

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
CENTRO DE DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS



TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE BETA FOSFATO DE TRICÁLCICO
DOPADAS COM NANOPARTÍCULAS DE PRATA**

BRUNO DA SILVEIRA NOREMBERG

Pelotas, 2014

Bruno da Silveira Noremberg

**Síntese e caracterização de beta fosfato tricálcico dopadas com nanopartículas
de prata**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Faculdade de Engenharia de Materiais da
Universidade Federal de Pelotas, como requisito
parcial à obtenção do título de Bacharel em
Engenharia de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Aulo Ogliari

Coorientador: Aline de Oliveira Ogliari

Pelotas, 2014

Bruno da Silveira Noremberg

Síntese e caracterização de beta fosfato tricálcico dopadas com nanopartículas de prata

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 08/12/2014

Banca examinadora:

Prof. Dr. Fabrício Aulo Ogliari (Orientador)

Doutor em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas

Dr. ^a Aline de Oliveira Ogliari (Co-Orientadora)

Doutora em Odontologia pela Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. César Antonio Oropesa Avellaneda

Doutor em Ciência e Engenharia de Materiais pela Universidade de São Paulo

Prof.^a Dr^a. Patrícia Diaz de Oliveira

Doutora em Biotecnologia pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Aos meus pais, por estarem sempre ao meu lado.

Ao Professor Orientador Fabrício, pela confiança e amizade durante todo período acadêmico.

A minha Coorientadora Aline, pela ajuda no desenvolvimento do trabalho.

Ao CEME - Centro de Microscopia Eletrônica da Zona Sul da Universidade Federal de Rio Grande – FURG, pela utilização do microscópio eletrônico de varredura

A Dra. Erica Silveira, pela disponibilidade e ajuda na obtenção das imagens de microscopia.

Aos colegas Anderson Thesing e Igor Cherubin, pela ajuda nas caracterizações realizadas.

A minha namorada Tássia, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

Resumo

NOREMBERG, Bruno da Silveira. **Síntese e caracterização de beta fosfato tricálcico dopadas com nanopartículas de prata**. 2014. 47f. Trabalho de conclusão de curso – Curso de Engenharia de Materiais. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2014.

O estudo apresenta a proposta de obtenção de um material bioativo e antibacteriano para a incorporação em materiais resinosos da odontologia, a fim de promover uma regeneração óssea com menores riscos de contaminação. Para isto, foram sintetizadas partículas osseocondutivas de beta fosfato tricálcico (β -TCP), um material cerâmico poroso, biocompatível e reabsorvível que atua como um arcabouço estimulando o crescimento ósseo. Com o intuito de minimizar possíveis problemas pós-aplicação destes materiais no corpo humano, se propôs a incorporação de partículas antibacterianas. Assim, foram sintetizadas nanopartículas de prata, um material notavelmente conhecido pela sua propriedade antibacteriana, as quais foram impregnadas no β -TCP por duas metodologias de imersão. Neste trabalho, foi avaliado a eficiência de dopagem por estas metodologias. Os métodos empregados nas sínteses são simples e de baixo custo, o que facilita sua produção em escala industrial, incentivando assim sua aplicação. Como resultado, foi obtido um pó branco de granulometria fina e baixa densidade, composto majoritariamente por agregados de β -TCP dopados com nanopartículas de prata, porém com presença de algumas fases secundárias como a de α -TCP e pirofosfato de cálcio.

Palavras-chave: beta fosfato tricálcico; nanopartículas de prata; biomateriais; nanotecnologia.

Abstract

NOREMBERG, Bruno da Silveira. **Synthesis and characterization of beta-tricalcium phosphate doped with silver nanoparticles**. 2014. 47f. Completion of course work - Materials Engineering Course. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2014.

This study presents the proposal of obtaining a bioactive and antibacterial material for incorporation into resin materials of dentistry in order to promote osseointegration with lower risks of contamination. For this, the particles of beta tricalcium phosphate (β -TCP) were synthesized, a porous ceramic material, biocompatible and resorbable scaffold that acts as a stimulating bone growth. In order to minimize possible problems after the application of these materials in the human body was proposed the incorporation of antibacterial particles. So, silver nanoparticles were synthesized because they are remarkably well known for its antibacterial property material, which have been impregnated in the β -TCP by immersion for two methodologies. This work was then evaluated the efficiency of doping by these methodologies. The methods employed in the syntheses are simple and low cost; making it possible turns them on an industrial scale, thus facilitating their implementation. As a result, there was obtained a white powder of fine particle size and low density, composed of aggregates of β -TCP doped with silver nanoparticles, but with the presence of some phases such as α -TCP and calcium pyrophosphate.

Keywords: beta tricalcium phosphate; silver nanoparticles; biomaterials; nanotechnology.

Lista de Figuras

Figura 1	Esquema representando as etapas de obtenção do material proposto.....	7
Figura 2	Esquema das etapas da síntese de β -TCP e HA deficiente em cálcio.....	8
Figura 3	Fotografia do pó obtido de HA deficiente em cálcio obtido.....	9
Figura 4	Fotografia do forno tubular utilizado na calcinação dos pós obtidos.....	10
Figura 5	Diagrama de fase de fosfatos de cálcio.....	10
Figura 6	Reator de teflon utilizado na síntese de AgNPs.....	12
Figura 7	Forno micro-ondas adaptado para síntese de AgNPs.....	12
Figura 8	Fotografia da solução de AgNPs dispersas.....	13
Figura 9	Etapas de obtenção de nanopartículas coloidais de prata.....	13
Figura 10	Esquema da metodologia de dopagem 1.....	14
Figura 11	Esquema da metodologia de dopagem 2.....	15
Figura 12	Fotografia das soluções após 3h de agitação.....	16
Figura 13	Fotografia das soluções após 2 horas de repouso.....	17
Figura 14	Fotografia do sputtering utilizado no recobrimento das amostras.....	18
Figura 15	Fotografia do microscópio eletrônico de varredura localizado no CEME-SUL, FURG.....	19
Figura 16	Fotografia do espectrofotômetro EDX 720 utilizado nas análises.....	20
Figura 17	Fotografia do difratômetro SHIMADZU modelo XRD-6000.....	20
Figura 18	Fotografia do espectrofotômetro UV-VIS utilizado nas análises.....	22
Figura 19	Micrografia da vista geral das partículas de hidroxiapatita deficientes em cálcio.....	23
Figura 20	Micrografia da Hidroxiapatita deficiente em cálcio, 11000x.....	24
Figura 21	Micrografia do β -TCP.....	25
Figura 22	Micrografia do β -TCP dopado com prata, metodologia 1.....	26
Figura 23	Micrografia da HA dopada e calcinada, metodologia 2.....	27

