relativas (mF - muito forte, F - forte, m - média, f - fraca), referentes aos radiogramas apresentados no capítulo IV.

Designação da amostra: HAp - 10 dias

θ_{obs} (°)	d_{obs} (Å)	I (visual)
4,038	10,933	m
5,530	7,993	f
6,794	6,505	f
11,100	3,990	f
13,000	3,424	F
14,213	3,137	f
15,575	2,869	mF
16,150	2,769	mF
19,525	2,305	f
19,950	2,258	m
23,200	1,955	m
24,582	1,860	m
26,425	1,731	f

Designação da amostra: HAp - 230 dias

θ_{obs} (°)	d_{obs} (Å)	I (visual)
4,444	10,096	m
6,744	6,647	f
9,388	4,721	f
12,775	4,040	f
13,388	3,326	F
14,350	3,108	f
15,825	2,825	mF
16,425	2,724	mF
19,813	2,282	f
20,263	2,224	f
23,613	1,923	f
24,975	1,824	f
26,625	1,714	f

Designação da amostra: HAp 1000 °C - 1h

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)
4,500	9,817	f
5,400	8,1847	f
6,775	6,529	f
9,375	4,729	f
10,850	4,092	f
11,363	3,909	f
12,919	3,449	F
13,963	3,192	f
14,425	3,092	f
15,800	2,8289	mF
16,188	2,678	mF
16,713	2,678	m
17,738	2,529	f
21,263	2,124	m
21,775	2,076	m

Designação da amostra: 200 ppmTi - 230 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)
4,325	10,202	m
5,263	8,402	m
6,975	6,338	f
8,275	5,349	f
9,813	4,521	f
11,138	3,987	f
12,675	3,509	F
13,300	3,349	
14,288	3,121	f
14,613	3,054	
15,675	2,850	mF
16,338	2,738	
16,788	2,667	f
17,263	2,596	f
19,763	2,279	m
20,138	2,237	
21,063	2,144	f
21,988	2,057	f
23,238	1,952	m
23,500	1,938	
24,613	1,850	m
24,900	1,829	
26,663	1,717	f
31,913	1,457	f

Designação da amostra: 400 ppmTi - 230 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)
4,025	10,960	mF
4,775	9,243	
5,963	7,418	m
6,600	6,702	
8,538	5,187	F
9,063	4,891	
9,663	4,590	f
13,175	3,378	F
14,225	3,134	
15,538	2,875	f
16,563	2,702	m
17,075	2,623	
17,688	2,535	f
21,250	2,125	f
27,438	1,672	f
28,600	1,609	f
29,275	1,575	f

Designação da amostra: 500 ppmTi - 230 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)
4,138	10,669	mF
4,788	9,224	
5,950	7,431	m
6,625	6,671	
8,513	5,205	F
9,088	4,875	
9,675	4,581	f
10,988	4,040	f
12,025	3,690	f
13,100	3,398	F
14,263	3,127	
15,575	2,868	f
16,525	2,707	m
17,013	2,633	
17,550	2,554	f
21,150	2,135	f
27,50	1,668	f
28,625	1,608	f
29,263	1,576	f

Designação da amostra: 1000 ppmTi - 230 dias

θ obs ($^{\circ}$)	d obs ($\text{\AA}$)	I (visual)
4,150	10,644	mF
4,825	9,148	
5,888	7,506	m
6,538	6,763	
8,525	5,193	F
9,200	4,818	
9,825	4,512	f
10,913	4,100	f
12,275	3,622	f
13,163	3,38	F
14,200	3,140	
15,538	2,875	f
16,563	2,702	m
16,938	2,644	
21,075	2,142	f
22,850	1,984	f
24,613	1,850	f
26,975	1,698	f
28,600	1,610	f
29,213	1,578	f

Designação da amostra: 2000 ppmTi - 230 dias

θ obs ($^{\circ}$)	d obs ($\text{\AA}$)	I (visual)
4,138	10,669	mF
4,875	9,054	
5,850	7,557	m
6,850	6,458	
8,525	5,193	F
9,125	4,854	
9,790	4,530	f
10,890	4,077	f
12,000	3,705	f
12,425	3,579	
13,200	3,373	F
14,175	3,144	
15,325	2,913	f
15,9125	2,810	
16,513	2,710	m
16,888	2,651	
17,575	2,550	f
18,250	2,460	f
21,050	2,144	f
22,025	2,054	f
22,838	1,984	f
24,063	1,834	f
25,200	1,809	f
26,350	1,735	f
27,425	1,673	f
28,350	1,622	f
29,200	1,574	

