



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese de Doutorado

**Fosfatos de cálcio modificados com nióbio e seus
compósitos com niobatos lamelares aplicados como
agentes antimicrobianos e adsorventes**

Rafael de Carvalho Araújo

João Pessoa – PB – Brasil

Fevereiro / 2022



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Tese do Doutorado

**Fosfatos de cálcio modificados com nióbio e seus
compósitos com niobatos lamelares aplicados como
agentes antimicrobianos e adsorventes**

Rafael de Carvalho Araújo*

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do DQ/CCEN, Universidade Federal da Paraíba, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de doutor em Química.

**Orientador: Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca
Co-Orientador: Prof. Dr. Ary da Silva Maia**

***Bolsista CAPES**

João Pessoa – PB – Brasil

Fevereiro/2022

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A658f Araujo, Rafael de Carvalho.

Fosfatos de cálcio modificados com nióbio e seus compósitos com niobatos lamelares aplicados como agentes antimicrobianos e adsorventes / Rafael de Carvalho Araujo. - João Pessoa, 2022.

170 f. : il.

Orientação: Maria Gardennia da Fonseca.

Coorientação: Ary da Silva Maia.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCEN.

1. Hidroxiapatita - Química. 2. Fluoroapatita. 3. Beta-fosfato tricálcico. 4. Biomateriais. I. Fonseca, Maria Gardennia da. II. Maia, Ary da Silva. III. Título.

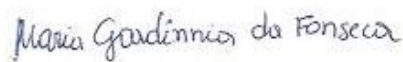
UFPB/BC

CDU 546(043)

Elaborado por GRACILENE BARBOSA FIGUEIREDO - CRB-15/794

Fosfatos de cálcio modificados com nióbio e seus compósitos com niobatos lamelares aplicados como agentes antimicrobianos e adsorventes.

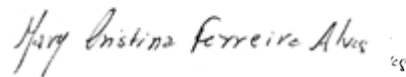
Tese de Doutorado apresentada pelo aluno Rafael de Araújo Carvalho e aprovada pela banca examinadora em 25 de fevereiro de 2022.



Profa. Dra. Maria Gardênnia da Fonseca
Orientadora/Presidente



Prof. Dr. Ary da Silva Maia
2º. Orientador



Profa. Dra. Mary Cristina Ferreira Alves
Examinadora



Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho
Examinador



Profa. Dra. Ana Paula de Melo Alves Guedes
Examinadora



Prof. Dr. Wagner de Mendonça Fasutino
Examinador

Não é sobre chegar no topo do mundo
E saber que venceu
É sobre escalar e sentir
Que o caminho te fortaleceu
É sobre ser abrigo
E também ter morada em outros corações
E assim ter amigos contigo
Em todas as situações

A gente não pode ter tudo
Qual seria a graça do mundo se fosse assim?
Por isso, eu prefiro sorrisos
E os presentes que a vida trouxe
Pra perto de mim

Não é sobre tudo que o seu dinheiro
É capaz de comprar
E sim sobre cada momento
Sorriso a se compartilhar
Também não é sobre correr
Contra o tempo pra ter sempre mais
Porque quando menos se espera
A vida já ficou pra trás

Segura teu filho no colo
Sorria e abrace teus pais
Enquanto estão aqui
Que a vida é trem-bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir

Ana Vilela

Agradecimentos

- Á Deus por tudo,
- A minha mãe, Maria Suely de Carvalho Araújo, e ao meu pai, Etevoldo Teotônio de Araújo Junior (*In memorian*),
- Ao meu filho Eduardo da Silva Araujo e minha esposa, Josiely Simões da Silva,
- A todos os familiares de forma direta e indireta contribuíram com essa jornada,
- A professora Maria Gardênnia da Fonseca pela acolhida em seu grupo de pesquisa, pela confiança, oportunidade e valiosa orientação;
- Ao professor Ary da Silva Maia pela valiosa co-orientação;
- Aos professores que fazem o PPGQ com os quais eu tive o prazer de compartilhar momentos de aprendizagem, em especial, a Profa Ieda e ao Prof José Geraldo Espinola e ao Prof Fauston Fred da Silva pela confiança e apoio durante essa caminhada;
- Ao Núcleo de Pesquisa e Extensão de Combustíveis e de Materiais – NPE-LACOM, pelo espaço e estrutura ofertados para a realização desta pesquisa;
- Ao Dr. André Luiz Menezes de Oliveira pelas valiosas contribuições, incentivo, disponibilidade e pelo apoio;
- Prof.^a Ma. Laís Chantelle de Lima por todo companheirismo, análises de XRD e FTIR, e pela colaboração até os últimos dia de conclusão deste trabalho;
- Aos companheiros Mariana, Denise, Saloana, Líbia, Cleibson, Leandro, Wanderson, Deoclécio, Luís, Gilmário e Adriana; especialmente a Adriana pela sua disponibilidade nesses últimos momentos;
- Aos companheiros do LACOM: Luzia Maria, Thiago Marinho, Juliana Kelly, Alex, Suellen, Arnayra, Pollyana, Anderson, Ana Rita, Rayssa, Nayara, Ana Zélia, Marcela, Adervandro, Betinho, Jerônimo e Debora;
- Ao Prof.^o Dr. Santiago Medina-Carrasco (Universidad de Sevilla, CITIUS Laboratorio de Rayos X, Espanha), pela parceria e presteza na realização XRD e refinamento Rietveld;
- A todos os funcionários da UFPB que me auxiliaram e, em especial, ao Marcos Pequeno e ao técnico Ginetton pelas medidas de microscopia;
- Ao Instituto de Física da UFSCAR pela realização das medidas de XPS;
- À CAPES pela bolsa concedida para o desenvolvimento dessa pesquisa.

SUMÁRIO

Capítulo 1	20
1. INTRODUÇÃO	21
1.1. OBJETIVOS.....	23
1.1.1. Geral.....	23
1.1.2. Específicos	23
Capítulo 2	24
2. REFERENCIAL TEÓRICO	25
2.1. BIOMATERIAIS	25
2.1.1. Biodegradação.....	26
2.1.2. Morfologia	27
2.1.3. Adsorção de proteínas.....	27
2.2. FOSFATOS DE CÁLCIO	28
2.3. HIDROXIAPATITA - Hap	30
2.3.1. Estrutura da Hap.....	30
2.4. DEFEITOS	32
2.4.1. Defeitos Intrínsecos	32
2.4.2. Defeitos extrínsecos	34
2.5. Síntese da Hap	35
2.5.1. Métodos úmidos	35
2.5.2. Métodos secos.....	38
2.6. REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO EM Hap	40
2.7. FLUORAPATITA.....	41
2.7.1. Síntese	42
2.8. β -Fosfato tricálcico (β -Ca ₃ (PO ₄) ₂)	43
2.8.1. Estrutura	44
2.9. MATERIAIS LAMELARES	49
2.10. NIÓBIO	50
2.10.1. Niobatos.....	51
2.10.2. Niobatos lamelares	52
Capítulo 3	56
Hidroxiapatitas modificadas com nióbio obtidas por co-precipitação	56
3.1 INTRODUÇÃO	57

3.2. METODOLOGIA	58
3.2.1. Reagentes químicos	58
3.2.2. Síntese da Hap e seus derivados	59
3.2.3. Modificação estrutural da hidroxiapatita	60
3.2.4 Caracterização.....	61
3.3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA <i>in-vitro</i>	62
3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	63
3.4.1. Difratomia de raios X	63
3.4.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	70
3.4.3. Espectroscopia Raman.....	74
3.4.4. Fluorescência de Raios x (FRX)	75
3.4.5. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS).....	76
3.4.6. Espectroscopia UV-vis de refletância difusa.....	80
3.4.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS (MEV-EDS)	81
3.6 CONCLUSÕES	84
Capítulo 4	85
Fluorapatitas modificados com nióbio obtidos por co-precipitação	85
4.1 INTRODUÇÃO	86
4.2. METODOLOGIA	88
4.2.1. Reagentes químicos	88
4.2.2. Síntese da Fap	88
4.2.3. Modificação estrutural da Fap.....	89
4.2.4. Adsorção do cloridrato de tetraciclina.....	89
4.2.5 Atividade antimicrobiana <i>in-vitro</i>	92
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES	92
4.3.1 Difratomia de raios X (XRD)	92
4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho.....	94
4.3.3 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS).....	95
4.3.5 Estudo de adsorção o cloridrato de tetraciclina	99
4.3.6 Efeito da dosagem do adsorvente	99
4.3.7 Efeito do tempo.....	100
4.3.8 Efeito da concentração inicial da tetraciclina	101
4.3.9 Caracterização dos sólidos contendo tetraciclina	103

4.3.9.2 Difractometria de raios X (XRD)	104
4.3.10. Teste de atividade antimicrobiana	104
Capítulo 5	106
β-fosfatos tricálcicos modificados com nióbio obtidos por co-precipitação	106
5.1. INTRODUÇÃO	107
5.2. METODOLOGIA	108
5.2.1 Reagentes químicos	108
5.2.2 Síntese do β-TCP e seus derivados	109
5.2.3 Modificação estrutural do β-fosfato tricálcico com Nb.....	110
5.2.4 Técnicas de caracterização	111
5.2.5 Atividade antimicrobiana <i>in-vitro</i>	111
5.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES	111
5.4.1. Difractometria de Raios X (XRD).....	111
5.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR).....	114
5.4.3. Fluorescência de Raios X (FRX)	116
5.4.4. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)...	116
5.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)	118
5.4.6 Ensaio antibacteriano	119
5.6. CONCLUSÕES	120
Capítulo 6	121
Compósitos de fosfato de cálcio com niobatos lamelares.....	121
6.2 METODOLOGIA	124
6.2.1 Reagentes Químicos	124
6.2.2. Síntese dos niobatos	124
6.2.3 Elaboração dos compósitos baseados em fosfato de cálcio/niobatos.	
.....	127
6.2.4 Técnicas de caracterização	129
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	129
6.3.1 Hexaniobato de potássio ($K_4Nb_6O_{17}$).....	129
6.3.2 Triniobato de potássio (KNb_3O_8).....	133
6.3.3 Compósitos.....	136
6.4. Conclusões	142
Capítulo 7	143
7.1 Perspectivas futuras.....	144

Capítulo 8	145
8.1 Referencias bibliográficas	146

Lista de figuras

Figura 2.1 Fase hexagonal da Hap.....	31
Figura 2.2 Conformação hexagonal da Hap com a presença de defeitos	33
Figura 2.3 Defeitos pontuais na estrutura da hidroxiapatita.....	34
Figura 2.4. Tamanho de partícula e morfologia da Hap obtida por vários métodos de síntese.....	39
Figura 2.5. Estrutura da fluorapatita . Fonte (Jay, Rushton e Grimes, 2012)	41
Figura 2.6. Variação das fases alotrópicas do β -TCP.....	43
Figura 2.7. Coordenações dos diferentes sítios de Ca^{2+} na estrutura do β -TCP. Fonte: Jay, 2012.....	45
Figura 2.8. Estrutura cristalina do β -TCP ao longo do eixo c. Fonte: Yoshida <i>et al.</i> 2006 – modificado.	46
Figura 2.9. Estrutura de um material lamelar.....	49
Figura 2.10. Organização dos materiais lamelares com lamelas carregadas a) negativamente e b) positivamente.....	50
Figura 2.11. Representação da célula unitária do KNb_3O_8 . Fonte: Souza <i>et al.</i> 2020. Adaptado	53
Figura 2.12. Estrutura do Hexaniobato de potássio. Fonte: Souza <i>et al.</i> 2020.	54
Figura 3.1. Pesquisa das palavras chaves no banco de dados da web of Science.	58
Figura 3.2. Procedimento de síntese da Hap.....	60
Figura 3.3. Rotas de modificação da Hap.....	61
Figura 3.4. (I) Padrões de XRD e (II) padrões de XRD ampliados no intervalo 2 θ de 27-37° para as amostras de (a) Hap, (b) Hap.Nb1%, (c) Hap.Nb3%, (d) Hap.Nb5% (e) Hap.Nb7% e (f) Hap.Nb10%.	65
Figura 3.5. Perfis de refinamento estrutural dos dados de XRD coletados em temperatura ambiente para as amostras Hap, b) Hap.1% Nb, c) Hap.3% Nb, d) Hap.5% Nb, e) Hap.7% Nb e f) Hap.10% Nb	66
Figura 3.6 (I) e (II) Espectros FTIR das amostras Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb3% (c), Hap.Nb5% (d), Hap.Nb7% (e) e Hap.Nb10% (f).	71

Figura 3.7 Espectros Raman das amostras: Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb5% (c) e Hap.Nb10% (d).	74
Figura 3.8 Espectros XPS das amostras: Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb3% (c), Hap.Nb5% (d), Hap.Nb7% (e) e Hap.Nb10% (f).	77
Figura 3.9. Deconvolução dos espectros de alta resolução de XPS nas linhas de emissão do Ca, P, O e Nb para a amostra Hap.Nb7%.	78
Figura 3.10. Espectros de UV-vis a) Hap, b) Hap.Nb5% e c) Hap.Nb10%.	80
Figura 3.11. Imagens de MEV da Hap pura com diferentes ampliações	81
Figura 3.12. Mapeamento EDS da Hap pura.....	81
Figura 3.13. Imagens de MEV da Hap.Nb10% com diferentes ampliações.....	82
Figura 3.14. Mapeamento EDS da Hap.Nb10%	83
Figura 3.15. Efeito inibitório da Hap/Nb-10% frente a bactéria <i>S. aureus</i>	83
Figura 4.1. Resultado de busca no banco de dados da Web of Science através da palavras-chave Fluorapatite, Doped Fluorapatite, Niobium Fluorapatite e Doped Niobium	87
Figura 4.2. Procedimento de síntese da Fap.	89
Figura 4.3. Estrutura da tetraciclina. Fonte Oliveira, 2021	90
Figura 4.4. Difrátogramas de raios x para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e Fap.Nb10%	92
Figura 4.5. Espectros na região do infravermelho para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e Fap.Nb10%	94
Figura 4.6. Espectros de fotoelétrons excitados por raios X para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e Fap.Nb10%	96
Figura 4.7. Imagens de MEV dos sólidos Fap puro e modificadas com nióbio.	98
Figura 4.8. Efeito da dosagem do adsorvente para a Fap.	99
Figura 4.9. Estudo cinético e ajuste dos dados experimentais aos modelos de pseudo-primeira-ordem, pseudo-segunda-ordem e Elovich para adsorção da tetraciclina na Fap	100
Figura 4.10. Isoterma de adsorção e ajuste dos dados aos modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção da tetraciclina na Fap.	101
Figura 4.11. Espectros na região do infravermelho da tetraciclina, e sólidos utilizados na isoterma de equilíbrio a) Fap, b) Fap-20mg.L ⁻¹ , c) Fap-40mg.L ⁻¹ , d) Fap-80mg.L ⁻¹ e e) tetraciclina	103

Figura 4.12 Difrátogramas de Raios-X da amostra de FAP antes (a) e após adsorção de 7,5 mg g ⁻¹ (b), 13,68 mg g ⁻¹ (c) e 25,99 mg g ⁻¹ (d) de tetraciclina.....	104
Figura 4.13. Atividade antibacteriana da Fap com tetraciclina frente a <i>S. aureus</i>	105
Figura 5.1. Pesquisa sistemática na base de dados da web of Science.....	108
Figura 5.2. Procedimento de síntese do β -TCP.....	110
Figura 5.3. Fluxograma da modificação do β -TCP com nióbio	111
Figura 5.4. Difrátogramas de raios X para os sólidos modificados utilizando o pentacloreto de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%.....	112
Figura 5.5. Difrátogramas de raios X para os sólidos modificados utilizando o oxalato amoniacal de nióbio. a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%.....	112
Figura 5.6. Espectros FTIR dos sólidos β -TCP e β -TCP modificados com Nb a partir do precursor de pentacloreto de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%.....	115
Figura 5.7. Espectros FTIR dos sólidos β -TCP e β -TCP modificados com Nb a partir do precursor de oxalato amoniacal de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7%, e f) β -TCP.Nb10%.....	115
Figura 5.8. Espectros XPS das amostras: Hap (a), β -TCP.Nb1% (b), β -TCP.Nb3% (c), β -TCP.Nb5% (d), β -TCP.Nb7% (e) e β -TCP.Nb10% (f).....	117
Figura 5.9 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro e modificadas com nióbio.....	119
Figura 5.10. Resultados de atividade antibacteriana do β -TCP e dos sólidos modificados.	120
Figura 6.1. Esquema de síntese do hexaniobato de potássio.	125
Figura 6.2. Processo de esfoliação dos niobatos.....	127
Figura 6.3. Procedimento para a elaboração dos compósitos in situ.....	128
Figura 6.4. Procedimento para a elaboração dos compósitos por impregnação	128
Figura 6.5. Difrátogramas do hexaniobato antes a) $K_4Nb_6O_{17}$ e após protonação b) $K_4Nb_6O_{17} - H_3O^+$	129

Figura 6.6. Espectros de FTIR das amostras $K_4Nb_6O_{17}$ (a) e $K_4Nb_6O_{17} - H_3O^+$ (b)	130
Figura 6.7 Espectros Raman do a) $K_4Nb_6O_{17}$ e b) $K_4Nb_6O_{17} - H_3O^+$	131
Figura 6.8. Imagem da solução contendo as nanoplaquetas do hexaniobato esfoliado.	132
Figura 6.9. Difractogramas de raios. a) KNb_3O_8 e b) $KNb_3O_8 - H_3O^+$	133
Figura 6.10. Espectros de absorção no infravermelho para a) KNb_3O_8 e b) $KNb_3O_8 - H_3O^+$	134
Figura 6.11. Espectros de Raman. a) $KNbO_3$, b) $KNb_3O_8 - H_3O^+$	135
Figura 6.12. Imagem da solução coloidal contendo as nanoplaquetas do triniobato	136
Figura 6.13. Difractogramas de raios X dos sólidos elaborados com o triniobato a) Hap, b) Hap/ Nb_3O_8 , c) Hap/50mL - Nb_3O_8 e d) Hap/100mL - Nb_3O_8	136
Figura 6.14 Imagens de MEV-FEG dos sólidos Hap puro do compósito com o KNb_3O_8	137
Figura 6.15. Difractogramas de raios X dos sólidos modificados com o hexaniobato a) Hap, b) Hap/ Nb_6O_{17} , c) Hap/50mL - Nb_6O_{17} e d) Hap/100mL - Nb_6O_{17}	138
Figura 6.16 As imagens de MEV-FEG da Hap e do compósito Hap. $K_4Nb_6O_{17}$	139
Figura 6.17. Difractogramas de raios X dos sólidos modificados com o triniobato a) β -TCP, b) β -TCP/ Nb_3O_8 , c) β -TCP/50mL - Nb_3O_8 e d) β -TCP/100mL - Nb_3O_8	139
Figura 6.18 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro do compósito com o KNb_3O_8	140
Figura 6.19. Difractogramas de raios X dos sólidos modificados com o hexaniobato a) β -TCP, b) β -TCP/ Nb_6O_{17} , c) β TCP/50mL - Nb_6O_{17} e d) β -TCP/100mL - Nb_6O_{17}	141
Figura 6.20 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro do compósito com o $K_4Nb_4O_{17}$	141

Lista de tabelas

Tabela 2.1 Composição dos biomateriais	25
Tabela 2.2. Classificação das biocerâmicas.	26
Tabela 2.3. Classificação dos fosfatos de cálcio segundo a razão Ca/P e solubilidade em água. Fonte: (Dorozhkin, 2013)	29
Tabela 2.4. Comparação das rotas de obtenção da Hap.....	39
Tabela 3.1. Reagentes utilizados na síntese da Hap.....	59
Tabela 3.2. Parâmetros de rede (a e c), volume da célula unitária (V) e posições atômicas refinados usando o método de Rietveld para a HAp.Nbx (x = 0, 1, 3, 5, 7 e 10 % em mol) considerando a substituição do Ca^{2+} por Nb^{5+} na estrutura.	67
Tabela 3.3. Resultados de refinamento para o tamanho de cristalito (nm) pelo refinamento dos padrões de XRD usando o método de ajuste de Le Bail.	70
Tabela 3.4. Valores de FWHM da banda de absorção no IR em 1033cm^{-1} para a Hap pura e modificadas com Nb	72
Tabela 3.5 Valores de FWHM da banda 961 cm^{-1} para a Hap pura sólidos modificados com nióbio	75
Tabela 3.6. Valores obtidos para os principais componentes dos sólidos modificados (C, P e Nb)	76
Tabela 3.7. Valores das energias de ligação dos orbitais e a energia de acoplamento de spin.	79
Tabela 4.1. Reagentes utilizados na síntese da Hap.....	88
Tabela 4.2. Modelos aplicados ao estuco cinético equilíbrio	91
Tabela 4.3. Modelos aplicados as isotermas de equilíbrio.....	91
Tabela 4.4. Parâmetros de rede e volume da célula unitária.....	93
Tabela 4.5. Valores de FWHM para as bandas dos grupos fosfatos	95
Tabela 4.6. Parâmetros cinéticos obtidos a partir do ajuste dos dados aos modelos de pseudo-primeira-ordem, pseudo-segunda-ordem e Elovich, para adsorção da tetraciclina na Fap	101
Tabela 4.7. Parâmetros de adsorção da tetraciclina pela Fap de acordo com os modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin.....	102
Tabela 4.8. Capacidade de adsorção da TCC em fosfatos de cálcio de acordo com a literatura nas respectivas condições experimentais	102

Tabela 5.1. Reagentes utilizados na síntese do β -TCP.....	109
Tabela 5.2. Valores dos parâmetros de rede e volume da célula unitária para o β -TCP e modificações.	113
Tabela 5.3. Valores obtidos para os principais componentes (C, P e Nb) nos sólidos modificados β -TCP/Nb a partir do precursor NbCl_5	116
Tabela 6.1. Reagentes utilizados na elaboração dos compósitos.	124

Lista de siglas e abreviaturas

Å	Ångstrom (unidade de comprimento)
ACP	Fosfato de cálcico amorfo
ATCC	American Type Culture Collection
DCPA	Fosfato dicálcico anidro
DCPD	Fosfato dicálcico dihidratado
XRD	Difratometria de raios X
UV-Vis	Ultravioleta visível
Fap	Fluorapatita
FTIR	Espectroscopia no infravermelho com transformada em Fourier
FWHM	Full width at half maximum (Largura a meia altura)
Hap	Hidroxiapatita
MCPA	Fosfato monocálcico anidro
MCPM	Fosfato monocálcico monohidratado
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
nm	Nanômetro (unidade de comprimento)
OCP	Fosfato octacálcico
pH	Potencial hidrogeniônico
TTCP	Fosfato tetracálcico
UV-Vis	Ultravioleta visível
XPS	Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X
α-TCP	α-fosfato tricálcico
β-TCP	β-fosfato tricálcico

Resumo

Título: Fosfatos de cálcio modificados com nióbio e seus compósitos com niobatos lamelares aplicados como agentes antimicrobianos e adsorventes

Autor: Rafael de Carvalho Araujo

Orientadores: Prof^a Dra Maria Gardênnia da Fonseca

Prof Dr. Ary da Silva Maia

Fosfatos de cálcio incluindo a hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, a fluorapatita $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ e o beta-fosfato tricálcico, $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, estão entre as biocerâmicas mais utilizadas para aplicações biotecnológicas. Contudo, todos esses fosfatos apresentam limitações aplicativas como baixa capacidade adsorvente frente alguns fármacos, baixa atividade antimicrobiana e resistência mecânica inferior a alguns segmentos de tecido ósseo. Uma alternativa para melhoria das propriedades dos fosfatos tem sido a dopagem com diferentes íons e a formação de compósitos com óxidos metálicos e não-metálicos. Desta forma, nesta tese foi realizada a dopagem dos três fosfatos de cálcio com nióbio e obtenção de compósitos entre a hidroxiapatita e o beta-fosfato tricálcico com triniobato de potássio e hexaniobato de potássio. Os sólidos obtidos derivados da dopagem da $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ com nióbio foram aplicados como adsorventes para tetraciclina e as capacidades antibacterianas frente a *S. aureus* dos sólidos dopados ou com tetraciclina foram avaliadas. Os fosfatos de cálcio foram modificados pela inserção estrutural de nióbio utilizando pentacloreto de nióbio (NbCl_5) e o oxalato amoniacal de nióbio ($\text{NH}_4\text{H}_2[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]$) como precursores via reação de co-precipitação variando as quantidades de dopante de 1% a 10% em mol. Para a síntese dos compósitos, duas soluções coloidais derivadas da esfoliação de niobatos de potássio lamelares foram utilizadas para incorporação *in situ* dos precursores dos fosfatos ou deposição nos sólidos previamente obtidos. Os materiais obtidos foram caracterizados por difração de raios X (XRD) com refinamento Rietveld, espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), fluorescência de raios X (FRX), espectroscopia Raman, espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS) e microscopia eletrônica de varredura (MEV) acoplada à espectroscopia de raios X por energia dispersiva (EDS). A partir dos dados de refinamento Rietveld foi observado que o nióbio substitui o cálcio no sítio (II) da hidroxiapatita, além de provocar mudanças nos parâmetros de rede a e c, e no volume. Através da análise de FRX constatou-se a presença de nióbio nos fosfatos de cálcio modificados em proporções em mol próximas às utilizadas na síntese. Os espectros de XPS sugeriram a presença do Nb^{5+} em todos os fosfatos modificados. Observou-se, que a inserção de Nb^{5+} na estrutura da $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ diminuiu a adsorção de tetraciclina. Os resultados de atividade antimicrobiana indicaram melhoria frente à *S. aureus* comparada as matrizes não modificadas, especialmente para a matriz de $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ contendo nióbio e tetraciclina, cuja atividade antimicrobiana foi de 100%, nas condições avaliadas. Para os compósitos foi observado o perfil típico de difração dos fosfatos, além dos niobatos utilizados. Os resultados indicaram que os fosfatos de cálcio dopados com Nb^{5+} foram preparados com sucesso e que os compósitos entre hidroxiapatita e beta fosfato tricálcico com os niobatos lamelares apresentaram ambas as fases, especialmente para a rota *in situ*.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, fluoroapatita, beta-fosfato tricálcico, nióbio, niobatos, biomateriais.

Abstract

Title: Niobium-modified calcium phosphates and their composites with layered niobates applied as antimicrobial agents and adsorbents

Author: Rafael de Carvalho Araujo

Supervisors: Prof^a Dra Maria Gardênnia da Fonseca

Prof Dr. Ary da Silva Maia

Calcium phosphates including hydroxyapatite, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, fluorapatite $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ and tricalcium beta-phosphate, $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, are among the most widely used bioceramics for biotechnological applications. However, all these phosphates have application limitations such as low adsorptive capacity against some drugs, low antimicrobial activity and lower mechanical resistance to some segments of bone tissue. An alternative to improve the properties of the phosphates has been the doping with different ions and the formation of composites with metallic and non-metallic oxides. In this sense, in present thesis niobium-modified calcium phosphates and composites between hydroxyapatite and tricalcium beta-phosphate with potassium triniobate and potassium hexaniobate were obtained. The solids obtained from the niobium doped $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ with were applied as adsorbents for tetracycline and the antibacterial activities against *S. aureus* of the doped solids or loaded tetracycline $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ were evaluated. Calcium phosphates were modified by the structural insertion of niobium, using niobium pentachloride (NbCl_5) and ammonium niobium oxalate ($\text{NH}_4\text{H}_2[\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_3]$) as precursors via a co-precipitation reaction where the mol amounts of dopants were varied in 1% to 10%. For the synthesis of the composites, two colloidal solutions derived from the exfoliation of layered potassium niobates were used for the *in situ* incorporation of the phosphate precursors or deposition of the obtained phosphates. The materials obtained were characterized by X-ray diffraction (XRD) with Rietveld refinement, infrared absorption spectroscopy (FTIR), X-ray fluorescence (XRF), Raman spectroscopy, X-ray excited photoelectron spectroscopy (XPS) and scanning electron microscopy (SEM) coupled to EDS. Refinement Rietveld suggested that niobium replaced calcium at site (II) of hydroxyapatite, in addition to causing changes in lattice parameters a and c, and volume. XRF analysis indicated that the presence of niobium in the modified calcium phosphates in mol proportions close conditions used in the synthesis. XPS spectra suggested the presence of Nb^{5+} in all modified phosphates. It was observed that the insertion of Nb^{5+} in the structure of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ decreased the tetracycline adsorption. Antimicrobial activity against *S. aureus* improved after phosphate modification compared pristine matrices, especially for the tetracycline loaded $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, which antimicrobial activity was 100%. For the composites, the typical diffraction profile for each of the phosphates used was observed and also the niobates. All results indicated that Nb-doped calcium phosphates were successfully prepared and that the composites between hydroxyapatite and beta tricalcium phosphate with layered niobates showed both phases, especially for the *in situ* route.

Keywords: Hydroxyapatite, fluoroapatite, beta-tricalcium phosphate, niobium, niobates, biomaterials.

Capítulo 1

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Os biomateriais podem ser materiais metálicos, poliméricos ou cerâmicos, sendo estes últimos, os materiais de interesse desta pesquisa. Dentre os vários biomateriais cerâmicos, os fosfatos de cálcio de baixa solubilidade atraem muita atenção devido à similaridade química e estrutural com a apatita biológica, que ocorre na fase mineral de ossos e dentes, e por serem biocompatíveis e bioativos, possibilitando bons níveis de osseointegração¹ e osteocondução² (Ates *et al.*, 2019). Além disso, os fosfatos de cálcio têm aplicação em outras campos como adsorção (Brazdis *et al.*, 2021), catálise (Ebadipour *et al.*, 2021), desenvolvimento de sensores (Kanchana e Sekar, 2015) e cromatografia (Wang *et al.*, 2021).

Dentre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita (Hap) e a fluorapatita (Fap) são bastantes utilizados em aplicações médico-odontológicas, pois são bastante semelhantes com a parte mineral dos ossos e dentes e permitir a adesão/proliferação de fibroblastos e osteoblastos, sendo uma alternativa para a engenharia de tecido ósseo (Seyedmajidi e Seyedmajidi, 2022).

Outro fosfato de cálcio bastante utilizado na área médica é o β -fosfato tricálcico, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (β -TCP). Diferentemente dos outros fosfatos mencionados, sua aplicação na área odontológica é mais restrita, e geralmente está associada a formulação de compósitos, pois sua significativa solubilidade em pH bucal inviabiliza sua aplicação isolada (Zhang, Zhigang, 2022).

Os fosfatos de cálcio possuem baixa resistência mecânica quando comparada ao tecido ósseo (Ramesh *et al.*, 2011; Sebdani e Fathi, 2012). Desta forma, alguns métodos de modificação estrutural, como a dopagem e a formação de compósitos com outros compostos incluindo polímeros (Akindoyo *et al.*, 2018; Nedaipour, Bagheri e Mohammadi, 2020) e óxidos metálicos (Salarian *et al.*, 2014; Vemulapalli *et al.*, 2020) vem possibilitando a obtenção de materiais mais adequados para parte biológica.

1 Capacidade de se ligar ao tecido ósseo de forma estável e funcional

2 Capacidade de servir como um arcabouço para o crescimento ósseo

Na literatura pode-se encontrar uma grande variedade de pesquisas que visam melhorar as propriedades mecânicas dos fosfatos de cálcio, principalmente pela elaboração de compósitos utilizando óxido de titânio (TiO_2) (Amaravathy *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2013), óxido de zinco (ZnO) (Fielding *et al.*, 2019), alumina (Al_2O_3) (Siqueira *et al.*, 2017), e recentemente o pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) (Demirkol, Oktar e Kayali, 2014; Nascimento *et al.*, 2011). Este último óxido, é um material que vem chamando muita atenção devido as suas propriedades, como baixa densidade, ausência de toxicidade (Nascimento *et al.*, 2011), biocompatibilidade, além da alta resistência química e mecânica (Mestieri *et al.*, 2017; Nagarajan, Raman e Rajendran, 2010; Ramírez *et al.*, 2011).

Estudos realizados com o pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) evidenciaram sua capacidade bioativa (Fernandes *et al.*, 2012; Kushwaha *et al.*, 2012), elencando-o como um bom candidato para aplicações em revestimentos e reparo ósseo (Bergschmidt *et al.*, 2011; Leitune *et al.*, 2013), pois ele é capaz de promover um elevado grau de adesão e proliferação de osteoblastos³ (Pradhan *et al.*, 2016).

Para os fosfatos de cálcio, em especial para a Hap existem trabalhos que relatam a possibilidade de dopagem de sua estrutura utilizando íons de nióbio, cuja análises identificaram como sendo a espécie Nb^{5+} (Korzeniewski e Witkowska, 2019). Foi observado que a modificação da Hap com nióbio conduz a materiais que apresentam elevada viabilidade celular, frente a osteoblastos humanos (Capanema *et al.*, 2015), além de ação antibacteriana, anti-inflamatória e reduzir a hemólise (Saranya e Prema Rani, 2021).

Porém, mesmo apresentando propriedades importantes para aplicações em meio biológico, a utilização do nióbio em biomateriais ainda é bastante incomum, onde ainda há na literatura poucos relatos sobre as melhoras nas propriedades, principalmente para as características mecânicas, que ainda não foram amplamente estudadas (Simomukay *et al.*, 2016). Outro aspecto é que a caracterização estrutural dos materiais à base de nióbio em fosfatos de cálcio é ainda escassa. Neste sentido, na presente tese buscou-se obter diferentes biomateriais à base de fosfatos de cálcio com importância biológica modificados com nióbio através de dopagem ou formação de compósitos com triniobatos de potássio ou hexaniobato de potássio.

1.1. OBJETIVOS

1.1.1. Geral

Desenvolver materiais à base de fosfatos de cálcio modificados com nióbio e niobatos de potássio, afim de avaliar a capacidade antibacteriana dos materiais obtidos.

1.1.2. Específicos

- ✓ Sintetizar hidroxiapatitas dopadas com nióbio por co-precipitação partindo de diferentes precursores de nióbio e avaliar o efeito da composição na atividade anti microbiana frente à bactéria Gram positiva;
- ✓ Sintetizar β -fosfatos tricálcicos dopados com nióbio, por co-precipitação partindo de diferentes precursores de nióbio e em composições distintas;
- ✓ Sintetizar fluorapatitas dopados com nióbio, por co-precipitação e aplicá-las na adsorção de tetraciclina e uso posterior como agentes anti microbianos;
- ✓ Obter compósitos baseados em hidroxiapatitas com triniobatos de potássio ou hexaniobato de potássio em composições variadas e a partir de diferentes rotas de preparação
- ✓ Obter compósitos baseados em beta-fosfato tricálcico e triniobato de potássio ou com hexaniobato de potássio em composições variadas e a partir de diferentes rotas de preparação
- ✓ Caracterizar os diversos sistemas por técnicas estruturais e morfológicas.

Capítulo 2

Referencial teórico

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. BIOMATERIAIS

Biomateriais incluem diferentes classes de materiais sintéticos ou naturais aplicados para substituir partes de um sistema vivo ou para funcionar em contato com os tecidos, a fim de restaurar a perda ou falha de uma estrutura biológica, recuperando sua forma/função (Manzano e Vallet-Regí, 2012). Assim, os biomateriais possuem boa estabilidade em meio biológico, sem comprometer o ambiente biológico e não se degenerar no processo (Huang, Lee e Loo, 2014), devendo ainda ter uma interface livre de gerar toxicidade local ou sistêmica (Khan *et al.*, 2014). Segundo Hench (2013), existem quatro classes de biomateriais, conforme sumarizado na Tabela 2.1.

Tabela 2.1 Composição dos biomateriais

Tipo de materiais	Biomateriais
Polímeros	Polietileno, PMMA, poliéster, silicone, celulose, quitosana, quitina.
Metais e ligas	Aço inoxidável, liga de titânio, liga de cobalto e cromo.
Cerâmicas	Alumina, zircônia, dióxido de titânio, Pentóxido de nióbio , Hidroxiapatita, β -fosfato tricálcico.
Compósitos	Fibra de carbono, fosfato de cálcio-colágeno, fosfato de cálcio-quitosana.

Todos eles são extensamente utilizados, e representaram uma movimentação global estimada de 106,5 bilhões de dólares em 2019, incluindo todos os equipamentos de diagnóstico e terapêuticos, sendo a maior demanda para aplicações, cardiovasculares, odontológicas, oftalmológicas e ortopédicas. Sendo a área ortopédica, a área de biomateriais que vem mais crescendo, devido ao aumento da expectativa de vida, o que está diretamente relacionada que os aumento dos casos de osteoartrite, osteoporose e outros distúrbios musculoesqueléticos (Panebianco, Iatridis e Weiser, 2021).

O crescimento populacional tem como consequência uma demanda maior por produtos utilizados para a regeneração de tecidos, principalmente o ósseo. No caso

do Brasil, por exemplo, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) estima que a população com mais de 60 anos representará 32% da população em 2060, o que resultará numa maior demanda de biomateriais (BRASIL, 2020).

Dentre esses tipos de materiais, os cerâmicos são de interesse desta pesquisa, e é importante destacar que quando eles são utilizados para finalidades de substituição reparo de tecido ósseo, são denominados de biocerâmicas, e são classificadas mediante a resposta local que apresentam quando presentes em meio biológico, como pode ser observado na Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Classificação das biocerâmicas.

Tipo de biocerâmica	Interações com os tecidos	Reação Implante-Tecido	Exemplos
Bioinertes	Não há interações químicas	Formação de cápsula fibrosa	Zircônia, Alumina, nitreto de silício.
Bioativas	Ligação interfacial com o implante	Formação de apatita carbonatada	Hidroxiapatita, Fluorapatita, biovidro
Reabsorvíveis	Dissolução, degradado por macrófagos	Formação de uma nova camada óssea	Aluminatos de cálcio, β -TCP

As biocerâmicas são consideradas como materiais inorgânicos com estrutura cristalina voltadas para aplicações em reparação e reconstrução de tecidos doentes ou danificados. Elas são usadas há vários séculos, a exemplo do sulfato de cálcio, a qual há relatos de sua utilização desde o ano de 975 dC, a fim de auxiliar na recuperação de ossos danificados (Dorozhkin, 2013).

É importante ressaltar que não é apenas a composição da biocerâmica que lhe confere as propriedades desejadas para aplicações clínicas, mas sim um conjunto de características. A seguir, serão discutidos brevemente três fatores que podem influenciar nas características das biocerâmicas.

2.1.1. Biodegradação

A biodegradabilidade é um fator crucial para que as biocerâmicas sejam usadas como materiais de implante (Prakasam *et al.*, 2017). Alguns autores sugerem que a taxa de degradação adequada de uma biocerâmica utilizada clinicamente deve ser similar a cinética de crescimento do tecido ósseo, de modo a manter a estabilidade

mecânica do local (Brauer, 2015). A evolução da degradação pode ser estudada previamente *in vitro*, utilizando solução padronizadas, denominadas de fluido corporal simulado (SBF), solução salina tamponada fosfatada (PBS) e cloridrato de tris-aminometano (Tris-HCl), onde as taxas de degradação e o perfil de liberação de íons dependem principalmente das propriedades químicas e físico-químicas dos materiais (Jung *et al.*, 2018).

É importante salientar que mesmo em posse dos dados de degradação *in vitro*, não se pode supor que a degradação *in vivo* seguirá o mesmo perfil, pois ocorrem em sistema muito distintos, e por isso é difícil prever a degradação das biocerâmicas em sistemas *in vivo*.

2.1.2. Morfologia

Os tecidos que compõem o sistema biológico exibem uma grande variedade de topografias cujas dimensões podem variar de nanômetros até micrômetros (Pazhanimala, Vllasaliu e Raimi-Abraham, 2019). Desta forma, é preciso considerar que essas características podem influenciar diretamente no comportamento das células. De fato, muitas publicações versam sobre a importância que a topologia dos materiais exerce sobre o comportamento das células estaminais (Lane, Williams e Watt, 2014), podendo influenciar a adesão, migração e diferenciação; sugerindo que o controle deste parâmetro pode ser uma estratégia para controlar e guiar o comportamento celular (Natale, Ventre e Netti, 2014; Vandrovcova *et al.*, 2012), como foi observado por Edreira *et al* (2016) e Zhang *et al* (2017).

Contudo, mesmo sabendo que a topografia das biocerâmicas pode desempenhar um papel importante no comportamento celular, é preciso que mais estudos sejam desenvolvidos, de modo a identificar a topologia ideal para os mais diferentes tipos de aplicações, pois cada tipo de linhagem celular pode interagir de maneiras distintas com a superfície das biocerâmicas (Zhou, Wu e Chang, 2019).

2.1.3. Adsorção de proteínas

As biocerâmicas de fosfatos de cálcio apresentam cargas em suas superfícies, o que lhes confere uma significativa interação com biomoléculas, a exemplo das

proteínas (Kato, Lee e Nagata, 2020; Miyazaki, Masuda e Sakamoto, 2021), o que também já foi alvo de estudos teóricos (Huang *et al.*, 2018; Wang *et al.*, 2017; Zhao *et al.*, 2020).

Desta forma, quando as biocerâmicas são implantadas em um sistema vivo, as proteínas presentes nos fluidos corporais são rapidamente adsorvidas de forma espontânea em sua superfície (Lee, Loo e Rohanizadeh, 2014), mediando assim a adesão, proliferação, diferenciação, sinalização celular e uma respectiva regeneração tecidual (Huang, Lee e Loo, 2014; Peterson, Möhwald e Shchukin, 2012), desempenhando, portanto, um papel fundamental no desenvolvimento de biomateriais avançados para regeneração óssea.

Dentre os vários tipos de proteínas que podem ser inseridas na superfície dos fosfatos de cálcio, as proteínas morfogenéticas do osso BMP-2 e BMP-7, são as mais utilizadas, pois são capazes de induzir a transformação de células mesenquimais⁴ em tecido cartilaginoso ou ósseo (Brigaud *et al.*, 2017). Desta forma, a funcionalização de fosfatos de cálcio, possibilitam a diferenciação destas proteínas, a exemplo de Tasnim (2012), que verificaram que a BMP-7 ou a BMP-2 melhoram o desempenho funcional das células tubulares primárias renais humanas.

Já Migliorini *et al* (2016) constataram que essas proteínas podem interagir com os receptores celulares para induzir a diferenciação osteogênica das células do estroma da medula óssea; evidenciando assim a potencialidade dos biomateriais baseados em fosfatos de cálcio.

2.2. FOSFATOS DE CÁLCIO

Os fosfatos de cálcio são minerais pertencentes à classe dos fosfatos, que podem ter em sua composição, ânions como o orto (PO_4^{3-}), meta (PO_3^-), pirofosfato ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$), além de hidrogênio que pode ser encontrado como constituinte e dos íons de cálcio, dando origem a uma extensa família de materiais. Estes compostos são conhecidos há vários anos e se destacaram devido a sua notável adaptabilidade químico-estrutural (Morgan *et al.*, 2000; White *et al.*, 2010), podendo formar uma solução sólida com vários elementos da tabela periódica (Hughes, 2015).

4 Células com propriedade de auto renovação e capacidade de diferenciação

Os fosfatos de cálcio são materiais cerâmicos de origem natural ou sintética, e abrangem uma ampla família de compostos, sendo alguns deles aplicados como biomateriais. Uma classificação desses fosfatos em função da razão Ca/P está apresentada na Tabela 2.3.

Tabela 2.3. Classificação dos fosfatos de cálcio segundo a razão Ca/P e solubilidade em água. Fonte: (Dorozhkin, 2013)

Material	Fórmula química	Razão Ca/P	Solubilidade (25°C, g.L⁻¹)	Grupo espacial
Fosfato Monocálcico Monohidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	~18	Triclínico
Fosfato Monocálcico Anidro (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	~17	Triclínico
Fosfato Dicálcico Dihidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	~0,088	Monoclínico
Fosfato Dicálcico Anidro (DCPA)	CaHPO_4	1,0	~0,048	Triclínico
Fosfato de Cálcico Amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,2-2,2	-	-
Fosfato Octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	~0,0081	Triclínico
α-Fosfato Tricálcico (α-TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0025	Monoclínico
β-Fosfato Tricálcico (β-TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0005	Romboédrica
Hidroxiapatita (Hap)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	~0,0003	Hexagonal
Fluorapatita (Fap)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	1,67	~0,0002	Hexagonal
Fosfato Tetracálcico (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	~0,0007	Monoclínico

A razão em mol entre os elementos cálcio e fósforo (Ca/P) nos fosfatos de cálcio influencia diretamente na solubilidade do material, conforme os dados na Tabela 2.3. Desta forma, a solubilidade é um fator crucial para determinar o tipo de aplicação, a

exemplo do MCPM e do MCPA que são pouco explorados na área de biomateriais pois são muitos solúveis (Best *et al.*, 2008). Já os materiais menos solúveis são bastante explorados nesta área, como a α -TCP que é extensamente utilizado como cimento ósseo, o β -TCP para preenchimentos de defeitos e a Hap para recobrimentos.

Os fosfatos de cálcio são altamente biocompatíveis; característica que foi explorada por (Albee, 1920) quando relataram as primeiras aplicações dos fosfatos de cálcio. Os autores observaram que os fosfatos de cálcio circundados por fluidos biológicos são dissolvidos e permitem a liberação dos íons cálcio e fosfato para o meio podendo promover um processo de mineralização óssea (Eppele *et al.*, 2010).

Desde então, os fosfatos de cálcio exibiram várias propriedades interessantes para a área biotecnológica (Guo *et al.*, 2013), sendo amplamente utilizados na área médica e odontológica, para as mais diversas aplicações, como no reparo de defeitos ósseos, aumento de rebordo alveolar, coadjuvante na colocação de implantes metálicos, regeneração guiada de tecidos ósseos, reconstrução buco-maxilo-facial, equipamentos percutâneos, reparo e substituição de paredes orbitais (Morgan *et al.*, 2000).

2.3. HIDROXIAPATITA - Hap

A Hap, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, é um fosfato de cálcio com razão estequiométrica de Ca/P igual a 1,67, que devido as características de sua estrutura cristalina, possibilita a interação com outras espécies químicas, incluindo moléculas biologicamente ativas, destacando-se como um potencial veículo para a distribuição de agentes terapêuticos (Ginebra *et al.*, 2012; Kleiner, Wright e Wang, 2014).

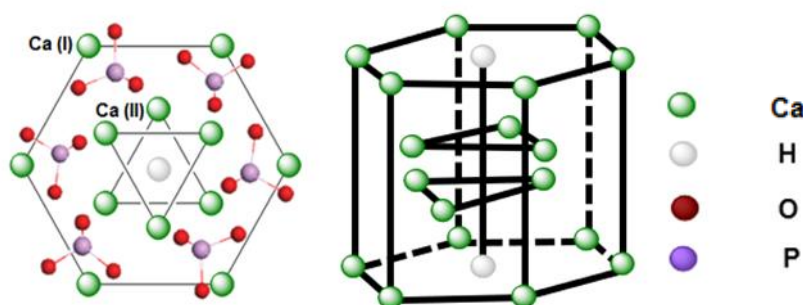
A Hap também é utilizada como sensores para gases (Huixia *et al.*, 2015), sistemas de liberação controlada de fármacos (Rivas *et al.*, 2018), catalisadores (Usami e Okamoto, 2017), suportes cromatográficos (Sugo e Okuyama, 2018) e ainda na adsorção de contaminantes incluindo corantes (Bensalah *et al.*, 2020) metais tóxicos (Ivanets *et al.*, 2019) e fármacos (Oliveira *et al.*, 2021b).

2.3.1. Estrutura da Hap

A Hap ocorre em duas formas cristalinas, uma monoclínica e outra hexagonal. A estrutura monoclínica (grupo espacial $P21/b$), apresenta parâmetros de rede $a = 0,9421$ nm, $b = 2a$ e $c = 0,6881$ nm (Hughes, 1996), sendo uma fase termodinamicamente instável (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010).

Já a estrutura hexagonal (grupo espacial $P63/m$) tem parâmetros de rede com $a = 0,9418$ nm e $c = 0,6881$ nm. Na estrutura hexagonal há 10 íons cálcio, que são coordenados de duas formas distintas, originando então 2 sítios não equivalentes, sendo quatro átomos pertencentes ao sítio I (Ca I) e seis átomos ao sítio II (Ca II) (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010). Os íons de cálcio presentes no sítio I estão coordenados a 9 átomos de oxigênio pertencentes aos grupos fosfatos (PO_4^{3-}), onde 6 deles estão alinhados em colunas paralelas ao eixo c , formando um canal com um diâmetro de $2,5$ Å (Fihri *et al.*, 2017) e três que estão posicionados em colunas paralelas aos canais de hidroxilas (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010). Uma ilustração da estrutura é apresentada na Figura 2.1.

Figura 2.1 Fase hexagonal da Hap.



Os íons cálcio do sítio II (Ca II) são coordenados por 7 oxigênios, formando um antiprisma trigonal monocapa, sendo 6 deles pertencentes aos grupos fosfatos (PO_4^{3-}) e um deles a hidroxila (OH^-). Os oxigênios do grupo fosfato estão dispostos na estrutura como poliedros não piramidais, de bases triangulares perpendiculares ao eixo c , onde cada um deles está rotacionado a 60° em relação ao poliedro posterior (Terra *et al.*, 2009), simulando a formação de um segundo canal com um diâmetro de $3\text{--}4,5$ Å, perpendicular ao eixo c (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010; Hughes, 1996), abrigando em seu centro a hidroxila, que apresenta uma elevada mobilidade (Leeuw, De, 2010).

Devido à existência de dois sítios distintos de cálcio, o material pode ter suas propriedades estruturais modificadas dependendo do local ocupado pelo cátion dopante (Heimann, 2013). Segundo alguns autores, foi possível concluir através de simulações computacionais que, o sítio preferencial para a substituições catiônicas pode variar dependendo da proporção de dopante adicionada. Para concentrações de até 1%, nota-se uma tendência para a substituição ocorrer no Ca(I), e conforme há uma elevação na concentração, há um aumento na tendência da ocupação ocorrer no Ca(II) (Ma e Ellis, 2008; Matos, Terra e Ellis, 2010; Terra *et al.*, 2009). No entanto, esse aspecto ainda não é de consenso na literatura, pois depende do íon que é inserido na estrutura da Hap (Oliveira *et al.*, 2021).

2.4. DEFEITOS

As estruturas cristalinas são definidas como cristais “perfeitos” que possuem uma forma regular e repetitiva, cujos átomos estão dispostos ordenadamente à longo alcance formando uma estrutura tridimensional, descritos rigorosamente pelas redes de Bravais (Seitz e Turnbull, 2009). Contudo, nas estruturas cristalinas ocorrem imperfeições e defeitos, alterando as suas propriedades físicas e mecânica (William D. Callister e Rethwisch, 2013).

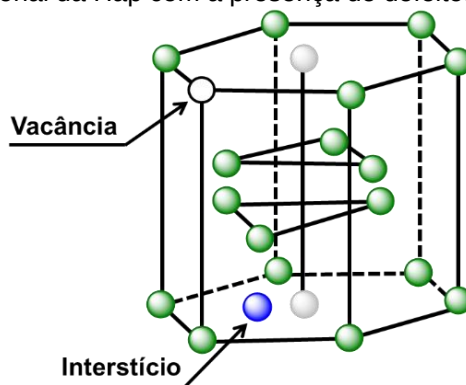
Estruturalmente, o defeito presente em um sólido é considerado como uma imperfeição na periodicidade da rede, ou decorrente da presença de átomos ou íons não contemplados na estrutura original do material (Seitz e Turnbull, 2009). A classificação de imperfeições cristalinas é feita frequentemente de acordo com a geometria ou dimensionalidade do defeito, e podem ser escritas em dois tipos básicos: defeitos pontuais e defeitos extensos. Neste trabalho daremos ênfase aos defeitos pontuais, que são causados em uma pequena região do cristal ou em pontos isolados da estrutura, sendo classificado como: defeitos intrínsecos e defeitos extrínsecos.

2.4.1. Defeitos Intrínsecos

Os defeitos intrínsecos envolvem apenas os átomos ou íons que constituem a rede do cristal, podendo ser uma vacância ou interstício (Figura 2.2). As vacâncias

são caracterizadas pela ausência de uma espécie em sua posição original da rede. Esse tipo de defeito pode ocorrer durante o processo de cristalização, como consequência das perturbações locais durante a nucleação e crescimento de um cristal. Outra causa importante dessa imperfeição é o rearranjo atômico de um cristal já existente, devido à mobilidade de seus átomos (William D. Callister e Rethwisch, 2013).

