

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUI
CENTRO DE TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DOS MATERIAIS

SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO VIA MÉTODO
PECHINI

Geysivana Késsya Garcia Carvalho

Prof^a. Dr^a. Aluska do Nascimento Simões Braga (Orientadora)

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho (Coorientador)

Teresina-Piauí
2019

GEYSIVANA KÉSSYA GARCIA CARVALHO

**SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO VIA MÉTODO
PECHINI**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito obrigatório à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia dos Materiais.

Prof.^a. Dr.^a. Aluska do Nascimento Simões Braga (orientadora)

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho (coorientador)

**Teresina-Piauí
2019**

FICHA CATALOGRÁFICA
Universidade Federal do Piauí
Biblioteca Comunitária Jornalista Carlos Castello Branco
Divisão de Processos Técnicos

C331s Carvalho, Geysivana Garcia
Síntese de biocerâmica de fosfatos de cálcio via Método Pechini. /
Geysivana Garcia Carvalho.
82 f
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Programa
de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais , Mestrado
em Ciência e Engenharia dos Materiais, Teresina, 2019.
Orientação:” Prof. Dr. Aluska do Nascimento Simões Braga “

1. Métdo Pechini. 2. Cerâmica Bifásica. I. Título

CDD 541.3

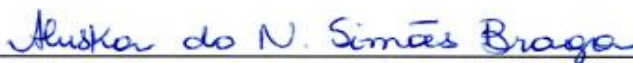
GEYSIVANA KÉSSYA GARCIA CARVALHO

**“SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO PELO MÉTODO
PECHINI VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS”**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia dos Materiais da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito obrigatório à obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia dos Materiais.

Aprovada em: 11/12/2019

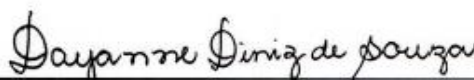
Banca examinadora



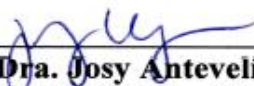
Profa. Dra. Aluska Do Nascimento Simoes Braga
Universidade Federal do Piauí
Orientadora



Prof. Dr. Edson Cavalcanti Da Silva Filho
Universidade Federal do Piauí
Coorientador



Profa. Dra. Dayanne Diniz De Souza
Universidade Federal de Campina Grande
Examinadora Externa a Instituição



Profa. Dra. Josy Anteveli Osajima
Universidade Federal do Piauí
Examinadora Interna

DEDICATÓRIA

Dedico aos meus pais, Genival e Silvana pelo apoio incondicional na minha educação intelectual e moral, a minha irmã grande incentivadora, Genyvana, ao meu esposo Luís Victor, que foi refúgio e porto seguro. Acima de todos a Deus.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Deus por iluminar sempre as minhas viagens, me guiar e proteger em todos os momentos difíceis dessa minha caminhada;

Agradeço à minha família, meus amados pais, Genival e Silvana, ao meu amado marido Luís Victor, a minha irmã Genyvana e ao meu cunhado Alan, aos meus sogros, Luís Neto e Verônica, a Maria Rita e minha amada sobrinha Letícia, por toda felicidade, carinho, compreensão, apoio e incentivo. Pois sempre farão parte de cada vitória;

A Prof^a. Dr^a. Aluska do Nascimento Simões Braga, minha orientadora. Agradeço, por ser amiga e principalmente pela dedicação e paciência em transmitir seus conhecimentos. Saiba que além da humildade, possuo competência e determinação. Muito obrigada professora, por tudo;

Ao prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho, coorientador, por sempre se mostrar disponível a ajudar, pelos conhecimentos e colaboração transmitida;

Aos professores, amigos do laboratório (Ycaro Breno, Adryann Millos e Idglan Lima) e funcionários do LIMAV.

Enfim a todos que direta ou indiretamente me auxiliou nesta caminhada.

SUMÁRIO

REFERÊNCIAS	6
CAPÍTULO 1 – SÍNTESE DE FOSFATOS DE CÁLCIO BIFÁSICOS VIA MÉTODO PECHINI: REVISÃO	7
1 INTRODUÇÃO.....	10
2 BIOCERÂMICAS	12
2.1 HIDROXIAPATITA (HAp).....	13
2.2 FOSFATO TRICÁLCICO (TCP)	14
3 ASSOCIAÇÃO ENTRE HAp/ β -TCP	16
4 OBTENÇÃO DE FOSFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO (BCP) VIA MÉTODO PECHINI	17
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	19
REFERÊNCIAS	20
CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE CERÂMICAS BIFÁSICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI	27
1 INTRODUÇÃO.....	30
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
2.1 MATERIAIS	31
2.2 SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS PELO MÉTODO PECHINI.....	32
2.3 CARACTERIZAÇÕES	32
2.3.1 Difração de raios x (DRX)	32
2.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	33
2.3.3 Análise termogravimétrica (TG/DTG).....	34
2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	34
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	34

3.1 ANÁLISE DIFRAÇÃO DE RAIOS X E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	34
3.2 ANÁLISE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRAFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	38
3.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG/DTG)	40
4 CONCLUSÃO.....	42
REFERÊNCIAS	43
CAPÍTULO 3 - SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS.....	49
1 INTRODUÇÃO.....	52
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	56
2.1 MATERIAIS	56
2.2 SÍNTESE DAS BIOCERÂMICAS PELO MÉTODO PECHINI	56
2.3 CARACTERIZAÇÕES	58
2.3.1 Difração de raios x (DRX)	58
2.3.2. Espectroscopia no infravermelho por traformada de Fourier (FTIR)	59
2.3.3 Análise termogravimétrica (TG/DTG).....	59
2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	59
2.3.5 Teste bacteriológico	60
2.3.5.1 Preparo do inóculo.....	60
2.3.5.2 Atividade antibacteriana pelo método de contato direto	60
3 RESULTADOS E DISCURSÃO	61
3.1 RESULTADOS DA DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	61
3.2. ANÁLISE ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO POR TRAFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	65

3.3. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG/DTG)	66
3.4 ANÁLISE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	68
3.5 TESTES BACTERIOLÓGICOS	70
4 CONCLUSÃO.....	72
REFERÊNCIAS	73
<i>CONSIDERAÇÕES FINAIS</i>	82

APRESENTAÇÃO

O desenvolvimento de novos materiais como substitutos ósseos, com melhor osteocondutividade, funcionalidade e propriedades mecânicas, é de grande interesse. Até agora, a biocerâmica à base de fosfato de cálcio, ou seja, a hidroxiapatita (HAp) e o fosfato β -tricálcico (β -TCP) são os materiais mais usados na engenharia de tecidos para reparo ósseo, devido à sua similaridade química com a fase inorgânica do osso, biocompatibilidade e osteocondutividade (Sahoo, et al. 2020).

Neste contexto, a hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, HAp, lidera as muitas aplicações da engenharia biomédica, predominando o uso em enxertos ósseos e aplicações odontológicas, devido sua natureza e força química sem precedentes, mais semelhantes aos ossos naturais (Buraiki, et al. 2019). No entanto, a baixa taxa de degradação e as fracas propriedades mecânicas da HAp levam à aplicação limitada da mesma. O Fosfato β -tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, β -TCP, possui boa atividade biológica, além de possuir osteocondutividade e osteoindutividade, mas sua taxa de degradação é rápida sendo difícil de controlar, o que não corresponde exatamente à taxa de formação do osso recém-nascido (Zhang, et al. 2019).

No entanto, a cerâmica de fosfato de cálcio bifásico (BCP), um composto que combina as vantagens de HAp e β -TCP, tem desempenho superiores e excelente perspectiva de aplicação, conseguindo contornar as desvantagens citadas (Zhang, et al. 2019). Assim BCP tornou-se um substituto promissor dos enxertos ósseos devido à sua taxa de absorção confiável e controlável, melhor integração óssea e rápido crescimento ósseo por ligação direta com o osso natural, contribuindo para a nova formação óssea (Thangavelu, et al. 2019).

Várias técnicas de síntese química para a preparação dessas biocerâmicas foram propostas e desenvolvidas nas últimas décadas. O método Pechini baseia-se na quelatação catiônica por ácido cítrico e na poliesterificação entre ácido cítrico e etilenoglicol, que leva à

formação de um intermediário de resina policatiônica. Este intermediário de resina resultante contém átomos de metal ligados através de oxigênio a radicais orgânicos, compreendendo a rede reticulada e, assim, interconectando as espécies reagentes para formação fases desejadas (Nguyen, et al. 2019). Essa técnica se mostra bastante vantajosa a mesma permite o controle sobre o tamanho dos grãos, composição, homogeneidade microestrutural em escala atômica e temperaturas mais baixas de processamento (Alhaji, et al. 2017). Embora existam relatos sobre o método Pechini para sinterização de fosfatos de cálcio, os relatos são escassos sobre a síntese, sobre as variações nos seguintes parâmetros: ácido cítrico por etileno glicol (AC/EG), ácido cítrico por cátions metálicos (AC/CM) e solventes (água com pH neutro/básico e Álcool etílico).

Portanto, o presente estudo desenvolvido no mestrado buscou o desenvolvimento de biocerâmica BCP, voltado para aplicações biomédicas. O estudo teve início com pesquisa bibliográfica sobre o respectivo tema, na qual originou o primeiro artigo dessa dissertação. Experimentalmente, a pesquisa partiu, da síntese do fosfato de cálcio via método Pechini variando parâmetros de solvente e quantidade de ácido cítrico, etileno glicol e cátions metálicos.

No presente estudo, foram desenvolvidos dois artigos de pesquisas. O primeiro buscou elucidar a influência do solvente na síntese, o segundo analisou-se a variação dos parâmetros AC/CM e AC/EG, além de verificar qual a melhor amostra de fosfato de cálcio produzida era mais eficiente a inibição do crescimento de bactérias. Os artigos desenvolvidos forneceram propriedades e características importantes acerca dos pós sintetizados, abrindo caminho para trabalhos futuros.

REFERÊNCIAS

- A. Alhaji, R. S. Razavi, A. Ghasemi, M.R. Loghman-Estarki. Modification of Pechini sol–gel process for the synthesis of mgo-y₂o₃ composite nanopowder using sucrose-mediated technique. *Ceramics international*. 43 (2017) 2541-2548. doi:10.1016/j.ceramint.2016.11.057.
- D. K. Nguyen, Q.-V. Bach, B. Kim, H. Lee, C. Kang, I.-T. Kim. Synthesis of cr-doped Al₂O₃ by Pechini sol-gel method and its application for reversible thermochromic sensors. *Materials chemistry and physics*. 223 (2019) 708-714. doi:1016/j.matchemphys.2018.11.070.
- L. Zhang, C. Zhang, R. Zhang, D. Jiang, Q. Zhu, S. Wang. Extraction and characterization of HA/β-TCP biphasic calcium phosphate from marine fish. *Materials letters*. 236 (2019) 680-682. doi:10.1016/j.matlet.2018.11.014.
- M. Thangavelu, A. Adithan, J. S. J. Peter, M. A. Hossain, N. S. Kim, K.-C. Hwang, G. Khang, J-K Kim. Ginseng compound k incorporated porous chitosan/biphasic calcium phosphate composite microsphere for bone regeneration. *International journal of biological macromolecules*. (2019). doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.09.228.
- N. S. S. al Buraiki, B. ali Albadri, S. Alsheriqi, B. Alshabibi, S. Al-Mammari, S. Premkumar, M.K. Sah, M.S. Sudhakar. Characterization of catla catla and oreochromis niloticus fish scales derived hydroxyapatite scaffolds for regenerative medicine. *Materials today: proceedings*. (2019). doi:10.1016/j.matpr.2019.11.074.
- S. Sahoo, A. Sinha, M. Das, synthesis. Characterization and in vitro biocompatibility study of strontium titanate ceramic: a potential biomaterial. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. 102 (2020)103494. doi:10.1016/j.jmbbm.2019.103494.

PÁGINAS SUPRIMIDAS

7 À 26

**CAPÍTULO 2 – SÍNTESE DE CERÂMICAS BIFÁSICAS DE FOSFATO
DE CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI**

SÍNTESE DE CERÂMICAS BIFÁSICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI

Geysivana Késsya Garcia Carvalho¹, Aluska do Nascimento Simões Braga² e Edson Cavalcanti Silva Filho³.

¹Universidade Federal do Piauí: geysivanacarvalho@hotmail.com

²Universidade Federal do Piauí: aluskasimoes@hotmail.com

³Universidade Federal do Piauí: edsonfilho@ufpi.edu.br

Resumo

Os fosfatos de cálcio (CaP) tem como característica mais importante serem biomateriais semelhantes com a parte inorgânica de uma matriz óssea. As fases de CaP mais amplamente utilizadas são a hidroxiapatita (HAp) e o beta fosfato tricálcico (β -TCP). A associação da biocerâmica HAp/ β -TCP é uma alternativa promissora para uso na regeneração e enxertos ósseos. Assim, o objetivo deste trabalho foi sintetizar biocerâmicas de HAp/ β -TCP via método Pechini, avaliando a influência de diferentes solventes na síntese. As caracterizações foram realizadas por difração de raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), análises termogravimétricas (TG/DTG) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os resultados comprovaram a formação de uma cerâmica bifásica de HAp/ β -TCP para todos os solventes estudados.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, beta fosfato tricálcico, Pechini.

SYNTHESIS OF CALCIUM PHOSPHATE BIPHASIC CERAMICS BY PECHINI METHOD

Geysivana Késsya Garcia Carvalho¹, Aluska do Nascimento Simões Braga² e Edson Cavalcanti Silva Filho³.

¹Universidade Federal do Piauí: geysivanacarvalho@hotmail.com

²Universidade Federal do Piauí: aluskasimoes@hotmail.com

³Universidade Federal do Piauí: edsonfilho@ufpi.edu.br

Abstract

The most important characteristic of calcium phosphates (CaP) is that they are similar biomaterials with the inorganic part of a bone matrix. The most widely used CaP phases are hydroxyapatite (HAp) and tricalcium beta phosphate (β -TCP). The combination of biochemistry HAp / β -TCP is a promising alternative for use in bone regeneration and grafting. Thus, the objective of this work was to synthesize HAp / β -TCP bioceramics via Pechini method, evaluating the influence of different solvents on synthesis. The characterizations were performed by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy, thermogravimetric analysis (TG / DTG) and scanning electron microscopy (SEM). The results confirmed the formation of a biphasic ceramic of HAp / β -TCP for all solvents studied.

Keywords: Hydroxyapatite, tricalcium beta phosphate, Pechini.

1 INTRODUÇÃO

As biocerâmicas de fosfato de cálcio (CaP) vêm sendo extensivamente estudadas nas últimas décadas, em virtude da sua importância no tratamento e reparo de partes danificadas do tecido ósseo. Porém o tratamento clínico ainda é um grande desafio (Cheng, et al. 2013; Cheung e Haak, 1989; Zhu, et al. 2017), pois, a utilização desse material deve cumprir requisitos biológicos e permitir a revitalização no sítio de implantação (Gómez-Barrena, et al. 2019).

Com base na composição, os principais fosfatos de cálcio sintéticos usados atualmente como biomateriais são classificados como hidroxiapatita (HAp), fosfato beta-tricálcico (β -TCP) e fosfatos de cálcio bifásicos (BCP's) para misturas de HAp e β -TCP (Bouler, et al, 2017). Os BCP's podem ser aplicados para administração de medicamentos, substitutos do tecido ósseo e em aplicações dentárias, devido à sua biocompatibilidade e biodegradabilidade, bem como por sua eficácia na regeneração de tecidos duros em oposição a HAp pura ou β -TCP puro (Shim, et al. 2018). A HAp é uma fase mais estável, enquanto β -TCP é mais solúvel, os biomateriais de BCPs são frequentemente preferidos, pois, permitem adaptar um equilíbrio adequado entre reabsorção e solubilização (Neto, et al. 2019).