Figura 24	Difratograma de raio-x comparativo entre HA deficiente em cálcio e β -TCP.....	29
Figura 25	Difratograma de raio-x comparativo entre β -TCP dopado com AgNPs da metodologia 1 em diferentes soluções.....	30
Figura 26	Difratograma de raio-x comparativo entre β -TCP dopado com AgNPs da metodologia 1 em diferentes soluções.....	31
Figura 27	Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 1.....	32
Figura 28	Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 3.....	33
Figura 29	Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 5.....	33

Lista de Tabelas

Tabela 1	Fosfatos de cálcio.....	4
Tabela 2	Soluções preparadas para dopagem de β -TCP com AgNPs.....	17
Tabela 3	Análise de composição química das amostras da metodologia 1..	29
Tabela 4	Análise de composição química das amostras da metodologia 2..	29

Lista de Abreviaturas e Siglas

Ag	Prata
B-TCP	Beta fosfato tricálcico
Cl	Cloro
DRX	Difração de Raios-X
EDX	Espectrômetro de Fluorescência de Raios X por Energia Dispersiva
HA	Hidroxiapatita
JCPDS	Joint Committee on Powder Diffraction Standards
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
UV-Vis	Espectroscopia ultravioleta visível

Sumário

1	Introdução.....	1
2	Revisão de Literatura.....	2
2.1	Biomateriais.....	3
2.2	Fosfatos de cálcio.....	3
2.3	Nanopartículas de prata.....	5
2.4	β -TCP dopado com Prata.....	6
3	Desenvolvimento.....	7
3.1	Metodologia.....	7
3.1.1	Síntese de β -TCP.....	7
3.1.2	Síntese de Nanopartículas de prata.....	11
3.1.3	Síntese de β –TCP com AgNPs.....	14
3.1.4	Caracterizações.....	17
3.1.4.1	MEV.....	17
3.1.4.2	EDX.....	19
3.1.4.3	DRX.....	20
3.1.4.4	UV-VIS.....	21
3.2	Resultados e discussões.....	22
3.2.1	MEV.....	22
3.2.2	EDX.....	27
3.2.3	DRX.....	28
3.2.3	UV-Vis.....	31
4	Conclusões.....	34
	Referências.....	35

1 Introdução

O constante desenvolvimento tecnológico, aliado aos avanços da medicina, vem permitindo que a expectativa de vida da população aumente significativamente, gerando um envelhecimento da mesma. Isto acarreta no aparecimento de inúmeros problemas relacionados ao desgaste dos materiais constituintes do corpo humano, que por viver mais, fica mais suscetível a degradação, como por exemplo, artrites, artroses, problemas odontológicos dentre outros. Esta degradação, acarreta na perda de tecido ósseo, e pode gerar diversas complicações como traumas, fraturas ou patologias que necessitem de intervenções cirúrgicas para correção. Em muitos casos, nesses procedimentos não há reparo completo do tecido ósseo, resultando em defeitos estéticos ou perda da função óssea. (GRANDI, 2007 apud BEOLCHI, 2009).

Assim, alternativas para contornar estes problemas são estudadas, e a solução geralmente é encontrada na substituição do tecido afetado por biomateriais. Estes, são materiais capazes de interagir com o organismo, proporcionando benefícios a ele, como por exemplo, a substituição da articulação de um joelho desgastado por um biopolímero, de um fêmur descalcificado por um pino de titânio, dentre outros. Entre os biomateriais utilizados, o grupo dos fosfatos de cálcio, como a hidroxiapatita, é um dos que se destaca nesta aplicação, isto pois este mineral além de ser inerte e biocompatível e possibilita a regeneração óssea devido a sua propriedade osseocondutora (ALBREKTSSON e JOHANSSON 2001).

Sendo assim, a fim de utilizar estas propriedades da hidroxiapatita em tratamentos odontológicos de reposição óssea, se propõem o desenvolvimento de um material que possa vir a integrar um sistema adesivo biocompatível que estimule a osseointegração em restaurações odontológicas. Porém, como na utilização destes materiais podem ocorrer problemas de contaminação e infecção, se propõem adicionalmente, a incorporação de nanopartículas de prata para evitar ou reduzir este problema (PUOLAKKA, 2001 apud ANDRADE, 2013). Seu uso se justifica, pois, a prata, quando na forma de nanopartículas coloidais, apresenta um alto poder bactericida, atuando também no combate a vírus e fungos (BERNI; RIBEIRO;

ZUCOLOTO, 2008 apud CABALA 2013). Com isso, pretende-se obter β -TCP dopado com nanopartículas de prata para sua futura aplicação em sistemas de adesivos, gerando compósitos odontológicos, que sejam capazes de promover a remineralização de dentes afetados por cárie dentária ou outro tipo de trauma, e mantê-lo livre de bactérias, vírus e fungos durante este processo de recuperação.

2 Revisão Bibliográfica

2.1 Biomateriais

O corpo humano é composto por inúmeros materiais, cada um com uma propriedade peculiar e uma função definida dentro do organismo, e como todo material na natureza ele sofre desgaste, porém, a grande parte desses materiais acaba se regenerando naturalmente. Com o envelhecimento, o corpo humano acaba perdendo ou reduzindo significativamente esta capacidade, e esses materiais passam então a se degradar de maneira acentuada e progressiva, até que sua função no organismo fique comprometida, acarretando na perda de funcionalidade do determinado tecido. Atualmente, como a qualidade de vida cresceu muito em função do desenvolvimento da tecnologia, a população no geral está vivendo mais, conseqüentemente maiores são os casos de degradação que surgem, em especial a degradação do tecido ósseo. Assim, muitos processos e materiais são estudados e utilizados para evitar e corrigir este problema, em destaque, está a aplicação dos biomateriais na substituição de tecidos. Estes são uma classe de materiais que engloba polímeros, cerâmicas, metais e compósitos e podem substituir, corrigir ou reforçar tecidos humanos (ORÉFICE, 2006). O grupo é composto por materiais biológicos ou sintéticos, que interagem diretamente ou indiretamente com o corpo humano, trazendo algum benefício a ele sem afetar o campo de aplicação, sem que haja incompatibilidade ou complicações. Muitas são as definições para biomateriais, mas no geral todas condizem com o citado acima.