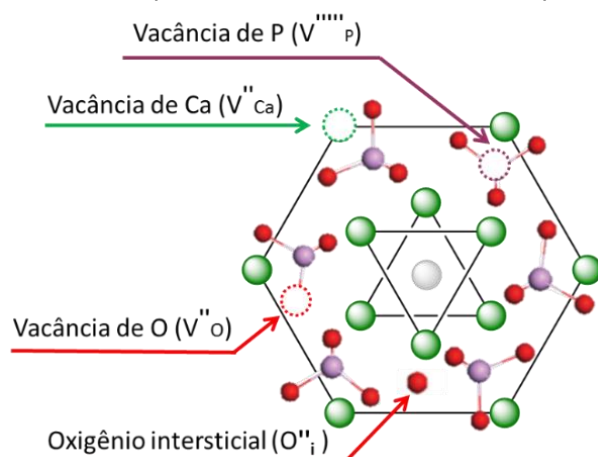
Figura 2.2 Conformação hexagonal da Hap com a presença de defeitos



Já os interstícios se dão pela ocupação de uma região intersticial onde normalmente não haveria nenhuma espécie, promovendo uma deformação na rede, de forma que haja uma expansão local para acomodar o novo átomo na rede. Contudo, como os locais intersticiais na maioria dos sólidos cristalinos são pequenos, este tipo de defeito possui uma elevada energia e são relativamente incomuns (William D. Callister e Rethwisch, 2013). Em contrapartida, as vacâncias estão presentes em uma quantidade mais significativa, e sua presença ocasiona uma contração local na rede, a fim de compensar a falta do átomo/íon.

Na Figura 2.3, pode-se observar a existência dos defeitos pontuais, vacâncias de Cálcio (V''_{Ca}), vacâncias de Fósforo (V''''_P), vacâncias de oxigênio (V''_O) e oxigênio intersticial (O''_i) presentes na estrutura da Hap (Matsunaga, 2010).

Figura 2.3 Defeitos pontuais na estrutura da hidroxiapatita



2.4.2. Defeitos extrínsecos

Esses defeitos são caracterizados pela inserção de íons, denominados de dopantes ou impurezas, na estrutura cristalina do material, causando imperfeições na periodicidade da rede. A partir da semelhança química que o dopante apresenta com os íons do material, o mesmo pode ser acomodado em regiões distintas na sua estrutura resultando na ocupação por substituição ou intersticial (Shackelford, 2015).

A ocupação de um sítio substitucional preferencialmente ocorre quanto maior for à semelhança dos raios iônicos do dopante com o sítio ocupado por ele, reduzindo a distorção causada na estrutura cristalina, resultando numa menor energia. De forma análoga, a carga do íon dopante também influencia diretamente na estrutura do material, pois dependendo do valor, haverá a existência de outros defeitos, a fim de manter a neutralidade elétrica do sistema.

Os íons que possuem a mesma carga do íon da matriz, são denominados de isovalentes, já para os íons que possuem cargas elétricas distintas são chamados de aliovalentes (Shackelford, 2015). Nesse tipo de substituição, há ainda o surgimento de uma peculiaridade, pois, como o sólido acomoda o excesso ou deficiência de cargas, faz-se necessário a existência de mecanismos de compensação de cargas, a fim de manter a neutralidade elétrica do sistema (William D. Callister e Rethwisch, 2013).

Para os defeitos intersticiais, as espécies dopantes preenchem os espaços vazios ou interstícios que existem entre os átomos da estrutura cristalina. Para este

tipo de defeito o raio iônico da impureza deve ser substancialmente menor do que o diâmetro dos átomos da rede. Normalmente, a concentração máxima permissível para os átomos do dopante intersticial é baixa, sendo normalmente inferior a 15% (William D. Callister e Rethwisch, 2013). Mesmo os átomos com raios iônicos pequenos são geralmente maiores do que os sítios intersticiais, causando deformações na rede cristalina do material, que a depender da magnitude da modificação, pode ser observada a partir do difratograma de raios X, Espectroscopia de infravermelho, Espectroscopia Raman, entre outras técnicas.

2.5. Síntese da Hap

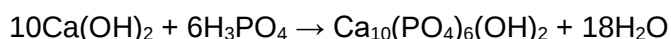
Várias rotas de síntese da Hap estão descritas na literatura, as quais são geralmente classificadas em métodos úmidos e secos; com peculiaridades e formação de materiais com variadas morfologias, tamanhos, grau de pureza e composição. Devido à versatilidade das rotas de síntese, pode-se escolher a metodologia mais indicada para a obtenção do material com as propriedades desejadas, a fim de se obter melhores resultados.

2.5.1. Métodos úmidos

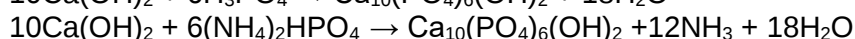
2.5.1.1. Co-precipitação

O método de síntese de Hap por co-precipitação na reação entre os íons constituintes presentes em uma solução originando o fosfato insolúvel que pode ser separado do meio reacional por filtração ou centrifugação. A reação de co-precipitação para síntese da Hap depende de ajuste de parâmetros incluindo o pH que deve ser alcalino, razão Ca/P, controle de atmosfera, temperatura de síntese, envelhecimento e agitação (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a).

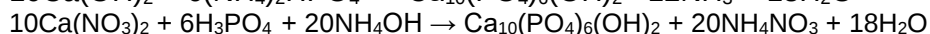
As reações para a obtenção da Hap envolvendo diferentes precursores estão listadas nas equações 2.1 a 2.7:



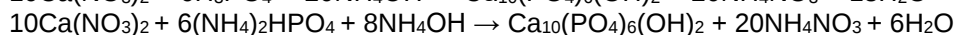
Equação 2.1



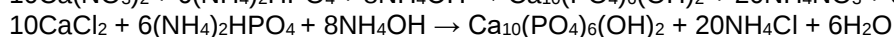
Equação 2.2



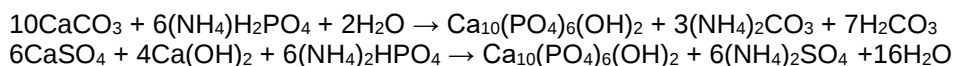
Equação 2.3



Equação 2.4



Equação 2.5



Equação 2.6

Equação 2.7

O método de síntese de Hap por co-precipitação apresenta algumas vantagens frente a outros, pois as características do material podem ser ajustadas através da modificação dos parâmetros reacionais, como concentração de reagentes, taxa de adição, pH e temperatura (Lee *et al.*, 2012; Okada e Furuzono, 2012). Outro parâmetro que pode ser ajustado neste método, é a composição da atmosfera reacional, pois a ausência deste controle, favorece a incorporação de carbonato na estrutura, dando origem a um material carbonatado, mediante a substituição dos íons fosfatos e/ou das hidroxilas.

A utilização desta metodologia conduz a obtenção de um material com baixa cristalinidade e uma diversidade de morfologias (agulhas, placas, bastões, hastes, esferas) e tamanhos de partículas variando de 5–700 nm (Sadat-Shojai *et al.* 2013).

2.5.1.2. Solvothermal

A síntese solvothermal envolve a reação em água ou em meio não aquoso em um ambiente com temperatura e pressão elevadas, dentro de uma autoclave ou um vaso reacional fechado (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a).

Utilizando esse método, a Hap obtida é geralmente estequiométrica e altamente cristalina, como foi relatado por diferentes autores (Ma, 2019). Assim como alterações de morfologia como Hap em fibras, esferas, bastões ou placas com tamanhos variando de 10 a 150 nm, em a temperatura e o pH são fatores experimentais determinantes (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a). Ainda segundo alguns autores, a pureza e a relação Ca/P podem melhorar significativamente com o aumento do tempo reacional (Tsiourvas *et al.*, 2011; Xu, Chen e Zhang, 2011; Zhang *et al.*, 2011).

Na síntese hidrotermal, uma atenção especial deve ser dada ao controle do pH, pois a diversidade de morfologias é fortemente dependente deste parâmetro. Para valores mais ácidos, próximos de 4, os cristalitos crescem de forma rápida e interligada, originando a formação de fibras tridimensionais, com a presença de outras fases (DCPA, DCPD e OCP). Para meios levemente ácidos, há um crescimento bidimensional gerando a formação de placas. Enquanto, em valores de pH elevados,

é observado um crescimento lento das partículas originando pequenas esferas ou bastões curtos (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a).

2.5.1.3. Sol-gel

O processo sol-gel é um método de mineralização a partir de alcóxidos, utilizados em uma fase aquosa ou orgânica, seguida da maturação, gelificação, secagem e calcinação (Montazeri, Jahandideh e Biazar, 2011). A utilização desta metodologia possibilita a mistura de reagentes em nível molecular, melhorando a homogeneidade química do material obtido (Montero, Sáenz e Castaño, 2009; Padmanabhan *et al.*, 2009), quando se compara com outras rotas de obtenção da Hap (Owens *et al.*, 2016).

O material obtido por esse método, geralmente, exibe uma estrutura estequiométrica com uma grande área superficial e tamanho de partícula variando de 1 μm e 50 nm dependendo do controle dos parâmetros reacionais (Ruban Kumar e Kalainathan, 2010). Contudo, é importante ressaltar que a ausência deste controle, pode proporcionar o surgimento de fase secundária, geralmente associada a presença de óxido de cálcio, o que a depender da aplicação pode ser algo prejudicial, pois leva a uma redução na biocompatibilidade (Eshtiagh-Hosseini, Housaindokht e Chahkandi, 2007).

2.5.1.4. Sonoquímica

A síntese da Hap via metodologia sonoquímica ocorre devido ao efeito da cavitação acústica, que promove o aquecimento local intenso, altas pressões e taxas de resfriamento extremamente rápidas (Pokhrel, Vabbina e Pala, 2016), favorecendo cineticamente as reações heterogêneas, dando origem a um produto nanométrico com cristais uniformes, menores, mais puros e com uma mínima taxa de aglomeração (Giardina e Fanovich, 2010). Devido ao reduzido tamanho de partículas há um aumento significativo da cinética de sinterização, decorrente da maior área superficial, e respectiva melhora em suas propriedades mecânica (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a).

Segundo Utara (2015), esta metodologia requer um fino ajuste de alguns parâmetros, a irradiação e o pH do meio, pois influenciam na formação das partículas da Hap.

2.5.2. Métodos secos

2.5.2.1. Combustão

O método de combustão envolve o uso de reações exotérmicas para produzir uma variedade de pós-cerâmicos, sendo considerado um método promissor para a preparação de nanocristais (Aghayan e Rodríguez, 2012; Sasikumar e Vijayaraghavan, 2008). O princípio desta técnica advém dos conceitos termoquímicos utilizados no campo da química de propelentes e explosivos. As principais características desta rota é a possibilidade de obtenção de pós com alta pureza em uma única etapa de operação e utilização de reagentes de baixo custo (Ghosh *et al.*, 2011).

Assim como outros produtos, a obtenção da Hap envolve uma reação redox exotérmica muito rápida entre espécies oxidantes e um combustível orgânico adequado (Batista *et al.*, 2020; Canillas *et al.*, 2017), que quando misturados e expostos a uma fonte térmica, o combustível é inflamado liberando energia térmica, o que resulta em uma reação que se auto propaga e garante assim a cristalização. Após o processo de combustão, há um resfriamento rápido da mistura, induzindo a nucleação máxima e evitando qualquer crescimento adicional das partículas. O produto resultante deste sistema é, geralmente, um aglomerado de partículas muito finas variando de 20 nm a 120 nm (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a)

2.5.2.2. Mecanoquímica

A síntese mecanoquímica é caracterizada pela utilização da energia cinética, produzida através da moagem dos reagentes, que promove a ocorrência de modificações químicas e estruturais, através da quebra e formação de ligações, decorrentes da alta pressão e aumento da temperatura, o que contribui para uma melhor interação molecular entre os reagentes (Mateti *et al.*, 2021).

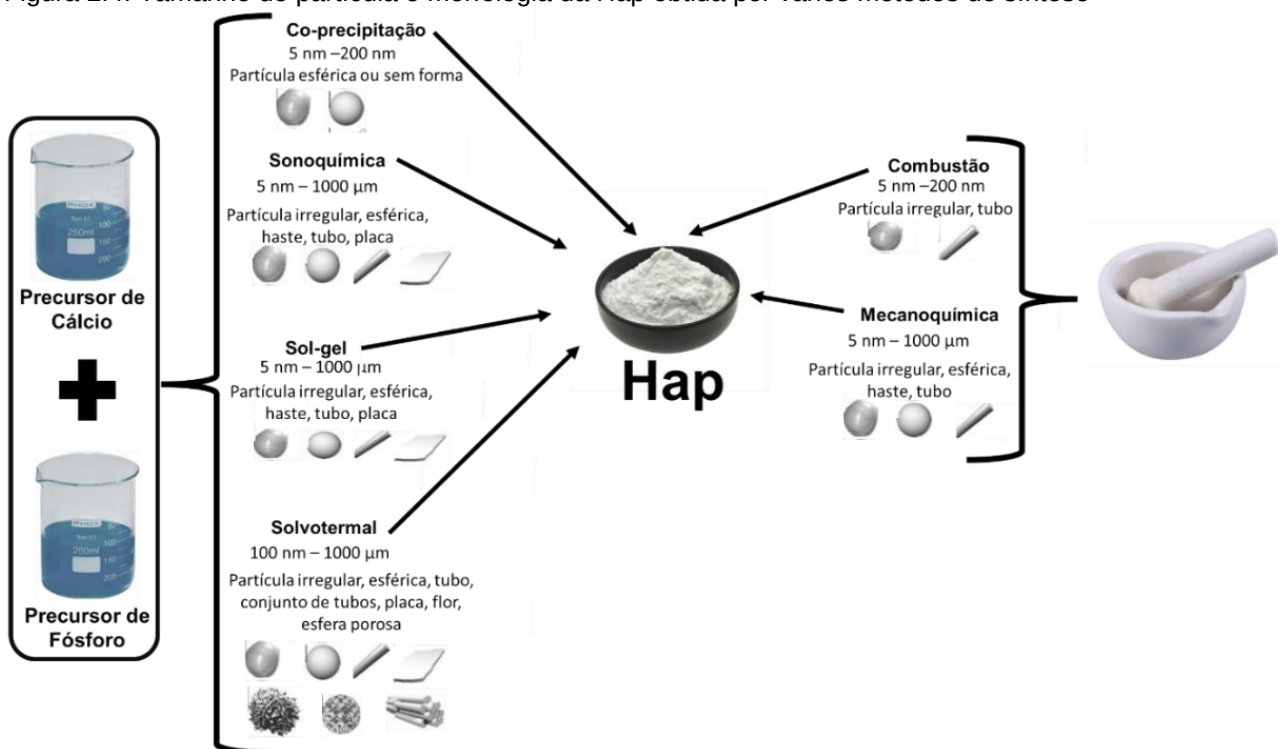
Esta metodologia é empregada geralmente sem a utilização de solvente, podendo ser executada manualmente com uso de almofariz e o pistilo (Takacs, 2013). É considerado como uma metodologia simples para a obtenção de vários materiais, possibilitando o aumento da homogeneidade e do tamanho de partícula.

As rotas de sínteses descritas anteriormente e seus aspectos favoráveis e desfavoráveis, além do tamanho de partícula e morfologia estão sumarizadas na Tabela 4, e Figura 2.4.

Tabela 2.4. Comparação das rotas de obtenção da Hap

Método	Pontos positivos	Pontos negativos
Co-precipitação	Ampla controle dos parâmetros da síntese	Longo tempo reacional
Hidrotermal	Alta cristalinidade, produto estequiométrico	Elevado custo, ausência de controle dos parâmetros de síntese
Sol-gel	Produto estequiométrico, elevada área superficial	Presença de fase secundária
Sonoquímica	Produto manométrico, alta cristalinidade	Transmissão de pouca energia
Combustão	Baixo custo, alta cristalinidade	Ausência de controle dos parâmetros de síntese
Mecanoquímica	Baixo custo	Presença de fase secundária

Figura 2.4. Tamanho de partícula e morfologia da Hap obtida por vários métodos de síntese



2.6. REAÇÕES DE SUBSTITUIÇÃO EM Hap

A estrutura da Hap permite a ocorrência de substituições iônicas em todos os seus grupos constituintes (Ca^{2+} , PO_4^{3-} e OH^-), e na ocorrência de uma substituição, tal ação afeta várias características do material em questão, como os parâmetros de rede, morfologia, cristalinidade, solubilidade, estabilidade térmica, dentre outros. As trocas catiônicas podem ocorrer com íons mono (Na^+ , K^+) (Chen, G. *et al.*, 2017; YOKOTA, HONDA e AIZAWA, 2017), di (Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Sr^{2+} , Co^{2+} ou Fe^{2+}) (Ma *et al.*, 2020; Mariappan *et al.*, 2017), tri (Eu^{3+} , Y^{3+} , Tb^{3+} , Gd^{3+} , Dy^{3+}) (Ignjatović *et al.*, 2019), tetra (Ti^{4+} ,) (Piccirillo e L. Castro, 2017) ou mesmo pentavalentes (Nb^{5+}) (Capanema *et al.*, 2015).

De forma análoga, as substituições aniônicas também podem ocorrer com várias espécies. Para a hidroxila, as substituições mais comuns é a troca pelo cloreto (Cl^-) ou fluoreto (F^-), originando assim a clorapatita e a fluorapatita, respectivamente. Para o sítio do fosfato também há diversas substituições possíveis, dentre elas a troca pelo arseniato (AsO_4^{3-}) e vanadato (VO_4^{3-}), silicato (SiO_4^{2-}) ou carbonato (CO_3^{2-}) (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010). Dentre estas possibilidades de substituições, esta última pode ocorrer em ambos os sítios aniônicos, seja ela na hidroxila ou fosfato, originando assim a carbonapatita do tipo A ou do tipo B, respectivamente, além da possibilidade de ocupação dos dois sítios de forma simultânea, como foi demonstrado (Landi *et al.*, 2010; Zyman e Tkachenko, 2011).

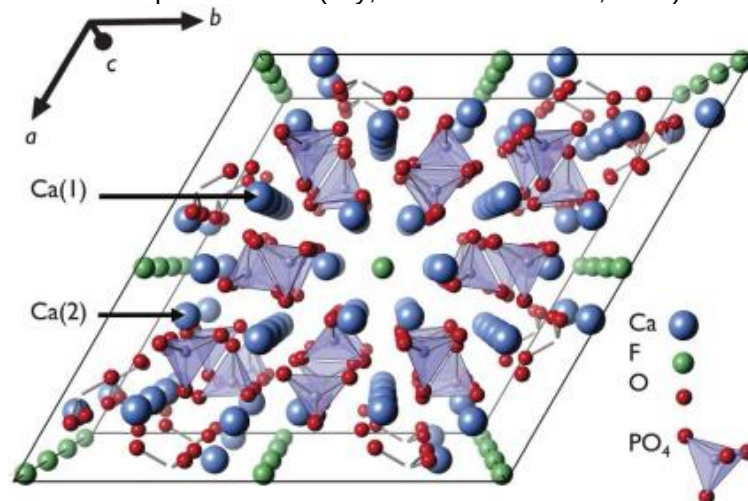
Como foi mencionado anteriormente, cada modificação realizada na estrutura do material, ocasiona modificações em suas propriedades, a exemplo do espectro de absorção no infravermelho, pois as substituições do Tipo A apresentam absorções na região de ~ 1540 , e $\sim 880 \text{ cm}^{-1}$, já as substituições do Tipo B apresentam absorções em ~ 1455 , ~ 1413 e $\sim 874 \text{ cm}^{-1}$ (Benataya *et al.*, 2020). É importante destacar que a Hap estequiométrica ($\text{Ca/P} = 1,67$), não é adequada para aplicações que visam substituições ósseas, pois é dificilmente degradada no ambiente biológico, permanecendo por um longo tempo, sendo então suscetível a falhas de longo prazo.

Desta forma, a obtenção das hidroxiapatitas carbonatadas, por vezes, é escolhida, uma vez que apresenta propriedades promissoras para aplicações em enxertos e suportes ósseos, devido a sua semelhança química com a apatita biológica (Lala *et al.*, 2013).

2.7. FLUORAPATITA

A Fap, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ (Figura 2.5), semelhante à Hap possui uma razão estequiométrica Ca/P igual a 1,67 e é um fosfato de cálcio pertencente à família das apatitas. A estrutura hexagonal (grupo espacial P63/m) possui os parâmetros cristalográficos: $a = 9,368 \text{ \AA}$, e $c = 6,884 \text{ \AA}$ (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010). Devido a presença dos íons de flúor, há uma redução nos parâmetros de rede a e b , em comparação as outras apatitas, o que proporciona uma redução da energia do cristal, resultando em uma estrutura mais estável, e quimicamente mais resistente a ataques ácidos, reduzindo significativamente sua solubilidade (Sadat-Shojai *et al.*, 2013a).

Figura 2.5. Estrutura da fluorapatita . Fonte (Jay, Rushton e Grimes, 2012)



As aplicações da Fap abrangem a área médica, e principalmente a odontológica, mas também é utilizada na catálise (Gangu *et al.*, 2016; Gruselle, 2015), liberação controlada de fármacos (Bozari e Eavani, 2021; Zeng *et al.*, 2017), na adsorção de metais pesados (Billah *et al.*, 2021) e de corantes (Nasr *et al.*, 2021).

A Fap apresenta biocompatibilidade e elevada capacidade bioativa, além da capacidade de liberar íons fluoretos para o ambiente, o que é uma característica benéfica, pois foi evidenciado que este íon é capaz de acelerar a cristalização do fosfato de cálcio, bem como a mineralização óssea (Kleerekoper, 1996). Há também evidências de que quando utilizado no tratamento da osteoporose, o F^- pode estimular

diretamente a formação óssea no local, aumentando assim sua densidade (Yao e LeGeros, 2010).

Também já foi relatado que a liberação de íons fluoreto de substitutos ósseos aumentou consideravelmente a proliferação e diferenciação de células osteoprogenitoras *in vitro* (Gentleman *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2015), além de possibilitar um ligeiro aumento na atividade da fosfatase alcalina (ALP), um importante marcador para o crescimento ósseo (Borkowski *et al.*, 2020).

A devido a sua ação, a liberação de flúor é uma das principais estratégias utilizadas na odontologia para o tratamento de cáries. O esmalte presente nos dentes, possui em sua composição hidroxiapatita carbonatada, que geralmente apresenta uma significativa solubilidade em pH bucal, principalmente devido aos hábitos alimentares, e uma má higienização bucal. Como a estrutura da Hap é susceptível trocas aniônicas, realiza-se a substituição das OH^- por F^- , essa troca tem importância clínica, pois a fluorapatita é menos solúvel que a hidroxiapatita, o que confere a ela uma maior resistência ao ataque ácido produzido por microorganismos cariogênicos (Chen e Wang, 2010)

Mansoorianfar *et al.* (2020), igualmente concluíram que a substituição das hidroxilas por fluoretos é responsável pela menor solubilidade do material, pois o flúor transforma gradativamente a hidroxiapatita carbonatada em fluorapatita, aumentando sua densidade (Pajor, Pajchel e Kolmas, 2019), alterando a dinâmica do processo de desmineralização/remineralização (Chen *et al.*, 2006).

2.7.1. Síntese

Assim como a Hap, a fluorapatita também pode ser obtida por métodos secos e úmidos, e cada uma destas metodologias de síntese conduz a materiais com diferentes morfologias e tamanhos de partículas. A exemplo de Mofrad *et al.* (2018), que utilizaram a rota mecanoquímica e obtiveram a Fap após 48 h de processamento de uma mistura de CaO , P_2O_5 e CaF_2 em um moinho de bolas. O processo foi realizado utilizando uma velocidade de rotação de ~ 260 rpm, e conduziu a um material pouco cristalino, formado por pequenas partículas aglomeradas, de formato semicirculares, medindo de 20 a 40 nm.

Bulina *et al* (2020), utilizaram como precursores $\text{CaHPO}_4 + \text{CaO} + \text{CaF}_2$ e propuseram uma nova abordagem para essa rota de síntese. Tal abordagem consistia no grande aumento da velocidade de rotação de 1800 rpm por 30 minutos. Ao final do processo, foi obtido um material monofásico, cristalino e com partículas de ~ 25 nm.

Dahlan *et al* (2020), realizaram a síntese da Fap por via sonoquímica utilizando $\text{CaO} + \text{H}_3\text{PO}_4 + \text{NH}_4\text{F}$, utilizando uma potência de 200 W por 30 minutos, conduziu a formação de pequenas partículas aglomeradas, medindo de 68-117 nm. Pela rota hidrotérmica, Taheri *et al* (2015) utilizaram Hap comercial + $\text{HNO}_3 + \text{NaF}$ a 70°C e 1 atm, o que levou a obtenção de um material cristalino, formado por bastões medindo ~ 170 nm de comprimento e 27 nm de largura.

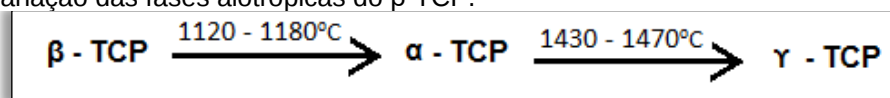
Pela rota sol-gel, Manafi *et al* (2020) utilizaram $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} + (\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_3\text{PO} + \text{NH}_4\text{F}$, resultando na obtenção de um material monofásico e cristalino, composto por pequenas partículas nanométricas aglomeradas, com tamanho variando de 23-30 nm.

2.8. β -Fosfato tricálcico ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)

O β -TCP ($\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) é uma biocerâmica polimórfica que também possui uma composição química semelhante ao tecido ósseo natural (Smith *et al.*, 2017). Além disso, apresenta características similares aos compostos pertencentes a família dos fosfatos de cálcio, como osteocondutividade, bioatividade e biodegradabilidade, e por esta razão, ele é extensamente utilizado no reparo de defeitos ósseos (Hoover *et al.*, 2017; Park *et al.*, 2017), o que lhe confere um lugar de destaque em aplicações na área médica (Yang *et al.*, 2014).

O β -TCP apresenta 3 formas alotrópicas (α , β e γ), que podem variar a partir das temperaturas de transição, que vão de aproximadamente 1120 à 1470°C (Figura 2.6) (Guastaldi e Aparecida, 2010). Contudo, apesar da possibilidade de formação destas fases, apenas as fases α e β são exploradas como biomateriais (Al-Sanabani, Madfa e Al-Sanabani, 2013), pois a fase γ só é formada em temperaturas acima de 1430°C , porém, é convertida quase instantaneamente para a fase α no momento do resfriamento, quando atinge a temperatura de transição.

Figura 2.6. Variação das fases alotrópicas do β -TCP.



Vale destacar que as aplicações biomédicas utilizando o α -TCP não tem sido muito abrangente, restringindo-se, principalmente, à área de cimentos ósseos, devido à solubilidade (Douglas *et al.*, 2018; Roozbahani *et al.*, 2017), podendo dificultar a formação óssea.

Dentre as 3 formas alotrópicas, o β -TCP é o material que possui a melhor relação degradação/absorção, apresentando-se como um ótimo candidato para aplicações que envolvem o crescimento e manutenção de um novo tecido ósseo, facilitando o processo de osteocondução (Bernstein *et al.*, 2013; Böhner, Santoni e Döbelin, 2020). Ainda segundo Chappard *et al.* (2010), este material é reabsorvível num prazo de 6 a 9 meses, após a implantação, conforme demonstrado em estudos histológicos em animais e humanos.

A utilização do β -TCP tem sido relatada em vários estudos médicos e odontólogos, tanto em experimentação animal (Xu *et al.*, 2017) como clínica (Hernigou *et al.*, 2017). Assim como a Hap, este material também apresenta interação com outras espécies químicas, e devido a essa característica, o β -TCP é aplicado como carreador de medicamentos, como sinvastatina (Cruz *et al.*, 2020), gentamicina, vancomicina (Jiang *et al.*, 2021) e tetraciclina (Luginbuehl *et al.*, 2010) e também fatores de crescimento como o péptido modular (mVEGF), e a proteína morfogenética óssea 2 (mBMP-2) (Lee *et al.*, 2021).

No âmbito odontólogo, suas aplicações são relativamente limitadas devido a sua solubilidade, e geralmente se restringe a tratamentos periodontais, de fissuras palatinas e preenchimento de defeitos ósseos (Araújo, Liljenberg e Lindhe, 2010; Marukawa *et al.*, 2011). Na ortopedia, o β -TCP pode ser utilizado no reparo de vários segmentos ósseos, como fêmur (Wang *et al.*, 2013); calota craniana (Bothe *et al.*, 2018), fíbula, falange, acetábulo (Tanaka *et al.*, 2017), dentre outros; evidenciando assim a versatilidade de aplicações.

2.8.1. Estrutura

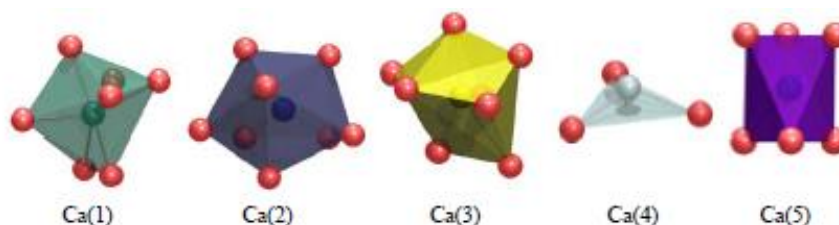
O β -TCP apresenta-se no sistema romboédrica (grupo espacial R3c, Z = 21) com parâmetros de célula unitária ($a = b = 10,35 \text{ \AA}$, $c = 37,63 \text{ \AA}$, $\alpha = \beta = 90^\circ$ e $\gamma = 120^\circ$). A grande célula unitária do β -TCP contém 21 unidades do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ totalizando 273 átomos. A estrutura apresenta ainda cinco formas distintas de coordenação para os

íons Ca^{2+} , originando então 5 sítios não equivalentes, sendo estes o sítio I (Ca I), sítio II (Ca II), sítio III (Ca III), sítio IV (Ca IV) e sítio V (Ca V), e três átomos de fósforo, denominados de P(I), P(II) e P(III) (Bohner, Santoni e Döbelin, 2020).

O Ca (I) é coordenado a 7 oxigênios, o Ca (II) e o Ca (III) por 8, e nenhum deles possui elemento de simetria. O Ca (IV) está coordenado por 3 oxigênios, formando um tetraedro achatado ao longo do eixo c (Choi e Kumta, 2007; Yashima *et al.*, 2003). O Ca (V) é coordenado por 6 oxigênios, possuindo uma simetria octaédrica (Jay *et al.*, 2011).

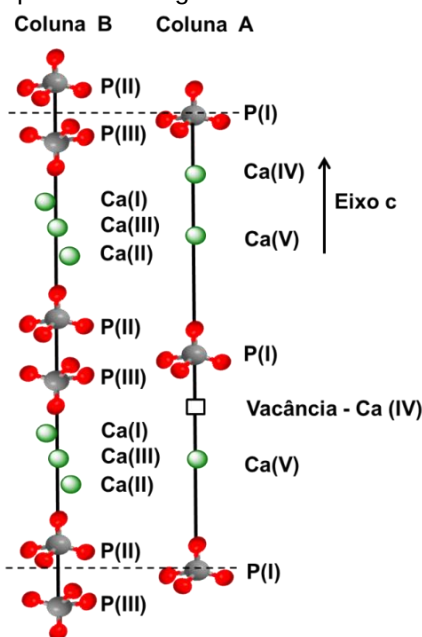
A estrutura cristalina do β -TCP pode ser descrita pela existência de duas colunas (A e B), com cristalografias distintas e independentes ao longo do eixo c. A coluna A que está no centro do eixo de rotação, e é composta por $-\text{P(I)}\text{O}_4-\text{Ca(IV)}\text{O}_3-\text{Ca(V)}\text{O}_6$. A coluna B está disposta em uma rotação espiral, levando a formação de um canal, formado por $-\text{P(III)}\text{O}_4-\text{Ca(I)}\text{O}_7-\text{Ca(III)}\text{O}_8-\text{Ca(II)}\text{O}_8-\text{P(II)}\text{O}_4-\text{Ca(I)}-\text{Ca(III)}$ (Jay *et al.*, 2011). Os diferentes poliedros de Ca^{2+} no β -TCP são mostradas na Figura 2.7.

Figura 2.7. Coordenações dos diferentes sítios de Ca^{2+} na estrutura do β -TCP. Fonte: Jay, 2012.



Ainda segundo Yashima *et al* (2003), esses poliedros apresentam diferentes tamanhos, decorrentes do comprimento da ligação Ca-O , cuja ordem segue a sequência $\text{Ca (V)} < \text{Ca (I)} < \text{Ca (II)} < \text{Ca (IV)} < \text{Ca (III)}$. É importante ressaltar que a coluna A apresenta uma compactação inferior quando comparada a coluna B (Figura 2.8), e conseqüentemente, possui uma densidade significativamente inferior, devido a isso, os íons de cálcio deste sítio são preferencialmente substituídos por outros elementos (Yoshida *et al.*, 2006), em comparação aos íons de Ca^{2+} da coluna B.

Figura 2.8. Estrutura cristalina do β -TCP ao longo do eixo c. Fonte: Yoshida *et al.* 2006 – modificado.



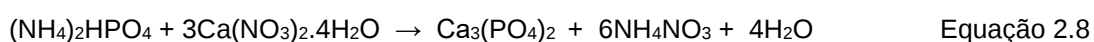
Ainda segundo alguns autores, coluna A é o local energeticamente mais favorável para a ocorrência de substituições, pois todos os sítios de cálcio estão totalmente ocupados pela presença dos respectivos átomos, exceto o sítio de Ca (IV). Este sítio se repete 6 vezes na estrutura, e destes sítios, apenas 50% destes estão de fato ocupados por átomos de cálcio. Ainda segundo Jay *et al* (2011), esta meia ocupação está em um padrão de repetição de 1/3, 2/3 ao longo do eixo c, desta forma, consideram que a estrutura β -TCP é feita de dois regiões, um com uma razão molar Ca/P de $60/42 = 1,429$, e outra com uma razão molar Ca/P de $66/42 = 1,571$. O que corrobora com os estudos computacionais desenvolvidos por Matsunaga *et al* (2015) e Yin *et al* (2003).

2.8.2. SÍNTESE DO β -TCP

Da mesma forma que a Hap, o beta fosfato tricálcico pode ser obtido por rotas úmidas e secas, contudo, não pode ser diretamente sintetizada por precipitação em ambiente aquoso (Chaaair, Labjar e Britel, 2017), pois necessita de um tratamento térmico, o que é uma característica intrínseca deste material.

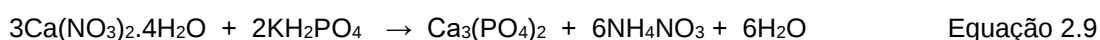
Desta forma, as rotas secas são muito difundidas na literatura, pois possibilitam a obtenção do β -TCP em apenas uma etapa. Contudo, o uso das rotas úmidas, utilizando tratamentos térmicos a fim de converter as possíveis apatitas formadas durante o processo de síntese, em β -TCP, é descrito, porém geralmente, é associada a presença de outras fases.

Mirhadi *et al.* (2011) sintetizaram β -TCP por co-precipitação utilizando $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, como mostra a equação 2.8, e posteriormente calcinaram o material obtido a 700°C por 2 horas.



As caracterizações indicaram que material obtido era composto por partículas aglomeradas sem forma definida medindo de 80 a 150 nm, com presença de Hap.

Sanosh *et al.* (2009) obtiveram β -TCP pela rota sol-gel utilizando $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e KH_2PO_4 , como mostra a equação 2.9.



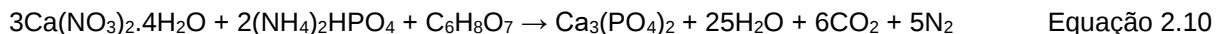
O material resultante foi calcinado a 800°C por 30 minutos, dando origem partículas com tamanhos variando de 70-80 nm, com a presença de fase secundária não identificada pelos autores.

Ruiz-Aguilar *et al.* (2018) também fizeram uso da rota sol-gel, utilizando $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) e o $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. O material resultante foi tratado a 900°C durante 3 horas, dando origem a um material com mais de uma morfologia, e tamanhos variando de 260–1000 nm, com a presença de $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$.

Iqbal e Kadir (2017) fizeram uso da rota via hidrotermal assistida por micro-ondas para obter o β -TCP partindo de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$. O pó obtido foi irradiado por 10 minutos sob uma potência de 800 watts. Ao final deste processo, o pó obtido foi calcinado a 1000°C por 2 horas, dando origem a β -TCP com a presença de uma segunda fase não identificada pelos autores.

Em outro estudo, Bovand *et al* (2018) descrevem a síntese da β -TCP sob uma temperatura de calcinação inferior as que normalmente são aplicadas para a obtenção de um material sem a presença de fases secundárias. Os autores utilizaram a co-

precipitação partindo do $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ e do ácido cítrico em pH 7,5 ajustado com hidróxido de amônia, como mostra a equação 2.10.



Ao final da adição dos reagentes, o sistema foi transferido para um forno micro-ondas e irradiado por 50 segundos a 900 Watts. O sólido resultante foi calcinado a 850 °C por 2 horas, levando a formação de um material monofásico, com partículas uniformes medindo aproximadamente 200 nm.

De forma similar ao que acontece com a Hap, o β -TCP também possibilita substituições em todos os seus grupos constituintes (Ca^{2+} e PO_4^{3-}), o que também afeta várias características do material, a exemplos os espectros vibracionais (Meenambal *et al.*, 2014; Quillard *et al.*, 2012), potencial bioativo (Ferreira *et al.*, 2018), osteocondutividade (Tao *et al.*, 2020).

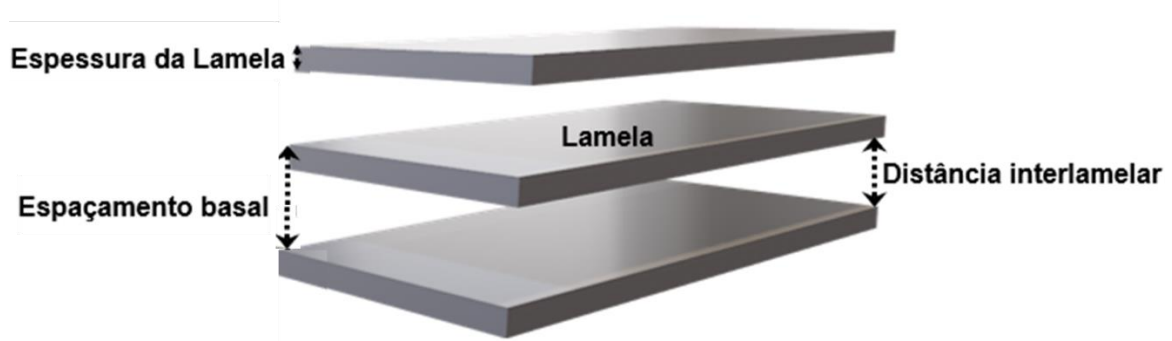
Meenambal *et al* (2014) avaliaram por refinamento Rietveld a inserção de íons La^{3+} na rede cristalina de β -TCP. Os resultados do refinamento indicaram que a ocupação preferencial de La^{3+} ocorre no sítio Ca (III) com NC = 8, devido ao elevado número de coordenação deste sítio. Ainda segundo os autores, a modificação com íons divalentes que possuem raios iônicos menores que o Ca^{2+} a exemplo do Cu^{2+} , Zn^{2+} e o Mg^{2+} , ocorre preferencialmente no sítio Ca(V), já que o mesmo possui as menores distâncias de ligação, o que também foi observado por Ananth *et al* (2015) e Kawabata *et al* (2015).

De modo geral, as modificações propostas para esse tipo de material, são realizadas, de modo a ampliar suas potencialidades, a exemplo da utilização de oligoelementos essenciais, como Si^{4+} , Zn^{2+} , Li^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} (Fadeeva *et al.*, 2021; Saleh e Alameri, 2021; Vahabzadeh, Hack e Bose, 2017; Yuan *et al.*, 2021). As modificações realizadas com esses oligoelementos são bastante exploradas na área de biomateriais devido as funções específicas que esses elementos desempenham em processos biológicos após a implantação (Boanini, Gazzano e Bigi, 2010), podendo promover um sinergismo entre as propriedades do fosfato do cálcio e da espécie inserida.

2.9. MATERIAIS LAMELARES

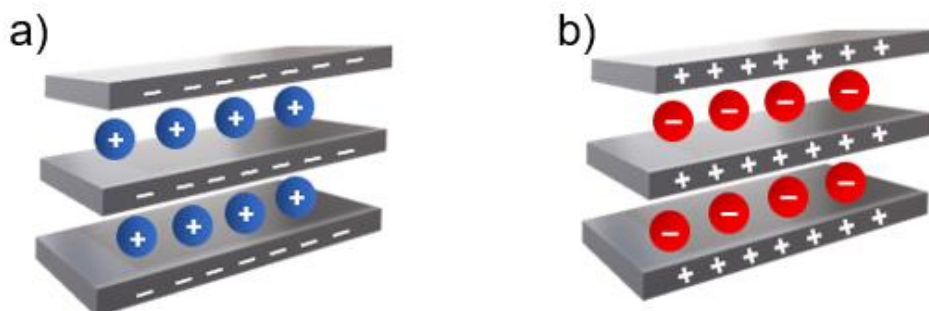
Os compostos lamelares são materiais cristalinos, formados por folhas, placas ou lamelas constituídas por interações covalentes, que são organizados de forma tridimensional através do empilhamento de várias unidades ao longo de um dos eixos cristalográficos, conforme ilustrado na Figura 2.9. Esse empilhamento ocorre geralmente de forma altamente organizada, e é mantido devido a forças de van der Waals, interações eletrostáticas ou ligações de hidrogênio, não havendo então, um contato físico direto entre essas placas, existindo assim um espaçamento entre elas, que é denominada de distância interlamelar.

Figura 2.9. Estrutura de um material lamelar



Uma peculiaridade destes materiais é que a composição química de suas lamelas pode ou não originar uma carga elétrica líquida em sua superfície, originando assim duas classes de materiais lamelares, os neutros e os carregados. Entre os sólidos lamelares neutros estão o grafite (Seiler *et al.*, 2018) e alguns argilominerais, como o talco (Claverie *et al.*, 2018) e a caulinita (Jikan *et al.*, 2017). Já os compostos lamelares que possuem carga (Figura 2.10) são classificados em catiônicos os que possuem lamelas carregadas positivamente, a exemplo dos hidróxidos duplos lamelares (Bukhtiyarova, 2019) e os aniônicos que possuem lamelas carregadas negativamente, a exemplo, dos niobatos lamelares e alguns argilominerais como a montmorillonita (Oliveira *et al.*, 2021b) e vermiculita (Santos *et al.*, 2016).

Figura 2.10. Organização dos materiais lamelares com lamelas carregadas a) negativamente e b) positivamente



Nestes dois casos, as regiões interlamelares são preenchidas por íons de carga oposta à da lamela, o que garante a neutralidade do sistema. Esses íons podem estar na forma hidratada ou anidra e apresentam certa mobilidade, podendo ser trocados de forma estequiométrica por outras espécies carregadas de mesma ou diferente carga, ou como também acomodar moléculas neutras orgânicas de diferentes funções, gerando assim novas possibilidades de aplicações (Thiebault *et al.*, 2019).

2.10. NIÓBIO

O nióbio, cuja configuração eletrônica no estado fundamental é $[\text{Kr}] 4d^4 5s^1$, apresenta cinco elétrons em sua camada de valência, o que lhe confere uma rica química redox através de vários estados de oxidação que podem variar de +1 a +5, sendo o íon Nb^{5+} a espécie mais estável. Devido as elevadas cargas que pode apresentar, é considerado como um ácido duro segundo o conceito de Pearson, podendo ser complexado por ligantes duros como os íons O^{2-} , OH^- e o F^- (Goldfarb, 2014). Ainda devido a sua rica química redox, e a depender do tipo de ligante envolvido, o Nb pode ocorrer em simetrias tetraédrica ou octaédrica, apresentando variações no tamanho de seu raio covalente (Schlewitz, 2009).

Atualmente, as três maiores reservas exploradas de nióbio no mundo estão localizadas no Brasil, nas cidades de Araxá/Minas Gerais; Catalão e Ovidor/Goiás e no Canadá em Saint Honoré/Quebec. Adicionalmente, como foi demonstrado Lira (2016) a Paraíba também pode ser elencada como uma potencial produtora de nióbio; em suas pesquisas constataram a presença da tantalita no município de Juazeirinho, que apresentou uma composição de aproximadamente 25% de óxido de nióbio,

evidenciando que a região possibilita uma atividade mineral com viabilidade econômica.

Segundo a secretaria de geologia, mineração e transformação mineral, o Brasil detém as maiores reservas mundiais de nióbio, representando cerca de 98,2% (BRASIL, 2020), que são exploradas por três empresas a Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM) que produz liga ferro-nióbio, ligas especiais de nióbio, nióbio metálico e óxido de nióbio; a Mineração Catalão de Goiás Ltda, que produz liga ferro-nióbio e a Mineração Taboca que produz uma liga metálica ferro-nióbio-tântalo.

Ser o detentor de praticamente todas as reservas naturais, situa o Brasil numa posição estratégica para a comercialização deste metal, e de acordo com a Companhia de Pesquisa de Recursos Minerais (CPRM), a exportação do minério aumentou 110% em 10 anos, passando de 33.688 toneladas em 2003 para 70.948 em 2013, totalizando um montante de aproximadamente 3,6 bilhões de reais (BRASIL, 2020).

Atualmente este metal possui várias aplicações em diversas atividades econômicas, desde a siderurgia a até aplicações médicas. A exemplo de ligas de Nb-Ti-Zr que foram desenvolvidas para implantes ortopédicos (Ji *et al.*, 2021), quando associado com estanho ou estrôncio, a liga exibe um comportamento semelhante a um supercondutor (Shimizu *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2017) possibilitando o desenvolvimento de sistemas para armazenamento de energia, ou até mesmo na degradação de compostos utilizados como armas químicas, a exemplo de um análogo do gás mostarda (Carniti *et al.*, 2014), evidenciando assim as possibilidades de aplicações deste metal.

2.10.1. Niobatos

Os niobatos são compostos cerâmicos baseados principalmente em ligações Nb–O. Eles são considerados como uma importante classe de materiais, possuindo uma ampla aplicação na indústria química, principalmente para processos catalíticos e dispositivos para armazenamento de energia (Kang *et al.*, 2021; Tarselli, 2015; Yang *et al.*, 2020). Esses compostos apresentam uma grande variedade de estruturas, a

exemplo dos de composição lamelares, o que lhes confere várias propriedades, como a capacidade de troca iônica e a intercalação e esfoliação.

Estudos recentes indicam que os niobatos também apresentam elevada biocompatibilidade, elencando-os como possíveis candidatos a aplicações clínicas, a exemplo do niobato de lítio, que também demonstrou possuir ação antimicrobiana contra organismos resistentes (Kumaraswamy *et al.*, 2018), bioatividade (Vilarinho *et al.*, 2014), elevados níveis de adesão e proliferação de osteoblastos (Carville *et al.*, 2015; Chen, W. *et al.*, 2017), fibroblastos (Mandracchia *et al.*, 2018; Marchesano *et al.*, 2015), além da capacidade de promover a proliferação e diferenciação de células-tronco mesenquimais em uma linhagem osteogênica ou adipogênica (Li *et al.*, 2015). De forma análoga o niobato de sódio e potássio também apresentaram elevada biocompatibilidade, e a capacidade de adsorção de proteínas, podendo favorecer um aumento significativo na taxa de proliferação de osteoblastos (Chen, W. *et al.*, 2017).

Nesta pesquisa foram utilizados dois niobatos com estruturas lamelares, o KNb_3O_8 e o $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ que terão suas estruturas esfoliadas, e servirão de substrato para o crescimento dos cristais de fosfatos de cálcio utilizados nesta pesquisa.

2.10.2. Niobatos lamelares

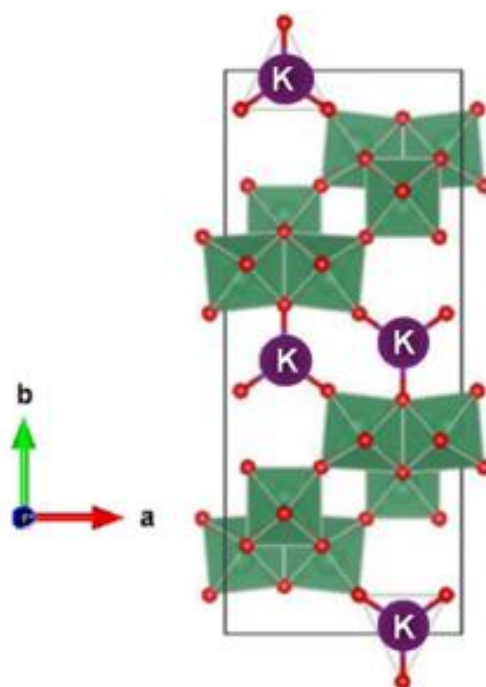
Os niobatos lamelares são compostos formados pela conexão de octaedros (NbO_6) dando origem as lamelas negativamente carregadas. A carga lamelar negativa é contrabalanceada pela presença de cátions na região interlamelar, como o K^+ , Rb^+ ou Cs^+ , que podem ser substituídos parcialmente ou totalmente por outros cátions, sem que haja necessariamente a desorganização da estrutura lamelar. Dentre os niobatos lamelares, pode-se destacar a perovskita de cálcio e potássio ($\text{KCa}_2\text{Nb}_3\text{O}_{10}$), o hexaniobato de potássio ($\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$) e o triniobato de potássio (KNb_3O_8) (Bizeto, 2003).

2.10.2.1. Triniobato de potássio - KNb_3O_8

O triniobato de potássio é um material lamelar de fórmula KNb_3O_8 (Nb_1), pertencente ao sistema ortorrômbico, com os seguintes parâmetros de rede: $a = 8,903$

$\text{\AA}$, $b = 21,16 \text{ \AA}$, e $c = 3,799 \text{ \AA}$ e grupo espacial *Amma*. Sua célula unitária é formada por duas folhas de carga negativa compostas por octaedros distorcidos $[\text{NbO}_6]$ (altamente distorcidos e levemente distorcidos) que compartilham arestas e vértices de forma alternada, espaçadas por uma região lamelar preenchida por íons K^+ , o que garante a neutralidade elétrica da estrutura (Li *et al.*, 2018; Liu, Que e Kong, 2015), que é formada pelo empilhamento das lamelas ao longo do eixo cristalográfico c , dando origem a apenas um tipo de região interlamelar (Souza *et al.*, 2020), conforme pode ser observado na figura 2.11.

Figura 2.11. Representação da célula unitária do KNb_3O_8 . Fonte: Souza *et al.* 2020. Adaptado

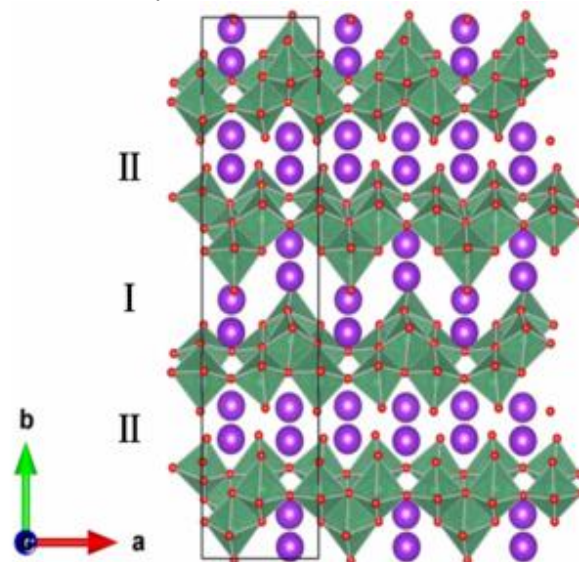


2.10.2.2. Hexaniobato de potássio - $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$

O hexaniobato de potássio também é um material com estrutura lamelar, com fórmula $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ (Nb_2), pertencente ao sistema ortorrômbico. Sua estrutura (Figura 2.12) é formada por lamelas carregadas negativamente constituídas por octaedros $[\text{NbO}_6]$ altamente distorcidos e levemente distorcidos ligados por vértices e arestas (Bizeto *et al.*, 2010). A região interlamelar apresenta íons K^+ que mantém a eletroneutralidade do sistema. Adicionalmente, sua estrutura apresenta uma falta periódica dos octaedros das lamelas, o que ocasiona uma diferenciação entre essas

regiões, gerando assim as regiões interlamelares (I e II), que possuem características cristalográficas e reacionais distintas (Sahu *et al.*, 2017).

Figura 2.12. Estrutura do Hexaniobato de potássio. Fonte: Souza *et al.* 2020.



