



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Influência do nióbio nas propriedades química, estrutural, mecânica e biológica da hidroxiapatita natural tratada termicamente assistida por método sonoquímico

MATEUS OLIVEIRA DE AMORIM

Manaus/AM

2023

MATEUS OLIVEIRA DE AMORIM

Influência do nióbio nas propriedades química, estrutural, mecânica e biológica da hidroxiapatita natural tratada termicamente assistida por método sonoquímico

Orientador: Profº Drº Jean Carlos Silva Andrade

Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM-UFAM).

Linha de pesquisa: Propriedades Físicas, Mecânicas e Modelagem de Materiais

Área de concentração: Cerâmica Avançada

Manaus/AM

2023

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A524i Amorim, Mateus Oliveira de
Influência do nióbio nas propriedades química, estrutural,
mecânica e biológica da hidroxiapatita natural tratada termicamente
assistida por método sonoquímico / Mateus Oliveira de Amorim .
2023
67 f.: il. color; 31 cm.

Orientador: Jean Carlos Silva Andrade
Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) -
Universidade Federal do Amazonas.

1. Escamas. 2. Hidroxiapatita natural. 3. Nióbio. 4. Tratamento
térmico. 5. Sonoquímica. I. Andrade, Jean Carlos Silva. II.
Universidade Federal do Amazonas III. Título

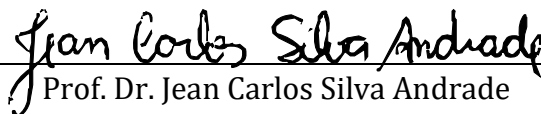
Mateus Oliveira de Amorim

Influência do nióbio nas propriedades química, estrutural, mecânica e biológica da hidroxiapatita natural tratada termicamente assistida por método sonoquímico

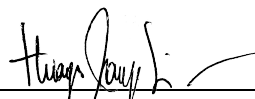
Dissertação apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM-UFAM).

Aprovado em 05 de Maio de 2023.

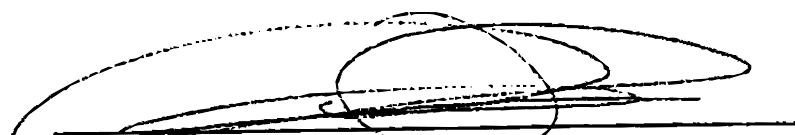
BANCA EXAMINADORA


Prof. Dr. Jean Carlos Silva Andrade

Presidente da Banca / Universidade Federal do Amazonas – UFAM


Prof. Dr. Thiago Araújo Simões

Membro externo / Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE


Prof. Dr. Carlos Alberto Paskocimas

Membro externo / Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos meus pais, Raimundo e Rosa, e minhas irmãs, Eurides, Rebeca e Ester, pelo apoio e incentivo que me motivaram a continuar os estudos na pós-graduação.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Jean Carlos, pelas orientações nos projetos desenvolvidos até o momento, pela confiança, amizade e incentivo presentes nesses anos de estudos desde a graduação.

Ao Laboratório de Análises de Água e Qualidade Ambiental (LAQUA – Central Analítica - UFAM), coordenado pelo prof^a Dr^a Tereza Cristina, ao apoio técnico, Carlos, e ao técnico Marcos pelo acesso ao espaço para a realização dos tratamentos térmicos.

Ao Laboratório de Processamento de Materiais Tecnológicos (LPMAT - UFAM), coordenado pelo prof^o Dr^o Yurimiler Leyet, e a técnica Juliana pela ajuda e agendamento de equipamentos durante os experimentos.

Ao Laboratório de Polímeros Nanoestruturados (NANOPOL - UFAM), coordenado pelo prof^o Dr^o Edgar Sanches, pelo acesso ao espaço para o uso do ultrassom de ponteira e pastilhador.

A prof^a Jaqueline de Araújo, coordenadora do Laboratório de Química Analítica (IFAM) pelas medidas de DRX.

Ao Laboratório de Ensaio de Materiais (LEM - UFAM) pelas análises térmicas e análise por FRX-EDS.

Ao Centro Multiusuário para Análises de Fenômenos Biomédicos (CMABio-UEA) pelas análises de MEV-FEG.

Ao prof^o Adolfo Mota pelas orientações na realização dos ensaios microbianos e acesso ao espaço e seu colega Jussival pela realização das análises de Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS – *Near-infrared spectroscopy*).

Ao laboratório de pesquisa e desenvolvimento da Escola Superior de Tecnologia da Universidade do Estado do Amazonas (P&D Lab/UEA) pela caracterização de nanoindentação autorizada pelo coordenador professor José Costa de Macêdo Neto.

Aos amigos Keuriane, Gabriele, Gabriel, Luiz Matheus, Cláudia, Rayson, Filipe, Antônio pelas conversas e contribuições no desenvolvimento deste estudo.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais e a Universidade Federal do Amazonas pelos informes e infraestrutura.

RESUMO

Neste estudo, com o intuito de agregar valor ao descarte de escamas da espécie *Arapaima gigas*, estas são utilizadas como fonte biogênica precursora para a obtenção de hidroxiapatita natural por meio de tratamentos térmicos. Somado a isso, é realizada a inserção de íons de Nb^{5+} na fase cerâmica por meio da rota sonoquímica, sendo o principal objetivo, investigar por meio de caracterizações química, morfológica, estrutural e biológica a influência do íon metálico na estrutura da hidroxiapatita. O patamar de 700°C para os tratamentos térmicos tem base nas caracterizações térmicas por TG e DSC, indicando que a partir dessa temperatura não há perda de massa e, ao mesmo tempo, sendo a energia necessária para a formação da fase cristalina de HA. A técnica de MEV-FEG revela que o material tratado termicamente apresenta partículas hexagonais para todas as amostras. No entanto, para as amostras dopadas, há o surgimento de pequenas esferas em torno dessas dispostas em aglomerados de partículas, sendo uma influência direta da etapa de aplicação da Sonoquímica. A análise por NIRS evidenciou que os comprimentos de onda (2300-2400 nm, 1800-2200 nm, 1390-1455 nm) característicos do modo vibracional do grupo fosfato (PO_4) tem intensidades relativas afetadas conforme eleva-se a concentração molar de Nb na fase cerâmica, sendo um indicativo que a dopagem ocorre nesses sítios ou próximos a esses. A análise por DRX e refinamento por método *Rietveld* confirmou que a fase NbOPO apresenta picos isolados na região $23,84^\circ$ e $24,50^\circ$ (2θ) nas amostras HA – 5, 10, 15 e 20% Nb, nos quais o refinamento convergiu para valores de parâmetros confiáveis de χ^2 próximos a 1. Além disso, para todas as amostras foi confirmada que a fase predominante se trata da HA hexagonal com grupo espacial $P6_3/m$. A análise microbiana não resultou na inibição do crescimento da espécie *Escherichia coli*, sendo este resultado interpretado como a não ocorrência do processo de desidroxilação da fase HA e nem da influência do Nb para que este ocorresse, sendo a perda do grupo hidroxila estrutural o responsável pela produção de radicais livres causadores do efeito bactericida da fase cerâmica. Além disso, o ensaio por nanoindentação demonstrou que as amostras HA – 10 e 15% Nb apresentam maior dureza que as amostras com menores concentrações de Nb.

Palavras-chave: Escamas, Hidroxiapatita natural, Nióbio, Tratamento térmico, Sonoquímica.

ABSTRACT

This study aims to add value to the disposal of scales of the *Arapaima gigas* species based on these used as a precursor biogenic source for obtaining natural hydroxyapatite through heat treatments. In addition, Nb⁵⁺ ions are inserted into the ceramic phase through the sonochemical route, with the primary objective being to investigate, through chemical, morphological, structural, and biological characterizations, the influence of the metallic ion on the structure of hydroxyapatite. TG and DSC revealed that 700°C is ideal for thermal treatment because, in higher temperatures, there is no mass loss and, at the same time, the energy is necessary for the formation of the crystalline phase of HA. The SEM-FEG technique reveals that the thermally treated material presents hexagonal particles for all samples. However, for the doped samples, there is the appearance of small spheres around them arranged in clusters of particles, and it is a direct influence of the Sonochemistry application stage. The NIRS analysis showed that the wavelengths (2300-2400 nm, 1800-2200 nm, 1390-1455 nm) characteristic of the vibrational mode of the phosphate group (PO₄) have relative intensities affected as the molar concentration of Nb in the ceramic phase, it indicates that doping occurs at or near these sites. Analysis by XRD and refinement by the Rietveld method confirmed that the NbOPO phase presents isolated peaks in the region 23.84° and 24.50° (2θ) in the HA samples – 5, 10, 15, and 20% Nb, in which the refinement converged for reliable parameter values of χ^2 close to 1. Furthermore, for all samples, it confirms that the predominant phase is the hexagonal HA with space group P63/m. The microbial analysis did not result in the inhibition of the growth of the *Escherichia coli* species. Therefore, it indicates the non-occurrence of the dihydroxylation process of the HA phase nor the influence of Nb for this to occur. This process englobes the loss of the structural hydroxyl group. This process is a link to the production of reactive oxygen species that cause the bactericidal effect of the ceramic phase. In addition, the nanoindentation test demonstrated that the HA samples – 10 and 15% Nb present a higher hardness than the samples with lower concentrations of Nb.

Keywords: Scales, Natural hydroxyapatite, Niobium, Heat treatment, Sonochemistry.

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Registro do número de artigos publicados no banco de dados <i>Scopus</i> para as palavras chave “ <i>biomaterials replacement</i> ” e “ <i>biomaterials regeneration</i> ” | 03 |
| Figura 2. Visão de cima (a) e visão lateral (b) da fase Hidroxiapatita monoclinica $P2_1$ | 09 |
| Figura 3. Representação da estrutura hexagonal da hidroxiapatita | 10 |
| Figura 4. Irradiação ultrassônica indireta (a) e Irradiação ultrassônica direta com ponteira b) | 13 |
| Figura 5. Visualização dos sítios de Ca (I) e (II) e do canal apatítico para uma estrutura hexagonal. A) Estrutura vista abaixo do eixo <i>c</i> e B) com visão perpendicular ao eixo <i>c</i> | 18 |
| Figura 6. (a) Projeção no eixo <i>c</i> do arranjo estrutural dos sítios Ca I, Ca II, PO_4^{3-} e OH^- e potenciais cátions para modificação iônica; (b) Substituição do tipo A e B do carbonato na estrutura cristalina hexagonal da HA | 19 |
| Figura 7. Escama da espécie <i>Arapaima gigas</i> | 24 |
| Figura 8. a) Hierarquia estrutural da escama do <i>Arapaima gigas</i> e b) detalhe da rotação das fibras de colágeno | 24 |
| Figura 9. Micrografias da seção transversal (a) da escama destacando as camadas externa e interna, fibrilas de colágeno em duas lamelas adjacentes (b), fibrila perpendicular ao plano ampliação da região 1(c) e fibrila paralela ao plano ampliação da região 2 (d) | 25 |
| Figura 10. Estrutura cristalina cúbica do nióbio | 26 |
| Figura 11. Percentual de estudos com biocerâmicas e vidros bioativos dopados com diferentes íons metálicos no intervalo de 2015 a 2020 | 27 |
| Figura 12. Panorama do número de artigos publicados no banco de dados <i>Scopus</i> no período de 1999 a 2022 | 29 |
| Figura 13. Passos metodológicos da etapa I para obtenção das amostras por tratamento térmico | 31 |
| Figura 14. Passos metodológicos da etapa II para obtenção da amostra modificada parcialmente com Nb assistida por método sonoquímico | 32 |
| Figura 15. Análise térmica da escama <i>in natura</i> por Termogravimetria e Calorimetria de Varredura Diferencial no intervalo de 25°C a 1000°C | 36 |
| Figura 16. Micrografias das amostras HA - 0% Nb (a), HA - 5% Nb (b), HA - 10% Nb (c), HA - 15% Nb (d) e HA - 20% Nb (e) com aumento de x18000 | 40 |
| Figura 17. Micrografias das amostras HA - 0% Nb (a), HA - 5% Nb (b), HA - 10% Nb (c), HA - 15% Nb (d) e HA - 20% Nb (e) com aumento de x43000 | 41 |
| Figura 18. Espectros no Infravermelho Próximo (NIRS) para as amostras HA - 0% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb | 43 |
| Figura 19. Difratoograma da amostra obtida por tratamento térmico no patamar de 700°C por 4h comparada com o padrão de difração da literatura | 44 |
| Figura 20. Comparativos dos difratogramas das amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb | 46 |
| Figura 21. Comparativos dos difratogramas das amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb no intervalo 2θ entre 25-35° | 46 |
| Figura 22. Refinamento para a amostra HA - 0% Nb | 51 |
| Figura 23. Refinamento para a amostra HA - 1%Nb | 51 |
| Figura 24. Refinamento para a amostra HA - 10% Nb | 51 |
| Figura 25. Refinamento para a amostra HA - 15%Nb | 51 |
| Figura 26. Refinamento para a amostra HA - 20% Nb | 51 |
| Figura 27. Ensaio antimicrobiano com as amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 10% Nb e HA - 20% Nb (a) e amostra controle (b) | 52 |
| Figura 28. Resultado de nanoindentação para as amostras HA - 1, 5, 10 e 15% Nb | 54 |

ÍNDICE DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Classificação dos biomateriais e suas aplicações clínicas mais relevantes_____ | 03 |
| Tabela 2. Propriedades requeridas de biomateriais para aplicações médicas_____ | 05 |
| Tabela 3. Tipos de fosfatos de cálcio e suas propriedades_____ | 06 |
| Tabela 4. Solubilidade de fases de CaP de interesse para aplicações biológicas_____ | 07 |
| Tabela 5. Informações cristalográficas de fases selecionadas de CaP_____ | 08 |
| Tabela 6. Métodos para a sintetização da HA_____ | 11 |
| Tabela 7. Efeito da fonte, método e temperatura de calcinação sobre a estabilidade da fase de HA obtida a partir de fontes naturais_____ | 16 |
| Tabela 8. Recursos naturais como fonte de cálcio para a síntese de hidroxiapatita_____ | 17 |
| Tabela 9. Resumo das possíveis substituições iônicas na estrutura da HA_____ | 20 |
| Tabela 10. Íons metálicos com abrangência literária e seus mecanismos de ação_____ | 20 |
| Tabela 11. Produção nacional da aquicultura por tipo de produto (kg)_____ | 22 |
| Tabela 12. Produção da aquicultura da espécie <i>Arapaima gigas</i> por região (kg)_____ | 22 |
| Tabela 13. Eventos térmicos da amostra de escama <i>in natura</i> aquecida até 1000°C_____ | 37 |
| Tabela 14. Composição elementar das amostras analisadas por FRX-EDS_____ | 38 |
| Tabela 15. Índices de Miller característicos para os picos identificados na Figura 18_____ | 45 |
| Tabela 16. Parâmetros da estrutura cristalina para as amostras obtidas_____ | 47 |
| Tabela 17. Refinamento para a amostra HA - 0% Nb_____ | 48 |
| Tabela 18. Refinamento para a amostra HA - 1% Nb_____ | 48 |
| Tabela 19. Refinamento para a amostra HA - 10% Nb_____ | 49 |
| Tabela 20. Refinamento para a amostra HA - 15% Nb_____ | 49 |
| Tabela 21. Refinamento para a amostra HA - 20% Nb_____ | 49 |
| Tabela 22. Cronograma de atividades_____ | 57 |

LISTA DE SIGLAS, ABREVIACÕES E SÍMBOLOS

CaP – Fosfato de Cálcio

Ca/P – Razão molar Cálcio por Fósforo

kHz – quilo-hertz

MHz – mega-hertz

°C – grau Celsius

HA – Hidroxiapatita

nHA – nano Hidroxiapatita

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

A. gigas – *Arapaima gigas*

Ks – produto de solubilidade ou constante do produto de solubilidade

mm – milímetro

GPa – Gigapascal

$\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$ – kilojoule por metro quadrado

K – Kelvin

$\mu\Omega$ – Microohm

HA-Nb – Hidroxapatita-Nióbio

Θ – Ângulo de difração

Y_{Obs} – Intensidade observada

Y_{Cal} – Intensidade calculada

χ^2 – Qui-quadrado

R_p – Fator R de perfil

R_{wp} – Fator R de perfil ponderado

R_{Bragg} – Fator R de *Bragg*

R_e – Fator R esperado

V – *volume*

HV – *Hardness Vickers* (Dureza Vickers)

EDS – Energia Dispersiva

FRX – Fluorescência por Raios-X

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 01 |
| 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA | 02 |
| 2.1 Biomateriais | 02 |
| 2.2 Biocerâmicas | 04 |
| 2.3 Fosfatos de Cálcio | 06 |
| 2.4 Hidroxiapatita | 08 |
| 2.5 Formas de obtenção da hidroxiapatita | 11 |
| 2.6 Método Sonoquímico | 12 |
| 2.7 Fontes Naturais | 14 |
| 2.8 Substituição iônica na estrutura da HA | 17 |
| 2.9 A espécie <i>Arapaima gigas</i> e a produção do pescado | 22 |
| 2.10 As escamas do <i>Arapaima gigas</i> | 23 |
| 2.11 Nióbio | 26 |
| 2.12 Nióbio e sua relação com a Hidroxiapatita | 27 |
| 3. OBJETIVOS | 30 |
| 3.1 Geral | 30 |
| 3.2 Específicos | 30 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS | 31 |
| 4.1 Obtenção da hidroxiapatita natural | 31 |
| 4.2 Obtenção da hidroxiapatita modificada parcialmente com Óxido de Nióbio assistida por via Sonoquímica | 32 |
| 4.3 Caracterizações e ensaios | 33 |
| 4.3.1 Análises térmicas por Termogravimetria e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC) | 33 |
| 4.3.2 Análise de MEV-FEG e FRX-EDS | 33 |
| 4.3.3 Análise por NIRS | 34 |
| 4.3.4 Análise de DRX | 34 |
| 4.3.5 Ensaio biológico <i>in vitro</i> : Análise antimicrobiana | 35 |
| 4.3.6 Análise mecânica por nanoindentação | 35 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 36 |
| 5.1 Análises térmicas da escama <i>in natura</i> | 36 |
| 5.2 Análise por FRX-EDS | 38 |
| 5.3 Análise por MEV-FEG | 39 |
| 5.4 Análise por NIRS | 42 |
| 5.5 Análise por DRX | 44 |
| 5.5.1 Análise quantitativa por refinamento <i>Rietveld</i> | 47 |
| 5.6 Análise do ensaio antimicrobiano | 52 |
| 5.7 Análise mecânica por nanoindentação | 53 |
| 6. CONCLUSÕES | 55 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 58 |

1. INTRODUÇÃO

Os biomateriais compreendem substâncias de origem natural ou sintética que devem apresentar biocompatibilidade, biofuncionalidade, resistência à corrosão e ao desgaste (ESEN, 2017) e devem ser tolerados, de modo transitório ou permanente, pelo tecido, sem a ocorrência de degradação do material implantado para que seja cumprida a função desejada.

A hidroxiapatita [$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], fase principal do produto a ser obtido neste estudo, devido a sua similaridade química e estrutural com componentes minerais constituintes de ossos e dentes, é um biomaterial reconhecido e amplamente utilizado em implantes, já que apresenta propriedades favoráveis a este tipo de aplicação, como osteocondutividade e osteointegração (ELIAZ, 2017).

As formas de obtenção da HA envolvem métodos como precipitação, hidrólise, emulsão, hidrotermal, sol-gel, por estado sólido, mecanoquímico e por meio de tratamentos térmicos (AGBEDOH, 2020). Os métodos podem ser realizados tanto com soluções precursoras de Ca e P, mas também fontes naturais ricas nesses elementos (PAI, 2020). Neste estudo, emprega-se escamas de Pirarucu como matéria-prima para obter a fase matriz (HA) com auxílio de tratamentos térmicos, de modo que, seja obtida a fase inorgânica.

A hidroxiapatita, em sistema hexagonal, apresenta um centro de inversão, e os íons de hidroxila configuram o chamado “canal apatítico”, o que torna a estrutura suscetível a modificações estruturais caracterizando uma estrutura com boa versatilidade. Esta condição torna as apatitas biológicas em compostos carbonatados não estequiométricos e deficientes em Ca, pela ocorrência de substituição por traços de vários íons, adsorvidos ou incorporados na superfície ou na estrutura de rede (COMBES, 2016). Com isso, pretende-se explorar essa condição com a adição de íons de Nióbio.

O nióbio representa apenas 1% dos estudos publicados entre 2015 a 2020, no que envolve a sua incorporação como íon metálico em estruturas de biocerâmicas (SCHATKOSKI, 2021), tendo como objetivo investigar sua biocompatibilidade. Além disso, devido a HA ser uma cerâmica, conseqüentemente, tem desempenhos mecânicos que a impede de ser aplicada como implante em regiões que ocorre aplicação de carga. Logo, a modificação parcial de sua estrutura com a adição de nióbio visa investigar sua influência nas propriedades mecânicas do material HA/Nb. E, com isso, analisar se o biomaterial HA/Nb, além das propriedades mecânicas, apresenta bom desempenho biológico.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biomateriais

O termo “biomaterial” tem sua definição formulada em 1982 durante a Conferência de Desenvolvimento do Consenso sobre as Aplicações Clínicas de Biomateriais no Instituto Nacional Americano de Saúde. O termo “Biomaterial” foi definido como sendo uma substância (diferente de um medicamento) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que podem ser utilizadas em um período de tempo variável, como um todo ou como parte de um sistema que trata, aumenta ou substitui qualquer tecido, órgão ou função do corpo (BERGMANN, 2013).

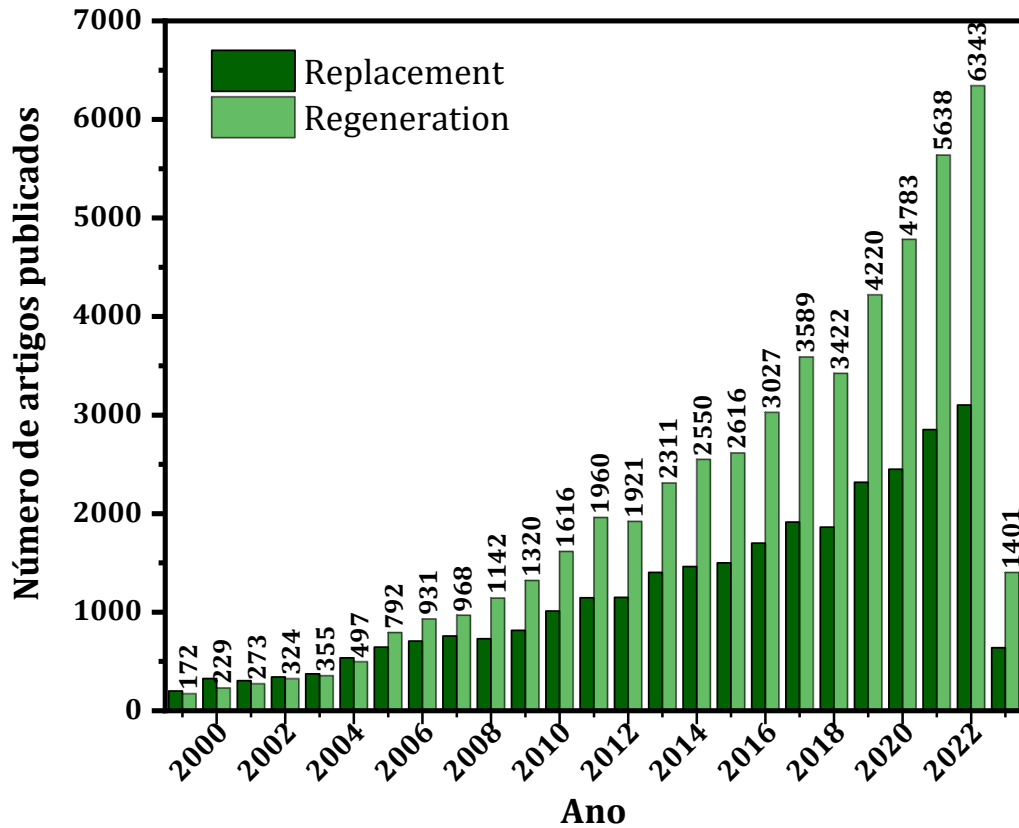
Durante a 9ª Conferência Europeia da Sociedade Europeia de Biomateriais (1991) ocorrida em Chester, Reino Unido, a definição aprovada em 1982 foi aprimorada incluindo “para manter ou melhorar a qualidade de vida do indivíduo”. Esta adição afirma que qualquer biomaterial não apenas tem como objetivo a “sobrevivência” do paciente, mas também a manutenção/melhoria de sua qualidade de vida. É compreensível que a significância dessa declaração corrobore com dados apresentados pela OMS que prevê o aumento da proporção da população mundial acima de 60 anos de 12% para 22% entre 2015 e 2050 (BAGNO, 2012). Logo, é oportuno o avanço nas pesquisas científicas e das aplicações tecnológicas, com base em uma definição mais ampla, no desenvolvimento e aperfeiçoamento dos biomateriais.

Para melhor entender a respeito do desenvolvimento de pesquisas voltadas ao tema de biomateriais, o banco de dados *Scopus* foi consultado aplicando palavras-chaves que embasam o campo de pesquisa de artigos completos publicados em língua inglesa, como “*biomaterials replacement*” e “*biomaterials regeneration*”.

A Figura 1 apresenta os artigos publicados no intervalo de 1999 a 2023, no qual, é possível notar a tendência do avanço científico com o aumento dos registros de pesquisas focando obter biomateriais com propriedades biocompatíveis por meio dos mecanismos de substituição e regeneração.

A produção de biomateriais é cada vez maior e, por meio da Figura 1, é notada que a tendência continuará a aumentar, devido à variedade de materiais existentes que podem ser aperfeiçoados, além da criação de novos materiais com diferentes estruturas e diversas maneiras de serem aplicados no contexto médico.

Figura 1. Registro do número de artigos publicados no banco de dados *Scopus* para as palavras-chave “*biomaterials replacement*” e “*biomaterials regeneration*”.