Embora as biocerâmicas CaP tenham muitas vantagens, elas também sofrem com desvantagens como, baixa resistência mecânica, presença de impurezas, tamanho de grão em escala micro e tamanho e forma de partículas não homogêneas. No entanto, nos últimos anos, várias modificações nos parâmetros de fabricação, como temperatura sinterização, tempo de imersão, pH e pureza dos materiais iniciais deram origem a biomateriais com propriedades físico-químicas aprimoradas (Ebrahimi, et al. 2017). Conseqüentemente, vários pesquisadores se concentraram na síntese CaP. Até o momento, vários métodos de síntese são utilizados para a produção, incluindo sol-gel (Jmal e Boauziz, et al. 2017; Cheng, et al. 2006; Chen, et al. 2011), processo hidrotérmico (Onoda e Yamazaki, 2016; Higueta e Vargas, 2017), técnicas de

precipitação (Titorenkova et al. 2019; Mohammadi, et al. 2016), reação em estado sólido (Webler, et al. 2014; Ho, et al. 2013) e deposição (Karimi, et al. 2016; Drevet, et al. 2019) entre outros.

O método Pechini é uma síntese desenvolvida do aprimoramento do método sol-gel, onde o processo se baseia na formação de cítratos metálicos em solução, ocorrendo entre íons metálicos e íons de hidroxilas e carboxilas. Quando aquecidos após a adição de um diol, os cítratos são reticulados para criar uma resina polimérica rígida por poliesterificação, na qual os cátions são distribuídos uniformemente no nível atômico (Omori, et al. 2014). A resina é queimada a uma temperatura moderada para pirolisar e se livrar das substâncias orgânicas. Finalmente, pode ser obtida uma mistura fina de óxidos metálicos. A vantagem notável do processo Pechini é que ele pode ser usado para preparar materiais de composição complexos homogêneos (Guo, et al. 2019; Pechini, 1967).

Dessa forma, diante da relevância das biocerâmicas de CaP, este trabalho teve por objetivo sintetizar fosfatos de cálcio compostos por HAp e β -TCP pelo método Pechini, estudando a influência de diferentes solventes na síntese.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Os materiais utilizados foram: ácido cítrico anidro, $C_6H_8O_7$ (Cinética); nitrato de cálcio, $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (Cinética); fosfato de amônio bibásico, $(NH_4)_2HPO_4$ (Neon); etileno glicol, $HOCH_2CH_2OH$, (Synth); hidróxido de sódio, NaOH (Synth); álcool etílico absoluto, CH_3CH_2OH (Synth); e água deionizada.

2.2 SÍNTESE DAS BIOCERÂMICAS PELO MÉTODO PECHINI

A Síntese da biocerâmica de Hap/ β -TCP (BCP): Inicialmente, ocorreu a dissolução de ácido cítrico (AC) em 100 ml do solvente estudado: água neutro, água basificada com pH 10 (corrigido com NaOH) ou álcool etílico. A solução foi mantida sob agitação constante com temperatura máxima de 70°C. Acrescentou-se os cátions metálicos (CM), nitrato de cálcio e fosfato de amônio bibásico nas proporções AC/CM de 3:1. Para iniciar às reações de esterificação e poliesterificação, adicionou-se o etileno glicol (EG) na proporção 60/40 para AC/EG, em seguida a temperatura foi elevada a 120°C, formando o gel.

A resina formada passou por tratamento térmico (pirólise) em forno mufla na temperatura de 400°C/1h, com uma taxa de aquecimento de 10°C/min. O puff formado foi desaglomerado e passado em peneira ABNT n°200 (0,074 mm). O pó resultante foi calcinado na temperatura 1.000°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min durante 1h, para a formação da cerâmica bifásica. As amostras sintetizadas foram denominadas de CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil, quando do uso da água com pH básico, água com pH neutro e álcool etílico como solventes, respectivamente.

2.3 CARACTERIZAÇÕES

2.3.1 Difração de raios X (DRX)

As amostras sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios X, para identificação das fases formadas, quantificação das fases, cálculo do percentual de cristalinidade e do tamanho de cristalito. Os difratogramas das amostras foram obtidos no equipamento da Shimadzu, modelo XRD-6000, localizado no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (LCM/UAEMa/UFCG), utilizando radiação Cu-K α (40kV/30mA),

varredura de 20° a 60°, com velocidade de 2°/min em intervalos de 0,02° e tempo de 0,6 segundos. Para identificação e quantificação das fases utilizou-se o *software X'pert Panalytical High Score Plus* e o banco de dados JCPDF (Joint Committee on Powder Diffraction and Standards). A cristalinidade foi obtida no programa da Shimadzu *Cristalinity*, o qual se utilizou o coeficiente de correção de Lorentz, onde foi possível calcular o percentual de fase cristalina.

O cálculo do tamanho cristalito foi realizado a partir do pico da reflexão basal de maior intensidade por meio da deconvolução do pico por meio da equação (1) conhecida como equação de Scherrer (1918).

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta} \quad (1)$$

Na formulação, D corresponde ao tamanho médio dos cristalitos, K é a constante da forma dos cristais, que para o caso analisado corresponde a 0,90. O valor de β equivale à largura meia altura do pico de difração e por fim θ é o ângulo de Bragg do pico difratado.

2.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para realização da caracterização foi definido um intervalo de 400 a 4.000 cm^{-1} em um espectrômetro Bunker modelo TENSOR 27, localizado no Laboratório de Física dos Materiais do Centro de Ciências da Natureza da Universidade Federal do Piauí (FISMAT/CNN/UFPI). A análise foi realizada por meio de pastilhas contendo o pó das amostras e KBr de grau espectroscópico na proporção de 0,3 mg de pó para 300 mg de KBr.

2.3.3 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

As amostras foram caracterizadas por análise termogravimétrica (TG/DTG), realizadas em um analisador térmico, modelo TA-60, da Shimadzu, localizado no Laboratório de Tecnologia dos Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (LTM/UFCG), com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de nitrogênio, usando um cadinho de alumina e faixa de temperatura ambiente (25°C) até a temperatura máxima de 1000°C.

2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizado em um microscópio da marca FEI COMPANY, modelo Quanta FEG 250, localizado no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados no Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Piauí (LIMAV/CT/UFPI), com tensão de aceleração de 1 a 30 kV, equipado com EDS de SDD (*Silicon drift detectors*), marca Ametek, modelo HX-1001, detector Apollo X-SDD. O acessório EDX do MEV foi utilizado para realizar as espectroscopias por energia dispersiva de Raios X das amostras, que foram fixadas com fita de carbono para condução.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS DA DIFRAÇÃO DE RAIOS X E MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A Figura 1 exibe os difratogramas de raios X das amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil, respectivamente.

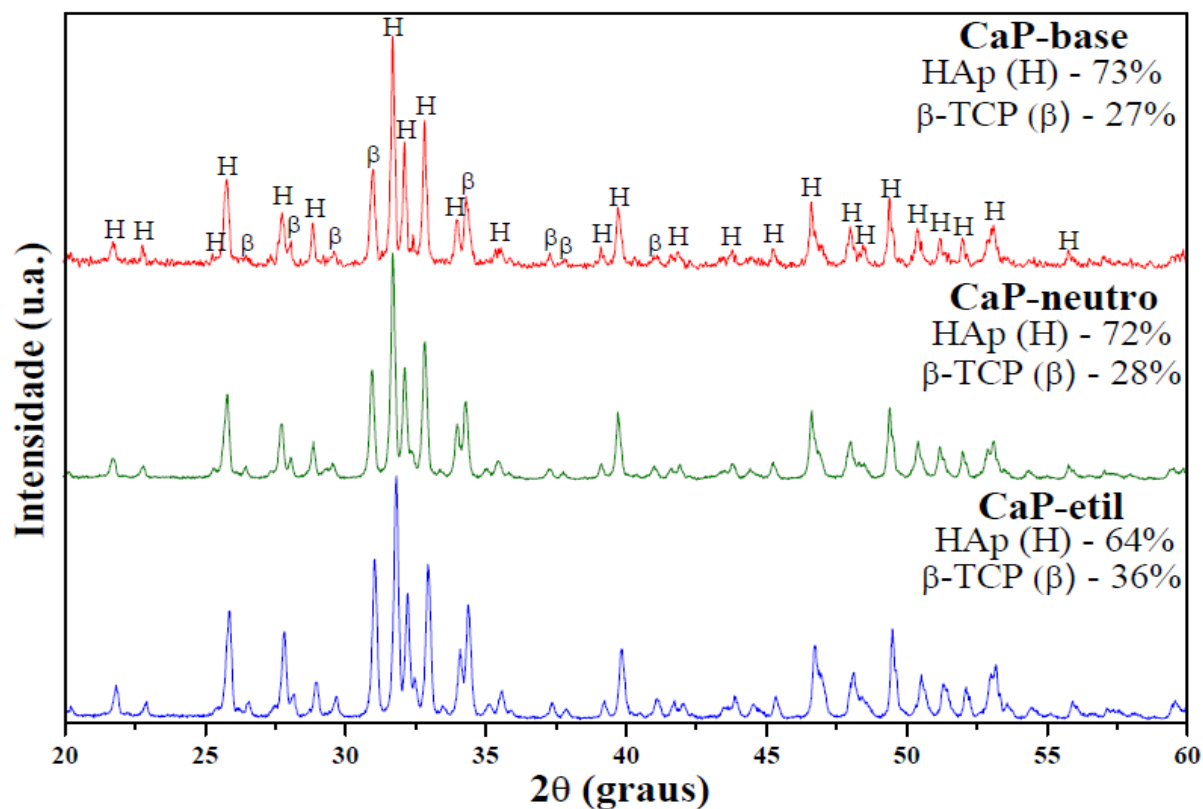


Figura 1- Difratomogramas de raios X das amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil.

Observando os difratogramas da Figura 1, percebe-se que independente do solvente utilizado o padrão é semelhante para todas as amostras, com formação de duas fases, sendo estas: a hidroxiapatita (JPDS 09-0432) e o beta fosfato tricálcico (JPDS 09-0169). A CaP-base apresentou a maior cristalinidade (Tabela 1) e um aumento na quantidade de hidroxiapatita formada em relação as amostras CaP-neutro e CaP-etil. Isso ocorreu, possivelmente, pois no pH alcalino o grupo funcional hidroxila desprende-se do Na^+ , unindo-se ao Ca^{2+} e ao PO_4^{3-} , favorecendo a razão molar para produção de hidroxiapatita (Aminzare, et al. 2013; Santos, et al. 2005).

A amostra CaP-etil apresentou uma redução na intensidade dos picos localizados $28,9^\circ$ (120); $31,75^\circ$ (121); $32,15^\circ$ (112); $34,02^\circ$ (002) e $48,60^\circ$ (230), que estão relacionados a fase HAp. Provavelmente, isso ocorreu, pois o álcool etílico possui um ponto de ebulição ($78,3^\circ\text{C}$) menor do que o da água (100°C), acelerando assim a reação, o que proporcionou um

rápido aumento na viscosidade da solução, dificultando a difusão dos íons (Roopalakshmi, et al. 2017). A maior quantidade de fase β -TCP, quando do uso do álcool etílico como solvente, pode estar ainda associada a uma hidroxiapatita não estequiométrica (uma variação da proporção Ca/P = 1,67), originária da má complexação do grupo PO_4^{3-} , resultante da homogeneização insuficiente na distribuição de íons na solução (Chakraborty, et al. 2017).

A literatura reporta que o uso de cerâmicas bifásicas de HAp/ β -TCP tem um enorme impacto na capacidade de indução óssea *in vivo* devido à sua solubilidade diversificada no ambiente fisiológico e no microambiente iônico local, alcançando a formação ideal do crescimento do tecido ósseo, além disso resistência e tenacidade à fratura podem ser melhoradas com uma quantidade baixa da fase β -TCP (Wang, et al. 2019; Raynaud, et al. 2002). A Tabela 1 exhibe os resultados para tamanho médio de cristalito, cristalinidade e percentual de fases das amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil.

Tabela 1 - Resultados para tamanho médio de cristalito, cristalinidade e percentual de fases das amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil.

Amostras	Fases (%)		Tamanho do Cristalito (nm)	Cristalinidade (%)
	HAp	β -TCP		
CaP-base	73	27	53,6	96
CaP-neutro	72	28	43,9	93,4
CaP-etil	64	36	45,8	88,2

Fonte: Autoria própria (2019).

Todas as amostras apresentaram elevados valores de cristalinidade, variado de 88, 2 à 96%, sendo estes superiores aos valores relatados na literatura para síntese dessas biocerâmicas (Chakraborty, et al. 2017), o que pode tornar o material promissor na aderência do tecido e crescimento dos tecidos sobre os implantes que sejam revestidos com essas biocerâmicas. Percebe-se que as amostras que utilizaram água com pH neutro ou água com pH básico como solvente foram mais cristalinas, pois a evaporação lenta do solvente dificulta

o processo de segregação do grupo de PO_4^{3-} , favorecendo a produção e a cristalização da hidroxiapatita como confirmado por Aminzare, et al. (2013). Os valores médios do tamanho de cristalito variaram de 43,09 a 53,6 nm. Esses valores de tamanho de cristalito estão compatíveis com os valores encontrados na literatura para síntese de hidroxiapatita através de outras rotas sol-gel (Stötzel, et al. 2009; Dorozhkin, 2010).

Analisando as micrografias (Figura 2) percebe-se que para todas as amostras não é possível fazer distinção entre as fases de HAp e β -TCP. Nota-se que as partículas estão agrupadas formando agregados de formato irregular, independente do solvente usado. Todos os pós produzidos são altamente reativos, sendo isto comprovado pela formação desses agregados. Porém, a amostra CaP-etil apresenta, aparentemente, um menor grau de aglomeração das partículas. Pei et al. (2016) também perceberam essa mesma diferença no grau de aglomeração das partículas ao estudarem a água e o álcool etílico como solventes na síntese de NiO.

A morfologia (Figura 2) obtida é porosa, em todas as amostras, isto é característico do método de síntese que utiliza muita matéria orgânica, resultando em tal porosidade quando esta é eliminada na etapa de sinterização. A formação de poros é benéfica, pois permite a circulação de fluido fisiológico quando utilizado como biomaterial (Sofronia, et al. 2014).

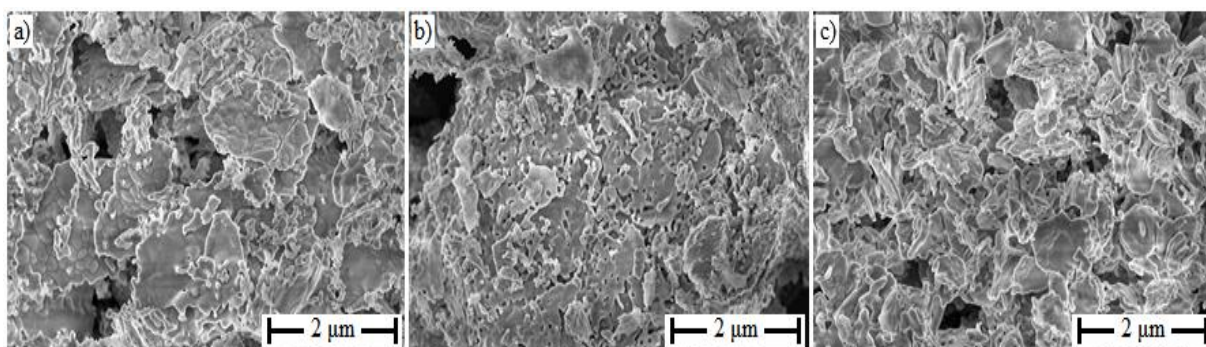


Figura 2 - Imagens de MEV: a) CaP-base; b) CaP-neutro; e c) CaP-etil. Fonte: Autoria própria (2019).

3.2 ANÁLISE ESPECTROSCÓPIA NO INFRAVERMELHO POR TRAFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A Figura 3 exibe os espectros do FTIR das amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil, respectivamente. Para todas as amostras percebe-se a existência de três grupos principais de composição: OH^- , PO_4^{3-} e CO_3^{2-} .