É importante destacar que segundo a literatura, apenas uma das regiões interlamelares possibilita a entrada de moléculas de água em seu interior (região interlamelar I), permanecendo a outra anidra (região interlamelar II) (Bizeto *et al.*, 2010). Para o Nb_2 em sua forma anidra (JPDS 76-0977), a região interlamelar são preenchidas com íons K^+ , para esta configuração, os parâmetros de rede são dados por $a = 7,83 \text{ \AA}$, $b = 33,21 \text{ \AA}$ e $c = 6,46 \text{ \AA}$. Outra configuração possível, é a admissão de 3 (JPDS 21-1297) ou 4,5 (JPDS 21-1296) moléculas de água na região interlamelar I, obtendo os seguintes parâmetros de rede $a = 7,58 \text{ \AA}$, $b = 37,67$, $c = 6,46$, e $a = 7,82$, $b = 41,09$, $c = 6,42$ respectivamente, onde para todas essas configurações, sua célula unitária é formada pelo empilhamento de quatro lamelas ao longo do eixo c. Dentre essas composições, a fase mais estável é o que apresenta três moléculas de água, ocorrendo sob temperaturas inferiores a 65°C e umidade relativa variando entre 25 e 85%.

Devido a esta diferença em suas composições lamelares, elas irão apresentar diferentes comportamentos frente à capacidade de troca iônica e intercalação de outras espécies, e de fato é o que ocorre, como foi já demonstrado (Magalhães Nunes, Gouveia de Souza e Fernandes de Farias, 2001; Shiguihara, Bizeto e Constantino,

2010). É importante ressaltar ainda que há uma certa “dificuldade” no processo de intercalação de espécies volumosas, devido a pequena dimensão do espaçamento basal, por isso, é importante proceder inicialmente com a ativação ácida. O processo de ativação consiste na troca iônica do ion K^+ pelo hidrônio (H_3O^+), aumentando assim a dimensão desta região, possibilitando a entrada de outras espécies químicas mais volumosas (Bizeto *et al.*, 2006).

Ainda segundo alguns autores quando são inseridas espécies volumosas, há um aumento demasiado do espaçamento basal, reduzindo a atração eletrostática entre lamelas, possibilitando a desorganização desta estrutura, acarretando assim na esfoliação das lamelas, abrindo novas possibilidades de aplicações (Hashemzadeh, 2016; Hu e Guo, 2015).

Capítulo 3

**Hidroxiapatitas modificadas com nióbio obtidas por
co-precipitação**

3.1 INTRODUÇÃO

O nióbio (Nb) é um metal que vem chamando muita atenção na área de biomateriais, devido as suas propriedades como baixa densidade e ausência de toxicidade (Nascimento *et al.*, 2011), biocompatibilidade, alta resistência química e mecânica (Mestieri *et al.*, 2017; Rajan, Das e Arockiarajan, 2022). Estudos realizados com Nb evidenciaram sua capacidade bioativa, elencando-o como um bom candidato para aplicações em revestimentos antialérgicos de endopróteses e reparo ósseo (Bergschmidt *et al.*, 2011; Leitune *et al.*, 2013), pois ele é capaz de promover um elevado grau de adesão e proliferação de osteoblastos (Pradhan *et al.*, 2016).

Ligas metálicas com a presença de Nb mostram-se promissoras propriedades para o tratamento de fraturas ósseas, ao exibem um baixo módulo de elasticidade associado a uma excelente resistência à corrosão (Gostin *et al.*, 2013; Takahashi *et al.*, 2015). Materiais vítreos modificados com Nb também exibem melhorias em suas propriedades bioativas e mecânicas (Fernandes *et al.*, 2012), além de aumentar a diferenciação e a mineralização de células osteogênicas *in vitro* (Kushwaha *et al.*, 2012; Obata *et al.*, 2012).

Para os materiais cerâmicos Tamai *et al* (2007) evidenciaram que a inserção de Nb em uma cerâmica bifásica de Hap/ β -TCP potencializou a atividade de osteoblastos humanos, aumentando assim a quantidade de tecido calcificado mediante o aumento da concentração de íon Nb⁵⁺ na cerâmica bifásica.

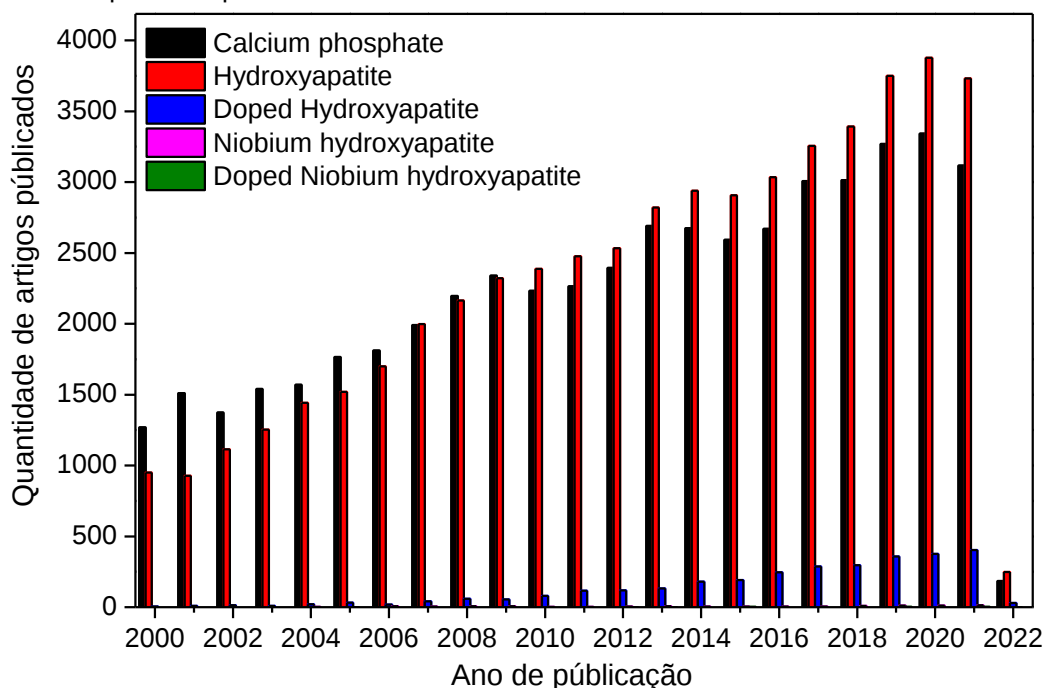
Na forma de compósitos, vários autores evidenciaram a influência do óxido de nióbio (Nb₂O₅) frente as melhorias nas propriedades mecânicas da Hap (Demirkol, Oktar e Kayali, 2014; Nascimento *et al.*, 2011), além da bioatividade, que após 28 dias em exposição em uma solução de SBF, os compósitos apresentaram a formação de uma extensa camada de precipitados que variou de 3,9 a 13,3 μ m (Bonadio *et al.*, 2013).

Na forma de dopagem, ainda há poucos relatos na literatura, que possibilitem uma melhor compreensão dos efeitos da adição desta espécie na estrutura da hidroxiapatita. Contudo, estudos recentes que propuseram a modificação estrutural da Hap, a partir da inserção de Nb, evidenciaram que os sólidos modificados, não exibiram toxicidade frente a uma linhagem celular de osteoblastos humanos, avaliados *in vitro*, além de proporcionar ainda uma elevada taxa de proliferação celular

(Capanema *et al.*, 2015), o que são os primeiros indícios de que sistemas baseados em hidroxiapatitas dopadas com Nb podem ser elencados como possíveis substitutos ósseos.

De fato, a literatura sobre a temática ainda é escassa se considerarmos uma pesquisa bibliográfica de artigos que apareceram no banco de dados da Web of Science (Advanced Topic – TS) de 2000 a 31 de janeiro de 2022. Através do uso das palavras chaves Calcium Phosphate, Hydroxyapatite, Doped Hydroxyapatite, Niobium Hydroxyapatite e Doped Niobium Hydroxyapatite, a pesquisa apontou a existência de 50.818, 52.739, 3.081, 114 e 9 trabalhos, respectivamente, como mostra os resultados da Figura 3.1.

Figura 3.1. Pesquisa das palavras chaves no banco de dados da web of Science.



3.2. METODOLOGIA

3.2.1. Reagentes químicos

Os reagentes utilizados foram todos com grau de pureza acima de 95% e sem purificação prévia, cuja listagem está apresentada na Tabela 3.1.

Tabela 3.1. Reagentes utilizados na síntese da Hap.

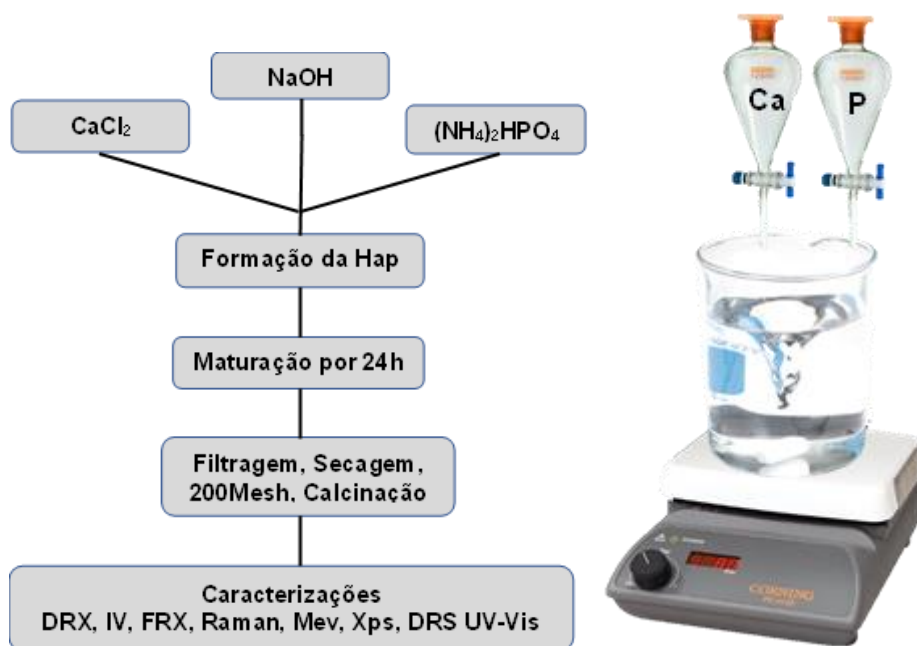
Reagente	Fórmula	Fornecedor
Água deionizada	H ₂ O	-
Hidrogenofosfato de diamônio	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Merck
Cloreto de cálcio	CaCl ₂	Sigma Aldrich
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec
Oxalato amoniacal de nióbio	NH ₄ H ₂ [NbO(C ₂ O ₄) ₃]	Doador pela CBMM
Pentacloreto de nióbio	NbCl ₅	Doador pela CBMM

3.2.2. Síntese da Hap e seus derivados

A Hap foi preparada de acordo com o seguinte procedimento, inicialmente, uma solução de NaOH 0,15 mol L⁻¹ foi preparada e transferida para um bequer. Em seguida, foram preparados 250 mL de solução de (NH₄)₂HPO₄ a 0,09 mol L⁻¹ e 250 mL de CaCl₂·2H₂O a 0,15 mol L⁻¹, que foram simultaneamente adicionados ao sistema a velocidade de 1 mL min⁻¹ sob agitação magnética a 1000 rpm. As quantidades de íons de cálcio e fosfato utilizadas no procedimento de síntese foram 0,56 e 0,33 mol, respectivamente, que indica uma razão estequiométrica em mol para Ca/P de 1,67. Durante a síntese do material o pH do sistema foi 10,0 (Silva *et al.*, 2017).

Ao final do processo de síntese, o precipitado branco resultante foi envelhecido durante 24 h a 30 °C sob agitação magnética a 200 rpm. O precipitado foi separado por filtração e, então, lavado com água deionizada, até que o teste de cloreto indicasse a ausência desse íon. Por fim, o sólido foi seco a 100 °C em estufa por 24 h, seguido de calcinação a 600 °C por 6 h, a uma taxa de aquecimento de 5 °C min⁻¹. As etapas envolvidas neste processo de síntese estão sumarizadas na Figura 3.2.

Figura 3.2. Procedimento de síntese da Hap.

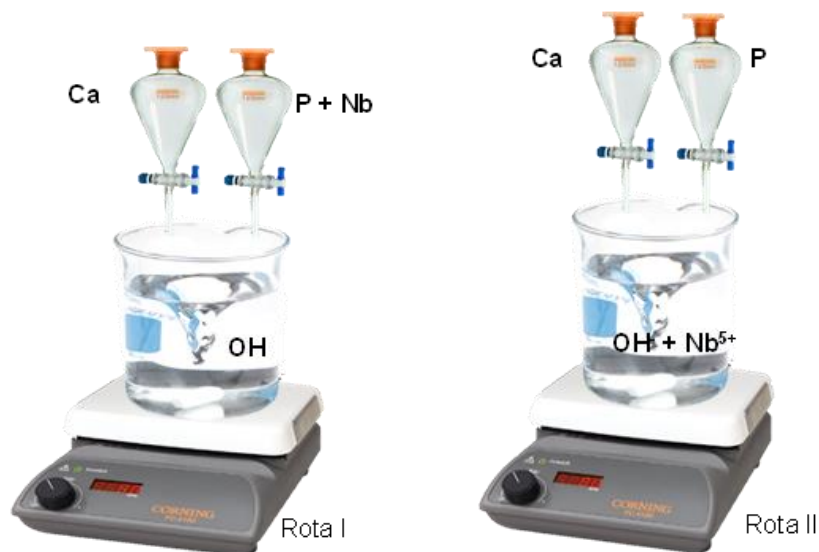


3.2.3. Modificação estrutural da hidroxiapatita

Para o processo de modificação com nióbio, foram preparadas cinco composições variando-se a quantidade de nióbio (1, 3, 5, 7 e 10% em mol) em relação a quantidade de cálcio presente nos sólidos. Para esta etapa, foram utilizadas duas rotas, partindo da mesma metodologia de síntese, porém variando o momento de adição do precursor de nióbio, a fim de avaliar a influência da concentração e o modo de adição do nióbio, sobre a estrutura dos sólidos modificados, como mostra a Figura 3.3.

- ✓ Rota (I) – seguiu-se o mesmo procedimento realizado para a síntese da Hap, diferindo apenas na adição do precursor de nióbio (oxalato amoniacal de nióbio ou o pentacloreto de nióbio), sendo adicionado dentro da solução do hidrogenofosfato de diamônio.
- ✓ Rota (II) – A solução do precursor de nióbio (oxalato amoniacal de nióbio ou Pentacloreto de Nióbio) foi adicionada na solução do hidróxido de sódio; posteriormente a homogeneização desta solução, foi dado início ao processo de adição dos precursores de cálcio e fósforo, seguindo-se então as mesmas etapas realizadas para a síntese da Hap.

Figura 3.3. Rotas de modificação da Hap



3.2.4 Caracterização

Os padrões de XRD foram obtidos usando um difratômetro Shimadzu modelo XRD - 6000 equipado com uma fonte de radiação monocromática de $\text{CuK}\alpha$ com λ de 0,154 nm, operando numa voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA. Os padrões foram coletados no intervalo de 2θ entre 5 e 60°, com uma razão de varredura de $0.02^\circ \text{ s}^{-1}$. Para os refinamentos, os dados de XRD foram coletados em um difratômetro Bruker modelo D8 Discovery A25 equipado com um detector sensível de posição Lynxeye, usando radiação de $\text{CuK}\alpha$ de mesmo comprimento já citado e padrão de corundum. As medidas foram realizadas dentro de uma faixa de 2θ entre 3 e 120°, passo de $0.002^\circ \text{ s}^{-1}$.

Os refinamentos estruturais e microestruturais dos sólidos foram realizados usando o software TOPAS 6 da Bruker. Para o refinamento, os dados de XRD foram coletados usando um difratômetro Bruker (D8 Advance A25) equipado com um detector sensível à posição Lynxeye com radiação $\text{CuK}\alpha$ e operando a 40 kV e 30 mA. As medições foram realizadas ao longo do intervalo 2θ de 3°-120° a uma velocidade de varredura de $0.002^\circ \text{ s}^{-1}$.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram registrados em um espectrofotômetro IR Prestige-21 Shimadzu, no modo de transmitância usando o método de pastilhas de KBr com 1% em massa. Para cada

espectro, um conjunto de 30 varreduras consecutivas foi coletado na faixa de número de onda de 4000 – 400 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1} .

Os espectros Raman foram realizados em um espectrômetro da marca Renishaw, modelo inVia Raman Microscope, com um laser de Ar^+ , com comprimento de onda de 514 nm e potência de 100 mW.

Os resultados de fluorescência de raios X (FRX) foram obtidos em um espectrômetro da marca Shimadzu, modelo XRF-1800, com potência de 2 kVA, voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA, utilizando como fonte de radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 0,154 \text{ nm}$).

As medidas de espectroscopia de fotoelétrons de raios X (XPS) foram realizadas usando um espectrômetro ScientaOmicron ESCA+ com um analisador hemisférico de alto desempenho (EA 125) ajustado para uma energia de passagem de 30 eV, e uma radiação monocromática $\text{Al K}\alpha$ ($h\nu = 1486,6 \text{ eV}$) foi usada como fonte de excitação. A pressão de operação na câmara de ultra-alto vácuo (UHV) durante a análise foi de cerca de $2 \times 10^{-9} \text{ mbar}$. Passos de energia de 0,5 eV e 0,05 eV foram usados nas medidas dos espectros em ampla varredura e de alta resolução, respectivamente. Um neutralizador de cargas foi utilizado durante as medidas. A energia de ligação do espectro foi corrigida usando a linha de fotoemissão do C1s fixado em 284,8 eV.

Os espectro UV-vis de refletância difusa foram obtidos em um espectrofotômetro UV-2550, da Shimadzu, no modo reflectância.

3.3.5 ATIVIDADE ANTIMICROBIANA *in-vitro*

A atividade antimicrobiana da Hap dopada com nióbio foi avaliada para o sólido contendo a maior taxa de modificação (Hap/Nb-10%), por macrodiluição em caldo *in vitro* contra a bactéria *Staphylococcus aureus* ATCC 15656.

3.2.5.1 Preparo e padronização do inóculo

Para o cultivo da linhagem, foram colhidas de duas a três colônias, bem isoladas, da cultura em placa de ágar com ajuda de uma alça de platina devidamente esterilizada por aquecimento em chama. Em seguida, essas foram inoculadas em 5

mL de meio caldo Brain Heart Infusion (BHI) contidos em tubo falcon de 15 mL previamente esterilizados em autoclave. Após homogeneização em agitador do tipo vórtex, o tubo foi colocado em estufa bacteriológica a 37 °C durante 24h. Posteriormente, o inóculo foi padronizado de acordo com a escala de McFarland em 0,5 o que corresponde a uma concentração de 1 a 2×10^8 UFC (unidades formadoras de colônia)/mL. No momento do experimento, este inóculo foi diluído para que no tubo de ensaio a concentração fosse de 1 a 2×10^5 UFC/mL (CLSI, 2017).

3.2.5.2 Ensaio de Macrodiluição

Foram utilizados microtubos estéreis de 1,0 mL para conduzir o teste. Depositou-se 0,9 mL de meio de cultura nos mesmos, juntamente com a quantidade a ser analisada do sólido em teste (6,5mg; 12,5mg; 25mg; 50mg e 100mg). Paralelamente foram preparados o controle de crescimento, controle positivo (clorexidina à 0,12%) e um tubo de controle de esterilidade do meio. Em seguida, foi adicionado 0,1 mL do inóculo aos microtubos contendo a mistura de do meio de cultura com os sólidos a serem analisados. Os microtubos foram incubados à 37 °C por ~24h e o ensaio foi realizado em triplicata.

3.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos após a otimização da síntese, que foi alcançada utilizando a rota I, com o oxalato amoniacal de nióbio. Tal fato deve aos melhores resultados obtidos mediante as técnicas de caracterizações. As caracterizações dos demais materiais obtidos com o precursor pentacloreto de nióbio pela rota I, e rota II, com oxalato amoniacal de nióbio estão apresentados nos anexos, A, B e C, respectivamente.

3.4.1. Difratometria de raios X

Para os materiais obtidos pela rota I (Anexo A) e rota II (Anexo B) utilizando o pentacloreto de nióbio, foi observado que seus difratogramas apresentaram uma redução significativa na intensidade dos planos de difração em comparação ao

material de controle (Hap), além de um grande alargamento das reflexões, principalmente para os obtidos pela rota II, mediante o aumento da quantidade de nióbio inserido. Em especial para os sólidos obtidos pela rota II, foi observado que para as modificações com as maiores quantidades de nióbio, as reflexões se fundiram (planos $2\ 1\ 1$ e $3\ 0\ 0$), indicando um aumento da desordem a longo alcance da estrutura cristalina.

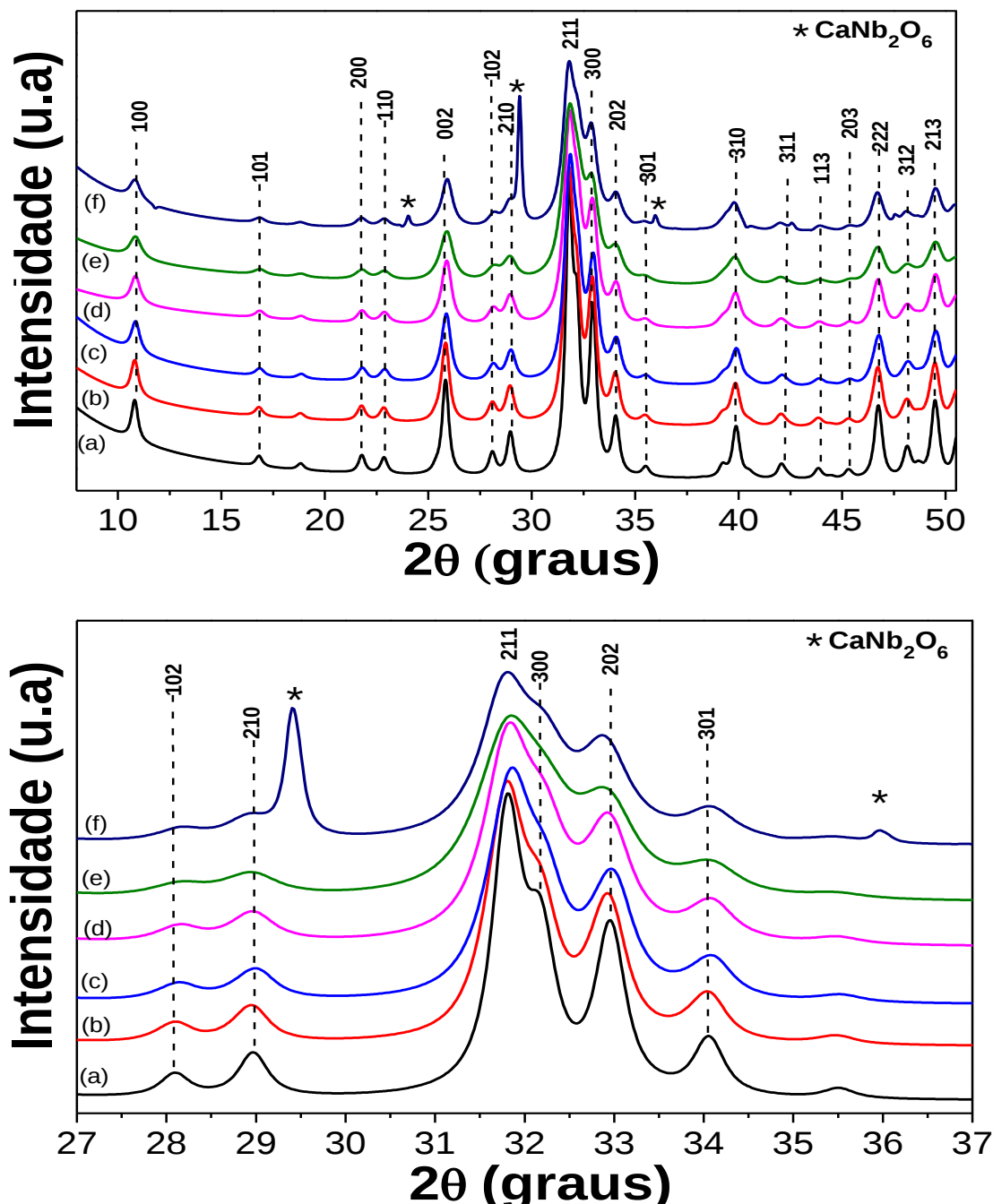
Para os sólidos obtidos pela rota II, utilizando o oxalato amoniaco de nióbio (Anexo C), também foi observado que a inserção de nióbio na rede cristalina dos materiais, provocou reduções na intensidade, associado a alargamentos dos picos. Em especial, para o sólido contendo a maior quantidade de nióbio, também foi observado que o alargamento da reflexão principal referente ao plano $(2\ 1\ 1)$, que sobrepõe com o plano $(3\ 0\ 0)$, inviabilizando sua visualização. Observa-se ainda que a presença de uma segunda fase, identificada como Nb_2O_5 (ICDD 19-864).

Deste modo, perante os resultados obtidos mediante a utilização de diferentes rotas e precursores de nióbio, decidiu-se dar continuidade as caracterizações dos materiais obtidos pela rota I, utilizando o oxalato amoniaco de nióbio, devido aos melhores resultados de difração de raios X.

Os padrões de XRD da Hap pura e dopadas com nióbio são mostrados na Figura 3.4. Os picos de difração das amostras foram indexados conforme a estrutura hexagonal da Hap, com o grupo espacial $P6_3/m$ de acordo com a carta ICDD 09-0432. Analisando os padrões de difração, foi observada a cristalização de sólidos monofásicos de Nb-Hap para todas as amostras até 7% de dopagem com Nb. Os materiais, aparentemente estáveis, apresentam uma diminuição de cristalinidade com o aumento da concentração de nióbio inserido na rede.

Contrariamente, o padrão de XRD da amostra Hap.Nb10% apresenta picos de difração adicionais correspondente à uma fase indesejada, indicando que 10% de dopagem com Nb provavelmente excede o limite de modificação da estrutura da Hap. Estes dados estão de acordo com os dados encontrados na literatura, para o mesmo tipo de modificação. Por exemplo, Amorim *et al.* realizaram a mesma modificação da Hap com nióbio, mas se limitaram a dopagem na ordem de 1%, e observaram, pela técnica de difração de raios X, a presença de niobato de $(\text{CaNb}_2\text{O}_6)$ e pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) (Amorim, De *et al.*, 2021).

Figura 3.4. (I) Padrões de XRD e (II) padrões de XRD ampliados no intervalo 2θ de 27-37° para as amostras de (a) Hap, (b) Hap.Nb1%, (c) Hap.Nb3%, (d) Hap.Nb5% (e) Hap.Nb7% e (f) Hap.Nb10%.



De modo a melhor entender o efeito da dopagem com Nb na estrutura da Hap, análises de refinamento estrutural de Rietveld foram realizadas para todas as amostras sintetizadas. Os dados refinados estão listados na Tabela 3.2, e padrões de refinamentos mostrados na Figura 3.5.

Figura 3.5. Perfis de refinamento estrutural dos dados de XRD coletados em temperatura ambiente para as amostras Hap, b) Hap.1% Nb, c) Hap.3% Nb, d) Hap.5% Nb, e) Hap.7% Nb e f) Hap.10% Nb

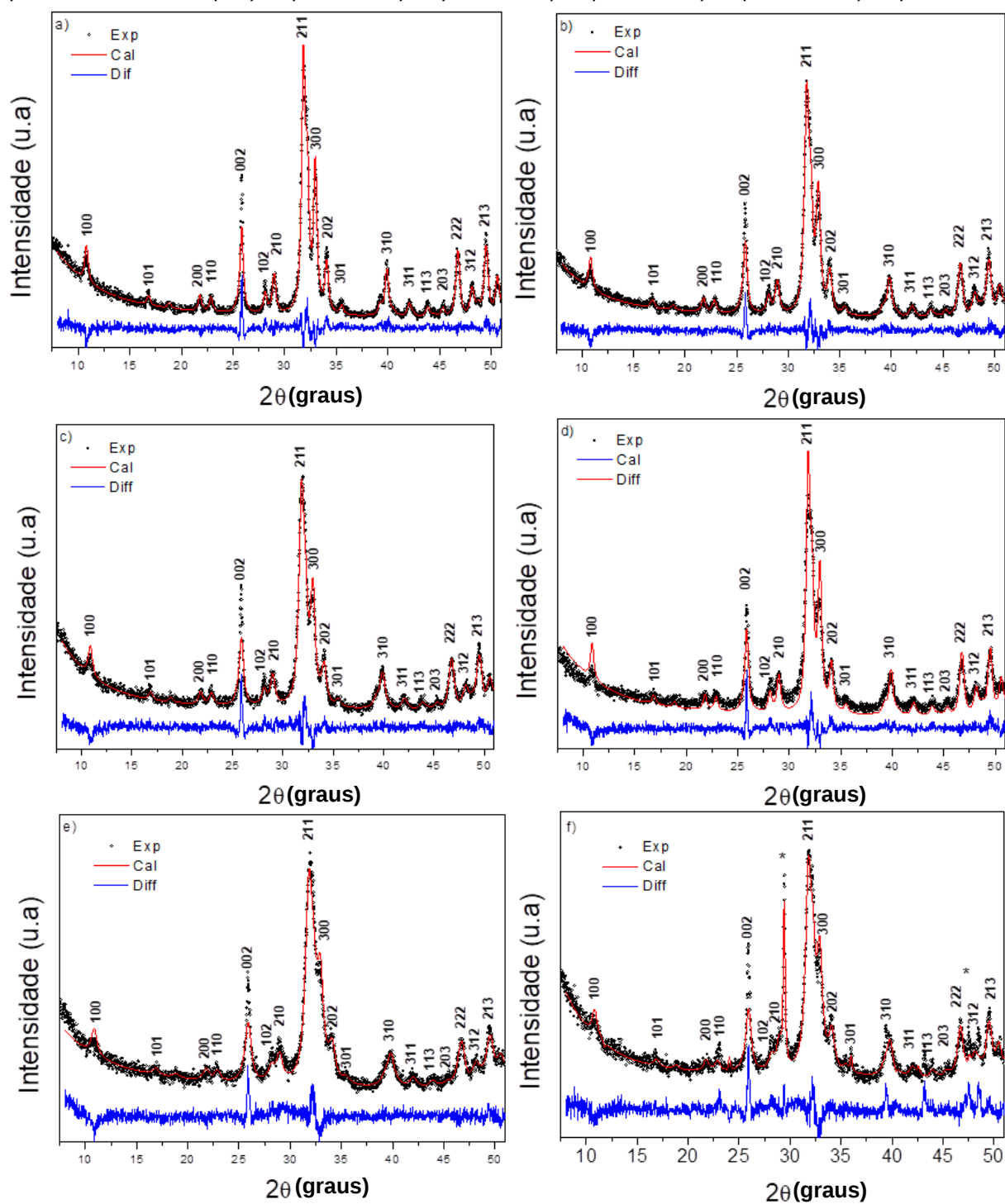


Tabela 3.2. Parâmetros de rede (a e c), volume da célula unitária (V) e posições atômicas refinados usando o método de Rietveld para a HAp.Nbx (x = 0, 1, 3, 5, 7 e 10 % em mol) considerando a substituição do Ca²⁺ por Nb⁵⁺ na estrutura.

	Hap	Hap.Nb1%	Hap.Nb3%	Hap.Nb5%	Hap.Nb7%	Hap.Nb10%
Composição	Hap	Hap	Hap	Hap	Hap	Hap / CaNb ₂ O ₆
Porcentagem da fase (%)	100	100	100	100	100	98,78 / 1,22
Space group	<i>P6₃/m</i>	<i>P6₃/m</i>	<i>P6₃/m</i>	<i>P6₃/m</i>	<i>P6₃/m</i>	<i>P6₃/m</i> / <i>Pbcn</i>
a (Å)	9,431(17)	9,401(10)	9,398(12)	9,411(14)	9,416(2)	9,440(3)
c (Å)	6,886(12)	6,880(8)	6,880(10)	6,879(11)	6,878(16)	6,885(2)
V(Å ³)	530,4(2)	526,6(12)	526,3(16)	527,7(18)	528,1(3)	531,4(4)
GOF	1.32	1.17	1.32	1.20	1,19	1,32 /
R _{wp}	12.80	11,14	11,09	10,75	10,05	11,08 /
R _{Bragg}	3.352	2.752	2.744	2,830	2,603	2,856 / 6,682

De acordo com o perfil de refinamento, todas as amostras se cristalizam em uma estrutura cristalina hexagonal monofásica, com exceção da amostra de Hap.Nb10%. O padrão de refinamento para essa amostra confirma a existência de uma fase secundária identificada como niobato de cálcio (CaNb₂O₆), indexada pela carta ICDD 04-001-7554, grupo espacial *Pbcn*. O refinamento estrutural para esta amostra indica que cerca de 1,22% de CaNb₂O₆ está presente na amostra. Os parâmetros refinados para esta fase de niobato foram: a = 15,023(8) Å, b = 5,178(3) Å, c = 5,147(3) Å e V = 442,1(4) Å³.

É importante destacar, que mesmo nas concentrações mais elevadas de Nb⁵⁺, todos os picos de difração característicos da estrutura cristalina da Hap são evidentes; o que não tem sido observado em alguns trabalhos que versam sobre esse tipo de dopagem, mesmo quando a modificação é feita em pequenas concentrações de cátions metálicos (Chen, W. *et al.*, 2017).

Como foi observado por Oliveira *et al* (2021b) em amostras de Hap dopadas com Zn²⁺, ao realizar a substituição do cálcio por outro cátion metálico, faz com que algumas reflexões se fundam, principalmente os planos (2 1 1) e (3 0 0), indicando um aumento da desordem a longo alcance da estrutura cristalina. Este mesmo comportamento também foi observado no presente trabalho. É possível observar também pequenos deslocamentos dos picos de difração para maiores valores de

ângulos com o aumento do teor de Nb, que indicando uma diminuição dos parâmetros de rede refinados e contração da célula unitária da Hap, como apresentado na Tabela 3.2.

Os valores refinados indicam que o aumento da concentração de Nb^{5+} até 7% nas amostras leva a uma diminuição aumento nos valores de parâmetro de rede e volume da célula unitária, aumentando em seguida com o aumento de mais dopante na estrutura.

Como observado na Tabela 3.2, a adição de Nb^{5+} na Hap induz uma ligeira diminuição nos valores de a e c e aumento da concentração de Nb. Para o volume V também foi observada a mesma tendencia de decréscimo, o que corrobora com a possibilidade de substituição catiônica e contração da estrutura cristalina, como também foi observado em outros trabalhos que realizaram a dopagem da Hap com cátions metálicos de raio iônico menores que o do cálcio (Paduraru *et al.*, 2021).

A redução nos valores do parâmetro de rede c e do volume V pode ser atribuído a diferença de raio iônico dos cátions presentes na estrutura. Na estrutura cristalina da hidroxiapatita, o cálcio está localizado em dois sítios distintos, um com número de coordenação (NC) de 9 (Ca I) e outro em NC de 7 (Ca II). De acordo com Shannon, o raio iônico do cálcio nestes sítios é de 1,18 nm e 1,06 nm, respectivamente (Shannon, 1976). Por outro lado, o Nb^{5+} apresenta um raio iônico de 0,69 nm quando em NC de 7, o que é significativamente menor que o raio do cálcio em ambas as coordenações, o que corrobora com os dados do refinamento quanto à substituição de Ca/Nb nas amostras.

É importante destacar que o nióbio apresenta vários estados de oxidação, sendo o Nb^{5+} o mais estável (Capanema *et al.*, 2015). Considerando essa espécie e segundo Shannon, o Nb^{5+} pode assumir 4 tipos diferentes de coordenações: 4, 6, 7 e 8. Dentre elas, o Nb^{5+} em NC 7 é o mesmo assumido pelo Ca II, sendo este sítio o mais propenso de ser ocupado pelo Nb^{5+} após processo de dopagem. Este comportamento não tem sido observado por outros autores, mas esta falta de consenso a respeito do sítio de ocupação do Nb^{5+} surge pelo fato da escolha da técnica de caracterização usada para avaliar tais efeitos de substituição. Segundo esses autores, a substituição ocorre preferencialmente no sítio do fosfato, o que leva a um aumento nos parâmetros de rede a e c , e volume V da célula unitária, cuja expansão da célula unitária é explicada pela presença da espécie Nb^{5+} que em solução, que originaria o niobato ($\text{H}_4\text{NbO}_6^{3-}$)

com raio iônico de 0,30 nm, que substitui preferencialmente o grupo PO_4^{3-} de raio iônico 0,23 nm, aumentando assim os valores dos parâmetros da rede, e no volume (Capanema *et al.*, 2015; Tamai *et al.*, 2007).

Contudo, mesmo os íons de nióbio podendo ocupar diferentes tipos de sítios na Hap, ainda não há um consenso sobre o sítio preferencial para a sua ocupação. Para alguns autores, o que determina a posição preferencial dos cátions metálicos na estrutura da Hap é a concentração de cátions inserida na rede. Deste modo, nota-se que, modificações com até 1% de dopagem, leva a substituição ocorrer nos sítios Ca(I) (Terra *et al.*, 2009). No entanto, com o aumento da concentração, há uma maior tendência de a ocupação ocorrer no sítio Ca(II) (Matos, Terra e Ellis, 2010; Terra *et al.*, 2009).

Para outros autores, o que determina a posição preferencial dos cátions é o tamanho do raio iônico e a eletronegatividade dos cátions metálicos. Segundo Zhu *et al* (2006), os sítios $\text{Ca}^{2+}(\text{II})$ podem ser preferencialmente substituídos por cátions com maior raio iônico, ou maior eletronegatividade que os íons de Ca^{2+} . Esse mesmo comportamento também tem sido observado por Veselinović *et al* (2010), ao realizar a dopagem da Hap com cobalto.

Baseado nestes fatos, acredita-se que Nb^{5+} possa estar substituindo o cálcio no sítio Ca(II). Este comportamento pode ser devido a maior eletronegatividade de Nb em relação ao Ca, o que resulta em uma maior tendência de interações covalentes com grupos hidroxilas na estrutura da Hap (Antoniac, 2016), o que também foi observado por Ignjatović *et al* (2019) ao dopar a Hap com íons Eu^{3+} . Na estrutura da Hap, as hidroxilas estruturais estão rodeando os sítios de Ca(II), o que pode favorecer a substituição dos átomos de cálcio nesta posição, corroborando assim com os dados de refinamento.

A adição de Nb na estrutura da Hap resultou em um aumento na desordem estrutural a longo alcance, conforme determinado pelo cálculo dos valores de largura a meia altura (FWHM) dos picos de difração nos planos (002), (211), (300) e (202). Consequentemente, o aumento da dopagem de Hap com íons de Nb^{5+} leva a uma diminuição significativa no tamanho de cristalito, conforme os resultados da Tabela 3.3, até a amostra contendo 7% de dopante, aumentando para a amostra de Hap.Nb10%, possivelmente devido a formação da fase secundária de CaNb_2O_6 .

Observa-se que o tamanho de cristalito teve significativa diminuição, mediante o aumento da concentração de nióbio. Tal fato pode estar relacionado ao aumento dos sítios de nucleação, devido a presença dos íons Nb^{5+} em solução, que pode ter inibido o crescimento dos cristalitos, acarretando assim na redução da cristalinidade do material, o que também foi observado por outros pesquisadores com a modificação de Hap com Zn^{2+} (Oliveira *et al.*, 2021b) e com íons de nióbio (Amorim, De *et al.*, 2021; Saranya e Prema Rani, 2021). Além disso, observa-se ainda que apenas o sólido modificado com 10% de nióbio tem um aumento do FWHM, podendo estar associado a presença do CaNb_2O_5 como fase indesejada.

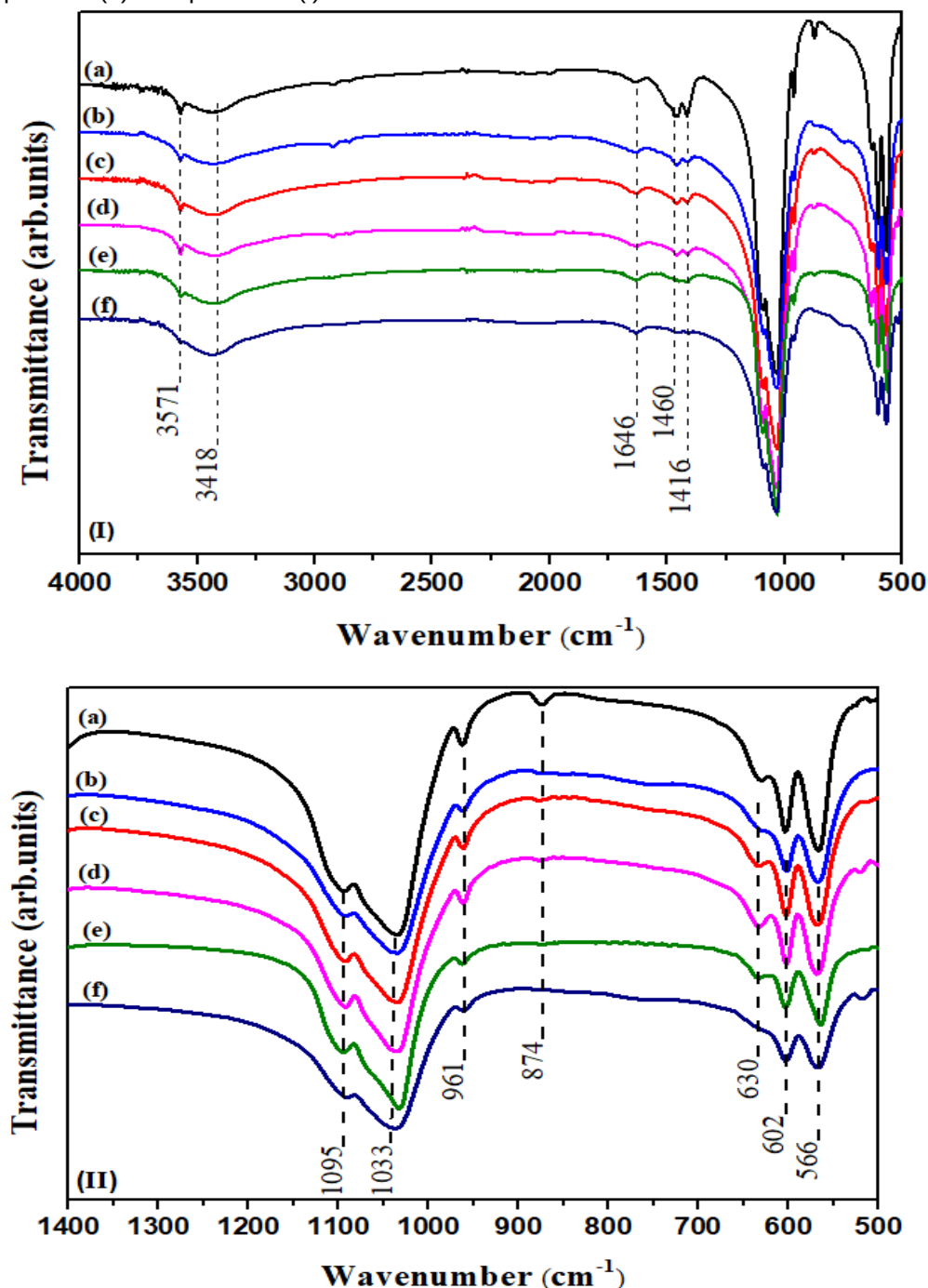
Tabela 3.3. Resultados de refinamento para o tamanho de cristalito (nm) pelo refinamento dos padrões de XRD usando o método de ajuste de Le Bail.

Composição	Análise de Le Bail						
	Hap	Hap.Nb1%	Hap.Nb3%	Hap.Nb5%	Hap.Nb7%	Hap.Nb10%	
Tamanho médio de cristalito (nm)	Hap	Hap	Hap	Hap	Hap	Hap	CaNb_2O_6
	17,51(2)	14,88(18)	11,87(13)	11,34(13)	7,74(9)	10.92(14)	28,2(9)
<i>GOF</i>	1,16	1.06	1,11	1,09	1,08		1,14
<i>R_{wp}</i>	11,25	10,10	10,18	9,69	9,13		9,57
<i>R_{Bragg}</i>	0,764	0,605	0,653	0,596	0,581	0,599	0,714
<i>FWHM</i>	0,7053	0,8166	0,9101	1,0261	1,1244		1,2461

3.4.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros de FTIR estão apresentados na Figura 3.6 e para todas as amostras mostraram bandas características de Hap na região abaixo de 1100 cm^{-1} (Pereira *et al.*, 2020).

Figura 3.6 (I) e (II) Espectros FTIR das amostras Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb3% (c), Hap.Nb5% (d), Hap.Nb7% (e) e Hap.Nb10% (f).



As bandas em 1095, 1033 e 961 cm^{-1} são atribuídas à deformação assimétrica dos grupos fosfatos (PO_4^{3-}) e ao estiramento P-OH em HPO_4^{2-} (Beasley *et al.*, 2014; Pramanik e Kar, 2013), além de uma absorção em 874 cm^{-1} corresponde a deformação P-O(H) (Pramanik e Kar, 2013; Silva *et al.*, 2017), que só aparece para a Hap sem modificações, possivelmente devido à ausência de defeitos estruturais, causadas nos outros sólidos devido ao processo de dopagem. Outras bandas podem

ser observadas em 602 e 566 cm^{-1} , atribuídas à deformação simétrica P-O do grupo PO_4^{3-} e à deformação da ligação P-O (H) do grupo HPO_4^{2-} , respectivamente (Oliveira *et al.*, 2021b). Para todas as bandas associadas aos grupamentos fosfatos, é possível observar de forma qualitativa a redução da intensidade das absorções, associado ao alargamento dos sinais, progressivos com o aumento da concentração de nióbio.

Tal fato pode estar associado a processos de compensação de cargas, pois como há uma significativa disparidade entre as cargas e os raios iônicos Ca^{2+} (10,6 nm) $\rightarrow$ Nb^{5+} (6,9 nm), a substituição pode provocar a formação de vacâncias de sítios catiônicos, o que consequentemente pode reduzir a coordenação catiônica de um oxigênio dentro dos tetraedros (PO_4^{3-}), encurtando a ligação P-O. O encurtamento desta ligação pode acarretar a perda de simetria, e, consequentemente, proporcionar o alargamento das absorções referentes ao PO_4^{3-} , como pode ser observado pelos valores crescentes de FWHM, conforme dados da Tabela 3.4, da banda principal em 1033 cm^{-1} , o que também foi observado por Ignjatović *et al* (2019).

Tabela 3.4. Valores de FWHM da banda de absorção no IR em 1033 cm^{-1} para a Hap pura e modificadas com Nb

Sólido	FWHM
Hap	78,65
Hap.Nb1%	83,84
Hap.Nb3%	84,05
Hap.Nb5%	85,84
Hap.Nb7%	88,40
Hap.Nb10%	89,65

A obtenção de valores crescentes de FWHM para a principal banda de fosfato quando se aumenta a concentração de Nb^{5+} , o que pode indicar que esse grupo sofreu uma modificação a curto alcance, contudo, tal modificação, não foi suficiente para provocar a desestabilização dos grupos fosfatos, o que pode indicar a estabilidade estrutural desses materiais, como foi observado pelos dados de difração de raios X.

Outras bandas também são observadas em 3571 cm^{-1} , atribuída ao estiramento OH dos grupos estruturais da Hap, e em 3448 cm^{-1} referente aos grupos OH da água fisicamente adsorvida (Manatunga *et al.*, 2018). Além dessas bandas, ocorreram ainda absorções em 1646 cm^{-1} atribuída a água adsorvida (Mercado *et al.*, 2014) e em 630 cm^{-1} referente a deformação O-H.

Ao se comparar o espectro da Hap com os dos sólidos modificados, observa-se que a banda referente a hidroxila estrutural da Hap tem sua intensidade

significativamente reduzida com o aumento da concentração de Nb, o que possivelmente pode estar relacionado com processos de compensação de carga.

Ainda nos espectros, estão presentes absorções referentes a presença de carbonato, observadas em 1416 e em 1460 cm^{-1} referentes ao estiramento C–O do grupo CO_3^{2-} , o que evidencia a formação de materiais carbonatados, tipo B (Madupalli, Pavan e Tecklenburg, 2017) que ocorreu devido ao método de síntese adotado, já que não houve o controle de atmosfera.

De forma similar ao que acontece com as bandas de referentes a hidroxila estrutural, o aumento da concentração de Nb, provoca a redução da intensidade das absorções referentes a presença do grupo CO_3^{2-} , até não ser mais evidenciada no sólido com a maior concentração do dopante, o que também foi observado por Amorim *et al* (2021) que realizou a mesma modificação. Tal fato também pode estar associado aos processos de compensação de carga, de modo a estabilizar a estrutura.

Frente a essas informações, acredita-se que a inserção da espécie Nb^{5+} deve ocorrer preferencialmente nos sítios de cálcio, como foi indicado pelos dados do refinamento Rietveld, e não nos sítios do fósforo, como acreditam alguns autores (Capanema *et al.*, 2015; Simomukay *et al.*, 2016).

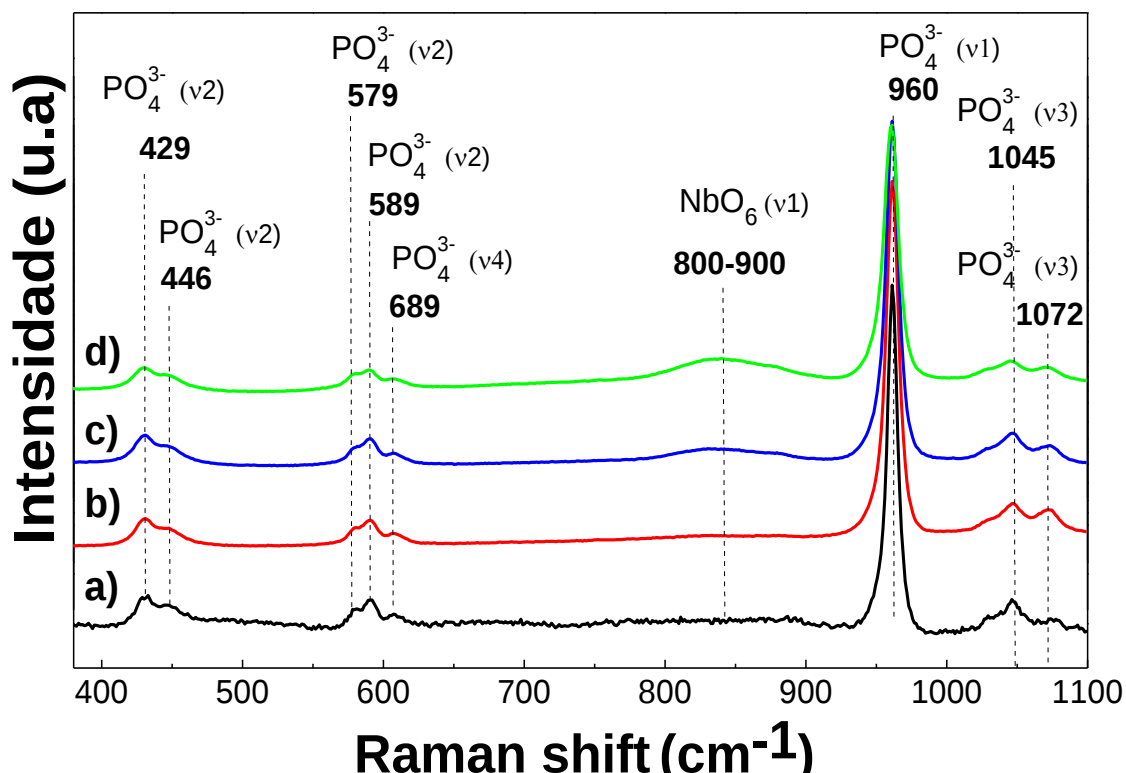
O Nb^{5+} é o único cátion estável de nióbio que assume coordenação tetraédrica, porém mesmo que ele apresente a mesma oxidação do fósforo na estrutura da Hap, essas espécies apresentam raios iônicos muito distintos, para o P^{5+} (1,7 nm em NC 4) e para o Nb^{5+} (4,8 nm em NC 4). Caso a substituição ocorra preferencialmente no sítio do fósforo, tal modificação poderia gerar um aumento significativo dos parâmetros de rede, principalmente no parâmetro *c*, o no volume da célula unitária, o que desestabilizaria de forma significativa a estrutura da Hap.