A Tabela 1 lista algumas aplicações mais relevantes de biomateriais para uso clínico, além de destacar que os biomateriais podem ser classificados em metais, cerâmicas e polímeros, cada classe apresentando suas vantagens e desvantagens.

Tabela 1. Classificação dos biomateriais e suas aplicações clínicas mais relevantes.

| | Prós | Contras | Aplicações |
|-----------|--|---|--|
| Metais | Propriedades mecânicas elevadas, ductilidade | Baixa biocompatibilidade | Ortopédicas, ortodônticas e cardiovasculares |
| Cerâmicas | Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão | Frágil, elevado peso específico | Ortopédicas, ortodônticas e cardiovasculares |
| Polímeros | Baixo peso específico, processabilidade | Deformabilidade e degradabilidade ao longo do tempo | Ortopédicas, ortodônticas, cardiovasculares, implantes mamários e suporte para tecidos moles |

Fonte: O autor (2023) adaptado de BAGNO (2012).

2.2 Biocerâmicas

As biocerâmicas são biomateriais inorgânicos de diferentes categorias, com destaque para as biocerâmicas de fosfato de cálcio e vidro bioativo como materiais mais pesquisados na literatura como enxertos ósseos. As biocerâmicas de fosfatos de cálcio podem conter fases principais de hidroxiapatita, fosfato tricálcico e fosfato de cálcio bifásico em diferentes formas (pó, cimento ou pasta).

Já a biocerâmica de vidro bioativo é composto de óxido de silício com substituição parcial de cálcio que, quando em contato fluidos corporais, há a formação de uma camada de fosfato de cálcio na superfície do vidro bioativo. Esta camada é a responsável pela ligação química da biocerâmica ao tecido ósseo (FINK, 2018).

No contexto de regeneração óssea, as propriedades como bioatividade, biocompatibilidade, hidrofiliabilidade, osteocondutividade e osteoindutividade apresentadas pelas biocerâmicas destacam sua importância na ciência regenerativa. A Tabela 2 destaca as propriedades requeridas de modo geral para aplicações médicas com suas devidas definições/funções.

Uma propriedade ainda a ser confirmada mais amplamente na literatura é a exibição de fatores osteoindutivos pela superfície das biocerâmicas que, por sua vez, absorve ou libera íons de cálcio e fosfato no ambiente circundante estimulando a diferenciação de células osteoprogenitoras em osteoblastos (ASA'AD, 2016).

Outro ponto de destaque é a respeito da biocompatibilidade das biocerâmicas, que tem como base a elevada resistência à compressão, grau de umidade elevado, tensão superficial, módulo de Young rígido (alto), células aprimoradas e quebrações (falha sem deformação plástica) e adesão ao tecido vivo (ABDULLAEVA, 2017).

A principal desvantagem apresentada por esses materiais é a fragilidade e dificuldade de moldagem em estruturas de geometrias complexas, devido a elevada rigidez da estrutura cerâmica e baixa flexibilidade. A baixa resistência mecânica e tenacidade à fratura limitam seu uso em áreas sem aplicação de carga. Com isso, as biocerâmicas são estudadas no contexto de biocompósitos de matriz cerâmica para a obtenção de biomateriais mecanicamente fortalecidos, seja com adição de polímeros ou metais em sua estrutura para diminuir a fragilidade e a fraqueza na resistência mecânica, além de contribuir para melhor modelagem do material (FINK, 2018).

Tabela 2. Propriedades requeridas de biomateriais para aplicações médicas.

| Propriedade | Definição/Função |
|---------------------------------------|--|
| Bioatividade | Propriedade inerente do material para contribuir em reações biológicas específicas ou obter um efeito sobre os tecidos vivos |
| Biocompatibilidade | Capacidade do material de funcionar com uma resposta apropriada do hospedeiro em uma aplicação específica |
| Fixação bioativa | As superfícies reativas conectam-se quimicamente com o osso, minimizando assim a formação de cápsulas fibrosas |
| Bioestabilidade | A capacidade do material de manter suas propriedades <i>in vivo</i> |
| Cristalinidade | O nível mais alto de cristalinidade evita a rápida reabsorção (dissolução) da biocerâmica em fluidos corporais |
| Estabilidade interfacial e boa adesão | Previne falhas mecânicas em condições de suporte de carga |
| Osteointegração | Ancoragem direta de um implante pela formação de tecido ósseo ao seu redor sem crescimento de tecido fibroso na interface osso-implante |
| Osteocondução | Capacidade de fornecer uma estrutura para a formação de um novo tecido ósseo |
| Osteoindução | Processo pelo qual a osteogênese é induzida. Este termo significa que células primitivas, não diferenciadas e pluripotentes são de alguma forma estimuladas a se desenvolver na linhagem de células formadoras de osso |
| Reabsorção | Degradação gradual ao longo do tempo para substituir o biomaterial pelo tecido natural do hospedeiro |
| Capacidades terapêuticas | Modelos para a entrega <i>in situ</i> de drogas e fatores de crescimento nos momentos necessários |
| Molhabilidade | A propriedade do material em atrair/repelir moléculas de água |

Fonte: ELIAZ (2017).

2.3 Fosfatos de Cálcio

A composição química dos fosfatos de cálcio apresenta como principais elementos o Cálcio (Ca), Fósforo (P), Oxigênio (O) e Hidrogênio (H), sendo este último um constituinte do ânion. Estes compostos são tratados como biomateriais cerâmicos de interesse devido a apresentarem biocompatibilidade e biodegradabilidade, com destaque para a fase de hidroxiapatita (AROKIASAMY, 2022).

A abrangência de vários compostos dentro deste grupo é resultado das variações nas proporções dos elementos constituintes e do fator de hidratação, e são classificados com base no ânion fosfato como orto (PO_4^{3-}), meta (PO_3^-), piro ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) e poli [$(\text{PO}_3)^n-$], além da quantidade de íons de hidrogênio substituídos pelo íon cálcio ligados aos ânions multivalentes como mono- $[\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2]$, di- (CaHPO_4) , tri- $[\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2]$ e tetra- $(\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7)$ (ARAÚJO, 2016).

A Tabela 3 mostra os tipos de fosfatos de cálcio com mais significância e interesse biológico, devido aos CaPs serem frequentemente usados em aplicações médicas nas formas de cimentos, revestimentos, *scaffolds* e pastas.

O mecanismo central da bioatividade é a dissolução parcial e a liberação de íons para o meio, com isso há o aumento das concentrações de íons de cálcio e fosfato resultando na precipitação de uma fase apatita biológica na superfície da cerâmica. Todas as cerâmicas de CaP são consideradas como materiais biocompatíveis por meio da sua abundância no corpo seja dissolvido ou em forma sólida, além de implantes de HA não mostrarem inflamação ou resposta de corpo estranho (ELIAZ, 2017).

Tabela 3. Tipos de fosfatos de cálcio e suas propriedades.

| Ca/P | Composto (Fosfato-) | Fórmula | Aplicação |
|------|---------------------------|---|---|
| 0,5 | Monocálcico monohidratado | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | Aumento da absorção de fluorita no corpo |
| 0,5 | Monocálcico anidro | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$ | Formação de enxertos ósseos artificiais |
| 1,0 | Dicálcico anidro | CaHPO_4 | Agente de polimento para dentes, fonte de Ca e P em suplementos alimentares |
| 1,0 | Dicálcico Dihidratado | $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | Liberação sustentada de drogas altamente solúveis em água. |

| | | | |
|----------|-------------------------------------|---|--|
| 1,5 | α -Fosfato tricálcico | α -Ca ₃ (PO ₄) ₂ | Reparação de ossos como um compósito biodegradável |
| 1,5 | β -Fosfato tricálcico | β -Ca ₃ (PO ₄) ₂ | Cirurgia ortopédica |
| 1,5-1,67 | Hidroxiapatita deficiente em cálcio | Ca _{10-x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6-x} (OH) _{2-x} | Enxerto ósseo |
| 1,67 | Hidroxiapatita | Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂ | Reparação e crescimento em tecidos duros |
| 1,67 | Fluorapatita | Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂ | Fabricação de produtos farmacêuticos como fonte de flúor |
| 1,67 | Oxiapatita | Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ O | - |
| 2,0 | Tetracálcico | Ca ₄ (PO ₄) ₂ O | Revestimento em implantes metálicos, pastas e cimento |

Fonte: O autor (2023) adaptado de DOROZHKIN (2012), AKRAM (2014) e AGBEDOH (2020).

A Tabela 4 lista a solubilidade dos fosfatos de cálcio, sendo crucial o entendimento nesse aspecto, devido as baixas razões de Ca/P influenciaram em fases mais ácidas e solúveis em água (ARAÚJO, 2016), e a Tabela 5 apresenta suas informações cristalográficas.

Tabela 4. Solubilidade de fases de CaP de interesse para aplicações biológicas.

| Nome | Solubilidade à 37 | Solubilidade à 25 |
|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | °C, -log (K _s) | °C, -log (K _s) |
| Monocálcico monohidratado | - | 1,14 |
| Dicálcico anidro | 7,02 | 6,90 |
| Dicálcico Dihidratado | 6,63 | 6,59 |
| α -Fosfato tricálcico | 25,5 | 25,5 |
| β -Fosfato tricálcico | 29,5 | 28,9 |
| Hidroxiapatita deficiente em cálcio | ~85,1 | 85,1 |
| Hidroxiapatita | 117,2 | 116,8 |
| Tetracálcico | 37-42 | 38-44 |

Fonte: ELIAZ (2017).

Tabela 5. Informações cristalográficas de fases selecionadas de CaP.

| Nome | Grupo Espacial | Parâmetros da célula unitária |
|-------------------------------------|--|---|
| Monocálcico monohidratado | Triclínica $P1$ | $a = 6,250, b = 11,892, c = 5,629 \text{ \AA}$ $\alpha = 96,67^\circ, \beta = 114,20^\circ, \gamma = 92,95^\circ$ |
| Dicálcico anidro | Triclínica $P1$ | $a = 6,910, b = 6,627, c = 6,998 \text{ \AA}$ $\alpha = 96,34^\circ, \beta = 103,82^\circ, \gamma = 88,33^\circ$ |
| Dicálcico Dihidratado | Monoclínica | $a = 5,812, b = 15,180, c = 6,239 \text{ \AA}$ $\beta = 116,42^\circ$ |
| α -Fosfato tricálcico | Ortorrômbica | $a = 15,220, b = 20,710, c = 9,109 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ |
| β -Fosfato tricálcico | Romboédrica $R3c$ | $a = b = 10,439, c = 37,375 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = 90,00^\circ, \gamma = 120,00^\circ$ |
| Hidroxiapatita deficiente em cálcio | Hexagonal $P6_3/m$ | $a = b = 9,4157-9,4490, c = 6,8777-6,8865 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$ |
| Hidroxiapatita | Monoclínica $P2_1/b$ Hexagonal $P6_3/m^*$ | $a = 9,84214, b = 2a, c = 6,8814 \text{ \AA}$, $\gamma = 120^\circ$ (monoclínica), $a = b = 9,418, c = 6,884 \text{ \AA}$ $\alpha = \beta = 90,00^\circ, \gamma = 120,00^\circ$ (hexagonal) |
| Tetracálcico | Monoclínica $P2_1$ | $a = 7,018, b = 11,980, c = 9,469 \text{ \AA}$, $\alpha = \gamma = 90,00^\circ, \beta = 90,88^\circ$ |

Fonte: ELIAZ (2017).

2.4 Hidroxiapatita

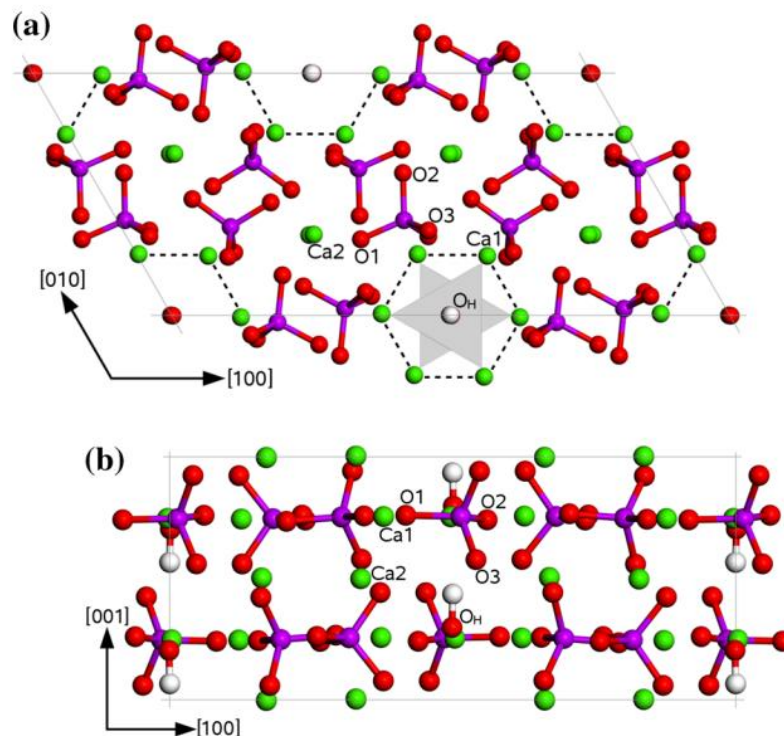
Conforme a Tabela 5 apresenta, a HA quimicamente pura se cristaliza no grupo espacial monoclínico $P2_1/b$. A Figura 3 exemplifica a estrutura cristalina para a Hidroxiapatita monoclínica, no qual há o destaque para a direção [100], de modo que houvesse a compensação da polarização elétrica, desta forma há a atribuição de orientações opostas dos canais hexagonais de -OH cercados por triângulos referentes aos sítios de íons Ca (I) (RI, 2016).

* A HA estequiométrica é monoclínica em condições $<212^\circ\text{C}$. Embora, pequenas quantidades de impurezas contribuam para a formação da fase hexagonal, a única forma encontrada na natureza.

Conforme a Tabela 5 apresenta, a HA quimicamente pura se cristaliza no grupo espacial monoclinico $P2_1/b$. A Figura 2 exemplifica a estrutura cristalina para a Hidroxiapatita monoclinica, no qual há o destaque para a direção $[100]$, de modo que houvesse a compensação da polarização elétrica, desta forma há a atribuição de orientações opostas dos canais hexagonais de $-OH$ cercados por triângulos referentes aos sítios de íons $Ca(I)$ (RI, 2016).

A partir de temperaturas em torno de $250^\circ C$, ocorre a transição de fase monoclinica para hexagonal com grupo espacial $P6_3/m$. Esta fase apresenta íons hidróxido mais desordenados dentro de cada direção apontando para cima ou para baixo na estrutura do que na forma monoclinica. Com isso, as tensões na rede hexagonal são compensadas por substituições ou vacâncias de íons, que estabilizam a estrutura em temperatura ambiente, tornando a HA hexagonal a fase mais comum e presente na biologia e na medicina (ELIAZ, 2017).

Figura 2. Visão de cima (a) e visão lateral (b) da fase Hidroxiapatita monoclinica $P2_1$.



Legenda: Ca (em verde), P (em roxo), O (em vermelho) e H (em branco).

Fonte: RI (2016).

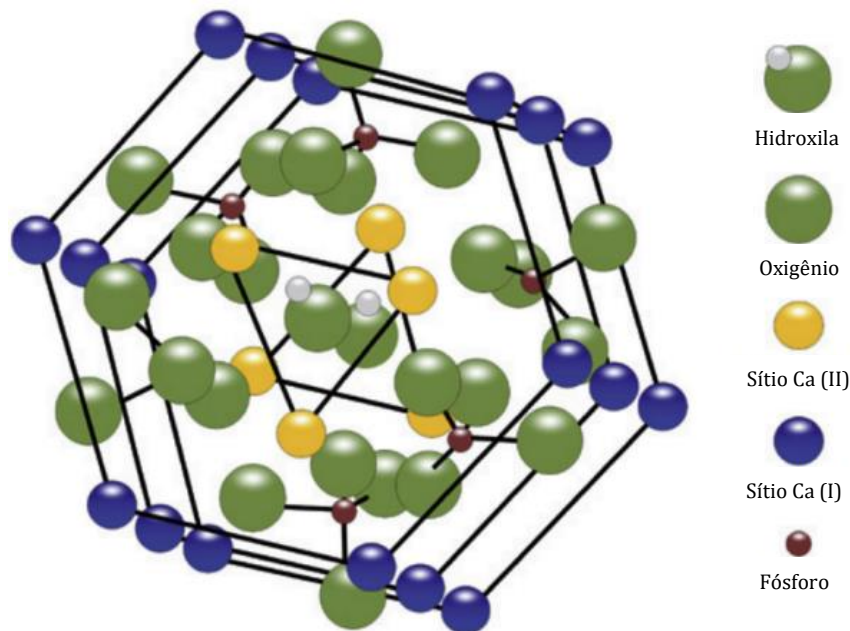
A hidroxiapatita em sistema hexagonal apresenta um centro de inversão e dimensões de célula unitária com eixos $a = b = 0,9423$ nm e eixo $c = 0,6875$ nm (AQUINO,

2015). Na rede cristalina, os tetraedros de $(\text{PO}_4)^{3-}$ são unidos por pontes de íons Ca^{2+} e o espaço entre os grupos $(\text{PO}_4)^{3-}$ é relativamente grande, o que permite a acomodação de átomos estranhos com diâmetros variados e com valores diferentes do íon Ca^{2+} . Os íons de $(\text{OH})^-$ são alinhados ao longo do eixo sêxtuplo da rede, delimitados por colunas de Ca^{2+} e $(\text{PO}_4)^{3-}$ formando o chamado “canal apatítico”. Estudos apontam que os íons de $(\text{OH})^-$ desempenham um papel importante na condução iônica, o que contribui para que o cristalito de HA seja considerado um condutor aniônico unidimensional ao longo do eixo c (TITE, 2018).

A Figura 3 exemplifica a estrutura da HA no sistema hexagonal, sendo possível reescrever a fórmula geral como $(\text{Ca(I)}_4\text{Ca(II)}_6(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2)$, em que pode ser visto um conjunto compactado de grupos tetraédricos de PO_4 , com cada tetraedro compartilhado por uma coluna de dois tipos de canais não conectados.

O primeiro canal tem diâmetro de 0,25 nm e os íons de Ca^{2+} que delimitam podem ser denominados como Ca (I). O segundo canal, responsável pelas propriedades ácido-base e elétricas dos sólidos do tipo apatita, tendo um diâmetro de cerca de 0,35 nm, delimitado pelos íons de Ca^{2+} dispostos em triângulos, denominados como Ca (II). Este hospeda os grupos de hidroxila (OH) ao longo do eixo c para equilibrar a carga positiva da matriz (IBRAHIM, 2020).

Figura 3. Representação da estrutura hexagonal da hidroxiapatita.



Fonte: BRUNTON *et al.* (2013).

2.5 Formas de obtenção da hidroxiapatita

As formas de obtenção de hidroxiapatita são várias e para cada método aplicado resultará em propriedades distintas, com isso, é necessária uma escolha adequada do método para que ocorra o controle da estrutura e que o produto atenda ao propósito do estudo. Além disso, métodos mais avançados são aplicados, de modo, a modificar o tamanho dos cristais e propiciar a obtenção de nanopartículas, assim como influenciar nas propriedades estruturais, na forma e na superfície dos cristais (AGBEDOH, 2020).

A Tabela 6 resume alguns métodos encontrados na literatura destacando suas vantagens e desvantagens.

Tabela 6. Métodos para a sintetização da HA.

| Métodos | Observações Gerais | Vantagens | Desvantagens |
|--------------------------|--|--|--|
| Precipitação (via úmida) | Elevada cristalinidade (>900°C); Temperatura de sinterização influencia diretamente o tamanho dos grãos. | Baixo Custo; Poucos reagentes; Nanopartículas (7,7-59,0 nm). | Morfologia variada; Cristalinidade elevada apenas com sinterização com altas temperaturas. |
| Hidrólise | Tamanho do grão diminui quando sintetizado com cetiltrimetilamônio; Razão CaP: 1,33-1,67 | Processo de baixa temperatura; poucos reagentes; Fase pura de HA; Nanopartículas. | Elevado custo; Morfologia diversa. |
| Emulsão | Temperatura de sinterização influencia diretamente o tamanho dos grãos; Estabilização da fase em torno de 800-1300°C; Micropartículas; Razão Ca/P: 1,2-1,5. | Elevada pureza da fase de HA. | Não obtém a estequiometria da fase de HA; Baixa cristalinidade; muitos reagentes envolvidos na síntese. |
| Hidrotermal | Morfologia em bastonete com forma hexagonal; Razão Ca/P: 1,67. | Alta cristalinidade; HA estequiométrica. | Elevado custo. |

| | | | |
|--------------------------|---|--|--|
| Sol-gel | A razão Ca/P depende da temperatura de calcinação; Razão Ca/P: 1,66-1,77. | Nanopartículas; Fase pura da HA. | Morfologia diversa. |
| Estado Sólido (via seca) | Temperatura de calcinação são críticas para o controle do tamanho e forma da partícula; Razão Ca/P: 1,67. | Baixo custo; Micropartículas; Uso de poucos reagentes químicos. | Elevada cristalinidade obtida apenas com sinterizações em altas temperaturas. |
| Mecanoquímico | Tamanho das partículas diminui com o aumento da ativação mecânica; Partículas em torno de 25 nm. | Fácil produção e procedimento realizado em temperatura ambiente; Nanopartículas. | Baixa pureza da HA; HA não estequiométrica; Cristalinidade obtida após sinterização em altas temperaturas. |

Fonte: O autor (2023) adaptado de AGBEDOH (2020) e AHMARUZZAMAN (2023).

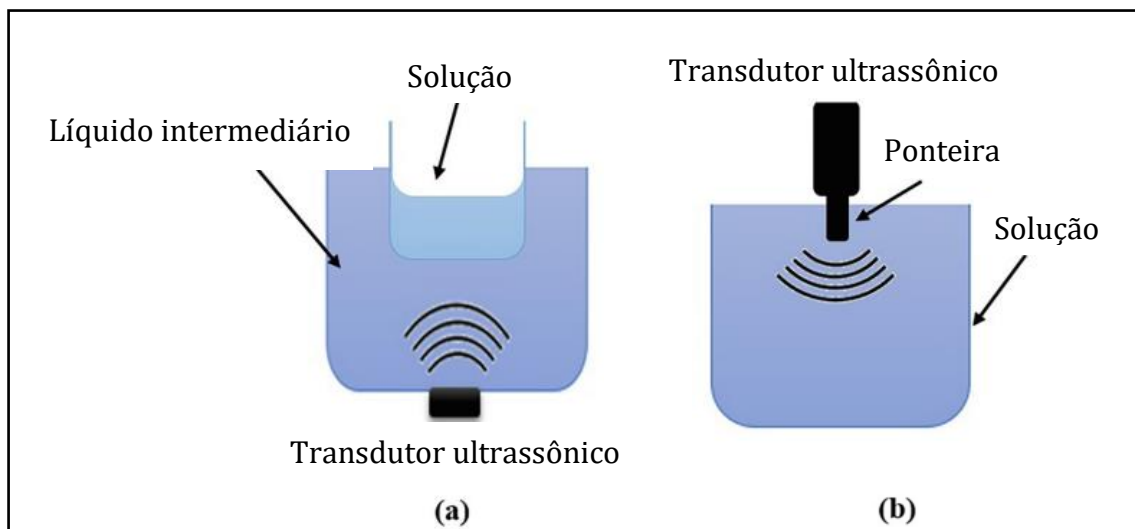
2.6 Método Sonoquímico

O método sonoquímico é utilizado na obtenção de materiais de uma fase e também de compósitos, a partir da cavitação acústica ocasionada pela formação contínua, crescimento e colapso implosivo de bolhas em um líquido. A irradiação ultrassônica induz a formação de radicais livres, com destaque para espécies oxigenadas (OH , O_2^- e HO_2^-), como resultado da sonólise da água em contato com ar atmosférico (SANTOS, 2016).

A radiação ultrassônica é um fenômeno físico classificado em três categorias com base na sua frequência: ultrassom de potência (20-100 kHz), ultrassom de alta frequência (100 kHz-1 MHz) e o ultrassom de diagnóstico (1-500 MHz). Além disso, no contexto de processos sonoquímicos, há dois grupos principais: processo de irradiação indireta (banho ultrassônico) e irradiação direta (ultrassom de ponteira).

O primeiro grupo apresenta a configuração da Figura 4 (a), na qual o transdutor produz o efeito físico e este atinge a solução após se propagar pelo líquido intermediário. Para o segundo grupo, conforme apresentado na Figura 4 (b), o transdutor de ultrassom é posicionado de modo a estar em contato direto com a solução, sem auxílio de mediadores para ser realizada a sonicação (SANTOS, 2021).

Figura 4. Irradiação ultrassônica indireta (a) e Irradiação ultrassônica direta com ponteira (b).



Fonte: O autor (2023) adaptado de AREFI-OSKOUI *et al.* (2019).

Com destaque para a irradiação ultrassônica direta, o ultrassom de ponteira gera ondas de choque que atingem o material com alta velocidade, resultando em alterações na amostra, como a fragmentação das partículas e aumento da área superficial. Vários efeitos físicos são resultados dessas ondas que podem gerar diferentes consequências químicas, sendo o principal a cavitação acústica, em que há a criação, crescimento e o colapso implosivo de bolhas em meio líquido (SANTOS, 2021).

A cavitação é compreendida por processos de compressão, onde ocorre as pressões positivas e aproximação das moléculas, e de expansão, responsáveis pelas pressões negativas e afastamento das moléculas. As cavidades resultantes permanecem no sistema ou aumentam de tamanho, de modo que, a implosão ocorre como resultado da contínua absorção de energia até um ponto crítico (*hot spot*) e, assim, promovendo reações químicas no sistema que se repetem até o fim do procedimento (NASCIMENTO, 2019).

Neste estudo, o procedimento sonoquímico de ponteira é aplicado como uma metodologia auxiliar na obtenção do material em estudo, de modo, a investigar a interação das vibrações ultrassônicas nas características estruturais e morfológicas da amostra.