2.2 Fosfatos de Cálcio

Dentre todos biomateriais disponíveis, os materiais cerâmicos apresentam inúmeras vantagens na sua aplicação, pois são compostos inorgânicos mais estáveis, atóxicos e em geral mais leves que polímeros e metais, sendo assim, apresentam menor risco de rejeição e melhor adaptação no organismo. Por serem porosas, na grande maioria dos casos, as cerâmicas atuam como um suporte tridimensional para o crescimento celular. Baseado nisso, uma das principais utilizações destes materiais se dá na forma de scaffolds, ou seja, age como um substrato condutor para o

crescimento de tecidos. Um exemplo clássico é a utilização de cerâmicas de fosfato de cálcio, que apresenta propriedade osseocondutora devido sua compatibilidade iônica (cálcio e fósforo) o que estimula a remineralização do tecido, pois participam do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e cerâmico de maneira atóxica, sem resposta inflamatória e com ausência de fibrose (KAWACHI et al, 2000 apud ANDRADE, 2013). Esta compatibilidade e semelhança com o osso, aliada com o fato de ser um material reabsorvível, tornam os fosfatos de cálcio um importante material em tratamentos de reconstrução e reparação óssea. Outro ponto interessante dos fosfatos é sua relação Ca/P, que possibilita inúmeras formas de apresentação deste material, conforme observado na tabela 1, assim inúmeras aplicações podem ser conduzidas de maneira a controlar a reatividade e disponibilidade de íons de cálcio e fosforo conforme a relação.

Tabela 1 – Fosfatos de cálcio

Fosfato de Cálcio	Fórmula química	Razão Ca/P
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico (α , α' , β , γ), (TCP).	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_2$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{Ca}_8\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Mono-hidrogenio fosfato de cálcio (DCP)	CaHPO_4	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Di-hidrogenio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio (α , β , γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

Fonte: GUASTALDE e APARECIDA, 2010.

Estas características de excelente compatibilidade com tecido ósseo e alta osteocondutividade, fazem com que os fosfatos de cálcio sejam frequentemente

utilizados com sucesso para reconstrução óssea e dentária (RODRIGUES *et al.*, 2003).

2.3 Nanopartículas de Prata

Compostos de prata são notoriamente conhecidos como substâncias antibacterianas, e são empregadas há séculos no controle de infecções. Esses compostos tiveram seu apogeu antes dos anos 40, pois, com a descoberta da penicilina a partir desta data seu uso acabou reduzido devido à evolução e descoberta de novos antibióticos. Porém, com o uso excessivo e indevido destes, as bactérias e vírus tornaram-se mais resistentes, e, assim, a prata que estava em desuso voltou a ser objeto de estudos, principalmente depois do crescimento e dos avanços na área da nanotecnologia. Ultimamente, compostos de prata nanoparticulados são alvo de inúmeros pesquisadores, pois elas apresentam alto poder de desinfecção e uma atividade antibacteriana mais duradoura em comparação a desinfetantes comuns, como o hipoclorito de sódio e o fenol (CHAMAKURA *et al.*, 2011). Esta melhor atividade consolida as nanopartículas de prata como um ótimo agente antimicrobiano, porém ainda existe muita controvérsia a respeito de como ela age e qual a concentração ideal para que ela não seja citotóxica. Atualmente, o mais correto e aceitável, é afirmar que ocorre um sinergismo de mecanismos, como por exemplo, para a *E. Coli* (LOK, 2006), que quando exposta a compostos de prata (coloides) e nanopartículas de prata, acabou tendo uma redução na concentração de K^+ e ATP intracelular, e ainda, uma dissipação de força motriz de prótons, uma diferença de potencial químico e elétrico entre o exterior e o interior da membrana celular causada pelo transporte de H^+ (BERTÉ, 2013).

Existem, atualmente, inúmeras sínteses de nanopartículas de prata disponíveis, mas a preferência e o foco dos estudos são sempre por aquelas que utilizam reagentes mais amigáveis ao meio ambiente, e que produzem nanopartículas com menor dispersão morfológica, como é o caso da metodologia de síntese de nanopartículas coloidais de prata por redução com citrato de sódio (MUNRO, 1995), uma síntese simples, a baixa temperatura, e que se utiliza de um agente redutor

menos agressivo do que os usados em métodos mais consolidados, como o de Lee and Meisel (1982), que utiliza o boro hidreto de sódio.

2.4 β -TCP dopado com Prata

Na literatura, são encontrados alguns métodos de incorporação de prata em hidroxiapatita, na sua grande maioria, baseados em sorção, onde íons de prata em solução se ligam a superfície de fosfatos de cálcio sólidos. Esta ligação pode ocorrer através de vários mecanismos, como precipitação, troca iônica, co-precipitação, difusão e ainda absorção. Estes mecanismos de ligação podem ocorrer isoladamente, mas também simultaneamente. (REIS, 2008 apud ANDRADE 2013). Muito dos métodos encontrados são complexos e exigem equipamentos sofisticados para a obtenção de hidroxiapatita dopada com nanopartículas de prata, porém, Marsich et al(2013 apud ANDRADE,2013) obteve compósitos de HA através de absorção de nanopartículas de prata em soluções de 1mM, apenas através de ligações eletroestáticas. Em seu estudo foi constatado que houve ligação entre a HA e as AgNPs e que em testes biológicos a liberação de Ag⁺ foi constante em um período de sete dias, mostrando um bom efeito antibacteriano para *S. Aureus*.

3 Desenvolvimento

3.1 Metodologia

Para compreender todas as metodologias aplicadas a este trabalho, segue na Figura 1 uma simples esquematização de todos os processos realizados para a obtenção das partículas de β -TCP dopadas com AgNPs. Primeiramente, foram obtidos pós de hidroxiapatita deficiente em cálcio e β -TCP, e a partir destes dois materiais, foram utilizadas duas metodologias de dopagens com nanopartículas de prata.