Tal observação corrobora com os dados de Santos e Rezende (2014) que utilizando cálculo computacional, por método DFT, otimizaram a estrutura da Hap dopada com cátions tri e tetravalentes, e observaram que envolver sítios de fosforo nas modificações, é geralmente desfavorável devido à forte interação P – O, o que resultaria em uma elevada energia, inviabilizando o sistema.

3.4.3. Espectroscopia Raman

A ordem estrutural a curto alcance das amostras também foi investigada por espectroscopia Raman. Os espectros das amostras estão apresentados na Figura 3.7 e apresentaram modos simétricos de alongamento da ligação P-O do PO_4^{3-} (ν_1) na estrutura Hap em 961 cm^{-1} (Riaz *et al.*, 2018). Os modos observados em 429 cm^{-1} (ν_2) e 446 cm^{-1} (ν_2) podem ser atribuídos à deformação O-P-O (Silva e Sombra, 2004) (, enquanto as bandas em 1049 e 1073 cm^{-1} correspondem aos modos de estiramento assimétrico (ν_3) das ligações P-O. Os modos em 591 e 617 cm^{-1} correspondem à deformações de O-P-O (ν_4) dos grupos fosfato (Dal Sasso *et al.*, 2018).

Figura 3.7 Espectros Raman das amostras: Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb5% (c) e Hap.Nb10% (d).



Os espectros Raman das amostras mostraram modos simétricos de estiramento da ligação P-O do PO_4^{3-} (ν_1) na estrutura HAp em 961 cm^{-1} (Riaz *et al.*, 2018). Os modos observados em 429 cm^{-1} (ν_2) e 446 cm^{-1} (ν_2) podem ser atribuídos à deformação O-P-O (Silva e Sombra, 2004), enquanto as bandas em 1049 e 1073 cm^{-1} correspondem ao estiramento assimétrico (ν_3) modos das ligações P-O. Os modos

em 591 e 617 cm^{-1} correspondem à deformação das ligações O-P-O (ν_4) dos grupos fosfato (Dal Sasso *et al.*, 2018).

É importante destacar que mudanças nos espectros Raman foram observadas após a inserção de íons de Nb^{5+} na rede da Hap para os sólidos contendo 5% e 10%. É possível observar o surgimento de um ombro largo, na região que vai de 800-900 cm^{-1} , que pode ser atribuindo aos modos Raman dos octaedros de NbO_6 . Tal comportamento foi evidenciado também por Zhu *et al.* (2006) que sintetizaram amostras de niobatos pelo método de hidrotermal. Nesta situação, é possível que a substituição do cálcio pelo nióbio, provoque uma redução no número de coordenação da espécie Nb^{5+} no sítio Ca(II), devido a redução da quantidade de hidroxilas estruturais da Hap, como estratégia de compensação de cargas, o que corrobora com os dados de FTIR.

Observa-se ainda que os dados de FWHM (Tabela 3.5) estimados para os picos em 960 cm^{-1} apresentam valores crescentes com o aumento da concentração de nióbio, podendo indicar a quebra de simetria, ou seja, aumento da desordem estrutural a curto alcance da rede cristalina da Hap, o que corrobora com os dados de refinamento e FTIR, e é consistente com os dados encontrados na literatura (Gomes *et al.* 2011). Além disso, a formação da fase secundária na amostra de Hap.Nb10% pode levar a um aumento na tensão cristalina com a fase majoritária da HAp provocando aumento da desordem estrutural na amostra.

Tabela 3.5 Valores de FWHM da banda 961 cm^{-1} para a Hap pura sólidos modificados com nióbio

Sólido	FWHM
Hap	8,71
Hap.Nb1%	10,98
Hap.Nb5%	11,16
Hap.Nb10%	13,27

3.4.4. Fluorescência de Raios x (FRX)

A espectrometria de fluorescência de raios X (FRX) foi utilizada para avaliar de forma qualitativa e quantitativa os elementos químicos presentes nos sólidos puro e modificados. Os resultados de FRX apresentado na Tabela 3.6 mostram que as amostras apresentam a mesma composição química de Ca e P, além da presença de

Nb nas amostras dopadas. A partir resultados obtidos verificou-se que na Hap obtida neste trabalho possui uma razão $\text{Ca/P} = 1,66$. Tal valor é muito próximo da Hap estequiométrica ($\text{Ca/P} = 1,67$), o que indica a eficiência do método de síntese escolhido para obtenção do material.

Tabela 3.6. Valores obtidos para os principais componentes dos sólidos modificados (C, P e Nb)

Sólido	Cálcio	Fosforo	Nióbio	Mol Ca	Mol P	Mol Nb	(Ca+Nb)/P
Hap	55,12	48,88	-	0,98	0,63	-	1,66
Hap.Nb1%	54,65	42,53	2,81	0,98	0,60	0,021	1,66
Hap.Nb3%	51,69	41,36	6,89	0,92	0,58	0,052	1,67
Hap.Nb5%	50,55	41,48	6,79	0,90	0,60	0,051	1,63
Hap.Nb7%	47,76	40,98	10,99	0,85	0,58	0,083	1,62
Hap.Nb10%	44,09	37,94	17,73	0,79	0,53	0,133	1,72

A quantidade de cálcio e fósforo nas amostras diminuem gradativamente com o aumento da dopagem com Nb, o que corrobora com as outras técnicas utilizadas neste trabalho que também indicaram a presença desta espécie. Com isso, foi observado ainda que os valores estimados para a relação $(\text{Ca+Nb})/\text{P}$ nas amostras são próximas à relação estequiométrica da hidroxiapatita pura, o que pode indicar que o nióbio esteja compensando a deficiência de cálcio pela sua substituição na rede da Hap, uma vez que a quantidade de nióbio disponibilizada durante a síntese dos sólidos modificados foi equivalente a quantidade de cálcio retirado. No entanto, essa relação $(\text{Ca+Nb})/\text{P}$ aumenta significativamente com o aumento de dopagem para 10% de Nb, o que pode estar relacionado ao surgimento da de niobato de cálcio como fase secundária detectada por difração de raios X e pelo Raman na amostra de Hap.Nb10%.

3.4.5. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

A natureza química e a composição elementar da superfície dos sólidos foram investigadas por medidas de XPS. A partir dos espectros, observou-se a presença de Ca, P, e O para a Hap, além da presença do Nb em todas as modificações propostas de HAp dopadas com tal elemento, como mostra a Figura 3.8. Uma análise mais aprofundada de deconvolução dos espectros também foi realizada, como mostra um

exemplo na Figura 3.9. Esses resultados corroboram com os dados de refinamento estrutural de Rietveld, fluorescência de raios X e espectroscopia Raman, ao indicar a presença do nióbio nos sólidos dopados.

Figura 3.8 Espectros XPS das amostras: Hap (a), Hap.Nb1% (b), Hap.Nb3% (c), Hap.Nb5% (d), Hap.Nb7% (e) e Hap.Nb10% (f).

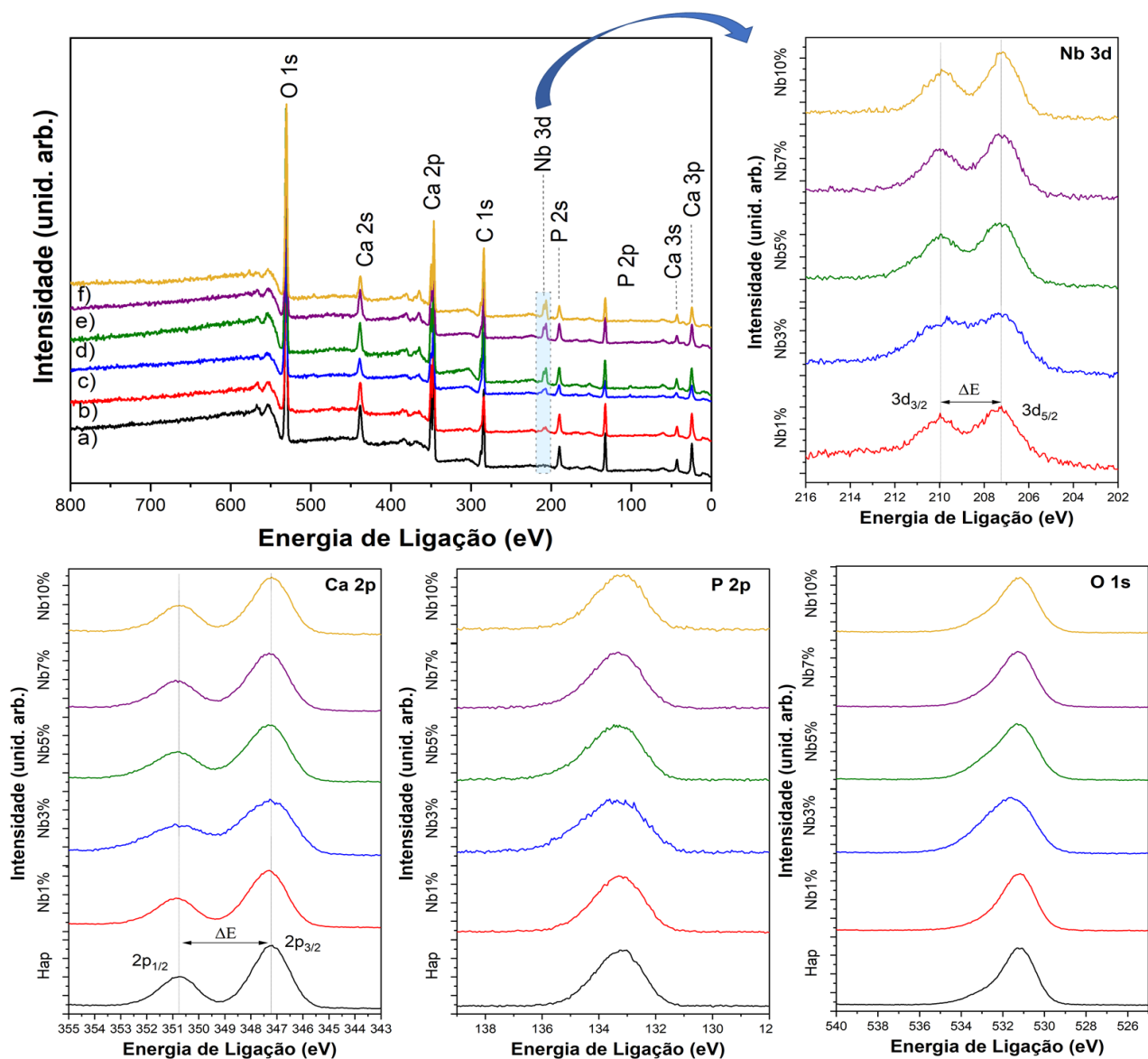
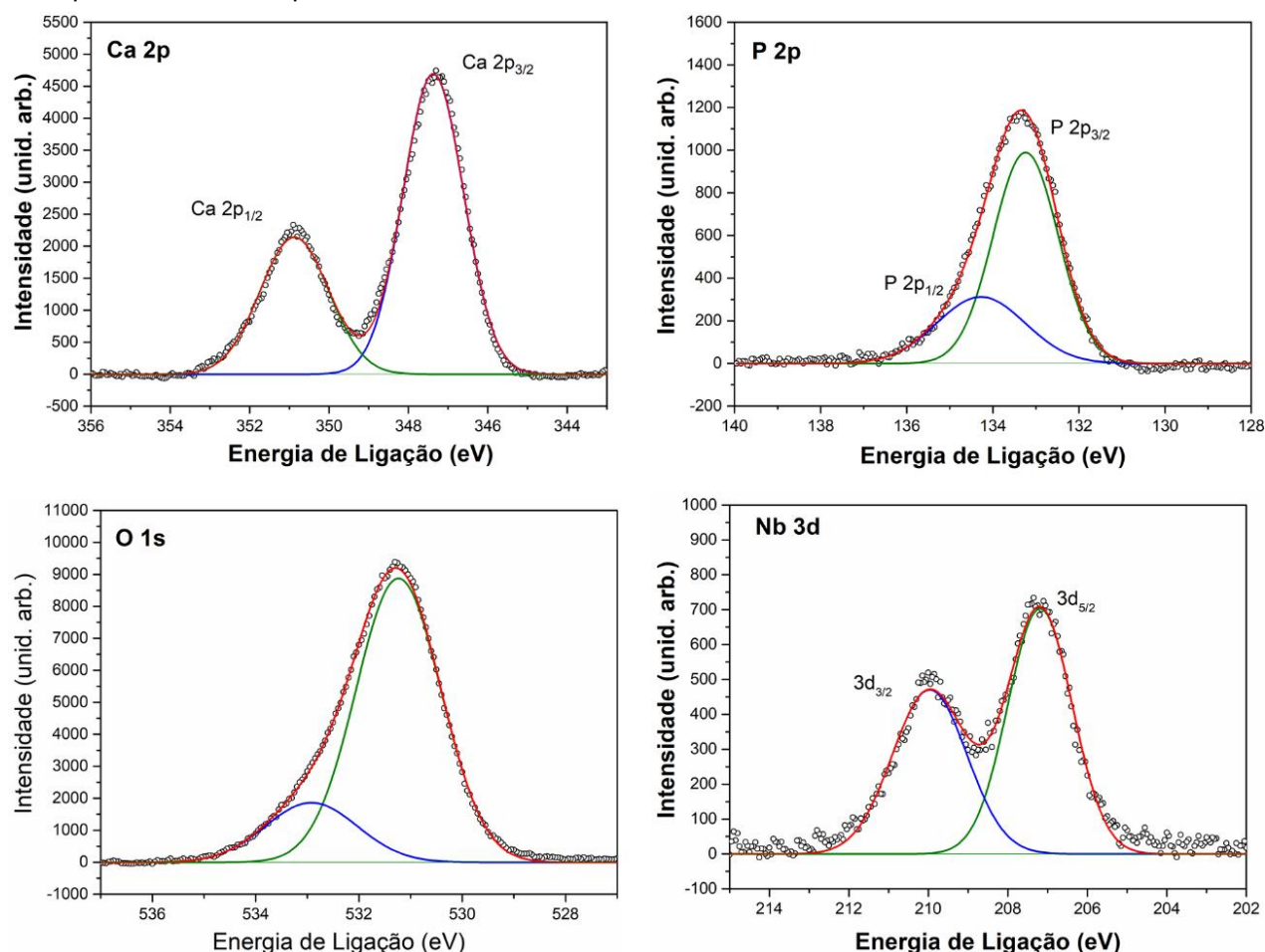


Figura 3.9. Deconvolução dos espectros de alta resolução de XPS nas linhas de emissão do Ca, P, O e Nb para a amostra Hap.Nb7%.



De acordo com a literatura, o espectro de XPS de Ca2p em amostras de HAp apresenta dois picos bem definidos correspondentes aos orbitais Ca2p_{3/2} e Ca2p_{1/2} (Oliveira *et al.*, 2021b). Os picos relacionados ao orbital Ca2p de alta resolução dos materiais sintetizados, podem ser deconvoluídos em dois sinais, cujas energias de ligação (ELs) variam de acordo com a composição dos sólidos obtidos. No espectro Ca2p da amostra pura, o pico Ca2p_{3/2} foi observado em 350,80 eV associado as ligações Ca-O(P) nos sítios Ca (I) e Ca(II), além das ligações Ca-O(H), presentes no sítio de cálcio II, enquanto o pico Ca2p_{1/2} foi observado em 347,25 eV atribuído à ligação do Ca-O(C) referentes aos grupos carbonatos adsorvidos na superfície, como também foi observado por outros autores (Dreghici *et al.*, 2020; López *et al.*, 2013).

A energia de acoplamento de spin (ΔE) estimado para a amostra pura de HAp foi de 3,55 eV. Após inserção de íons Nb⁵⁺ na rede da HAp, picos mais alargados e menos definidos são observados nos espectros de Ca2p, além de um deslocamento dos picos para regiões de maiores valores de EL, principalmente na amostra

Hap.Nb3% indicando possível substituição do tipo Nb/Ca na estrutura da Hap, as energias de ligação dos orbitais $\text{Ca}2p_{3/2}$, $\text{Ca}2p_{1/2}$, bem como a energia de acoplamento de spin estão sumarizadas na tabela 3.7.

Tabela 3.7. Valores das energias de ligação dos orbitais e a energia de acoplamento de spin.

	Hap	Hap.Nb1%	Hap.Nb3%	Hap.Nb5%	Hap.Nb7%	Hap.Nb10%
EL $\text{Ca}2p_{3/2}$ (eV)	350,80	347,38	347,32	347,39	347,36	347,24
EL $\text{Ca}2p_{1/2}$ (eV)	347,25	350,90	350,69	350,85	350,85	350,76
ΔE (eV)	3,55	3,52	3,37	3,46	3,49	3,55

Para o oxigênio foi observado o pico do orbital $\text{O}1s$ das amostras com perfil assimétrico, o que indica a sobreposição de sinais. Esses sinais foram decompostos em 2 picos distintos. O primeiro pico observado em 531,10 eV foi atribuído a ligação O-P dos tetraedros de fosfatos e grupos OH da estrutura da hidroxiapatita, e o segundo pico localizado em 532,13 eV referentes a espécie de oxigênio quimicamente adsorvidos na superfície das amostras (Xue *et al.*, 2019).

A presença do fósforo foi evidenciada pela presença do orbital $\text{P}2p$. O sinal deste orbital apresentou um pico de perfil assimétrico, sugerindo a sobreposição dos orbitais $\text{P}2p_{3/2}$ e $\text{P}2p_{1/2}$. A presença deste pico de forma assimétrica também foi observado por Oliveira *et al.* (2021a) ao dopar a estrutura da Hap com Zn^{2+} , e segundo Bharath *et al.* (2017) e Lowry *et al.* (2017) este perfil assimétrico é uma característica dos compostos à base de fosfato. O pico referente ao orbital $\text{P}2p_{3/2}$ e $\text{P}2p_{1/2}$ foram observados em 132,95 eV e 133,75 eV, respectivamente, com energia de acoplamento de spin (ΔE) = 0,80 eV sendo atribuído a ligação P-O dos grupos PO_4^{3-} (López *et al.*, 2013).

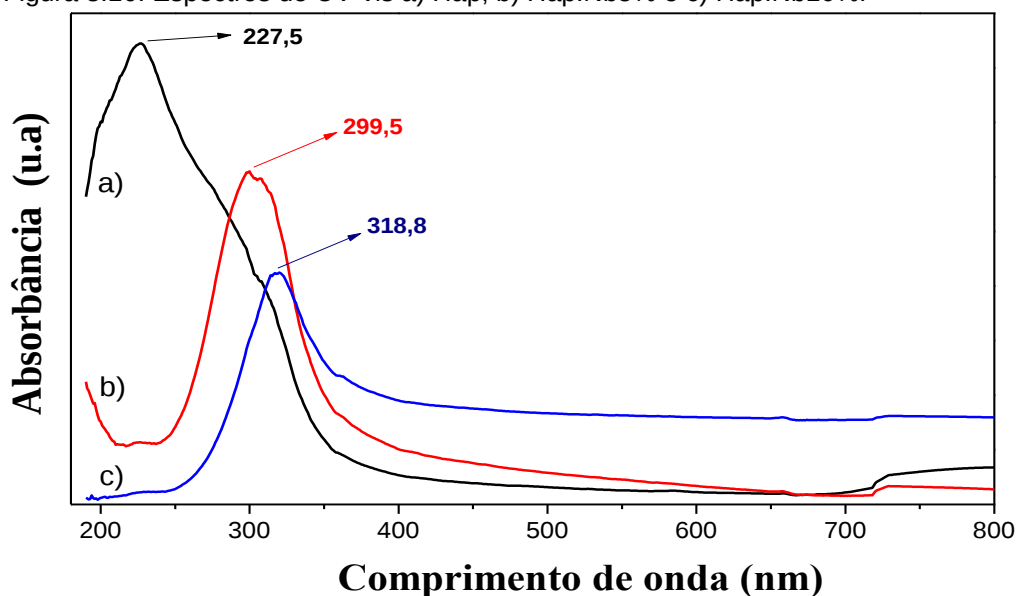
Para os sólidos modificados, observa-se a presença de dois picos adicionais, em relação ao espectro da HAp pura. Esses picos foram associados apenas a presença da espécie de Nb^{5+} (Atuchin *et al.*, 2005) referente aos orbitais $\text{Nb}3d$. Os picos observados foram referentes aos orbitais $\text{Nb } 3d_{3/2}$ e $\text{Nb } 3d_{5/2}$, localizados em 207,30 eV e 208,49 eV respectivamente, e foram atribuídos a ligação $\text{Nb}^{5+}\text{-O}$ no sítio de Ca(II) (Guo *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2019). Observa-se ainda que com o aumento da concentração de nióbio, os picos referentes aos seus orbitais ficam cada vez mais evidentes, o que pode indicar a maior incorporação de nióbio nesses sólidos e a uma maior organização nas ligações $\text{Nb}^{5+}\text{-O}$. Dentre as várias espécies catiônicas de nióbio, o Nb(V) é a única espécie que possui NC igual a 7, o que poderia viabilizar a

substituição no sítio Ca(II), como sugere os dados de refinamento estrutural de Rietveld.

3.4.6. Espectroscopia UV-vis de refletância difusa

O espectro UV-vis de refletância difusa da Hap (Figura 3.10) consiste em uma ampla banda localizada em torno de 200-300 nm, atribuída à transferência de carga $O^{2-} \rightarrow Ca^{2+}$ de ambos os sítios de Ca(I) e Ca(II), o que também foi observado por Carniti *et al* (2014), que propôs a mesma modificação estrutural utilizando o nióbio.

Figura 3.10. Espectros de UV-vis a) Hap, b) Hap.Nb5% e c) Hap.Nb10%.



Para os sólidos com adição de Nb, observa-se nos espectros que a banda referente a transição de carga para o cálcio sofre uma redução, e um deslocamento para maiores comprimentos de onda, possivelmente devido a substituição do cálcio por nióbio. Observa-se ainda que o sólido com a maior concentração de nióbio (Hap.Nb10%), continua absorvendo em toda região do visível, o que possivelmente é atribuído a transferência de carga de ligante para metal $O^{2-} \rightarrow Nb^{5+}$ nos octaedros de NbO_6 (Zhu *et al.*, 2006), o que corrobora com os dados de Raman e FTIR.

Além dessas observações, nota-se para os sólidos modificados não foram identificados sinais em 230 nm, que segundo alguns autores é atribuído a transferência de carga de ligante para metal $O^{2-} \rightarrow Nb^{5+}$ em coordenação tetraédrica (Carniti *et al.*, 2014; Scotti *et al.*, 2019; Zhu *et al.*, 2006). A ausência deste sinal pode

indicar que o nióbio inserido na estrutura da Hap não assume este tipo de coordenação, o que corrobora com os dados do refinamento Rietveld, ao sugerir que a substituição ocorra no sítio Ca(II), e não nos sítios tetraédricos do grupo PO_4^{3-} .

3.4.7. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com EDS (MEV-EDS)

A fim de averiguar a morfologia e o mapa composicional dos sólidos modificados com nióbio, foi feito o MEV-EDS. Para a Hap (Figura 3.11), as imagens de MEV evidenciam que a morfologia deste material é formada por partículas aglomeradas de formato levemente arredondadas, com bordas bem definidas. Já os mapas mostram que os elementos constituintes da Hap estão bem dispersos (Figura 3.12), não havendo a formação de aglomerados.

Figura 3.11. Imagens de MEV da Hap pura com diferentes ampliações

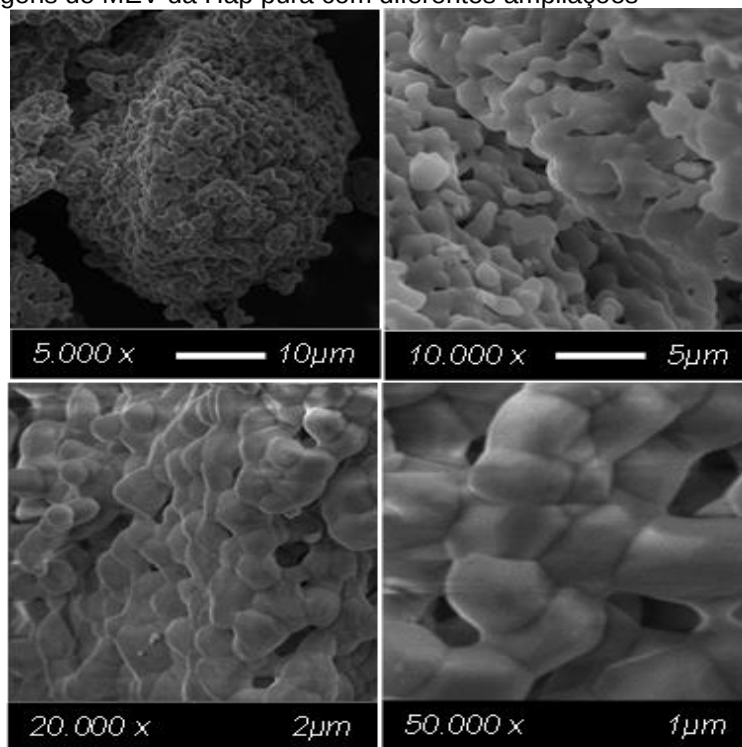


Figura 3.12. Mapeamento EDS da Hap pura

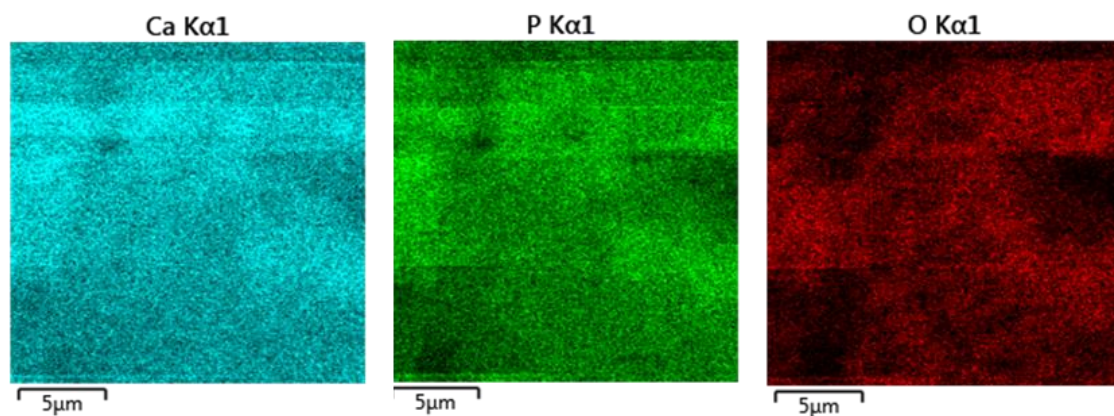


Figura 3.13. Imagens de MEV da Hap.Nb10% com diferentes ampliações

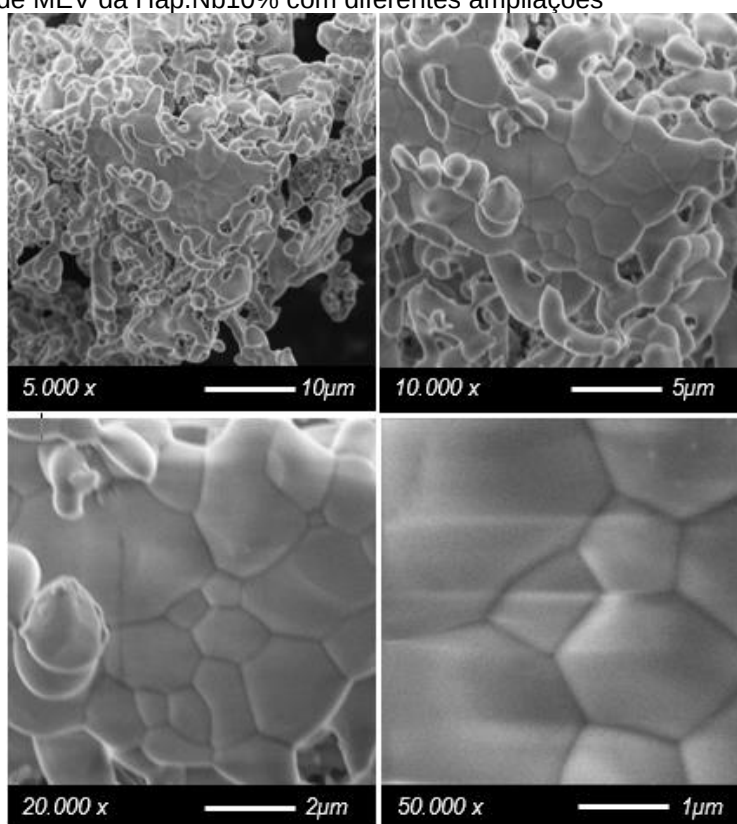
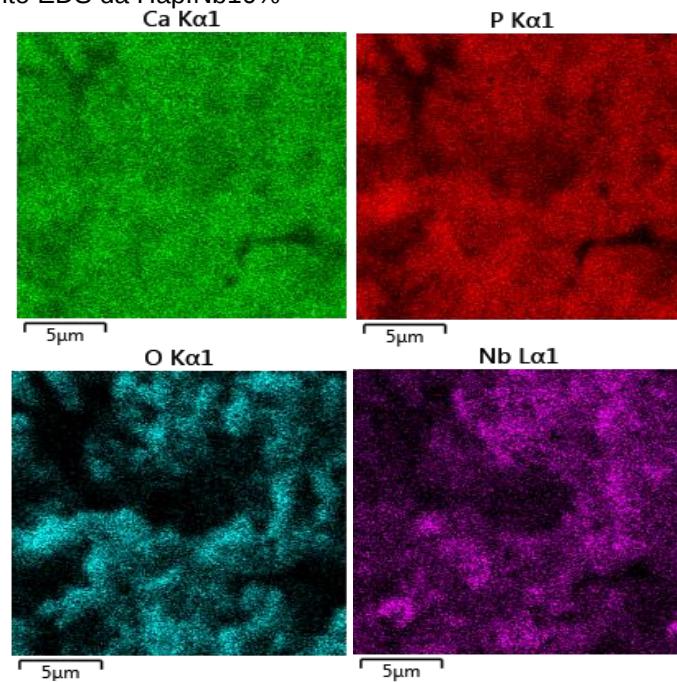


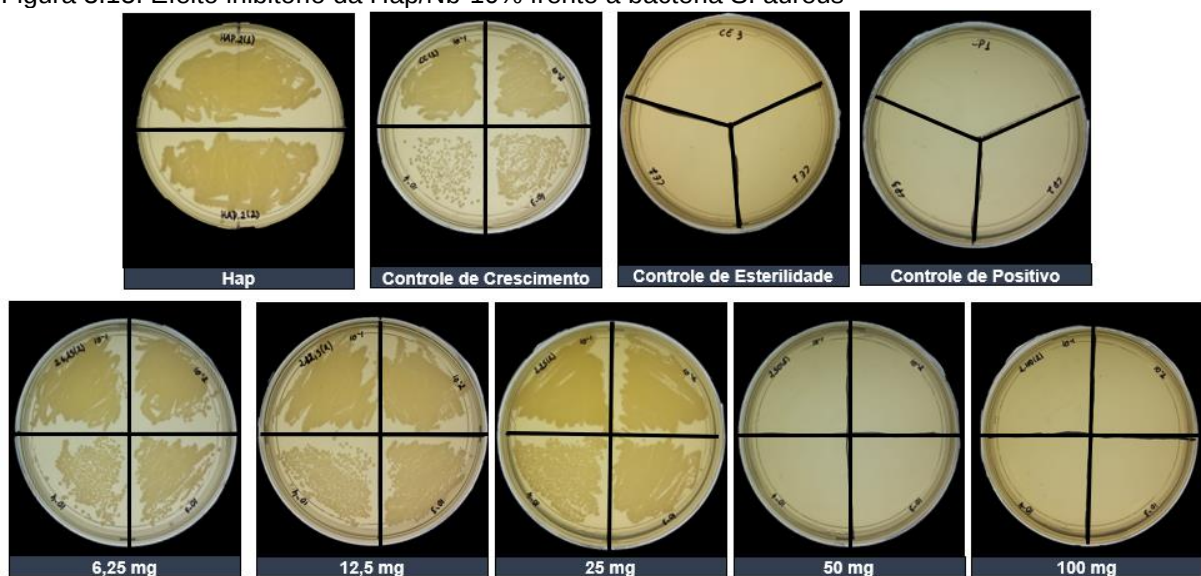
Figura 3.14. Mapeamento EDS da Hap.Nb10%



3.4.8. Teste de atividade antimicrobiana

As imagens das placas de Petri referente aos testes antimicrobianos frente a bactérias *S. aureus* após o uso dos sólidos em diferentes quantidades em massa, assim como os controles de crescimento, positivo e de esterilidade são apresentados na Figura 3.15.

Figura 3.15. Efeito inibitório da Hap/Nb-10% frente a bactéria *S. aureus*



Observou-se que a Hap pura não apresentou ação antibacteriana frente a *S. aureus*. No entanto, o sólido modificado com nióbio (Hap/Nb-10%), observa-se um efeito de inibição da cepa bacteriana com o aumento da quantidade de sólido avaliado, que para esses ensaios, foi de 50 mg. A partir desta massa, observa-se que o material apresentou ação antibacteriana nas condições avaliadas.

Esse resultado corrobora com os dados apresentados por Saranya e Prema (2021), que também observaram a ação antibacteriana da Hap dopada com Nb frente a *Streptococcus oralis* e a *Streptococcus pyogenes*, por contato direto, utilizando a técnica de disco-fusão.

3.6 CONCLUSÕES

A partir das caracterizações realizadas, acredita-se de que é possível modificar a estrutura cristalina da hidroxiapatita, dando origem a sólidos com valores de razão (Ca/P) próximos ao da hidroxiapatita estequiométrica, indicando que a entrada de nióbio na estrutura, não desestabiliza a estrutura deste fosfato, além de possibilitar a obtenção de novos materiais com ação antibacteriana.

Os resultados preliminares apontam que a Hap modificada com nióbio pode configurar como um novo material para aplicações biotecnológicas.

Capítulo 4

**Fluorapatitas modificados com nióbio obtidos por
co-precipitação**

4.1 INTRODUÇÃO

A fluorapatita (Fap) é um material análogo a hidroxiapatita, diferindo entre outros aspectos, principalmente pela sua composição química, pois não apresenta hidroxilas estruturais, e sim íons fluoretos (Bohre, Avasthi e Pet'kov, 2017), que também estão localizados, dentro dos canais hexagonais formados pelos sítios de Ca (II).

Devido a sua acentuada densidade de carga e reduzido raio iônico, os íons fluoretos presentes na estrutura da Fap, proporcionam a contração dos parâmetros de rede, além de provocar uma redução na energia do retículo cristalino em comparação a Hap (Chen *et al.* 2006; Pajor, Pajchel e Kolmas, 2019). Desta forma, a fluorapatita (Fap) exibe uma estrutura termodinamicamente mais estável, mais reativa e mais resistente a pHs ácidos (Chen *et al.* 2006).

Associada a essas características, a Fap apresenta a capacidade de liberar íons de flúor, o que a torna um atraente material para área odontológica. Quando presente em concentrações suficientes a depender da cepa bacteriana em questão, a Fap apresenta uma acentuada toxicidade para bactérias cariogênicas, atuando na inibição de suas vias metabólicas (Walmsley *et al.*, 2007), auxiliando assim no controle da cárie radicular, podendo reduzir a taxa de progressão da cárie, além de induzir a parada de lesões ativas (Srinivasan *et al.* 2014), apresentando-se assim como uma importante ferramenta para a manutenção da saúde bucal.

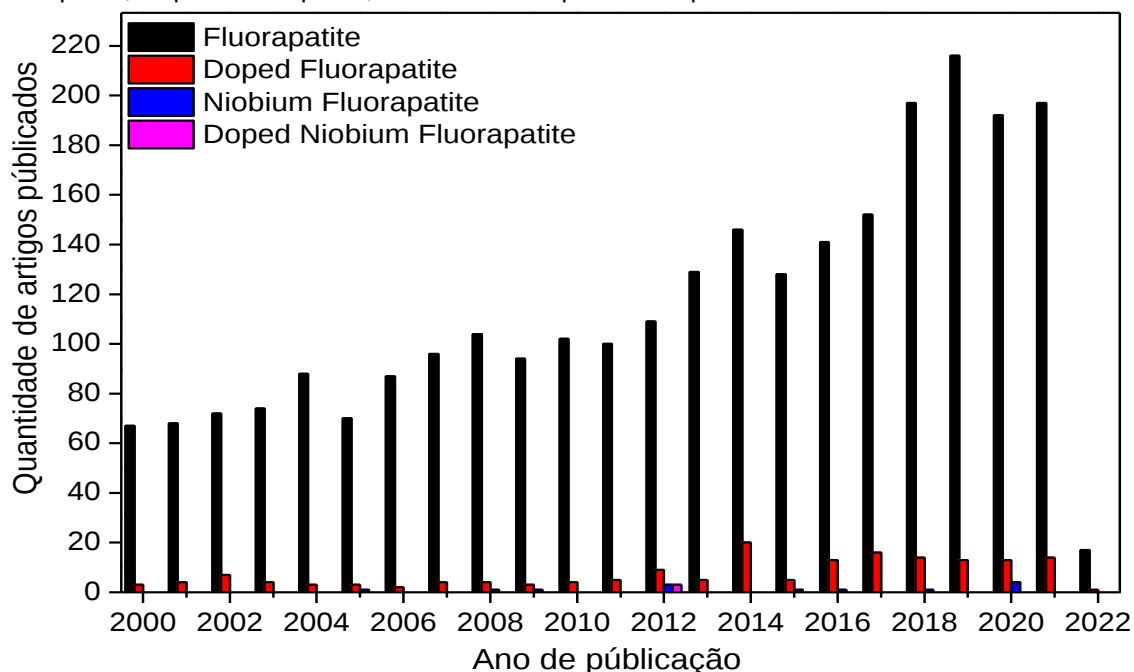
Frente a sua relevância para a saúde humana no Brasil, a fluoração das águas de abastecimento público ocorre desde 1974 para as localidades que dispõem de estações de tratamento, conforme a lei federal 6.050 (BRASIL, 1974).

Desta forma, devido as possibilidades de aplicações da Fap, decidiu-se avaliar a influência do nióbio na estrutura deste fosfato de cálcio, de modo a obter um sinergismo entre suas propriedades, pois ainda não há relatos na literatura que evidenciem a ocorrência deste tipo de modificação, e as possíveis melhoras nas propriedades.

De fato, para condução deste trabalho foi feita uma pesquisa bibliográfica de artigos que apareceram no banco de dados da Web of Science (Advanced Topic – TS) de 2000 a 31 de janeiro de 2022. Para tal pesquisa, as palavras chaves Fluorapatite, Doped Fluorapatite, Niobium Fluorapatite e Doped Niobium Fluorapatite

foram incluídas como critério de busca, que apontaram 2.646, 169, 4 e 2 referências, respectivamente, como mostra a Figura 4.1.

Figura 4.1. Resultado de busca no banco de dados da Web of Science através da palavras-chave Fluorapatite, Doped Fluorapatite, Niobium Fluorapatite e Doped Niobium



As pesquisas referentes as duas últimas palavras chaves, estão relacionadas a duas vertentes, a produção de vitrocerâmicas de fluorapatita contendo nióbio, obtidas mediante fusão utilizando SiO_2 , MgO , CaO , Na_2O , K_2O , Al_2O_3 , F , P_2O_5 e Nb_2O_5 (Denry, Holloway e Gupta, 2012; Denry *et al.*, 2005; Kushwaha *et al.*, 2012), e o recobrimento de implante metálico utilizando um compósito baseado em fluorapatita e nióbio metálico, obtido por mecanoquímica utilizando Ca(OH)_2 , P_2O_5 e CaF_2 (Fathi, Zahrani e Zomorodian, 2009).

Portanto, levando em conta os objetivos dessa tese, e por não haver dados na literatura que apontem para existência de estudos voltados para dopagem estrutural da Fap, foi realizada a modificação *in situ* da Fap com o uso do oxalato amoniacal de nióbio por co-precipitação, cujo objetivo foi o de averiguar a incorporação do Nb na estrutura da Fap. Os sólidos foram aplicados para adsorção de tetraciclina e, posterior, como agente antimicrobiano foi avaliada frente a bactéria *Gran* positiva.

4.2. METODOLOGIA

4.2.1. Reagentes químicos

Os reagentes utilizados foram todos com grau de pureza acima de 95% e sem purificação prévia, cuja listagem está na Tabela 4.1.

Tabela 4.1. Reagentes utilizados na síntese da Hap.

Reagente	Fórmula	Fornecedor
Água deionizada	H ₂ O	-
Hidrogenofosfato de diamônio	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Merck
Cloreto de cálcio	CaCl ₂	Sigma Aldrich
Fluoreto de sódio	NaF	Merck
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec
Oxalato amoniacal de nióbio	NH ₄ H ₂ [NbO(C ₂ O ₄) ₃]	Doado pela CBMM
Cloridrato de tetraciclina	C ₂₂ H ₂₄ N ₂ O ₈	Sigma Aldrich

4.2.2. Síntese da Fap

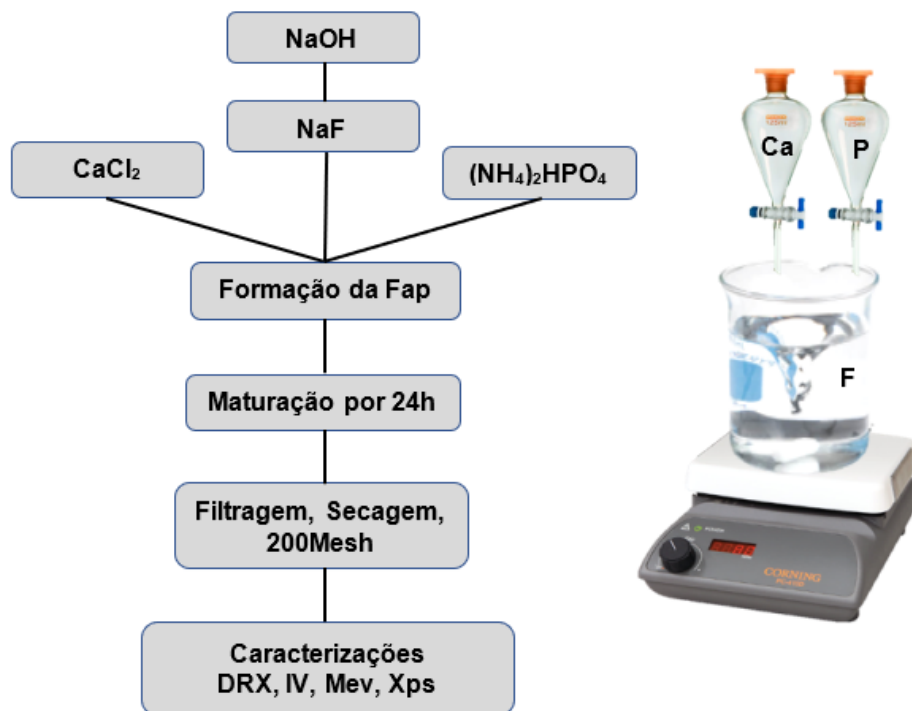
A síntese da fluorapatita foi realizada por co-precipitação, partindo de soluções aquosas do fluoreto de cálcio (1,66 g dissolvidos em 250 mL de água deionizada), hidrogenofosfato de diamônio (15,58 dissolvidos em 250 mL de água deionizada) e cloreto de cálcio (29,11g solubilizados em 250 mL de água deionizada), cuja razão em mol Ca/P foi mantida em 1,67.

Inicialmente foi preparada uma solução de NaOH a pH 10, e em seguida a mesma foi transferida para um becker e foi agitada a 500 rpm durante 5 min a temperatura ambiente, e em seguida foi adicionado o fluoreto de sódio. posteriormente, adicionou-se de forma simultanea, numa vazão de 1 mL min⁻¹, as soluções aquosas de cloreto de cálcio e hidrogenofosfato de diamônio.

Ao final da adição dos precursores de cálcio e fósforo, o precipitado formado foi envelhecido sob agitação a 100 rpm a temperatura ambiente por 24 h. Em seguida, o sólido resultante foi filtrado por filtração simples e lavado com água deionizada. Posteriormente, o material foi encaminhado para secagem em estufa a 100 °C por 24

h, como mostra a Figura 4.2, que sumariza as etapas envolvidas neste processo de síntese.

Figura 4.2. Procedimento de síntese da Fap.



4.2.3. Modificação estrutural da Fap

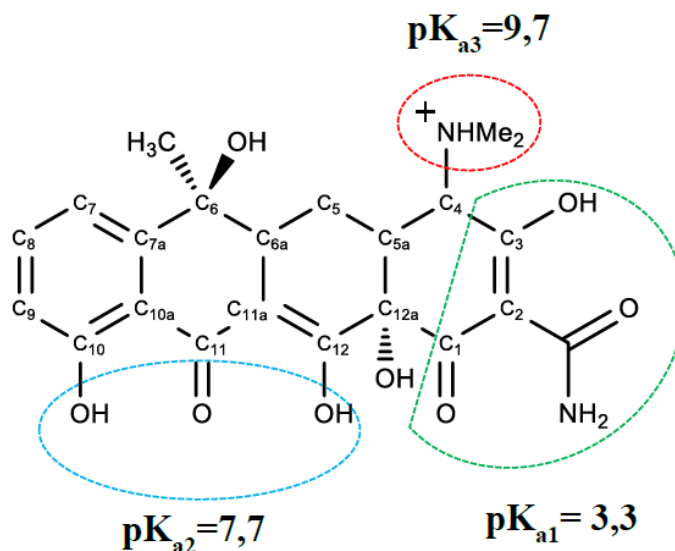
Para o processo de modificação com nióbio, utilizou-se o mesmo processo com descrito na seção 3.2.3 do capítulo 3 (rota 1), utilizando o oxalato amoniacal de nióbio como precursor dos íons Nb^{5+} . Para a modificação foram avaliadas 2 proposições variando-se a quantidade de nióbio em 5 e 10% em mol em relação a quantidade de cálcio presente nos sólidos, tais quantidades foram escolhidas pois foram as concentrações inicial e a final cuja a presença de nióbio possa ter iniciado a formação de uma segunda fase, como foi identificado através do Raman, no capítulo anterior.

4.2.4. Adsorção do cloridrato de tetraciclina

Os ensaios de adsorção da tetraciclina, foram realizados utilizando a Fap pura no método de batelada. Os testes de adsorção foram realizados utilizando uma solução aquosa de tetraciclina a 100 mg L^{-1} em pH 6, utilizando diferentes dosagens

de adsorvente, tempos de contato com a solução e concentrações iniciais do fármaco, cuja estrutura está apresentada na Figura 4.3.

Figura 4.3. Estrutura da tetraciclina. Fonte Oliveira, 2021



Inicialmente foi avaliado o efeito da dosagem do adsorvente. Para esse estudo foram utilizadas as massas de 5, 10, 25, 50, 75, 100, 150, 200 e 300 mg que foram colocadas em contato com 20 mL da solução do fármaco (100 mg L^{-1}) a 25°C por 24 h em pH 6. Decorrido o tempo de contato, a suspensão foi centrifugada a 7.500 rpm por 15 min e o sobrenadante foi quantificado por espectroscopia ultravioleta-visível (UV-Vis) em um equipamento da Shimadzu, modelo UV-2550, utilizando o principal pico de absorção da TCC (354 nm). Após as leituras, a quantidade adsorvida (q), foi calculada através da Equação 4.11.

Equação 4.11

$$q = \frac{v(c_o - c_e)}{m}$$

q = quantidade adsorvida (mg L^{-1})

C_o = concentração inicial da TCC (mg L^{-1})

C_e = concentração final da TCC (mg L^{-1})

V = volume (L)

M = massa do adsorvente (g)

Para o estudo do efeito do tempo, foi utilizada a massa que atingiu o equilíbrio de adsorção, na isoterma de dosagem do adsorvente, em intervalos de tempos variando de 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120, 150, 180 e 240 minutos. Esses sistemas foram mantidos a 25°C em pH 6, e utilizando 20 mL da solução do fármaco a 100 mg L⁻¹.

A cinética de adsorção foi investigada pelo ajuste não linear dos dados obtidos as equações dos modelos de pseudo-primeira-ordem, pseudo-segunda-ordem e Elovich, assim como descrito na Tabela 4.2.

Tabela 4.2. Modelos aplicados ao estudo cinético equilíbrio

Modelo	Equação*	Referência
Pseudo-primeira-ordem	$q_t = q_e(1 - e^{-k_1 t})$	(Lagergren, 1898)
Pseudo-segunda-ordem	$q_t = \frac{q_e^2 k_2 t}{1 + k_2 t}$	(Ho e McKay, 1999)
Elovich*	$q_t = \frac{1}{\beta} \ln(\alpha \beta t)$	(Chien e Clayton, 1984)

*Equação simplificada, assumindo $\alpha \beta t \gg 1$.

Em que:

q_t é a quantidade adsorvida em fator do tempo

q_e é a quantidade do fármaco adsorvido no equilíbrio (mg g⁻¹)

k_1 - Constante de pseudo-primeira-ordem (min⁻¹)

k_2 - Constante de pseudo-segunda-ordem (g mg⁻¹ min⁻¹)

α – Taxa inicial de adsorção (mg g⁻¹ min⁻¹)

β – Constante de Elovich (g mg⁻¹)

t - tempo (min)

Para o estudo de equilíbrio, foram utilizadas a massa e o tempo de equilíbrio das isotermas anteriores, variando a concentração inicial do fármaco em 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 e 100 mg L⁻¹. Esses sistemas foram mantidos a 25°C em pH 6, e utilizando 20 mL da solução do fármaco.

Os dados obtidos nas isotermas de equilíbrio foram ajustados aos modelos Langmuir, Freundlich e Temkin, como sumarizados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3. Modelos aplicados as isotermas de equilíbrio

Modelo	Equação*	Referência
--------	----------	------------

Langmuir	$q_e = \frac{q_{\max} K_L C_e}{1 + K_L C_e}$	(Langmuir, 1918)
Freundlich	$q_e = K_F C_e^{\frac{1}{n}}$	(Freundlich, 1906)
Temkin	$q_e = \frac{RT}{b_T} \ln (A_T C_e)$	(Temkin e Pyzhev, 1940)

Em que:

C_e é a concentração de equilíbrio do fármaco (mg L^{-1})

q_e é a quantidade do fármaco adsorvido no equilíbrio (mg g^{-1})

$q_{\max}$ é a capacidade máxima de adsorção do adsorvente (mg g^{-1})

K_L é a constante de Langmuir (L mg^{-1})

K_F é a capacidade de adsorção (mg g^{-1})

b_T é a entalpia de adsorção (J mol^{-1})

A_T é a constante isotérmica (L mg^{-1})

R é a constante dos gases ideais ($8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}$)

T é a temperatura absoluta (K)

4.2.5 Atividade antimicrobiana *in-vitro*

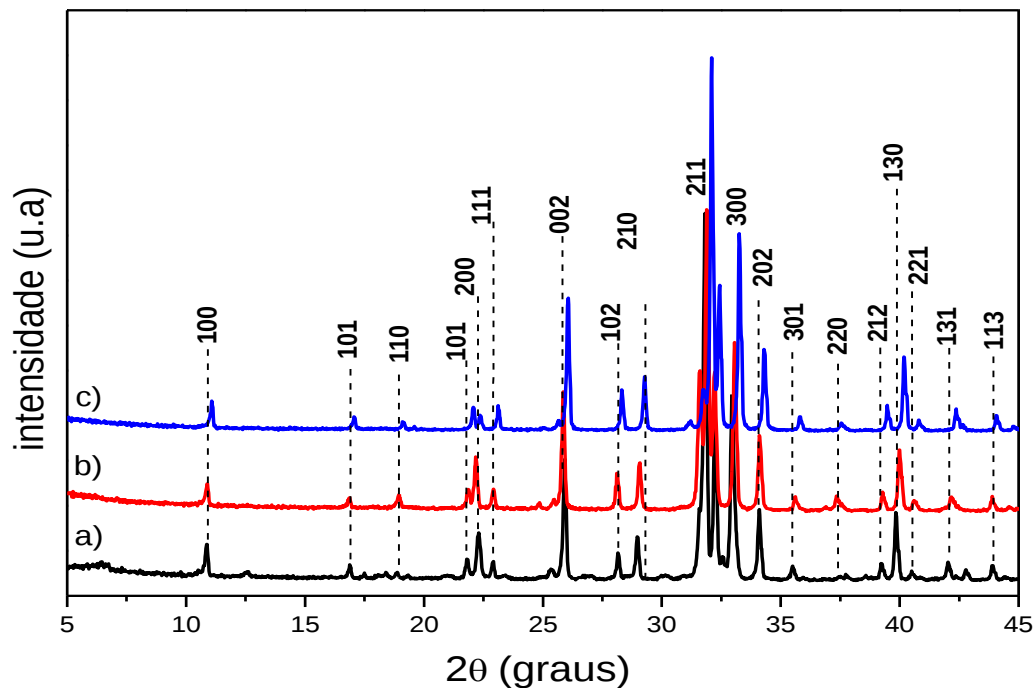
Para a realização dos ensaios antibacterianos seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 3.3.5 do Capítulo III.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.3.1 Difratometria de raios X (XRD)

Os padrões de difração para as fluorapatitas pura e modificadas com nióbio são mostradas na Figura 4.4. Os picos de difração das amostras foram indexados conforme a fase hexagonal da Fap, com o grupo espacial P63/m de acordo com a carta JCPDS 015-0876.