2.7 Fontes Naturais

A HA é um fosfato de cálcio que pode ser obtido a partir de fontes naturais, sendo estas divididas em quatro categorias principais: fontes vegetais, fontes animais, fontes biogênicas e fontes aquáticas (OLADELE, 2018). Cada grupo apresenta quantidades variáveis de hidroxiapatita com base no número de compostos de cálcio presentes no material, sendo crucial o estudo analítico para que o procedimento adotado possa ser eficaz para a obtenção da HA natural (AGBEDOH, 2020). Um ponto em destaque é que a matéria-prima natural atua como fonte de Ca e P substituindo os reagentes químicos que seriam utilizados em uma rota de obtenção de HA sintética.

A obtenção de fosfatos de cálcio de fontes alternativas tem base em pesquisas que englobam a extração por meio do tratamento térmico de ossos de animais e escamas de peixe como uma rota alternativa e barata (RABIEE, 2019). Esta rota tem como fonte de matéria-prima uma quantidade significativa de produtos descartados no processamento industrial e, com isso, podem ser aplicados como fonte natural na produção de compostos com valor agregado. Além disso, é uma forma mais simples e econômica com benefícios ambientais na produção de biomateriais (TERZIOGLU, 2018).

O tratamento térmico de ossos e escamas de peixes é um procedimento que tem como produto final a fase única de hidroxiapatita ou bifásica (hidroxiapatita – fosfato tricálcico) (TERZIOGLU, 2018) (RABIEE, 2019). Somado a isso, o produto apresenta estrutura porosa, o que permite o crescimento ósseo rápido e apresenta excelentes propriedades biocompatíveis e osteocondutora (CAVALVANTE, 2019).

O osso de origem animal (bovino, frango, crocodilo, ovelha e porco) é o principal exemplo para o grupo de fontes animais e a hidroxiapatita obtida é aplicada como suportes/andaimos para fins de regeneração óssea. Os passos metodológicos compreendem a separação e limpeza dos ossos, moagem com auxílio de moinho de bolas e calcinação (600-1400°C) (TERZIOGLU, 2018) (OLADELE, 2018) (AGBEDOH, 2020).

No grupo das fontes vegetais, pode-se citar exemplos como plantas ricas em calcita, caules e folhas de chá verde, *khat*, hortelã, trifólio e manjeriço que apresentam a fase apatita junto com hidróxido de cálcio em quantidade residual e madeiras utilizadas como suporte por apresentar tubos celulares ocos. A obtenção de HA deste último compreende etapas metodológicas como produção de molde de carbono, conversão do molde de carbono em carboneto de cálcio, formação de óxido de cálcio, formação de

carbonato de cálcio usando óxido de cálcio como precursor e produção de HA via fosfatização hidrotérmica (OLADELE, 2018).

As fontes aquáticas compreendem todas as formas de vida marinha e resíduos que contém quantidades de Ca, incluindo corais, peixes, conchas de moluscos e ostras, espinhos de ouriço-do-mar e crustáceos (TERZIOGLU, 2018) (AGBEDOH, 2020). As principais etapas de extração incluem coleta e lavagem das partes de interesse como ossos e escamas de peixes, conchas e partes de crustáceos, aplicação de soluções salinas para a eliminação de traços de proteínas e impurezas para melhorar a cristalinidade e tratamento térmico até o patamar de 1200°C para a sintetização do fosfato de cálcio (AGBEDOH, 2020).

A respeito das fontes biogênicas muitos autores também incluem nesse grupo conchas, cascas de ovo e escamas mesmo estas também sendo citadas nos demais grupos de fontes naturais (animal e aquática). Isto ocorre porque o termo “biogênico” se refere a algo produzido pela ação de organismos vivos e apresentam importância para a manutenção da vida.

Logo, entende-se porque que as fontes biogênicas citam materiais tratados como bioresíduos, por serem provenientes de fontes naturais que são reutilizados para a manutenção da vida, já que muitos estudos se referem as fontes biogênicas como matérias-primas para a obtenção de biomateriais para aplicações médicas.

Uma das principais vantagens de obter fosfatos de cálcio a partir de fontes naturais é devido as células não apresentarem toxicidade e nem geração de tecido fibroso ao redor da área de cicatrização quando aplicado em implantes (TERZIOGLU, 2018).

A Tabela 7 resume as diferentes fontes naturais com variação do método aplicado para obter a fase de fosfato de cálcio de interesse e o patamar de tratamento térmico aplicado e a Tabela 8 destaca as vantagens que são propiciadas pelo uso das fontes naturais na síntese de HA.

Tabela 7. Efeito da fonte, método e temperatura de calcinação sobre a estabilidade da fase de HA obtida a partir de fontes naturais.

| Fonte | Método | Calcinação (T °C) | Fases | Referência |
|--------------------------|---------------------------|-------------------|------------------------|----------------------|
| Osso bovino | Calcinação | 650-950 | HA | (SOBCZAK, 2009) |
| Osso bovino | Termal | 500-1400 | HA | (KUSRINI, 2012) |
| Osso de peixe | Hidrólise Alcalina | - | HA | (VENKATESAN, 2011) |
| Osso de peixe | Termal | 900 | HA | (VENKATESAN, 2011) |
| Osso de Peixe | Termal | 600 | HA | (BOUTINGUIZA, 2012) |
| Ossos de bacalhau | Termal | 900-1299 | HA e β -TCP | (PICCIRILLO, 2013) |
| Escamas de Peixe | Tratamento líquido iônico | - | HA | (MUHAMMAD, 2016) |
| Escama de Peixe | Tratamento térmico | - | nHA | (KONGSRI, 2013) |
| Espinha/Osso de Peixe | Calcinação | >700 | HA- β -TCP | (ZHU, 2017) |
| Folhas e talo de plantas | Termal | 600-800 | HA | (SHALTOUT, 2011) |
| Casca de ovos | Termal | 900 | HA, CaO e β -TCP | (LEE, 2003) |
| Casca de ovos | Micro-ondas | - | β -TCP | (KUMAR, 2012) |
| Casca de ovos | Precipitação | 400 | HA amorfa | (GOLOSHCHAOV, 2013) |
| Casca de ovos | Precipitação | 700 | HA cristalina | (GOLOSHCHAOV, 2013) |
| Concha de ostras | Termal e moagem | 1000 | HA e β -TCP | (WU, 2011) |
| Casca de ovos | Estado sólido | 900 | HA e β -TCP | (HO, 2013) |
| Conchas de Mexilhão | Precipitação | 800 | HA | (SHARIFFUDDIN, 2013) |

Fonte: O autor (2023) adaptado de AKRAM (2014).

Tabela 8. Recursos naturais como fonte de cálcio para a síntese de hidroxiapatita.

| Fonte natural | Vantagens |
|--|---|
| Casca de ovo | Ajuda no gerenciamento de resíduos pela reciclagem de bioresíduos. Reduz os gastos de obtenção de cálcio. |
| Conchas (ostras, moluscos e mexilhões) | Partículas de HA pura com boa cristalinidade. Custo de síntese reduzido. |
| Espinha/Osso de peixe | Baixa despesa e matéria-prima disponível de fácil obtenção. |
| Escamas de peixe | Gestão de resíduos, devido a se tratar de um resíduo de fácil acesso. |
| Osso de animal | Obtenção de partículas porosas de HA. |
| Algas | Matéria-prima biocompatível, com boa morfologia e rica em calcita. |
| Bicos de frango | Aproveitamento de resíduos, obtém-se HA cristalina e fonte barata. |

Fonte: PAI *et al.* (2020).

2.8 Substituição iônica na estrutura da HA

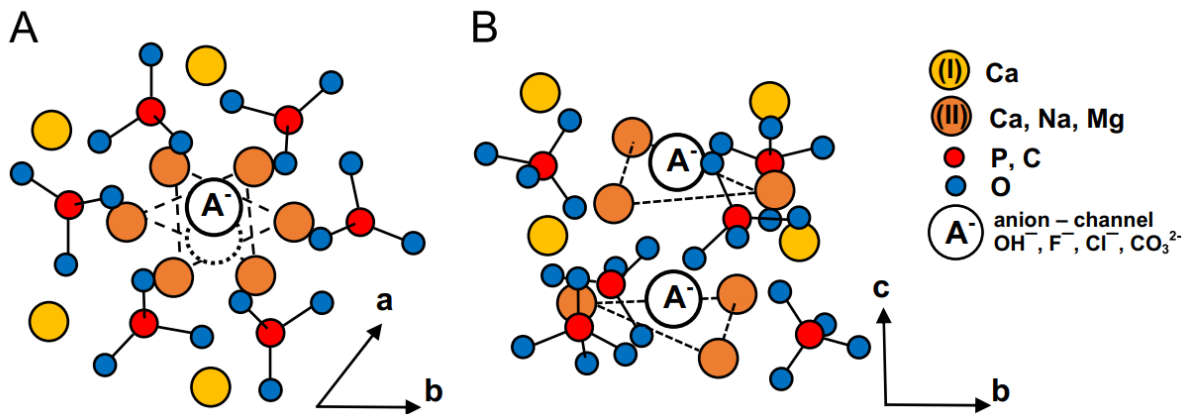
A modificação parcial da estrutura da HA é possível devido a considerável flexibilidade da rede e boa estabilidade estrutural. É possível a ocorrência da substituição catiônica monovalente (Ag^+ , Na^+ , K^+), bivalente (Mg^{2+} , Sr^{2+} , Zn^{2+} , Ba^{2+}) ou cátions multivalentes movendo-se nos sítios da rede ocupados por Ca^{2+} . E, também, por substituição aniônica ocorrendo no sítio de hidroxila (tipo A), no sítio de fosfato (tipo B) ou uma mistura de ambas (tipo AB) (TITE, 2018).

Um ponto de destaque é a substituição por íons bivalentes que não causam desequilíbrio de carga na rede da apatita, ao contrário de íons monovalentes que são neutralizados pela estrutura com a criação de vacâncias complementares ou pela substituição simultânea de cátions e ânions sem a formação de vacâncias ou perda de carga. A troca iônica do íon Ca^{2+} ocasiona contração ou expansão dos parâmetros de rede, devido a distorção depender do tamanho iônico do íon substituto. A presença de um cátion com raio iônico superior ao do Ca^{2+} não necessariamente acarreta no alongamento do parâmetro do eixo a , porque a substituição pode ter ocorrido com um cátion

monovalente em um sítio de cátion bivalente e, com isso, há a criação de vacâncias que podem ocasionar a contração do parâmetro a (EL FEKI, 2000) (SUPOVA, 2015).

A Figura 5 destaca, de modo didático, a substituição de cátions na estrutura da apatita relacionando o raio iônico com os sítios de Ca (I) e (II). O sítio de Ca (I) tem volume menor do que o sítio Ca (II), no entanto, íons dopantes com raios iônicos menores não necessariamente irão ocupar o sítio de Ca (I) (SUPOVA, 2015). As cargas dos íons e a força das ligações afetam na distribuição dos cátions entre os canais e o principal fator que influencia essa distribuição é chamado de otimização da interação Metal-Oxigênio. Em um caso, o sítio (I) permite cátions maiores devido a maior distância da interação Metal (I)-O. Em outro caso, o maior número de íons volumosos aumenta a repulsão e assim causaria um alargamento do eixo c que é corrigido com a acomodação de átomos de metal no sítio (II) (BIGI, 2007).

Figura 5. Visualização dos sítios de Ca (I) e (II) e do canal apatítico para uma estrutura hexagonal. A) Estrutura vista abaixo do eixo c e B) com visão perpendicular ao eixo c .

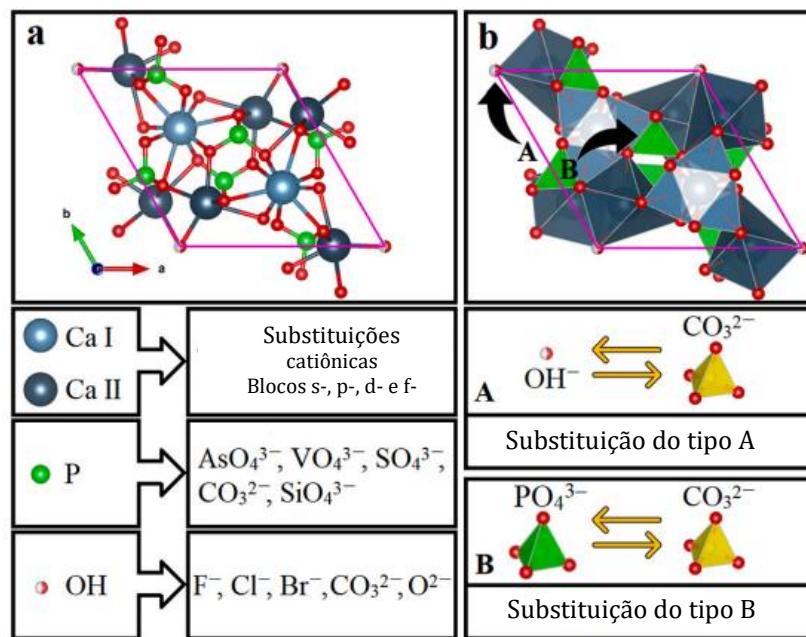


As apatitas biológicas apresentam fórmula $A_{10}(BO_4)_6X_2$ (ver Tabela 3), sendo A o sítio ocupado por um metal bivalente, BO_4 um ânion trivalente e X um ânion monovalente (NETO, 2015). E por ser tratar de compostos carbonatados não estequiométricos, são deficientes em Ca pela ocorrência de substituição por traços de vários íons, adsorvidos ou incorporados na superfície ou na estrutura de rede (COMBES, 2016). Devido a isso, a parte mineral do osso não é constituída por HA pura, mas também de elementos minoritários como CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} , Na^+ , Mg^{2+} e traços de elementos como Sr^{2+} , K^+ , Cl^- e F^- (NETO, 2015).

No caso do F, há a substituição parcial no grupo hidroxila e impurezas como Mg, Na ou Si e na ocorrência de substituição por metais, geralmente, a substituição ocorre em

um dos sítios de Ca. Com destaque para o carbonato, este é o principal substituinte na apatita óssea, responsável pela denominação hidroxiapatita carbonatada, e sua presença ocorre da substituição do íon CO_3^{2-} no sítio do íon hidróxido ou do fosfato (SUPOVA, 2015). A diferença entre as valências dos átomos hospedeiros e substitutos é compensada pelos defeitos de oxigênio, relacionados ao grupo hidroxila presente na estrutura (NETO, 2015) (TITE, 2018).

Figura 6. (a) Projeção no eixo c do arranjo estrutural dos sítios Ca I, Ca II, PO_4^{3-} e OH^- e potenciais cátions para modificação iônica; (b) Substituição do tipo A e B do carbonato na estrutura cristalina hexagonal da HA.



Fonte: NASIRI-TABRIZI (2023).

Analisando a influência da substituição iônica nos parâmetros de rede da estrutura das apatitas biológicas, a substituição do carbonato do tipo B causa a diminuição no comprimento do eixo a e aumento do eixo c da rede. Estas mudanças de comprimento ocasionam alterações no tamanho do cristalito e na microformação cristalográfica. Além disso, diminui a solubilidade, porque as ligações Ca- CO_3 são mais fracas do que as ligações Ca- PO_4 . Por sua vez, a apatita carbonatada sintética do tipo A pode ser obtida por meio de tratamentos térmicos em temperaturas elevadas (>1000 °C) e a do tipo B pode ser precipitada em soluções em temperaturas até 100°C (SUPOVA, 2015).

Tabela 9. Resumo das possíveis substituições iônicas na estrutura da HA.

| Sítio | Íons dopantes |
|-----------------|--|
| A | K ⁺ , Na ⁺ , Mn ²⁺ , Ni ²⁺ , Cu ²⁺ , Co ²⁺ , Sr ²⁺ , Ba ²⁺ , Pb ²⁺ , Cd ²⁺ , Eu ²⁺ , Ga ²⁺ , Fe ²⁺ , Zn ²⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺ , Ag ⁺ , Li ⁺ , Ce ³⁺ , Y ³⁺ , La ³⁺ , Al ³⁺ , Bi ³⁺ , Zr ⁴⁺ , Ta ⁵⁺ , Nb ⁵⁺ . |
| BO ₄ | AsO ₄ ³⁻ , PO ₄ ³⁻ , SiO ₄ ³⁻ , VO ₄ ³⁻ , CO ₄ ³⁻ , SO ₄ ³⁻ |
| X | F ⁻ , Cl ⁻ , OH ⁻ , Br ⁻ |

Fonte: EVIS (2011), AQUINO (2015), BASIRUN (2017) e SCHATKOSKI (2021).

As hidroxiapatitas possuem vantagens significativas devido aos íons introduzidos. As substituições iônicas recorrentes de estudos laboratoriais têm o intuito de analisar como o íon dopante interfere na estrutura cristalina, na cristalinidade, na carga superficial, na solubilidade, nas propriedades mecânicas e, além disso, devido a estudos reconhecerem os materiais finais com propriedades biológicas otimizadas (TITE, 2018).

A Tabela 10 apresenta funções e mecanismos de íons dopantes referentes ao procedimento de substituição iônica em fosfatos de cálcio de modo geral. Os íons dopantes introduzidos em uma rede cristalina de apatita podem aumentar a regeneração óssea, devido a isso, há o interesse em analisar, de modo amplo, as influências das trocas iônicas em diversas características e propriedades de materiais, como é o caso dos fosfatos de cálcio, com destaque para a hidroxiapatita (NETO, 2015).

Tabela 10. Íons metálicos com abrangência literária e seus mecanismos de ação.

| Íon | Função | Mecanismo de ação |
|------------------|----------------|--|
| Li ⁺ | Osteogênese | Melhora a proliferação e diferenciação de osteoblastos (<i>in vivo</i>) e apresentou propriedade osteoindutiva em estudos <i>in vivo</i> . Além de atividade antibacteriana. |
| | Antibacteriano | |
| Zn ²⁺ | Angiogênese | O zinco atua no processo de reabsorção osteoclástica e estimula o processo de construção de osteoblastos. |
| | Antibacteriano | |
| Mg ²⁺ | Osteogênese | O magnésio induz a produção de óxido nítrico em células endoteliais que são essencialmente o mesmo mecanismo que o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular) usado para induzir a angiogênese. |
| | Antibacteriano | |

| | | |
|---------------------|--|--|
| Sr ²⁺ | Osteogênese Angiogênese Antibacteriano | Estimula a formação óssea por modo duplo de ação: um papel estimulador sobre os osteoblastos formadores de osso e um papel inibidor de reabsorção óssea. |
| Cu ²⁺ | Angiogênese Antibacteriano | Apresenta toxicidade em altas concentrações, podendo gerar ROS (espécies reativas de oxigênio) na presença de ânions radicais superóxidos. O ROS induz o dano oxidativo nas células através da quebra do DNA e suas bases de oxidação. |
| Co ²⁺ | Osteogênese Angiogênese Antibacteriano | Em concentrações elevadas pode causar reações adversas em volta dos tecidos como toxicidade sistêmica. Pode ativar e aumentar a reabsorção osteoclástica óssea na diferenciação celular, resultando na osteólise, soltura e afrouxamento asséptico de implantes. |
| B ³⁺ | Osteogênese Angiogênese Antibacteriano | Desempenha papel na regulação positiva do TGF-β (fator de transformação de crescimento beta) e VEGF. |
| Si ⁴⁺ | Osteogênese/ Angiogênese | Tem mostrado ser indutor da angiogênese pela regulação do óxido nítrico. Além de ter mostrado relevância no processo de mineralização. |
| Ag ⁺ | Antibacteriano Osteogênese | Atividade antibacteriana e adsorção de proteínas do plasma sanguíneo. |
| Fe ^{2+/3+} | Angiogênese | Melhora a adsorção de proteínas (<i>in vitro</i>) e proliferação celular. Além de apresentar atividade antibacteriana, superparamagnetismo e inibir o desenvolvimento de células cancerígenas. |
| Nb ⁵⁺ | Osteogênese Angiogênese Antibacteriano | Aumento da microdureza superficial e efeitos positivos à corrosão e a biocompatibilidade é otimizada após a dopagem. |

Fonte: O autor (2023) adaptado de NETO (2015), SCHATKOSKI (2021) e PANDA (2021).

2.9 A espécie *Arapaima gigas* e a produção do pescado

A espécie *Arapaima gigas*, conhecida popularmente como pirarucu, é endêmica da Região Amazônica podendo atingir 200 kg de peso (OLIVEIRA, 2014) e quase três metros de comprimento em *habitat* natural (SHERMAN, 2016). É possível encontrar populações de *A. gigas* no Peru, Bolívia, Colômbia, Guiana e no Brasil, em território nacional, preferencialmente nas bacias hidrográficas do Rio Amazonas e Tocantins-Araguaia, tendo como *habitat* águas calmas de terras baixas, denominadas várzeas (SILVA, A.,2016) (SILVA, N., 2016).

Trata-se de uma espécie nativa de maior valor econômico e cultural na Amazônia brasileira. Devido ao *Arapaima gigas* ser um peixe de grande porte, o seu rendimento de consumo é considerável e há estudos indicando rendimento médio para o filé sem pele e sem escamas de 41,41% (OLIVEIRA, 2014) a 57% (NUNES, 2012).

Tabela 11. Produção nacional da aquicultura por tipo de produto (kg).

| | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 |
|-----------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Tilápia | 281.253.218 | 312.856.340 | 323.713.965 | 343.595.466 | 361.286.198 |
| Tambaqui | 108.286.018 | 102.554.429 | 101.079.464 | 100.569.734 | 94.593.371 |
| Matrinxã | 3.220.910 | 3.606.499 | 3.466.779 | 3.587.489 | 3.747.370 |
| Pirarucu | 1.259.282 | 1.831.765 | 1.892.650 | 1.885.805 | 1.859.160 |
| Tucunaré | 76.139 | 65.834 | 91.887 | 108.800 | 101.762 |

Fonte: IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal.

Tabela 12. Produção da aquicultura da espécie *Arapaima gigas* por região (kg).

| | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 | 2021 |
|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| Brasil | 1.259.282 | 1.831.765 | 1.892.650 | 1.885.805 | 1.859.160 |
| Norte | 1.014.682 | 1.627.749 | 1.679.145 | 1.674.617 | 1.634.929 |
| Nordeste | 131.541 | 132.944 | 139.809 | 139.117 | 139.723 |
| Sudeste | 5.194 | 4.884 | 6.119 | 4.247 | 4.190 |
| Sul | 7.025 | - | - | - | - |
| Centro-Oeste | 100.840 | 66.161 | 67.577 | 67.824 | 80.318 |

Fonte: IBGE – Pesquisa da Pecuária Municipal.

Na Tabela 11 é apresentada a produção da aquicultura no intervalo de 2017 a 2021, na qual a produção de pirarucu é comparada com outras espécies selecionadas e, na Tabela 12, é apresentada a produção da espécie *Arapaima gigas* por região, confirmando a importância deste pescado para a região Norte.

Os principais obstáculos que integram as dificuldades de consolidar o cuidado com a espécie é a intensa exploração nos estoques naturais e a falta de uma fiscalização da pesca e comércio eficaz em toda a região.

A pesca predatória ocasionou o desaparecimento da espécie em ambientes que antes era possível encontrá-la (NUNES, 2012), sendo os elevados níveis da pesca ilegal e a heterogeneidade geográfica, os principais fatores que ocasionam o esgotamento das populações da espécie, somado a escassez de dados que dificulta a identificação local do problema (CASTELLO, 2014). Devido a isso, surgiram regulamentações e estratégias de conservação somadas as regras de ordenamentos pesqueiros que são atitudes que estão sendo tomadas para evitar o desaparecimento da espécie (NOGUEIRA, 2020).

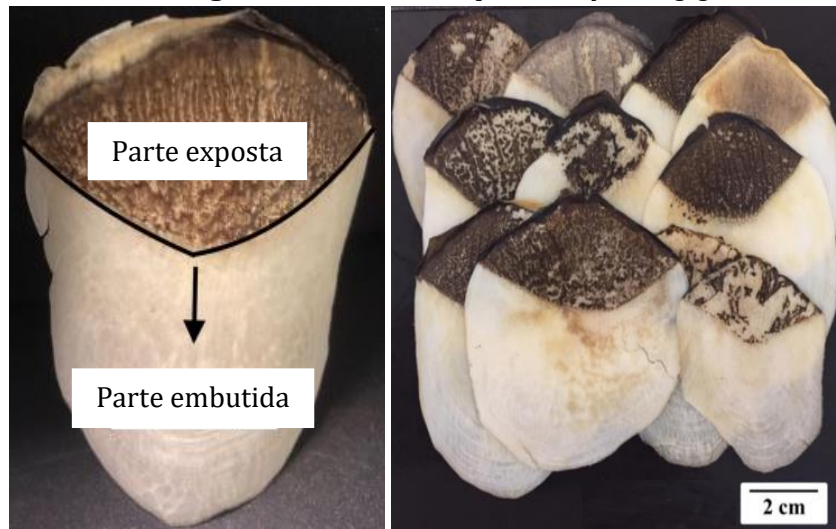
A aplicação de normas rígidas sobre a pesca e a criação em cativeiros garante a existência da espécie e a previne de uma possível extinção em *habitat* natural. Além disso, observa-se que a produção no intervalo apresentado na Tabela 11 se manteve constante comprovando sua presença e importância no comércio pesqueiro.

2.10 As escamas do *Arapaima gigas*

A função da escama é proteger o corpo do peixe contra ferimentos e agressões do meio externo e, neste caso do *A. gigas*, apresenta uma arquitetura hierárquica. As escamas viabilizam a flexibilidade e o movimento de resposta a um ataque predatório, devido a proporção comprimento/espessura e a razão comprimento exposto/comprimento total das escamas.