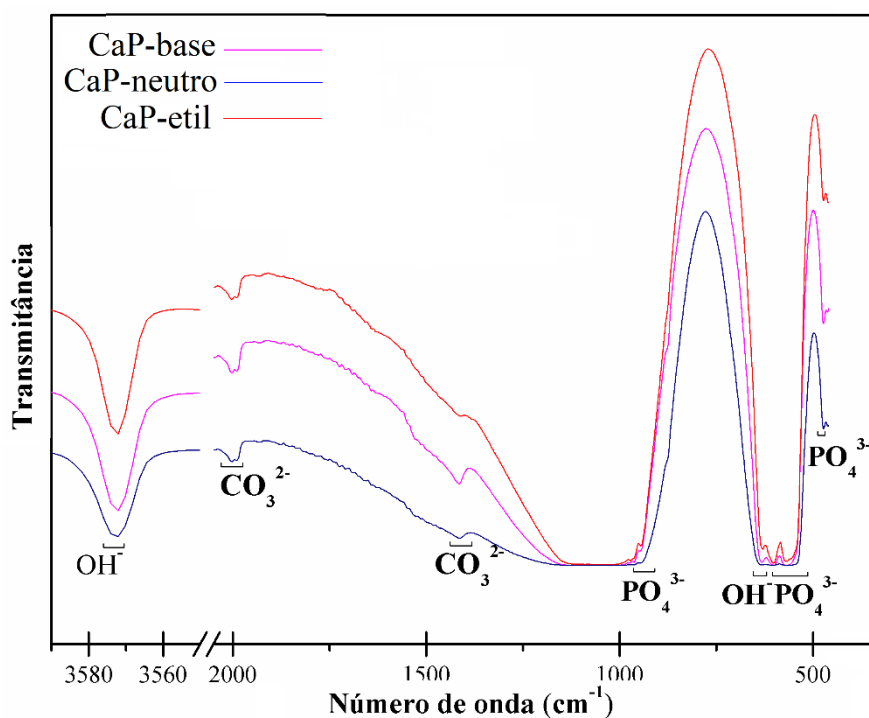


Figura 3- Espectros de FTIR para CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil. Fonte: Autoria própria (2019).

As bandas que provam a presença da HAp são 635 e 3.572 cm^{-1} , correspondente ao alongamento da vibração do grupo da hidroxila (OH^-), indicando a existência de moléculas de água fisicamente absorvidas (Phatai, et al. 2018). No entanto, essa banda não pode ser vista na fase de β -TCP, pois sua estrutura química não possui o grupo OH^- . A banda característica para o grupo do fosfato (PO_4^{3-}) da fase β -TCP aparece em 947 e 973 cm^{-1} (ν_1) (Ebrahimi, et

al. 2017). As bandas do grupo PO_4^{3-} da fase HAp ocorrem em $603/475 \text{ cm}^{-1}$ (ν_4), 570 cm^{-1} (ν_2) e 961 cm^{-1} (ν^1) (Omori, et al. 2014; Rameshbabu, et al. 2007). As bandas 1.414 e 1.993 cm^{-1} (ν_3) pertencem ao grupo dos carbonatos (CO_3^{2-}) e são atribuídas a posições de fosfato substituída por CO_3^{2-} da rede de HAp (Ben-Arfa , et al. 2017). A banda em 1.637 cm^{-1} corresponde à água absorvida, ocorrendo devido à vibração de alongamento da água livre (Piazza, et al. 2020).

Observa-se que para a CaP-base ocorre uma redução nas bandas 947 e 973 cm^{-1} , confirmando a redução da fase β -TCP quando do uso da água pH básico como solvente, corroborando com os resultados do DRX.

3.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG/DTG)

A Figura 4 mostra as curvas TG/DTG das amostras CaP-base (4.a), CaP-neutro (4.b) e CaP-etil (4.c)

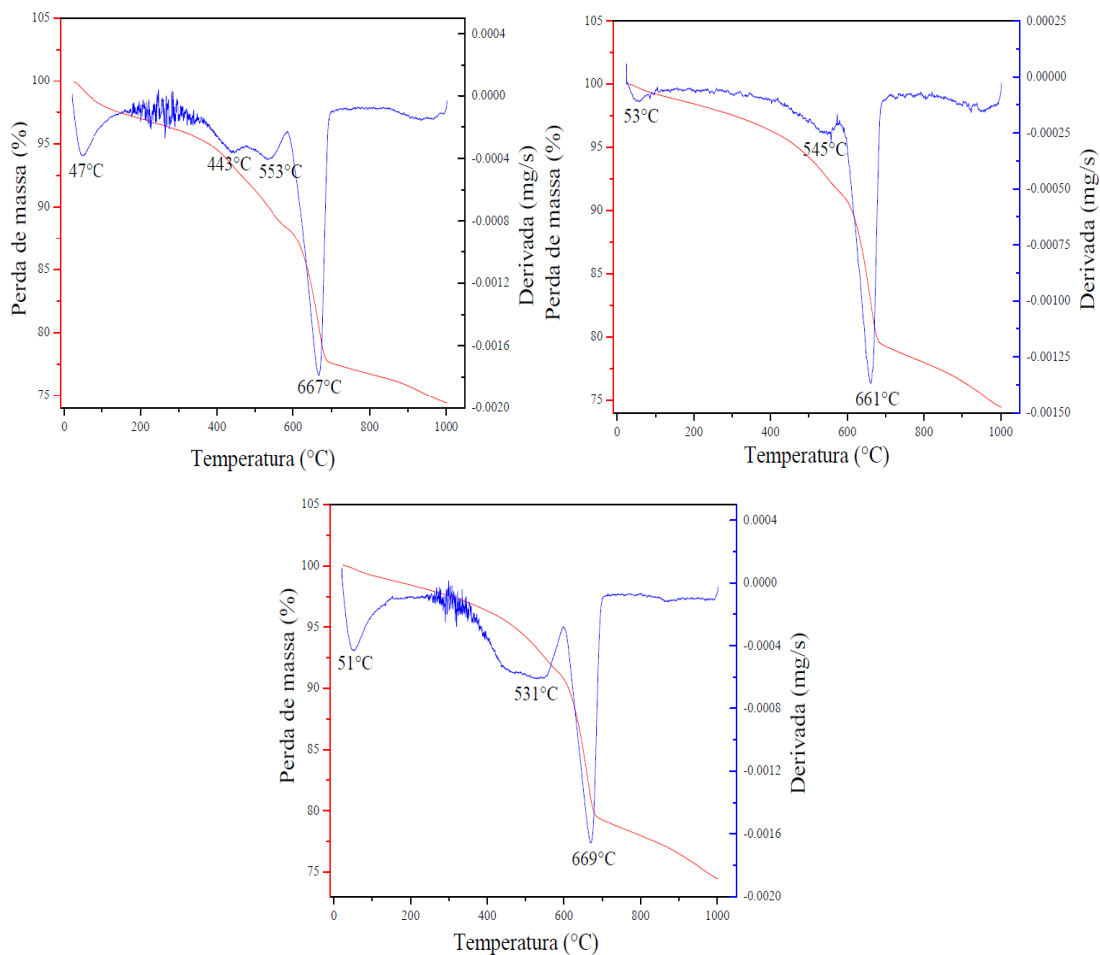


Figura 4 - Análise termogravimétrica amostras CaP-base (a), CaP-neutro (b) e CaP-etil (c).
Fonte: Autoria própria (2019).

Analisando as curvas da Figura 4 percebe-se uma similaridade, onde o processo de decomposição ocorre em três etapas para as amostras CaP-neutro (b) e CaP-etil (c), e em quatro etapas para a amostra CaP-base (a), com faixas de temperaturas semelhantes, para todas as amostras.

A primeira etapa ocorre em aproximadamente 47, 53 e 51°C, para as amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil, respectivamente, correspondendo à perda de água adsorvida (desidratação da ligação da água da superfície de HAp). Para a amostra CaP-base a segunda e terceira etapas ocorrem em 443 e 553°C, nessa ordem, referente a perda de água da rede e à decomposição residual da matéria orgânica (Manjubala e Sivakumar, 2001; Ramirez-Gutierrez, et al. 2017). Para as amostras CaP-neutro e CaP-etil, a segunda etapa ocorre em 545 e 531°C, respectivamente, também referente perda de água da rede e à decomposição residual da matéria orgânica. Em ambas as amostras, o último evento em aproximadamente 660°C está relacionado à descarbonização e início dos processos de desidroxilação (Sofronia, et al. 2014). As amostras tiveram perdas de massa total praticamente iguais, sendo estas de 25,7, 25,5 e 25,6% para as amostras CaP-base, CaP-neutro e CaP-etil, respectivamente.

4 CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos concluiu-se que o método Pechini é eficaz na obtenção BCP, independente do solvente empregado. Quando o solvente água com pH básico foi utilizado, este proporcionou a maior quantificação da fase HAp em relação a fase β -TCP, maior índice de cristalinidade e tamanho de cristalino, se comparado com os demais solventes. Enquanto o uso do álcool etílico como solvente, acelerou o processo de síntese acarretando na redução da fase HAp. Independente do solvente usado, os pós obtidos foram constituídos de partículas altamente reativas, formando agregados com certa porosidade, com perdas de massa de aproximadamente 25%.

REFERÊNCIAS

- A. M. Sofronia, R. Baies, E. M. Anghel, C. A. Marinescu, S. Tanasescu. Thermal and structural characterization of synthetic and natural nanocrystalline hydroxyapatite Mater. Sci. and Eng.: C. 43 (2014)153-163. doi: 10.1016/j.msec.2014.07.023.
- A. S. Neto, A. C. Fonseca, J.C.C. Abrantes, J. F.J. Coelho, J. M.F. Ferreira. Surface functionalization of cuttlefish bone-derived biphasic calcium phosphate scaffolds with polymeric coatings. Materials Science and Engineering: C. 105 (2019) 110014. doi:10.1016/j.msec.2019.110014.
- B. A.E. Ben-Arfa, I. M. M. Salvado, J. M.F. Ferreira, R. C. Pullar. Novel route for rapid sol-gel synthesis of hydroxyapatite, avoiding ageing and using fast drying with a 50-fold to 200-fold reduction in process time, Materials Science and Engineering: C. 70 (2017) 796-804. doi: 10.1016 / j.msec.2016.09.054.
- C. Stötzel, E. A. Müller, E. Reinert, E. Niederdraenk, J. E. Barralet, U. Gbureck. Ion adsorption behaviour of hydroxyapatite with different crystallinities. Colloids Surf. B Biointerfaces. 74, (2009) 91-95. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.06.031
- C.F. Ramirez-Gutierrez, S.M. Londoño-Restrepo, A. del Real, M.A. Mondragón, M.E. Rodriguez-García. Effect of the temperature and sintering time on the thermal, structural, morphological, and vibrational properties of hydroxyapatite derived from pig boné. Cer. Int. 43, 10 (2017) 7552-7559. doi:10.1016/j.ceramint.2017.03.046.
- E. Gómez-Barrena, P. Rosset, F. Gebhard, P. Hernigou, N. Baldini, H. Rouard, L. Sensebé, R. M. Gonzalo-Daganzo, R. Giordano, N. Padilla-Eguiluz, E. García-Rey, J. Cordero-Ampuero, J. C. Rubio-Suárez, J. Stanovici, C. Ehrnthaller, M. Huber-Lang, C. H. Flouzat-Lachaniette, N. Chevallier, D. M. Donati, G. Ciapetti, S. Fleury, M.N. Fernandez, J.R. Cabrera, C. Avendaño-Solá, T. Montemurro, C. Panaitescu, E. Veronesi, M. T. Rojewski, R. Lotfi, M. Dominici, H. Schrezenmeier, P. Layrolle. Feasibility and safety of treating non-unions in tibia, femur and humerus with autologous, expanded, bone marrow-derived mesenchymal

stromal cells associated with biphasic calcium phosphate biomaterials in a multicentric, non-comparative trial. *Biomaterials*. 196 (2019) 100-108. doi:10.1016/j.biomaterials.2018.03.033.

G.D. Webler, M.J.M. Zapata, L.C. Agra, E. Barreto, A.O.S. Silva, J.M. Hickmann, E.J.S. Fonseca. Characterization and evaluation of cytotoxicity of biphasic calcium phosphate synthesized by a solid state reaction route. *Current Applied Physics*. 14 (2014) 876-880. doi:10.1016/j.cap.2014.03.026.

H. Onoda, S. Yamazaki. Homogenous hydrothermal synthesis of calcium phosphate with calcium carbonate and corbicula shells. *Journal of Asian Ceramic Societies*. 4 (2016) 403-406. doi:10.1016/j.jascer.2016.10.001.

H. S. Cheung, M. H. Haak. Growth of osteoblasts on porous calcium phosphate ceramic: an in vitro model for biocompatibility study. *Biomaterials*. 10 (1989) 63-67. doi:10.1016/0142-9612(89)90012-4.

I. Manjubala, M. Sivakumar. In-situ synthesis of biphasic calcium phosphate ceramics using microwave irradiation. *Materials Chemistry and Physics*. 71, (2001) 272-278. doi:10.1016/S0254-0584(01)00293-0.

J. Chen, Y. Wang, X. Chen, L. Ren, C. Lai, W. He, Q. Zhang. A simple sol-gel technique for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic powders, *Materials Letters*. 65, 12 (2011), 1923-1926. doi:10.1016/j.matlet.2011.03.076.

J.M. Bouler, P. Pilet, O. Gauthier, E. Verron. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone reconstruction: A review of biological response. *Acta Biomaterialia*. 53 (2017) 1-12. doi:10.1016/j.actbio.2017.01.076.

K. Cheng, S. Zhang, W. Weng. Sol-gel prepared β -TCP/FHA biphasic coatings. *Thin Solid Films*. 515, 1 (2006) 135-140. doi:10.1016/j.tsf.2005.12.051.

K. P. Ananth, A. Joseph Nathanael, Sujin P. Jose, Tae Hwan Oh, D. Mangalaraj, A.M. Ballamurugan. Controlled electrophoretic deposition of HAp/ β -TCP composite coatings on

piranha treated 316L SS for enhanced mechanical and biological properties. *Applied Surface Science*. 353 (2015) 189-199. doi:10.1016/j.apsusc.2015.06.111.

K. S. Shim, H. J. Kim, S. E. Kim, K. Park. Simple surface biofunctionalization of biphasic calcium phosphates for improving osteogenic activity and bone tissue regeneration. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*. 68 (2018) 220-228. doi:10.1016/j.jiec.2018.07.048.

L. Cheng, Y. Shi, F. Ye, H. Bu. Osteoinduction of calcium phosphate biomaterials in small animals. *Materials Science and Engineering: C*. 33 (2013) 1254-1260. doi:10.1016/j.msec.2012.12.023.

L. P. Higueta, A. F. Vargas. Effect of addition of calcium ions and hydrothermal treatment on the morphology of calcium phosphates. *Materials Letters*. 190 (2017) 146-149. doi:10.1016/j.matlet.2016.12.102.

L. Pei, X. Zhang, L. Zhang, Y. Zhang, and Y. Xu. Solvent influence on the morphology and supercapacitor performance of the nickel oxide. *Materials Letters*. 162, (2016) 238–241. doi:10.1016/j.matlet.2015.10.029.

M. Ebrahimi, M. G. Botelho, S. V. Dorozhkin. Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research. *Materials Science and Engineering: C*. 71 (2017) 1293-1312. doi:10.1016/j.msec.2016.11.039.

M. Karimi, S. Hesarak, M. Alizadeh, A. Kazemzadeh. Synthesis of calcium phosphate nanoparticles in deep-eutectic choline chloride–urea medium: Investigating the role of synthesis temperature on phase characteristics and physical properties. *Ceramics International*. 42, 2 (2016) 2780-2788. doi:10.1016/j.ceramint.2015.11.010.

M. L. Santos, A. O. Florentino, M. J. Saeki, M. V. L. Aparecida, A. H. Fook e A. C. Guastaldi. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. *Eclética Química*. 3 (2005). doi:10.1590/S0100-46702005000300004

M.P. Pechini, U.S. Patent 3330697 (1967).