Figura 4.4. Difratomogramas de raios x para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e Fap.Nb10%



A partir dos difratogramas obtidos, observa-se que os sólidos modificados apresentam apenas picos referentes da fase da Fap, indicando a obtenção desse material. Adicionalmente é possível observar também a ocorrência de deslocamentos para maiores valores de 2θ , sendo esses deslocamentos mais expressivos para o sólido com a maior quantidade de modificação (Fap.Nb10%).

Tais deslocamentos podem estar associados ao processo de substituição do cálcio pelo nióbio na estrutura deste fosfato. Como os raios iônicos destas espécies são significativamente diferentes Ca^{2+} (10,6 nm) e Nb^{5+} (6,9 nm), a estrutura do material posteriormente a modificação tende a sofrer uma contração, de modo a estabilizar a estrutura da Fap, e modificando os parâmetros de rede, como apresentados na tabela 4.4.

Tabela 4.4. Parâmetros de rede e volume da célula unitária

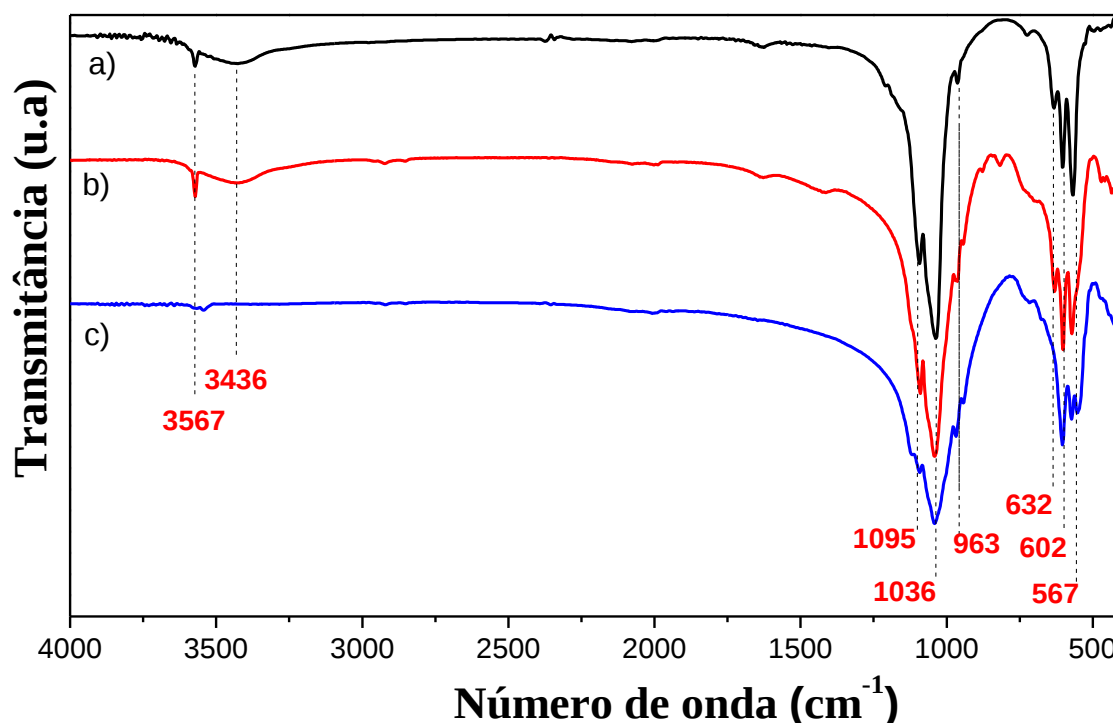
Sólido	Parâmetro a (nm)	Parâmetro c (nm)	Volume da célula unitária (nm ³)
Fap	9,3725	6,8739	524,94
Fap.Nb5%	9,3702	6,8697	524,76
Fap.Nb10%	9,3697	6,8671	524,67

Como observado, a adição da espécie Nb^{5+} provocou alterações nos seus parâmetros de rede, a e c , bem como o volume da célula unitária. Para o parâmetro a e c observa-se valores decrescentes, com o aumento da concentração de nióbio. Para o volume, também é observado a mesma tendência de decréscimo, o que corrobora com a ideia da substituição do Ca^{2+} pelo Nb^{5+} , e uma respectiva contração da estrutura cristalina. Tais observações estão em concordância com os dados de Paduraru *et al* (2021) que também realizaram a modificação de uma apatita com íons metálicos de menor raio iônico do que o cálcio, e observaram uma contração na estrutura.

4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros FTIR das amostras são mostrados na Figura 4.5 Os espectros FTIR da fluorapatita e sólidos modificados apresentaram bandas correspondentes aos modos ativos da fase da Fap, sem a presença de absorções referentes a presença do nióbio nas duas composições avaliadas.

Figura 4.5. Espectros na região do infravermelho para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e Fap.Nb10%



Avaliando os espectros, são observadas bandas em 3567 cm^{-1} atribuída ao estiramento O-H dos grupos P-OH localizados na superfície, em 3436 cm^{-1} associadas

a água adsorvida, já as deformações OH são observadas em 632 cm^{-1} (Mercado *et al.*, 2014). Já as bandas características dos fosfatos de cálcio são observadas em 1095 , 1036 e 963 cm^{-1} e são atribuídas ao estiramento assimétricos do grupo PO_4^{3-} (Nazeer, Yilgör e Yilgör, 2017). Absorções referentes a deformação dos grupos P-O (PO_4^{3-}) e P-O(HPO_4^{2-}) também estão presentes em 602 e 567 cm^{-1} , respectivamente.

A partir dos espectros, pode-se observar também o alargamento das bandas associadas aos grupos fosfatos (Tabela 4.5), principalmente para a bandas 1095 e 1036 cm^{-1} , o que possivelmente está associado a contração na estrutura, observado na difração de raios X.

Tabela 4.5. Valores de FWHM para as bandas dos grupos fosfatos

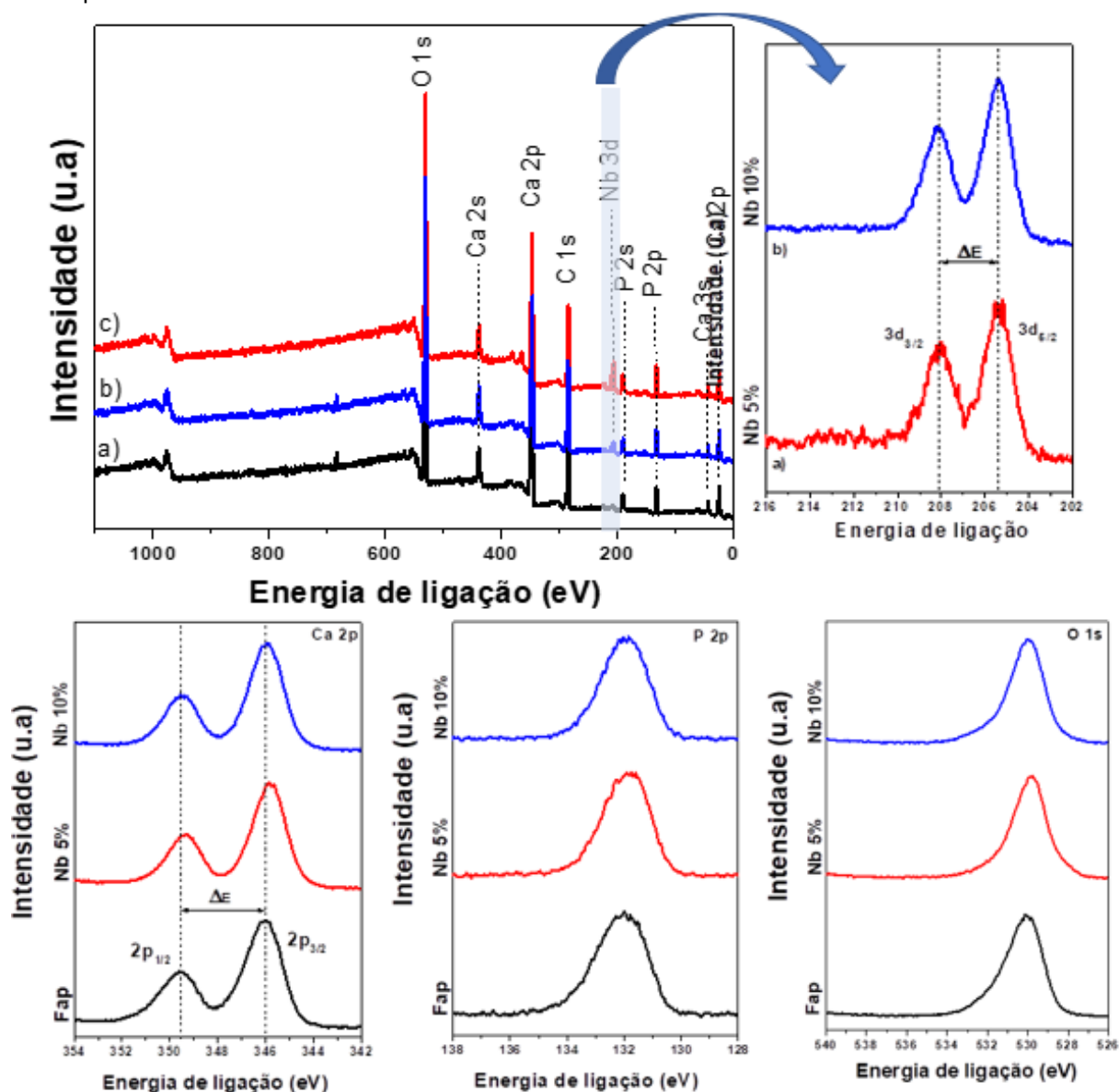
Sólido	FWHM (1095 cm^{-1})	FWHM (1036 cm^{-1})
Fap	671,043	466,642
Fap.Nb5%	906,677	631,719
Fap.Nb10%	130,163	125,717

Além da diferença de raios iônicos do Ca^{2+} e do Nb^{5+} , essas espécies apresentam cargas distintas, o que pode acarretar a formação de vacâncias nos sítios catiônicos, o que consequentemente pode reduzir a coordenação de um oxigênio dentro do tetraedro do grupo fosfato, encurtando a ligação P-O e impactando na simetria deste grupo. A perda de simetria, proporciona o alargamento das absorções referentes ao grupo PO_4^{3-} , como pode ser observado pelos valores crescentes de FWHM, o que também foi observado por Ignjatović *et al* (2019), ao modificar a estrutura de uma apatita com íons metálicos menores que o cálcio (Tm^{3+} , Yb^{3+}).

4.3.3 Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

A natureza química e a composição elementar da superfície dos sólidos foram investigadas por medidas de XPS. A partir dos espectros (Figura 4.6), observou-se a presença de Ca, P e O, além da presença do Nb nas modificações propostas, como ilustra a Figura 4.6.

Figura 4.6. Espectros de fotoelétrons excitados por raios X para os sólidos a) Fap, b) Fap.Nb5% e c) Fap.Nb10%



Para o oxigênio foi observado o pico referente ao orbital O 1s localizado em 530 eV, onde em todas as amostras ele assume um perfil assimétrico, o que indica a sobreposição de sinais. Esses são atribuídos a ligação O-P dos tetraedros de fosfatos em ambos os sítios Ca(I) e Ca(II), e a espécie de oxigênio quimicamente adsorvidos na superfície das amostras, como foi evidenciado nos espectros de infravermelho, e corrobora com as observações de Oliveira *et al* (2021b).

Para o cálcio, há a presença de dois picos bem definidos associados aos orbitais Ca2 $p_{3/2}$ e Ca2 $p_{1/2}$. Para o orbital Ca2p da amostra pura, o pico Ca2 $p_{3/2}$ foi observado

em 349,52 eV, e é atribuído as ligações Ca-O (P) nos sítios Ca (I) e Ca(II) (Oliveira *et al.* 2021). Já o sinal referente ao orbital $\text{Ca}2p_{1/2}$ foi observado em 346,04 eV, sendo atribuído à ligação do Ca-O(C) referentes aos grupos carbonatos adsorvidos na superfície, como também foi demonstrado por (Dreghici *et al.*, 2020).

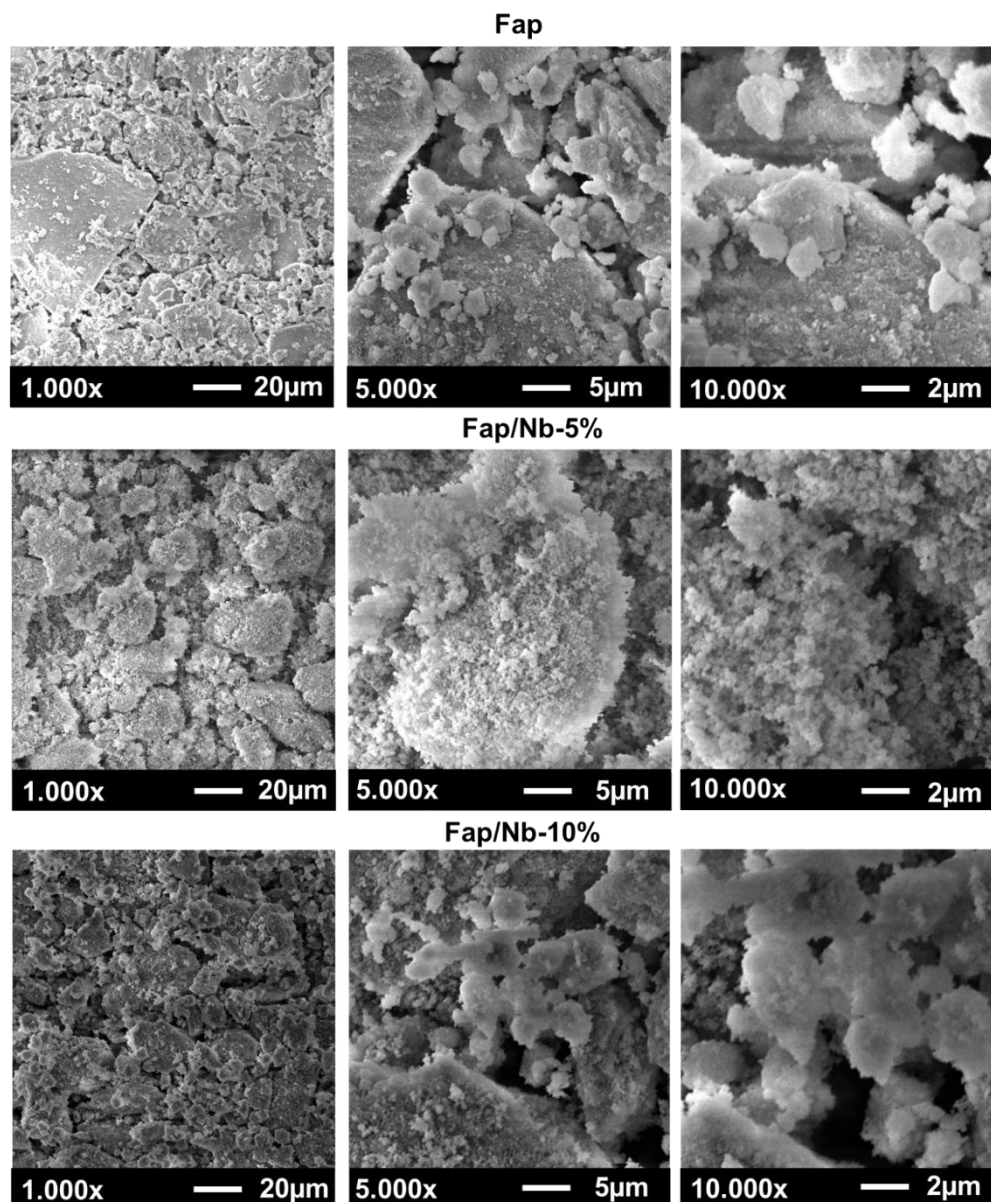
Já a presença do fósforo foi evidenciada pela presença do sinal referente ao orbital P2p, que apresentou um perfil assimétrico, sugerindo a sobreposição de dois orbitais, o $\text{P}2p_{3/2}$ e o $\text{P}2p_{1/2}$, como também foi descrito por Oliveira *et al.* (2021a). Os sinais referentes aos orbitais $\text{P}2p_{3/2}$ e $\text{P}2p_{1/2}$ foram observados em 132,48 eV e 132,48 eV, respectivamente, sendo atribuídos a ligação P-O dos grupos PO_4^{3-} (López *et al.*, 2013).

Para os sólidos modificados, observa-se a presença de dois picos adicionais. Esses sinais foram associados a presença da espécie de Nb^{5+} (Atuchin *et al.*, 2005), associados aos orbitais Nb3d. Os sinais referentes a esses orbitais ($\text{Nb}3d_{3/2}$ e $\text{Nb}3d_{5/2}$) foram observados em 206,3 eV e 209,1 eV, respectivamente (Guo *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2019), os quais foram atribuídos a ligação $\text{Nb}^5 - \text{O}$.

4.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura da Fap e suas respectivas modificações utilizando nióbio são exibidas na Figura 4.7

Figura 4.7. Imagens de MEV dos sólidos Fap puro e modificadas com nióbio.



A partir das imagens, pode-se observar que a Fap é formada por partículas no formato de placas aglomeradas com bordas definidas.

Para a Fap.Nb5% é observado que as partículas assumem um formato de aglomerados de poliedros com formato arredondados e bordas irregulares. Para o

sólido Fap.Nb10% foi observado que as partículas são formadas por placas aglomeradas com bordas irregulares. Comparando-se a Fap e sólidos modificados, é observado que adição de nióbio na estrutura da apatita não proporcionou uma grande modificação na morfologia das partículas.

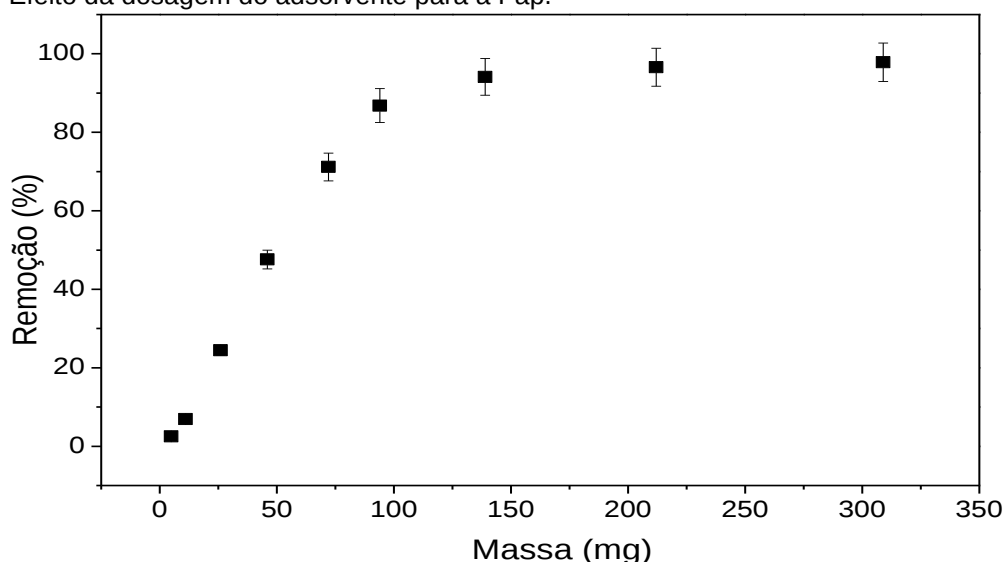
4.3.5 Estudo de adsorção o cloridrato de tetraciclina

Os estudos de adsorção foram conduzidos utilizando apenas a Fap pura, tendo em vista que para os sólidos modificados com nióbio não ocorreu adsorção do fármaco avaliado. Ou seja, a presença de nióbio alterou a reatividade da Fap frente a tetraciclina.

4.3.6 Efeito da dosagem do adsorvente

A eficiência de remoção do fármaco avaliado mediante a dosagem do adsorvente é mostrada na Figura 4.8.

Figura 4.8. Efeito da dosagem do adsorvente para a Fap.



Avaliando a isoterma, é observado que a eficiência de adsorção da tetraciclina aumentou com o aumento da dosagem do adsorvente até atingir o equilíbrio quando foi utilizado 150 mg do adsorvente.

4.3.7 Efeito do tempo

A isoterma que ilustra o efeito do tempo de contato na adsorção da tetraciclina na Fap é apresentada na Figura 4.9. A partir dos dados é observado que o equilíbrio é atingido rapidamente nos primeiros minutos, cujo q_{exp} foi de aproximadamente 22,5 mg g^{-1} em 50 min. Esse resultado foi melhor que o relatado para Hap incorporadas com Fe(III), no qual o equilíbrio foi atingido apenas após 6 h (Li *et al.* 2017) e difere ao obtido para adsorção de tetraciclina em Hap modificadas com zinco, cujo tempo de equilíbrio foi inferior a 10 min, porém adsorção máxima de 3,6 a 5,9 mg g^{-1} ($C_i = 50 \text{ mg L}^{-1}$ e pH 5) (Oliveira *et al.*, 2021b). Os dados experimentais obtidos do estudo cinético foram ajustados aos modelos de pseudo-primeira ordem, pseudo-segunda ordem e Elovich, cujos parâmetros obtidos das linearizações estão sumarizados na Tabela 4.6.

Figura 4.9. Estudo cinético e ajuste dos dados experimentais aos modelos de pseudo-primeira-ordem, pseudo-segunda-ordem e Elovich para adsorção da tetraciclina na Fap

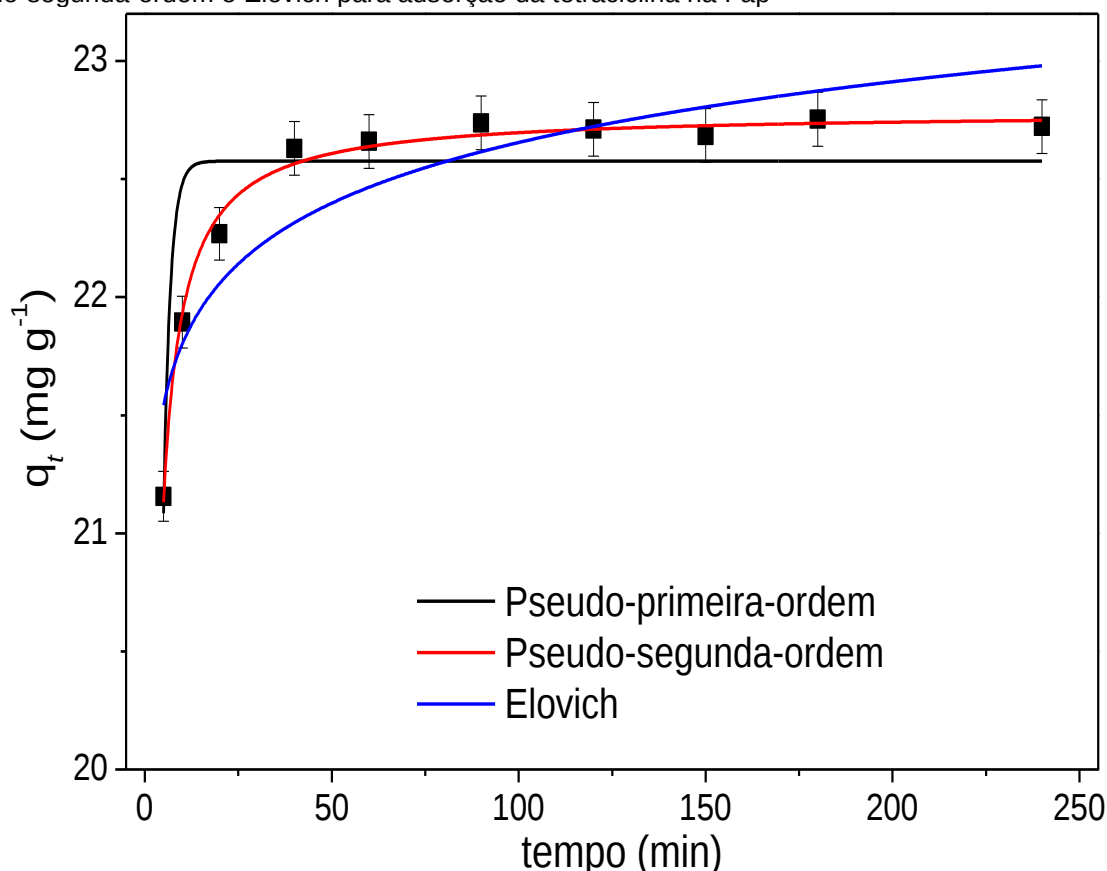


Tabela 4.6. Parâmetros cinéticos obtidos a partir do ajuste dos dados aos modelos de pseudo-primeira-ordem, pseudo-segunda-ordem e Elovich, para adsorção da tetraciclina na Fap

Pseudo-primeira-ordem				
$q_{e(exp)} (mg\ g^{-1})$	$k_1 (min^{-1})$	$q_e (mg\ g^{-1})$	R^2	DP ($mg\ g^{-1}$)
22,75	$0,54 \pm 0,03$	$22,57 \pm 0,10$	0,7563	2,387
Pseudo-segunda-ordem				
$q_{e(exp)} (mg\ g^{-1})$	$k_2 (g\ mg^{-1}\ min^{-1})$	$q_e (mg\ g^{-1})$	R^2	DP ($mg\ g^{-1}$)
22,75	$0,11 \pm 0,00$	$22,78 \pm 0,02$	0,9923	0,423
Elovich				
$A (10^{24}\ mg.g^{-1}\ min^{-1})$	$B (g.mg^{-1})$		R^2	DP ($mg\ g^{-1}$)
$1,22 \pm 1,19$	$2,70 \pm 0,44$		0,8028	2,148

Foi observado pelos valores de R^2 e DP que o melhor ajuste dos dados experimentais foi observado para o modelo de pseudo-segunda-ordem, sugerindo que a taxa de adsorção é influenciada pela da quantidade, espécie química adsorvida e da quantidade adsorvida no equilíbrio.

4.3.8 Efeito da concentração inicial da tetraciclina

A isoterma de adsorção da tetraciclina na Fap é apresentada na Figura 4.10. e os dados referentes aos parâmetros é exibido na tabela 4.7. A partir dos dados é observado que a capacidade adsortiva da Fap aumenta com a concentração do fármaco e atinge o equilíbrio de adsorção com q_{exp} de $26,17\ mg\ g^{-1}$.

Figura 4.10. Isoterma de adsorção e ajuste dos dados aos modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin para adsorção da tetraciclina na Fap.

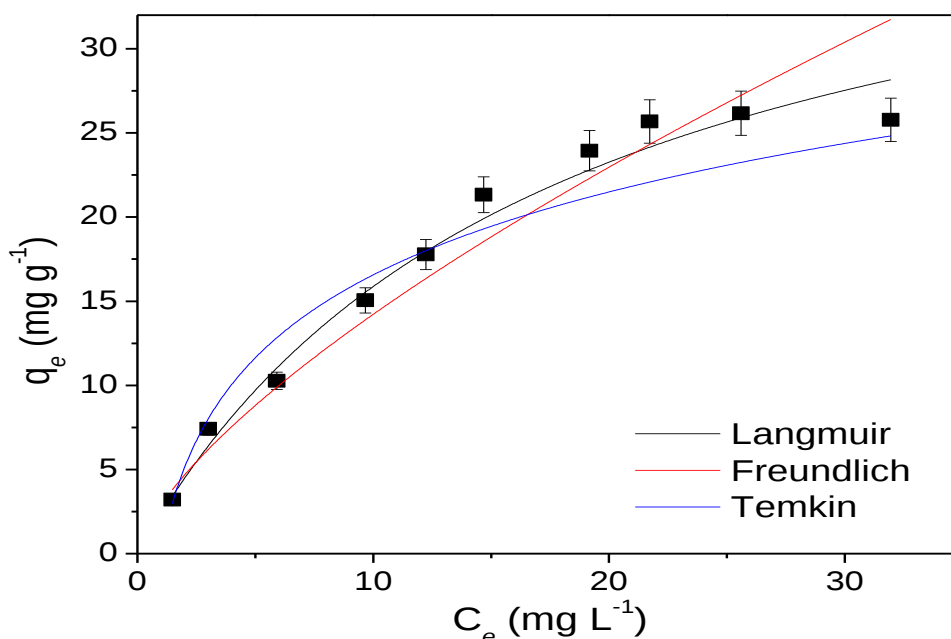


Tabela 4.7. Parâmetros de adsorção da tetraciclina pela Fap de acordo com os modelos de Langmuir, Freundlich e Temkin

Langmuir				
$q_e (exp)$ (mg g ⁻¹)	$q_{máx}$ (mg g ⁻¹)	K_L (10 ⁻² L mg ⁻¹)	R ²	DP (mg g ⁻¹)
26,17	43,51 ± 3,58	5,74 ± 0,76	0,9884	1,542
Freundlich				
n	K_F (mg g ⁻¹) (mg L ⁻¹) ^{-1/n}	R ²		DP (mg g ⁻¹)
1,44 ± 0,10	2,90 ± 0,32	0,9625		2,772
Temkin				
b_T (10 ² J mol ⁻¹)	A_T (L mg ⁻¹)	R ²		DP (mg g ⁻¹)
3,48 ± 0,21	1,03 ± 0,07	0,9665		2,618

O resultado obtido foi comparado às capacidades de adsorção da tetraciclina observada na literatura para outros fosfatos de cálcio (Tabela 4.8). A capacidade adsorptiva da Fap foi superior à da Hap pura (Oliveira *et al.*, 2021a) e modificada com Fe (III) (Li *et al.*, 2017), cujos valores observados foram de 10,6 e 14 mg g⁻¹, respectivamente.

Tabela 4.8. Capacidade de adsorção da TCC em fosfatos de cálcio de acordo com a literatura nas respectivas condições experimentais

Sistema	Condições experimentais	q_e (mg g⁻¹)	Referência
Apatita nanocristalina biomimética	100 min, 22 °C e C _i = 0 - 820 mg L ⁻¹	36,4	(CAZALBOU <i>et al.</i> 2015)
Hap		10,6	
HAp/ZnO-5%*	20 min, 25°C, pH 5,0 e	35,4	(OLIVEIRA <i>et al.</i> 2021)
HAp/ZnO-10%*	C _i = 1-2500 mg L ⁻¹	91,4	
HAp/ZnO-20%*		146,9	
Fe-Hap**	360 min, 25°C, pH 5,0 e C _i = 5-50 mg L ⁻¹	~14,0	(LI <i>et al.</i> 2017)
Hap/Caulinita	180min, 20°C, pH 8, C _i = (10–300 mg.L ⁻¹	76,02	(Ersan <i>et al.</i> , 2015)
Fap	5 min, 25°C, pH 6,0, e C _i 10-100mg.L ⁻¹	26,17 mg g ⁻¹	Presente estudo

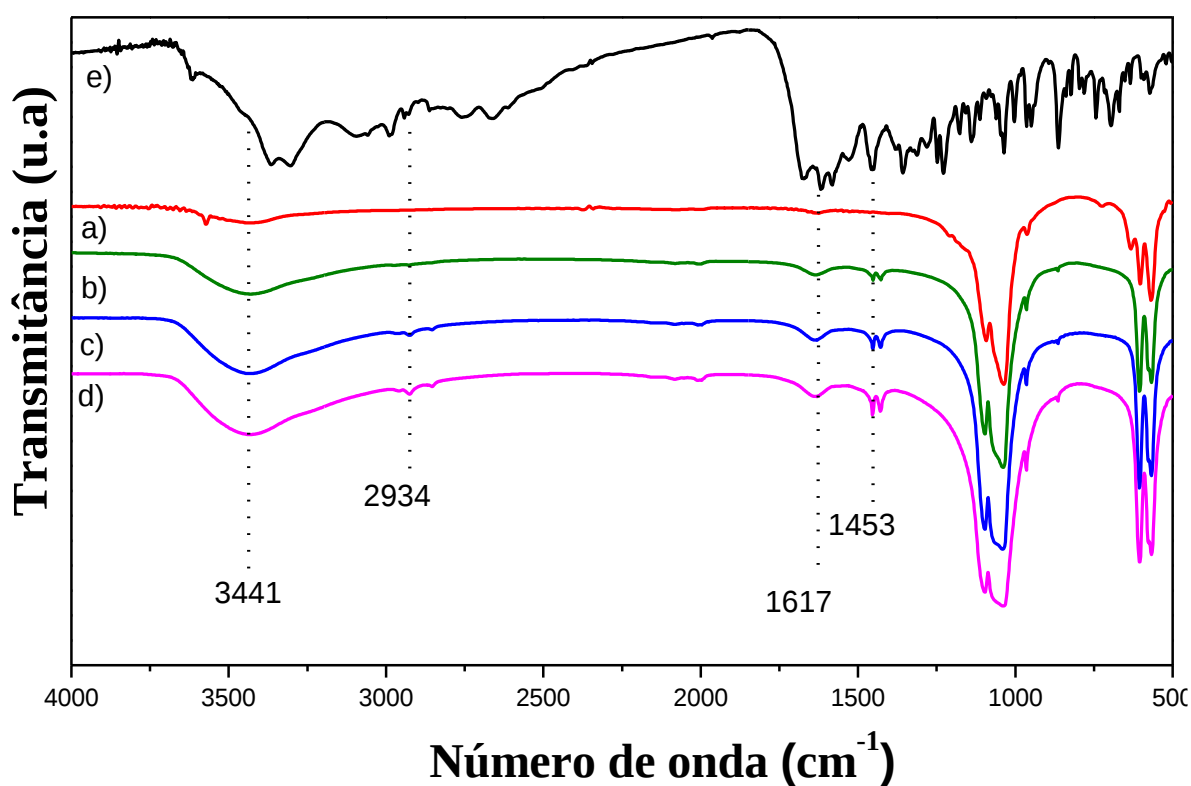
*Hidroxiapatitas modificadas com ZnO; **Hidroxiapatita modificada com Fe(III).

4.3.9 Caracterização dos sólidos contendo tetraciclina

4.3.9.1 Espectroscopia na região do infravermelho

Os espectros de FTIR da Fap após adsorção são apresentados na Figura 4.11. A fim de analisar a presença das bandas características da tetraciclina foram analisados os sólidos resultantes ao longo da isoterma de equilíbrio (20 mg L⁻¹, 40 mg L⁻¹ e 80 mg L⁻¹).

Figura 4.11. Espectros na região do infravermelho da tetraciclina, e sólidos utilizados na isoterma de equilíbrio a) Fap, b) Fap-20mg.L⁻¹, c) Fap-40mg.L⁻¹, d) Fap-80mg.L⁻¹ e e) tetraciclina



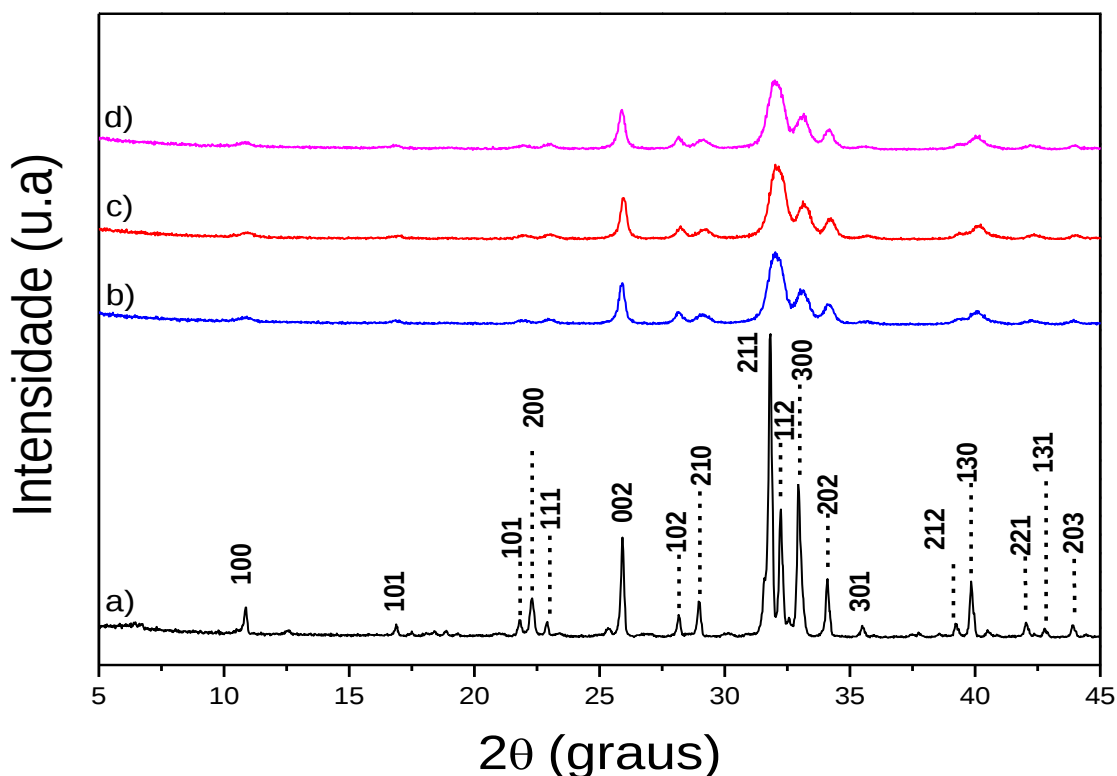
Ao analisar os espectros de absorção, observa-se o surgimento de novas bandas em 1453 cm⁻¹ e 1617 cm⁻¹ atribuídas ao estiramento C = C e estiramento de grupos carbonilas, além da banda em 2934 cm⁻¹ atribuída ao estiramento CH₃ (Kumar Trivedi, 2015; Zang *et al.*, 2019). A banda larga em torno de 3441 cm⁻¹ foi atribuída as bandas correspondentes aos grupos OH da água adsorvida na superfície da Fap e da estrutura da tetraciclina. Independentemente do sólido analisado, as absorções da tetraciclina foram observadas.

A presença dessas absorções sugere que a molécula de tetraciclina foi adsorvida na superfície do sólido.

4.3.9.2 Difractometria de raios X (XRD)

Os padrões de difração para a fluorapatitas pura e após as adsorções da tetraciclina são mostradas na Figura 4.12

Figura 4.12 Difratomogramas de Raios-X da amostra de FAP antes (a) e após adsorção de 7,5 mg g⁻¹ (b), 13,68 mg g⁻¹ (c) e 25,99 mg g⁻¹ (d) de tetraciclina.

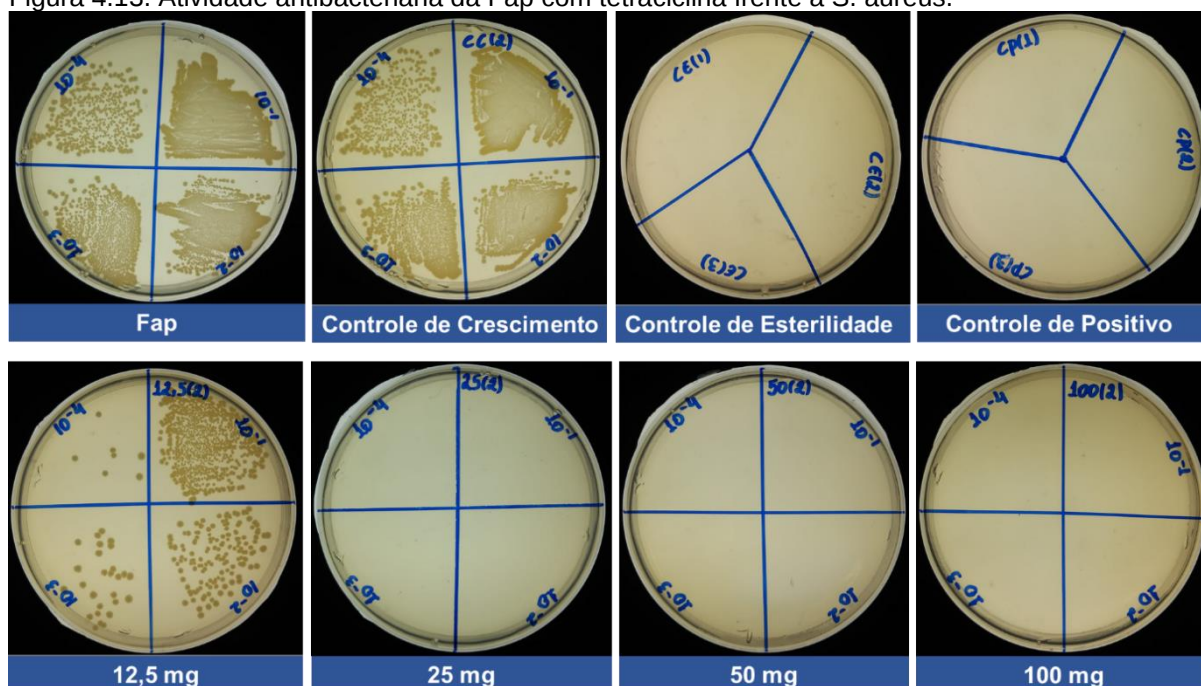


Observa-se que independentemente da quantidade de tetraciclina na amostra, houve significativa alteração na cristalinidade das amostras comparada com a Fap, considerando o alargamento dos planos de difração e ausência de picos referentes aos planos (100), (101), (200), (111) e (301). Esse comportamento pode sugerir que a tetraciclina foi adsorvida na superfície da Fap.

4.3.10. Teste de atividade antimicrobiana

As imagens das placas de Petri com bactérias *S. aureus* após o uso do sólido em diferentes quantidades de massa, assim como os controles de crescimento, positivo e de esterilidade são apresentados na Figura 4.13.

Figura 4.13. Atividade antibacteriana da Fap com tetraciclina frente a *S. aureus*.



Partir da aplicação observou-se que o aumento da quantidade de Fap carregada com tetraciclina tem a capacidade de inibir crescimento bacteriano. Para as quantidades avaliadas, constatou-se que a concentração inibitória mínima foi de 25 mg mL⁻¹ frente a *S. aureus*, o que evidencia a capacidade antibacteriana da Fap associada a tetraciclina.

4.4 Conclusões

A partir das caracterizações realizadas, sugere-se que a estrutura cristalina da Fap tenha sido modificada pela entrada no nióbio, o que não desestabilizou sua estrutura. Observou-se que a modificação da estrutura da Fap com nióbio reduziu a adsorção do fármaco. Para a adsorção do fármaco na Fap pura, constatou-se que a mesma possui uma cinética de adsorção rápida, conseguindo adsorver 22,5 mg g⁻¹ em 50 min.

A Fap associada ao fármaco apresentou ação antibacteriana frente a *S. aureus* de 100% nas condições avaliadas, cuja concentração inibitória mínima foi de 25 mg L⁻¹.

Capítulo 5

**β -fosfatos tricálcicos modificados com nióbio
obtidos por co-precipitação**

5.1. INTRODUÇÃO

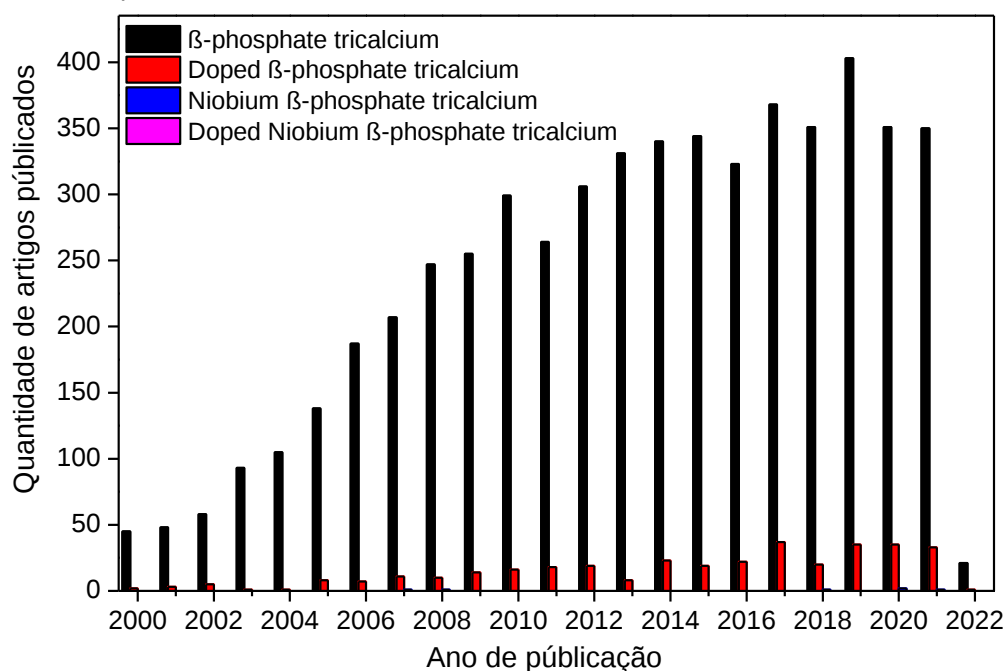
O β -fosfato tricálcico é considerado um biomaterial altamente promissor para a área biotecnológica, principalmente para aplicações em que envolvem reparo de defeitos ósseos (Hoover *et al.*, 2017). Diferentemente de outros fosfatos de cálcio, o β -TCP apresenta uma taxa de dissolução favorável, o que influencia o processo de osteogênese (Holzapfel *et al.*, 2013), além de inibir processos de reabsorção óssea, conduzidos pela atividade osteoclástica (Araújo, Liljenberg e Lindhe, 2010).

Uma característica deste material é a possibilidade de modificações estruturais, realizadas principalmente por substituições catiônicas, que têm como objetivo ampliar as potencialidades aplicativas do material. A exemplo, Yuan *et al* (2020) modificaram a estrutura do β -TCP com a adição de prata, e evidenciaram sua capacidade antibacteriana frente a duas espécies, a *Escherichia coli* e a *Styphylococcus aureus*. Já (Rau *et al.*, 2019) observou que a dopagem da estrutura do β -TCP com manganês apresenta atividade anti-bacteriana frente a outras espécies de bactérias, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella entérica*. Fadeeva *et al* (2021) realizaram a dopagem da estrutura do β -TCP com cobre e evidenciaram a capacidade antibacteriana do material resultante frente a *Escherichia coli* e a *Salmonella Enteritidis*.

Frente as possíveis melhoras nas propriedades do material, decidiu-se avaliar a influência do nióbio como dopante na estrutura deste fosfato de cálcio, pois ainda não há relatos na literatura e evidenciem a ocorrência deste tipo de modificação, e as possíveis mudanças nas propriedades.

De fato, em pesquisa bibliográfica de artigos que apareceram no banco de dados da Web of Science (Advanced Topic – TS) de 2000 a 31 de janeiro de 2022 contendo as palavras chaves β -phosphate tricalcium, Doped β -phosphate tricalcium, Niobium β -phosphate tricalcium e Doped Niobium β -phosphate tricalcium apontaram 5.164, 348, 5 e 0 referências, respectivamente, como mostra a Figura 5.1

Figura 5.1. Pesquisa sistemática na base de dados da web of Science.



A partir dos dados referentes as publicações, observa-se que num intervalo de 22 anos, há apenas 5 publicações que versem sobre estudos que envolvem nióbio e o β -TCP. Esses estudos propõem a formulação de compósitos utilizando o pentóxido de nióbio (Bonadio *et al.*, 2020; Kiyochi Junior *et al.*, 2020; Prado *et al.*, 2021), obtenção de cerâmica bifásica (β -TCP/Hap) contendo nióbio (Tamai *et al.*, 2007), e o recobrimento de uma liga metálica (Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr) com β -TCP (Akahori *et al.*, 2008).

Por outro lado, pesquisas sobre o uso de nióbio para dopar a estrutura do β -TCP, observa-se que ainda não há na relatos na literatura.

5.2. METODOLOGIA

5.2.1 Reagentes químicos

Os reagentes utilizados foram todos com grau de pureza acima de 95% e sem purificação prévia, cuja listagem está descrita na Tabela 5.1.

Tabela 5.1. Reagentes utilizados na síntese do β -TCP.

Reagente	Fórmula	Fornecedor
Água deionizada	H ₂ O	-
Hidrogenofosfato de diamônio	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Merck
Nitrato de cálcio	Ca(NO ₃) ₂	Sigma Aldrich
Hidróxido de amônio	NH ₄ OH	Vetec
Oxalato amoniaco de nióbio	NH ₄ H ₂ [NbO(C ₂ O ₄) ₃]	Doado pela CBMM
Pentacloreto de nióbio	NbCl ₅	Doado pela CBMM

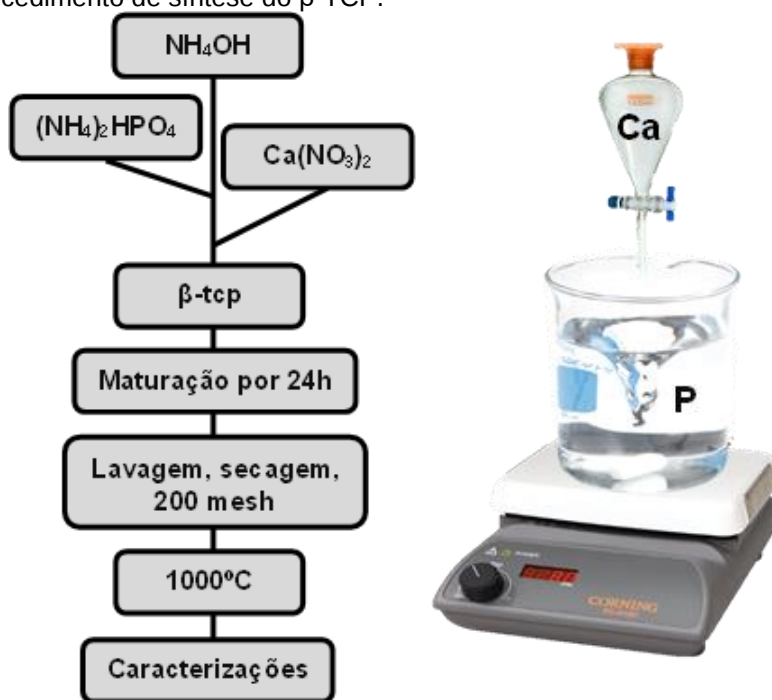
5.2.2 Síntese do β -TCP e seus derivados

A síntese do β -TCP foi realizada por co-precipitação partindo de soluções aquosas do hidrogenofosfato de diamônio a 0,12 mol L⁻¹ e do nitrato de cálcio a 0,20 mol.L⁻¹, mantendo a razão Ca/P = 1,5. Inicialmente foi preparado 50 mL de uma solução de hidróxido de amônio 1 mol L⁻¹ com pH =10, que em seguida foi transferida para um becker com capacidade de 1 L, e agitada a 1.000 rpm durante 5 min a temperatura ambiente.

Em seguida, adicionou-se lentamente a solução de hidrogenofosfato de diamônio numa vazão de 5 mL min⁻¹ e ao final desta adição, o sistema foi deixado em agitação constante por 10 min para a completa homogeneização da solução resultante. Posteriormente foi adicionado à solução do nitrato de cálcio numa vazão de 2 mL min⁻¹. A partir do início da adição do precursor de cálcio, o pH da solução foi monitorado, e mantido em um valor de aproximadamente 8, com a adição de hidróxido de amônio a 1 mol L⁻¹ (Chair, Labjar e Britel, 2017; Meenambal *et al.*, 2014; Mirhadi, Mehdikhani e Askari, 2011).

Ao final da adição do precursor de cálcio, o precipitado formado foi envelhecido por 24 h sem agitação, e em seguida, ele foi lavado e seco a 100 °C por 24 h. Posteriormente, o material obtido foi sinterizado a 1000 °C sem controle de atmosfera por 4 h, sob uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, em uma mufla, modelo EDG 3P 7000. Um resumo do método está apresentado Figura 5.2.

Figura 5.2. Procedimento de síntese do β -TCP.