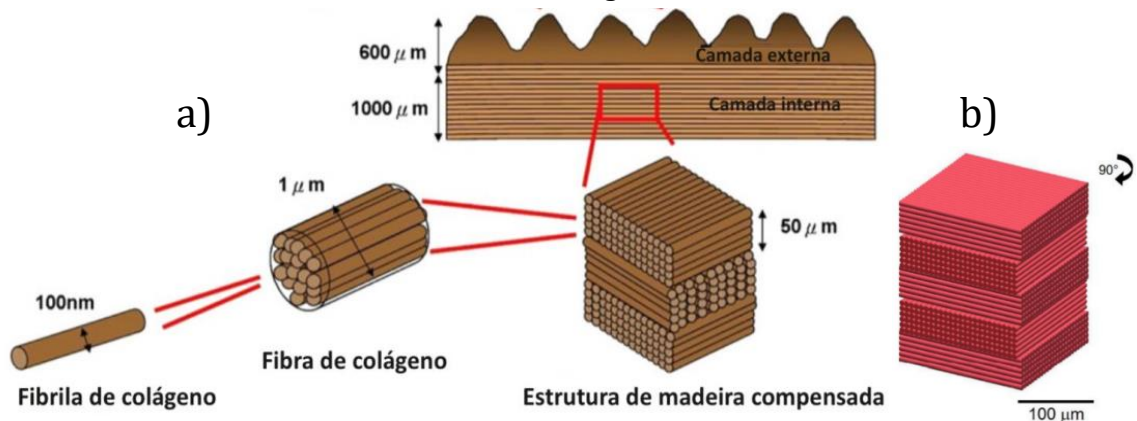
As escamas são compostas por duas regiões distintas a nível macro (Figura 8): uma casca exposta altamente mineralizada com espessura média de 0,5 mm (500 μm), que fornece dureza e minimiza a plasticidade local, e uma região interna de colágeno com espessura média de 1 mm (1000 μm) responsável em suportar maiores quantidades de deformação plástica. A estrutura das escamas de *A. gigas* apresenta um padrão de camadas de colágeno (50 mm de espessura) formadas por fibras de colágeno alinhadas dentro de cada camada individual com rotação alternada em ângulos de 90° entre cada camada (Figura 8) (ZIMMERMANN, 2013).

Figura 7. Escama da espécie *Arapaima gigas*.



Fonte: BEZERRA (2020).

Figura 8. a) Hierarquia estrutural da escama do *Arapaima gigas* e b) detalhe da rotação das fibras de colágeno.



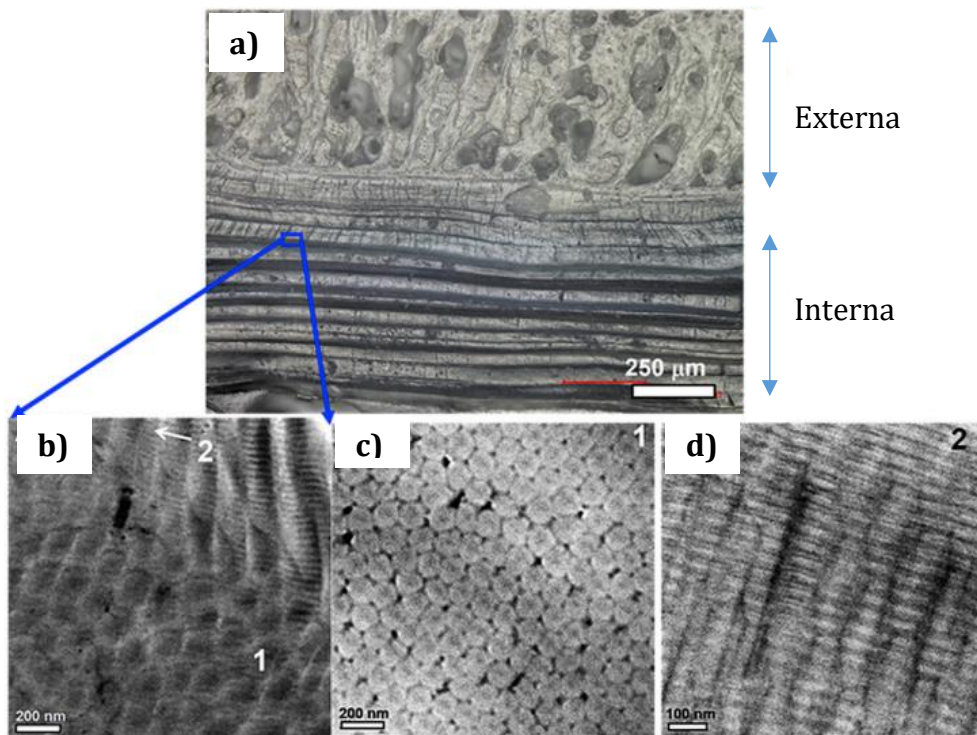
Fonte: LIN *et al.* (2011) e MURCIA (2016).

A escama do *Arapaima gigas* é um resíduo de pescado que recebe pouca atenção, mas estudos pontuais sobre sua composição química e comportamento mecânico sugerem sua utilização como matéria-prima para a obtenção de fosfatos de cálcio (TORRES, 2008). Testes mecânicos apresentaram valores para o Módulo de Young em torno de 1,38 GPa e a caracterização térmica do material, por curva termogravimétrica, mostrou o teor mineral da fase de hidroxiapatita em torno de 48% das escamas (TORRES, 2012).

YANG *et al.* (2019) obteve valores de tenacidade à fratura em torno de 100-200 $\text{kJ}\cdot\text{m}^{-2}$, indicando uma elevada resistência a propagação de fraturas, devido ao envolvimento das lamelas colagenosas que atuam retardando o avanço da trinca,

indicando as escamas do Pirarucu como um dos materiais biológicos flexíveis mais resistentes da natureza. A Figura 9 mostra um corte transversal da escama, com destaque para a espessura das camadas externa e interna, destacando que cada lamela da camada interna é composta por fibrilas de colágeno paralelas em diferentes orientações.

Figura 9. Micrografias da seção transversal (a) da escama destacando as camadas externa e interna, fibrilas de colágeno em duas lamelas adjacentes (b), fibrila perpendicular ao plano ampliação da região 1(c) e fibrila paralela ao plano ampliação da região 2 (d).



Fonte: YANG (2019).

A fase de hidroxiapatita presente na escama é deficiente em cálcio, devido as substituições dos sítios de PO_4^{3-} por HPO_4^{2-} que é compensada pela perda da carga positiva através da remoção do íon Ca^{2+} que, por sua vez, resulta em uma razão Ca/P menor que 1,67 (TORRES, 2017). Além da fase mineral de apatita, as escamas de peixe contêm em menores quantidades íons de sódio, magnésio e carbonato (IKOMA, 2003) e fibras de colágeno reforçadas com a fase de hidroxiapatita (TORRES, 2008) (TORRES, 2012), além de amidas do tipo I, II e III (BEZERRA, 2020).

As escamas são um resíduo sólido de baixo valor comercial e sua decomposição pode gerar mau odor e proliferação de microorganismos. Resíduo sólido pode ser definido

como um material, substância ou bem descartado que precisa ser tratado e reciclado (SPELTA, 2018).

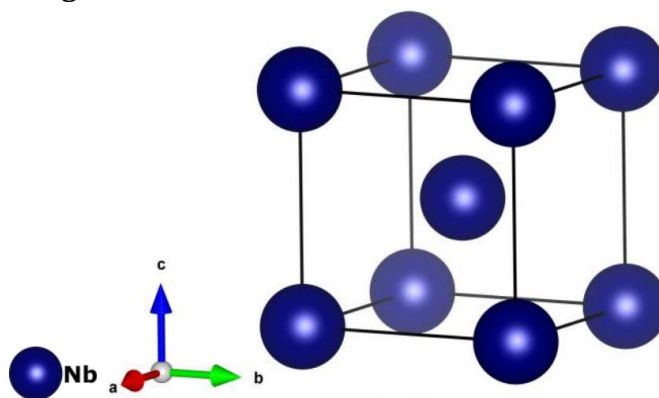
Segundo a norma ABNT NBR 10004:2004, a escama tratada como resíduo pesqueiro pode ser classificada como Resíduo Classe II A, se enquadrando na categoria de resíduos não perigosos e não inertes, não apresentando perigo para a área onde estão localizados, sendo importante um fim adequado ao material tendo como objetivo avaliar aplicações, de modo, a agregar valor como matéria-prima na geração de novos produtos.

2.11 Nióbio

O elemento nióbio (Nb) é um dos metais mais abundantes em solo brasileiro apesar de sua baixa concentração na crosta terrestre. O Brasil possui 90% do nióbio mundial em suas reservas, sendo que no ano de 2007, de toda a produção mundial de nióbio (133.928 toneladas), cerca de 96,6% foram provenientes das reservas brasileiras, com um aumento na produção de 23,3% em relação ao ano de 2006 (NASCIMENTO, 2009) (CAPANEMA, 2014).

O nióbio se cristaliza no sistema cúbico de corpo centrado com uma densidade de $8,57 \text{ g/cm}^3$. Apresenta boa condução térmica e refratária com pontos de fusão e ebulição de 2477 °C e 4744 °C , respectivamente. Sua resistividade elétrica a 273 K é de $15,2 \mu\Omega\cdot\text{cm}$ e apresentada característica de supercondutor abaixo da temperatura crítica de $9,2\text{K}$. É capaz de formar carbonetos, nitretos, boretos e silicatos estáveis e, por meio disso, tem diversas aplicações e usos na estabilização de aço inoxidável usados na indústria petrolífera e de gás, na construção de edifícios e, quando adicionado a ligas de níquel, tem aplicações em motores de aeronaves e na indústria de processamento químico (NICO, 2016).

Figura 10. Estrutura cristalina cúbica do nióbio.



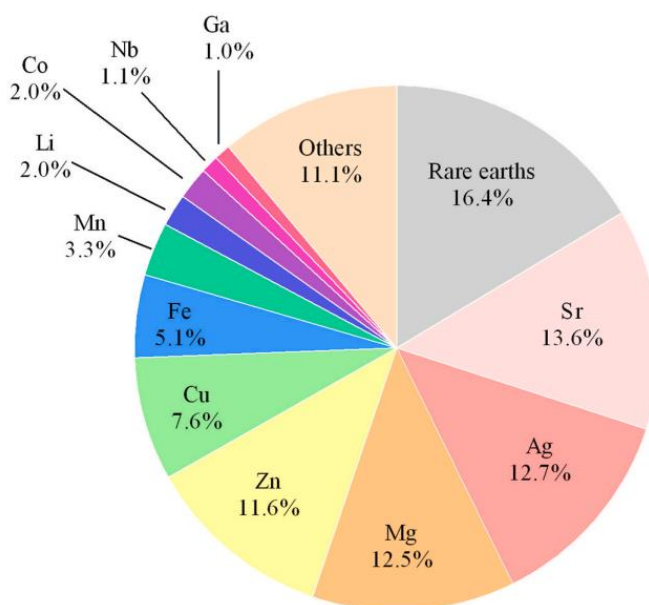
Fonte: NICO (2016).

Outras aplicações do nióbio são embasadas em sua propriedade anticorrosiva e boa biocompatibilidade, esta última possibilitando sua aplicação em substituições de tecido duro

O número de publicações nacionais e internacionais explorando a biocompatibilidade do nióbio ainda é muito menor em comparação com outros materiais, e estudos preliminares apontam que suas propriedades físicas e biológicas são comparáveis a materiais mais tradicionais da área de implantes como, por exemplo, o titânio (CAPANEMA, 2014).

No contexto de incorporação de íons metálicos na estrutura de biocerâmicas, o nióbio representa 1,1% dentre os estudos publicados no intervalo de 2015 a 2020 (ver Figura 11) (SCHATKOSKI, 2021). Logo, a importância do avanço em pesquisas para confirmar a influência do íon dopante de nióbio nas propriedades físico-químicas e no desempenho da angiogênese e osteogênese em uma matriz cerâmica se faz necessário.

Figura 11. Percentual de estudos com biocerâmicas e vidros bioativos dopados com diferentes íons metálicos no intervalo de 2015 a 2020.



Fonte: SCHATKOSKI (2021).

2.12 Nióbio e sua relação com a Hidroxiapatita

Nascimento *et al.* (2011) desenvolveu um compósito com matriz de hidroxiapatita natural oriunda de ossos de peixes variando o percentual em peso de óxido de nióbio (50 a 90%) por meio de processo combinado de calcinação dos ossos e,

posteriormente, uso da técnica de liga mecânica para a obtenção dos pós de HA-Nb. Os resultados revelaram forte interação química entre as fases (HA e óxido de Nióbio), boa densificação, redução do tamanho das partículas e metodologia aprovada como rota para a obtenção do compósito.

O estudo de Demirkol *et al.* (2013) também desenvolveu compósitos com fases de HA e óxido de nióbio com o objetivo de estudar a influência do Nb na estrutura e, assim, obter um produto final com propriedades mecânicas otimizadas. O estudo concluiu que apenas os corpos de prova com 10% em peso de Nb apresentaram aumento de resistência nos ensaios de compressão dos compósitos.

Capanema (2014) desenvolveu estudos envolvendo hidroxiapatita sintética obtida por rota coloidal aquosa com adição de Nb. Os resultados concluíram que a adição do íon metálico influenciou nos parâmetros da célula unitária, redução do tamanho das partículas e contribuiu no coalescimento das partículas. Além disso, os materiais apresentaram citocompatibilidade *in vitro* evidenciando possível aplicação para o crescimento celular, comprovando o compósito de HA/Nb como candidato potencial na engenharia de tecido ósseo.

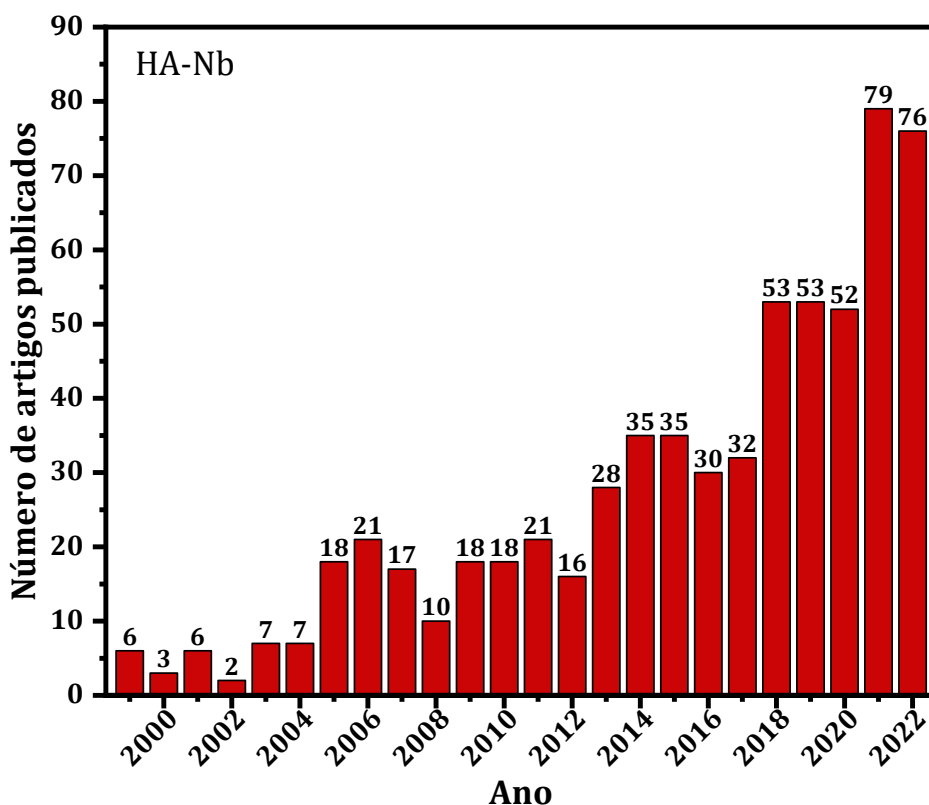
Com ênfase para atividade biológica, Marins *et al.* (2019), em seu estudo, obteve partículas cristalinas de HA e Nb₂O₅ por meio da síntese hidrotérmica assistida por micro-ondas e subsequentes tratamentos térmicos. O estudo indicou que a presença de ambas as partículas contribuiu para o desenvolvimento de membranas hidrofílicas não tóxicas, aumento do metabolismo celular e crescimento gradual de cristais de HA, concluindo que as partículas de HA e Nb₂O₅ desempenharam um papel crucial como arcabouço para o reparo e regeneração óssea em membranas de policaprolactona/gelatina.

Por fim, Bonadio *et al.* (2020) estudou os efeitos da temperatura de sinterização sobre as propriedades físicas, estruturais e mecânicas somado ao desempenho biológico *in vivo* de um biocompósito nanoestruturado trifásico (HA + β -Fosfato Tricálcico e Pentóxido de nióbio), indicando a biocerâmica produzida para possíveis aplicações em implantes ósseos com a capacidade de suportar cargas médias e altas. A temperatura de sinterização de 1080°C apresentou os resultados mais satisfatórios com valores de resistência à compressão (242 ± 29 MPa), Módulo de Young (19,63 ± 3,5 GPa), coeficiente de Poisson (0,248 ± 0,016) e resistência à flexão (24 ± 5,9 GPa) próximos dos valores obtidos para o osso humano. O estudo *in vivo* comprovou a osseointegração entre o osso neoformado e a biocerâmica trifásica com 45 dias de aplicação.

O nióbio, assim como o titânio é um material que apresenta alta afinidade com o oxigênio podendo formar óxidos como os Nb_2O_5 , NbO_2 e NbO , sendo destes o Nb_2O_5 , o mais estável. Por meio disso, a literatura abrange estudos que investigam a viabilidade da produção de compósitos Nb_2O_5 – HA com propriedades intermediárias para aplicações em reparações ósseas com excelentes desempenhos mecânico e biológico (DEMIRKOL, 2013) (CAPANEMA, 2014).

Realizou-se também um estudo a respeito do panorama para as publicações de artigos científicos que envolvesse a obtenção de biomateriais compostos por hidroxiapatita-nióbio (HA-Nb), nestes termos, a busca foi realizada no banco de dados *Scopus* filtrando o intervalo da pesquisa nos últimos 24 anos, por meio das palavras-chaves “*niobium-hydroxyapatite*”, “*niobium doped hydroxyapatite*” e “*HA-Nb*”. É constatado na Figura 12 que, entre os intervalos de 2010-2015 e 2016-2022, houve a duplicação no número de artigos publicados sobre o tema, indicando uma tendência de ampliação na investigação de materiais HA-Nb.

Figura 12. Panorama do número de artigos publicados no banco de dados *Scopus* no período de 1999 a 2022.



3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Obter, por meio de tratamentos térmicos das escamas da espécie *Arapaima gigas*, pós de hidroxiapatita natural e modifica-los parcialmente com íons de Nb^{5+} via rota sonoquímica. De modo que, seja investigado as propriedades estrutural, vibracional, morfológica e biológica do composto $Ca_{10-x}Nb_y(HPO_4)_x(PO_4)_{6-x}(OH)_{2-x}$, onde $y = 0,00; 0,01; 0,05; 0,10; 0,15$ e $0,20$ mol.

3.2 Específicos

- Investigar a viabilidade de obter um biomaterial, sendo a fase principal proveniente de resíduos do comércio de pescado no Amazonas (escamas de *Arapaima gigas*);
- Agregar conhecimento científico em um material residual, no qual, não há procedências literárias ou amplas do uso das escamas, após a pesca e consumo da carne, na produção materiais candidatos para aplicações médicas;
- Estudar o modo de inserção do Nióbio na matriz cerâmica por meio das técnicas de NIRS e DRX;
- Avaliar a influência do Nióbio na estrutura da hidroxiapatita por meio de ensaios biológicos e mecânicos (nanoindentação);
- Investigar a aplicação do método Sonoquímico na etapa de modificação iônica;
- Apresentar uma rota barata e simples de obtenção de biomateriais, com possibilidade de serem aplicados na área médica de implantes e regenerações de tecidos duros. Além da metodologia ser reproduzida em laboratórios locais.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia compreende a rota de tratamento térmico da matéria-prima (as escamas) devido a disponibilidade laboratorial e procedimento de baixo custo. A etapa sonoquímica com aplicação do óxido de nióbio (Nb_2O_5 , 99,5%, Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração) por via úmida segue a metodologia proposta por Capanema (2016) com auxílio do ultrassom de ponteira, consolidando o procedimento híbrido, de modo a investigar a otimização morfológica do produto e suas implicações.

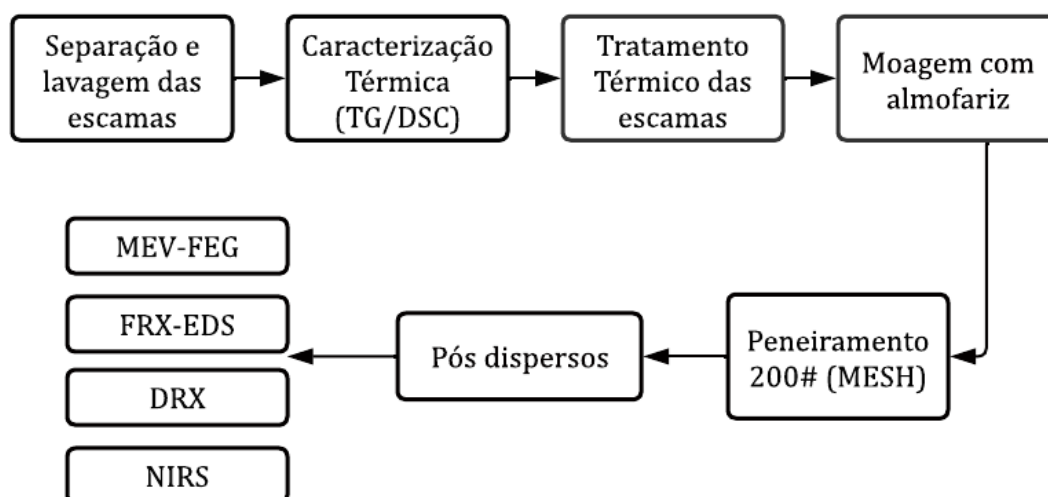
As escamas do *Arapaima gigas* foram obtidas em dois locais: por meio do resíduo de peixe da Feira da Panair, bairro Educandos, zona sul de Manaus e em contato com a empresa FrigoNorte Comércio.

4.1 Obtenção da hidroxiapatita natural

O experimento iniciou com a coleta e lavagem em água corrente das escamas. De modo a minimizar o odor das escamas, as mesmas foram submersas em solução com 6% de ácido acético, em seguida, secas e armazenadas em embalagens herméticas.

As escamas foram tratadas termicamente no patamar de 700°C ($10^\circ\text{C}/\text{min}$) por quatro horas para remoção das partes orgânicas (SADAT-SHOJAI, 2013). O material calcinado foi esfriado dentro do forno mufla, homogeneizado com almofariz de Ágata e peneirado com granulometria passante de 200 MESH ($74\ \mu\text{m}$). O material foi armazenado para as devidas caracterizações físicas, químicas e morfológicas.

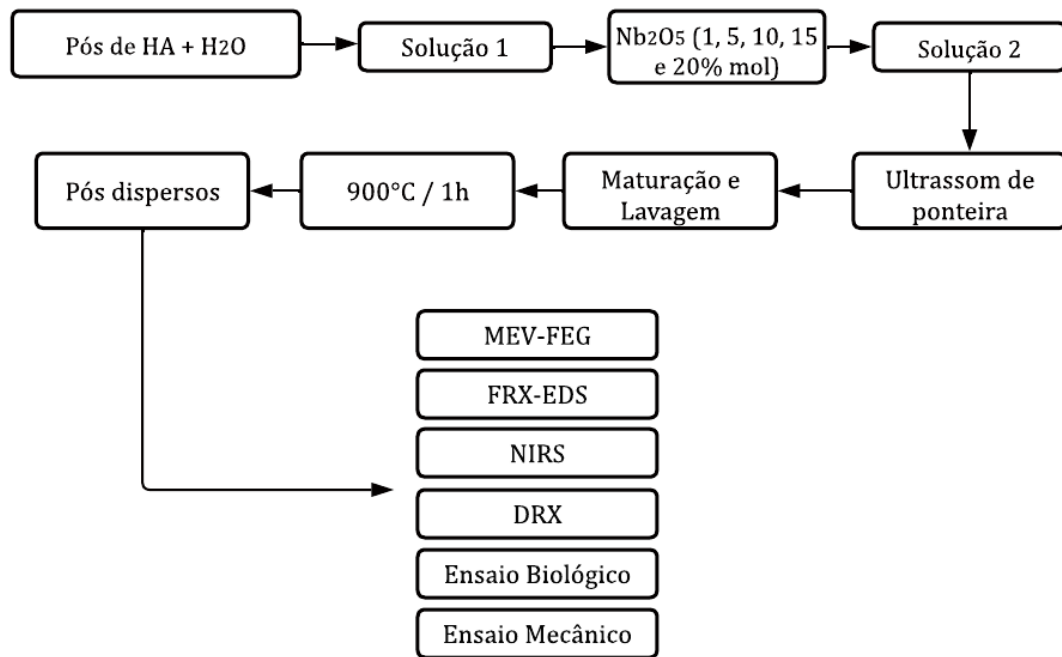
Figura 13. Passos metodológicos da etapa I para obtenção das amostras por tratamento térmico.



4.2 Obtenção da hidroxiapatita modificada parcialmente com Óxido de Nióbio assistida por via Sonoquímica

A obtenção de hidroxiapatita natural modificada parcialmente com nióbio foi baseada nas metodologias de CAPANEMA (2016) e de UEKAWA (2003) adaptadas para este caso. Inicialmente foi preparada a solução precursora de Ca e P (Solução 1) com o pó obtido no passo anterior disposto em 250 ml de água deionizada e foi adicionado à solução o composto Nb_2O_5 , seguindo os cálculos estequiométricos obedecendo a ordem de adição de 1, 5, 10, 15 e 20% molar, sendo obtida a Solução 2.

Figura 14. Passos metodológicos da etapa II para obtenção da amostra modificada parcialmente com Nb assistida por método sonoquímico.



A solução 2 foi submetida sobre influência do efeito físico de cavitação por meio do equipamento de ultrassom de ponteira por 30 min com 70% de potência (20 kHz) e pulsos de nível 1, de modo a disponibilizar os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} para a reação de substituição por íons de Nb.