N. Jmal, J. Bouaziz. Mater. Synthesis, characterization and bioactivity of a calcium-phosphate glass-ceramics obtained by the sol-gel processing method. *Materials Science and Engineering: C*. 71 (2017) 279-288. doi:10.1016/j.msec.2016.09.058.

N. Rameshbabu, T.S. S. Kumar, T. G. Prabhakar, V. S. Sastry, K. V. G. K. Murty, K. V. G. K., K. P. Rao. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 3 (2007) 80A. doi:10.1002 / jbm.a.30958.

P. Phatai, C. M. Futralan, S. Utara, P. Khemthong, S. Kamonwannasit. Structural characterization of cerium-doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by an ultrasonic-assisted sol-gel technique. *Results in Physics*. 10 (2018) 956-963. doi:10.1016/j.rinp.2018.08.012.

R. Chakraborty, V. S. Seesala, M. Sen, S. Sengupta, S. Dhara, P. Saha, K. Das, S. Das. MWCNT reinforced bone like calcium phosphate—Hydroxyapatite composite coating developed through pulsed electrodeposition with varying amount of apatite phase and crystallinity to promote superior osteoconduction, cytocompatibility and corrosion protection performance compared to bare metallic implant surface. *Surface and Coatings Technology*. 325 (2017) 496-514. doi:10.1016/j.surfcoat.2017.06.073.

R. D. Piazza, T. A.G. Pelizaro, J. E. Rodriguez-Chanfrou, A. A. L. Serna, Y. Veranes-Pantoja, A. C. Guastaldi. Calcium phosphates nanoparticles: The effect of freeze-drying on particle size reduction. *Materials Chemistry and Physics*. 239 (2020) 122004. doi:10.1016/j.matchemphys.2019.122004.

R. Drevet, J. Fauré, S. Sayen, M. Marle-Spiess, H. E. Btaouri, H. Benhayoune. Electrodeposition of biphasic calcium phosphate coatings with improved dissolution properties. *Materials Chemistry and Physics*. 236 (2019) 121797. doi:10.1016/j.matchemphys.2019.121797.

R. Guo, J.Huang, X. Chen, Q.Luo, L. Luo, Y. Xiong, S. Zhang. Pechini sol-gel synthesis of $\text{La}_2\text{CaB}_8\text{O}_{16}:\text{Eu}^{3+}$ red phosphor and its photoluminescence spectral properties. *Journal of Luminescence*. 206 (2019) 15-20. doi:10.1016/j.jlumin.2018.10.025.

R. Titorenkova, E. Dyulgerova, V. Petkova, R. Ilieva. Carbonation and dehydroxylation of apatite during high energy milling of biphasic Ca-phosphate ceramics. *Ceramics International*. 45, 6 (2019) 7025-7033. doi:10.1016/j.ceramint.2018.12.204.

S. Raynaud, E. Champion, J.P. Lafon, D. Bernache-Assollant. Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio III. Mechanical properties and degradation in solution of hot pressed ceramics. *Biomaterials*. 23 (2002) 1081-1089. doi:10.1016/S0142-9612(01)00220-4.

S. Roopalakshmi, R. Ravishankar, Shrisha. Belaldavar, R. G. S. V Prasad, A. R Phani. (2017). Investigation of Structural and Morphological Characteristic of Hydroxyapatite Synthesized by Sol-Gel Process. *Materials Today: Proceedings*, 4, 12026-12031. doi:10.1016/j.matpr.2017.09.126

S. V. Dorozhkin. Bioceramics of calcium orthophosphates, *Biomaterials*. 31 (2010) 1465-1485. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.11.050.

W.F. Ho, H.C. Hsu, S. K. Hsu, C.W. Hung, S. C. Wu. Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid state reaction. *Ceramics International*. 39, 6 (2013) 6467-6473. doi:10.1016/j.ceramint.2013.01.076.

Y. Omori, M. Okada, S. Takeda, N. Matsumoto. Fabrication of dispersible calcium phosphate nanocrystals via a modified Pechini method under non-stoichiometric conditions. *Materials Science and Engineering: C*. 42 (2014) 562-568. doi:10.1016/j.msec.2014.05.071.

Y. Zhu, K. Zhang, R. Zhao, X. Ye, X. Chen, Z. Xiao, X. Yang, X. Zhu, K.Zhang, Y. Fan, X. Zhang. Bone regeneration with micro/nano hybrid-structured biphasic calcium phosphate bioceramics at segmental bone defect and the induced immunoregulation of MSCs. *Biomaterials*. 147 (2017) 133-144. doi:10.1016/j.biomaterials.2017.09.018.

Z. Mohammadi, A. S. M. Mesgar, F. Rasouli–Disfani. Preparation and characterization of single phase, biphasic and triphasic calcium phosphate whisker-like fibers by homogenous precipitation using urea. *Ceramics International*. 42 (2016) 6955-6961. doi:10.1016/j.ceramint.2016.01.081.

**CAPÍTULO 3 – SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE
CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI VISANDO APLICAÇÕES
BIOMÉDICAS**

SÍNTESE DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATOS DE CÁLCIO PELO MÉTODO PECHINI VISANDO APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Geysivana Késsya Garcia Carvalho¹, Aluska do Nascimento Simões Braga² e Edson Cavalcanti Silva Filho³.

¹Universidade Federal do Piauí: geysivanacarvalho@hotmail.com

²Universidade Federal do Piauí: aluskasimoes@hotmail.com

³Universidade Federal do Piauí: edsonfilho@ufpi.edu.br

Resumo

Os fosfatos de cálcio (CaPs) destacam-se em meio as demais biocerâmicas por sua vasta aplicação no campo da biomedicina, sendo suas fases mais utilizadas a hidroxiapatita e o beta fosfato tricálcico em virtude da similaridade com osso natural. Atualmente existem variados métodos de obtenção dos CaPs, sínteses desenvolvidas por meio de rotas químicas, como por exemplo, reação em estado sólido, hidrólise, processo hidrotermal, precipitação química e desenvolvimento em sol-gel, esta última deu origem ao método Pechini. As abordagens do método Pechini atraem muita atenção devido às suas vantagens, que incluem, mistura molecular homogênea, partículas nanocristalinas, baixa temperatura de processamento, capacidade de gerar partículas nanométricas e por sua simplicidade de realização. Apesar de tais atrativos, tal método é pouco discutido para a síntese de pós de CaPs. Assim, este trabalho teve como objetivo estudar a síntese de CaPs pelo método Pechini, analisando a influência de alguns dos parâmetros na síntese, tais como: razão entre o ácido cítrico e cátions metálicos (AC/CM) e da razão entre ácido cítrico e etileno glicol (AC/EG). As amostras foram caracterizadas por difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), análise termogravimétrica (TG/DTG), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia de energia dispersiva (EDS) e teste bacteriano. Os resultados DRX, FTIR e EDS, confirmaram a obtenção da cerâmica bifásica de HAp e β -TCP, não existindo nenhuma outra fase de impureza, para todos os parâmetros estudados. A relação AC/CM e AC/EG influenciou na percentagem das fases de HAp e β -TCP formada nas amostras. A análise termogravimétrica demonstrou que as amostras apresentaram perda de massa de aproximadamente 26%. Através do MEV constatou-se a formação de pós-aglomerados e de formato irregular. O teste bacteriológico realizado foi satisfatório onde as amostras apresentaram porcentagem acima 25% de inibição para crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.

Palavras-chave: Síntese, método Pechini, cerâmica bifásica.

BIOCERAMIC SYNTHESIS OF CALCIUM PHOSPHATE BY THE PECHINI METHOD FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Geysivana Késsya Garcia Carvalho¹, Aluska do Nascimento Simões Braga² e Edson Cavalcanti Silva Filho³.

¹Universidade Federal do Piauí: geysivanacarvalho@hotmail.com

²Universidade Federal do Piauí: aluskasimoes@hotmail.com

³Universidade Federal do Piauí: edsonfilho@ufpi.edu.br

Abstract

Calcium phosphates (CaPs) stand out among other bioceramics due to their wide application in the field of biomedicine, with their most used phases being hydroxyapatite and beta-tricalcium phosphate due to the similarity with natural bone. Currently, there are several methods of obtaining CaPs, syntheses developed through chemical routes, such as, reaction in solid state, hydrolysis, hydrothermal process, chemical precipitation and development in sol-gel, the latter gave rise to the Pechini method. The approaches of the Pechini method attract much attention due to their advantages, which include, homogeneous molecular mixture, nanocrystalline particles, low processing temperature, ability to generate nanometric particles and for its simplicity of realization. Despite such attractions, this method is little discussed for the synthesis of CaPs powders. Thus, this work aimed to study the synthesis of CaPs by the Pechini method, analyzing the influence of some of the parameters on the synthesis, such as: ratio between citric acid and metallic cations (AC / CM) and the ratio between citric acid and ethylene glycol (AC / EG). The samples were characterized by X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), thermogravimetric analysis (TG / DTG), scanning electron microscopy (SEM), dispersive energy spectroscopy (EDS) and bacterial testing. The DRX, FTIR and EDS results confirmed the obtaining of the biphasic ceramic of HAp and β -TCP, with no other impurity phase, for all the studied parameters. The AC / CM and AC / EG ratio influenced the percentage of the HAp and β -TCP phases formed in the samples. The thermogravimetric analysis showed that the samples showed a loss of mass of approximately 26%. Through the SEM, the formation of irregularly shaped post-agglomerates was observed. The bacteriological test performed was satisfactory where the samples showed a percentage above 25% inhibition for the growth of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Keywords: Synthesis, Pechini method, biphasic ceramics.

1 INTRODUÇÃO

O uso de biomateriais visando à recuperação ou substituição de tecidos ósseos tornou-se um procedimento de rotina nos campos da medicina e odontologia, necessários em aplicações, como revestimento ou construção de próteses, cicatrização de fraturas ou preenchimento de grandes defeitos ósseos (Munerato, et al. 2020; Nihouannen, et al. 2017). Segundo Ghasemi-Mobarakeh, et al. (2019) na conferência sobre as definições relacionadas aos biomateriais realizada em Chengdu na China em 2018, a definição de biomaterial alcançou um consenso de opinião, definindo-o com um material projetado para assumir uma forma que possa direcionar, por meio de interações com sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico.

Os biomateriais classificam-se em naturais (ossos, cartilagens, corais etc.) ou sintéticos (biomateriais metálicos, poliméricos, cerâmicos e compósitos) (Zhang, et al. 2019; Kargozar, Ramakrishna e Mozafari, 2019). Na produção existem necessidades a serem consideradas, características de biocompatibilidade (capacidade do material executar uma resposta apropriada no hospedeiro em aplicação específica) (Ghasemi-Mobarakeh, et al. 2019), osteocondução (crescimento do tecido ósseo sobre a superfície) (Chakraborty, et al. 2018), osteoindução (ação ou processo de estimulação da osteogênese) (Cheng, et al. 2013), serem bioinertes (não reativo e atóxico) e semelhantes com a estrutura química do mineral ósseo (Prince, et al. 2019).

Assim, nas últimas décadas, pesquisadores estudam diferentes biomateriais relacionados ao desenvolvimento de um novo material que constitua o substituto de enxerto ósseo ideal (Kolk, et al. 2012). Para resolver esse problema, vários tipos de materiais biológicos foram desenvolvidos e utilizados, porém a biocerâmica de fosfato de cálcio se

destaca devido à sua excelente compatibilidade com o tecido ósseo e sua similaridade química com o conteúdo mineral dos ossos e dentes (Zhu, et al. 2017).

De um modo geral, o termo “biocerâmico” é bastante empregado no campo da pesquisa definindo-o como, um biomaterial inorgânico, possuindo estrutura cristalina ou amorfa (Zhou, et al. 2019). Estudos anteriores *in vitro* e *in vivo* relataram que as CaPs, independentemente de qual forma (pó, revestimento ou porosa) ou estrutura (cristalina ou amorfa) quando usadas, suportam consistentemente a ligação, proliferação e diferenciação de células osteogênicas (Dorozhkin, 2010; Arinzeh, et al. 2005; Kurashina, et al. 2005; Tang, et al. 2017).

Desse modo há atenção cada vez maior dada aos fosfatos de cálcio, em particular as apatitas, um interesse impulsionado principalmente pelo aperfeiçoamento e fabricação de biomateriais (Peña e Vallet-Regi, 2003). A hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) é um fosfato de cálcio bem conhecido, pertencente à família da apatita na qual encontra aplicações em diversos campos (Sabu, et al. 2019)), como exemplo, material de revestimento de implantes (Shamray, et al. 2019), transportador de drogas quimioterápicos e antibióticos (Yilmaz, Alshemary e Evis, 2019), mais também pode ser utilizado como adsorvente para remoção de poluentes fenolíticos (Lin, et al. 2009), desfluoretação da água (Chen, et al. 2018), catálise (Fihri, et al. 2017), utilizada no campo de pesquisas de engenharia de tecidos (Qazi, et al. 2015) entre outros campos semelhantes.

A HAp é bastante explorada na área biomédica, devido suas características: estrutura semelhante ao mineral do osso, biocompatibilidade, osteocondução, estabilidade em relação à bioabsorção, bioativa e atóxica (Nawang, et al. 2019). A HAp com razão molar Ca/P estequiométrica de 1,67 (Omori, et al. 2014), detém estrutura cristalina formada por íons cálcio (Ca) e fósforo (P), sendo polimorfa de duas fases diferentes, monoclinica ou hexagonal (Roopalakshmi, et al. 2017), está última sendo mais frequentemente encontrada.

No entanto, a HAp pura detém a desvantagem da biodegradação lenta durante o reparo de defeitos ósseos. Portanto, para evitar a falha ou reação lenta dos materiais com os tecidos ósseos, a seleção de fases apropriadas é essencial para manter o equilíbrio da dissolução dos materiais e da nova formação óssea (Jiang, et al. 2019). Assim, o β -TCP têm recebido bastante atenção para ser empregado como substituto do enxerto ósseo, pois se dissolve gradualmente para deixar alguns poros para a formação óssea do novo hospedeiro biológico e acelera o processo de precipitação da apatita (Ebrahimi, et al. 2017). A mistura de HAp e β -TCP produz fosfato de cálcio bifásico (BCP) que possui a reatividade do β -TCP e a estabilidade da HAp, proporcionando mais bioatividade, aumentando o crescimento ósseo e garantindo melhor resistência dos implantes à tensão (Aghayan e Rodríguez, 2012).

Nos últimos anos, diversas rotas de síntese para a produção de pós CaP's foram desenvolvidas, os métodos de produção podem ser classificados em mais de quatro categorias diferentes: método seco (Mandal, et al. 2014), método úmido (Stipniece, et al. 2014), método assistido por micro-ondas (Sangeetha, et al. 2019), método mecânico-químico (Ferro e Guedes, 2019), ultrassom (Nikolaev, et al. 2018) e métodos variados. Dentre os métodos citados a técnica por via úmida, sol-gel destaca-se, por ser baseada na reação de hidrólise e policondensação de precursores, tipicamente alcóxidos metálicos e cloretos metálicos (Guo, et al. 2019). A síntese sol-gel é uma técnica simples para produzir materiais, pois não precisa de alto valor de pH ou altas temperaturas de sinterização. Este método oferece uma mistura molecular de cálcio e fósforo, o que melhora a homogeneidade química dos materiais resultantes (Rajabi-Zamani, et al. 2008). Além disso, o processamento CaP's por sol-gel geralmente resulta em uma microestrutura de grão fino contendo uma mistura de cristais nanométricos bem aceita pelo tecido hospedeiro (Liu, et al. 2002).

O método Pechini técnica derivada do sol-gel aperfeiçoou ainda mais o sistema sol (Guo, et al. 2019), foi criada e patenteada no ano 1963 por Magio Pechini. Esta patente foi

elaborada com o propósito de produzir titanatos e niobatos por meio de uma resina polimérica obtida através de um ácido policarboxílico e de um poliálcool (Peña e Vallet-Regi, 2003). O método baseia-se na preparação de uma solução líquida cuja homogeneidade é retida no estado sólido. Desta forma, não apenas um controle preciso da concentração de cátions é possível, mas também o processo de difusão é substancialmente favorecido por meio da solução líquida.