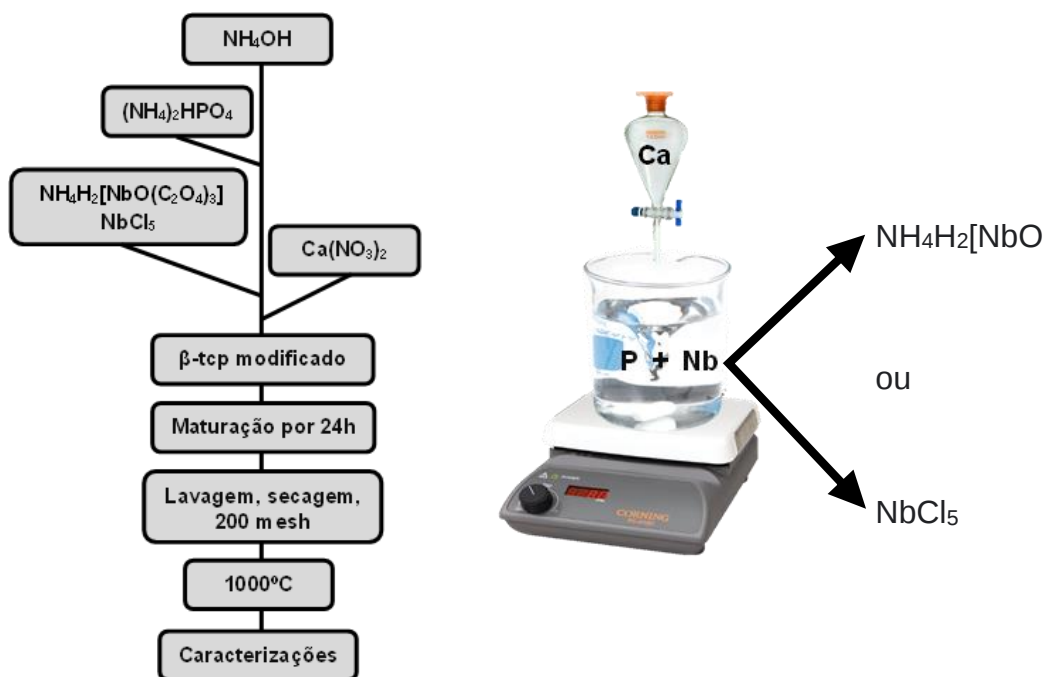


5.2.3 Modificação estrutural do β -fosfato tricálcico com Nb

Para as modificações estruturais do β -TCP foram sintetizados 5 sólidos partindo de dois precursores de nióbio (oxalato amoniacal de nióbio e pentacloreto de nióbio), onde variou-se a quantidade de nióbio (1, 3, 5, 7 e 10% em mol), em relação a quantidade de cálcio presente no substrato.

Para esta etapa, o procedimento seguido foi similar ao descrito para a síntese do β -TCP, diferindo apenas na adição do precursor de nióbio, onde ele foi adicionado numa vazão de 5 mL min^{-1} sobre a solução do hidrogenofosfato de diamônio, e em seguida seguiu-se as mesmas etapas descritas anteriormente para a síntese do β -TCP. Um resumo do método é apresentado na Figura 5.3, que sumariza as etapas envolvidas no processo de síntese destes sólidos.

Figura 5.3. Fluxograma da modificação do β -TCP com nióbio



5.2.4 Técnicas de caracterização

Para a etapa de caracterização dos sólidos obtidos, foram utilizadas as mesmas técnicas descritas anteriormente no item 3.3 do capítulo III.

5.2.5 Atividade antimicrobiana *in-vitro*

Para a realização dos ensaios antibacterianos seguiu-se o mesmo procedimento descrito no item 3.4 do Capítulo III, para todos os materiais obtidos.

5.4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.4.1. Difractometria de Raios X (XRD)

Os difratogramas do β -fosfato tricálcico, e respectivos sólidos modificados com os dois precursores de nióbio foram indexados de acordo com carta cristalográfica JCPDS 9-169, como podem ser observados nas Figuras 5.4 e 5.5.

Figura 5.4. Difratogramas de raios X para os sólidos modificados utilizando o pentacloreto de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%.

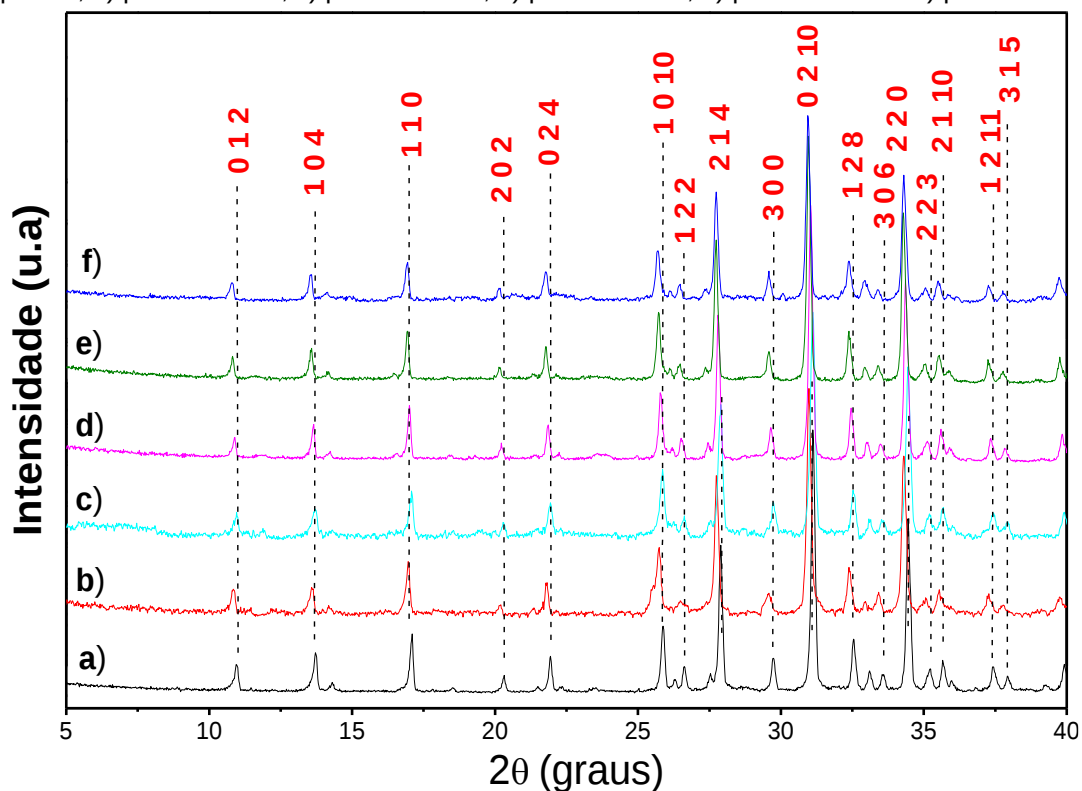
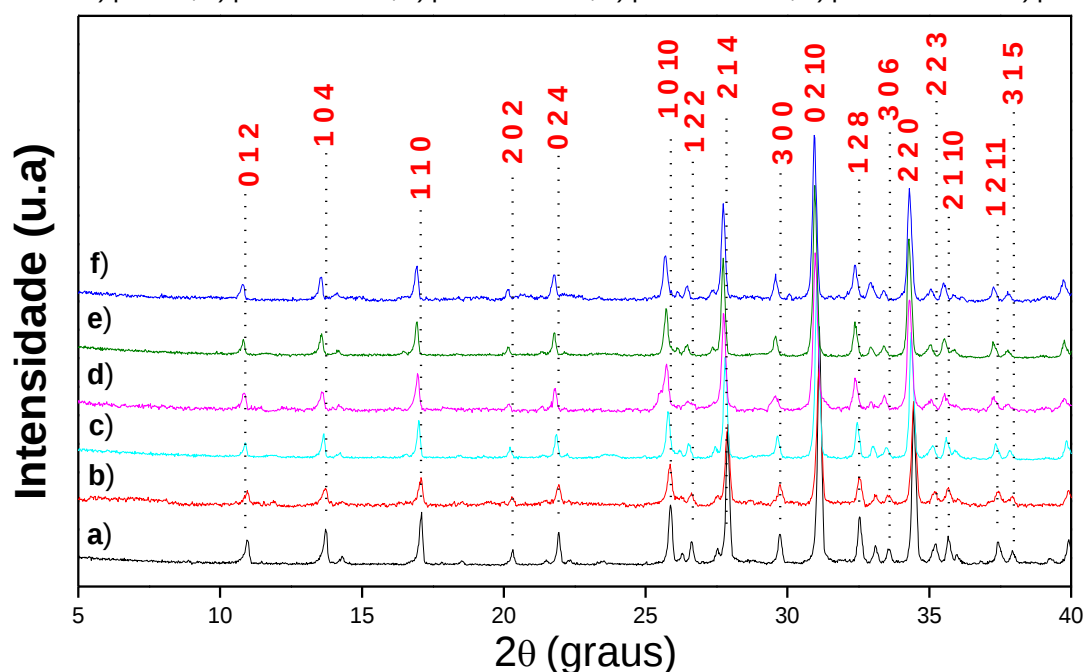


Figura 5.5. Difratogramas de raios X para os sólidos modificados utilizando o oxalato amoniacal de nióbio. a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%



A partir dos difratogramas apresentados, observa-se que todos os sólidos obtidos apresentam apenas picos característicos do β -TCP, independentemente do precursor de nióbio utilizado. Observa-se ainda que há uma sutil redução na

intensidade dos picos, associada a pequenos deslocamentos para menores ângulos, o que também foi observado por outros autores que utilizaram cátions menores (Zn^{2+} , Mg^{2+}) que o Ca^{2+} (Tavares *et al.*, 2013) na dopagem do β -TCP. Este deslocamento, indica um aumento do volume da célula unitária, devido a presença do nióbio. Os dados dos parâmetros de rede e do respectivo volume da célula unitária estão sumarizados na Tabela 5.2.

Tabela 5.2. Valores dos parâmetros de rede e volume da célula unitária para o β -TCP e modificações.

Parâmetros de rede da célula unitária			
	a	c	Volume ($\text{\AA}^3$)
β -TCP	10,4036	37,2421	3490,91
Precursor - NbCl_5	-	-	-
β -TCP.Nb1%	10,4522	37,2803	3498,14
β -TCP.Nb3%	10,4091	37,3718	3521,06
β -TCP.Nb5%	10,4303	37,4398	3542,31
β -TCP.Nb7%	10,4556	37,4686	3547,33
β -TCP.Nb10%	10,4533	37,5028	3548,98
Precursor – OANb	-	-	-
β -TCP.Nb1%	10,4115	37,2695	3499,98
β -TCP.Nb3%	10,4319	37,2825	3500,80
β -TCP.Nb5%	10,4145	37,3635	3521,34
β -TCP.Nb7%	10,4585	37,4529	3547,81
β -TCP.Nb10%	10,4532	37,5028	3548,95

É possível observar que os valores obtidos para o parâmetro “a”, variam aleatoriamente, independentemente do precursor de nióbio ou da quantidade utilizada, o que também foi observado por outros autores que utilizaram cátions metálicos menores que o íon Ca^{2+} (Fadeeva *et al.*, 2021). No entanto, para o parâmetro “c” e o volume da célula unitária V observa-se valores crescentes, mediante o aumento da quantidade de nióbio inserido, independentemente do precursor utilizado, o que pode indicar um aumento do volume da célula unitária, corroborando com os dados de XRD.

Esses dados podem ser um indicativo da presença do nióbio na estrutura cristalina do β -TCP, assim como também foi observado por outros autores que modificaram a estrutura deste material com alguns íons metálicos, como o Mg^{2+} (Tardei *et al.*, 2006), Al^{3+} (Tahmasebifar e Evis, 2013) e Fe^{3+} (Vahabzadeh, Hack e Bose, 2017).

Contudo, devido à complexidade estrutural deste material, que apresenta cinco sítios cálcio não equivalentes, ainda não foi possível determinar o sítio preferencial de ocupação do Nb^{5+} . Dados da literatura já chegam a um consenso que, íons bivalentes com raio iônico menores do que o Ca^{2+} são preferencialmente incorporados no sítio de Ca(5), e posteriormente no sítio Ca(4), a exemplo do Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} (Gomes *et al.*, 2011; Kannan *et al.*, 2009; Spaeth, Goetz-Neunhoeffler e Hurle, 2020). Já para substituição com íons trivalente como o Al^{3+} , Yb^{3+} , Tm^{3+} ainda é observado que ainda não um consenso sobre o sítio preferencial de ocupação destas espécies (Goldberg *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2017).

5.4.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros FTIR do β -TCP e dos sólidos modificados são apresentados nas Figuras 5.6 e 5.7. Observa-se que independente do precursor de nióbio utilizado, todos os espectros de infravermelho obtidos, seja para o β -TCP ou para os sólidos modificados apresentam o mesmo perfil de absorção.

Dessa forma, para o β -TCP e os respectivos sólidos modificados, se observaram as bandas características do fosfato, que ocorrem na faixa de 1093 a 954 cm^{-1} correspondentes ao estiramento assimétrico de P-O em PO_4^{3-} (Padmanabhan *et al.*, 2009). As bandas em 630 a 567 cm^{-1} foram atribuídas à deformação assimétrica O-P-O de grupo PO_4^{3-} (Padmanabhan *et al.*, 2009). Os espectros de todos os materiais ainda apresentaram banda em 3573 cm^{-1} referente ao estiramento OH de água fisicamente adsorvida (Jevtic *et al.*, 2008).

Figura 5.6. Espectros FTIR dos sólidos β -TCP e β -TCP modificados com Nb a partir do precursor de pentacloreto de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7% e f) β -TCP.Nb10%

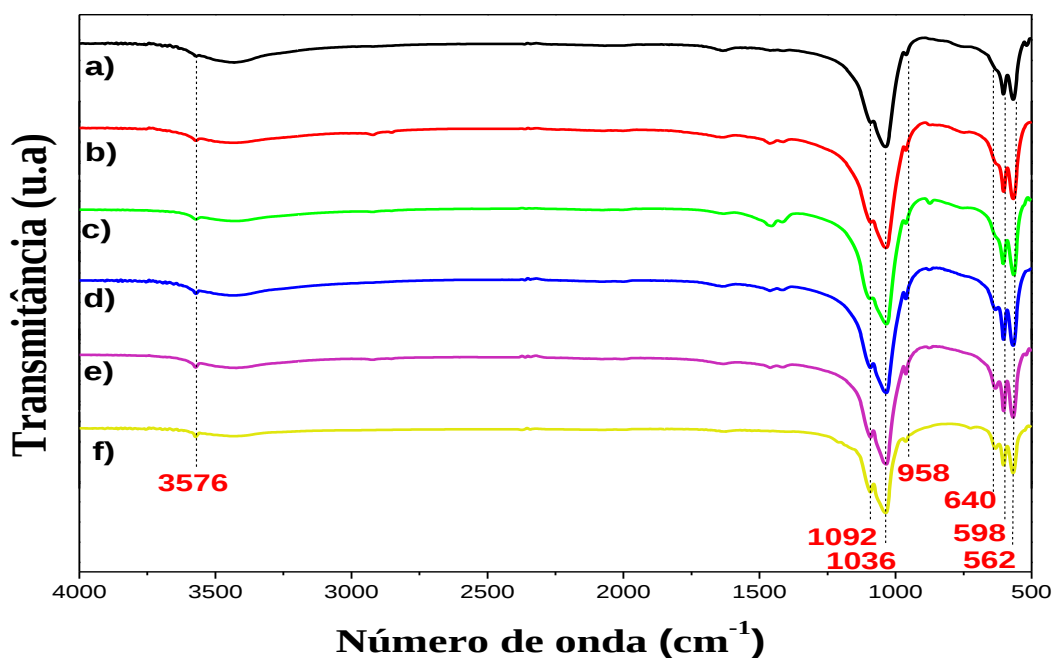
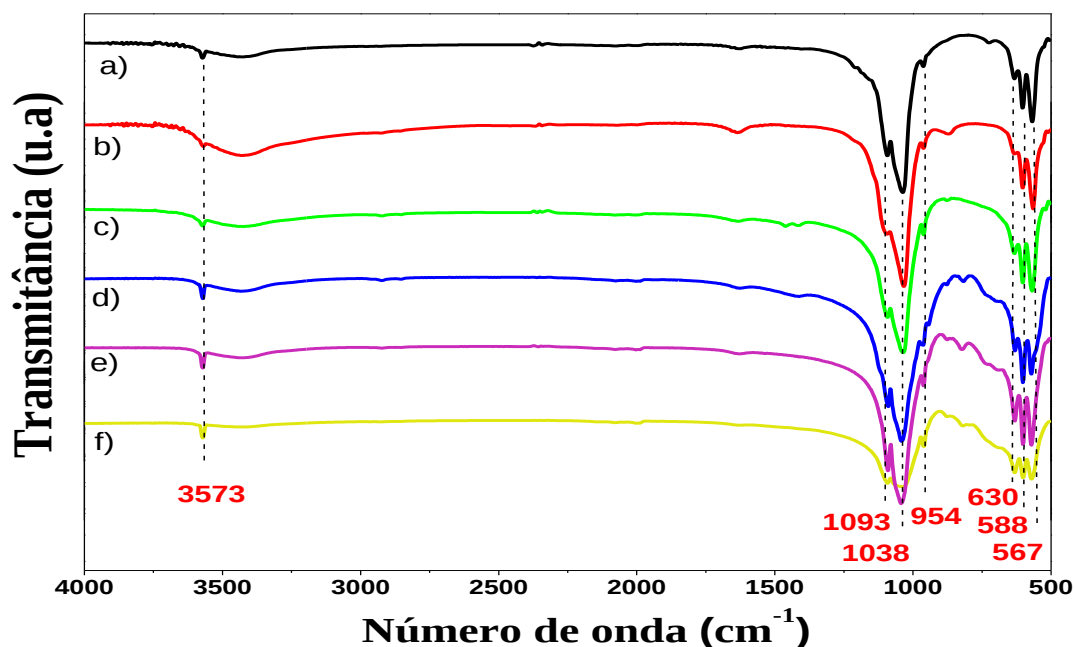


Figura 5.7. Espectros FTIR dos sólidos β -TCP e β -TCP modificados com Nb a partir do precursor de oxalato amoniacal de nióbio a) β -TCP, b) β -TCP.Nb1%, c) β -TCP.Nb3%, d) β -TCP.Nb5%, e) β -TCP.Nb7%, e f) β -TCP.Nb10%.



Adicionalmente foi ainda observado o alargamento das bandas referentes aos fosfatos. Esse alargamento torna-se mais intenso à medida que a quantidade de nióbio aumentou, o que pode indicar que a inserção do nióbio na rede proporcionou a

quebra de simetria dos grupos fosfatos, sem, no entanto, comprometer a estrutura cristalina do material.

Devido aos melhores resultados obtidos quando se utilizou o pentacloreto de nióbio, as demais caracterizações foram conduzidas utilizando apenas esses sólidos.

5.4.3. Fluorescência de Raios X (FRX)

De forma similar ao que foi discutido no capítulo 4, a presente técnica foi utilizada de forma complementar, de modo a avaliar qualitativamente a presença do nióbio, nos sólidos modificados, cujo resultados são expressos na Tabela 5.3.

Tabela 5.3. Valores obtidos para os principais componentes (C, P e Nb) nos sólidos modificados β -TCP/Nb a partir do precursor NbCl_5

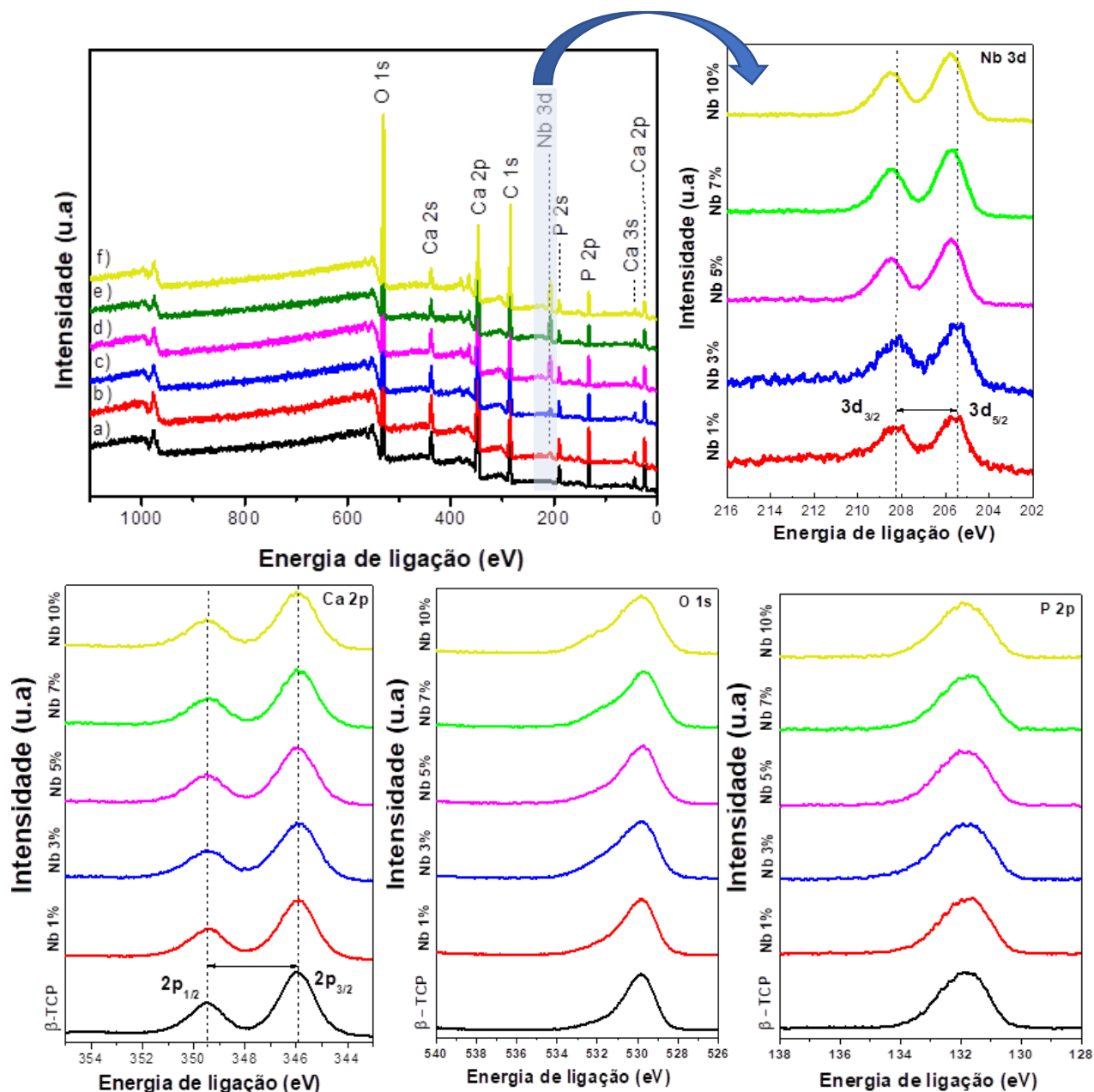
β -TCP/Nb	Composição (%)			
	Ca	P	Nb	(Ca+Nb)/P
β -TCP.Nb1%	0,84	0,72	0,013	1,19
β -TCP.Nb3%	0,81	0,69	0,040	1,23
β -TCP.Nb5%	0,79	0,67	0,065	1,28
β -TCP.Nb7%	0,76	0,66	0,081	1,28
β -TCP.Nb10%	0,69	0,61	0,134	1,36

A partir dos resultados de FRX, pode-se confirmar a presença do nióbio nos sólidos modificados, corroborando com os dados de difração de raios X. Pode-se observar ainda que a razão (Ca+Nb/P) obteve valores um pouco divergentes do β -TCP estequiométrico, o que também foi observado por outros autores que propuseram dopagem do β -TCP com La^{3+} e Si^{4+} (Meenambal *et al.*, 2014; Prem Ananth *et al.*, 2015). Segundo esses estudos, a diferença pode estar associada a mecanismos de compensação de carga, gerando vacâncias de cálcio na estrutura, de modo a contrabalancear a carga do nióbio, reduzindo de forma significativa a razão (Ca+Nb/P).

5.4.4. Espectroscopia de fotoelétrons excitados por raios X (XPS)

A natureza química e a composição elementar da superfície dos sólidos foram investigadas por medidas de XPS, cujos espectros estão apresentados na Figura 5.8. A partir dos espectros, observou-se a presença de Ca, P, e O para a β -TCP, além da presença do Nb em todas as modificações propostas com esse fosfato.

Figura 5.8. Espectros XPS das amostras: Hap (a), β -TCP.Nb1% (b), β -TCP.Nb3% (c), β -TCP.Nb5% (d), β -TCP.Nb7% (e) e β -TCP.Nb10% (f).



Para o cálcio é observado a presença de dois picos atribuídos orbitais $\text{Ca}2p_{3/2}$ e $\text{Ca}2p_{1/2}$. No espectro $\text{Ca}2p$ da amostra pura, o pico $\text{Ca}2p_{3/2}$ foi observado em 349,44 eV, associado as ligações Ca-O(P) . O pico $\text{Ca}2p_{1/2}$ foi observado em 345,95 eV, atribuído à ligação do Ca-O(C) referentes aos grupos carbonatos adsorvidos na superfície.

Para o oxigênio foi observado o pico do orbital $\text{O } 1s$ em 529,95 eV e foi atribuído a ligação O-P dos tetraedros de fosfatos.

A presença do fósforo foi evidenciada pela presença do orbital P_{2p} , cujo sinal deste orbital apresentou um pico de perfil assimétrico, sugerindo a sobreposição dos orbitais $P_{2p_{3/2}}$ e $P_{2p_{1/2}}$. O pico referente ao orbital $P_{2p_{3/2}}$ e $P_{2p_{1/2}}$ foram observados com energia de acoplamento de 129,48 eV e 130,08 eV, respectivamente, sendo atribuídos a ligação P-O dos grupos PO_4^{3-} (Ma *et al.*, 2016; Xie *et al.*, 2019).

Adicionalmente para os sólidos modificados, observa-se a presença de dois picos adicionais, em relação ao espectro do β -TCP. Esses picos foram associados a presença da espécie Nb^{5+} , referente aos orbitais Nb 3d. Tais picos foram atribuídos aos orbitais Nb $3d_{3/2}$ e Nb $3d_{5/2}$ observados em 205,98 eV e 208,76 eV, respectivamente (Guo *et al.*, 2018; Xie *et al.*, 2019), e foram atribuídos a ligação $Nb^{5+}-O$.

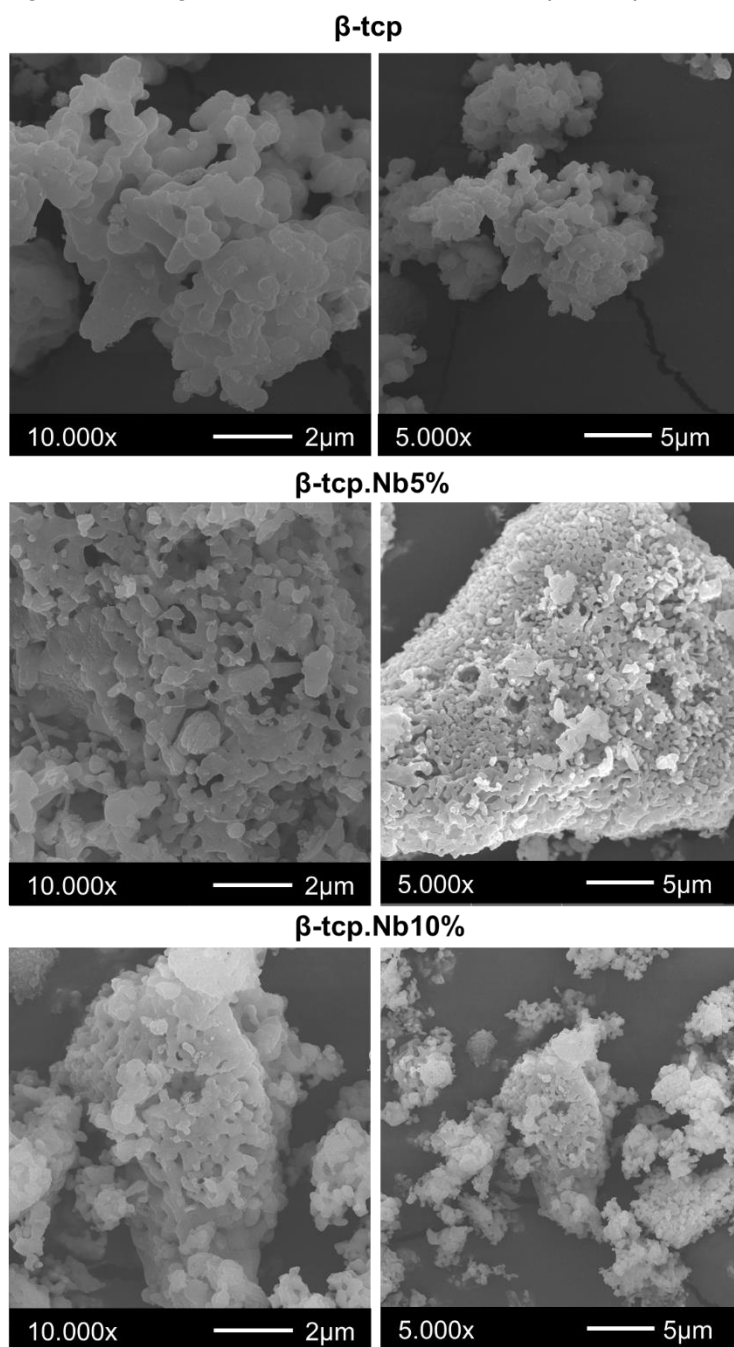
Observa-se ainda que com o aumento da concentração de nióbio, os picos referentes aos seus orbitais ficam cada vez mais evidentes, o que pode indicar a maior incorporação de nióbio nesses sólidos.

5.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)

As imagens de microscopia eletrônica de varredura de alta resolução para os sólidos β -TCP puro e dopados com Nb são apresentadas na Figura 5.9. Para o β -TCP puro observa-se a formação de um material no formato de placas de tamanhos irregulares e sem formato de borda definido e que sinterizaram. O mesmo formato foi observado por Mehdikhani e Borhani (2014), em condições similares a utilizada neste trabalho.

Para as amostras modificadas a morfologia não foi significativamente alterada, porém, partículas de diferentes tamanhos e em menor dimensão foram observadas.

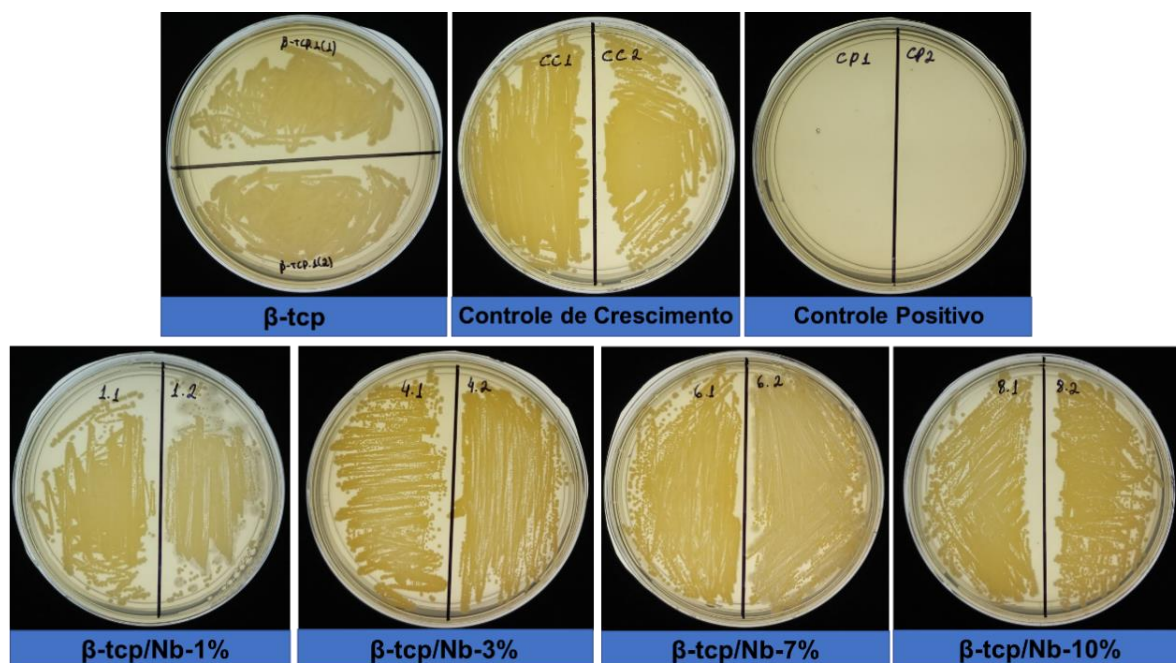
Figura 5.9 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro e modificadas com nióbio



5.4.6 Ensaio antibacteriano

A atividade antimicrobiana do β -TCP e β -TCP contendo Nb foi avaliada frente a bactéria *S. aureus*. As imagens das placas de Petri referentes aos ensaios assim como os controles são apresentados na Figura 5.10.

Figura 5.10. Resultados de atividade antibacteriana do β -TCP e dos sólidos modificados.



A partir da aplicação dos materiais, foi observado que o β -TCP e demais sólidos modificados não apresentaram ação antibacteriana frente a *S. aureus*.

5.6. CONCLUSÕES

A partir dos dados obtidos constatou-se a possibilidade de obtenção de β -TCP puros e modificados com nióbio, de forma monofásicos e cristalina independente do precursor de nióbio utilizado e da quantidade. Através das técnicas utilizadas constatou-se a presença do nióbio em todos os sólidos modificados.

Os testes preliminares de atividade antibacteriana indicaram que a incorporação de Nb na estrutura do β -TCP não favoreceu a atividade frente à bactéria *S. aureus*.

Capítulo 6

**Compósitos de fosfato de cálcio com niobatos
lamelares**

6.1 INTRODUÇÃO

Na literatura pode-se encontrar uma grande variedade de estudos que visam melhorar as propriedades mecânicas dos fosfatos de cálcio, principalmente pela elaboração de compósitos utilizando dióxido de titânio (TiO_2) (Amaravathy *et al.*, 2014; Nie *et al.*, 2019), dióxido de zircônio (ZrO_2) (Brzezińska-Miecznik *et al.*, 2014; Essaddik *et al.*, 2021), alumina (Al_2O_3) (Bartonickova *et al.*, 2017; Hannora, 2014; Nazirah *et al.*, 2021), e também o pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) (Bonadio *et al.*, 2020; Marins *et al.*, 2019; Prado *et al.*, 2021).

Em alusão ao pentóxido de nióbio, é observado que ele está sendo bastante utilizado na formulação de compósitos voltados para a área biotecnológica, devido as suas propriedades, como baixa densidade, ausência de toxicidade (Nascimento *et al.*, 2011), biocompatibilidade e elevada resistência química e mecânica (Mestieri *et al.*, 2017; Nagarajan, Raman e Rajendran, 2010; Ramírez *et al.*, 2011).

Estudos realizados com o pentóxido de nióbio evidenciaram sua capacidade bioativa, elencando-o como um bom candidato para aplicações em revestimentos antialérgicos de endopróteses e reparo ósseo (Bergschmidt *et al.*, 2011; Leitune *et al.*, 2013), pois ele é capaz de promover um elevado grau de adesão e proliferação de osteoblastos (Pradhan *et al.*, 2016).

Além das melhoras nas propriedades biológicas dos compósitos contendo o pentóxido de nióbio, melhorias nas propriedades mecânicas também são descritas. Demirkol *et al.* (2014) elaboraram um compósito à base de hidroxiapatita com 10% em massa de pentóxido de nióbio, e concluíram que a adição melhorou a dureza e a resistência à compressão em 28% e 39%, respectivamente.

Bonadio *et al.* (2020) avaliaram o efeito da adição deste óxido frente ao módulo de Young, resistência a compressão, dureza de vickers, resistência a flexão e o coeficiente de Poisson. Os autores concluíram que a adição de 50% em massa a uma cerâmica bifásica (Hap/ β -TCP) melhorou substancialmente para todas as propriedades avaliadas, principalmente para a resistência à compressão, que aumentou ~440%, e para resistência a flexão, que aumentou ~480%.

Marins *et al.* (2019) adicionaram o compósito baseados em Hap e Nb_2O_5 , em uma matriz polimérica (policaprolactona/gelatina), e concluíram que essa a adição é capaz de melhorar a resistência à tração, o módulo de Young e a ruptura ao alongamento.

Frente as possibilidades de melhoras nas propriedades mecânicas pela adição do Nb_2O_5 , decidiu-se investigar se os niobatos ($\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ e o KNb_3O_8) também poderiam agregar tal característica. A escolha desses materiais se deu devido à ausência de estudos referentes a essas propriedades, além da elevada área superficial que esses materiais possuem. Adicionalmente, é reportado na literatura que esses materiais possuem estruturas lamelares, que podem ser esfoliadas, e sob condições específicas, tais estruturas se dobram sobre as mesmas, formando longos nanotubos.

Algumas pesquisas indicaram a elevada resistência mecânica de alguns niobatos não lamelares a exemplo do niobato de lítio (LiNbO_3), que apresentou uma elevada dureza (Subhadra, Kishan Rao e Sirdeshmukh, 2000), e ao niobato de sódio (NaNbO_3) que apresentou uma acentuada microdureza (Saranya *et al.*, 2017), indicando assim que essa classe de materiais apresentam-se como possíveis candidatos para a formulação de compósitos, que visam a obtenção e novos materiais, que agreguem um sinergismo entre as propriedades biológicas e mecânicas.

Nesta perspectiva foram elaborados compósitos baseados em fosfatos de cálcio e niobatos, a fim de obter heteroestruturas com propriedades mecânicas e biológicas aprimoradas. Diferentes rotas de síntese foram propostas partindo-se do precursor como oxalato amoniacal de nióbio

6.2 METODOLOGIA

6.2.1 Reagentes Químicos

Os reagentes utilizados foram todos com grau de pureza acima de 95% e sem purificação prévia, conforme mostra a Tabela 6.1

Tabela 6.1. Reagentes utilizados na elaboração dos compósitos.

Reagente	Fórmula	Fornecedor
Água deionizada	H ₂ O	-
Hidrogenofosfato de diamônio	(NH ₄) ₂ HPO ₄	Merck
Cloreto de cálcio	CaCl ₂	Sigma Aldrich
Nitrato de cálcio	Ca(NO ₃) ₂	Sigma Aldrich
Hidróxido de amônio	NH ₄ OH	Vetec
Hidróxido de sódio	NaOH	Vetec
Ácido nítrico	HNO ₃	Merk
Hidróxido de tetrabutil amônio	C ₁₆ H ₃₇ NO	Sigma Aldrich
Carbonato de potássio	K ₂ CO ₃	Vetec
Nitrato de potássio	KNO ₃	Vetec
Oxalato amoniacal de nióbio	NH ₄ H ₂ [NbO(C ₂ O ₄) ₃]	Doado pela CBMM
Pentacloreto de nióbio	NbCl ₅	CBMM
Pentóxido de nióbio	Nb ₂ O ₅	CBMM
Ácido cítrico	C ₆ H ₈ O ₇	Sigma Aldrich
Etileno glicol	C ₂ H ₆ O ₂	Isofar

Inicialmente serão descritas as metodologias utilizadas para a síntese dos niobatos de potássio, e a respectiva protonação e esfoliação e, em seguida, serão abordadas as formas de obtenção dos compósitos baseados em fosfatos de cálcio/niobatos

6.2.2. Síntese dos niobatos

6.2.2.1. Hexaniobato de potássio (K₄Nb₆O₁₇)

Para a síntese deste niobato foi utilizada a rota dos precursores poliméricos (Souza, 2018). Inicialmente foram preparadas duas soluções aquosas de ácido cítrico, uma contendo 1,80 mol (solução 1) e a segunda com 1,19 mol (solução 2), em seguida 15,39 g de oxalato amoniacal de nióbio (OANb) foi adicionado a solução 1 e 0,3086 g de hidróxido de potássio foi adicionado a solução 2.

Os dois sistemas foram mantidos sob agitação constante por 10 min. Posteriormente os citratos foram misturados e o pH da solução resultante foi ajustado para 4, com adição de uma solução de hidróxido de amônio. Posteriormente ao ajuste de pH, a solução foi aquecida a 70 °C, e adicionado 22,27 mL de etileno glicol. Após essa adição, a temperatura foi elevada para 90 °C, até aproximadamente 2/3 da solução evaporar. Em seguida, a solução resultante foi calcinada a 300 °C (calcinação 1) em uma mufla (modelo EDG 3P 7000) por 120 min, formando o “puff”.

Ao final deste processo, o puff foi desaglomerado e calcinado a 750 °C (calcinação 2) por 240 min, sob uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, dando origem ao hexaniobato de potássio. As etapas envolvidas neste processo de síntese estão sumarizadas na Figura 6.1.

Figura 6.1. Esquema de síntese do hexaniobato de potássio.



6.2.2.2 Triniobato de potássio (KNb_3O_8)

A síntese deste niobato foi realizada a partir da técnica dos precursores poliméricos, descrita por (Souza *et al.*, 2020), e transcorreu de forma similar ao

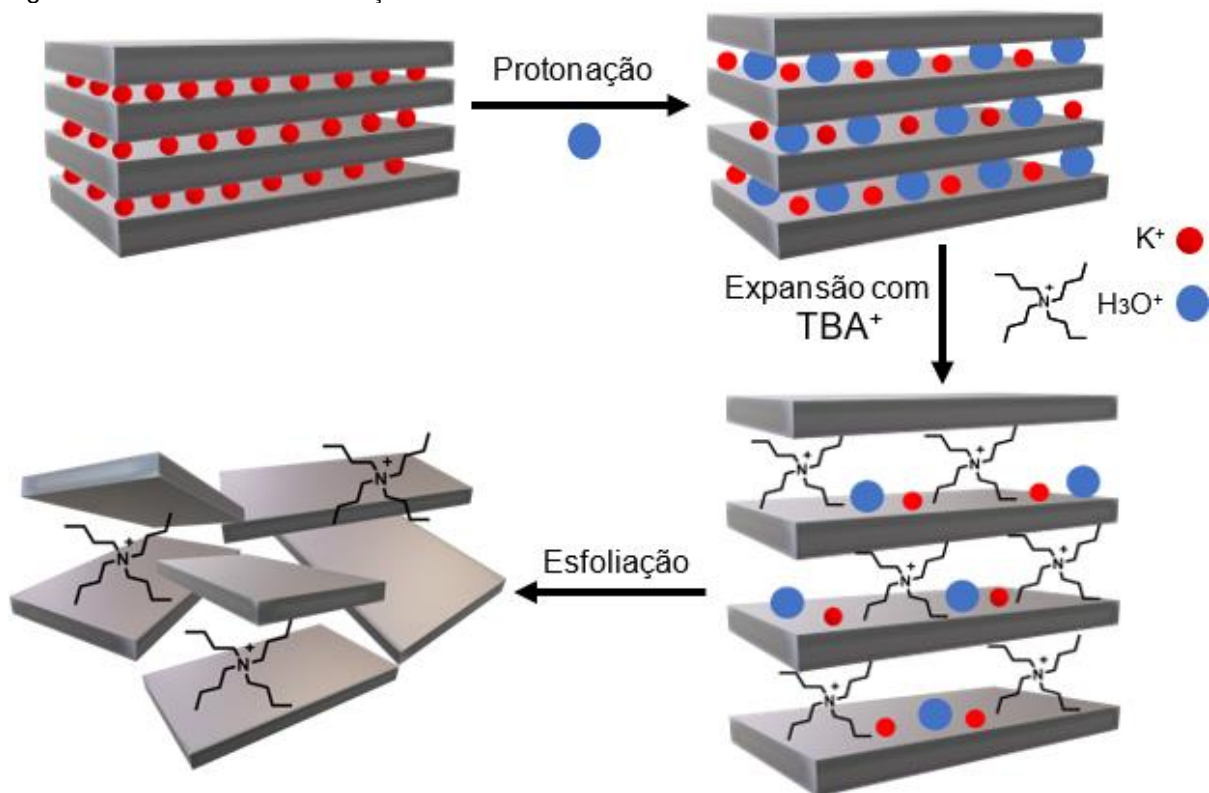
descrito anteriormente para a síntese do hexaniobato, diferindo apenas da fonte de íons de potássio. Inicialmente foram preparadas duas soluções de ácido cítrico, uma a 0,80 mol (sol.1) e outra a 0,27 mol (sol. 2), em seguida 7,80 g de oxalato amoniacal de nióbio (OANb) foi adicionado a sol.1 e 0,46 g de nitrato de potássio foi adicionado a sol.2. Em seguida, os citratos foram misturados e seguiu-se o mesmo procedimento descrito anteriormente.

6.2.2.3 Protonação e exfoliação dos niobatos

Para o processo de protonação da estrutura dos niobatos, cada um deles, separadamente foi suspenso em 20 mL de uma solução de ácido nítrico a 6 mol L⁻¹. O sistema foi aquecido a 60 °C, mantido sob agitação a 100 rpm e sob refluxo durante 3 dias consecutivos, onde a cada 24 h a solução do ácido nítrico era renovada. Após essa etapa, o material resultante foi lavado e seco a 100 °C (Shiguihara, Bizeto e Constantino, 2010).

Já para o processo de esfoliação, o material resultante da protonação foi suspenso em 100 mL a 0,36 mol L⁻¹ de uma solução de uma solução de tetrabutilamônio (TBA⁺), na forma de hidróxido, a 70 °C sob agitação constante por 20 dias. Ao término deste processo, o sistema foi deixado em repouso por 24 h, a fim de promover a decantação do niobato que não foi esfoliado durante o processo, dando origem a uma solução coloidal, contendo as “nanoplacas” dos niobatos. As etapas do processo de esfoliação estão apresentadas na Figura 6.2.

Figura 6.2. Processo de esfoliação dos niobatos

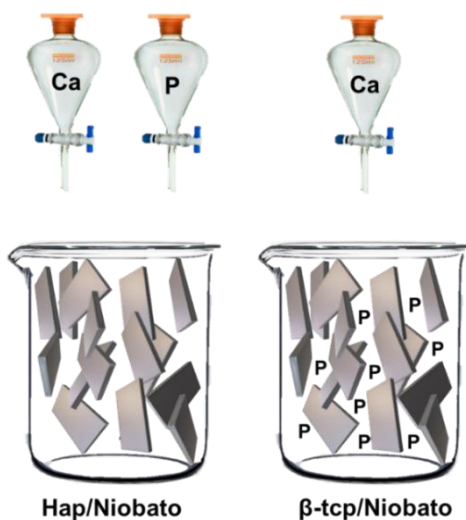


6.2.3 Elaboração dos compósitos baseados em fosfato de cálcio/niobatos.

Os compósitos foram elaborados de duas formas, uma realizando a síntese dos fosfatos dentro das soluções esfoliadas (processo *in situ*), e outra através de impregnação, utilizando os fosfatos de cálcio já sintetizados e a solução coloidal dos niobatos esfoliados, em rota evaporador.

- **Reação *in situ*** – Após a esfoliação de cada um dos niobatos, a solução resultante teve seu pH ajustado para 10,0 com adição de hidróxido de amônio a 1 mol L⁻¹, e separadamente foram adicionados os precursores da hidroxiapatita e do β -fosfato tricálcico para ambas as soluções esfoliadas, como mostrado na Figura 6.3. Ao final de cada processo, seguiu-se os mesmos procedimentos realizados para a síntese de cada um dos fosfatos de cálcio.

Figura 6.3. Procedimento para a elaboração dos compósitos in situ.



- Método de impregnação – Após a esfoliação de cada um dos niobatos, foram separadas alíquotas de 50 e 100 mL, que foram transferidas para balões de fundo redondo com capacidade de 250 mL. Em seguida, amostras de 150 mg de cada um dos fosfatos foram suspensos nestas soluções. O sistema foi mantido a 70 °C até a evaporação do solvente em seguida, os sólidos resultantes foram secos a 80 °C por 24 h, desaglomerados e calcinados a 300 °C. Um resumo do processo é apresentado na Figura 6.4.

Figura 6.4. Procedimento para a elaboração dos compósitos por impregnação



6.2.4 Técnicas de caracterização

Os padrões de XRD foram obtidos usando um difratômetro Shimadzu modelo XRD - 6000 equipado com uma fonte de radiação monocromática de $\text{CuK}\alpha$ $\lambda=1.5406$ Å, operando numa voltagem de 30 kV e corrente de 30 mA. Os padrões foram coletados no intervalo de 2θ entre 5 e 60° , com uma razão de varredura de $0.02^\circ \cdot \text{s}^{-1}$.

Os espectros de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foram registrados em um espectrofotômetro IR Prestige-21 Shimadzu, no modo de transmitância usando o método de pastilhas de KBr (1% em massa). Para cada espectro, um conjunto de 30 varreduras consecutivas foi coletado na faixa de número de onda de $4000\text{--}400\text{cm}^{-1}$ com uma resolução de 4cm^{-1} .

Os espectros Raman foram obtidos em um espectrômetro da marca Renishaw, modelo inVia Raman Microscope, com um laser de Ar^+ , com comprimento de onda de 514 nm e potência de 100 mW.

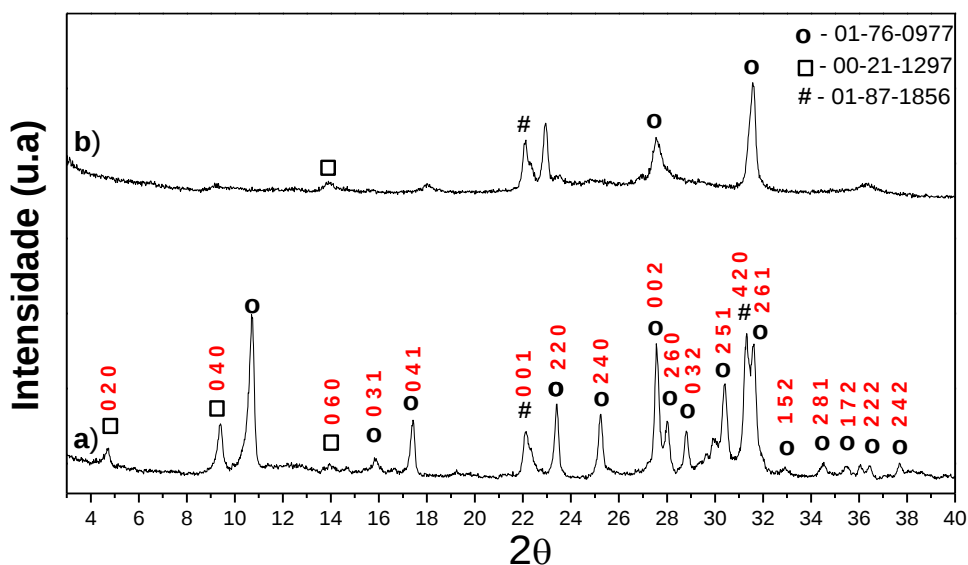
6.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

6.3.1 Hexaniobato de potássio ($\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$)

6.3.1.1 Difractometria de raios X (XRD)

O padrão de difração para o hexaniobato de potássio e sua fase protonada são mostrados na Figura 6.5.

Figura 6.5. Difratogramas do hexaniobato antes a) $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ e após protonação b) $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17} - \text{H}_3\text{O}^+$



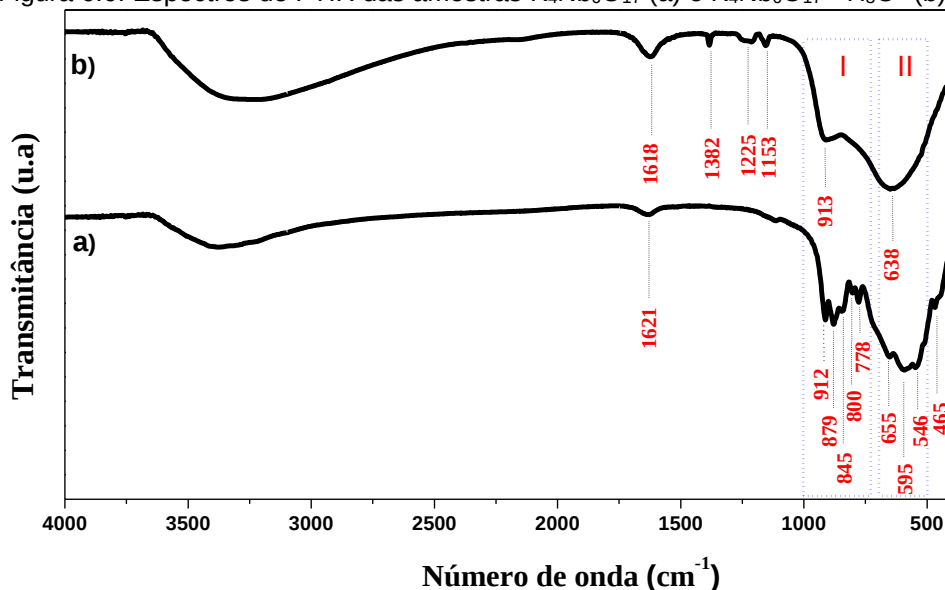
A partir dos difratogramas, é observado que o sólido obtido apresenta picos referentes a fase da hidratada de $K_4Nb_6O_{17}$ (01-076-0977) e sua fase anidra (00-21-1297), além da presença de uma fase secundária, identificada como $K_6Nb_{10,88}O_{30}$. (01-87-1856). Contudo, é importante destacar que a presença desta fase não interfere nos objetivos desta síntese pois se trata de uma estrutura do tipo bronze de tungstênio tetragonal (TTB), que não apresenta uma estrutura lamelar e, portanto, a mesma não permaneceu em solução.