Após o procedimento, a solução 2 foi disposta para repousar por 24 horas para que ocorresse a decantação. O precipitado foi lavado três vezes, com cada etapa de lavagem sendo adicionada 10 mL de água deionizada e amostras submetidas a centrifugação por 5 min e 3000 rpm, de modo a remover os íons não reagidos. Após a secagem das amostras em estufa (100°C/24h), foi realizado tratamento térmico das amostras no patamar de 900°C (10°C/min) por 1 h. O preparo das amostras para as

devidas caracterizações compreendeu a homogeneização do material com almofariz de ágata e peneiramento com granulometria passante de 200 MESH (74 μm).

4.3 Caracterizações e ensaios

4.3.1 Análises térmicas por Termogravimetria e Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

As análises térmicas por Termogravimetria e Calorimetria de Varredura Diferencial por Fluxo de Calor foram realizadas no Laboratório de Ensaios de Materiais (LEM) – Faculdade de Tecnologia (UFAM) com uso do instrumento modelo SDT Q600 V20.9 Build 20, com taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, atmosfera de N ($30\text{mL}/\text{min}$) em intervalo de 25°C à 1000°C . As amostras submetidas a análise compreendia 9 mg de escama *in natura*, sendo colocada a amostra em cadinhos de alumina. Foi configurado o método cíclico DSC-TGA, cadinho com amostra e um segundo cadinho vazio como referência e uso de ar comprimido para o resfriamento do sistema após alcançada o patamar térmico final (1000°C).

4.3.2 Análise de MEV-FEG e FRX-EDS

As micrografias foram obtidas com auxílio do microscópio eletrônico de varredura (MEV) de alta resolução Jeol JSM IT500-HR com emissão de elétrons por um canhão de emissão de campo (FEG – *Field Emission Gun*) situado no Centro Multiusuário para Análises de Fenômenos Biomédicos (UEA). As amostras foram preparadas em *stubs* de alumínio metalizadas com auxílio do equipamento Leica EM ACE 600, no qual as amostras foram revestidas por uma camada fina de platina de 9 nm de espessura, aproximadamente, com taxa de deposição de $0,08\text{ nm}/\text{s}$. Durante a análise foi aplicada uma magnificação de 18000x em alto vácuo.

As análises por FRX-EDS foram realizadas no equipamento *Panalytical* modelo *Epsilon 3-X* localizado no laboratório de Ensaios Físico-Químicos (FT/UFAM) – LEM. Os parâmetros definidos durante a análise foram: tensão máxima de 50 kV, corrente máxima de 3 mA e atmosfera inerte de gás Hélio (10 atm e $10\text{ kg}/\text{cm}^2$).

4.3.3 Análise por NIRS

As análises com Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIRS) foram realizadas no Espectrofotômetro Antaris II da *Thermo Scientific* na faixa do espectro eletromagnético de 400 a 2500 nanômetros. O equipamento está situado no laboratório da Pós-graduação em Biotecnologia no mini-Campus da Universidade Federal do Amazonas. Um deflector foi utilizado com o intuito de intensificar o sinal das amostras pelo equipamento para minimizar efeitos instrumentais e de ruído.

4.3.4 Análise de DRX

A caracterização estrutural por Difração de Raios X foi realizada por meio do difratômetro de raios-x da Shimadzu Maxima XRD 7000 (Central Analítica do IFAM-CMC) operando com tubo de $\text{CuK}\alpha$ (1,5418 Å) com passo de 0,02 θ /s e com ângulos de varredura de 10 a 100° (θ).

O refinamento dos dados de DRX foi realizado pelo Método *Rietveld* com auxílio do programa *GSAS-II* e fazendo uso auxiliar com os programas *Search-Match* e *Hightscore Plus*, estes sendo aplicados previamente para comparação dos difratogramas obtidos com os difratogramas presentes no banco de dados. A função de perfil utilizada aplica a regra de integração de Simpson multi-termo descrita por Howard (J. Appl. Cryst, 15, 615-620, 1982) da função *pseudo-Voigt* descrita por Thompson, Cox & Hastings. Os dados refinados compreendem as coordenadas dos átomos (x, y, z), fator ocupacional (O_{cc}), os parâmetros de rede (a, b, c, α, β e γ), os coeficientes descritos por Cagliotti, Pauletti e Ricci em 1958 (U, V, W), o parâmetro P , sendo este o coeficiente de *Scherrer* para o alargamento Gaussiano, tamanho da partícula e, por fim, o parâmetro preferencial dos pós por meio da função dos harmônicos esféricos.

Os passos metodológicos do refinamento seguiram com base na curva residual ($Y_{Obs} - Y_{Cal}$) referente a diferença da intensidade dos picos do padrão de difração experimental (Y_{Obs}) e do padrão teórico (Y_{Cal}). De modo a avaliar a confiabilidade do refinamento dos dados por meio estatístico, os parâmetros de convergência observados foram o R_p , R_{wp} , R_{Bragg} , R_e e χ^2 .

4.3.5 Ensaio biológico *in vitro*: Análise microbiana

As amostras HA – 0, 1, 5, 10, 15 e 20% molar de Nb foram compactadas em prensa hidráulica uniaxial a 400 MPa com uso de lubrificação, sendo obtidas amostras com dimensões de 15 mm de diâmetro por 1 mm de espessura. A sinterização foi realizada em atmosfera ambiente a 900°C (10°C/min) por 1 h, conforme metodologia adotada por Nascimento *et al.* (2011) apenas para a confecção das pastilhas.

A etapa do ensaio antimicrobiano iniciou com a criação do meio de cultura com nutriente *Agar*. A suspensão foi criada com 23g do material em 1L de água destilada e submetida a aquecimento e agitação por 1 minuto até a dissolução completa do pó. Após isso, as pastilhas e o meio de cultura foram submetidos a esterilização em atmosfera úmida em Autoclave Vertical a 121°C por 15 minutos.

Finalizado o procedimento de esterilização, o meio de cultura foi distribuído em placas de Petri até que se solidificasse de modo homogêneo. Após isso, para cada amostra, foi realizada a inoculação de 500 microlitros de suspensão contendo a espécie bacteriana bacilar *Gram-negativa Escherichia coli* e distribuída homogeneamente por toda a superfície.

O experimento teve duração de 7 dias para a análise de surgimento ou não da zona de inibição, sendo esta uma região em torno da pastilha na qual não há crescimento bacteriano. As amostras com as pastilhas foram monitoradas com uma amostra de controle para efeito de comparação.

4.3.6 Análise mecânica por nanoindentação

As pastilhas foram confeccionadas com os mesmos parâmetros das pastilhas utilizadas no ensaio biológico. Utilizou-se prensa hidráulica uniaxial a 400 MPa com uso de lubrificação e CMC (carboximetilcelulose) e obteve-se pastilhas com 15 mm de diâmetro por 1 mm de espessura. A sinterização foi realizada em atmosfera ambiente a 900°C (10°C/min) por 1 h.

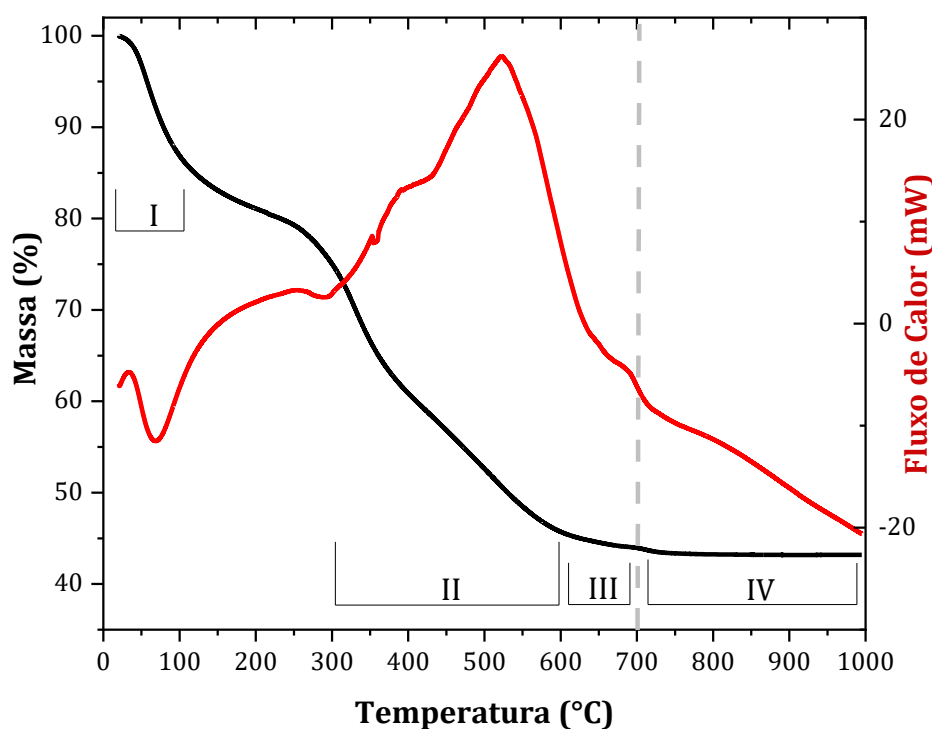
O ensaio mecânico de nanoindentação (Dureza HV) foi realizado conforme norma ASTM C 1327 para as amostras HA- 1, 5, 10, 15 e 20% Nb no equipamento Nanoindentador HM2000 *Helmut-Fischer*. A faixa de carga de teste utilizada foi de 2000 mN, objetiva de x20, profundidade máxima de 70 µm e tempo de aplicação de 35s para as triplicadas das amostras HA – 1, 5, 10 e 15% Nb.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises Térmicas da escama *in natura*

As curvas TG-DSC (Termogravimetria-Calorimetria de Varredura Diferencial) da escama *in natura* são mostradas na Figura 15 e destaca quatro eventos térmicos (Tabela 13).

Figura 15. Análise térmica da escama *in natura* por Termogravimetria e Calorimetria de Varredura Diferencial no intervalo de 25°C a 1000°C.



O evento I compreende o intervalo térmico de 38-107°C referente a perda de umidade da amostra correspondendo a 14,23% de perda da massa inicial. Além da eliminação de moléculas de água adsorvidas na superfície da amostra e de impurezas orgânicas voláteis a temperaturas abaixo de 100°C, segundo TORRES (2012), há também a contribuição da desnaturalização do colágeno que constitui a camada interna da escama do *Arapaima gigas*. Esse processo compreende a separação das hélices triplas em hélices individuais de colágeno, que devido ao aquecimento da amostra, ocorre a clivagem na ligação de hidrogênio intramolecular induzindo o encolhimento das fibras de colágeno e resultando na solubilização e gelatinização do material, resultando na dispersão de água.

Tabela 13. Eventos térmicos da amostra de escama *in natura* aquecida até 1000°C.

| | Temperatura (°C) | Perda de massa (%) |
|------------|-------------------------|---------------------------|
| Evento I | 38-107 | 14,23 |
| Evento II | 297-600 | 29,85 |
| Evento III | 616-700 | 1,360 |
| Evento IV | 701-1000 | 0,780 |

O evento II compreende a maior perda percentual de massa (29,85%) no intervalo térmico 297-600°C, sendo o único evento com fluxo de calor maior em comparação ao do material de referência. Este evento está relacionado a eliminação de fases orgânicas inerentes da matéria-prima.

Segundo BEZERRA (2020), as escamas são constituídas por amidas (NH₂ ligado a uma carbonila C=O) dos tipos I, II e III, logo, esse evento pode ser relacionado a degradação desse grupo funcional, principalmente para a amida do tipo III com ponto de fusão em torno de 320°C e para a possível presença da espécie química de hidróxido de cálcio que se degrada em torno de 500°C.

Além da eliminação das amidas, há o indício da degradação do carbonato de magnésio (MgCO₃), devido a se decompor em torno de 350°C (NIOSH, 2007) e, se tratando da natureza da matéria-prima, é embasada a presença tanto do íon Mg²⁺ quanto do CO₃²⁻ (grupo carbonato).

O evento III compreende um curto intervalo no patamar 616-700°C, no qual o estudo de Ramirez-Gutierrez *et al.* (2017) aponta que a perda de massa é referente as últimas eliminações de proteínas residuais e, que para temperaturas superiores a 660°C, são relacionadas a energia térmica responsável pela transformação físico-química da fase hidroxiapatita de origem biogênica.

E, por fim, o intervalo IV no intervalo 701-1000°C apresenta a menor perda de massa (0,78%). A análise nesse intervalo é importante por se tratar de uma matéria-prima natural. Fontes naturais para a obtenção de fosfatos de cálcio apresentam grupos carbonatos e, dentro desse grupo, a temperatura de fusão gira em torno de 800-900°C (Na₂CO₃ - 851°C; CaCO₃ - 825/899°C; K₂CO₃ - 891°C) para as possíveis espécies que podem compor a matéria-prima natural.

Logo, para a amostra neste estudo, a perda de massa de 0,78% indica pequenas quantidades de carbonatos. Ao contrário de fontes marinhas, em que a curva

termogravimétrica pode indicar perda de massa significativa em torno de 800°C, devido a elevada concentração de carbonato de cálcio.

Outro ponto de destaque envolvendo o evento térmico IV é a variação da curva referente ao fluxo de calor. A amostra continua se degradando conforme a temperatura continua sendo aumentada até 1000°C, contribuindo para a precipitação de fases mais solúveis como as espécies α e β -tricálcico fosfato. Logo, neste estudo, após alcançado o patamar térmico de 700°C, a degradação da fase obtida pode ser acentuada em temperaturas mais elevadas.

Portanto, com base na análise dos eventos térmicos indicados pela curva termogravimétrica e pelo fluxo de calor, é possível apontar o patamar de 700°C para o tratamento térmico das escamas, de modo a avaliar o material obtido por meio das caracterizações químicas e estruturais para a identificação mais apropriada da fase.

5.2 Análise por FRX-EDS

A Tabela 14 apresenta os percentuais em peso dos elementos de interesse para as amostras HA – 0, 5, 10, 15 e 20% Nb. Os elementos Na e Mg aparecem na amostra não dopada como traços iônicos inerentes da matéria-prima em percentuais desprezíveis. Já para as amostras dopadas, conforme aumenta-se o teor de Nb, observa-se que os percentuais de Ca e P diminuem.

Tabela 14. Composição elementar das amostras analisadas por FRX-EDS.

| Amostras | Elementos (% em peso) | | | | | |
|-------------|-----------------------|------|------|------|------|--------|
| | Ca | P | Na | Mg | Nb | Outros |
| HA – 0% Nb | 81,9 | 16,0 | 0,40 | 0,52 | - | 1,18 |
| HA – 5% Nb | 78,3 | 15,5 | - | 0,36 | 5,00 | 0,84 |
| HA – 10% Nb | 75,9 | 14,3 | - | 0,27 | 8,63 | 0,90 |
| HA – 15% Nb | 71,3 | 13,3 | - | 0,18 | 14,4 | 0,82 |
| HA – 20% Nb | 69,1 | 13,1 | - | 0,17 | 17,0 | 0,63 |

As variações nos percentuais de Ca e P em função do aumento do íon dopante está em conformidade com dados da literatura (VENKATASUBBU) (MAQBOOL, 2021). A análise por FRX-EDS evidencia que as amostras dopadas perdem íons de Ca e P tornando-

as estruturas deficientes nesses elementos, contudo a perda percentual em função da inserção do Nb está dentro dos limites da razão Ca/P em que a estrutura da HA é capaz de acomodar.

Outro ponto importante, é a possibilidade da incorporação de grupos carbonatos nos sítios de fosfato. Esta condição é embasada devido ao experimento ser realizado em atmosfera ambiente e, com isso, há a probabilidade de ocorrer a incorporação de carbonatos por meio dos sítios de hidroxila, -OH, formando o composto H_2CO_3 . Por meio dessa reação, durante a dopagem do material, este composto dissolve-se em água e interagem com os sítios de fosfato da HA.

5.3 Análise por MEV-FEG

A Figura 16 apresenta as micrografias das amostras de hidroxiapatita natural com 0, 5, 10, 15 e 20% molar de Nióbio. A Figura 16 (a) apresenta partículas com padrão de crescimento hexagonal com tempo de tratamento térmico por 4h a 700°C. Assim, é possível confirmar que os parâmetros definidos na etapa de aplicação do método físico são eficientes para obter partículas com morfologia característica da fase de hidroxiapatita a partir de escamas da espécie *Arapaima gigas*.

Para as amostras dopadas de 5 a 20% molar de Nióbio, é notada a permanência de partículas com morfologia hexagonal, mas com partículas de tamanho relativo menor em torno dessas. Estas partículas menores são resultado da atuação do método químico, segundo Santos (2021), a sonoquímica com ultrassom de ponteira induz na fragmentação das partículas e, com isso, influencia no tamanho das partículas como resultado da atuação das ondas de choque nas quais o material é submetido.

O mecanismo de ondas choques, que embasam o fenômeno de cavitação durante o processo sonoquímico, pode ser indicado como o responsável pelas amostras dopadas apresentarem uma variação no aspecto das partículas, com base na comparação relativa das micrografias. Essas partículas menores assemelham-se a pequenas esferas com formas irregulares.

Além disso, com exceção das partículas da amostra HA – 0% Nb que estão distribuídas uniformemente, as amostras sonicadas são observadas com aglomerados de partículas, sendo uma influência direta do método sonoquímico. Essas aglomerações estão dispostas de modo irregular e podem ser um reflexo da desunião das partículas de

Nb_2O_5 , ou seja, podem ser uma evidência da coexistência das diferentes composições de fases (PRADO, 2021), neste caso, tanto da fase HA como da fase de Pentóxido de nióbio devido a estabilidade de ambas.

Figura 16. Micrografias das amostras HA - 0% Nb (a), HA - 5% Nb (b), HA - 10% Nb (c), HA - 15% Nb (d) e HA - 20% Nb (e) com aumento de x18000.

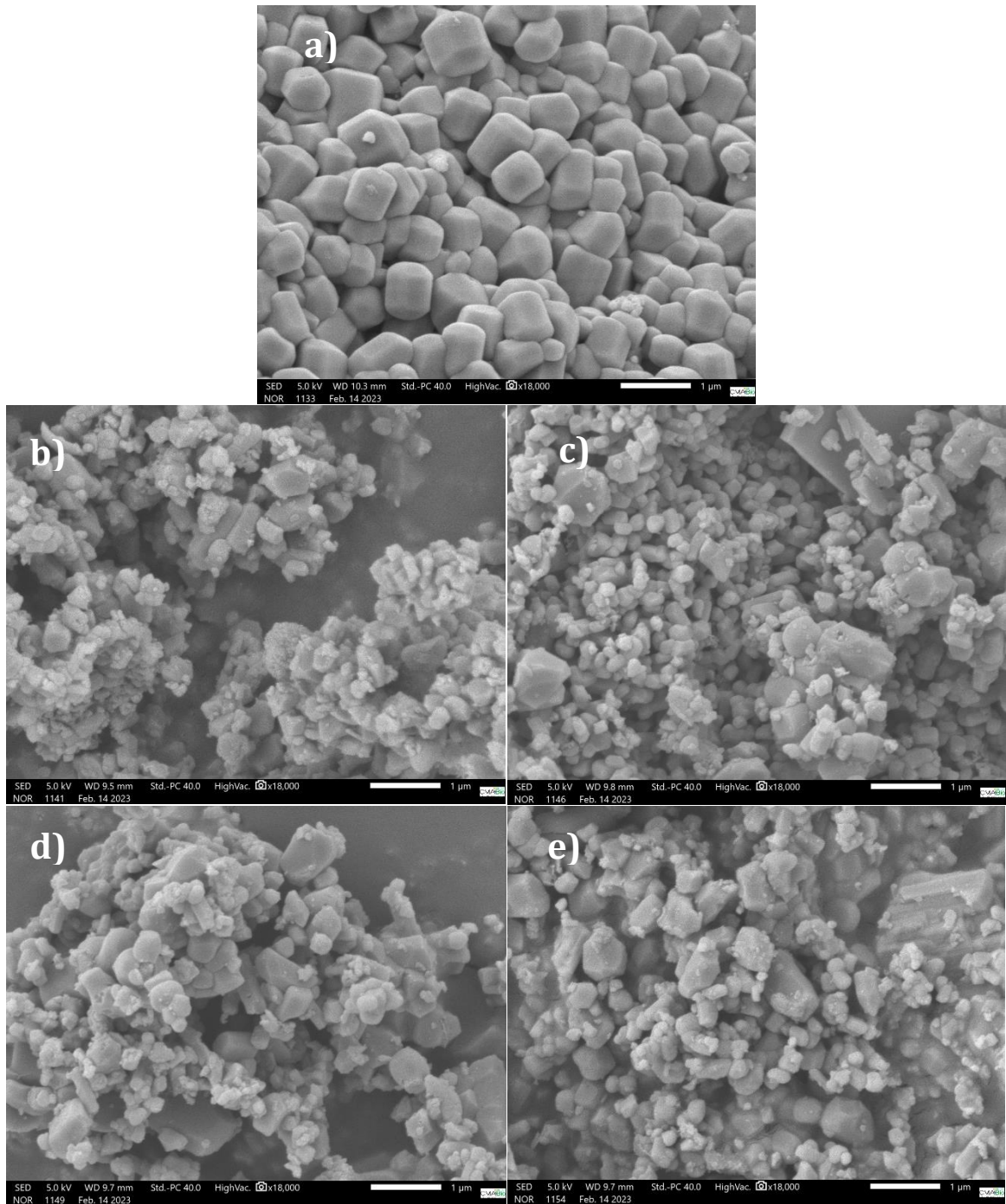
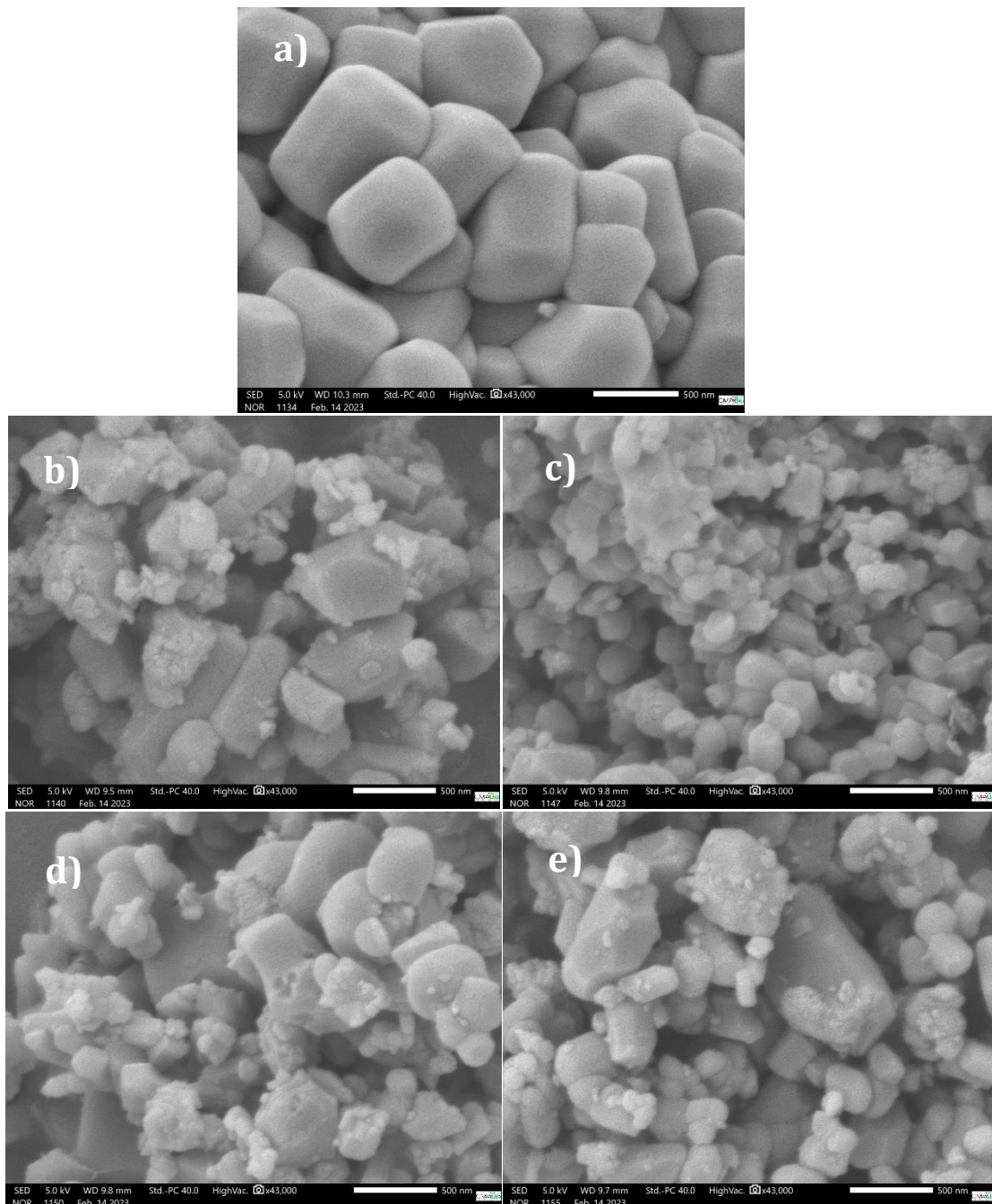


Figura 17. Micrografias das amostras HA – 0% Nb (a), HA – 5% Nb (b), HA – 10% Nb (c), HA – 15% Nb (d) e HA – 20% Nb (e) com aumento de x43000.



Pu'ad (2019) e Malla (2020), em seus estudos, também obtiveram hidroxiapatita natural por meio de tratamentos térmicos. Em seus resultados também foi possível obter formas hexagonais em uma escala de $1\mu\text{m}$, no entanto, por utilizarem temperaturas superiores a 700°C ou tempos de permanência do tratamento físico superiores a 4h, obtiveram formas de partículas variadas, como pequenas esferas ou bastonetes. Neste caso, é comprovado que tempos de permanência e patamar térmico menores são capazes

de produzir morfologia característica da fase HA, resultando em economia de tempo e energia durante o procedimento experimental.

Além disso, os parâmetros do tratamento térmico aplicados neste estudo, apesar de serem menores que os dados da literatura, são eficientes para a remoção de matéria orgânica inerentes das escamas. Este resultado corrobora com a caracterização térmica, segundo a curva termogravimétrica, na qual indica que a parte do perfil da curva referente a temperaturas superiores a 700°C não apresenta variações significativas de massa.