O soluto de sais metálicos em ácido policarboxílico, forma citratos que se solidificam pela adição de um diol aumentando a viscosidade da solução, devido à formação de polímeros tridimensionais do tipo éster. A formação da resina evita assim a segregação parcial, o que modificaria a homogeneidade original da solução (Peña e Vallet-Regi, 2003).

Apesar de tais atrativos, tal método foi pouquíssimo estudado até o momento para a síntese de pós de fosfato de cálcio (Peña e Vallet-Regi, 2003). Peña e Vallet-Regi (2003) sintetizaram diversas fases de fosfatos de cálcio via método Pechini, entre elas a hidroxiapatita, alfa e beta-fosfatos tricálcico. Nove composições variando a razão molar Ca/P entre 1,5 e 1,667 foram sintetizadas. As soluções foram preparadas em meio aquoso utilizando a relação ácido cítrico e etileno glicol de 1:1. Quando a relação Ca/P foi de 1,667 e com um tratamento térmico de 1.000°C/24h a hidroxiapatita monofásica foi obtida.

Assim, apesar dos fosfatos de cálcio serem materiais extensivamente estudados na literatura, percebe-se a escassez de pesquisas que utilizaram o método Pechini para sua obtenção, analisando a influência de diversos outros parâmetros na síntese e estudos que viabilizem o uso *in vivo* do CaP's produzido por tal rota.

Neste contexto este trabalho tem como objetivo sintetizar pós CaP's pelo método Pechini, estudando a influência, da razão entre o ácido cítrico e os cátions metálicos (AC/CM) e da razão entre ácido cítrico e o etileno glicol (AC/EG) na síntese, modificando as condições estabelecidas na patente de Pechini, de modo a melhor compreender a extensão dessas

variáveis no processo de síntese. Assim, acredita-se que este estudo possui um conhecimento inovador, apresentando um elevado potencial científico, que pode contribuir para o desenvolvimento da tecnologia nacional, na geração de patentes e no aumento da produtividade, em um setor que vem se destacando em muito na nanotecnologia cerâmica.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

Os reagentes utilizados para síntese foram: ácido cítrico anidro P.A - $C_6H_8O_7$ (Cinética); nitrato de cálcio P.A - $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ (Cinética); fosfato de amônio bibásico P.A - $(NH_4)_2HPO_4$ (Neon); etileno glicol P.A - $HOCH_2CH_2OH$, (Synth) e água deionizada.

2.2 SÍNTESE DAS BIOCERÂMICAS PELO MÉTODO PECHINI

Para realização das sínteses, previamente adicionou-se 100 ml de água deionizada, em um frasco reacional sob agitação constante, à temperatura de 70°C. O ácido cítrico, nitrato de cálcio e fosfato de amônio bibásico foram adicionados separadamente na solução até a sua total dissolução. As proporções entre o ácido cítrico e os cátions metálicos (AC/CM) foram variadas em 2:1 e 4:1. Para iniciar às reações de esterificação e poliesterificação, adicionou-se o etileno glicol (EG), em seguida a temperatura foi elevada a 120°C, formando o gel. As proporções do ácido cítrico e do etileno glicol (AC/EG) também foram variadas em 40/60, 50/50 e 60/40, para cada relação de AC/CM utilizada (2:1 e 4:1), totalizando seis sínteses.

A resina formada passou por tratamento térmico (pirólise) em forno mufla na temperatura de 400°C/1h com uma taxa de aquecimento de 10°C/min. O puff formado foi desaglomerado e passado em peneira ABNT n°200 (0,074 mm). O pó resultante foi calcinado

à temperatura 1.000°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min durante 1h, para a formação da biocerâmica. A Figura 1 representa esquematicamente a síntese.

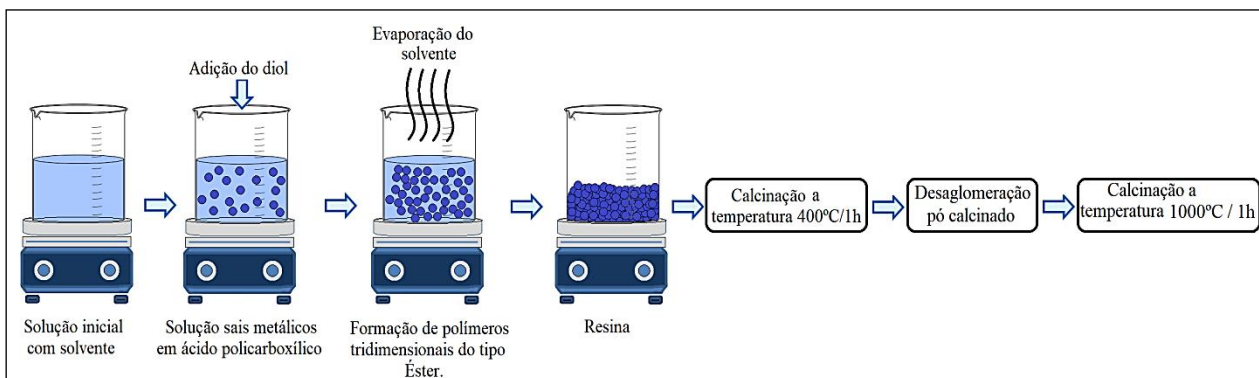


Figura 1- Rota de síntese realizada. Fonte: Autoria própria (2019).

A nomenclatura adotada para descrever as amostras sintetizadas foi a seguinte:

AC representa a variação entre o ácido cítrico e os cátions metálicos, seguido do número 2 ou 4, quando essa relação foi 2:1 e 4:1 respectivamente. AE representa a variação entre o ácido cítrico e o etileno glicol seguido de 4, 5 ou 6, quando essa relação foi de 40/60, 50/50, 60/40, respectivamente. Os parâmetros usados para a realização da síntese são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Nomenclatura das amostras conforme os parâmetros adotados para cada proporção.

Nomenclatura da amostra	Proporção AC/CM	Proporção AC/EG
AC2-AE4	2/1	40/60
AC4-AE4	4/1	40/60
AC2-AE5	2/1	50/50
AC4-AE5	4/1	50/50
AC2-AE6	2/1	60/40
AC4-AE6	4/1	60/40

Fonte: Autoria própria (2019).

2.3 CARACTERIZAÇÕES

2.3.1 Difração de raios X (DRX)

As amostras sintetizadas foram caracterizadas por difração de raios X, para identificação das fases formadas, quantificação das fases, cálculo do percentual de cristalinidade e do tamanho de cristalito. Os difratogramas das amostras foram obtidos no equipamento da Shimadzu, modelo XRD-6000, localizado no Laboratório de Caracterização de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (LCM/UAEMa/UFCG), utilizando radiação Cu-K α (40kV/30mA), varredura de 20° a 60°, com velocidade de 2°/min em intervalos de 0,02° e tempo de 0,6 segundos. Para identificação e quantificação das fases utilizou-se o *software X'pert Panalytical High Score Plus* e o banco de dados JCPDF (Joint Committee on Powder Diffraction and Standards). A cristalinidade foi obtida no programa da Shimadzu *Cristalinity*, o qual se utilizou o coeficiente de correção de Lorentz, onde foi possível calcular o percentual de fase cristalina.

O cálculo do tamanho cristalito foi realizado a partir do pico da reflexão basal de maior intensidade por meio da deconvolução do pico por meio da equação (1) conhecida como equação de Scherrer (1918).

$$D = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cdot \cos\theta} \quad (1)$$

Na formulação, D corresponde ao tamanho médio dos cristalitos, K é a constante da forma dos cristais, que para o caso analisado corresponde a 0,90. O valor de β equivale à largura meia altura do pico de difração e por fim θ é o ângulo de Bragg do pico difratado.

2.3.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para realização da caracterização foi definido um intervalo de 400 a 4.000 cm^{-1} em um espectrômetro BunKer modelo TENSOR 27, localizado no Laboratório de Física dos Materiais do Centro de Ciências da Natureza da Universidade Federal do Piauí (FISMAT/CNN/UFPI). A análise foi realizada por meio de pastilhas contendo o pó das amostras e KBr de grau espectroscópico na proporção de 0,3 mg de pó para 300 mg de KBr.

2.3.3 Análise termogravimétrica (TG/DTG)

As amostras foram caracterizadas por análise termogravimétrica (TG/DTG), realizadas em um analisador térmico, modelo TA-60, da Shimadzu, localizado no Laboratório de Tecnologia dos Materiais da Universidade Federal de Campina Grande (LTM/UFCG), com taxa de aquecimento de 10°C/min, em atmosfera de nitrogênio, usando um cadinho de alumina e faixa de temperatura ambiente (25°C) até a temperatura máxima de 1000°C.

2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A Microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi realizado em um microscópio da marca FEI COMPANY, modelo Quanta FEG 250, localizado no Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados no Centro de Tecnologia da Universidade Federal do Piauí (LIMAV/CT/UFPI), com tensão de aceleração de 1 a 30 kV, equipado com EDS de SDD (*Silicon drift detectors*), marca Ametek, modelo HX-1001, detector Apollo X-SDD. O acessório EDX do MEV foi utilizado para realizar as espectroscopias por energia dispersiva de Raios X das amostras, que foram fixadas com fita de carbono para condução.

2.3.5 Teste bacteriano

2.3.5.1 Linhagens bacterianas

Foram utilizadas as cepas bacterianas de espécies Gram-positivas e Gram-negativas padrão *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e *Escherichia coli* (ATCC 25922), respectivamente, ambas fornecidas pelo Laboratório de Pesquisa em Microbiologia da Universidade Federal do Piauí (UFPI).

2.3.5.2 Preparo do inóculo

As culturas foram obtidas transferindo-se uma alçada do crescimento bacteriano em ágar nutriente para um tubo falcon contendo 3,0 mL do meio *Brain Heart Infusion* (BHI), seguido de incubação a 37 °C por 24 h. O inóculo bacteriano utilizado nos bioensaios foi preparado transferindo-se 1,0 mL da cultura para um tubo falcon contendo 9,0 mL do meio BHI.

2.3.5.3 Atividade antibacteriana pelo método de contato direto

O teste de contato direto em meio sólido foi realizado de acordo com Zheng e Zhu (2003). Para realização destes ensaios, foram transferidos 100µg/mL do material a ser testado e 100 µL da suspensão do inóculo padronizado a $1,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colônia por mL (UFC/mL), para placas de Petri contendo o meio ágar Mueller Hinton e semeadas com o auxílio de uma alça de Drigalski pelo método *spread plate*, seguido de incubação a 37°C por 24 h. Como controle positivo semeou-se apenas os inóculos bacterianos nas placas. Os ensaios foram realizados em triplicata.

O efeito inibitório produzido por cada solução-teste foi calculado de acordo com a equação 2:

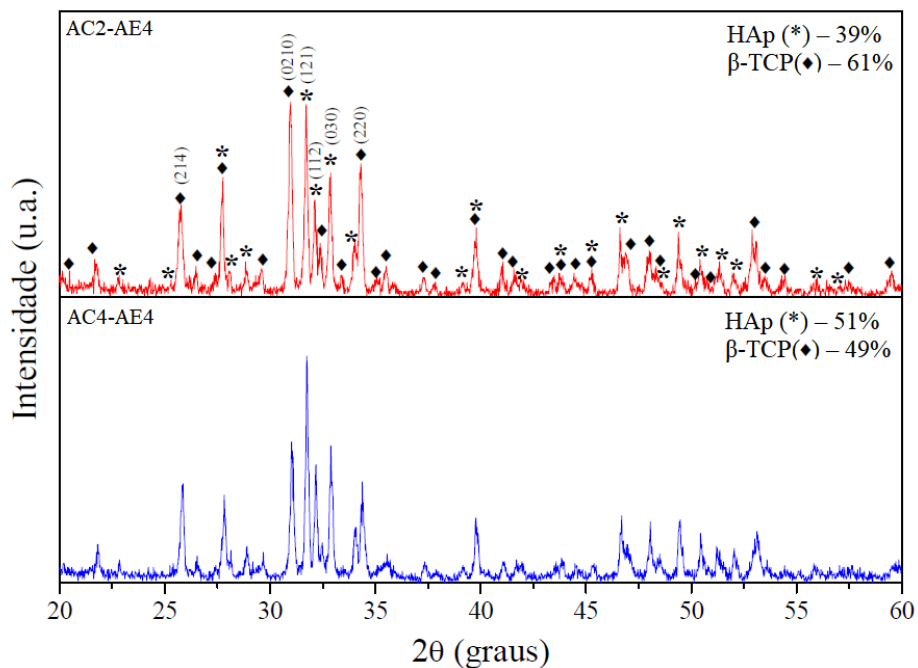
$$\eta = \frac{N1 - N2}{N1} * 100 \% \quad (2)$$

Onde η é definido como o efeito inibitório, N1 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia das placas controle e N2 é a média aritmética das unidades formadoras de colônia de cada uma das amostras testadas

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 RESULTADOS DA DIFRAÇÃO DE RAIOS X

A Figura 2 ilustra os difratogramas de raios X das amostras sintetizadas variando a relação de AC/cátions em 2:1 e 4:1, e também variando a relação de AC/EG nas proporções de 40/60, 50/50, 60/40.



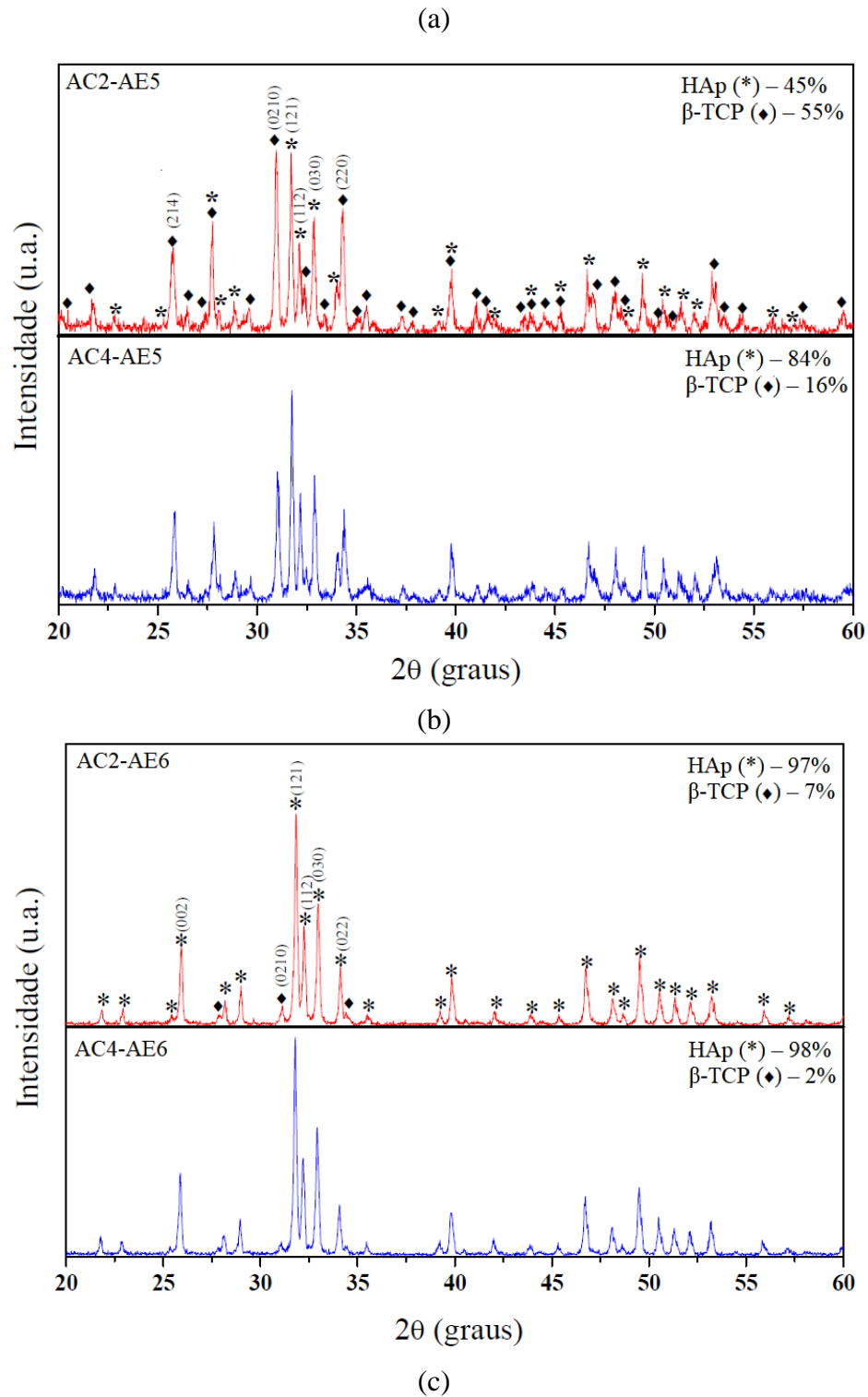


Figura 2 - Difratomogramas de raios X das amostras sintetizadas usando a relação de AC/EG nas proporções de 40/60 (a), 50/50 (b) e 60/40 (c), variando a relação de AC/cátions em 2/1 e 4/1. Fonte: Autoria própria (2019).