Designação da amostra: Mistura - 230 dias

θ obs ($^{\circ}$)	d obs (Å)	I (visual)
4,138	10,669	mF
4,838	9,129	
5,888	7,506	m
6,613	6,691	
8,463	5,236	F
9,025	4,908	
9,450	4,686	f
9,875	4,489	
10,925	4,062	f
12,050	3,690	f
13,275	3,353	F
14,200	3,140	
15,325	2,913	f
15,800	2,829	
16,488	2,714	m
16,863	2,656	
17,588	2,549	f
18,213	2,465	f
20,875	2,161	f
21,250	2,125	
26,438	1,730	f
27,500	1,668	
28,288	1,622	f
29,300	1,574	

Designação da amostra: 500 Ti - 5 dias

θ obs ($^{\circ}$)	d obs (Å)	I (visual)
3,775	11,684	mF
4,763	9,2821	
7,557	5,850	f
8,363	5,298	m
8,900	4,979	
9,563	4,638	f
12,838	3,466	F
13,875	3,188	
16,513	2,710	f
16,825	2,660	

Designação da amostra: 500 Ti - 10 dias

θ_{obs} ($^{\circ}$)	d_{obs} ($\text{\AA}$)	I (visual)
4,038	10,933	mF
4,688	9,420	
6,150	7,190	f
8,550	5,181	m
8,925	4,962	
9,638	4,600	f
13,025	3,416	F
14,063	3,170	
15,438	2,893	f
16,550	2,704	m
16,925	2,645	
17,550	2,554	m
28,930	1,592	f

Designação da amostra: 2000 ppm Al - 10 dias

θ_{obs} ($^{\circ}$)	d_{obs} ($\text{\AA}$)	I (visual)
4,080	10,826	f
5,380	8,215	f
8,590	5,157	f
11,300	3,931	f
12,725	3,496	F
13,363	3,333	
14,410	3,095	f
15,780	2,832	mF
16,390	2,730	
17,130	2,615	f
17,890	2,507	f
19,750	2,279	m
20,250	2,225	
21,100	2,140	f
21,990	2,057	f
23,260	1,950	m
23,680	1,918	
24,180	1,881	f
23,260	1,951	m
25,080	1,817	
25,890	1,764	f
26,610	1,720	m
26,930	1,701	
28,000	1,641	f
30,260	1,529	f
30,950	1,498	f
32,100	1,446	f

Designação da amostra: 2000 ppm Al - 60 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)
4,310	10,249	mF
5,990	7,381	mF
8,330	5,317	f
13,440	3,314	m
15,590	2,866	mF
16,750	2,673	f
21,430	2,108	f
22,750	1,992	mF

Designação da amostra: 1000 V - 10 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)	Observações
3,650	12,099	f	halo
5,150	8,5809		pontuado
5,613	7,880	F	banda
6,238	7,086		pontuada
6,788	6,515	F	banda
7,475	5,917		pontuada
8,575	5,163	f	halo ténue
			pontuado
10,100	4,392	mF	banda
10,775	4,118		pontuada
11,688	3,801	F	risca
			pontuada
13,988	3,186	mF	banda mista
14,713	3,033		
15,475	2,886	mF	banda mista
16,8875	2,651		
18,338	2,448	f	risca
			pontuada
19,2625	2,335	m	risca
			pontuada
20,434	2,205	f	banda mista
21,938	2,062	m	banda mista
22,588	2,005	m	banda não
23,060	1,966		pontuada
24,275	1,873	f	risca
			pontuada
25,500	1,789	f	risca
			pontuada
28,038	1,639	f	risca
			pontuada
29,375	1,570	f	risca não
			pontuada
32,813	1,422	f	risca
			pontuada
35,675	1,321	f	risca
			pontuada
38,638	1,235	f	risca
			pontuada