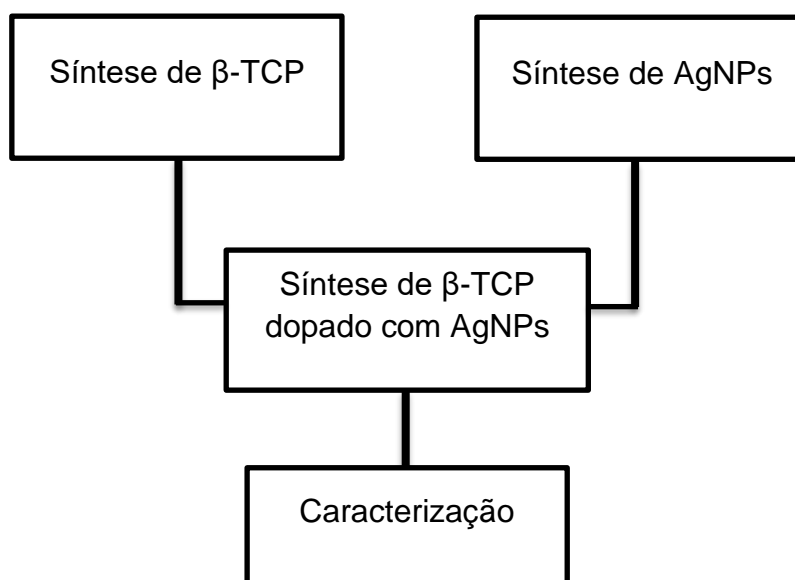


Figura 1 – Esquema representando as etapas de obtenção do material proposto

3.1.1 Síntese do β -TCP

A obtenção do β -TCP deste trabalho foi baseado na metodologia descrita por Lee (2013), através de uma síntese por precipitação química onde é de fundamental importância o controle da faixa de pH de precipitação. Esta faixa deve se manter entre 7,5 e 8,5 para a obtenção de um β -TCP mais puro, sem a presença de pirofosfato de cálcio, que se forma em faixa de pH ácido, entre 5 e 7 (LEE, 2013).

Para uma fácil visualização do processo de síntese utilizado, segue na Figura 2 um esquema das etapas de obtenção do β -TCP e da hidroxiapatita deficiente em cálcio, os dois materiais utilizados na obtenção dos compósitos dopados com nanopartículas de prata.

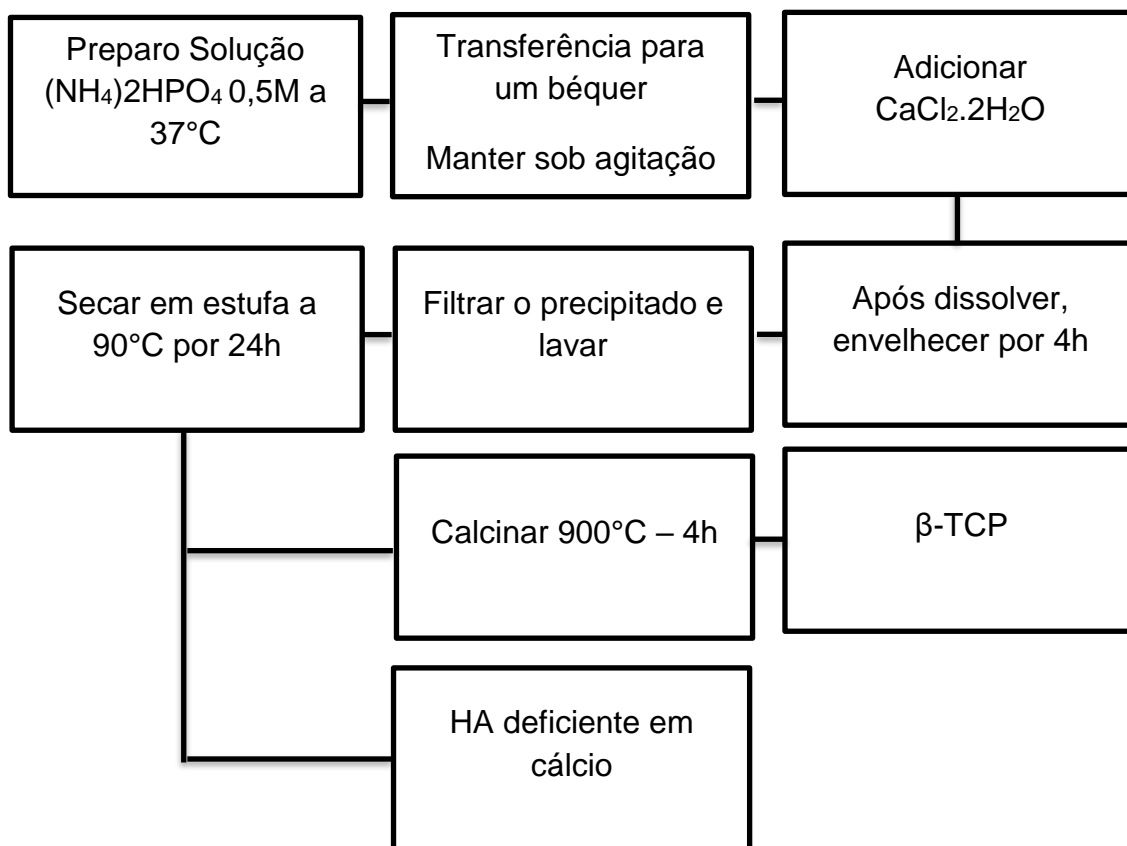


Figura 2 – Esquema das etapas da síntese de β -TCP e HA deficiente em cálcio

Para a síntese, foi preparada uma solução 0,5 M de fosfato de amônia bi básico, a 37 °C e em agitação. No preparo, foram adicionados em um balão volumétrico de 500ml, o pó de fosfato de amônia bi básico (Synth), e em seguida, a água destilada até atingir o volume de 500ml. Este balão foi então levado a uma cuba com água a 37 °C por cerca de 20 minutos. Após decorrido este tempo, o conteúdo do balão foi transferido para um béquer de 500ml, e colocado em agitação em um agitador magnético, à temperatura ambiente. Em seguida, após a total dissolução do material, foi adicionado 10 ml de hidróxido de amônia (Synth) para que o pH de precipitação da HA deficiente em cálcio ficasse entre 7,5 e 8,5, faixa na qual favorece a formação de beta fosfato de cálcio. Com o pH ajustado, se adicionou a quantidade estequiométrica

de cloreto de cálcio (Synth) que atendesse a razão Ca/P de 1,5, para que ocorra a formação do β -TCP após o processo de calcinação. Esta solução foi agitada até a total dissolução do cloreto adicionado, ao fim, a agitação foi desligada e a solução foi envelhecida por 4 horas, para que ocorra a precipitação total da hidroxiapatita deficiente em cálcio. A próxima etapa, consistiu na filtração e lavagem com água destilada desta solução em papel filtro Qualy de 18 μ m. O precipitado, que ficou retido no filtro, foi seco em estufa por 24 horas, originando um pó fino e branco, conforme demonstrado na Figura 3.