Analisando os difratogramas da Figura 2, percebe-se a formação de uma cerâmica de fosfato de cálcio bifásica, para todas as amostras sintetizadas, com picos característicos da

fase HAp (ficha padrão JCPDS 009-0169) e da fase beta fosfato tricálcico (ficha padrão JCPDS 009-0432). Observa-se, para todas as amostras, que o aumento da razão de AC/CM de 2:1 para 4:1 provocou a redução dos picos β -TCP, como exemplo, nos picos $27,8^\circ$ (2 1 4), $31,07^\circ$ (2 1 0), $32,42^\circ$ (1 2 8), $34,23^\circ$ (2 2 0), favorecendo o aumento da fase HAp formada na biocerâmica.

A redução da quantificação da fase β -TCP nas amostras, deve-se provavelmente ao teor crescente de ácido cítrico na solução, pois o mesmo possui em sua composição três grupos carboxila ($-\text{COOH}$), que em solução tornam-se íons citratos devido à perda de um próton e de uma hidroxila ($-\text{OH}$) central, tais grupos atuam como agente quelante, sequestrando uma maior quantidade de íons metálicos na solução e formando um complexo, evitando assim segregação dos íons de PO_4^{3-} que ocasiona a formação da fase β -TCP (Guo, et al. 2019; Bakar, et al. 2010). Comprovando que o teor de ácido cítrico em relação aos cátions metálicos tem uma influência significativa na formação de fases, como reportado na literatura (Jouannaux, et al. 2019). Peña e Vallet-Regi (2003) afirmaram que a fase de β -TCP forma-se devido à evaporação da água durante a síntese, ocasionando o aumento da viscosidade, contribuindo para o aprisionamento dos ânions PO_4^{3-} na rede do polímero, levando-o a segregação, induzindo a formação da fase β -TCP. Autores afirmam que a presença da fase β -TCP, pode ocorrer também pela má complexação do grupo PO_4^{3-} , ocasionada pela ineficiente homogeneidade da solução ou por curto tempo de reação dos precursores com ácido cítrico (Roopalakshmi, et al. 2017).

Analisando a variação das proporções de AC/EG (40/60, 50/50 e 60/40), nota-se que à medida que o teor de etileno glicol diminui (Figura 2a para 2c) o percentual da fase de HAp aumenta, corroborando com os estudos de Kareiva, et al. (2016), que estudaram a influência dos vários tipos de agentes complexantes, bem como sua maior ou menor

quantidade na síntese da HAp pelo método sol-gel, concluindo que a menor quantidade de etileno glicol favorece a formação da fase HAp.

A Tabela 2 exibe os resultados da quantificação de fases, tamanho de cristalito e cristalinidade das amostras.

Tabela 2 - Resultado da quantificação de fases, tamanho cristalito e grau de cristalinidade das amostras.

Amostra	Quantificação das fases (%)		Tamanho cristalito (nm)	Grau de cristalinidade (%)
	HAp	β -TCP		
AC2-AE4	39	61	60,6	82,3
AC4-AE4	51	49	74,4	83,4
AC2-AE5	45	55	61,1	88,1
AC4-AE5	84	16	67,5	89,3
AC2-AE6	93	7	65,6	87,4
AC4-AE6	98	2	63,1	94,8

Fonte: Autoria própria (2019).

Os tamanhos médios de cristalito variaram de 60,6 a 74,4 nm, evidenciando o caráter nanométrico das partículas, estando de acordo com a literatura (Stötzel, et al. 2009; Gao, et al. 2009; Dorozhkin, 2010). Todas as amostras apresentaram elevados valores de cristalinidade, variando de 82,3 a 94,8 %, onde estes aumentaram à medida que se elevou a proporção do ácido cítrico em relação tanto aos cátions metálicos como em relação ao etileno glicol.

De acordo com os difratogramas de raios X as amostras sintetizadas obtiveram diferentes proporções HAp/ β -TCP, então, para as análises seguintes considerou-se três amostras: as que obtiveram maior porcentagem de fase HAp (amostra AC4-AE6) e de fase β -TCP (amostra AC2-AE4), e a amostra com quantificação intermediária das fases HAp e β -TCP (amostra AC2-AE5).

3.2 ANÁLISE ESPECTROSCÓPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Os espectros de infravermelho são úteis para a caracterização química dos principais grupos funcionais de cerâmicas bifásicas. O FTIR é uma técnica muito sensível para determinar a composição da fase e a transformação de uma fase para outra (Ebrahimi, et al. 2017). A Figura 3 exibe os espectros de infravermelho das amostras AC4-AE6 (a), AC2-AE4 (b) e AC2-AE5 (c). A partir da análise FTIR, existem três grupos principais de composição nas amostras: OH^- e PO_4^{3-} , CO_3^{2-} e HPO_3^{4-} .

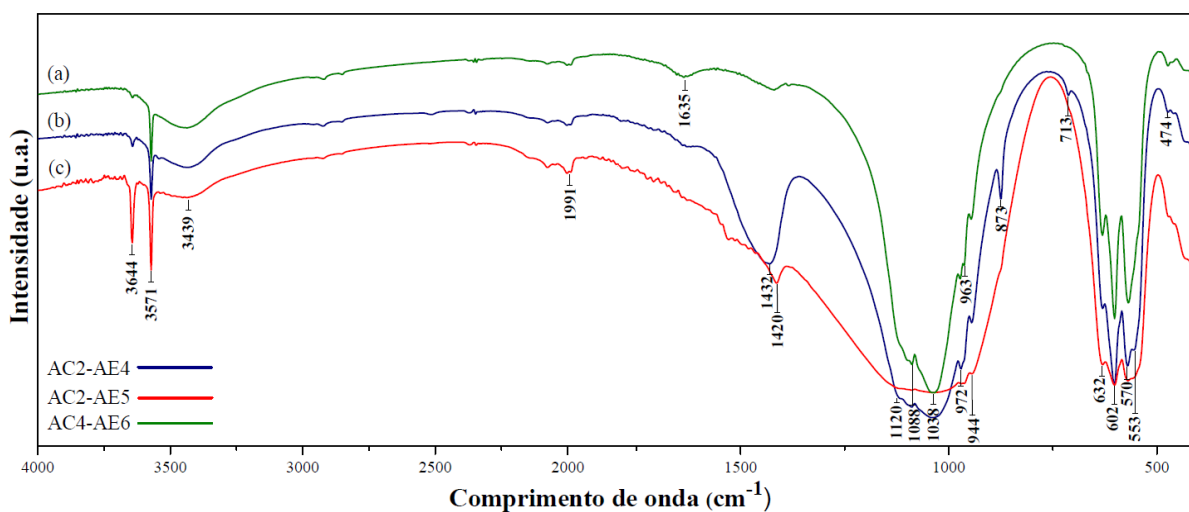


Figura 3 - FTIR das amostras sintetizadas (a) amostra AC4-AE6 (b) amostra AC2-AE4 e (c) amostra AC2-AE5. Fonte: Autoria própria (2019).

As bandas que provam a presença da HAp são 632, 3.469, 3.571 e 3.644 cm^{-1} correspondendo ao alongamento da vibração do grupo da hidroxila (OH^-), indicando a existência de moléculas de água fisicamente absorvidas (Phatai, et al. 2018). No entanto, essas bandas não são encontradas na fase β -TCP, pois sua estrutura química não possui o grupo OH^- (Ebrahimi, et al. 2017). As bandas do grupo PO_4^{3-} da fase HAp ocorrem em 963 cm^{-1} , 602/474, 570 cm^{-1} , 1.038/1.088 e 1.432 cm^{-1} (Rameshbabu, et al. 2007; Omori, et al. 2014;

Iqbal, et al. 2012). As bandas características para o grupo do fosfato (PO_4^{3-}) da fase β -TCP apareceram em 553, 944/ 972 e 1.120 cm^{-1} (Ebrahimi, et al. 2017).

A banda 873 e 1.420 cm^{-1} pertencem ao grupo dos carbonatos (CO_3^{2-}) e são atribuídas a posições de fosfato substituída por CO_3^{2-} da rede de HAp, formando hidroxiapatita carbonatada do tipo B (Herliansyah, et al. 2009; Ben-Arfa, et al. 2017). A banda em 1.635 cm^{-1} corresponde à água adsorvida, ocorrendo devido à vibração de alongamento da água livre (Piazza, et al. 2020). A faixa com menor intensidade localizada 1.991 cm^{-1} pode corresponder ao grupo HPO_4^{2-} (Tripathise e Basu, 2012).

É possível observar que à medida que a quantidade da fase de HAp aumenta, (da amostra AC2-AE4 para a amostra AC4-AE6) ocorre a redução das bandas 1.420 e 873 cm^{-1} , provenientes dos íons CO_3^{2-} que substituíram parcialmente os íons PO_4^{3-} , resultando na contração dos eixos α e expansão do eixo c da célula unitária, ocasionado variação nas posições atômicas, mudança na morfologia dos cristalitos e diminuição da cristalinidade (Baing, et al. 1999), justificando o aumento da cristalinidade e dos cristalitos conforme o desaparecimento dessas bandas.

Ademais, as bandas 553 , 713 e 1.120 cm^{-1} desapareceram na amostra AC4-AE6 que obteve o maior percentual de fase HAp, confirmando a diminuição da fase β -TCP. A análise de FTIR confirma que as amostras sintetizadas apresentaram os grupos funcionais das fases HAp e β -TCP, corroborando com os resultados dos padrões de DRX.

3.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TG/DTG)

As análises termogravimétricas (TG/DTG) das amostras AC4-AE6 (a), AC2-AE4 (b) e AC2-AE5 (c) estão demonstradas na Figura 4.

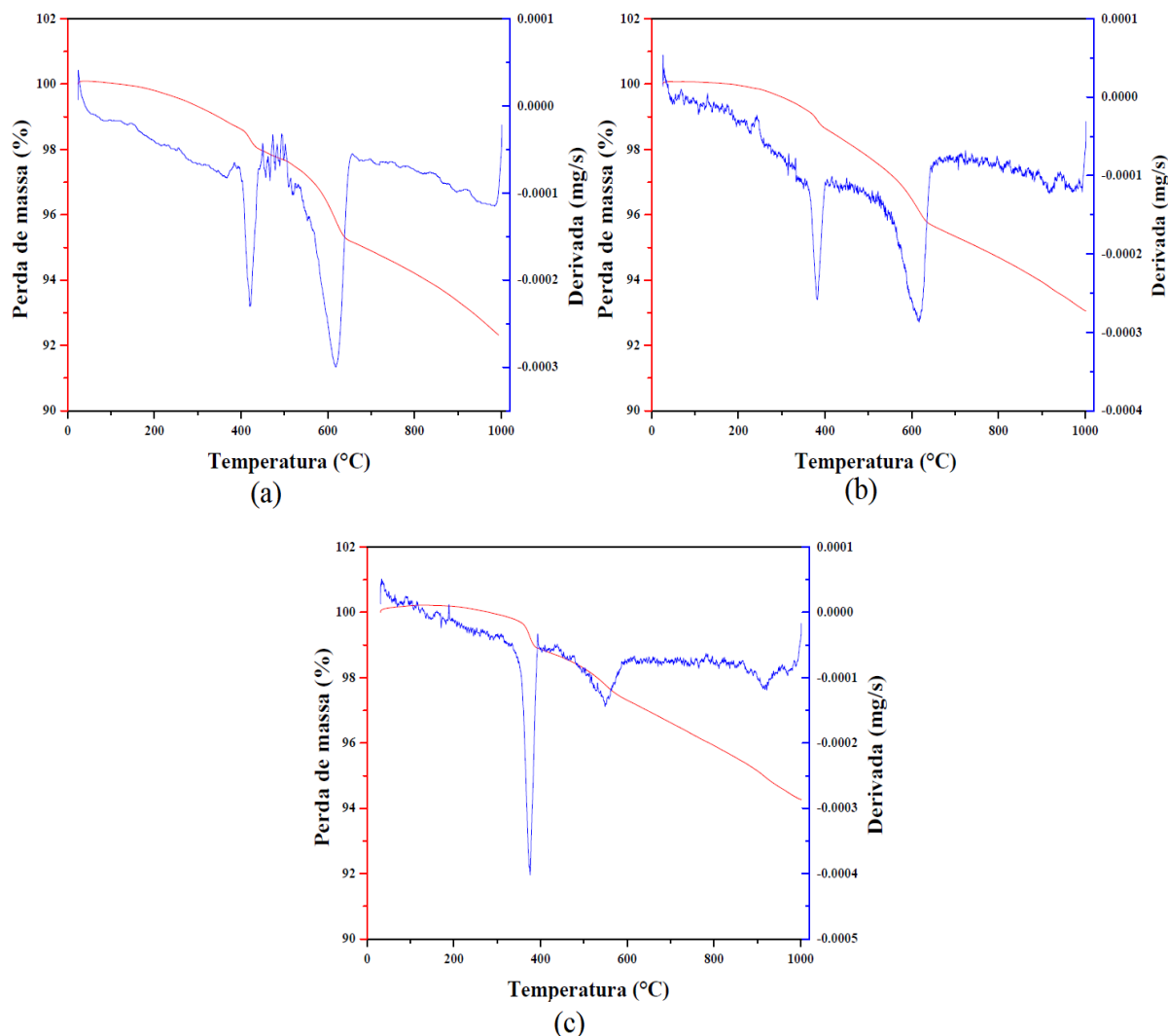


Figura 4 - Curvas de TG/DTG das amostras AC4-AE6 (a), AC2-AE4 (b) e AC2-AE5 (c).
Fonte: Autoria própria (2019).

Analisando a Figura 4 é possível observar três picos endotérmicos para as três amostras analisadas. Os eventos ocorreram em faixas de temperaturas similares, sendo referente as mesmas perdas de massa, para todas as amostras. O primeiro evento ocorreu em aproximadamente de 350 a 400°C, correspondendo à perda de água adsorvida (desidratação da ligação da água da superfície de HAp) e perda de água da rede (Manjubala e Sivakumar, 2001), além da decomposição de parte da matéria orgânica (Ramirez-Gutierrez, et al. 2017).

Nesse primeiro evento as perdas de massa foram de 1,16; 1,37 e 1,15% para AC4-AE6, AC2-AE4 e AC2-AE5, respectivamente. O segundo evento ocorreu com temperaturas de decomposição máxima de 618, 616 e 548°C, para as amostras AC4-AE6, AC2-AE4 e

AC2-AE5, simultaneamente, e está relacionado à descarbonização (Sofronia, et al. 2014). As perdas de massa para o segundo evento foram de 6,51% para a amostra AC4-AE6, 4,37% para a amostra AC2-AE4 e 5,82% para a amostra AC2-AE5. O terceiro e último evento ocorreu nas temperaturas de aproximadamente 880°C.