Designação da amostra: 1000 ppmV - 60 dias

θ obs (°)	d obs (Å)	I (visual)	Observações
3,688	f	11,968	halo
5,200		8,499	pontuado
5,838	F	7,570	risca
			pontuada
6,738	mF	6,563	risca não
7,438		5,948	pontuada
8,575	f	5,163	halo ténue
			pontuado
10,050	mF	4,413	banda mista
10,775		4,118	
11,638	f	3,818	risca
			pontuada
12,925	f	3,442	risca
			pontuada
13,863	mF	3,215	banda mista
14,675		3,039	
15,475	m	2,886	risca
			pontuada
16,063	F	2,784	banda mista
16,588		2,698	
17,075	f	2,623	risca
			pontuada
18,213	f	2,465	risca
			pontuada
19,038	f	2,361	risca não
19,550		2,302	pontuada
20,238	f	2,227	risca
20,688		2,180	pontuada
21,825	m	2,071	risca
			pontuada
22,563	m	2,008	risca não
22,975		1,973	pontuada
24,238	f	1,876	risca
			pontuada
25,5878	f	1,783	risca
			pontuada
27,463	f	1,653	risca
			pontuada
28,475	f	1,616	risca
			pontuada
29,238	f	1,577	risca não
			pontuada
33,063	f	1,412	risca
			pontuada





FACULDADE DE ENGENHARIA
UNIVERSIDADE DO PORTO

BIBLIOTECA



000006018

RESUMO

De entre os fosfatos de cálcio bioactivos, a hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) tem sido extensivamente estudada como material de substituição óssea. Este composto apresenta boas características de biocompatibilidade, quando implantado quer em tecidos moles, quer em tecidos duros, conduzindo a uma forte e íntima ligação com o osso. A principal limitação na sua utilização clínica como implante de sustentação de carga, deve-se à fragilidade mecânica que apresenta. Contrariamente, os metais e ligas metálicas usadas em implantologia, em que se inclui o titânio e suas ligas, possuem propriedades mecânicas excelentes, resultando numa excelente resistência de suporte a processos activos de dissolução *in vivo*. Os iões metálicos assim libertados interferem com a dissolução dos cristaltos de hidroxiapatite presentes no tecido ósseo que rodeia os implantes, provocando o aparecimento de estados de hipocalcemia e hiperfosfatemia, bem como a ocorrência de condrocalcinose e hemopromatose.

Uma forma de se ter um compromisso entre propriedades mecânicas e bioactividade, consiste na utilização da hidroxiapatite sob a forma de um fino revestimento aplicado sobre um substrato metálico. O comportamento a longo prazo deste tipo de implantes depende de uma baixa dissolução da hidroxiapatite e da integridade da interface metal-revestimento. Uma diminuição do pH, resultante da ocorrência de processos inflamatórios ou infecciosos que acontecem na interface metal-revestimento, pode ter, no entanto, graves consequências na estabilidade do revestimento, bem como na própria hidroxiapatite. Por sua vez, a presença de ácido láctico, um dos produtos resultantes quer da actividade osteoclástica, quer do metabolismo das bactérias em meio infectado, pode também, de alguma forma, influenciar a dissolução do referido cerâmico.

Um outro factor de grande importância a ter em conta na integridade da interface e do revestimento em próteses metálicas, consiste na ocorrência de libertação de iões metálicos como consequência da corrosão do substrato. Apesar da crescente utilização de próteses ortopédicas revestidas com hidroxiapatite, são escassas as informações sobre o modo como os cations assim libertados poderão influenciar a estabilidade da hidroxiapatite.

Os objectivos gerais do trabalho desenvolvido e descrito nesta dissertação consistiram em:

- Determinar a influência do meio na dissolução da hidroxiapatite;

Dissertação submetida à Universidade do Porto para obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Materiais

- Determinar a influência dos iões titânio(IV), alumínio(III) e vanádio(V) na cinética de dissolução, composição, e estrutura cristalina de partículas de hidroxiapatite (acção sobre o revestimento e sobre o osso).