Outra observação válida referente a Figura 17 (a) é a densificação relativa da amostra, devido a distribuição uniforme das partículas, aspecto não observado nas demais amostras, no qual sugere maior presença de vazios devido as partículas estarem dispostas em aglomerações.

5.4 Análise por NIRS

Segundo Kolmas (2015), os grupos funcionais presentes na HA são facilmente identificadas pela técnica NIRS. Logo, esta técnica é aplicável neste estudo com o intuito de buscar informações vibracionais específicas das ligações químicas e simetria dos grupos funcionais presentes nas amostras, além de auxiliar na identificação do material e na investigação de como ocorreu a dopagem com o Nb.

A Figura 18 apresenta os resultados obtidos por meio da Espectroscopia no Infravermelho Próximo para as amostras HA – 0, 5, 10, 15 e 20% molar de Nb. O espectro destaca quatro regiões para se discutir: 2300-2400 nm, 1800-2200 nm, 1390-1455 nm e 400-613 nm. Com base na comparação prévia das curvas, é notável que a intensidade dessas regiões de bandas decresce conforme aumenta a concentração molar de Nb, sendo um indício da presença de Nb e da vibração das ligações envolvidas.

A regiões de 2300-2400 nm e 1800-200 nm podem ser atribuídas ao fosfato superficial com a influência da adsorção de moléculas de água, sendo estas responsáveis por preencher os poros da HA junto com grupos de hidroxilas estruturais. Estas regiões compreendem a sobreposição de bandas que resultam em sinal agudo fraco, esta sobreposição resulta na soma dos modos vibracionais de alongamento e dobramento.

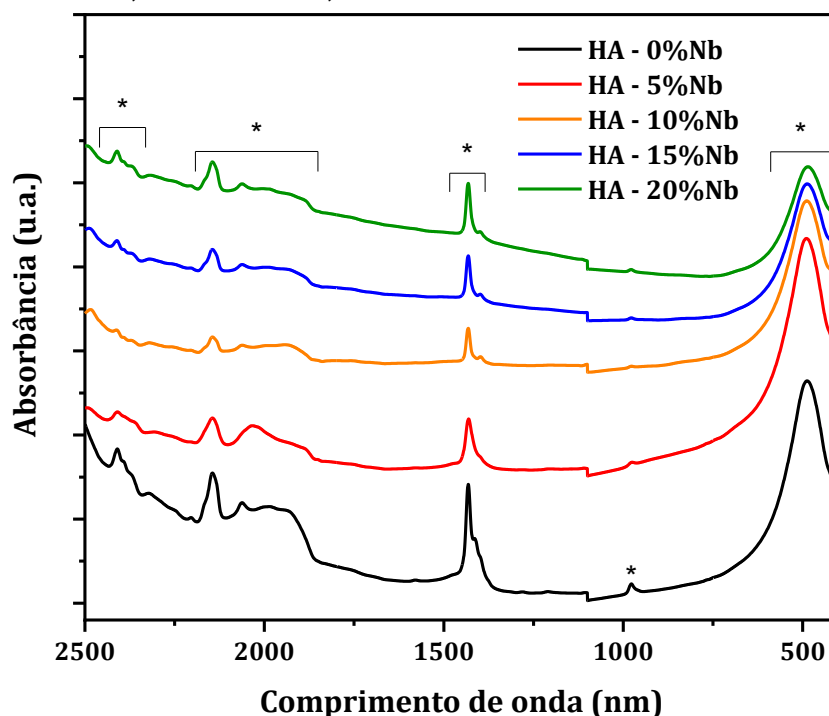
A terceira região de 1390 a 1455 nm é associada ao grupo fosfato com modo vibracional de alongamento mais intenso. O sinal se torna mais intenso devido a maior presença de moléculas de água, seja por mecanismo de absorção direta na superfície da HA ou envolvendo uma superfície hidratada (KOLMAS, 2015).

Um pico isolado próximo de 1000 nm é observado com maior intensidade na amostra HA - 0% Nb, no qual diminui a intensidade no espectro das amostras dopadas. Segundo Kolmas (2015), esta região se trata de grupos de hidroxilas estruturais com pico agudo e sinal fraco como modo de alongamento.

A quarta região entre 400-613 nm não apresenta dados na literatura que a identifiquem. Viana (2020) fez uso da Espectroscopia Raman para identificação dos modos vibracionais da HA sintética pura e, em seu mapeamento dos grupos funcionais, identificou quatro modos vibracionais relacionados ao sítio de fosfato. Por sua vez, Riaz (2018) e Fu (2018), com auxílio da Espectroscopia por Infravermelho por Transformada de Fourier, identificaram três modos vibracionais com bandas largas que, conseqüentemente, dificultam a identificação de modos vibracionais sobrepostos, caso existam.

Portanto, para a quarta região neste estudo pode-se deduzir que se trate do modo vibracional referente ao sítio de fosfato, seguinte o mesmo raciocínio das demais regiões. Nos intervalos identificados referentes aos sítios de fosfato e na quarta região há decréscimo na intensidade do sinal, sendo uma evidência que este sítio é mais sensível a inserção do Nb na estrutura cerâmica. No entanto, há a necessidade do andamento de mais estudos investigando todo o espectro para amostras de fosfatos de cálcio segundo a Espectroscopia no Infravermelho Próximo para amostras dopadas.

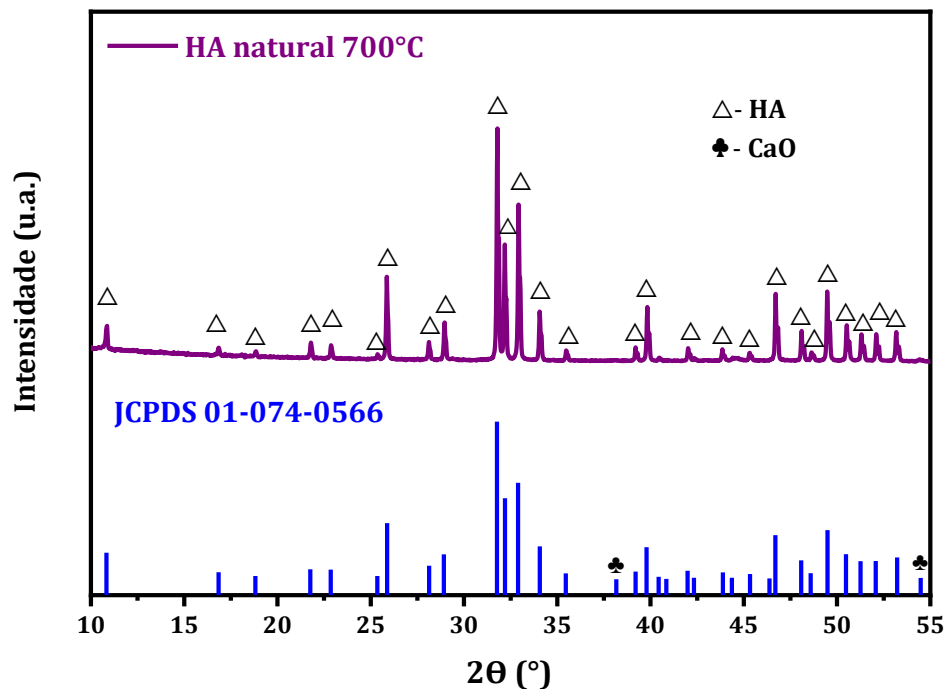
Figura 18. Espectros no Infravermelho Próximo (NIRS) para as amostras HA - 0% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb.



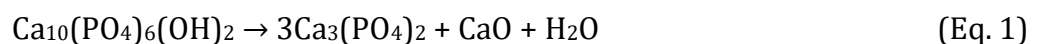
5.5 Análise por DRX

O padrão de difração da amostra HA – 0% Nb é apresentado na Figura 19. É possível identificar picos de difração característicos da fase hidroxiapatita cristalina, sendo esta a fase predominante com base no padrão da literatura JCPDS 01-074-0566 referente ao material $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{OH}_2$.

Figura 19. Difratoograma da amostra obtida por tratamento térmico no patamar de 700°C por 4h comparada com o padrão de difração da literatura.



Os picos são correspondentes nas duas curvas, sendo equivalentes a fase HA. No entanto, há picos presentes no padrão JCPDS que não aparecem na curva experimental. Isso é devido ao padrão da literatura ter usado um patamar de tratamento térmico superior ao deste estudo, possivelmente um patamar próximo ou superior a 1000°C, resultando na precipitação de segundas fases oriundas da degradação da fase HA com a perda dos grupos hidroxilas, seguindo a seguinte reação:



Segundo os padrões de difração de Idrissi (2014), os picos mostrados no padrão JCPDS apontam a presença de CaO, o que não ocorre nas amostras em estudo. Isso é um indicativo que o patamar térmico adotado nesta metodologia evita a degradação da fase HA e, com isso, evita a precipitação da fase CaO.

A presença de CaO em cerâmicas de hidroxiapatita não é aceitável para aplicações médicas, porque em contato com moléculas de água, a fase CaO é convertida em hidróxido de cálcio (CaOH) e, este, resulta em tensão gradual e no surgimento de fraturas no material cerâmico, contribuindo no surgimento de partículas individuais, podendo gerar elevada alcalinidade no ambiente do implante (IDRISSI, 2014).

Com base nessa análise inicial, o patamar térmico de 700°C por 4 horas, é um indicativo para a obtenção da hidroxiapatita natural em estado cristalino, sem a presença de óxido de cálcio. Além disso, a temperatura de tratamento térmico demonstrou ser suficiente para a eliminação de fases secundárias referentes as partes orgânicas da matéria-prima. A Tabela 15 apresenta os índices de Miller referentes aos picos identificados no padrão experimental.

Tabela 15. Índices de Miller característicos para os picos identificados na Figura 18.

| N° | hkl | 2 θ (°) | N° | hkl | 2 θ (°) | N° | hkl | 2 θ (°) | N° | hkl | 2 θ (°) |
|----|-----|----------------|----|-----|----------------|----|-----|----------------|----|-----|----------------|
| 1 | 100 | 10,79 | 8 | 102 | 28,17 | 15 | 212 | 39,26 | 22 | 320 | 48,60 |
| 2 | 101 | 16,88 | 9 | 210 | 29,01 | 16 | 310 | 39,90 | 23 | 213 | 49,42 |
| 3 | 110 | 18,85 | 10 | 211 | 31,80 | 17 | 311 | 42,10 | 24 | 321 | 50,62 |
| 4 | 200 | 21,85 | 11 | 112 | 32,19 | 18 | 113 | 43,77 | 25 | 410 | 51,26 |
| 5 | 111 | 22,82 | 12 | 300 | 32,90 | 19 | 203 | 45,47 | 26 | 402 | 52,01 |
| 6 | 201 | 25,30 | 13 | 202 | 34,08 | 20 | 222 | 46,71 | 27 | 004 | 53,20 |
| 7 | 002 | 25,90 | 14 | 301 | 34,45 | 21 | 312 | 48,11 | | | |

As amostras dopadas a partir de 5% de Nb apresentam intensidades em 23,84° e 24,50° (2 θ), além de picos de menor intensidade em 26,60° e 29,10° (2 θ) (ver Figura 20). Além disso, há o deslocamento das bandas em torno de 26° (2 θ) e no intervalo entre 32-34° (2 θ) para regiões de baixo ângulo até a amostra HA – 10% Nb, mas nas amostras HA – 15 e 20% Nb há o comportamento inverso (ver Figura 21).

A intensidade relativa dos picos e deslocamento das bandas podem sofrer alterações devido a mudança do fator de espalhamento do íon dopante, se tratando de uma espécie química de número atômico diferente do sítio original. Logo, com o intuito de interpretar essas alterações nos difratogramas, foi realizado o refinamento dos padrões de difração experimentais pelo método *Rietveld*.

Figura 20. Comparativos dos difratogramas das amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb.

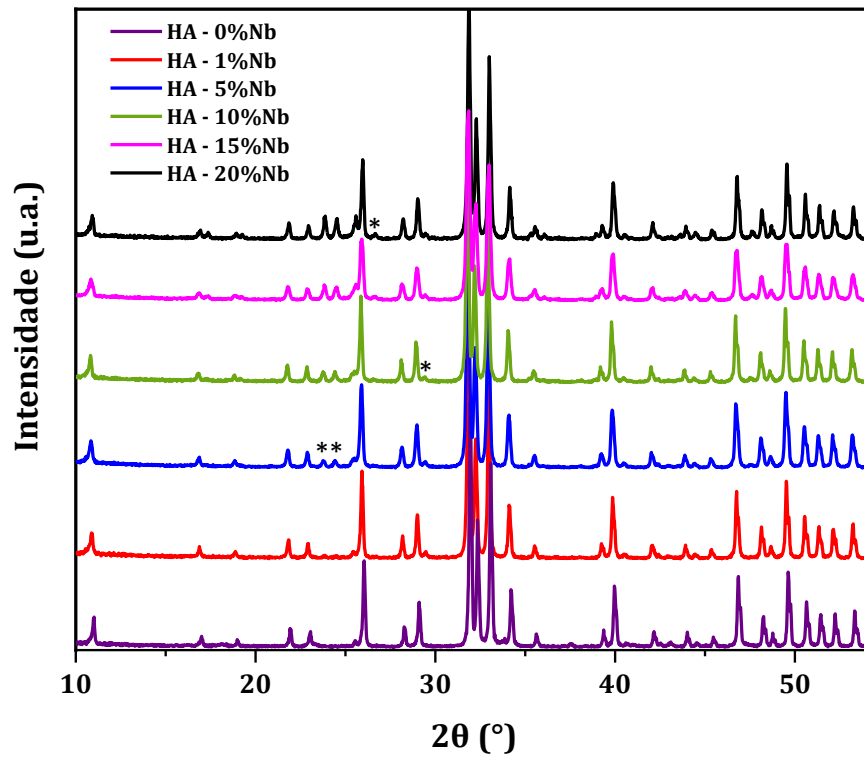
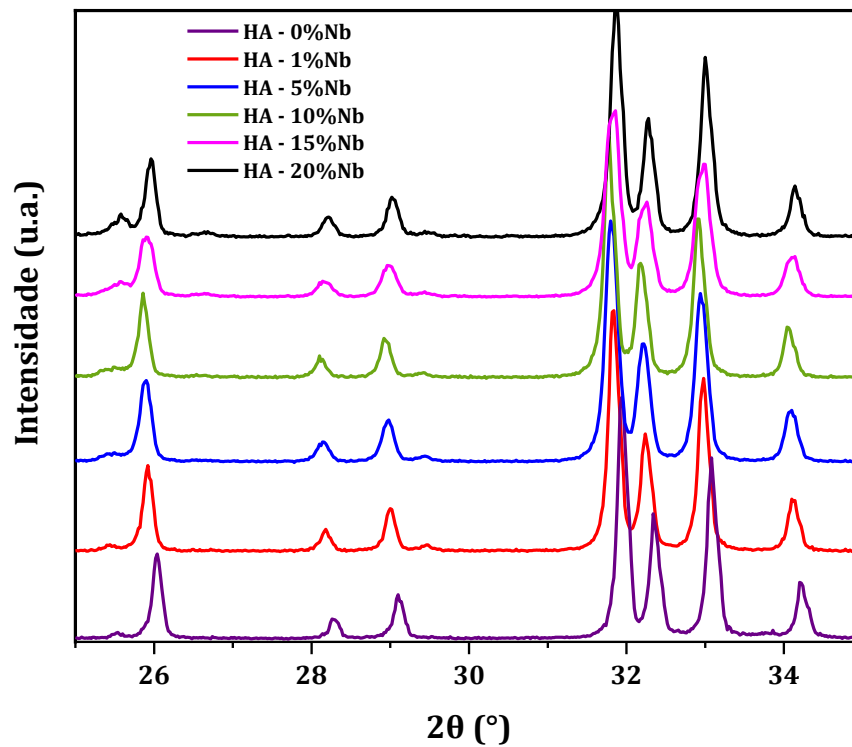


Figura 21. Comparativos dos difratogramas das amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 5% Nb, HA - 10% Nb, HA - 15% Nb e HA - 20% Nb no intervalo 2θ entre $25-35^\circ$.



5.5.1 Análise quantitativa por refinamento *Rietveld*

A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos para os parâmetros de rede, fração cristalina e tamanho da partícula tendo como base os valores padrão da HA por meio do CIF – 203027. Considerando os valores apresentados, é confirmado a estrutura hexagonal com grupo espacial $P6_3/m$ para a fase HA para as amostras analisadas.

Tabela 16. Parâmetros da estrutura cristalina para as amostras obtidas.

| Amostra | Parâmetros de rede (Å) | | | V (Å ³) | α (°) | β (°) | γ (°) | F.C. (%) | Partícula (µm) |
|--------------------|------------------------|-------|-------|-----------------------|--------------|-------------|--------------|----------|----------------|
| | a | b | c | | | | | | |
| HA - CIF 203027 | 9,417 | 9,417 | 6,874 | 527,9 | 90 | 90 | 120 | - | - |
| HA – 0% Nb | 9,411 | 9,411 | 6,868 | 526,8 | 90 | 90 | 120 | 96,30 | 1,110 |
| HA – 1% Nb | 9,411 | 9,411 | 6,878 | 527,5 | 90 | 90 | 120 | 94,33 | 1,026 |
| HA – 5% Nb | 9,423 | 9,423 | 6,885 | 529,4 | 90 | 90 | 120 | 94,32 | 0,534 |
| HA – 10% Nb | 9,434 | 9,434 | 6,895 | 531,4 | 90 | 90 | 120 | 88,66 | 0,137 |
| HA – 15% Nb | 9,425 | 9,425 | 6,890 | 530,0 | 90 | 90 | 120 | 91,23 | 0,120 |
| HA – 20% Nb | 9,419 | 9,419 | 6,884 | 528,9 | 90 | 90 | 120 | 88,94 | 0,102 |

Legenda: V – volume; Å – angstrom; F.C. – Fração cristalina.

Com bases nos volumes das células unitárias, nota-se que há um aumento volumétrico a partir da amostra HA – 0% Nb até a amostra HA – 10% Nb, corroborando com o deslocamento para regiões de baixo ângulo observado na Figura 20. No entanto, há uma diminuição volumétrica para as amostras HA – 15 e 20% Nb, estas também em conformidade com o observado na Figura 20, na qual é possível notar que, para estas amostras, há o deslocamento para regiões de alto ângulo em relação a amostra HA – 10% Nb.

A variação do volume segue a mesma lógica de variação para os parâmetros a e c , com exceção para as amostras HA – 0 e 1% Nb que apresentam uma alteração insignificante apenas no parâmetro c .

Os sítios de fosfato são mais sensíveis a troca iônica com o íon Nb^{5+} , devido a diminuição das intensidade relativas segundo a Figura 17 obtida por Espectroscopia no Infravermelho Próximo. Logo, pode-se deduzir que a inserção do Nb ocorre nos sítios de fosfato (PO_4), o que resulta na repulsão de cargas entre os íons Ca^{2+} e Nb^{5+} . Esta repulsão

de cargas, pode ser a razão do aumento volumétrico da célula unitária observado até o difratograma da amostra HA – 10% Nb.

Além do exposto no parágrafo anterior, é necessário descrever a natureza química dos fosfatos de cálcio em geral. A razão molar entre Ca/P é a base para identificação e diferenciação dentro do grupos dos FCs. Quando há alteração na concentração de um elemento da razão Ca/P, a estrutura em busca de se manter estável, elimina o outro. Este comportamento pode ser atenuado ao se tratar em casos de trocas iônicas.

Sendo assim, havendo a troca iônica nos sítios fosfato por Nb, há o aumento da repulsão entre os cátions presentes na célula unitária (Ca^{2+} e Nb^{5+}), o que contribuiu para a expansão volumétrica, até que ocorra a expulsão do cátion de menor valência, neste caso, o Ca^{2+} . Com isso, o volume diminui, conforme se observa a partir da amostra HA – 15% Nb acompanhando o aumento da concentração molar de Nb.

O fator ocupacional dos sítios de Ca e P foi refinado corroborando com a discussão proposta. Analisando as Tabelas 17, 18, 19, 20 e 21, é possível notar que a variação do parâmetro ocupacional segue o raciocínio descrito, no qual havendo a alteração da ocupação dos sítios com P, também há alteração na ocupação dos sítios de Ca.

Tabela 17. Refinamento para a amostra HA – 0% Nb.

| Átomo | Sítio | Posição Atômica | | | Occ |
|------------------|-------|-----------------|--------|--------|------|
| | | x | y | z | |
| Ca _I | 4f | 0,3333 | 0,6667 | 0,0041 | 0,99 |
| Ca _{II} | 6h | 0,2469 | 0,9916 | 0,2500 | 0,99 |
| P | 6h | 0,3612 | 0,3955 | 0,2500 | 0,99 |
| O _I | 6h | 0,4837 | 0,3273 | 0,2500 | 0,99 |
| O _{II} | 6h | 0,4675 | 0,5853 | 0,2500 | 0,97 |
| O _{III} | 12i | 0,2546 | 0,3377 | 0,0663 | 0,97 |
| O _{IV} | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1908 | 0,52 |
| H | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1502 | 0,84 |

Parâmetros de convergência:
 $R_{wp}=17,26\%$, $R_p=11,78\%$, $R_e=12,73\%$,
 $R_{Bragg}=4,29\%$, $\chi^2=1,86$. Occ = Fator Ocupacional

Tabela 18. Refinamento para a amostra HA – 1% Nb.

| Átomo | Sítio | Posição Atômica | | | Occ |
|------------------|-------|-----------------|--------|--------|------|
| | | x | y | z | |
| Ca _I | 4f | 0,3333 | 0,6667 | 0,0039 | 0,98 |
| Ca _{II} | 6h | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,98 |
| P | 6h | 0,3960 | 0,3669 | 0,2500 | 0,98 |
| O _I | 6h | 0,3315 | 0,4830 | 0,2500 | 0,96 |
| O _{II} | 6h | 0,5852 | 0,4636 | 0,2500 | 0,96 |
| O _{III} | 12i | 0,3382 | 0,2562 | 0,0648 | 0,98 |
| O _{IV} | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1958 | 0,53 |
| H | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 1,1254 | 0,45 |
| Nb | 2b | 0,3333 | 0,6667 | 0,0039 | 0,01 |
| Nb | 2b | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,01 |
| Nb | 2b | 0,3960 | 0,3669 | 0,2500 | 0,01 |

Parâmetros de convergência:
 $R_{wp}=14,42\%$, $R_p=9,93\%$, $R_e=10,85\%$, $R_{Bragg}=5,76\%$,
 $\chi^2=1,78$. Occ = Fator Ocupacional

Tabela 19. Refinamento para a amostra HA – 10% Nb. **Tabela 20.** Refinamento para a amostra HA – 15% Nb.

| Átomo | Sítio | Posição Atômica | | | Occ |
|------------------|-------|-----------------|--------|--------|------|
| | | x | y | z | |
| Ca _I | 4f | 0,3333 | 0,6667 | 0,0028 | 0,93 |
| Ca _{II} | 6h | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,92 |
| P | 6h | 0,3964 | 0,3645 | 0,2500 | 0,96 |
| O _I | 6h | 0,3244 | 0,4858 | 0,2500 | 0,92 |
| O _{II} | 6h | 0,5837 | 0,4643 | 0,2500 | 0,95 |
| O _{III} | 12i | 0,3384 | 0,2559 | 0,0637 | 0,95 |
| O _{IV} | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1932 | 0,52 |
| H | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1832 | 0,47 |
| Nb | 2b | 0,3333 | 0,6667 | 0,0028 | 0,06 |
| Nb | 2b | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,07 |
| Nb | 2b | 0,3964 | 0,3645 | 0,2500 | 0,03 |

2

Parâmetros de convergência:

R_{wp}=12,91%, R_p=10,73 %, R_e=9,41%, R_{Bragg}=6,09%,
 $\chi^2=1,79$. Occ = Fator Ocupacional.

| Átomo | Sítio | Posição Atômica | | | Occ |
|------------------|-------|-----------------|--------|--------|------|
| | | x | y | z | |
| Ca _I | 4f | 0,3333 | 0,6663 | 0,0025 | 0,90 |
| Ca _{II} | 6h | 0,2469 | 0,9923 | 0,2500 | 0,89 |
| P | 6h | 0,3874 | 0,3655 | 0,2500 | 0,94 |
| O _I | 6h | 0,3240 | 0,4848 | 0,2500 | 0,91 |
| O _{II} | 6h | 0,5824 | 0,4599 | 0,2500 | 0,89 |
| O _{III} | 12i | 0,3374 | 0,2569 | 0,0625 | 0,88 |
| O _{IV} | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1822 | 0,58 |
| H | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1842 | 0,47 |
| Nb | 2b | 0,3333 | 0,6663 | 0,0025 | 0,09 |
| Nb | 2b | 0,2469 | 0,9923 | 0,2500 | 0,10 |
| Nb | 2b | 0,3874 | 0,3655 | 0,2500 | 0,05 |

Parâmetros de convergência:

R_{wp}=12,24%, R_p=11,20 %, R_e=8,68%, R_{Bragg}=7,10%,
 $\chi^2=1,99$. Occ = Fator Ocupacional.**Tabela 21.** Refinamento para a amostra HA – 20% Nb.

| Átomo | Sítio | Posição Atômica | | | Occ |
|------------------|-------|-----------------|--------|--------|------|
| | | x | y | Z | |
| Ca _I | 4f | 0,3333 | 0,6667 | 0,0028 | 0,88 |
| Ca _{II} | 6h | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,87 |
| P | 6h | 0,3964 | 0,3645 | 0,2500 | 0,90 |
| O _I | 6h | 0,3244 | 0,4858 | 0,2500 | 0,89 |
| O _{II} | 6h | 0,5837 | 0,4643 | 0,2500 | 0,91 |
| O _{III} | 12i | 0,3384 | 0,2559 | 0,0637 | 0,90 |
| O _{IV} | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,9432 | 0,54 |
| H | 4e | 0,0000 | 0,0000 | 0,1830 | 0,41 |
| Nb | 2b | 0,3333 | 0,6667 | 0,0028 | 0,11 |
| Nb | 2b | 0,2473 | 0,9919 | 0,2500 | 0,12 |
| Nb | 2b | 0,3964 | 0,3645 | 0,2500 | 0,09 |

Parâmetros de convergência:

R_{wp}=12,98%, R_p=11,80 %, R_e=9,33%, R_{Bragg}=10,11%, $\chi^2=1,94$.
Occ = Fator Ocupacional.