As perdas de massa totais para as amostras AC4-AE6, AC2-AE4 e AC2-AE5 foram de 7,67; 5,74 e 6,97%, respectivamente. A porcentagem baixa da perda de massa total das amostras é importante principalmente durante a sinterização das cerâmicas BCP ou durante o processamento de revestimentos.

3.4 ANÁLISE MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A Figura 5 exibe a morfologia obtida por microscopia eletrônica de varredura (MEV) das amostras AC4-AE6, AC2-AE4 e AC2-AE5.

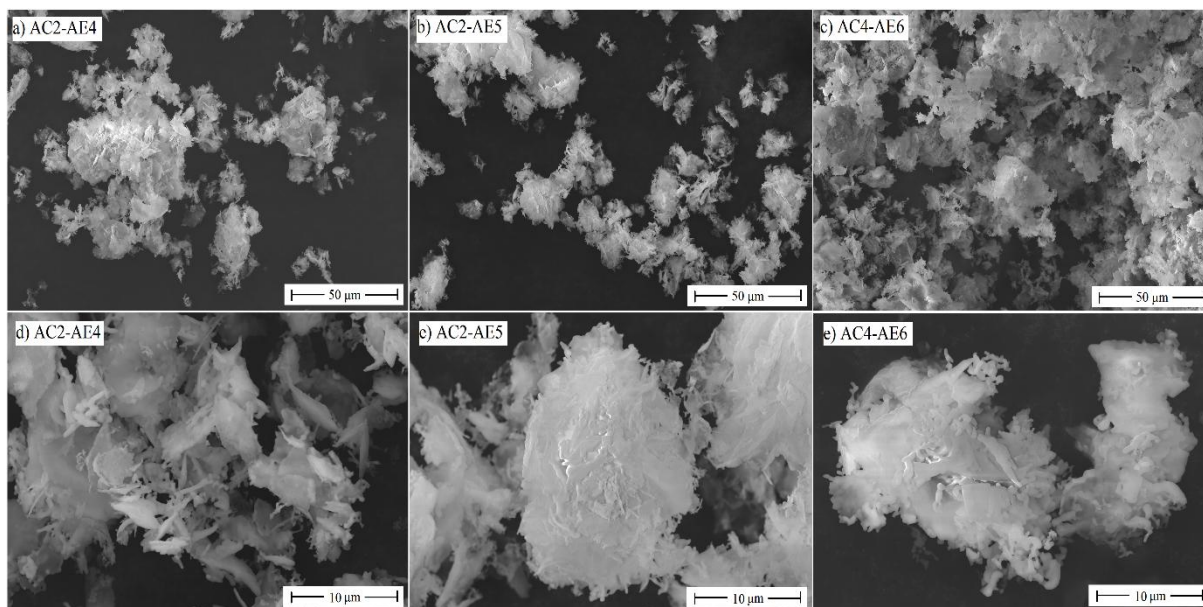


Figura 5 - MEV das amostras AC2-AE4 (a;d), AC2-AE5(b;e) e AC4-AE6 (c;f). Fonte: Autoria própria (2019).

Analisando as micrografias das amostras percebe-se que as partículas estão agrupadas formando aglomerados com formato irregular, não sendo possível distinguir a fase HAp e β -TCP. Os pós mostram essencialmente uma mistura de partículas de tamanhos

diferentes, enquanto cada partícula é um conjunto de numerosos grãos. A aglomeração ocorre principalmente devido a temperatura de sinterização, pois de acordo com o estudo Khiri, et al. (2019) as partículas de HAp tende a aumentar com o aumento da temperatura sinterização. Segundo Landi, et al. (2000), temperaturas próximas de 900 °C os íons CO_3^{2-} são eliminados na forma de CO_2 e conseqüentemente deixam lacunas na estrutura cristalina, promovendo a difusão atômica durante o processo de sinterização e promovendo o crescimento das partículas, diminuindo a área de superfície específica levando conseqüente densificação.

O espectro de EDS mostra a presença de Ca, P, O, não mostrando nenhum outro elemento químico confirmando a presença apenas HAp e β -TCP. Portanto, os resultados de EDS confirmam os resultados de DRX e FTIR na formação das fases HAp e β -TCP sintetizando através do método Pechini. Na amostra AC4-AE6, a porcentagem do número atômico de Ca e P para análise local é de cerca de 18,6 e 10,7% respectivamente, o que está próximo à composição da hidroxiapatita (1,67). Resultados semelhantes são obtidos nas amostras AC2-AE4 e AC2-AE5 com relações molares Ca/P aproximadamente de 1,81 e 1,68 respectivamente, como demonstrado na Tabela 3. As relações molares Ca/P para a área selecionada foram próximos de 1,91; 1,89 e 1,94 para AC4-AE6, AC2-AE4 e AC2-AE5 nessa ordem, fato explicado pela presença da fase β -TCP (Shavandi, et al. 2015)

Tabela 3 - Resultado em porcentagem do número atômico de cálcio e fósforo EDS.

Amostra	Porcentagem do número atômico cálcio	Porcentagem do número atômico fósforo
AC2-AE4	24,5	13,5
AC2-AE5	21,3	12,7
AC4-AE6	18,6	10,7

Fonte: Autoria própria (2019).

3.5 TESTES BACTERIOLÓGICOS

As amostras AC2-AE4, AC2-AE5 e AC4-AE6 tiveram sua atividade antimicrobiana testada contra microrganismos gram-positivos (*Staphylococcus Aureus*) e gram-negativos (*Escherichia coli*). As infecções no sítio cirúrgico são causadas principalmente por bactérias Gram-positivas, sendo o gênero *Staphylococcus* o patógeno predominante (48%). Entre os organismos Gram-negativos, *Enterobacteriaceae* aqui representada por *Escherichia coli* é responsável por 21% das infecções. (Podporska-Carroll, et al. 2013).

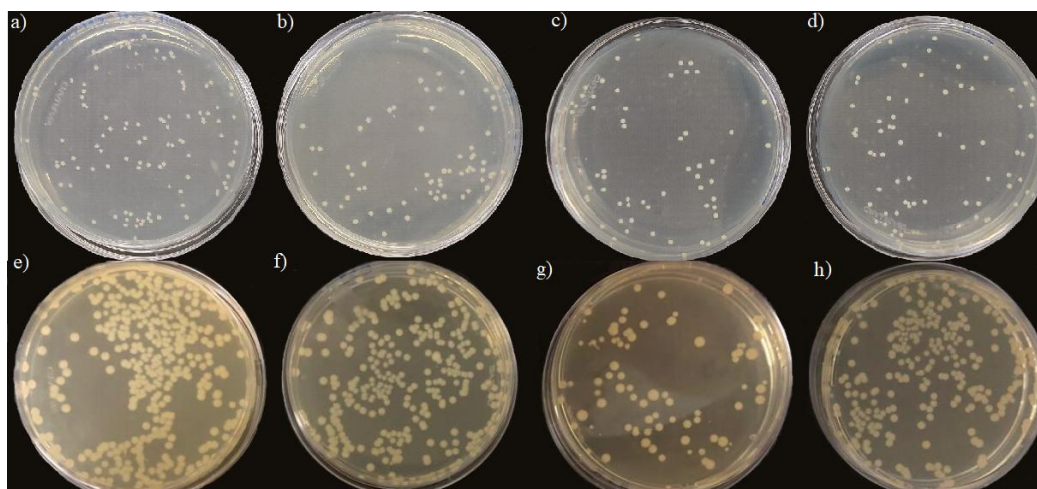


Figura 6 - Imagens de testes microbiológicos: a) *Staphylococcus aureus* (S.A.) controle; b) efeito inibitório AC2-AE4 contra S.A.; c) efeito inibitório AC2-AE5 contra S.A.; d) efeito inibitório AC4-AE6 contra S.A.; e) *Escherichia coli* (E.C.) controle; f) efeito inibitório AC2-AE4 contra E.C.; g) efeito inibitório AC2-AE5 contra E.C.; h) efeito inibitório AC4-AE6 contra E.C. Fonte: Autoria própria (2019).

Diferentes atividades e tendências antibacterianas ocorreram para as duas bactérias utilizadas e para as amostras em diferentes proporções. (Figura 6). Nota-se que as amostras tiveram alguma eficácia contra ambas às bactérias, mas foram mais eficazes contra *Escherichia coli*. A deficiência no combate de bactérias gram-positivas, ocorre principalmente na capacidade que as mesmas têm em produzir biofilmes. Os biofilmes são conhecidos como um problema significativo porque a formação de biofilme protege as bactérias, dessa forma

não inibindo de forma significativa seu crescimento se comparado com as bactérias gram-negativa (Hajipour, et al. 2012).

As propriedades antibacterianas de materiais de estado sólido são geralmente explicadas pelo mecanismo baseado na interação eletrostática entre a parede da célula bacteriana e os íons metálicos nas moléculas de HAp/ β -TCP. Dessa maneira, as bactérias se movem em direção a superfícies revestidas das partículas HAp/ β -TCP. Caso os íons metálicos interajam com a membrana microbiana, esses induzem mudanças estruturais e de permeabilidade. Assim, íons metálicos podem interagir com ácidos nucleicos microbianos, impedindo a replicação microbiana, fato que possivelmente ocorreu de forma mais satisfatória na amostra AC2-AE5 com 73,39% de inibição para o crescimento de bactérias *Escherichia coli* e 43,10% para *Staphylococcus aureus*.

Portanto, a possível explicação dessa diferença de sensibilidade das amostras que resultaram em uma menor porcentagem de inibição (AC2-AE4 e AC4-AE6) são as diferenças na estrutura da membrana das bactérias gram-positivas e gram-negativas. Isto sugere que as adesões das células de microrganismos às partículas podem contribuir para a redução do número de células no meio líquido (Erdem, et al. 2020; Stanić, et al. 2010). Os resultados desse teste foram bastante satisfatórios, pois o material pode ser utilizado como material promissor para uso de enxerto ósseo, tendo a possibilidade inibir crescimento uma porcentagem de até 73% para *Escherichia coli* e máximo de 43,10% *Staphylococcus aureus*. As porcentagens de redução do crescimento das colônias de bactérias estão listadas na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultado em porcentagem da inibição do crescimento de bactérias.

Amostra	<i>Staphylococcus aureus</i> (% de inibição)	<i>Escherichia coli</i> (% de inibição)
AC2-AE4	30,17	25,07
AC2-AE5	43,10	73,39
AC4-AE6	35,34	38,06

Fonte: Autoria própria (2019).

4 CONCLUSÃO

Esse estudo teve como propósito produzir fosfatos de cálcio via método Pechini, onde o método foi eficiente na obtenção da cerâmica bifásica, formada por hidroxiapatita e beta fosfato tricálcico, produzindo amostras com diferentes concentrações das duas fases dependendo das variações dos parâmetros utilizados na síntese. A melhor proporção para obtenção da maior porcentagem de fase da HAp foi aquela que tinha a maior quantidade de ácido cítrico para etileno glicol (60/40) e a maior quantidade de ácido cítrico em relação aos cátions metálicos 4:1, amostra AC4-AE6. Para amostra com maior quantificação da fase β -TCP AC2-AE4, com relação molar AC/CM 2:1 e AC/EG 40/60. A cerâmica bifásica produzida obtém características de pós nanométricos com um alto grau de cristalinidade, a análise termogravimétrica demonstrou que as amostras apresentaram perda de massa total de aproximadamente 26%. As micrografias realizadas exibiram uma formação de pó aglomerados de formato irregular. Independente da concentração HAp/ β -TCP, as amostras demonstraram ter efeitos inibitórios no crescimento das bactérias testadas, sendo a mais AC2-AE5 mais efetiva contra *Escherichia coli*.

REFERÊNCIAS

- A. A. Baig, J. L. Fox, R. A. Young, Z. Wang, J. Hsu, W. I. Higuchi, M. Otsuka. Relationships Among Carbonated Apatite Solubility, Crystallite Size, and Microstrain Parameters. *Calcified Tissue International*. 64 (1999) 437–449. doi:10.1007/pl00005826.
- A. C. Ferro, M. Guedes. Mechanochemical synthesis of hydroxyapatite using cuttlefish bone and chicken eggshell as calcium precursors. *Materials Science and Engineering: C*. 97 (2019) 124-140. doi:10.1016/j.msec.2018.11.083.
- A. Fihri, C. Len, R. S. Varma, A. Solhy. Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*. 347 (2017) 48-76. doi:10.1016/j.ccr.2017.06.009.
- A. Kolk, J. Handschel, W. Drescher, D. Rothamel, F. Kloss, M. Blessmann, M. Heiland, K.-D. Wolff, R. Smeets. Current trends and future perspectives of bone substitute materials – From space holders to innovative biomaterials. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 40 (2012) 706-718. doi:10.1016/j.jcms.2012.01.002.
- A. M. Sofronia, R. Baies, E. M. Anghel, C. A. Marinescu, S. Tanasescu. Thermal and structural characterization of synthetic and natural nanocrystalline hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*. 43 (2014) 153-163. doi:10.1016/j.msec.2014.07.023.
- A. Shavandi, A. E.-D. A. Bekhit, Z. Sun, A. Ali, M. Gould. A novel squid pen chitosan/hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate composite for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*. 55 (2015) 373-383. doi:10.1016/j.msec.2015.05.029.
- A.H. Rajabi-Zamani, A. Behnamghader, A. Kazemzadeh. Synthesis of nanocrystalline carbonated hydroxyapatite powder via nonalkoxide sol–gel method. *Materials Science and Engineering: C*. 28 (2008) 1326-1329. doi:10.1016/j.msec.2008.02.001.

A.L. Nikolaev, A.V. Gopin, A.V. Severin, V.N. Rudin, M.A. Mironov, N.V. Dezhkunov. Ultrasonic synthesis of hydroxyapatite in non-cavitation and cavitation modes. *Ultrasonics Sonochemistry*. 44 (2018) 390-397. doi:10.1016/j.ultsonch.2018.02.047.7.

B. Yilmaz, A. Z. Alshemary, Z. Evis. Co-doped hydroxyapatites as potential materials for biomedical applications. *Microchemical Journal*. 144 (2019) 443-453. doi:10.1016/j.microc.2018.10.007.

B. A.E. Ben-Arfa, I. M. M. Salvado, J. M.F. Ferreira, R. C. Pullar. Novel route for rapid sol-gel synthesis of hydroxyapatite, avoiding ageing and using fast drying with a 50-fold to 200-fold reduction in process time, *Materials Science and Engineering: C*. 70 (2017) 796-804. doi:10.1016/j.msec.2016.09.054.

C. Stötzel, E. A. Müller, E. Reinert, E. Niederdraenk, J. E. Barralet, U. Gbureck. Ion adsorption behaviour of hydroxyapatite with different crystallinities. *Colloids Surf. B Biointerfaces*. 74, (2009) 91-95. doi:10.1016/j.colsurfb.2009.06.031.

C.F. Ramirez-Gutierrez, S.M. Londoño-Restrepo, A. del Real, M.A. Mondragón, M.E. Rodriguez-García. Effect of the temperature and sintering time on the thermal, structural, morphological, and vibrational properties of hydroxyapatite derived from pig bone. *Ceramics International*. 43, Issue 10 (2017) 7552-7559. doi:10.1016/j.ceramint.2017.03.046.

D. L. Nihouannen, G. Daculsi, A. Saffarzadeh, O. Gauthier, S. Delplace, P. Pilet, P. Layrolle. D. S, Araújo; V. C. S, Diniz; J. Dantas; P. M. A. G, Araujo; R. S, Viana; S. A . Junior, R. A.Torquato, A. C. F. M. Costa. Avaliação da fotoluminescência do TiO₂ sintetizado pelo método Pechini. *Cerâmica*. 63 (2017) 367. doi:10.1590/0366-69132017633672104.

D.-M. Liu, Q. Yang, T. Troczynski, W. J. Tseng. Structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite. *Biomaterials*. 23 (2002) 1679-1687. doi:10.1016/S0142-9612(01)00295-2.