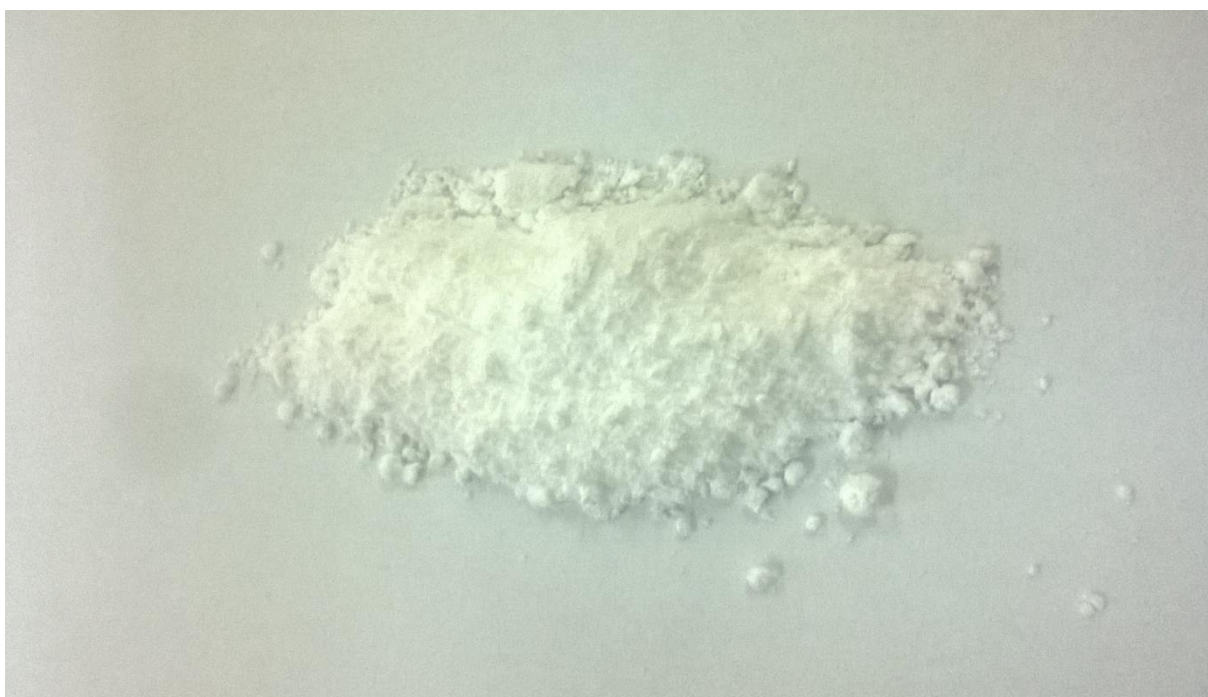


Figura 3 – Fotografia do pó obtido de HA deficiente em cálcio obtido

Parte deste pó obtido, foi então reservado para ser aplicado em uma das metodologias de dopagem e a outra parte, calcinado em forno tubular MAITEC FT-1200, Figura 4, por 2 horas a uma temperatura de 800°C com taxa de aquecimento de 10°C por minuto, para que ocorra a transformação da hidroxiapatita deficiente em cálcio em β -TCP, que será utilizado em outra metodologia de dopagem. Sua formação ocorre a temperaturas inferiores a 1200°C, pois acima desta temos a formação de compostos mistos com predomínio da fase α -TCP, como podemos visualizar no diagrama de fases da Figura 5.



Figura 4 – Fotografia do forno tubular utilizado na calcinação dos pós obtidos.

Sendo: C_3P = TCP
 C_4P = TTCP
 Ap = HAp

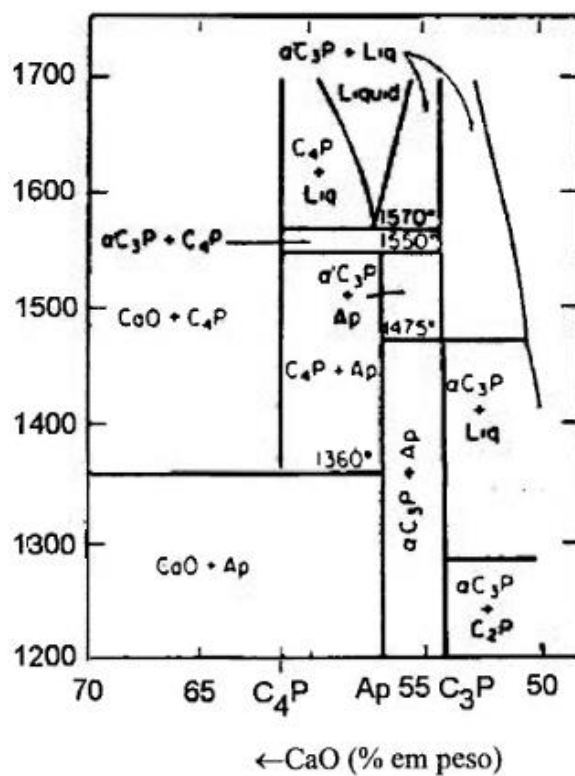


Figura 5 – Diagrama de fase de fosfatos de cálcio

Fonte: RIBEIRO, 2003

3.1.2 Síntese de nanopartículas de prata

A síntese de AgNPs foi realizada através da irradiação de micro-ondas em solução aquosa de nitrato de prata e citrato de sódio, utilizando uma solução de formaldeído a 37% como agente redutor. Esta síntese descrita por YIN (2003), é capaz de produzir nanopartículas em grandes concentrações e com distribuição de tamanho em escala manométrica e homogênea. Nesta síntese, soluções de citrato de sódio e nitrato de prata são misturadas de modo que um citrato metálico de prata ($\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) seja formado, em seguida é adicionado o formaldeído, e então esta solução resultante é levada ao micro-ondas por 2 minuto a 90 °C. Nesta etapa, as moléculas de $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ são reduzidas pelo formaldeído, e formam as nanopartículas coloidais em solução, o $\text{Ag}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ em excesso é então precipitado. Em seu trabalho, YIN (2003) conduziu oito experimentos testando algumas condições de concentração de reagentes e tempo de irradiação, avaliando sua influência na conversão de prata em AgNPs e no tamanho de partícula resultante. Dentre as variáveis analisadas, as soluções de nitrato de prata e citrato de sódio em concentrações de 0,1M e formaldeído em 1,5M expostas por 2 minutos na irradiação de micro-ondas a 90°C, foram as variáveis que obtiveram as melhores respostas, resultando em AgNPs com fator de conversão de 98% e uma distribuição granulométrica de aproximadamente 24nm. Sendo assim, esta foi a condição adotada para a síntese das nanopartículas.