Para o sólido protonado, observa-se que o difratograma obtido apresenta uma redução na intensidade de todos picos, inclusive ao referente ao plano $0\ 2\ 0$, inviabilizando a visualização de descolamentos para menores valores de 2θ , o que indicaria o aumento do espaçamento basal, atribuído a presença do íon hidrônio na região interlamelar. Contudo, é visto na literatura que o difratograma de raios X do sólido obtido por esta rota, ainda não é bem resolvido na literatura, o que pode ser atribuído a estrutura deste composto, pois como se trata de um material interestratificado⁵, cuja interpretação de seu difratograma ainda é de difícil compreensão (Shiguihara, Bizeto e Constantino, 2010).

6.3.1.2 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

Os espectros FTIR para o hexaniobato de potássio e sua forma protonada estão apresentados na Figura 6.6.

Figura 6.6. Espectros de FTIR das amostras $K_4Nb_6O_{17}$ (a) e $K_4Nb_6O_{17} - H_3O^+$ (b)



⁵ Compostos lamelares formados por dois ou mais tipos de lamelas empilhadas

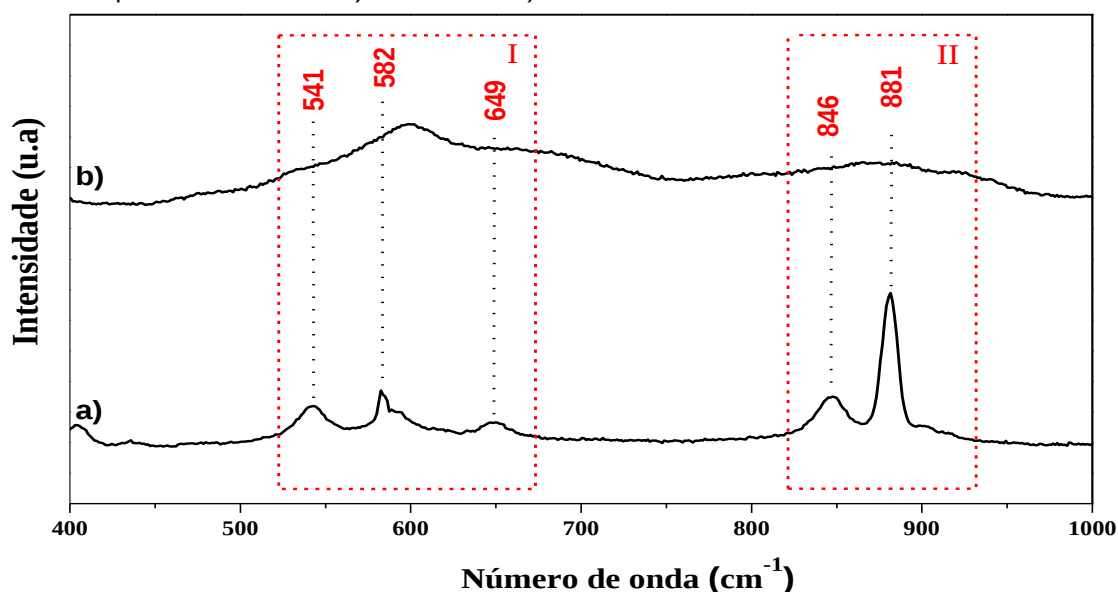
A partir dos espectros, pode-se observar a presença de duas regiões, a primeira referente a estiramentos da ligação Nb-O dos octaedros altamente distorcidos que estão compreendidos de 1000 a 750 cm^{-1} (Wen *et al.*, 2017), e a segunda referente a deformações Nb-O-Nb dos octaedros levemente distorcido de 650 a 500 cm^{-1} . Ainda no espectro, é possível observar que a protonação da estrutura do hexaniobato, proporcionou leves mudanças em ambos os octaedros, cujas as bandas sofreram uma redução na intensidade, associada a um alargamento, resultando na supressão destas absorções, e, o surgimento de uma banda larga.

Segundo alguns autores, este fato pode estar associado ao efeito de relaxação da estrutura dos octaedros, reduzindo a distorção apresentada por eles decorrentes da troca por íons hidrônio, proporcionando assim uma maior organização a curto alcance devido a um aumento na simetria (Blasse e Tol, van, 1995; Gasperin, 1982), o que foi descrito por Souza *et al* (2020) através de cálculos teóricos, utilizando modelagem DFT.

6.3.1.3 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é outra importante técnica de caracterização que possibilita compreender o comportamento dos diferentes tipos de octaedros na estrutura do hexaniobato, pois eles acarretam a existência de duas regiões de absorções bem definidas, como apresentados na Figura 6.7.

Figura 6.7 Espectros Raman do a) $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ e b) $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17} - \text{H}_3\text{O}^+$

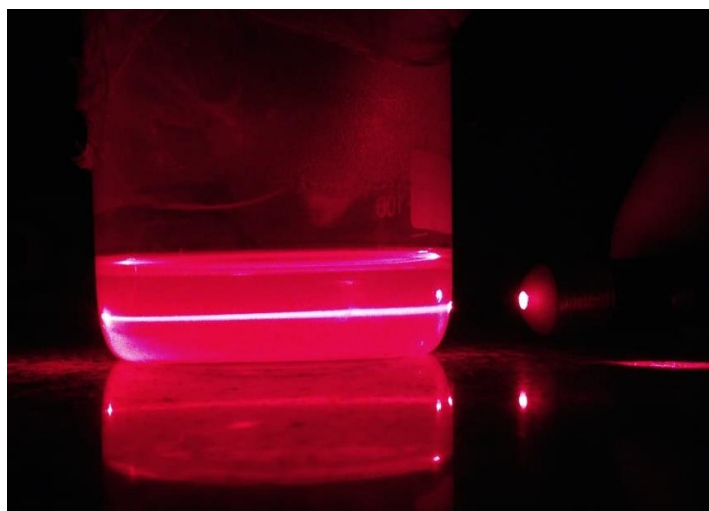


Inicialmente observa-se que os espectros obtidos apresentam bandas localizadas nas mesmas regiões, localizadas numa faixa de 800 a 950 cm^{-1} atribuídas ao estiramento de ligação curtas Nb–O dos octaedros altamente distorcidos (Chou *et al.*, 2013; Shiguihara, Bizeto e Constantino, 2010). Já a faixa de 500 a 700 cm^{-1} atribuídas ao estiramento Nb-O dos octaedros levemente distorcidos. É importante destacar ainda que não foi possível observar absorções características da fase secundária identificada no espectro de difração de Raios X, tal fato deve-se provavelmente a similaridade química de suas unidades estruturais básicas, ambas compostas por octaedros (NbO_6).

Para o espectro da fase protonada, observa-se que houve uma redução na intensidade em quase todas as bandas, indicando que a entrada do íon hidrônio provoca um relaxamento na estrutura dos octaedros, principalmente para os altamente distorcidos, reduzindo assim o grau de distorção, e consequentemente aumentando a simetria (Shiguihara, Bizeto e Constantino, 2010). Adicionalmente é observado que o pico em 582 cm^{-1} atribuído as vibrações dos octaedros levemente distorcidos, é deslocado para maiores valores quando o material foi protonado, além de apresentar uma intensidade relativamente maior do que as bandas em sua vizinhança.

Ao final das caracterizações, a estrutura do $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$ obtido pela rota dos precursores poliméricos foi esfoliada, dando origem a uma solução coloidal, contendo as nanoplacas do niobato que foi avaliada a partir da passagem de luz monocromática decorrente do efeito Tyndall, como mostra a Figura 6.8.

Figura 6.8. Imagem da solução contendo as nanoplacas do hexaniobato esfoliado.



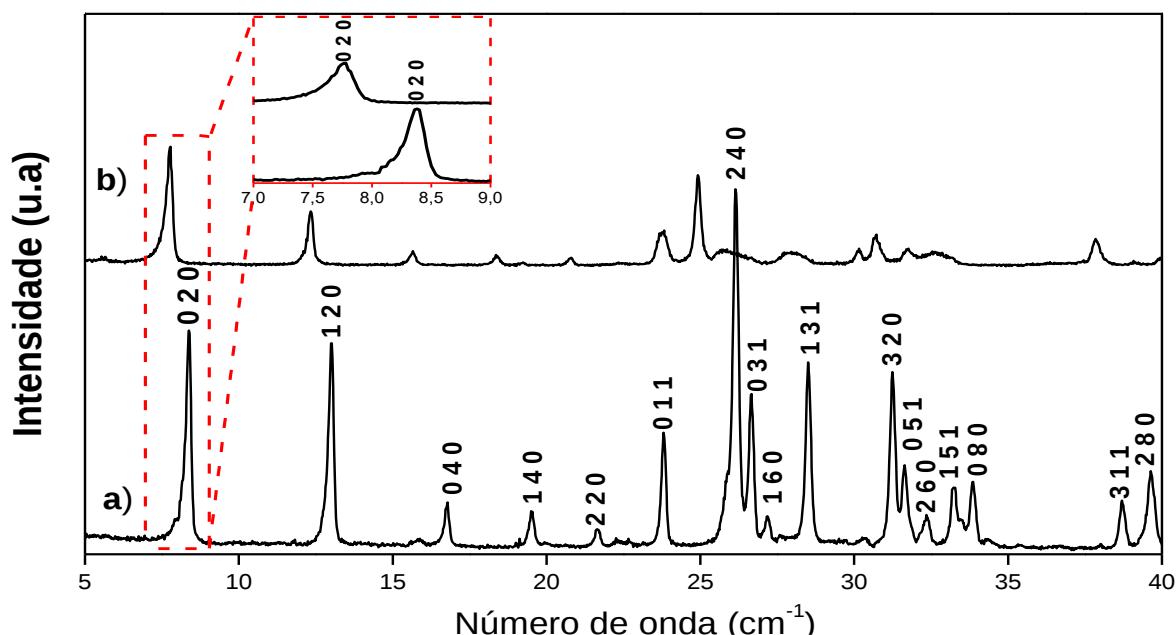
Tal efeito é caracterizado pela incidência de um laser sobre um sistema coloidal, composto por partículas com tamanhos compreendidos 1-1.000 nm, que espalham uma pequena porcentagem da radiação incidente, deixando a maioria atravessar o meio, possibilitando assim a visualização do caminho óptico percorrido pelo laser.

6.3.2 Triniobato de potássio (KNb_3O_8)

6.3.2.1. Difratometria de raios X (XRD)

O padrão de difração para o triniobato de potássio sintetizado pela rota dos precursores poliméricos e sua fase protonada são mostrados na Figura 6.9. Os planos foram indexados para os picos de maior intensidade acordo com a carta cristalográfica JCPDS 75-2182, referente a fase potássica.

Figura 6.9. Difratomogramas de raios. a) KNb_3O_8 e b) $\text{KNb}_3\text{O}_8 - \text{H}_3\text{O}^+$



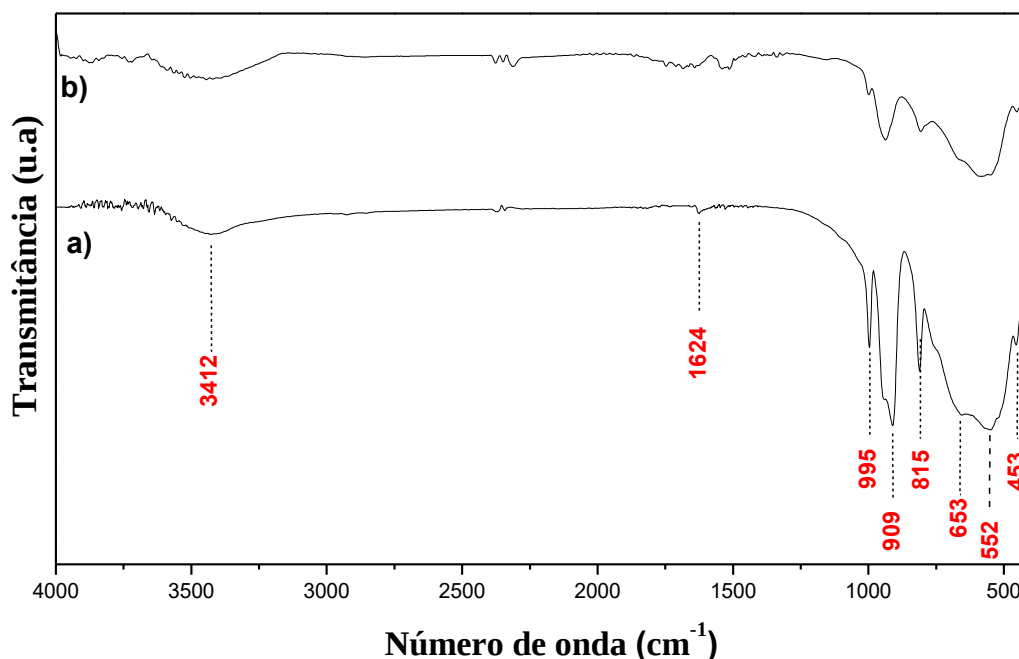
A partir da análise do difratograma obtido, observou-se que a rota de síntese utilizada, possibilitou a obtenção de um material aparentemente monofásico. Para o material protonado, observa-se a ocorrência de deslocamentos principalmente do plano $0\ 2\ 0$, referente a sua estrutura lamelar, para menores valores de 2θ , indicando um aumento da distância interplanar, fato coerente com o processo de troca iônica, tendo em vista que o íon H_3O^+ é mais volumoso que o íon K^+ , possibilitando assim a admissão de moléculas mais volumosas em sua região interlamelar.

6.3.2.2. Espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR)

O espectro FTIR obtido para o triniobato de potássio (Figura 6.10), apresentou bandas características das vibrações dos octaedros (NbO_6), localizadas em 995, 909 e 815 cm^{-1} que são atribuídas aos estiramentos Nb–O dos octaedros altamente distorcidos (Li *et al.*, 2018). As absorções em 653 e 552 cm^{-1} são atribuídas aos estiramentos Nb–O dos octaedros levemente distorcidos, e em 453 cm^{-1} referente a deformação angular O–Nb–O (Li *et al.*, 2018).

Ainda nos espectros é possível identificar a presença de água, pela presença de uma banda larga em 3412 cm^{-1} , associada aos estiramentos dos grupos O–H de água adsorvida, e em 1624 cm^{-1} relativa à deformação angular do grupo O–H de água fisissorvida.

Figura 6.10. Espectros de absorção no infravermelho para a) KNb_3O_8 e b) $\text{KNb}_3\text{O}_8 - \text{H}_3\text{O}^+$

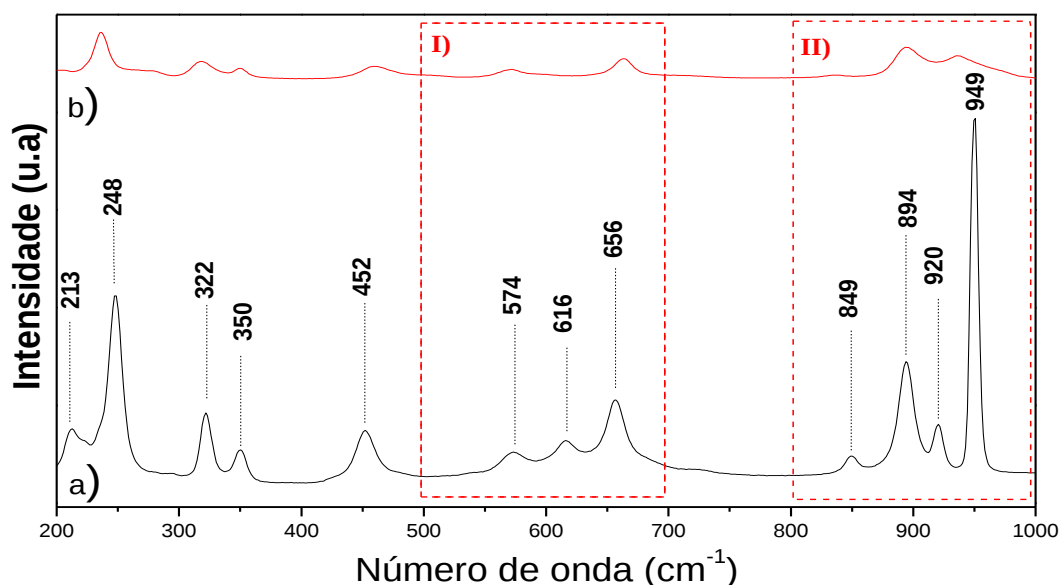


No espectro da fase protonada, observa-se uma redução na intensidade e alargamento das bandas, porém, diferentemente do espectro obtido para o hexaniobato, ainda é possível observar a presença de todas as absorções, o que é atribuído a uma estrutura uniforme da região interlamelar, pois a estrutura apresenta apenas um tipo de lamela.

6.3.2.3 Espectroscopia Raman

Como já foi discutido anteriormente, o triniobato de potássio também apresenta em sua estrutura os octaedros altamente e levemente distorcidos acarretando o surgimento de frequências distintas para cada um dos octaedros, como pode ser visto nos espectros Raman apresentados na Figura 6.11.

Figura 6.11. Espectros de Raman. a) KNbO_3 , b) $\text{KNb}_3\text{O}_8 - \text{H}_3\text{O}^+$

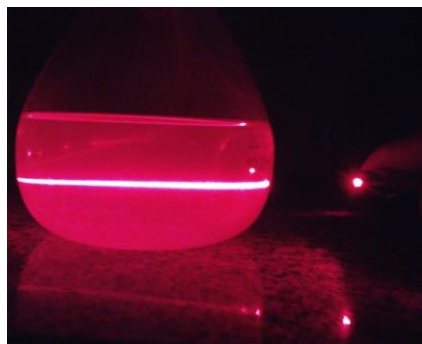


De forma similar ao que acontece com o espectro Raman do hexaniobato de potássio, o espectro do KNb_3O_8 e sua fase protonada também apresentaram duas regiões bem definidas, sendo a primeira referente as ligações mais longas (Nb–O), atribuídas aos octaedros levemente distorcidos contida de 500 a 700 cm^{-1} (Deng *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018). A segunda região é referente as ligações Nb–O curtas dos octaedros altamente distorcidos, localizadas de 800 a 1000 cm^{-1} (Deng *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018), e a região de 200 a 400 cm^{-1} estão contidas as absorções referentes as deformações angulares de grupos Nb–O–Nb (Deng *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018).

Para o espectro da fase protonada pode-se perceber uma significativa redução na intensidade, pois a admissão do íon hidrônio na região interlamelar afeta a microestrutura do material, provocando o mesmo efeito discutido anteriormente para o hexaniobato d fazendo com as bandas localizadas em 920 e 949 cm^{-1} sejam suprimidas, dando origem a outra banda localizada em 936 cm^{-1} .

Após as etapas de caracterizações, a fase protonada do triniobato de potássio teve sua estrutura esfoliada, dando origem uma solução coloidal (Figura 12) que posteriormente foi utilizada na elaboração de compósitos com os fosfatos de cálcio.

Figura 6.12. Imagem da solução coloidal contendo as nanoplacas do triniobato



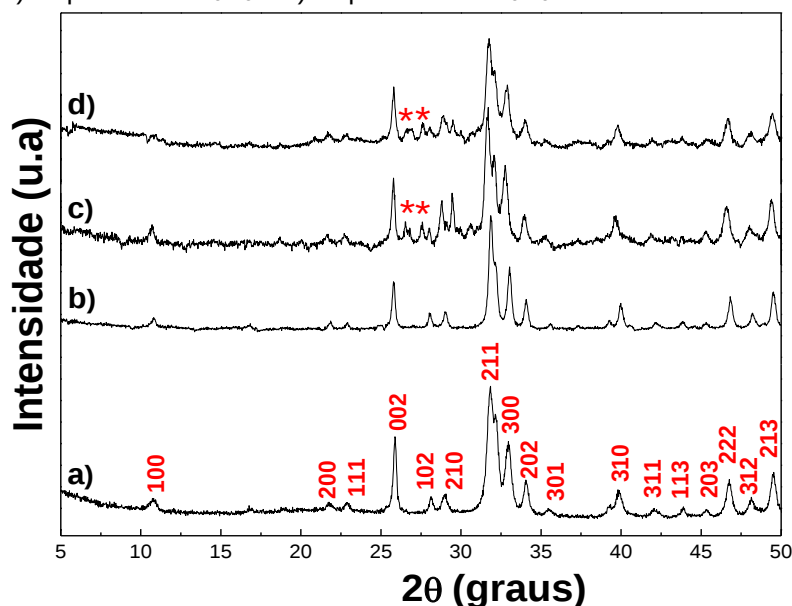
6.3.3 Compósitos

6.3.3.1. Hidroxiapatitas modificadas com triniobato

6.3.3.1.1 Difractometria de Raios X (XRD)

É importante ressaltar que após a esfoliação, ambos os niobatos abordados nesta pesquisa perdem a organização estrutural, e desta forma há a possibilidade de uma redução na intensidade ou até mesmo a supressão dos picos, devido a intensa redução do espalhamento construtivo enunciado pela lei de Bragg. Os difratogramas de Raios X são apresentados na Figura 6.13.

Figura 6.13. Difratogramas de raios X dos sólidos elaborados com o triniobato a) Hap, b) Hap/Nb₃O₈, c) Hap/50mL - Nb₃O₈ e d) Hap/100mL - Nb₃O₈



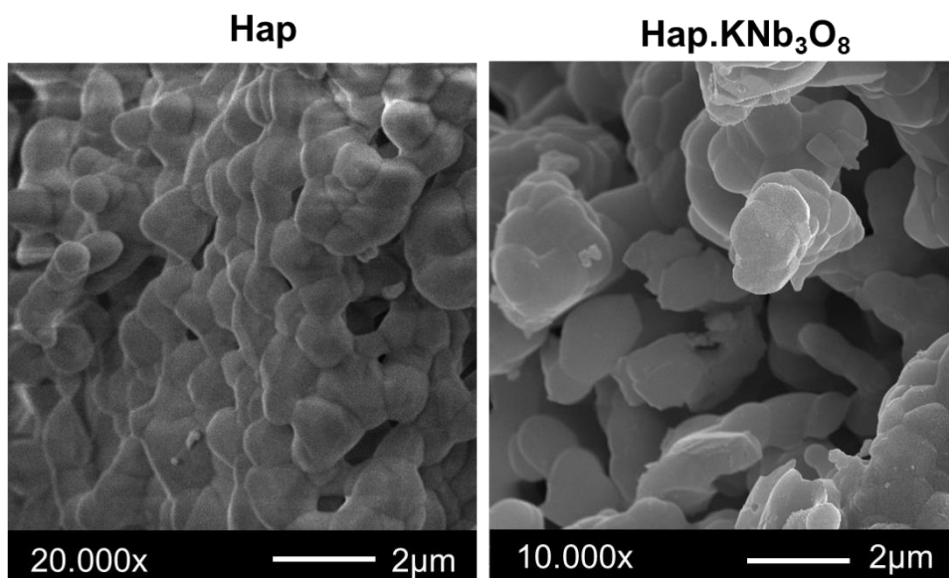
A partir dos difratogramas, observou-se que a hidroxiapatita sintetizada sobre a solução esfoliada do triniobato de potássio, apresentou um perfil de difração idêntico ao material de controle, sem a presença de picos referentes aos planos de difração do niobato.

Para os compósitos elaborados com 50 e 100 mL da solução coloidal, observou-se a presença de picos com intensidades bem reduzidas, associada a fase do triniobato de potássio (JCPDS 75-2182), pelos planos 0 3 1 e 1 6 0. Para todos os compósitos elaborados, pode-se observar ainda, a presença de pequenos desvios para menores ângulos, o que pode ser um indicativo da interação entre a Hap e as nanoplaquetas do niobato.

6.3.3.2.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)

As imagens de microscopia eletrônica de alta resolução para os compósitos da Hap com triniobato de potássio são apresentadas na Figura 6.14. Para a Hap obtida a pH 10,0 e calcinada a 500°C observa-se a formação de partículas que sinterizaram e formaram uma espécie de rede porosa pela sinterização das partículas. O mesmo formato foi observado para a obtenção da Hap em condições similares a utilizada neste trabalho (Rodríguez-Lugo *et al.*, 2018). O formato típico de partículas hexagonais da Hap normalmente observado para partículas de Hap foi observado no compósito, embora com tamanhos irregulares.

Figura 6.14 Imagens de MEV-FEG dos sólidos Hap puro do compósito com o KNb_3O_8



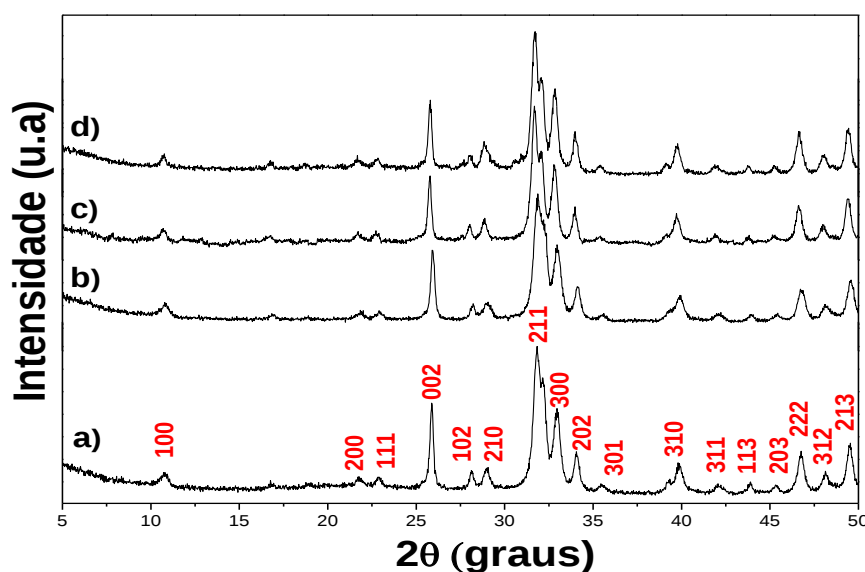
6.3.3.2 Hidroxiapatitas modificadas com hexaniobato

6.3.3.2.1. Difractometria de Raios X (XRD)

A partir dos difratogramas obtidos para os sólidos (Figura 6.15), observa-se que eles apresentam o mesmo perfil de difração da Hap, com pequenos desvios, para menores ângulos para os sólidos elaborados por rota evaporação, e desvios para ângulos mais elevados, para o sólido elaborado *in situ* na dispersão coloidal, o que pode indicar existência de interações diferentes em cada uma das rotas utilizadas.

Pode-se observar ainda que os difratogramas dos sólidos, não exibiram picos referentes aos planos de difração do hexaniobato, o que pode estar associado uma elevada redução da ordem a longo alcance proporcionado pela exfoliação.

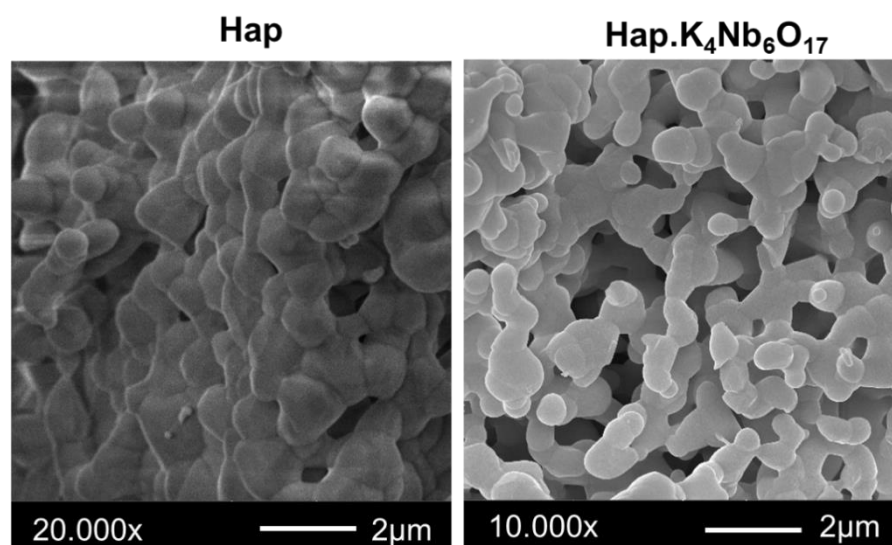
Figura 6.15. Difratogramas de raios X dos sólidos modificados com o hexaniobato a) Hap, b) Hap/Nb₆O₁₇, c) Hap/50mL - Nb₆O₁₇ e d) Hap/100mL - Nb₆O₁₇



6.3.3.2.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)

As imagens de microscopia eletrônica de alta resolução para os compósitos da Hap com hexanioniobato de potássio são apresentadas na Figura 6.16. Observa-se que houve a formação de partículas interligadas sem formato definido com formação mais evidente da rede porosa interconectada e a presença de grande quantidade de cavidades interpartículas.

Figura 6.16 As imagens de MEV-FEG da Hap e do compósito Hap.K₄Nb₆O₁₇

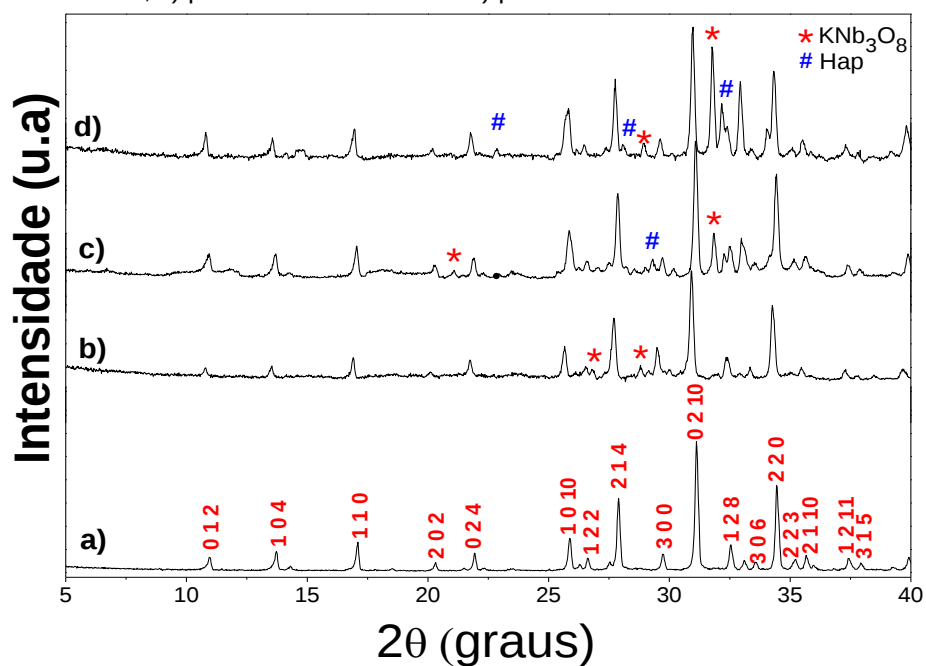


6.3.3.3 β -Fosfatos tricálcicos modificados com triniobato

6.3.3.3.1. Difratometria de raios X (XRD)

A partir dos difratogramas obtidos para os sólidos (Figura 6.17), observa-se que em geral, eles apresentam o mesmo perfil de difração do β -TCP.

Figura 6.17. Difratogramas de raios X dos sólidos modificados com o triniobato a) β -TCP, b) β -TCP/Nb₃O₈, c) β -TCP/50mL - Nb₃O₈ e d) β -TCP/100mL - Nb₃O₈



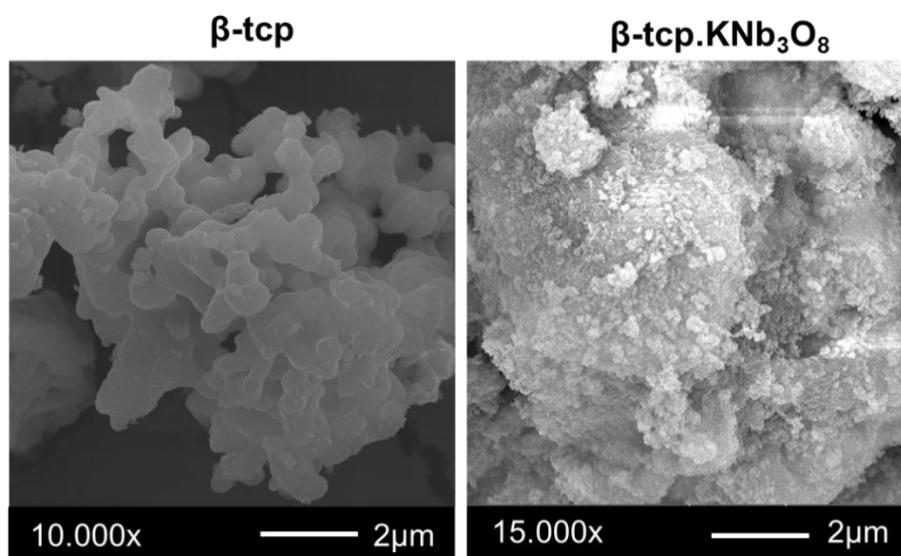
A partir dos difratogramas, pode-se observar que os compósitos apresentaram composições distintas. Para o compósito elaborado *in situ* é possível observar picos

de difração com baixa intensidade, referentes a fase do niobato, além de pequenos desvios para menores ângulos. Enquanto para os compósitos elaborados por rota evaporação, é possível observar picos referentes a fase da Hap, provavelmente formada durante o processo de queima, utilizado para remover a parte orgânica responsável pela esfoliação.

6.3.3.3.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)

As imagens de microscopia eletrônica de alta resolução para os sólidos β -TCP e seus compósitos com triniobato de potássio são apresentadas na Figura 6.18. Observa-se que houve a formação de partículas de tamanhos superior a 2 μm , de formato irregular e aparentando a presença de uma segunda fase depositada sobre a partícula.

Figura 6.18 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro do compósito com o KNb_3O_8



6.3.3.4. β -Fosfatos tricálcicos modificados com hexaniobato por impregnação.

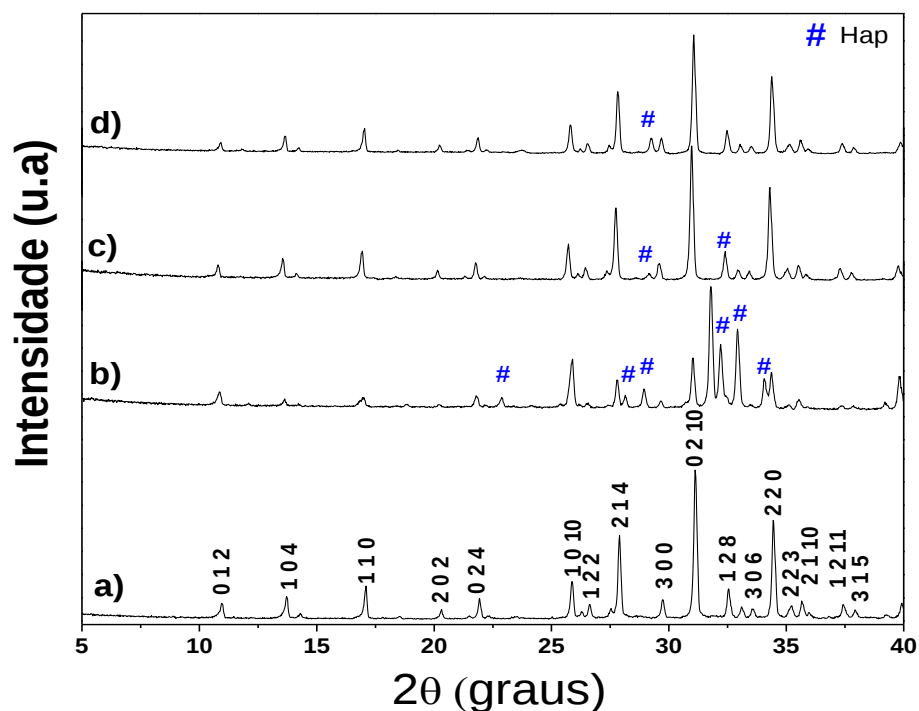
6.3.3.4.1. Difractometria de raios X (XRD)

A partir dos difratogramas obtidos para os sólidos (Figura 6.16), observa-se que eles apresentam o mesmo perfil de difração do β -TCP.

Observa-se a que todos os compósitos elaborados, apresentaram ainda picos referentes a presença de fase secundária, identificada como Hap, provavelmente

formada durante a calcinação, não apresentando picos referentes a fase do niobato, indicando a ocorrência do processo de esfoliação.

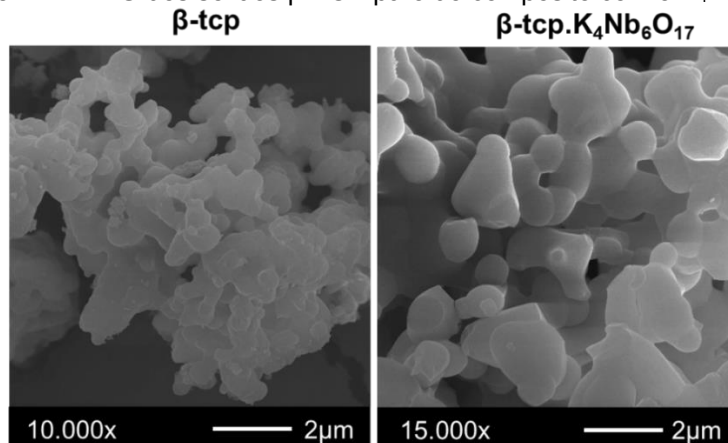
Figura 6.19. Difratomogramas de raios X dos sólidos modificados com o hexaniobato a) β -TCP, b) β -TCP/ Nb_6O_{17} , c) β TCP/50mL - Nb_6O_{17} e d) β -TCP/100mL - Nb_6O_{17}



6.3.3.4.2. Microscopia eletrônica de varredura (MEV/FEG)

As imagens de microscopia eletrônica de alta resolução para os sólidos β -TCP e seus compósitos com hexaniobato de potássio são apresentadas na Figura 6.20. Observa-se que houve morfologia inicial do material foi mantida no compósito com a presença de cavidades e maior grau de interligação entre as partículas formadas.

Figura 6.20 Imagens de MEV-FEG dos sólidos β -TCP puro do compósito com o $\text{K}_4\text{Nb}_4\text{O}_{17}$



6.4. Conclusões

Para a síntese dos niobatos, observa-se que um deles apresentou picos referentes a presença de fase secundária, o que não interfere na etapa posterior de impregnação, pois o sólido decantado foi descartado, utilizando-se apenas a solução coloidal, constituída pelas nanoplacas dos niobatos.

Para a elaboração dos compósitos, foi observado em geral que a rota de modificação *in situ*, com exceção do β -TCP/Nb₃O₈, possibilitou a obtenção de sólidos que não apresentaram picos de difração referentes a fase do niobato utilizado, indicando uma maior dispersão deste material sobre a superfície dos fosfatos de cálcio utilizados.

Capítulo 7

Perspectivas futuras

7.1 Perspectivas futuras

Nesse trabalho foram realizadas as etapas de síntese e caracterização estrutural parcial dos sistemas baseados em fosfatos de cálcio dopados com nióbio e síntese de compósitos. Tendo em vista as aplicações futuras, várias caracterizações biológicas, estruturais, morfológicas e térmicas são necessárias. Dessa forma, pretende-se realizar para todos os compostos:

- Testes de resistência mecânica (dureza de vickres, resistência a compressão, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura),
- Testes de estabilidade térmica (TG/DTG);
- Caracterização morfológica por microscopias de varredura e de transmissão;
- Utilizar refinamentos estruturais baseados no método Rietveld;
- Executar cálculos computacionais para a otimizar a estrutura dos sólidos modificados com nióbio, utilizando teoria funcional de densidade (DFT);
- Avaliação da bioatividade *in vitro*, utilizando SBF;
- Ensaios de viabilidade celular utilizando culturas celulares de osteoblastos e fibroblastos humanos.

Capítulo 8

Referências Bibliográficas

8.1 Referencias bibliográficas

AGHAYAN, M. A.; RODRÍGUEZ, M. A. Influence of fuels and combustion aids on solution combustion synthesis of bi-phasic calcium phosphates (BCP). **Materials Science and Engineering C**, v. 32, n. 8, 2012.

AKAHORI, T. *et al.* Characteristics of biomedical beta-type titanium alloy subjected to coating. **Materials Transactions**, v. 49, n. 2, p. 365–371, 2008.

AKINDOYO, J. O. *et al.* Impact modified PLA-hydroxyapatite composites – Thermo-mechanical properties. **Composites Part A: Applied Science and Manufacturing**, v. 107, n. January, p. 326–333, 2018.

AL-SANABANI, J. S.; MADFA, A. A.; AL-SANABANI, F. A. Application of calcium phosphate materials in dentistry. **International Journal of Biomaterials**, v. 2013, 2013.

ALBEE, F. H. Studies in Bone Growth: Triple Calcium Phosphate As a Stimulus To Osteogenesis. **Annals of surgery**, v. 71, n. 1, p. 32–9, 1920.

AMARAVATHY, P. *et al.* Bioactive HA/TiO₂ coating on magnesium alloy for biomedical applications. **Ceramics International**, v. 40, n. 5, p. 6617–6630, 2014.

AMORIM, M. O. DE *et al.* Synthesis and characterization of niobium-doped fish scale-derived hydroxyapatite by physical ultrasound interference. **Ceramica**, v. 67, n. 381, p. 23–27, 2021.

ANTONIAC, I. V. **Handbook of bioceramics and biocomposites**. 1. ed. Bucharest: Springer US, 2016.

ARAÚJO, M. G.; LILJENBERG, B.; LINDHE, J. β -tricalcium phosphate in the early phase of socket healing: An experimental study in the dog. **Clinical Oral Implants Research**, v. 21, n. 4, p. 445–454, 2010.

ATES, T. *et al.* The effects of Mn and/or Ni dopants on the in vitro/in vivo performance, structural and magnetic properties of β -tricalcium phosphate bioceramics. **Ceramics International**, v. 45, n. 17, p. 22752–22758, 2019.

ATUCHIN, V. V. *et al.* Nb 3d and O 1s core levels and chemical bonding in niobates. **Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena**, v. 142, n. 2, p. 129–134, 2005.

BARTONICKOVA, E. *et al.* Porous HA/alumina composites intended for bone-tissue engineering. **Materiali in Tehnologije**, v. 51, n. 4, 2017.

BATISTA, H. A. *et al.* Modeling and optimization of combustion synthesis for hydroxyapatite production. **Ceramics International**, v. 46, n. 8, p. 11638–11646, 2020.

BEASLEY, M. M. *et al.* Comparison of transmission FTIR, ATR, and DRIFT

spectra: Implications for assessment of bone bioapatite diagenesis. **Journal of Archaeological Science**, v. 46, n. 1, p. 16–22, 2014.

BENATAYA, K. *et al.* Synthesis of B-type carbonated hydroxyapatite by a new dissolution-precipitation method. **Materials Today: Proceedings**, v. 31, n. xxxx, p. S83–S88, 2020.

BENSALAH, H. *et al.* Azo dye adsorption on an industrial waste-transformed hydroxyapatite adsorbent: Kinetics, isotherms, mechanism and regeneration studies. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 8, n. 3, p. 103807, 2020.

BERGSCHMIDT, P. *et al.* Comparative Study of Clinical and Radiological Outcomes of Unconstrained Bicondylar Total Knee Endoprostheses with Anti-allergic Coating. **The Open Orthopaedics Journal**, v. 5, n. 1, p. 354–360, 2011.

BERNSTEIN, A. *et al.* Microporous calcium phosphate ceramics as tissue engineering scaffolds for the repair of osteochondral defects: Histological results. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 7, p. 7490–7505, 2013.

BEST, S. M. *et al.* Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, n. 7, p. 1319–1327, 2008.

BHARATH, G. *et al.* Enhanced hydroxyapatite nanorods formation on graphene oxide nanocomposite as a potential candidate for protein adsorption, pH controlled release and an effective drug delivery platform for cancer therapy. **Analytical Methods**, v. 9, n. 2, p. 240–252, 2017.

BILLAH, R. E. K. *et al.* Removal and regeneration of iron (Iii) from water using new treated fluorapatite extracted from natural phosphate as adsorbent. **Biointerface Research in Applied Chemistry**, v. 11, n. 5, p. 13130–13140, 2021.

BIZETO, M. A. *et al.* Artigo. v. 29, n. 6, p. 1215–1220, 2006.

BIZETO, M. A. *et al.* Intralamellar structural modifications related to the proton exchanging in K4Nb6O17 layered phase. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 71, n. 4, p. 560–564, 2010.

BLASSE, G.; TOL, F. VAN. Luminescence of KNb3O8. **Solid State Communications**, v. 95, n. 7, p. 465–468, 1995.

BOANINI, E.; GAZZANO, M.; BIGI, A. Ionic substitutions in calcium phosphates synthesized at low temperature. **Acta Biomaterialia**, v. 6, n. 6, p. 1882–1894, 2010.

BOHNER, M.; SANTONI, B. L. G.; DÖBELIN, N. β -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties. **Acta Biomaterialia**, v. 113, p. 23–41, 2020.

BOHRE, A.; AVASTHI, K.; PET'KOV, V. I. Vitreous and crystalline phosphate high level waste matrices: Present status and future challenges. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 50, p. 1–14, 2017.

BONADIO, T. G. M. *et al.* Bioactivity and structural properties of nanostructured bulk composites containing Nb2O5 and natural hydroxyapatite. **Journal of Applied**

Physics, v. 113, n. 22, 2013.

_____. Enhanced mechanical properties and osseointegration features of $\text{CaNb}_2\text{O}_6\text{--PNb}_9\text{O}_{25}\text{--Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ triphasic nanostructured bioceramics derived by optimised sinterization of Nb_2O_5 and natural hydroxyapatite- β -tricalcium phosphate. **Ceramics International**, v. 46, n. 8, p. 12837–12845, 2020.

BORKOWSKI, L. *et al.* Fluorapatite ceramics for bone tissue regeneration: Synthesis, characterization and assessment of biomedical potential. **Materials Science and Engineering C**, v. 116, n. June, p. 111211, 2020.

BOTHE, F. *et al.* Stimulation of calvarial bone healing with human bone marrow stromal cells versus inhibition with adipose-tissue stromal cells on nanostructured β -TCP-collagen. **Acta Biomaterialia**, v. 76, p. 135–145, 2018.

BOVAND, D.; ARABI, A. M.; BOVAND, M. Microwave assisted solution combustion synthesis of β -tricalcium phosphate nano-powders. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 57, n. 6, p. 240–246, 2018.

BOZARI, E.; EAVANI, S. Copper phthalocyanine/fluorapatite nano composite and its pH- and photo-responsive properties. **Optik**, v. 232, n. February, p. 166483, 2021.

BRASIL. Presidência da República. p. 6050, 1974.

_____. Boletim do Setor MINERAL. 2020.

BRAUER, D. S. Bioactive glasses - Structure and properties. **Angewandte Chemie - International Edition**, v. 54, n. 14, p. 4160–4181, 2015.

BRAZDIS, R. I. *et al.* Recent progress in the application of hydroxyapatite for the adsorption of heavy metals from water matrices. **Materials**, v. 14, n. 22, p. 1–30, 2021.

BRIGAUD, I. *et al.* Synergistic effects of BMP-2, BMP-6 or BMP-7 with human plasma fibronectin onto hydroxyapatite coatings: A comparative study. **Acta Biomaterialia**, v. 55, p. 481–492, 2017.

BRZEZIŃSKA-MIECZNIK, J. *et al.* The effect of calcination and zirconia addition on HAp hot pressed materials. **Ceramics International**, v. 40, n. 10, 2014.

BUKHTIYAROVA, M. V. A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 269, p. 494–506, 2019.

BULINA, N. V. *et al.* Structure and thermal stability of fluorhydroxyapatite and fluorapatite obtained by mechanochemical method. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 282, p. 121076, 2020.

CANILLAS, M. *et al.* Processing of hydroxyapatite obtained by combustion synthesis. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 56, n. 5, 2017.

CAPANEMA, N. S. V. *et al.* Niobium-doped hydroxyapatite bioceramics:

Synthesis, characterization and In Vitro cytocompatibility. **Materials**, v. 8, n. 7, p. 4191–4209, 2015.

CARNITI, P. *et al.* Niobium-containing hydroxyapatites as amphoteric catalysts: Synthesis, properties, and activity. **ACS Catalysis**, v. 4, n. 2, p. 469–479, 2014.

CARVILLE, N. C. *et al.* Biocompatibility of ferroelectric lithium niobate and the influence of polarization charge on osteoblast proliferation and function. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 103, n. 8, 2015.

CAZALBOU, S.; BERTRAND, G.; DROUET, C. Tetracycline-Loaded Biomimetic Apatite: An Adsorption Study. **Journal of Physical Chemistry B**, v. 119, n. 7, p. 3014–3024, fev. 2015.

CHAAIR, H.; LABJAR, H.; BRITEL, O. Synthèse du phosphate tricalcique- β . **Morphologie**, v. 101, n. 334, p. 120–124, 2017.

CHAPPARD, D. *et al.* Sinus lift augmentation and β -TCP: A microCT and histologic analysis on human bone biopsies. **Micron**, v. 41, n. 4, p. 321–326, 2010.

CHEN, F.; WANG, D. Novel technologies for the prevention and treatment of dental caries: A patent survey. **Expert Opinion on Therapeutic Patents**, v. 20, n. 5, p. 681–694, 2010.

CHEN, G. *et al.* A postsynthetic ion exchange method for tunable doping of hydroxyapatite nanocrystals. **RSC Advances**, v. 7, n. 89, p. 56537–56542, 2017.

CHEN, H. *et al.* Synthesis of fluorapatite nanorods and nanowires by direct precipitation from solution. **Crystal Growth and Design**, v. 6, n. 6, p. 1504–1508, 2006.

CHEN, W. *et al.* Fabrication of biocompatible potassium sodium niobate piezoelectric ceramic as an electroactive implant. **Materials**, v. 10, n. 4, 2017.

CHIEN, S. H.; CLAYTON, W. R. Application of Elovich equation to the kinetics of phosphate release and sorption in soils¹. **Soil Science Society of America Journal**, v. 44, p. 265–268, 1984.

CHOI, D.; KUMTA, P. N. Mechano-chemical synthesis and characterization of nanostructured β -TCP powder. **Materials Science and Engineering C**, v. 27, n. 3, p. 377–381, 2007.

CHOU, J. *et al.* Controlled Release of Simvastatin from Biomimetic β -TCP Drug Delivery System. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. 2–7, 2013.

CLAVERIE, M. *et al.* Synthetic Talc and Talc-Like Structures: Preparation, Features and Applications. **Chemistry - A European Journal**, v. 24, n. 3, p. 519–542, 2018.

CRUZ, R. *et al.* Calcium phosphate carrying simvastatin enhances bone regeneration: A systematic review. **Brazilian Dental Journal**, v. 31, n. 2, p. 93–102, 2020.

DAHLAN, K. *et al.* Synthesis of chicken eggshell based nanofluorapatite using sonochemical and microwave-assisted precipitation methods. **International Journal of Nanoelectronics and Materials**, v. 13, n. 3, p. 537–546, 2020.

DAL SASSO, G. *et al.* Raman hyperspectral imaging as an effective and highly informative tool to study the diagenetic alteration of fossil bones. **Talanta**, v. 179, n. October 2017, p. 167–176, 2018.

DEMIRKOL, N.; OKTAR, F. N.; KAYALI, E. S. Production and mechanical properties of commercial synthetic hydroxyapatite (CSHA) composites. **Key Engineering Materials**, v. 587, p. 147–153, 2014.

DENG, Q. *et al.* Exploring optoelectronic properties and mechanisms of layered ferroelectric K₄Nb₆O₁₇ nanocrystalline films and nanolaminas. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, 2017.

DENRY, I.; HOLLOWAY, J. A.; GUPTA, P. K. Effect of crystallization heat treatment on the microstructure of niobium-doped fluorapatite glass-ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 100 B, n. 5, p. 1198–1205, 2012.