1994



DISSOLUÇÃO DE HIDROXIAPATITE EM PRESENÇA DE CATIÕES METÁLICOS

Maria Cristina de Castro Ribeiro

Orientador: Prof. Mário Adolfo Barbosa

Dissertação submetida à Universidade do Porto para obtenção do
grau de Mestre em Engenharia de Materiais

Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto

1994

RESUMO

De entre os fosfatos de cálcio bioactivos, a hidroxiapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) tem sido extensivamente estudada como material de substituição óssea. Este composto apresenta boas características de biocompatibilidade, quando implantado quer em tecidos moles, quer em tecidos duros, conduzindo a uma forte e íntima ligação com o osso. A principal limitação na sua utilização clínica como implante de sustentação de carga, deve-se à fragilidade mecânica que apresenta. Contrariamente, os metais e ligas metálicas usadas em implantologia, em que se inclui o titânio e suas ligas, possuem propriedades mecânicas superiores às da hidroxiapatite. São, no entanto, conhecidos resultados experimentais que evidenciam que, apesar do excelente comportamento à corrosão destes materiais, se verifica a ocorrência de processos activos de dissolução *in vivo*. Os iões metálicos assim libertados interferem com a dissolução dos cristalitos de hidroxiapatite presentes no tecido ósseo que rodeia os implantes, provocando o aparecimento de estados de hipocalcemia e hiperfosfatémia, bem como a ocorrência de condrocalcinose e hemocromatose.

Uma forma de se ter um compromisso entre propriedades mecânicas e bioactividade, consiste na utilização da hidroxiapatite sob a forma de um fino revestimento aplicado sobre um substrato metálico. O comportamento a longo prazo deste tipo de implantes depende de uma baixa dissolução da hidroxiapatite e da integridade da interface metal-revestimento. Uma diminuição do pH associada à ocorrência de processos inflamatórios ou infecciosos que acompanham o processo de implantação, pode ter, no entanto, graves consequências na estabilidade do revestimento, bem como na própria hidroxiapatite como principal constituinte mineral ósseo. Por sua vez, a presença de ácido láctico, um dos produtos resultantes quer da actividade osteoclástica, quer do metabolismo das bactérias em meio infectado, pode também, de alguma forma, influenciar a dissolução do referido cerâmico.

Um outro factor de grande importância a ter em conta na integridade da interface e do revestimento em próteses metálicas, consiste na ocorrência de libertação de iões metálicos como consequência da corrosão do substrato. Apesar da crescente utilização de próteses ortopédicas revestidas com hidroxiapatite, são escassas as informações sobre o modo como os cationes assim libertados poderão influenciar a estabilidade da hidroxiapatite.

Os objectivos gerais do trabalho desenvolvido e descrito nesta dissertação consistiram em:

- Determinar a influência do meio na dissolução da hidroxiapatite:
 - influência do pH,
 - influência da presença de ácido láctico como meio simulador de infecção.
- Determinar a influência dos iões titânio(IV), alumínio(III) e vanádio(IV), na:
 - cinética de dissolução,
 - composição,
 - e estrutura cristalinade partículas de hidroxiapatite (acção sobre o revestimento e sobre o osso).

ABSTRACT

Among the bioactive calcium phosphates, hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), has been extensively studied as a bone substitution material. This compound presents good biocompatibility characteristics when implanted either in soft tissues or in hard tissues, leading to a strong and close bonding with bone. The major limitation in its clinical use under load bearing conditions is due to its mechanical weakness, as opposed to metals and metal alloys. Nevertheless, experimental results put in evidence that metallic implants undergo degradation through a variety of mechanisms including corrosion. The metal ions released interfere with the dissolution of the hydroxyapatite of the bone tissues that surrounds the implant, leading to situations of hipocalcemia and hiperphosphatemia as well as chondrocalcinosis and hemocromatosis.

A way of finding a compromise between mechanical properties and bioactivity, consists in using hydroxyapatite as a thin coating on a metallic substrate. The long term behaviour of these implants depends on a low dissolution rate of hydroxyapatite and on the integrity of the metal-coating interface. A reduction in pH due to inflammation or infection associated with the implantation process may affect the stability of the coating as well as the hydroxyapatite of the bone. Also, the presence of lactic acid, one of the resulting products either of osteoclastic activity or of the metabolism of the bacterias in an infected environment, may in some way influence the dissolution of hydroxyapatite.

Another factor of great importance on the integrity of the interface and coating in metallic prostheses consists on the release of metal ions as a consequence of the corrosion of the substrate. Besides the extensive

use of orthopaedic prostheses coated with hydroxyapatite, there are not much information on the way the metal ions influence the stability of hydroxyapatite.

The main purposes of the work described in this theses consisted of:

- Determining the influence of the environment on the dissolution of hydroxyapatite:
 - influence of pH
 - influence of the presence of lactic acid
- Determining the influence of titanium(IV), aluminum(III) and vanadium(IV) ions on the:
 - kinetic of dissolution,
 - composition,
 - and crystalline structure,of hydroxyapatite particles (effect on the coating and on the bone).