Neste trabalho, a síntese foi feita em reator cilíndrico de teflon, como pode se observar na Figura 6, ao qual foram adicionados na seguinte ordem: 50ml de solução de citrato de sódio da Sigma-Aldrich, 50ml de solução de AgNO_3 0,1M e 10,91ml de formaldeído a 37% ambos da marca Synth. As soluções, com exceção do formaldeído a 37%, foram preparadas previamente e dispersadas em banho ultrassônico, UltraCleaner 1400A, por 2 minutos antes de serem misturados no reator.



Figura 6 – Fotografia do reator de teflon utilizado na síntese de AgNPs.

O reator foi então lacrado e levado ao forno micro-ondas da Figura 7 por 2 minutos a temperatura de 90°C.



Figura 7 – Fotografia do forno micro-ondas adaptado para síntese de AgNPs.

O material foi removido do reator, transferido para um béquer, agitado em agitador magnético e levado a um banho ultrassônico, UltraCleaner 1400 A , por 30min a fim de dispersar todas nanopartículas produzidas, gerando uma solução homogênea conforme Figura 8 .



Figura 8 – Fotografia da solução de AgNPs dispersas.

A solução de AgNPs foi então guardada em um recipiente fechado e fora da luz, para então ser utilizado na etapa de dopagem do β -TCP e HA deficiente em cálcio. Todo processo pode ser facilmente analisado no esquema da Figura 9.

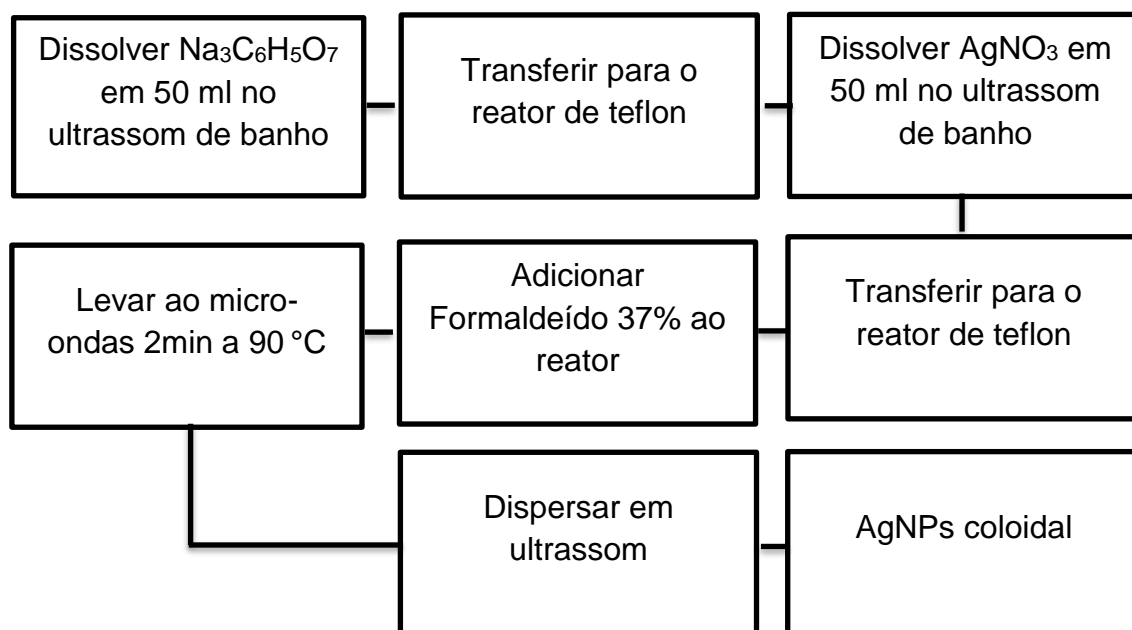


Figura 9 - Esquema das etapas de obtenção de nanopartículas coloidais de prata

3.1.3 Síntese de β -TCP dopados com nanopartículas de prata

Para a dopagem do β -TCP com as AgNPs, duas metodologias foram adotadas, ambas por processos de imersão dos pós obtidos. A primeira metodologia é feita utilizando o β -TCP já calcinado, como esquematizado na Figura 10 e denominada metodologia 1, e outra utilizando HA deficiente em cálcio, que necessita de calcinação após o processo de dopagem, representada na Figura 11 e denominada metodologia 2. Estas metodologias foram escolhidas, pois são simples e não utilizam equipamentos sofisticados e complexos, o que viabiliza uma futura transformação desta escala laboratorial em uma produção industrial, visto que seria necessário apenas um reator com agitação.