As Figuras 22, 23, 24, 25 e 26 apresentam os padrões experimentais e calculados pelo método de *Rietveld*, nos quais foi possível identificar alguns dos picos que surgiram conforme elevou-se a concentração molar de Nb. O refinamento seguiu com auxílio dos padrões CIF 203027 para a fase HA e CIF 1001855 para a fase NbOPO.

O refinamento para a amostra HA -0%Nb comprovou, por meio dos parâmetros de convergência R e χ^2 conforme a Tabela 16, que o material obtido se trata predominantemente da fase HA. Seguindo o padrão CIF 203027, todos os picos de maior intensidade no padrão experimental são coincidentes com o padrão calculado.

Para a amostra HA - 1% Nb, a inserção de 1% molar de Nb causa alterações insignificantes na estrutura cerâmica. A única alteração observada é o aumento do volume de 526,8 Å³ da amostra HA-0%Nb para 527,5 Å³, como discutido anteriormente que ocasiona um deslocamento para região de baixo ângulo devido a este pequeno aumento volumétrico.

Os picos nas regiões 26,60° e 29,10° (2 θ) não foi possível identificar por meio do refinamento sem que este não convergisse. Logo, com base na literatura, estas regiões podem ser associadas a presença de carbonato nas amostras dopadas (YOO, 2012) (BOUDAIRA, 2015).

Novamente deve-se considerar a natureza química da HA suscetível a ocorrência de trocas iônicas. Neste caso, esses picos surgem com intensidades relativas baixíssimas apenas nas amostras dopadas, logo, podem ser associados a adsorção de moléculas de dióxido de carbono (CO₂) do ar atmosférico durante o manuseio das mesmas. As amostras dopadas tiveram mais tempo de manuseio e exposição devido a continuidade do experimento durante a etapa II de dopagem, enquanto que a amostra HA-0%Nb, assim que tratada termicamente, foi isolada e armazenada.

Segundo os estudos de Supova (2015), os grupos carbonatos presentes na HA são oriundos da substituição dos sítios de hidroxila e/ou de fosfato pelo íon CO₃²⁻. Além disso, hidroxiapatitas carbonatadas apresentam vantagens como similaridade com a apatita óssea, devido ao favorecimento da propriedade de biocompatibilidade.

Agora investigando os picos 23,84° e 24,50° (2 θ) nas amostras dopadas a partir de 5% molar Nb, foi possível identificar a fase NbOPO seguindo o padrão CIF 1001855 com os Índices de *Miller* (113) e (202), respectivamente. Com isso, os resultados do refinamento corroboram com os resultados de NIRS, com os parâmetros de convergência apresentando valores aceitáveis, conforme apresentado nas Tabelas 17, 18, 19 e 20.

Figura 22. Refinamento para a amostra HA – 0% Nb. **Figura 23.** Refinamento para a amostra HA – 1%Nb.

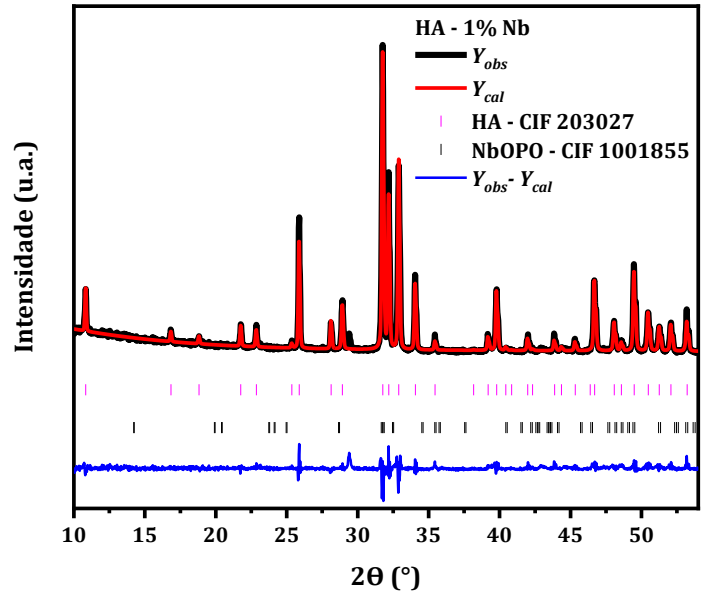
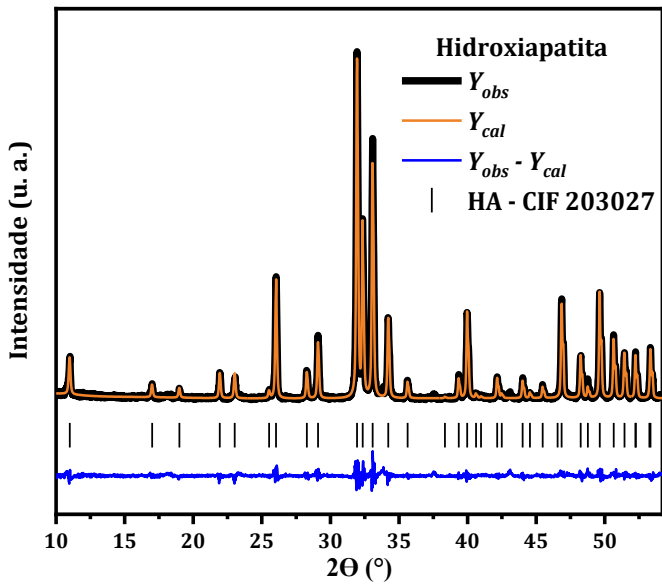


Figura 24. Refinamento para a amostra HA – 10%Nb. **Figura 25.** Refinamento para a amostra HA – 15%Nb.

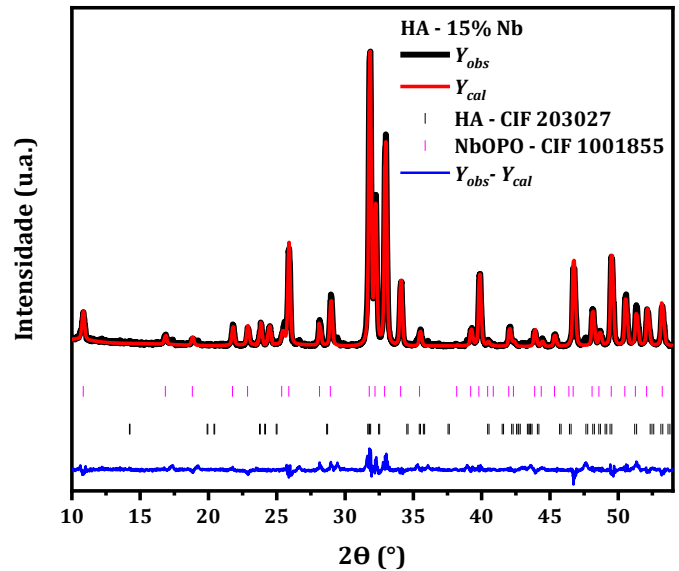
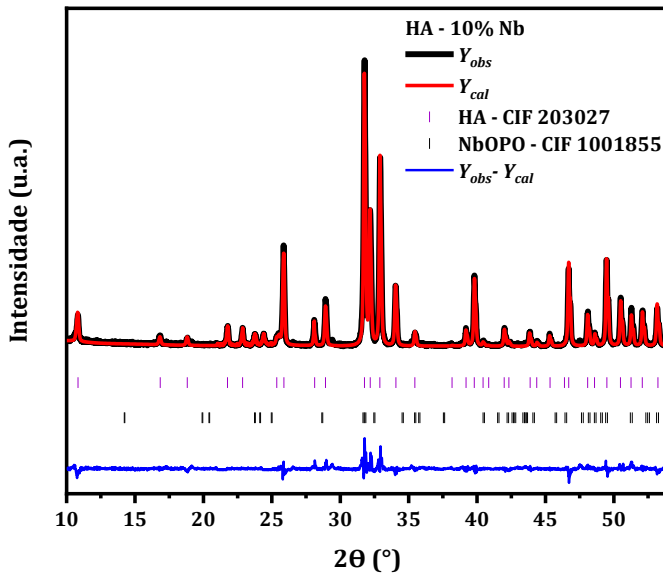
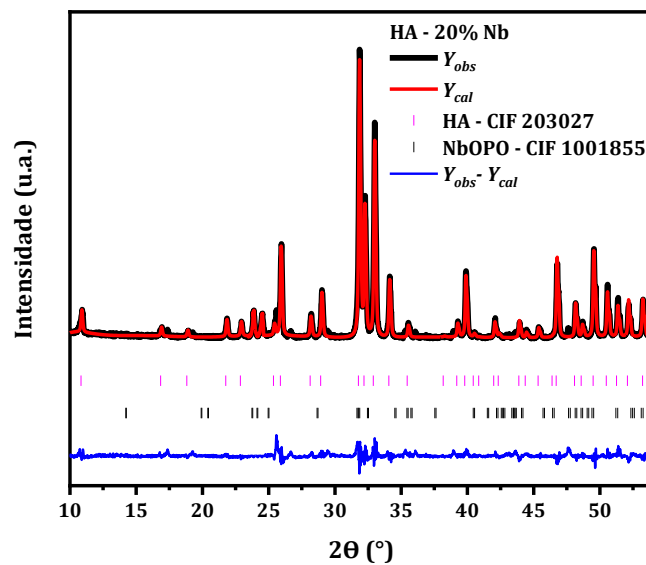


Figura 26. Refinamento para a amostra HA – 20%Nb.



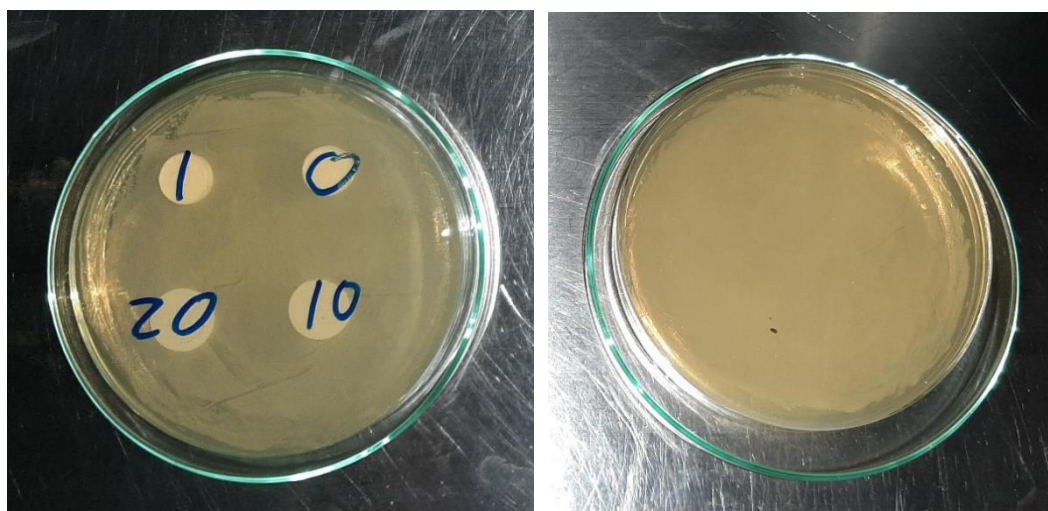
Logo, a dopagem na matriz cerâmica ocorre nos sítios de fosfato (PO_4) e, conseqüentemente, devido ao Ca ser eliminado da célula unitária em concentrações maiores de Nb, o íon metálico se aloja também em ambos os sítios de Ca.

5.6 Análise do ensaio antimicrobiano

As amostras submetidas ao ensaio antimicrobiano podem ser observadas na Figura 26. Apenas as amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 10% Nb e HA - 20% Nb foram observados no meio de cultivo com a espécie *Escherichia coli*, devido as amostras HA - 5% Nb e HA - 15% Nb terem se fragmentado durante o processo de esterilização e transporte das mesmas, respectivamente.

Conforme observado, nota-se que houve crescimento bacteriano tanto na placa de Petri contendo as pastilhas (Figura 27 (a)) como na amostra controle (Figura 27 (b)). No entanto, não houve zona de inibição, ou seja, as pastilhas não apresentaram característica antimicrobiana.

Figura 27. Ensaio antimicrobiano com as amostras HA - 0% Nb, HA - 1% Nb, HA - 10% Nb e HA - 20% Nb (a) e amostra controle (b).



A amostra HA - 0% Nb manteve sua integridade físico-química durante o ensaio antimicrobiano, as amostras dopadas com Nb também apresentaram o mesmo comportamento, indicando que a inserção do elemento metálico não propiciou a ocorrência de trocas iônicas durante o ensaio.

As amostras analisadas mantiveram sua integridade física após o período de teste. Esta observação é válida devido a HA ser, dentre o grupo de fosfato de cálcio, a fase mais estável e apresentar solubilidade apenas em meio ácido. O não surgimento de zona de inibição pode ser associado a esse fator, devido a ação antimicrobiana da HA aparecer conforme há o processo de degradação da fase por meio da desidroxilação, perda do grupo – OH na composição química.

Segundo Panneerselvam (2020), o efeito bactericida da HA é devido a produção de espécies reativas oxigenadas (OH^\cdot , H_2O_2 e $\text{O}^{2-\cdot}$) na superfície das partículas que penetram as paredes celulares da bactéria. Além disso, a produção desses radicais livres está associada com o processo de desidroxilação, sendo o íon OH^\cdot uma das espécies oxigenadas responsável pelo dano fatal na membrana bacteriana. Logo, neste estudo, a ausência de zona de inibição pode ser associada a não ocorrência da desidroxilação da fase HA.

Outro ponto a ser destacado, é sobre a *Escherichia coli*, esta é uma espécie *Gram-negativa*. Sua estrutura celular é mais complexa contendo duas membranas, uma externa e outra a membrana plasmática, além de uma fina camada de peptidoglicano, o que a torna uma espécie mais resistente a muitos agentes químicos quando comparada com células de espécies *Gram-positiva*, estas apresentando várias camadas poliméricas de peptidoglicano, mas apenas com uma membrana plasmática (RAGAB, 2014).

5.7 Análise mecânica por nanoindentação

A Figura 28 apresenta os valores de nanodureza em HV para as amostras testadas. Uma observação pertinente nessa fase do estudo compreende a fase de confecção das pastilhas com base no manuseio dos corpos de prova. As amostras com concentração molar maior que 10% Nb apresentavam maior consistência que as amostras com valores menores que 5% Nb, estas alcançando a consistência desejável para manuseio sem apresentar fragmentação após a sinterização.

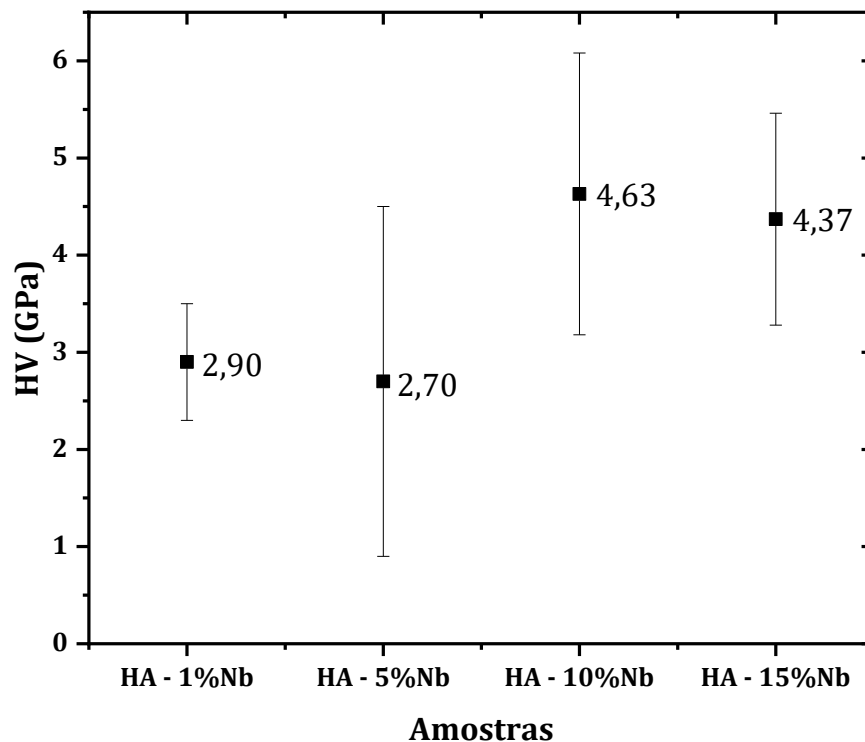
A média calculada aponta que as amostras HA – 10 e 15% Nb apresentam aumento na dureza em comparação com as amostras HA – 0 e 1% Nb. No entanto, os intervalos de erro indicam que a amostra HA – 0% Nb apresentou menor dispersão nas medidas, enquanto que a dispersão nas medidas da amostra HA – 5% Nb foi relativamente maior em comparação com as demais amostras.

Comparando os valores com dados da literatura, Eliaz (2017) informa dados de dureza *Vickers* para HA densa no intervalo de 3-7 GPa e Esmailkhanian (2019) obteve 2 GPa para nHA natural sinterizada no patamar térmico de 850°C. Logo, os resultados obtidos estão em conformidade com os dados da literatura.

Panda (2022) em seus estudos evidenciou aumento na dureza devido ao crescimento e nucleação de cristais mais densos de estrôncio (Sr) e Nb. Nascimento (2011) também esclarece que a resposta à dureza é dependente da formação de um composto cerâmico de estrutura homogênea em função da concentração da HA e do óxido de nióbio, além de ser associada com a densificação contínua da amostra.

Portanto, sugere-se que a propriedade mecânica de dureza se eleva com o aumento da concentração molar de Nb, devido à presença deste na fase HA, conforme os resultados de MEV e DRX apontam. Contudo, os resultados são influenciados com base na qualidade dos corpos de prova, há a necessidade de que as amostras apresentem uma superfície uniforme para que, possivelmente, as medidas não apresentem valores muito dispersos.

Figura 28. Resultado de nanoindentação para as amostras HA - 1, 5, 10 e 15% Nb.



6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados apresentados e discutidos, a metodologia compreendendo o tratamento térmico das escamas é eficiente na obtenção da fase HA com estrutura hexagonal. Além disso, a etapa de modificação iônica com Nb por meio do método sonoquímico foi eficaz na obtenção de amostras com fase HA-Nb nas proporções molares de 5, 10, 15 e 20% molar de Nb.

A metodologia híbrida compreendendo tratamentos físico e químico evidenciou, por meio das micrografias, que a amostra HA-0%Nb apresenta distribuição homogênea e uniforme de partículas hexagonais, enquanto que as amostras HA-5,10,15 e 20%Nb, além de apresentarem partículas maiores com formato hexagonal, apresentam partículas esféricas com tamanhos relativamente menores.

Os resultados de NIRS e DRX, acompanhado com o refinamento pelo método de *Rietveld*, indicam que o sítio do fosfato (PO_4) é o alvo primário da substituição iônica por íons Nb^{5+} . Conforme a concentração molar de Nb atinge valores até 10%, os sítios Ca_I e Ca_{II} são submetidos a forças de repulsão com a presença de cargas positivas, o que ocasiona a expansão volumétrica, além do raio do Nb ser superior ao do P.

No entanto, para concentrações maiores a 15% de Nb, o volume da célula unitária decaí, sendo resultado da troca iônica do Ca^{2+} pelo Nb^{5+} . Este comportamento é devido ao raio do Nb ser inferior ao do Ca, sendo este expulso da célula unitária permitindo que esta continue estável.

Por fim, o ensaio antimicrobiano salienta a estabilidade da fase HA-Nb. A inexistência de uma zona de inibição indica que a espécie bacteriana não teve seu crescimento afetado pelas pastilhas. Tal fato se deve a não ocorrer o processo de desidroxilação da fase principal (HA), sendo o grupo $-\text{OH}$ o responsável pela produção de espécies oxigenadas reativas que poderiam causar dano fatal nas paredes celulares da *Escherichia coli*.

Portanto, o estudo alcança seu objetivo principal em obter um material com fase HA-Nb obtido por tratamento térmico assistido por método sonoquímico, tendo como matéria-prima principal as escamas da espécie *Arapaima gigas*. Além disso, de comprovar a influência química, estrutural e morfológica da dopagem com Nb. Contudo, há a necessidade da continuidade dos estudos por meio de outras técnicas de caracterização química e aplicando parâmetros variados no ensaio biológico.

Sugestões para estudos futuros

- Aplicação do método de esfoliação com Cloreto de amônio no material após a etapa de sonoquímica para que ocorra a desuniam dos aglomerados de partículas. Para que assim seja investigado a obtenção de nanopartículas da fase HA-Nb;
- Na etapa sonoquímica, em vez de usar meio aquoso, utilizar etanol ou similar para investigar a influência do meio;
- Em vez de usar um óxido de nióbio, usar sais para serem precursores do íon metálico, tais como o Oxalato Amoniacal de Nióbio, $\text{NH}_4[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2(\text{H}_2\text{O})_2] \cdot (\text{H}_2\text{O})_n$, Ácido Nióbico, $(\text{Nb}_2\text{O}_5 \cdot n\text{H}_2\text{O})$, ou Fosfato de Nióbio, $\text{NbOPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ou $\text{NbOPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$;
- Aplicar TGA com FTIR acoplado para investigar os eventos térmicos *in situ*;
- Realizar a etapa sonoquímica com a HA após o tratamento térmico e o Nb_2O_5 separadamente e investigar a morfologia de ambas as fases por MEV-EDS com mapeamento químico dos elementos. Além disso, confeccionar pastilhas de Pentóxido de Nióbio e submetê-las aos ensaios mecânicos de nanoindentação;
- Realização de ensaios microbianos utilizando espécies bacterianas tanto Gram-positiva e Gram-negativa, para que seja investigada a propriedade bactericida do material;
- Além disso, a caracterização por Microscopia Eletrônica de Transmissão pode ser adicionada na análise para corroborar com as caracterizações e discussões realizadas.

Tabela 22. Cronograma de atividades

| Ano: 2021 | | | | | | | | | | | | |
|---|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| Atividades | Meses | | | | | | | | | | | |
| | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul | Ago | Set | Out | Nov | Dez |
| Revisão Bibliográfica | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Análise e levantamento de materiais | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Consulta de laboratórios | | | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Ano: 2022 | | | | | | | | | | | | |
| Atividades | Meses | | | | | | | | | | | |
| | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul | Ago | Set | Out | Nov | Dez |
| Revisão Bibliográfica | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Tratamentos Térmicos | X | X | X | X | X | X | X | X | X | | | |
| Modificação iônica com Nb ⁵⁺ | | | | X | X | X | X | X | X | | | |
| Aplicação do método físico | | | | X | X | X | X | X | X | | | |
| Análise por MEV-FEG, NIRS e DRX | | | | | | | | X | X | X | X | X |
| Ensaio Biológico | | | | | | | | X | X | X | X | X |
| Refinamento dos dados | | | | | | | | | | | X | X |
| Discussão dos dados | | | | | | | | X | X | X | X | X |
| Ano: 2023 | | | | | | | | | | | | |
| Atividades | Meses | | | | | | | | | | | |
| | Jan | Fev | Mar | Abr | Mai | Jun | Jul | Ago | Set | Out | Nov | Dez |
| Revisão Bibliográfica | X | X | X | X | X | | | | | | | |
| Ensaio Mecânico | | | | X | | | | | | | | |
| Refinamento dos dados | X | X | X | X | X | | | | | | | |
| Discussão dos dados | X | X | X | X | X | | | | | | | |
| Finalização da escrita do projeto | X | X | X | X | X | | | | | | | |

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULLAEVA, Z. Nano- and Biomaterials: Compounds, Properties, Characterization, and Applications. 1^oed. John Wiley & Sons, 2017.

AGBEDOH, N. I; OLADELE, I. O; DARAMOLA, O. O.; ADEDIRAN, A. A; OLASUKANMI, O. O; TANIMOLA, M. O. Environmentally sustainable processes for the synthesis of hydroxyapatite. *Heliyon*, 6, e03765, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03765>.

AKRAM, M; AHMED, R; SHAKIR, I; IBRAHIM, W. A. W; HUSSAIN, R. Extracting hydroxyapatite and its precursors from natural resources. *J Mater Sci*, 49, 1461-1475, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10853-013-7864-x>.

ALMEIDA, T. de F. Síntese e caracterização de biocimento de fosfato de cálcio usando resíduo de mármore. Tese (Doutorado em Engenharia e Ciências dos Materiais) – Centro de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense, Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, 2018.

AHMARUZZAMAN, Md; VERMA, R; MISHRA, S.R; GADORE, V. Hydroxyapatite-based composites: Excellent materials for environmental remediation and biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 315, 102890, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2023.102890>.

AQUINO, L. R. C. de. Preparação e caracterização de cimentos à base de hidroxiapatita e de galactomanana. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, Maranhão, 2015.

ARAÚJO, R. de C. Hidroxiapatitas organofuncionalizadas como sistemas para biorremediação de corante aniônico. 100f. Dissertação (Mestrado em Química) – Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Paraíba, 2016.

AREFI-OSKOU, S; KHATAEE, A; SAFARPOUR, M; OROOJI, Y; VATANPOUR, V. A review on the applications of ultrasonic technology in membrane bioreactors. *Ultrasonics Sonochemistry*, 58, 104633, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104633>.

AROKIASAMY, P; ABDULLAH, M.M.A.B; RAHIM, S.Z.A; LUHAR, S; SANDU, A.V; JAMIL, N.H; NABIALEK, M. Synthesis methods of hydroxyapatite from natural sources: A review. *Ceramics International*, 48, 14959-14979, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.03.064>.