RÉSUMÉ

D'entre les phosphates de calcium bioactifs, l'hydroxyapatite ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), fait l'objet de nombreuses études comme un matériel de substitution osseuse. Ce composé présente de très bonnes caractéristiques de biocompatibilité quand implanté dans des tissus durs ou mous, et conduit à une forte union avec l'os. Cependant, l'hydroxyapatite présente de propriétés mécaniques insuffisantes pour être utilisée comme implant, contrairement aux métaux et alliages métalliques usés en implantologie. Malgré l'excellent comportement à la corrosion des implants métalliques, des résultats expérimentaux montrent qu'il existe *in vivo* des phénomènes actifs de dissolution. Les ions métalliques libérés influencent la dissolution des cristaux d'hydroxyapatite du tissu osseux qui entoure les implants, et provoquent des états de hypocalcémie et hyperphosphatémie, bien comme l'occurrence de chondrocalcinose et hémochromatose. Une diminution de pH dû à des processus inflammatoires ou infectieux qui accompagnent l'implantation, peut avoir, notamment, des graves conséquences pour la stabilité du revêtement bien comme des effets nocifs sur l'hydroxyapatite de l'os. À son tour, la présence d'acide lactique, un des produits résultants de l'activité ostéoclastique et du métabolisme des bactéries en milieu infecté, peut aussi interférer avec la dissolution du céramique.

Un autre facteur de grande importance pour l'intégrité de l'interface et du revêtement de prothèses métalliques, est l'occurrence de libération d'ions métalliques à cause de la corrosion du substrat. Malgré la grande utilisation de prothèses orthopédiques revêtues de l'hydroxyapatite, il n'existe pas beaucoup d'information sur les conséquences de cette libération pour la stabilité de l'hydroxyapatite.

Les principaux objectifs de ce travail ont été les suivants:

- Déterminer l'influence du milieu sur la dissolution de l'hydroxyapatite:
 - influence du pH,
 - influence de la présence de l'acide lactique.
 - Déterminer l'influence des ions titane(IV), aluminium(III) et vanadium(IV) sur:
 - la cinétique de dissolution,
 - la composition,
 - et la structure cristalline,
- des particules de l'hydroxyapatite (effet sur le revêtement et sur l'os).

Curriculum Vitae

Nome: Maria Cristina de Castro Ribeiro
Naturalidade: Glória- Aveiro
Data de Nascimento: 1965.06.12

Carreira Académica e Profissional

Presentemente é aluna de doutoramento (bolsa JNICT-BD/2752/93-IC -Programa Ciência). Concluiu a parte escolar do Mestrado em Engenharia de Materiais com a classificação final de 16 (dezasseis) valores. A dissertação encontra-se submetida para avaliação, sendo o seu tema: "**Dissolução de Hidroxiapatite em Presença de Cátions Metálicos**". Para realização do referido mestrado, foi-lhe atribuída pela JNICT uma bolsa (bolsa de mestrado BM/157/90-IC) por um período de dois anos (de 1/10/90 a 1/10/92).

Concluiu em 1989 a Licenciatura em Engenharia Metalúrgica pela U.P. com a classificação final de 14 valores.

Foi bolseira do Instituto Nacional de Investigação Científica (bolsa de iniciação à Investigação), por um período de dois anos, tendo realizado trabalhos no domínio da corrosão e caracterização electroquímica de superfícies metálicas. Após concluída a Licenciatura e por um período de um ano posuía uma bolsa de especialização atribuída igualmente pelo INIC tendo desenvolvido estudos sobre a degradação de revestimentos de hidroxiapatite utilizados em ortopedia.

No âmbito da disciplina de Seminário, realizou um trabalho subordinado ao tema "**Revestimentos de Ligas Co-Cr-Mo com vidros e Alumina**" com a classificação final de 17 (dezassete) valores.

Participou, na qualidade de investigadora, nos seguintes projectos de investigação:

- "Dissolução e Formação de Hidroxiapatite em presença de Metais" - Projecto JNICT - MPF/195-90,

- "Surface Coatings for Biomaterials" - Projecto Brite Euram BREU 0172 C.

Participação em Cursos e Conferências

"Curso Interdisciplinar de Microscopia Electrónica de Varrimento", Coimbra, Universidade de Coimbra, Dezembro, 1989.