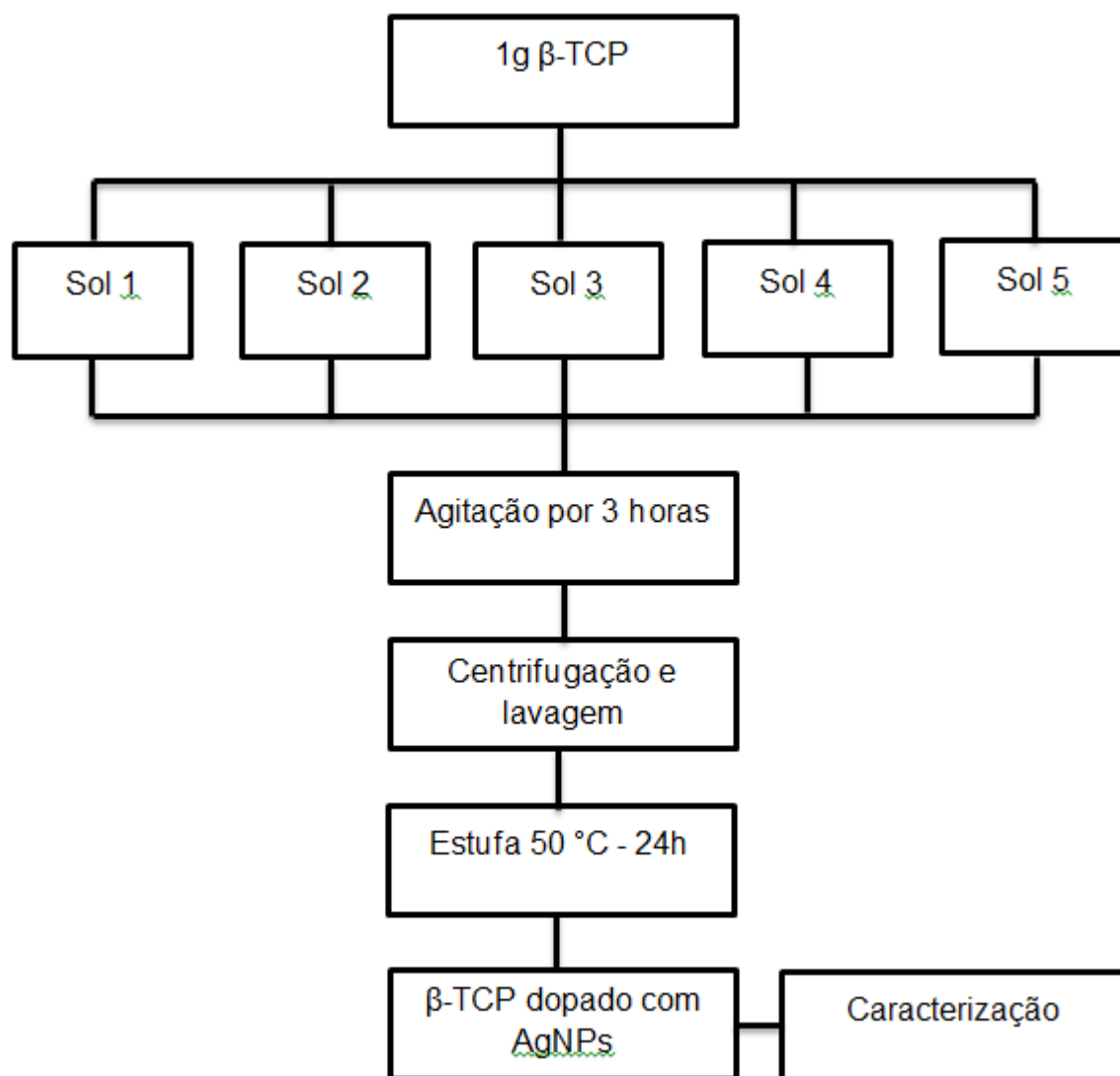


Figura 10 – Esquema da metodologia de dopagem 1.

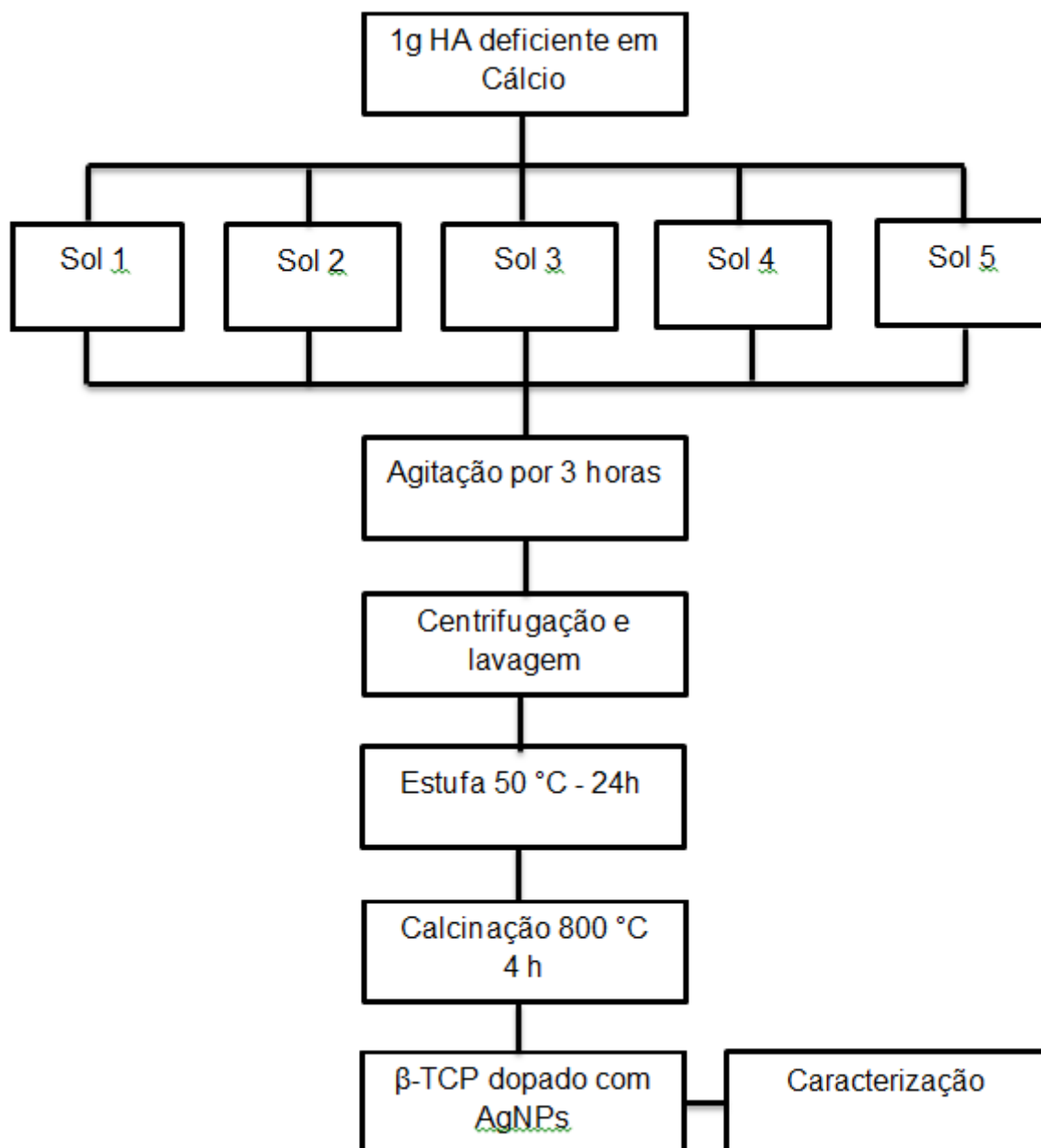


Figura 11 – Esquema da metodologia de dopagem 2.