E. Landi, A. Tampieri, G. Celotti, S. Sprio. Densification behaviour and mechanisms of synthetic hydroxyapatites. *Journal of the European Ceramic Society*. 20, Issues 14-15 (2000) 2377-2387. doi:10.1016/S0955-2219(00)00154-0.

G.-A. E. Prince, X. Yang, J. Fu, Z. Pan, C. Zhuang, X. Ke, L. Zhang, L. Xie, C. Gao, Z. Gou. Yolk-porous shell biphasic bioceramic granules enhancing bone regeneration and repair beyond homogenous hybrid. *Materials Science and Engineering: C*.100 (2019) 433-444. doi:10.1016/j.msec.2019.03.026.

G. Tripathi, B. Basu. A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations. *Ceramics International*. 38 (2012) 341-349. doi:10.1016/j.ceramint.2011.07.012.

I. Manjubala, M. Sivakumar. In-situ synthesis of biphasic calcium phosphate ceramics using microwave irradiation. *Materials Chemistry and Physics*. 71 (2001) 272-278. doi:10.1016/S0254-0584(01)00293-0.

J. Jouannaux, A. Haeussler, M. Drobek, A. Ayrat, S. Abanades, A. Julbe. Lanthanum manganite perovskite ceramic powders for CO₂ splitting: Influence of Pechini synthesis parameters on sinterability and reactivity. *Ceramics International*, 45 (2019) 15636-15648. doi:10.1016/j.ceramint.2019.05.075.

J. Peña, M. Vallet-Regí. Hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic materials prepared by a liquid mix technique. *Journal of the European Ceramic Society*. 23(2003) 1687-1696. doi:10.1016/S0955-2219(02)00369-2.

J. Podporska-Carroll, B. Quilty, R. Devery. Non-cytotoxic and antimicrobial plasma sprayed coatings for orthopaedic application. *Materials Letters*. 112 (2013) 54-57. doi:10.1016/j.matlet.2013.08.112.

K. Kurashina, H. Kurita, Q. Wu, A. Ohtsuka, H. Kobayashi. Ectopic osteogenesis with biphasic ceramics of hydroxyapatite and tricalcium phosphate in rabbits. *Biomaterials*. 23 (2002) 407-412. doi:10.1016/S0142-9612(01)00119-3.

K. Lin, J. Pan, Y. Chen, R. Cheng, X. Xu. Study the adsorption of phenol from aqueous solution on hydroxyapatite nanopowders. *Journal of Hazardous Materials*. 161 (2009) 231-240. doi:10.1016/j.jhazmat.2008.03.076.

- K. Sangeetha, M. Ashok, E.K. Girija. Development of multifunctional cobalt ferrite/hydroxyapatite nanocomposites by microwave assisted wet precipitation method: A promising platform for synergistic chemo-hyperthermia therapy. *Ceramics International*. 45 (2019) 12860-12869. doi:10.1016/j.ceramint.2019.03.209.
- L. Cheng, Y. Shi, F. Ye, H. Bu. Osteoinduction of calcium phosphate biomaterials in small animals. *Materials Science and Engineering: C*. 33 (2013)1254-1260. doi:0.1016/j.msec.2012.12.023.
- L. Ghasemi-Mobarakeh, D. Kolahreez, S. Ramakrishna, D. Williams. Key terminology in biomaterials and biocompatibility. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. 10 (2019). doi:10.1016/j.cobme.2019.02.004.
- L. Stipniece, K. Salma-Ancane, N. Borodajenko, M. Sokolova, D. Jakovlevs, L. Berzina-Cimdina. Characterization of Mg-substituted hydroxyapatite synthesized by wet chemical method. *Ceramics International*. 40 (2014) 3261-3267. doi:10.1016/j.ceramint.2013.09.110.
- M. Ebrahimi, M. G. Botelho, S. V. Dorozhkin. Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research. *Materials Science and Engineering: C*. 71 (2017) 1293-1312. doi:10.1016/j.msec.2016.11.039.
- M.K. Herliansyah, M. Hamdi, A. Ide-Ektessabi, M.W. Wildan, J.A. Toque. The influence of sintering temperature on the properties of compacted bovine hydroxyapatite. *Materials Science and Engineering: C*. 29 (2009) 1674-1680. doi:10.1016/j.msec.2009.01.007.
- M. J. Hajipour, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. J. de Aberasturi, I. R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak, M. Mahmoudi. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*. 30 (2012) 499-511. doi:10.1016/j.tibtech.2012.06.004.
- M. P. Pechini. Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same to form a capacitor. (1963). US N°. 3330697.

M. S. Munerato, C. C. Bigueti, R. B. P. da Silva, A. C. R. da Silva, A. C. Z. Bacelar, J. L. da S., M. C. R. Couto, M. A. H. Duarte, J. F. Santiago-Junior, P. S. Bossini, M. A. Matsumoto. Inflammatory response and macrophage polarization using different physicochemical biomaterials for oral and maxillofacial reconstruction. *Materials Science and Engineering: C*. 107 (2020)110229. doi:10.1016/j.msec.2019.110229.

M. Z. A. Khiri, K. A. Matori, M. H. M. Zaid, C. A. C. Abdullah, N. Zainuddin, I. M. Alibe, N. A. A. Rahman, S. A. A. Wahab, A. Z. K. Azman, N. Effendy. Crystallization behavior of low-cost biphasic hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate ceramic at high sintering temperatures derived from high potential calcium waste sources. *Results in Physics*. 12 (2019) 638-644. doi:10.1016/j.rinp.2018.12.025.

M. Zhang, J. P. Matinlinna, J. K.H. Tsoi, W. Liu, X. Cui, W. W. Lu, H. Pan. Recent developments in biomaterials for long-bone segmental defect reconstruction: A narrative overview. *Journal of Orthopaedic Translation*. (2019) .doi:10.1016/j.jot.2019.09.005.

M.A. Aghayan, M.A. Rodríguez. Influence of fuels and combustion aids on solution combustion synthesis of bi-phasic calcium phosphates (BCP). *Materials Science and Engineering: C*. 32 (2012) 2464-2468. doi:10.1016/j.msec.2012.07.027.

N. Iqbal, M. R. A. Kadir, N. A. N. N. Malek, N. H. Mahmood, M. R. Murali, T. Kamarul, Rapid microwave assisted synthesis and characterization of nanosized silver-doped hydroxyapatite with antibacterial properties. *Materials Letters*. 89 (2012) 118-122. doi:10.1016/j.matlet.2012.08.057.

N. Rameshbabu, T.S. S. Kumar, T. G. Prabhakar, V. S. Sastry, K. V. G. K. Murty, K. V. G. K., K. P. Rao. Antibacterial nanosized silver substituted hydroxyapatite: Synthesis and characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. 3 (2007) 80A. doi: 10.1002 / jbm.a.30958.

P. Phatai, C. M. Futralan, S. Utara, P. Khemthong, S. Kamonwannasit. Structural characterization of cerium-doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by an ultrasonic-assisted sol-gel technique. *Results in Physics*. 10 (2018) 956-963. doi:10.1016/j.rinp.2018.08.012.

P.-Y. Chen, S.-F. Wang, R.R. Chien, C.-S. Tu, K.-C. Feng, C.-S. Chen, K.-Y. Hung, V. H. Schmidt. Evolution of the microstructural and mechanical properties of hydroxyapatite bioceramics with varying sintering temperature. *Ceramics International*. 45 (2019) 16226-16233. doi:10.1016/j.ceramint.2019.05.144.

Q. Zhu, Z. Ablikim, T. Chen, Q. Cai, J. Xia, D. Jiang, S. Wang. The preparation and characterization of HA/ β -TCP biphasic ceramics from fish bones. *Ceramics International*. 43 (2017) 12213-12220. doi:10.1016/j.ceramint.2017.06.082.

R. Chakraborty, V.S. Seesala, S. Sengupta, S. Dhara, P. Saha, K. Das, S. Das. Comparison of Osteoconduction, cytocompatibility and corrosion protection performance of hydroxyapatite-calcium hydrogen phosphate composite coating synthesized in-situ through pulsed electro-deposition with varying amount of phase and crystallinity. *Surfaces and Interfaces*. 10 (2018) 1-10. doi:10.1016/j.surfin.2017.11.002.

R. D. Piazza, T. A.G. Pelizaro, J. E. Rodriguez-Chanfrau, A. A. L. Serna, Y. Veranes-Pantoja, A. C.Guastaldi.. Calcium phosphates nanoparticles: The effect of freeze-drying on particle size reduction. *Materials Chemistry and Physics*. 239 (2020) 122004. doi:10.1016/j.matchemphys.2019.122004.

R. Guo, J.Huang, X. Chen, Q.Luo, L. Luo, Y. Xiong, S. Zhang. Pechini sol-gel synthesis of $\text{La}_2\text{CaB}_8\text{O}_{16}:\text{Eu}^{3+}$ red phosphor and its photoluminescence spectral properties. *Journal of Luminescence*. 206 (2019) 15-20. doi:10.1016/j.jlumin.2018.10.025.

R. Nawang, M. Z. Hussein, K. A. Matori, C. A. C. Abdullah, M. Hashim. Physicochemical properties of hydroxyapatite/montmorillonite nanocomposite prepared by powder sintering. *Results in Physics*. (2019) 102540. doi:10.1016/j.rinp.2019.102540.

S. Gao, R. Sun, Z. Wei, H. Zhao, Li II, F. Size-dependent defluoridation properties of synthetic hydroxyapatite. *J Fluor Chem*. 130 (2009) 550-556. doi:10.1016/j.jfluchem.2009.03.007.

S. Kareiva, V. Klimavicius, A. Momot, J. Kausteklis, A. Prichodko, L. Dagys, F. Ivanauskas, S. Sakirzanovas, V. Balevicius, A. Kareiva. Sol-gel synthesis, phase composition, morphological and structural characterization of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$: XRD, FTIR, SEM, 3D SEM and solid-state NMR studies. *Journal of Molecular Structure*. 1119 (2016) 1-11. doi: 10.1016/j.molstruc.2016.04.046.

S. Kargozar, S. Ramakrishna, M. Mozafari. Chemistry of biomaterials: future prospects. *Current Opinion in Biomedical Engineering*. 10 (2019)181-190. doi:10.1016/j.cobme.2019.07.003.

S. N. A. Bakar, I. A. Talib, N. Osman. The effect of different molar ratio citric acid and ethylene glycol to metal cation on the ceramics powder of Y^{3+} doped BaZrO_3 . *Solid State Science and Technology*. 69 (2010) 36-44.

S. Roopalakshmi, R. Ravishankar, Shrisha. Belaldavar, R. G. S. V Prasad, A. R Phani. (2017). Investigation of Structural and Morphological Characteristic of Hydroxyapatite Synthesized by Sol-Gel Process. *Materials Today: Proceedings*, 4, 12026-12031. doi:10.1016/j.matpr.2017.09.126.

S. V. Dorozhkin. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*. 31 (2010) 1465-1485. doi:10.1016/j.biomaterials.2009.11.050.

Scherrer, P. *Nachr. Ges. Wiss. Gottingen*. (1918) 98-100.

T. L. Arinze, T. Tran, J. Mcalary, G. Daculsi. A comparative study of biphasic calcium phosphate ceramics for human mesenchymal stem-cell-induced bone formation. *Biomaterials*. 26 (2005) 3631-3638. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.09.035.

T. Mandal, B.K. Mishra, A. Garg, D. Chaira. Optimization of milling parameters for the mechanosynthesis of nanocrystalline hydroxyapatite. *Powder Technology*. 253 (2014) 650-656. doi:10.1016/j.powtec.2013.12.026.

- T. H. Qazi, D. J. Mooney, M. Pumberger, S. Geißler, G. N. Duda. Biomaterials based strategies for skeletal muscle tissue engineering: Existing technologies and future trends. *Biomaterials*. 53 (2015). 502-521. doi:10.1016/j.biomaterials.2015.02.110.
- T. Jiang, Z. Li, Peng Xiao, Y.-m. Cheng, Z. Liu, S. Yu. Synthesis and growth mechanism of calcium phosphate layer on SiC-coated carbon/carbon composites with surface pre-oxidation. *Applied Surface Science*. 495 (2019) 143427. doi:10.1016/j.apsusc.2019.07.169.
- U. Sabu, G. Logesh, M. Rashad, A. Joy, M. Balasubramanian. Microwave assisted synthesis of biomorphic hydroxyapatite. *Ceramics International*. 45 (2019) 6718-6722. doi:10.1016/j.ceramint.2018.12.161.
- U. Erdem, M. Dogan, A. U. Metin, S. Baglar, M. B. Turkoz, M. Turk, S. Nezir. Hydroxyapatite-based nanoparticles as a coating material for the dentine surface: An antibacterial and toxicological effect. *Ceramics International*. 46 (2020) 270-280. doi:10.1016/j.ceramint.2019.08.260.
- U. Tariq, R. Hussain, K. Tufail, Z. Haider, R. Tariq, J. Ali. Injectable dicalcium phosphate bone cement prepared from biphasic calcium phosphate extracted from lamb bone. *Materials Science and Engineering: C*. 103 (2019) 109863. doi:10.1016/j.msec.2019.109863.
- V. Stanić, S. Dimitrijević, J. Antić-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I. B. Plećaš, S. Raičević, Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders. *Applied Surface Science*. 256 (2010) 6083-6089. doi:10.1016/j.apsusc.2010.03.124.
- V.F. Shamray, V.P. Sirotinkin, V.I. Kalita, V.S. Komlev, S.M. Barinov, A.Yu. Fedotov, A.S. Gordeev. Study of the crystal structure of hydroxyapatite in plasma coating. *Surface and Coatings Technology*, 372 (2019) 201-208. doi:10.1016/j.surfcoat.2019.05.037.
- Y. Omori, M. Okada, S. Takeda, N. Matsumoto. Fabrication of dispersible calcium phosphate nanocrystals via a modified Pechini method under non-stoichiometric conditions. *Materials Science and Engineering: C*. 42 (2014) 562-568. doi:10.1016/j.msec.2014.05.071.

Y. Zhou, C. Wu, J. Chang. Bioceramics to regulate stem cells and their microenvironment for tissue regeneration. *Materials Today*. 24 (2019) 6002-6009. doi:10.1016/j.mattod.2018.07.016.

Z. Chen, Y. Liu, L. Mao, L. Gong, W. Sun, L. Feng. Effect of cation doping on the structure of hydroxyapatite and the mechanism of defluoridation. *Ceramics International*. 44 (2018) 6002-6009. doi:10.1016/j.ceramint.2017.12.191.

Z. Tang, Y. Tan, Y. Ni, J. Wang, X. Zhu, Y. Fan, X. Chen, X. Yang, X. Zhang. Comparison of ectopic bone formation process induced by four calcium phosphate ceramics in mice. *Materials Science and Engineering: C*. 70 (2017) 1000-1010. doi:10.1016/j.msec.2016.06.097.

Considerações finais

O estudo desenvolvido revelou o quanto à pesquisa sobre a obtenção de fosfatos de cálcio bifásicos pelo método Pechini ainda é recente, apesar desse método já existir desde 1967, apenas em 2003 foi reportado o início dos estudos através dessa técnica, principalmente motivado por técnicas que habitualmente são mais utilizadas, como os métodos sol-gel e coprecipitação. Porém apesar dos métodos já existentes o método Pechini é mais vantajoso, pois apresenta menor custo em relação ao Sol-gel, além da capacidade de obter pós com homogeneidade superior aos produzidos pelo método de coprecipitação. A pesquisa foi esclarecedora, principalmente sobre aspectos ainda não estudados como atividade bacteriológica, além de fornecer parâmetros para pesquisas futuras. Pois o material desenvolvido se mostrou promissor no desenvolvimento de novas biocerâmicas. O trabalho demonstrou por meio das caracterizações físico-químicas, que HAp e fosfato β -tricalcico foram obtidos satisfatoriamente. Os testes bacteriológicos revelaram que a porcentagem de da relação HAp/ β -TCP tem grande influência nas atividades de inibição do crescimento das bactérias *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*.