DENRY, I. L. *et al.* Effect of niobium content on the microstructure and thermal properties of fluorapatite glass-ceramics. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 75, n. 1, p. 18–24, 2005.

DOROZHUKIN, S. V. Calcium orthophosphate-based bioceramics. **Materials**, v. 6, n. 9, p. 3840–3942, 2013.

DOUGLAS, T. E. L. *et al.* Novel self-gelling injectable hydrogel/alpha-tricalcium phosphate composites for bone regeneration: Physiochemical and microcomputer tomographical characterization. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 106, n. 3, p. 822–828, 2018.

DREGHICI, D. B. *et al.* Chitosan–hydroxyapatite composite layers generated in radio frequency magnetron sputtering discharge: From plasma to structural and morphological analysis of layers. **Polymers**, v. 12, n. 12, p. 1–14, 2020.

EBADIPOUR, N. *et al.* Calcium hydroxyapatite: A highly stable and selective solid catalyst for glycerol polymerization. **Catalysts**, v. 11, n. 10, 2021.

EPPLER, M. *et al.* Application of calcium phosphate nanoparticles in biomedicine. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, n. 1, p. 18–23, 2010.

ERSAN, M. *et al.* Synthesis of hydroxyapatite/clay and hydroxyapatite/pumice composites for tetracycline removal from aqueous solutions. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 96, p. 22–32, 2015.

ES-SADDIK, M. *et al.* Effect of the surface chemistry on the stability and mechanical properties of the Zirconia-Hydroxyapatite bioceramic. **Surfaces and Interfaces**, v. 23, n. January, p. 100980, 2021.

ESHTIAGH-HOSSEINI, H.; HOUSAINDOKHT, M. R.; CHAHKANDI, M. Effects of parameters of sol-gel process on the phase evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite. **Materials Chemistry and Physics**, v. 106, n. 2–3, 2007.

FADEEVA, I. V. *et al.* Antibacterial and cell-friendly copper-substituted tricalcium phosphate ceramics for biomedical implant applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 129, n. September, 2021.

FATHI, M. H.; ZAHRANI, E. M.; ZOMORODIAN, A. Novel fluorapatite/niobium composite coating for metallic human body implants. **Materials Letters**, v. 63, n. 13–14, p. 1195–1198, 2009.

FERNANDES, G. V. O. *et al.* Evaluation of cytocompatibility of bioglass-niobium granules with human primary osteoblasts: A multiparametric approach. **Key Engineering Materials**, v. 493–494, p. 37–42, 2012.

FERREIRA, M. M. *et al.* Doping β -TCP as a strategy for enhancing the regenerative potential of composite β -TCP-alkali-free bioactive glass bone grafts. Experimental study in rats. **Materials**, v. 12, n. 1, 2018.

FIELDING, G. A. *et al.* Regulation of osteogenic markers at late stage of osteoblast differentiation in silicon and zinc doped porous TCP. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 10, n. 4, 2019.

FIHRI, A. *et al.* Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. **Coordination Chemistry Reviews**, v. 347, p. 48–76, 2017.

FREUNDLICH, H. M. F. Over the adsorption in solution. **J. Phys. Chem.**, v. 57, p. 385–471, 1906.

GANGU, K. K. *et al.* Nanostructured samarium doped fluorapatites and their catalytic activity towards synthesis of 1,2,4-triazoles. **Molecules**, v. 21, n. 10, 2016.

GASPERIN, M. Structure du triniobate(V) de potassium KNb_3O_8 , un niobate lamellaire. **Acta Crystallographica Section B Structural Crystallography and Crystal Chemistry**, v. 38, n. 7, p. 2024–2026, 1982.

GENTLEMAN, E. *et al.* Surface properties and ion release from fluoride-containing bioactive glasses promote osteoblast differentiation and mineralization in vitro. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 3, p. 5771–5779, 2013.

GHOSH, S. K. *et al.* Synthesis of nano-sized hydroxyapatite powders through solution combustion route under different reaction conditions. **Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology**, v. 176, n. 1, 2011.

GIARDINA, M. A.; FANOVICH, M. A. Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite from $\text{Ca}(\text{OH})_2$ and H_3PO_4 assisted by ultrasonic irradiation. **Ceramics International**, v. 36, n. 6, 2010.

GINEBRA, M. P. *et al.* Calcium phosphate cements as drug delivery materials.

Advanced Drug Delivery Reviews, v. 64, n. 12, p. 1090–1110, 2012.

GOLDBERG, M. A. *et al.* Influence of aluminum substitutions on phase composition and morphology of β - tricalcium phosphate nanopowders. **Ceramics International**, v. 43, n. 16, p. 13881–13884, 2017.

GOLDFARB, R. J. Critical Metals Handbook (Gus Gunn, ed.). **Economic Geology**, v. 109, n. 6, 2014.

GOMES, S. *et al.* Unexpected mechanism of Zn^{2+} insertion in calcium phosphate bioceramics. **Chemistry of Materials**, v. 23, n. 12, p. 3072–3085, 2011.

GOSTIN, P. F. *et al.* Surface treatment, corrosion behavior, and apatite-forming ability of ti-45Nb implant alloy. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 101 B, n. 2, 2013.

GRUSELLE, M. Apatites: A new family of catalysts in organic synthesis. **Journal of Organometallic Chemistry**, v. 793, p. 93–101, 2015.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: Importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**, v. 33, n. 6, p. 1352–1358, 2010.

GUO, J. *et al.* Growth, structural and thermophysical properties of TbNbO₄ crystals. **CrystEngComm**, v. 20, n. 10, p. 1455–1462, 2018.

GUO, Y. J. *et al.* Bactericidal property and biocompatibility of gentamicin-loaded mesoporous carbonated hydroxyapatite microspheres. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 7, p. 3583–3591, 2013.

HANNORA, A. E. Preparation and characterization of hydroxyapatite/alumina nanocomposites by high-energy vibratory ball milling. **Journal of Ceramic Science and Technology**, v. 5, n. 4, 2014.

HASHEMZADEH, F. Porous calcium niobate nanosheets prepared by an exfoliation-restacking route. **Water Science and Technology**, v. 73, n. 6, 2016.

HEIMANN, R. B. Structure, properties, and biomedical performance of osteoconductive bioceramic coatings. **Surface and Coatings Technology**, v. 233, 2013.

HENCH, L. L. Bioactive glasses: Gene activation. *In*: HENCH, L. L. (Ed.). **Bioactive glasses: Gene activation**. 2. ed. London: Imperial College Press, 2013. p. 71–85.

HERNIGOU, P. *et al.* Le phosphate bêta-tricalcique comme alternative aux greffes d'os autogène pour les reconstructions orthopédiques. **Morphologie**, v. 101, n. 334, p. 173–179, 2017.

HO, Y. S.; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochem.**, v. 34, n. 5, p. 451–465, jul. 1999.

HOLZAPFEL, B. M. *et al.* How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 65, n. 4, p. 581–603, 2013.

HOOVER, S. *et al.* Silver doped resorbable tricalcium phosphate scaffolds for bone graft applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 79, p. 763–769, 2017.

HU, Y.; GUO, L. Rapid preparation of perovskite lead niobate nanosheets by ultrasonic-assisted exfoliation for enhanced visible-light-driven photocatalytic hydrogen production. **ChemCatChem**, v. 7, n. 4, 2015.

HUANG, B. *et al.* Strontium doping promotes bioactivity of rhBMP-2 upon calcium phosphate cement via elevated recognition and expression of BMPR-1A. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 159, p. 684–695, 2017.

____. Molecular dynamics simulations of adsorption and desorption of bone morphogenetic protein-2 on textured hydroxyapatite surfaces. **Acta Biomaterialia**, v. 80, p. 121–130, 2018.

HUANG, C. L.; LEE, W. L.; LOO, J. S. C. Drug-eluting scaffolds for bone and cartilage regeneration. **Drug Discovery Today**, v. 19, n. 6, p. 714–724, 2014.

HUGHES, J. M. Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates By J. C. Elliot (The London Hospital Medical College). Elsevier: Amsterdam. 1994. xii + 389 pp. ISBN 0-444-81582-1. **Journal of the American Chemical Society**, v. 118, n. 12, 1996.

____. The many facets of apatite. **American Mineralogist**, v. 100, n. 5–6, 2015.

HUIXIA, L. *et al.* Room temperature gas sensing properties of tubular hydroxyapatite. **New Journal of Chemistry**, v. 39, n. 5, p. 3865–3874, 2015.

IGNJATOVIĆ, N. L. *et al.* Rare-earth (Gd³⁺, Yb³⁺/Tm³⁺, Eu³⁺) co-doped hydroxyapatite as magnetic, up-conversion and down-conversion materials for multimodal imaging. **Scientific Reports**, v. 9, n. 1, p. 1–15, 2019.

IQBAL, N.; KADIR, M. R. A. **A simple microwave route for the synthesis of tricalcium phosphate (β -tcp) powders for bone healing applications** Materials Science Forum. **Anais...**2017

IVANETS, A. I. *et al.* Adsorption performance of hydroxyapatite with different crystalline and porous structure towards metal ions in multicomponent solution. **Journal of Water Process Engineering**, v. 32, n. September, p. 100963, 2019.

JAY, E. E. *et al.* Partitioning of dopant cations between β -tricalcium phosphate and fluorapatite. **Journal of Nuclear Materials**, v. 414, n. 3, p. 367–373, 2011.

JAY, E. E.; RUSHTON, M. J. D.; GRIMES, R. W. Migration of fluorine in fluorapatite - A concerted mechanism. **Journal of Materials Chemistry**, v. 22, n. 13, p. 6097–6103, 2012.

JEVTIC, M. *et al.* Crystal Structure of Hydroxyapatite Nanorods Synthesized by & DESIGN 2008. **Crystal Growth & Design**, v. 8, n. 7, p. 2217–2222, 2008.

JI, P. *et al.* Influence of Nb addition on microstructural evolution and compression mechanical properties of Ti-Zr alloys. **Journal of Materials Science and Technology**, v. 69, 2021.

JIANG, N. *et al.* Antibiotic loaded β -tricalcium phosphate/calcium sulfate for antimicrobial potency, prevention and killing efficacy of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* biofilms. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2021.

JIKAN, S. S. *et al.* **Delamination of kaolinite by intercalation of urea using milling** Materials Science Forum. **Anais...**2017

JUNG, J. H. *et al.* Hydroxyapatite-coated implant: Clinical prognosis assessment via a retrospective followup study for the average of 3 years. **Journal of Advanced Prosthodontics**, v. 10, n. 2, p. 85–92, 2018.

KANCHANA, P.; SEKAR, C. Development of electrochemical folic acid sensor based on hydroxyapatite nanoparticles. **Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 58–65, 2015.

KANG, R. *et al.* Extraordinary energy storage performance and thermal stability in sodium niobate-based ceramics modified by the ion disorder and stabilized antiferroelectric orthorhombic R phase. **Journal of Materials Chemistry A**, v. 9, n. 43, 2021.

KANNAN, S. *et al.* Synthesis and structure refinement of zinc-doped β -tricalcium phosphate powders. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 92, n. 7, p. 1592–1595, 2009.

KATO, K.; LEE, S.; NAGATA, F. Preparation of Protein-Peptide-Calcium Phosphate Composites for Controlled Protein Release. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 25, n. 10, 2020.

KAWABATA, K.; YAMAMOTO, T.; KITADA, A. **Local environment analysis of Na ions in β -tricalcium phosphate by X-ray absorption near-edge structure measurements and first-principles calculations** Materials Transactions. **Anais...**2015

KHAN, A. F. *et al.* Bioactive behavior of silicon substituted calcium phosphate based bioceramics for bone regeneration. **Materials Science and Engineering C**, v. 35, n. 1, p. 245–252, 2014.

KIYOCHI JUNIOR, H. DE J. *et al.* In vivo evaluation of interactions between biphasic calcium phosphate (BCP)-niobium pentoxide (Nb_2O_5) nanocomposite and tissues using a rat critical-size calvarial defect model. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 31, n. 8, 2020.

KLEEREKOPER, M. Fluoride and the skeleton. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 33, n. 2, p. 139–161, 1996.

KLEINER, L. W.; WRIGHT, J. C.; WANG, Y. Evolution of implantable and insertable drug delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 181, n. 1, p. 1–10, 2014.

KORZENIEWSKI, W.; WITKOWSKA, A. Synthesis and structural characterization of niobium-doped hydroxyapatite ceramics,. **Engineering of Biomaterials**, v. 150, p. 10–15, 2019.

KUMAR, A. *et al.* In vitro bioactivity and cytocompatibility properties of spark plasma sintered ha-Ti composites. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 101 B, n. 2, p. 223–236, 2013.

KUMAR TRIVEDI, M. Spectroscopic Characterization of Chloramphenicol and Tetracycline: An Impact of Biofield Treatment. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 06, n. 07, 2015.

KUMARASWAMY, M. *et al.* Decontaminating surfaces with atomized disinfectants generated by a novel thickness-mode lithium niobate device. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 102, n. 15, 2018.

KUSHWAHA, M. *et al.* Differentiation of human mesenchymal stem cells on niobium-doped fluorapatite glass-ceramics. **Dental Materials**, v. 28, n. 3, p. 252–260, 2012.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption geloster kungliga svenska vetenskapsakdemien. **Handlingar**, v. 24, p. 1–39, 1898.

LALA, S. *et al.* Structural and microstructural characterizations of nanocrystalline hydroxyapatite synthesized by mechanical alloying. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 5, 2013.

LANDI, E. *et al.* Human osteoblast behavior on as-synthesized SiO₄ and B-CO₃ co-substituted apatite. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 94, n. 1, p. 59–70, 2010.

LANE, S. W.; WILLIAMS, D. A.; WATT, F. M. Modulating the stem cell niche for tissue regeneration. **Nature Biotechnology**, v. 32, n. 8, p. 795–803, 2014.

LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass mica and platinum. **Journal of the American Chemical Society**, v. 40, n. 9, p. 1361–1403, set. 1918.

LEE, D. K. *et al.* Biosilicated collagen/ β -tricalcium phosphate composites as a BMP-2-delivering bone-graft substitute for accelerated craniofacial bone regeneration. **Biomaterials Research**, v. 25, n. 1, p. 1–11, 2021.

LEE, W. H. *et al.* Synthesis and characterization of hydroxyapatite with different crystallinity: Effects on protein adsorption and release. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 100 A, n. 6, p. 1539–1549, 2012.

LEE, W. H.; LOO, C. Y.; ROHANIZADEH, R. A review of chemical surface

modification of bioceramics: Effects on protein adsorption and cellular response. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 122, p. 823–834, 2014.

LEEUW, N. H. DE. Computer simulations of structures and properties of the biomaterial hydroxyapatite. **Journal of Materials Chemistry**, v. 20, n. 26, p. 5376–5389, 2010.

LEITUNE, V. C. B. *et al.* Niobium pentoxide as a novel filler for dental adhesive resin. **Journal of Dentistry**, v. 41, n. 2, p. 106–113, 2013.

LI, R. *et al.* Oxygen vacancy effect on photoluminescence of KNb₃O₈ nanosheets. **Applied Surface Science**, v. 439, n. December, p. 983–990, 2018.

LI, Y. *et al.* Enhanced tetracycline adsorption onto hydroxyapatite by Fe(III) incorporation. **Journal of Molecular Liquids**, v. 247, p. 171–181, dez. 2017.

LI, Z. *et al.* Effects of fluoridation of porcine hydroxyapatite on osteoblastic activity of human MG63 cells. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 16, n. 3, p. 35006, 2015.

LIRA. Study of Pegmatites of Borborema Province-Paraíba: Minerals and Mineral of Interest Technological. **Tecnol. Metal. Mater**, v. 13, n. 1, p. 113–119, 2016.

LIU, X.; QUE, W.; KONG, L. B. Hydrothermal synthesis of bamboo-shaped nanosheet KNb₃O₈ with enhanced photocatalytic activity. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 627, p. 117–122, 2015.

LÓPEZ, E. O. *et al.* Growth of crystalline hydroxyapatite thin films at room temperature by tuning the energy of the RF-magnetron sputtering plasma. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 5, n. 19, p. 9435–9445, 2013.

LOWRY, N. *et al.* Strontium and zinc co-substituted nanophase hydroxyapatite. **Ceramics International**, v. 43, n. 15, p. 12070–12078, 2017.

LUGINBUEHL, V. *et al.* Controlled release of tetracycline from biodegradable β -tricalcium phosphate composites. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 92, n. 2, 2010.

MA, F. *et al.* Modification of β -TCP with Stearic Acid and Its Effects on β -TCP / PLLA Biodegradable Composite Nanofibers Morphology observation of β -TCP particles. **Journal of Bone Research and Reports**, v. 2, n. 1, p. 1–6, 2016.

MA, G. Three common preparation methods of hydroxyapatite. **IOP Conference Series: Materials Science and Engineering**, v. 688, n. 3, 2019.

MA, J. *et al.* A new alendronate doped HAP nanomaterial for Pb²⁺, Cu²⁺ and Cd²⁺ effect absorption. **Journal of Hazardous Materials**, v. 400, n. February, 2020.

MA, X.; ELLIS, D. E. Initial stages of hydration and Zn substitution/occupation on hydroxyapatite (0 0 0 1) surfaces. **Biomaterials**, v. 29, n. 3, 2008.

MADUPALLI, H.; PAVAN, B.; TECKLENBURG, M. M. J. Carbonate substitution

in the mineral component of bone: Discriminating the structural changes, simultaneously imposed by carbonate in A and B sites of apatite. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 255, p. 27–35, 2017.

MAGALHÃES NUNES, L.; GOUVEIA DE SOUZA, A.; FERNANDES DE FARIAS, R. Synthesis of new compounds involving layered titanates and niobates with copper(II). **Journal of Alloys and Compounds**, v. 319, n. 1–2, 2001.

MANAFI, S.; MIRJALILI, F.; JOUGHEHDOUST, S. Synthesis of FAp, Forsterite, and FAp/Forsterite Nanocomposites by Sol-gel Method. **Advanced Ceramics Progress**, v. 6, n. 2, p. 35–42, 2020.

MANATUNGA, D. C. *et al.* Metal and polymer-mediated synthesis of porous crystalline hydroxyapatite nanocomposites for environmental remediation. **Royal Society Open Science**, v. 5, n. 1, 2018.

MANDRACCHIA, B. *et al.* Label-free quantification of the effects of lithium niobate polarization on cell adhesion via holographic microscopy. **Journal of Biophotonics**, v. 11, n. 8, 2018.

MANSOORIANFAR, M. *et al.* Surface modification of orthopedic implants by optimized fluorine-substituted hydroxyapatite coating: Enhancing corrosion behavior and cell function. **Ceramics International**, v. 46, n. 2, 2020.

MANZANO, M.; VALLET-REGÍ, M. Revisiting bioceramics: Bone regenerative and local drug delivery systems. **Progress in Solid State Chemistry**, v. 40, n. 3, p. 17–30, 2012.

MARCHESANO, V. *et al.* Effects of Lithium Niobate Polarization on Cell Adhesion and Morphology. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 7, n. 32, 2015.

MARIAPPAN, A. *et al.* Structural, Optical and Antimicrobial Activity of Copper and Zinc Doped Hydroxyapatite Nanopowders using Sol-Gel Method. **Mechanics, Materials Science & Engineering Journal**, v. 9, n. 1, p. 0–4, 2017.

MARINS, N. H. *et al.* Niobium pentoxide and hydroxyapatite particle loaded electrospun polycaprolactone/gelatin membranes for bone tissue engineering. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 182, n. May, 2019.

MARUKAWA, K. *et al.* Use of self-setting α -tricalcium phosphate for maxillary sinus augmentation in rabbit. **Clinical Oral Implants Research**, v. 22, n. 6, p. 606–612, 2011.

MATETI, S. *et al.* Mechanochemistry: A force in disguise and conditional effects towards chemical reactions. **Chemical Communications**, v. 57, n. 9, p. 1080–1092, 2021.

MATOS, M.; TERRA, J.; ELLIS, D. E. Mechanism of Zn stabilization in hydroxyapatite and hydrated (0 0 1) surfaces of hydroxyapatite. **Journal of Physics Condensed Matter**, v. 22, n. 14, 2010.

MATSUNAGA, K. Theoretical defect energetics in calcium phosphate bioceramics. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 93, n. 1, p. 1–14, 2010.

_____. First-principles calculations of divalent substitution of Ca^{2+} in tricalcium phosphates. **Acta Biomaterialia**, v. 23, p. 329–337, 2015.

MEENAMBAL, R. *et al.* Synthesis, structure, thermal stability, mechanical and antibacterial behaviour of lanthanum (La^{3+}) substitutions in β - tricalciumphosphate. **Materials Science and Engineering C**, v. 43, 2014.

MEHDIKHANI, B.; BORHANI, G. H. Densification and Mechanical Behavior of β -Tricalcium Phosphate Bioceramics. **International Letters of Chemistry, Physics and Astronomy**, v. 36, p. 37–49, 2014.

MERCADO, D. F. *et al.* Paramagnetic iron-doped hydroxyapatite nanoparticles with improved metal sorption properties. A bioorganic substrates-mediated synthesis. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6, n. 6, 2014.

MESTIERI, L. B. *et al.* Cytotoxicity and bioactivity of calcium silicate cements combined with niobium oxide in different cell lines. **Brazilian Dental Journal**, v. 28, n. 1, p. 65–71, 2017.

MIGLIORINI, E. *et al.* Tuning cellular responses to BMP-2 with material surfaces. **Cytokine and Growth Factor Reviews**, v. 27, p. 43–54, 2016.

MIRHADI, B.; MEHDIKHANI, B.; ASKARI, N. Synthesis of nano-sized β -tricalcium phosphate via wet precipitation. **Processing and Application of Ceramics**, v. 5, n. 4, 2011.

MIYAZAKI, T.; MASUDA, K.; SAKAMOTO, K. Release profiles of dyes and proteins from calcium phosphate microspheres with different crystalline phases. **Ceramics**, v. 4, n. 2, p. 291–301, 2021.

MOFRAD, R. N.; SADRNEZHAAD, S. K.; KHAKI, J. V. Mechanism of nanostructured fluorapatite formation from CaO , CaF_2 and P_2O_5 precursors by mechanochemical synthesis. **Progress in Reaction Kinetics and Mechanism**, v. 43, n. 3–4, p. 201–210, 2018.

MONTAZERI, N.; JAHANDIDEH, R.; BIAZAR, E. Synthesis of fluorapatite-hydroxyapatite nanoparticles and toxicity investigations. **International journal of nanomedicine**, v. 6, p. 197–201, 2011.

MONTERO, M. L.; SÁENZ, A.; CASTAÑO, V. M. Synthesis of nano-hydroxyapatite from silica suspensions through chemical compensation. **Journal of Experimental Nanoscience**, v. 4, n. 2, 2009.

MORGAN, H. *et al.* Preparation and characterisation of monoclinic hydroxyapatite and its precipitated carbonate apatite intermediate. **Biomaterials**, v. 21, n. 6, p. 617–627, 2000.

NAGARAJAN, S.; RAMAN, V.; RAJENDRAN, N. Synthesis and electrochemical

characterization of porous niobium oxide coated 316L SS for orthopedic applications. **Materials Chemistry and Physics**, v. 119, n. 3, p. 363–366, 2010.

NASCIMENTO, W. J. *et al.* Nanostructured Nb₂O₅-natural hydroxyapatite formed by the mechanical alloying method: A bulk composite. **Materials Chemistry and Physics**, v. 130, n. 1–2, p. 84–89, 2011.

NASR, S. *et al.* Adsorption of Acid Red 52 contained in waste water by co-products of the phosphate industry : Kinetics and thermodynamic. n. December, p. 1–21, 2021.

NATALE, C. F.; VENTRE, M.; NETTI, P. A. Tuning the material-cytoskeleton crosstalk via nanoconfinement of focal adhesions. **Biomaterials**, v. 35, n. 9, p. 2743–2751, 2014.

NAZEER, M. A.; YILGÖR, E.; YILGÖR, I. Intercalated chitosan/hydroxyapatite nanocomposites: Promising materials for bone tissue engineering applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 175, 2017.

NAZIRAH, R. *et al.* The influence of hydroxyapatite and alumina particles on the mechanical properties and corrosion behavior of Mg-Zn hybrid composites for implants. **Materials**, v. 14, n. 21, 2021.

NEDAIPOUR, F.; BAGHERI, H.; MOHAMMADI, S. “Polylactic acid-polyethylene glycol-hydroxyapatite composite” an efficient composition for interference screws. **Nanocomposites**, v. 0, n. 0, p. 99–110, 2020.

NIE, J. *et al.* Effect of TiO₂ doping on densification and mechanical properties of hydroxyapatite by microwave sintering. **Ceramics International**, v. 45, n. 11, p. 13647–13655, 2019.

OBATA, A. *et al.* Effects of niobium ions released from calcium phosphate invert glasses containing Nb₂O₅ on osteoblast-like cell functions. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 4, n. 10, 2012.

OKADA, M.; FURUZONO, T. **Hydroxylapatite nanoparticles: Fabrication methods and medical applications** Science and Technology of Advanced Materials, 2012.

OLIVEIRA, C. *et al.* Zinc (II) modified hydroxyapatites for tetracycline removal: Zn (II) doping or ZnO deposition and their influence in the adsorption. **Polyhedron**, v. 194, n. li, p. 114879, 2021a.

_____. Zinc (II) modified hydroxyapatites for tetracycline removal: Zn (II) doping or ZnO deposition and their influence in the adsorption. **Polyhedron**, v. 194, p. 114879, jan. 2021b.

OWENS, G. J. *et al.* **Sol-gel based materials for biomedical applications** Progress in Materials Science, 2016.

PADMANABHAN, S. K. *et al.* Sol-gel synthesis and characterization of

hydroxyapatite nanorods. **Particuology**, v. 7, n. 6, 2009.

PADURARU, A. V. *et al.* Influence of terbium ions and their concentration on the photoluminescence properties of hydroxyapatite for biomedical applications. **Nanomaterials**, v. 11, n. 9, 2021.

PAJOR, K.; PAJCHEL, L.; KOLMAS, J. Hydroxyapatite and fluorapatite in conservative dentistry and oral implantology-a review. **Materials**, v. 12, n. 7, 2019.

PANEBIANCO, C. J.; IATRIDIS, J. C.; WEISER, J. **Development of an At-home Metal Corrosion Laboratory Experiment for STEM Outreach in Biomaterials During the Covid-19 Pandemic** ASEE Annual Conference and Exposition, Conference Proceedings. **Anais...**2021

PARK, J. S. *et al.* Fabrication and characterization of 3D-printed bone-like β -tricalcium phosphate/polycaprolactone scaffolds for dental tissue engineering. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 46, p. 175–181, 2017.

PAZHANIMALA, S. K.; VLLASALI, D.; RAIMI-ABRAHAM, B. T. Electrospun nanometer to micrometer scale biomimetic synthetic membrane scaffolds in drug delivery and tissue engineering: A review. **Applied Sciences (Switzerland)**, v. 9, n. 5, 2019.

PEREIRA, M. B. B. *et al.* Amino hydroxyapatite/chitosan hybrids reticulated with glutaraldehyde at different pH values and their use for diclofenac removal. **Carbohydrate Polymers**, v. 236, n. February, p. 116036, 2020.

PETERSON, A. M.; MÖHWALD, H.; SHCHUKIN, D. G. PH-controlled release of proteins from polyelectrolyte-modified anodized titanium surfaces for implant applications. **Biomacromolecules**, v. 13, n. 10, p. 3120–3126, 2012.

PICCIRILLO, C.; L. CASTRO, P. M. Calcium hydroxyapatite-based photocatalysts for environment remediation: Characteristics, performances and future perspectives. **Journal of Environmental Management**, v. 193, p. 79–91, 2017.

POKHREL, N.; VABBINA, P. K.; PALA, N. Sonochemistry: Science and Engineering. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 29, n. July, p. 104–128, 2016.

PRADHAN, D. *et al.* Investigating the structure and biocompatibility of niobium and titanium oxides as coatings for orthopedic metallic implants. **Materials Science and Engineering C**, v. 58, p. 918–926, 2016.

PRADO, G. DE C. *et al.* Physicochemical and bone regeneration studies using scaffoldings of pure natural hydroxyapatite or associated with Nb₂O₅. **Materials Chemistry and Physics**, v. 272, n. May 2020, 2021.

PRAKASAM, M. *et al.* Biodegradable materials and metallic implants-A review. **Journal of Functional Biomaterials**, v. 8, n. 4, p. 1–15, 2017.

PRAMANIK, S.; KAR, K. K. Nanohydroxyapatite synthesized from calcium oxide and its characterization. **International Journal of Advanced Manufacturing**

Technology, v. 66, n. 5–8, p. 1181–1189, 2013.

PREM ANANTH, K. *et al.* Structural and chemical analysis of silica-doped β -TCP ceramic coatings on surgical grade 316L SS for possible biomedical application. **Journal of Asian Ceramic Societies**, v. 3, n. 3, 2015.

QUILLARD, S. *et al.* Raman and Infrared Studies of Substituted β -TCP. **Key Engineering Materials**, v. 493–494, p. 225–230, 2012.

RAJAN, S. T.; DAS, M.; AROCKIARAJAN, A. Biocompatibility and corrosion evaluation of niobium oxide coated AZ31B alloy for biodegradable implants. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 212, n. October 2021, p. 112342, 2022.

RAMESH, S. *et al.* Effects of bismuth oxide on the sinterability of hydroxyapatite. **Ceramics International**, v. 37, n. 2, p. 599–606, 2011.

RAMÍREZ, G. *et al.* Niobium based coatings for dental implants. **Applied Surface Science**, v. 257, n. 7, p. 2555–2559, 2011.

RAU, J. V. *et al.* Sic Parvis Magna: Manganese-Substituted Tricalcium Phosphate and Its Biophysical Properties. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, 2019.

RIAZ, M. *et al.* Synthesis of monophasic Ag doped hydroxyapatite and evaluation of antibacterial activity. **Materials Science and Engineering C**, v. 90, n. April, p. 308–313, 2018.

RIVAS, M. *et al.* Loading of Antibiotic into Biocoated Hydroxyapatite Nanoparticles: Smart Antitumor Platforms with Regulated Release. **ACS Biomaterials Science and Engineering**, v. 4, n. 9, p. 3234–3245, 2018.

RODRÍGUEZ-LUGO, V. *et al.* Wet chemical synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite flakes: Effect of pH and sintering temperature on structural and morphological properties. **Royal Society Open Science**, v. 5, n. 8, 2018.

ROOZBAHANI, M. *et al.* Nano-calcium phosphate bone cement based on Si-stabilized α -tricalcium phosphate with improved mechanical properties. [s.l.] Elsevier B.V, 2017. v. 81

RUBAN KUMAR, A.; KALAINATHAN, S. Sol-gel synthesis of nanostructured hydroxyapatite powder in presence of polyethylene glycol. **Physica B: Condensed Matter**, v. 405, n. 13, p. 2799–2802, 2010.

RUIZ-AGUILAR, C. *et al.* Characterization of β -tricalcium phosphate powders synthesized by sol-gel and mechanosynthesis. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 57, n. 5, 2018.

SADAT-SHOJAI, M. *et al.* Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591–7621, 2013a.

_____. Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures. **Acta Biomaterialia**, v. 9, n. 8, p. 7591–7621, 2013b.

SAHU, S. K. *et al.* Formation and Dehydration Enthalpy of Potassium Hexaniobate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 100, n. 1, p. 304–311, 2017.

SALARIAN, M. *et al.* Hydroxyapatite-TiO₂-based Nanocomposites Synthesized in Supercritical CO₂ for Bone Tissue Engineering: Physical and Mechanical Properties. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 6, n. 19, p. 16918–16931, 2014.

SALEH, A. T.; ALAMERI, D. Microwave-assisted preparation of zinc-doped β -tricalcium phosphate for orthopedic applications. **Indonesian Journal of Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 376–382, 2021.

SANTOS, R. D. S.; REZENDE, M. V. D. S. Atomistic simulation of intrinsic defects and trivalent and tetravalent ion doping in hydroxyapatite. **Advances in Condensed Matter Physics**, v. 2014, 2014.

SANTOS, S. S. G. *et al.* Silylation of leached-vermiculites following reaction with imidazole and copper sorption behavior. **Journal of Hazardous Materials**, v. 306, p. 406–418, 2016.

SARANYA, K. *et al.* Fabrication of nanoporous sodium niobate coating on 316L SS for orthopaedics. **Ceramics International**, v. 43, n. 15, p. 11569–11579, 2017.

SARANYA, S.; PREMA RANI, M. Sol gel synthesis of Niobium influence on Hydroxyapatite: A view of invitro, structural, morphological and studies for Biomedical Applications. **Materials Today: Proceedings**, v. 46, p. 1441–1450, 2021.

SASIKUMAR, S.; VIJAYARAGHAVAN, R. Effect of metal-ion-to-fuel ratio on the phase formation of bioceramic phosphates synthesized by self-propagating combustion. **Science and Technology of Advanced Materials**, v. 9, n. 3, 2008.

SCHLEWITZ, J. E. Niobium and Niobium Compounds. *In*: **Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology**. [s.l: s.n.]. .

SCOTTI, N. *et al.* Epoxidation of karanja (*Millettia pinnata*) oil methyl esters in the presence of hydrogen peroxide over a simple niobium-containing catalyst. **Catalysts**, v. 9, n. 4, 2019.

SEBDANI, M. M.; FATHI, M. H. Preparation and characterization of hydroxyapatite-forsterite-bioactive glass nanocomposite coatings for biomedical applications. **Ceramics International**, v. 38, n. 2, p. 1325–1330, 2012.

SEILER, S. *et al.* Effect of friction on oxidative graphite intercalation and high-quality graphene formation. **Nature Communications**, v. 9, n. 1, 2018.

SEITZ, F.; TURNBULL, D. **Solid State Physics Series: Vol 61**. San Diego: Elsevier, 2009.

SEYEDMAJIDI, S.; SEYEDMAJIDI, M. Fluorapatite: a review of synthesis , properties and medical applications vs hydroxyapatite. v. 19, n. 2, p. 1–24, 2022.

SHACKELFORD, J. F. **Introduction to Materials Science for Engineers**. 8. ed.

Davis: Pearson, 2015.

SHANNON, R. D. Revised effective ionic radii and systematic studies of interatomic distances in halides and chalcogenides. **Acta Crystallographica Section A**, v. 32, n. 5, 1976.

SHIGUIHARA, A. L.; BIZETO, M. A.; CONSTANTINO, V. R. L. Chemical modification of niobium layered oxide by tetraalkylammonium intercalation. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 7, 2010.

SHIMIZU, Y. *et al.* Room-temperature growth of thin films of niobium on strontium titanate (0 0 1) single-crystal substrates for superconducting joints. **Applied Surface Science**, v. 444, 2018.

SILVA, C. C.; SOMBRA, A. S. B. Raman spectroscopy measurements of hydroxyapatite obtained by mechanical alloying. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 65, n. 5, 2004.

SILVA, F. R. O. *et al.* Development of novel upconversion luminescent nanoparticle of Ytterbium/Thulium-doped beta tricalcium phosphate. **Journal of Luminescence**, v. 187, p. 240–246, 2017.

SIMOMUKAY, E. *et al.* Biocerâmicas aditivadas com nióbio (V): Avaliação da rota hidrotérmica modificada com ácido cítrico e ureia para obtenção de hidroxiapatitas modificadas. **Cerâmica**, v. 62, n. 361, p. 9–14, 2016.

SIQUEIRA, L. *et al.* Preparation, characterization and biological studies of β -TCP and β -TCP/ Al_2O_3 scaffolds obtained by gel-casting of foams. **Materials Research**, v. 20, n. 4, p. 973–983, 2017.

SMITH, B. T. *et al.* Incorporation of fast dissolving glucose porogens into an injectable calcium phosphate cement for bone tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 50, p. 68–77, 2017.

SOUZA, J. K. D. *et al.* Intra-octahedral distortion on lamellar potassium niobate $\text{K}_4\text{Nb}_6\text{O}_{17}$: A periodic DFT study of structural, electronic and vibrational properties. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 29, 2020.

SPAETH, K.; GOETZ-NEUNHOEFFER, F.; HURLE, K. Cu^{2+} doped β -tricalcium phosphate: Solid solution limit and crystallographic characterization by rietveld refinement. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 285, n. February, p. 121225, 2020.

SRINIVASAN, M. *et al.* High-fluoride toothpaste: A multicenter randomized controlled trial in adults. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 42, n. 4, p. 333–340, 2014.

SUBHADRA, K. G.; KISHAN RAO, K.; SIRDESHMUKH, D. B. Systematic hardness studies on lithium niobate crystals. **Bulletin of Materials Science**, v. 23, n. 2, p. 147–150, 2000.

SUGO, K.; OKUYAMA, T. Hydroxyapatite chromatographic procedures for

phospholipids. **Separation Science and Technology (Philadelphia)**, v. 53, n. 2, p. 389–396, 2018.

TAHERI, M. M. *et al.* Surfactant-assisted hydrothermal synthesis of Fluoridated Hydroxyapatite nanorods. **Ceramics International**, v. 41, n. 8, p. 9867–9872, 2015.

TAHMASEBIFAR, A.; EVIS, Z. Structural and mechanical characteristics of hydroxyapatite and tri-calcium phosphates doped with Al^{3+} and F-ions. **Journal of Ceramic Processing Research**, v. 14, n. 4, 2013.

TAKACS, L. The historical development of mechanochemistry. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 18, 2013.

TAKAHASHI, K. *et al.* Biomechanical evaluation of Ti-Nb-Sn alloy implants with a low young's modulus. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, n. 3, 2015.

TAMAI, M. *et al.* Synthesis of a novel β -tricalcium phosphate/hydroxyapatite biphasic calcium phosphate containing niobium ions and evaluation of its osteogenic properties. **Journal of Artificial Organs**, v. 10, n. 1, 2007.

TANAKA, T. *et al.* Recherche fondamentale et application clinique du bêta-tricalcium phosphate (β -TCP). **Morphologie**, v. 101, n. 334, p. 164–172, 2017.

TAO, Z. S. *et al.* Aspirin modified strontium-doped β -tricalcium phosphate can accelerate the healing of femoral metaphyseal defects in ovariectomized rats. **Biomedicine and Pharmacotherapy**, v. 132, 2020.

TARDEI, C. *et al.* The study of Mg^{2+} / Ca^{2+} substitution of β -tricalcium phosphate. **Journal of Optoelectronics and Advanced Materials**, v. 8, n. 2, p. 568–571, 2006.

TARSELLI, M. Subtle niobium. **Nature Chemistry**, v. 7, n. 2, p. 180, 2015.

TASNIM, F. *et al.* Effects of bone morphogenetic proteins on primary human renal cells and the generation of bone morphogenetic protein-7-expressing cells for application in bioartificial kidneys. **Tissue Engineering - Part A**, v. 18, n. 3–4, p. 262–276, 2012.

TAVARES, D. S. *et al.* Synthesis and cytotoxicity evaluation of granular magnesium substituted β -tricalcium phosphate. **Journal of Applied Oral Science**, v. 21, n. 1, p. 37–42, 2013.

TEMKIN, M. J.; PYZHEV, V. Recent modifications to Langmuir isotherms. **Acta Physicochim. USSR**, v. 12, p. 217–222, 1940.

TERRA, J. *et al.* The structure of strontium-doped hydroxyapatite: An experimental and theoretical study. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 11, n. 3, p. 568–577, 2009.

THIEBAULT, T. *et al.* Clay minerals for the removal of pharmaceuticals: Initial investigations of their adsorption properties in real wastewater effluents.

Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management, v. 12, p. 1–15, 2019.

TSIOURVAS, D. *et al.* Controlling the formation of hydroxyapatite nanorods with dendrimers. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 94, n. 7, 2011.

URQUIA EDREIRA, E. R. *et al.* Effect of calcium phosphate ceramic substrate geometry on mesenchymal stromal cell organization and osteogenic differentiation. **Biofabrication**, v. 8, n. 2, p. 1–10, 2016.

USAMI, K.; OKAMOTO, A. Hydroxyapatite: Catalyst for a one-pot pentose formation. **Organic and Biomolecular Chemistry**, v. 15, n. 42, p. 8888–8893, 2017.

UTARA, S.; KLINKAEWNARONG, J. Sonochemical synthesis of nano-hydroxyapatite using natural rubber latex as a templating agent. **Ceramics International**, v. 41, n. 10, p. 14860–14867, 2015.

VAHABZADEH, S.; HACK, V. K.; BOSE, S. Lithium-doped β -tricalcium phosphate: Effects on physical, mechanical and in vitro osteoblast cell–material interactions. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 105, n. 2, p. 391–399, 2017.

VANDROVCOVA, M. *et al.* Effect of different surface nanoroughness of titanium dioxide films on the growth of human osteoblast-like MG63 cells. **Journal of Biomedical Materials Research - Part A**, v. 100 A, n. 4, p. 1016–1032, 2012.

VEMULAPALLI, A. K. *et al.* HAp/TiO₂ nanocomposites: Influence of TiO₂ on microstructure and mechanical properties. **Journal of Composite Materials**, v. 54, n. 6, p. 765–772, 2020.

VESELINOVIĆ, L. *et al.* Crystal structure of cobalt-substituted calcium hydroxyapatite nanopowders prepared by hydrothermal processing. **Journal of Applied Crystallography**, v. 43, n. 2, p. 320–327, 2010.

VILARINHO, P. M. *et al.* Are lithium niobate (LiNbO₃) and lithium tantalate (LiTaO₃) ferroelectrics bioactive? **Materials Science and Engineering C**, v. 39, n. 1, 2014.

WANG, J. *et al.* Hydroxyapatite surface-functionalized monolithic column for selective in-tube solid phase microextraction of zoleronic acid and risedronic acid. **Journal of Chromatography A**, v. 1653, p. 462438, 2021.

WANG, K. *et al.* Computer simulation of proteins adsorption on hydroxyapatite surfaces with calcium phosphate ions. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 37, n. 6, p. 2509–2520, 2017.

WANG, Z. *et al.* Clinical evaluation of β -TCP in the treatment of lacunar bone defects: A prospective, randomized controlled study. **Materials Science and Engineering C**, v. 33, n. 4, p. 1894–1899, 2013.

WEN, P. *et al.* Hydrothermal topological synthesis and photocatalyst performance of orthorhombic Nb₂O₅ rectangle nanosheet crystals with dominantly

exposed (010) facet. **Materials and Design**, v. 117, 2017.

WHITE, A. A. *et al.* Optimization of the sintering atmosphere for high-density hydroxyapatite - Carbon nanotube composites. **Journal of the Royal Society Interface**, v. 7, n. SUPPL. 5, 2010.

WILLIAM D. CALLISTER, J.; RETHWISCH, D. G. Phase Transformations: Development of Microstructure and Alternation of Mechanical Properties. **Materials Science and Engineering: An Introduction**, p. 356–407, 2013.

XIE, L. *et al.* Fe/Zn-modified tricalcium phosphate (TCP) biomaterials: Preparation and biological properties. **RSC Advances**, v. 9, n. 2, p. 781–789, 2019.

XU, H.; CHEN, Y.; ZHANG, S. F. Synthesis and characterization of microporous hydroxyapatite via hydrothermal method. **Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic and Nano-Metal Chemistry**, v. 41, n. 1, 2011.

XU, H. H. K. *et al.* Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties. **Bone Research**, v. 5, n. July, p. 1–19, 2017.

XUE, S. *et al.* Giant tunability of upconversion photoluminescence in Er³⁺-doped (K, Na)NbO₃ single crystals. **Nanoscale**, v. 11, n. 36, p. 16928–16934, 2019.

YANG, C. *et al.* Osteoconductivity and biodegradation of synthetic bone substitutes with different tricalcium phosphate contents in rabbits. **Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials**, v. 102, n. 1, p. 80–88, 2014.

YANG, L. *et al.* Enhanced Energy Storage Performance of Sodium Niobate-Based Relaxor Dielectrics by a Ramp-to-Spike Sintering Profile. **ACS Applied Materials and Interfaces**, v. 12, n. 29, p. 32834–32841, 2020.

YAO, F.; LEGEROS, R. Z. Carbonate and fluoride incorporation in synthetic apatites: Comparative effect on physico-chemical properties and in vitro bioactivity in fetal bovine serum. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, n. 3, p. 423–430, 2010.

YASHIMA, M. *et al.* Crystal structure analysis of β -tricalcium phosphate Ca₃(PO₄)₂ by neutron powder diffraction. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 175, n. 2, p. 272–277, 2003.

YIN, X.; STOTT, M. J.; RUBIO, A. α - and β -tricalcium phosphate: A density functional study. **Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics**, v. 68, n. 20, p. 1–8, 2003.

YOKOTA, T.; HONDA, M.; AIZAWA, M. Fabrication of Potassium-Substituted Hydroxyapatite Ceramics Via Ultrasonic Spray-Pyrolysis Route. **Phosphorus Research Bulletin**, v. 33, n. 0, p. 35–40, 2017.

YOSHIDA, K. *et al.* Substitution model of monovalent (Li, Na, and K), divalent (Mg), and trivalent (Al) metal ions for β -tricalcium phosphate. **Journal of the American**

Ceramic Society, v. 89, n. 2, p. 688–690, 2006.

YUAN, J. *et al.* Nanosized-Ag-doped porous β -tricalcium phosphate for biological applications. **Materials Science and Engineering C**, v. 114, n. January 2019, p. 111037, 2020.

YUAN, Z. *et al.* Synthesis and properties of Sr^{2+} doping α -tricalcium phosphate at low temperature. **Journal of Applied Biomaterials and Functional Materials**, v. 19, 2021.

ZANG, J. *et al.* Removal of tetracycline by hydrous ferric oxide: Adsorption kinetics, isotherms, and mechanism. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 22, 2019.

ZENG, H. *et al.* Synthesis of europium-doped fluorapatite nanorods and their biomedical applications in drug delivery. **Molecules**, v. 22, n. 5, p. 1–7, 2017.

ZHANG, ZHIGANG, ET AL. 3D-printed pre-tapped-hole scaffolds facilitate one-step surgery of predictable alveolar bone augmentation and simultaneous dental implantation. **Composites Part B: Engineering**, v. 229, p. 109461, 2022.

ZHANG, G. *et al.* Preparation of amino-acid-regulated hydroxyapatite particles by hydrothermal method. **Materials Letters**, v. 65, n. 3, 2011.

ZHAO, X. *et al.* Molecular docking and molecular dynamics simulation studies on the adsorption/desorption behavior of bone morphogenetic protein-7 on the β -tricalcium phosphate surface. **Physical Chemistry Chemical Physics**, v. 22, n. 29, p. 16747–16759, 2020.

ZHOU, Y.; WU, C.; CHANG, J. Bioceramics to regulate stem cells and their microenvironment for tissue regeneration. **Materials Today**, v. 24, n. xx, p. 41–56, 2019.

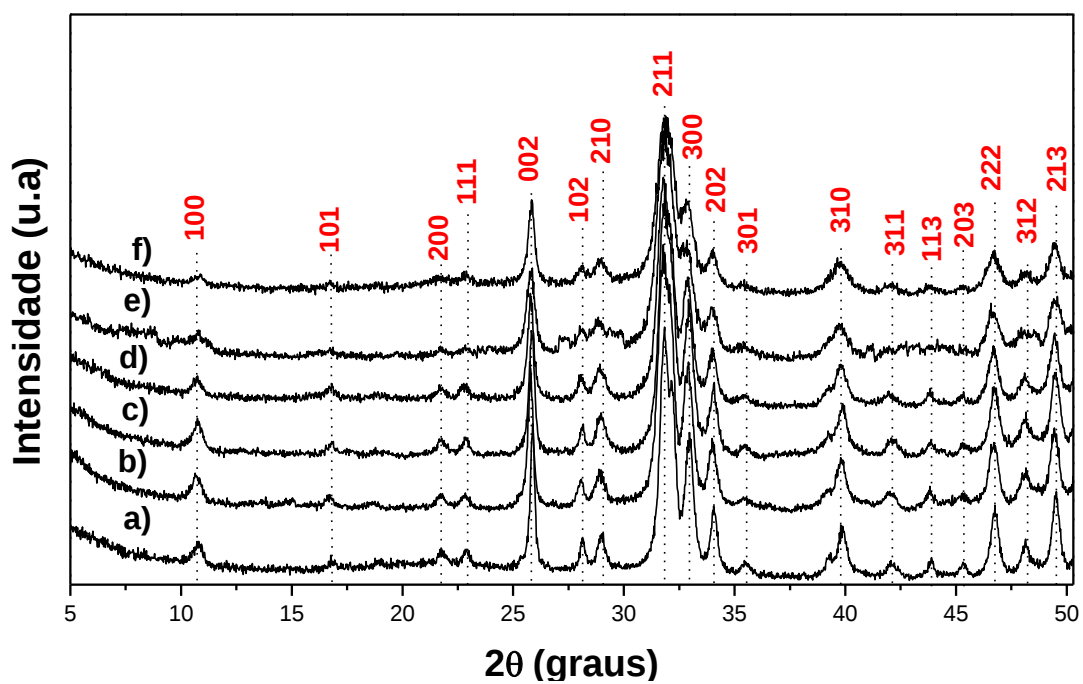
ZHU, H. *et al.* Structural Evolution in a Hydrothermal Reaction between Nb_2O_5 and NaOH Solution : From Nb_2O_5 Grains to. **Jacs**, n. 8, p. 2373–2384, 2006.

ZYMAN, Z.; TKACHENKO, M. CO_2 gas-activated sintering of carbonated hydroxyapatites. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 31, n. 3, p. 241–248, 2011.

Anexos

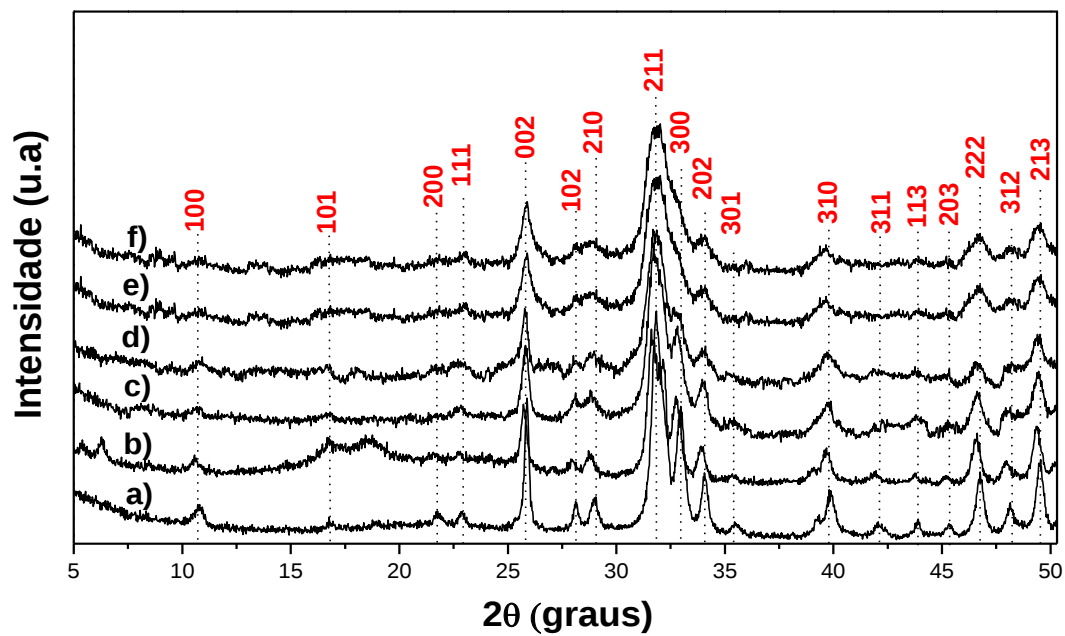
Anexo A

Padrões de XRD para as amostras modificados pela rota (1) utilizando o pentacloro de nióbio (a) Hap, (b) Hap.Nb1%, (c) Hap.Nb3%, (d) Hap.Nb5% (e) Hap.Nb7% e (f) Hap.Nb10%.



Anexo B

Padrões de XRD para as amostras modificados pela rota (2) utilizando o pentacloreto de nióbio (a) Hap, (b) Hap.Nb1%, (c) Hap.Nb3%, (d) Hap.Nb5% (e) Hap.Nb7% e (f) Hap.Nb10%.



Anexo C

Padrões de XRD para as amostras modificados pela rota (2) utilizando o oxalato amoniacal de nióbio (a) Hap, (b) Hap.Nb1%, (c) Hap.Nb3%, (d) Hap.Nb5% (e) Hap.Nb7% e (f) Hap.Nb10%.