ASA'AD, F; PAGNI, G; PILIPCHUK, S.P; GIANNI, A.B; GIANNOBILE, W.V; RASPERINI, G. 3D-Printed scaffolds and biomateriais: Review of alveolar bone augmentation and periodontal regeneration applications. *International Journal of Dentistry*, vol. 2016, p. 15, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1239842>.

BAGNO, A; TODESCO, M; TODROS, S. Biomaterials and Their Biomedical Applications: From Replacement to Regeneration. *Processes*, 9, 1949, 2012. <https://doi.org/10.3390/pr9111949>.

BARBOSA, M.C; MESSMER, N.R; BRAZIL, T.R; MARCIANO, F.R; LOBO, A.O. The effect of ultrasonic irradiation on the crystallinity of nano-hydroxyapatite produced via the wet chemical method. *Materials Science & Engineering. C, Biomimetic Materials, Sensors and Systems (Print)*, v. 33, p. 2620-2625, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.02.027>.

BASIRUN, W.J; NASIRI-TABRIZI, B; BARADARAN, S. Overview of hydroxyapatite-graphene nanoplatelets composite as bone graft substitute: Mechanical behavior and *in vitro* biofunctionally, 43, 3, 1-36, 2017. <http://dx.doi.org/10.1080/10408436.2017.1333951>.

Bergmann, C.P; Stumpf A. Biomaterials. In *Dental Ceramics*; Springer: Berlin, Germany, pp. 9-13; ISBN 978-3-642-38224-6, 2013.

BEZERRA, W.B.A; MONTEIRO, S.N; OLIVEIRA, M.S; LUZ, F.S. da; FILHO, F. da C.G; DEMOSTHENES, L.C. da; COSTA, U.O. Processing and characterization of *Arapaima gigas* scales and their reinforced epoxy composites. *JMR&T*, 9, 3, 3005-3012, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.01.051>.

BIGI, A; BOANINI, E; CAPUCCINI, C; GAZZANO, M. Strontium-substituted hydroxyapatite nanocrystals. *Inorganica Chimica Acta*, 360, 1009-1016, 2007.

BONADIO, T.G.M; FIORENTIN, E.R; CANDIDO, A.G; MIYAHARA, R.Y; FREITAS, V.F; JUNIOR, H.J.K; HERNANDES, L; ROSSO, J.M; BURATO, J.A; SANTOS, I.A; BAESSO, M.L; WEINAND, W.R. Enhanced mechanical properties and osseointegration features of CaNb_2O_6 - $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ triphasic nanostructured bioceramics derived by optimised sinterization of Nb_2O_5 and natural hydroxyapatite- β -tricalcium phosphate. *Ceramics International*, 46, 8, Part B, 12837-12845, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.02.054>.

BOUDAIRA, B. Preparation and characterization of membrane supports for microfiltration and ultrafiltration using kaolin (DD₂) and CaCO_3 . *International Conference on Water and Energy*, 2015. <https://doi.org/10.1080/19443994.2015.1021998>.

BOUTINGUIZA, M; POU, J; COMESANA, R; LUSQUINOS, F; CARLOS, A.D.E; LEON, B. Biological hydroxyapatite obtained from fish bones. *Mat Sci Eng C-Mater*, 32, 478-486, 2012.

BRUNTON, P.A; DAVIES, R.P.W; BURKE, J.L; SMITH, A; AGGELI, A; BROOKES, S.J; KIRKHAM, J. Treatment of early caries lesions using biomimetic self-assembling peptides – a clinical safety trial. *British Dental Journal*, 215, E6, 2013. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2013.741>.

CAPANEMA, N.S.V. Síntese e caracterização de biocerâmicas à base de fosfato de cálcio modificado com nióbio. 143f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, 2014.

CASTELLO, L; ARANTES, C.C; MCGRATH, D.G; STEWART, D.J; SOUSA, F.S. Understanding fishing-induced extinctions in the Amazon. *Aquatic Conservation: Marine and freshwater ecosystems*, 25, 5, 587-598, 2014. <https://doi.org/10.1002/aqc.2491>.

CAVALCANTE, L. de A. Desenvolvimento de biocerâmica porosa a partir da hidroxiapatita extraída de escamas de pirarucu. 86f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais). Faculdade de Tecnologia, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Amazonas, 2019.

COMBES, C; CAZALBOU, S; REY, CHRISTIAN. Apatite Biominerals. *Minerals*, 6, 34, 2016. <https://doi.org/10.3390/min6020034>.

DEMIRKOL, N; OKTAR, F.N; KAYALI, E.S. Influence of niobium oxide on the mechanical properties of hydroxyapatite. *Key Engineering Materials*, 529-530, 29-33, 2012. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/KEM.529-530.29>.

DOROZHKIN, S.V. Biphasic, triphasic, and multiphasic calcium orthophosphates. *Acta Biomaterialia*, 8, 3, 963-977, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.09.003>.

EL FEKI, H; NADDARI, T; SAVARIAULT, J.M; SALAH, A.B. Localization of potassium in substituted lead hydroxyapatite: $Pb_{9.30}K_{0.60}(PO_4)_6(OH)_{1.20}$ by X-ray diffraction. *Solid State Sciences*, 2, 725-733, 2000.

ELIAZ, N; METOKI, NOAH. Calcium Phosphate Bioceramics: A Review of Their History, Structure, Properties, Coating Technologies and Biomedical Applications. *Materials*, 10, 334, 2017. <https://doi.org/10.3390/ma10040334>.

ESMAEILKHANIAN, A; SHARIFIANJAZI, F; ABOUCHENARI, A; ROUHANI, A; PARVIN, N; IRANI, M. Synthesis and characterization of natural nano-hydroxyapatite derived from turkey femur-bone waste. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 189, 919-932, 2019. <https://doi.org/10.1007/s12010-019-03046-6>.

EVIS, Z; WEBSTER, T.J. Nanosize hydroxyapatite: Doping with various ions. *Advances in Applied Ceramics*, 110, 5, 311-320, 2011. <https://doi.org/10.1179/1743676110Y.0000000005>.

FINK, J.K. *Materials, Chemicals and Methods for Dental Applications*. 1^oed. John Wiley & Sons, 2018.

FU, LIAN-HUA; QI, C; LIU, YAN-JUN; CAO, WEN-TAO; MA, MING-GUO. Sonochemical synthesis of cellulose/hydroxyapatite nanocomposites and their application in protein adsorption. *Scientific Reports (Nature)*, 8, 8292, 2018.

GOLOSHCHAOV, D.L; KASHKAROV, V.M; RUMYANTSEVA, N,A; SEREDIN, P.V; LENSIN, A.S; AGAPOV, B.L; DOMASHEVSKAYA, E.P. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by precipitation using hen's eggshell. *Ceram Int*, 39, 4539-4549, 2013.

HO, W.F; HSU, H.C; HSU, S.K; HUNG, C.W; WU, S.C. Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid-state reaction. *Ceram Inter*, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.01.051>.

IBRAHIM, M; LABAKI, M; GIRAUDON, JEAN-MARC; LAMONIER, JEAN-FRANÇOIS. Hydroxyapatite, a multifunctional material for air, water and soil pollution control: A review. *Journal of Hazardous Materials*, 383, 121139, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121139>.

IDRISSI, B.C.E; MASSIT, A; ELYACOUBI, A. A novel method to synthesize nanocrystalline hydroxyapatite: Characterization with x-ray diffraction and infrared spectroscopy. *IOSR Journal of Applied Chemistry*, v. 7, 5, 2278-5736, 2014. <https://doi.org/10.9790/5736-0753107112>.

KOKUBO. Tadashi; TAKADAMA. Hiroaki. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? *Biomaterials*, n. 27, 15, p. 2907-2915, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.017>.

KOLMAS, J; MAREK, D; KOŁODZIEJSKI, W. Near-Infrared (NIR) Spectroscopy of Synthetic Hydroxyapatites and Human Dental Tissues. *Society for Applied Spectroscopy*, 69, 6, 2015.

KONGSRI, S; JANPRADIT, K; BUAPA, K; TECHAWONGSTIEN, S; CHANTHAI, S. Nanocrystalline hydroxyapatite from fish scale waste: Preparation, characterization, and application for selenium adsorption in aqueous solution. *Chemical Engineering Journal*, 215-216, 522-532, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.11.054>.

KUMAR, G.S; THAMIZHAVEL, A; GIRIJA, E.K. Microwave conversion of eggshells into flower-like hydroxyapatite nanostructure for biomedical applications. *Mater Lett*, 76, 198-200, 2012.

KUSRINI, E; SONTANG, M. Characterization of x-ray diffraction and electron spin resonance: Effects of sintering time and temperature on bovine hydroxyapatite. *Radiat Phys Chem*, 81, 118-125, 2012.

LEE, S.J; OH, S.H. Fabrication of calcium phosphate bioceramics by using eggshell and phosphoric acid. *Mater Lett*, 57, 4570-4574, 2003.

LIN, Y.S; WEI, C.T; OLEVSKY, E.A; MEYERS, M.A. Mechanical properties and laminate structure of *Arapaima gigas* scales. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4, 7, 1145-1156, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2011.03.024>.

MALLA, K.P; REGMI, S; NEPAL, A; BHATTARAI, S; YADAV, R.J; SAKURAI, S; ADHIKARI, R. Extraction and characterization of novel natural hydroxyapatite bioceramic by thermal decomposition of waste ostrich bone. *International Journal of Biomaterials*, v. 20, Article ID 1690178, 10 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/1690178>.

MAQBOOL, M; NAWAZ, Q; REHMAN, M.A.U; CRESSWELL, M; JACKSON, P; HURLE, K; DETSCH, R; GOLDMANN, W.H; SHAH, A.T; BOCCACCINI, A.R. Synthesis, characterization,

antibacterial properties, and *In Vitro* studies of selenium and strontium Co-Substituted Hydroxyapatite. *Int. J. Molecular Sciences*, 22, 4246, 2021. <https://doi.org/10.3390/ijms22084246>.

MARINS, N.H; LEE, B.E.J; SILVA, R.M. e; RAGHAVAN, A; CARREÑO, N.L.V; GRANDFIELD, K. Niobium pentoxide and hydroxyapatite particle loaded electrospun polycaprolactone/gelatin membranes for bone tissue engineering. *Colloids and Surface B: Biointerfaces*, 182, 110386, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110386>.

MAZALI, I.O; ALVES, O.L. Porous glass-ceramic with skeleton of α -NbPO₅ with three-dimensional network structure. *Journal of materials science Letters*, 20, 2113-2117, 2001. <https://doi.org/10.1023/A:1013716112689>.

MISHRA, V.K; RAI, S.B; ASTHANA, B.P; PARKASH, O; KUMAR, D. Effect of annealing on nanoparticles of hydroxyapatite synthesized via microwave irradiation: Structural and spectroscopic studies. *Ceramics International*, 40, 7, Part. B, 11319-11328, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.03.128>.

MOURA, F.N. Síntese e caracterização de recobrimentos de monetita e hidroxiapatita parcialmente substituída com zinco. Tese (Doutorado em Ciências dos Materiais) – Pós-graduação em Engenharia de Materiais, Instituto Militar de Engenharia, 2012.

MUHAMMAD, N; GAO, Y; IQBAL, F; AHMAD, P; GE, R; NISHAN, U; RAHIM, A; GONFA, G; ULLAH, Z. Extraction of biocompatible hydroxyapatite from fish scales using novel approach of ionic liquid pretreatment. *Separation and Purification Technology*, 161, 129-135, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.047>.

MURCIA, S; LAVOIE, E; LINLEY, T; DEVARAJ, A; OSSA, E.A; AROLA, D. The natural armors of fish: A comparison of the lamination pattern and structure of scales. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 73, 17-27, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.09.025>.

NASCIMENTO, B. B. do. Efeito da potência de sonicação sobre as propriedades estruturais e elétricas do sistema cerâmico Na₂Ti₃O₇/Na₂Ti₆O₁₃. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Tecnologia, Manaus, Amazonas, 2019.

NASCIMENTO, W.J. do. Preparação e caracterização físico-mecânica, microestrutural e térmica de compósitos à base de nióbio e hidroxiapatita. Dissertação (Mestrado em Física) - Universidade Estadual de Maringá, Maringá, São Paulo, 2009.

NASCIMENTO, W.J; BONADIO, T.G.M; FREITAS, V.F; WEINAND, W.R; BAESSO, M.L; LIMA, W.M. Nanostructured Nb₂O₅-natural hydroxyapatite formed by the mechanical alloying method: A bulk composite. *Materials Chemistry and Physics*, 130, 1-2, 84-89, 2011. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2011.05.069>.

NASIRI-TABRIZI, B; BASIRUN, W.J; YEONG, C.H; THEIN, W.M. Development of the third generation of bioceramics: Doping hydroxyapatite with *s*-, *p*-, *d*-, and *f*-blocks cations and

their potential applications in bone regeneration and void filling. *Ceramics International*, 49, 7142-7179, 2023. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.12.117>.

National Institute of Occupational Safety and Health. NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards (full website version). <https://www.cdc.gov/niosh/npg> (Acessado em Março de 2022).

NETO, J. DA S. R. Efeitos da substituição iônica por estrôncio na morfologia de cristais de fosfatos de cálcio e no polimorfismo da hidroxiapatita hexagonal e monoclinica. 174p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

NICO, C; MONTEIRO, T; GRAÇA, M.P.F. Niobium oxides and niobates physical properties: Review and Prospects. *Progress in Materials Science*, 80, 1-37, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2016.02.001>.

NOGUEIRA, F; AMARAL, M; MALCHER, G; REIS, N; MELO, M.A.D; SAMPAIO, I; RÊGO, P.S; ARARIPE, J. The *Arapaima*, na emblematic fishery resource: genetic diversity and structure reveal the presence of na isolated population in Amapá. *Hydrobiologia*, 847, 3169-3183, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04292-0>.

NUNES, E. do S.C. de L; FRANCO, R.M; MÁRSICO, E.T; NEVES, M. da S. Qualidade do pirarucu (*Arapaima gigas*, Shing 1822) salgado seco comercializado em mercados varejistas. *Ver Inst Adolfo Lutz*, 71, 3, 520-9, 2012.

OLADELE, I. O; AGBABIKA, O. Non- Synthetic sources for the development of hydorxyapatite. *Journal of applied biotechnology & bioengineering*, 5, 2, 88-95, 2018. [10.15406/jabb.2018.05.00122](https://doi.org/10.15406/jabb.2018.05.00122).

OLIVEIRA, P.R. de; JESUS, R.S. de; BATISTA, G. M; LESSI, E. Avaliação sensorial, físico-química e microbiológica do pirarucu (*Arapaima gigas*, Schinz 1822) durante estocagem em gelo. *Food Technology*, 17, 1, 67-74, 2014. <https://doi.org/10.1590/bjft.2014.010>.

PAI, S; KINI, S.M; SELVARAJ, R; PUGAZHENDHI. A review on the synthesis of hydorxyapatite, its composites and adsorptive removal of pollutants from wastewater. *Journal of Water Process Engineering*, 38, 101574, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2020.101574>.

PANDA, S; BISWAS, C.K; PAUL, S. A comprehensive review on the preparation and application of calcium hydorxyapatite: A special focus on atomic doping methods for bone tissue engineering. *Ceramics International*, 47, 20, 28122-28144, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.07.100>.

PANDA, S; BHARADWAJ, T; VERMA, D; BISWAS, C.K; PAUL, S. Influence of strontium and niobium on the physical and biological performance of hydroxyapatite as a bioactive coating on implant materials. *Ceramics International*, 48, 22, 33256-33266, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2022.07.268>.

PICCIRILLO, C; SILVA, M.F; PULLAR, R.C; CRUZ, I.B.D.A; JORGE, R; PINTADO, M.M.E; CASTRO, P.M.L. Extraction and characterization of apatite- and tricalcium phosphate-based materials from codfish bones. *Mat Sci Eng C-Mater*, 33, 103–110, 2013.

PON-ON, W; SUNTORNSARATOON, P; CHAROENPHANDHU, N; THINGBUNCHOO, J; KRISHNAMRA, N; TANG, I.M. Hydroxyapatite from fish scale for potential use as bone scaffold or regenerative material. *Materials Science and Engineering:C*, 62, 183-189, 2016.

PRADO, G. de C; WEINAND, W.R; VOLNISTEM, E.A; BAESSO, M.L; NORONHA, J.N.G; TRUITE, C; SOUZA, B.M. de; BONADIO, T.G.M; REIS, P.J. dos; HERNANDES, L. Physical and bone regeneration studies using scaffoldins of pure natural hydroxyapatite or associated with Nb₂O₅. *Materials Chemistry and Physics*, 272, 124922, 2021.

PU'AD, N.A.S.M; KOSHY, P; ABDULLAH, H.Z; IDRIS, M.I; LEE, T.C. Synthesis of hydroxyapatite from natural sources. *Helyon*, e01588, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.helyon.2019.e01588>.

RABIEE, S.M; ASADOLLAHZADEH, M; SALIMI-KENARI, H. *In vitro* apatite formation of calcium phosphate composite synthesized from fish bone. *Applied Ceramic Technology*, 16, 1969-1978, 2019. <https://doi.org/10.1111/ijac.13297>.

RAGAB, H.S; IBRAHIM, F.A; ABDALLAH, F; AL-GHAMDI, A.A; EL-TANTAW, F; RADWAN, N; YAKUPHANOGLU, F. Synthesis and *in vitro* antibacterial properties of hydroxyapatite nanoparticles. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 9, 1, 77-85, 2014.

RAMIREZ-GUTIERREZ, C.F; LONDOÑO-RESTREPO, S.M; REAL, A. del; MONDRAGÓN, M.A; RODRIGUEZ-GARCÍA, M.E. Effect of the temperature and sintering time on the thermal, structural, morphological, and vibrational properties of hydroxyapatite derived from pig bone. *Ceramics International*, 43, 10, 7552-7559, 2017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.03.046>.

RIAZ, M; ZIA, R; IJAZ, A; HUSSAIN, T; MOHSIN, M; MALIK, A. Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity. *Materials Science and Engineering: C*, 90, 1, 308-313, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.076>.

RODRIGUES, L.S. Síntese e caracterização do cristal L-valinato de cobre (II) monohidratado. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Maranhão, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, Imperatriz, Maranhão, 2018.

SADAT-SHOJAI, M; KHORASANI, MOHAMMAD-TAGHI, DINPANAH-KHOSHDARGI, E; JAMSHIDI, A. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite in diverse structures. *Acta Biomaterialia*, 9, 8, 7591-7621, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.04.012>.

SANTOS, A. L. dos. Estudo dos métodos de síntese, Sonoquímica e precursores poliméricos, na evolução estrutural e morfológica do ZnWO₄. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Universidade Federal do Amazonas, Faculdade de Tecnologia, Manaus, Amazonas, 2021.

SANTOS, M.A.B. dos. Síntese e caracterização de nanocompósitos de hidróxidos de terras raras e investigação da propriedade fotoluminescente. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Goiás, Programa de Pós-Graduação em Química, Catalão, Goiás, 2016.

SCHATKOSKI, V.M; MONTANHEIRO, T.L. do A; MENEZES, B.R.C. de; PEREIRA, R.M; RODRIGUES, K.F; RIBAS, R.G; SILVA, D.M. da; THIM, G.P. Current advances concerning the most cited metal ions doped bioceramics and silicate-based bioactive glasses for bone tissue engineering. *Ceramics International*, 47, 3, 2999-3012, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.09.213>.

SHALTOUT, A.A; ALLAM, M.A; MOHARRAM, M.A. FTIR spectroscopic, thermal and XRD characterization of hydroxyapatite from new natural sources. *Spectrochimica Acta A*, 83, 56–60, 2011.

SHARIFFUDDIN, J.H; JONES, M.I; PATTERSON, D.A. Greener photo catalysts: hydroxyapatite derived from waste mussel shells for the photocatalytic degradation of a model azo dye wastewater. *Chem Eng Res Des*, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2013.04.018>.

SHERMAN, V.R; QUAN, H; YANG, W; RITCHIE, R.O; MEYERS, M.A. A comparative study of piscine defense: The scales of *Arapaima gigas*, *Latimeria chalumnae* and *Atractosteus spatula*. *Journal of the mechanical behavior of Biomedical materials*, 73, 1-16, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2016.10.001>.

SILVA, A.M. da; DUNCAN, W.L.P; Aspectos biológicos, ecologia e fisiologia do pirarucu (*Arapaima gigas*): uma revisão da literatura. *Scientia Amazonia*, 5, 3, 31-46, 2016.

SILVA, N. de M.N; SILVA, A.A; BRAGA, T.M.P; JÚNIOR, C.H.F. Diagnóstico do comércio de Pirarucu nos mercados e feiras de Santarém, Pará. *Biota Amazônia Open Journal System*, 6, 4, 49-53, 2016.

SOBCZAK, A; KOWALASKI, Z; WZOREK, Z. Preparation of hydroxyapatite from animal bones. *Acta Bioeng Biomech*, 11, 23–28, 2009.

SPELTA, J.S. de O. Síntese e caracterização de hidroxiapatita produzida a partir de diferentes tipos de cascas de ovos de galinha. 73f. Dissertação (Mestrado em Tecnologias Sustentáveis) - Instituto Federal do Espírito Santo, Vitória, Espírito Santo, 2018.

SUPOVA, M. Substituted hydroxyapatites for biomedical applications: A review. *Ceramics International*, 41, 9203-9231, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.03.316>.

TERZIOGLU, P; OGUT, H; KALEMTAS, A. Natural calcium phosphates from fish bones and their potential biomedical applications. *Materials Science & Engineering C*, 91, 899-911, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.06.010>.

The European Society for Biomaterials 9th European Conference on Biomaterials Chester, UK 9–11th September 1991 in conjunction with 2nd Consensus Conference on Definitions in Biomaterials 7–8th September 1991 and IUPAC working party on blood

compatibility. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 2, 62, 1991. <https://doi.org/10.1007/BF00701689>.

TITE, T; POPA, ADRIAN-CLAUDIU; BALESU, L. M; BOGDAN, I. M; PASUK, I; FERREIRA, J. M. F; STAN, G. E. Cation substitutions in hydroxyapatite: Current status of the derived biofunctional effects and their *in vitro* interrogation methods. *Materials*, 11, 2081, 2018. <https://doi.org/10.3390/ma11112081>.

TORRES, F.G; TRONCOSO, O.P; AMAYA, E. The effects of water on the thermal transitions of fish scales from *Arapaima gigas*. *Materials Science and Engineering C*, 32, 8, 2212-2214, 2012. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.06.003>.

TORRES, F.G; TRONCOSO, O.P; NAKAMATSU, J; GRANDE, C.J; GÓMEZ, C.M. Characterization of the nanocomposite laminate structure occurring in fish scales from *Arapaima gigas*. *Materials Science and Engineering C*, 28, 8, 1276-1283, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2007.12.001>.

UEKAWA, N; KUDO, T; MORI, F; WU, Y.J; KAKEGAWA, K. Low-temperature synthesis of niobium oxide nanoparticles from peroxo niobic acid sol. *Journal of Colloid and Interface Science*, 264, 378-384, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0021-9797\(03\)00460-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9797(03)00460-0).

UNABIA, R.B; BONEBEAU, S; JÚNIOR, R.T.C; JOUIN, J; NOGUERA, O; PAWLOWSKI. Investigation on the structural and microstructural properties of copper-doped hydroxyapatite coatings deposited using solution precursor plasma spraying. *Journal of the European Ceramic Society*, 39, 14, 4255-4263, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.jeurceramsoc.2019.06.034>.

UTARA, S; KLINAEWNARONG, J. Sonochemical synthesis of nano-hydroxyapatite using natural rubber latex as a templating agent. *Ceramics International*, 41, 10, Part. B, 14860-14867, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2015.08.018>.

VENKATASUBBU, D; AVADHANI, G; THANGAVEL, R; KUMAR, J. Investigations on Zinc Doped Nanocrystalline Hydroxyapatite. *International Journal Of NanoScience and Nanotechnology*, 2, 1-23, 2011.

VENKATESAN, J; QIAN, Z.J; RYU, M; THOMAS, N.V; KIM, S.K. A comparative study of thermal calcination and an alkaline hydrolysis method in the isolation of hydroxyapatite from *Thunnus obesus* bone. *Biomad Mater*, 6, 035003, 12, 2011.

VIANA, J.R; MACEDO, A.A.M; SANTOS, A.O. dos; FILHO, P.F.F; GRAÇA, M.P.F; VALENTE, M.A; SILVA, C.C. Análise comparativa da síntese de hidroxiapatita via estado sólido. *Matéria (Rio J.)*, 25, 1, e-12588, 2020. <https://doi.org/10.1590/S1517-707620200001.0914>.

WENG, W. DAVIES, M; WHITING, G; SOLSONA, B; KIELY, C.J; CARLEY, A.F; TAYLOR, S.H. Niobium phosphates as new highly selective catalysts for the oxidative dehydrogenation of ethane. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 13, 17395-17404, 2011. <https://doi.org/10.1039/c1cp21136f>.

WU, S.C; HSU, H.C; WU, Y.N; HO, W.F. Hydroxyapatite synthesized from oyster shell powders by ball milling and heat treatment. *Mater charact* 62, 1180–1187, 2011.

YANG, W; QUAN, H; MEYERS, M.A; RITCHIE, R.O. Arapaima fish scale: One of the toughest flexible biological materials. *Matter*, 1, 1-10, 2019.

YOO, K; AHN, JI-WHAN. Calcium ion extraction from Blast Furnace Slags for the synthesis of pure calcium carbonate polymorphs by accelerated carbonation. 5th Asian Particle Technology Symposium, 2012. https://doi.org/10.3850/978-981-07-2518-1_359.

ZHU, Q; ABLIKIM, Z; CHEN, T; CAI, Q; XIA, J; JIANG, D; WANG, S. The preparation and characterization of HA/ β -TCP biphasic ceramics from fish bones. *Ceramics International*, 43, 12213-12220, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2017.06.082>.

ZIMMERMANN, E; GLUDOVATZ, B; SCHAIBLE, E; DAVE, N.K.N; YANG, W; MEYERS, M.A; RITCHIE, R.O. Mechanical adaptability of the Bouligand-type structure in natural dermal armour. *Nature Communications*, 4, 2634, 2013. <https://doi.org/10.1038/ncomms3634>.