"II Congresso de Engenharia Biomédica" - Bioeng 90, Aveiro, Abril, 1990.

"European Intensive Course on: Biocompatibility, Testing and Qualification of Hard Tissue Implants", Roma, Università Cattolica del S. Cuore, 21-26 de Maio, 1990.

"9th European Conference on Biomaterials", Chester, 9-11 de Setembro, 1991.

"4th International Symposium on Ceramics in Medicine", Londres, 11-13 de Setembro, 1991.

"Curso de Análise de Superfícies e Interfaces", Porto-CEMUP, 23 a 27 de Setembro, 1991.

"Proteínas -Aspectos Estruturais e Funcionais" - Jornadas organizadas pela Sociedade Portuguesa de Bioquímica, Coimbra, Universidade de Coimbra, 17-18 de Janeiro, 1992.

"Curso de Introdução à Qualimetria" (Técnicas Quimiométricas para o controlo de qualidade em Análise Química) - Departamento de Química da Faculdade de Ciências do Porto, 12-13 de Fevereiro, 1992.

"Fourth World Biomaterials Congress" - Berlim, 24-28 de Abril, 1992.

"European Advanced Course on Imaging Techniques in Biomaterials", Espinho, 8-13 de Junho, 1992.

Estágio de um mês e meio na Universidade de Nottingham, no Departamento de Ciências Farmacêuticas, sob a orientação do Dr. Martyn Davies (Reader in Biomedical Surface Chemistry), com vista à utilização das técnicas de Espectroscopia de Raman e Infravermelho.

"Biocompatibility of Medical Devices", Curso europeu de curta duração, Porto, 28-30 de Junho, 1993.

"Temporal Relationships in relation to *In Vivo* Monitoring", Biomed Concerted Action-Chemical Sensors for *in vivo* monitoring II" - second workshop, Porto, 14-15 de Outubro, 1993.

Artigos e Comunicações

1. José Cavalheiro, Maria Cristina Ribeiro, Rogério Branco, "Desenvolvimento dum implante metal/vidro/Alumina com revestimento bioactivo" - Actas do II Congresso de Engenharia Biomédica, Aveiro, Abril, 1990.

2. José Cavalheiro, Maria Cristina Ribeiro, Rogério Branco, "Morphological study of an Alumina/Glass coating", European Research Society, poster em Symposium D, Estrasburgo, Maio, 1990.

3. C. Castro Ribeiro, M. A. Barbosa, "Influence of Metal Ions on the Dissolution behaviour of Hydroxyapatite", Bioceramics 4 - September (11-13) - 1991.

4. Cavaleiro, J., Ribeiro, C., Branco, R., "Morphological study of Alumina /Glass Coating", Surface and Coating Tech., 45, 209-231, 1991.
5. M. A. Barbosa, S. R. Sousa, C. Ribeiro, M. Valença, "Dissolution Process at the Metal /Hydroxyapatite Interface", poster em Fourth World Biomaterials Congress, Berlim, Abril, 24-28, 1992.
6. C. C. Ribeiro, M. A. Barbosa, "How does Metal Ions Release influence Hydroxyapatite Coating Integrity?", apresentação oral na VIth Annual General Meeting da BIOSIS (International Society for Bio-analoging Skeletal Implants), Modena, 17-19 de Junho, 1993.
7. G.W. Hastings, S. Morrey, M. Davies, F. Monteiro, M. Barbosa, S. Sousa, C. Ribeiro, R. Reis, P. Tranquili Leali, A. Merolli, D. Muster, B. Demri, M. Sousa, A. J. Coita, M. Santos, F. Arosa, C. Faleiro, D. Anderson, P. Evans and P. Harrison, "Hydroxyapatite Surface Coatings for Biomaterials: A Report of Multi-Centre Investigation- Brite-Euram Project BREU/0172C", em Bioceramics, Vol. 7, Eds O. H. Anderson e A. Yli-Urpo, Butterworth-Heinemann Ltd, Filand, July, 1994.
8. S. R. Leadley, M. C. Davies, C. Castro Ribeiro, M. A. Barbosa, A. J. Paul, J. F. Watts, "Investigation of the Dissolution of the Bioceramic Hydroxyapatite in the presence of Titanium Ions Using ToF-SIMS and XPS", (submetido para publicação).