Para a obtenção dos compósitos foi utilizado um método de imersão descrito por ANDRADE (2013), onde os pós foram adicionados a uma solução contendo diferentes concentrações de nanopartículas de prata. Neste método, os pós ficam sobre agitação nesta solução por 3 horas para promover interações entre os materiais. A dopagem ocorre então, através de mecanismos de absorção, adsorção e ainda troca iônica entre íons de prata e cálcio.

Na síntese do compósito, cinco alíquotas de 1 g de β -TCP ou 1 g de HA deficiente em cálcio foram pesadas em balança analítica e cada uma delas foi

adicionada em um béquer sob agitação contendo em cada um deles as seguintes soluções descritas na tabela 2.

Tabela 2 – Soluções preparadas para dopagem de β -TCP com AgNPs.

Solução	Conteúdo 20ml
1	10ml de H ₂ O - 10ml AgNPs
2	15ml de H ₂ O - 5ml AgNPs
3	17,5ml de H ₂ O - 2,5 ml AgNPs
4	18,75ml de H ₂ O - 1,25ml AgNPs
5	19,375ml de H ₂ O - 0,625ml AgNPs

Após o período de 3 horas, Figura 12, as soluções foram deixadas em repouso por 2 horas, Figura 13, e então o sobrenadante foi destinado a caracterização, para avaliar a quantidade de prata absorvida comparando com a alíquota da solução separada antes da imersão do pó, e o precipitado foi lavado e centrifugado para a remoção do citrato de sódio, citrato de prata, íons, contaminante e das AgNPs que não interagiram.



Figura 12 – Fotografia das soluções após 3h de agitação

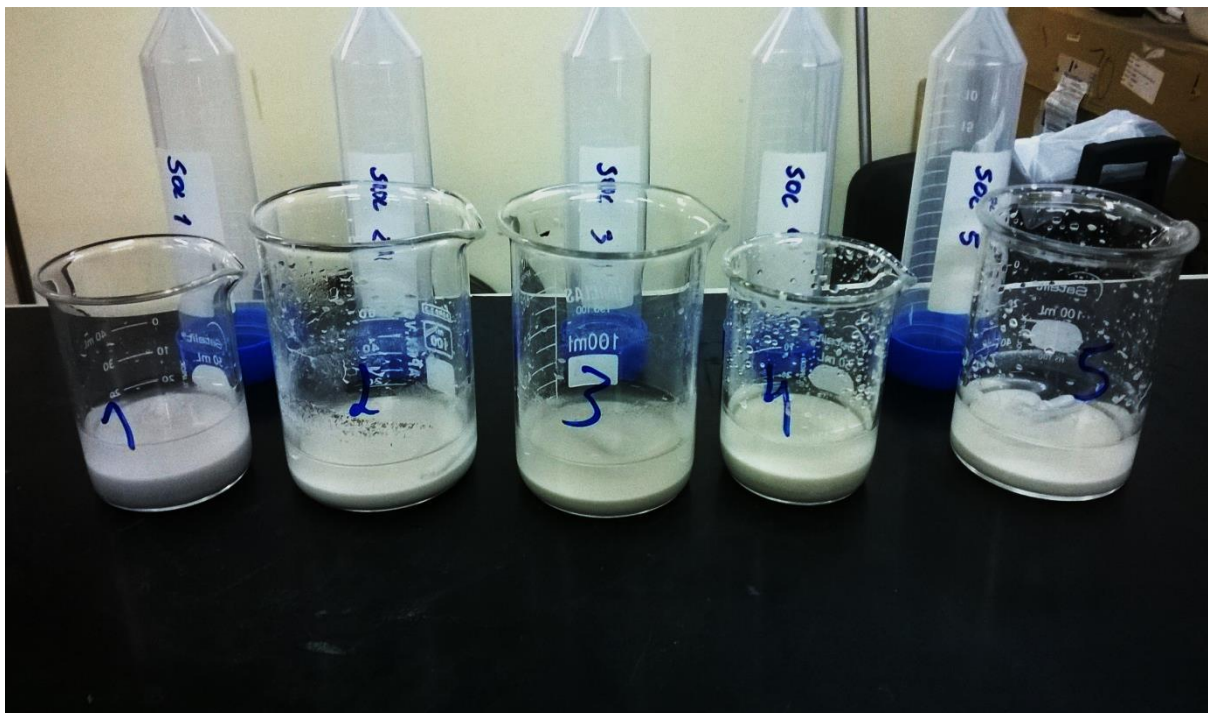


Figura 13 – Fotografia das soluções após 2 horas de repouso

O pó seco foi caracterizado por EDX, MEV, DRX e FTIR a fim avaliar a composição elementar, fases formadas, morfologia e tamanho de partícula e presença de contaminantes.

3.1.4 - Caracterizações

3.1.4.1 – Microscopia eletrônica de varredura

Para avaliar o tamanho e morfologia de partícula, técnicas de microscopia são utilizadas. Quando estruturas são pequenas demais ou finas demais, a visualização de sua morfologia não é possível em microscópios óticos, pois estes conseguem aumentos de até 2000 vezes. Sendo assim, uma técnica mais sofisticada e de maior poder de aumento é requerida, como o caso da microscopia eletrônica de varredura (MEV). Esta técnica forma imagens do material analisado através de um feixe de elétrons e não através de radiação de luz (CALLISTER, 2002).

No preparo das amostras, uma pequena quantidade do pó desaglomerado foi fixada no stub, com fita de carbono, que posteriormente foi levado ao sputtering DESK

V, Denton Vacuum, Figura 14, para ser revestido com ouro, a fim de tornar o material condutivo para que a amostra possa interagir com os elétrons e assim gerar imagens.



Figura 14 – Fotografia do sputtering utilizado no recobrimento das amostras.

Três amostras de cada metodologia, solução 1, 3 e 5 de cada grupo, β -TCP puro e HA deficiente em cálcio foram investigadas a fim de avaliar o nível de agregação dos pós, sua morfologia, seu tamanho aproximado de partícula ou agregados, e ainda a presença de microporosidade, pois esta favorece a osseointegração (CUNHA, 2010). As análises foram realizadas no Centro de Microscopia Eletrônica da Região Sul, CEME-SUL, situado na Fundação Universitária do Rio Grande, FURG utilizando um microscópio eletrônico de varredura JEOL modelo JSM-6610LV, conforme mostrado na Figura 15.

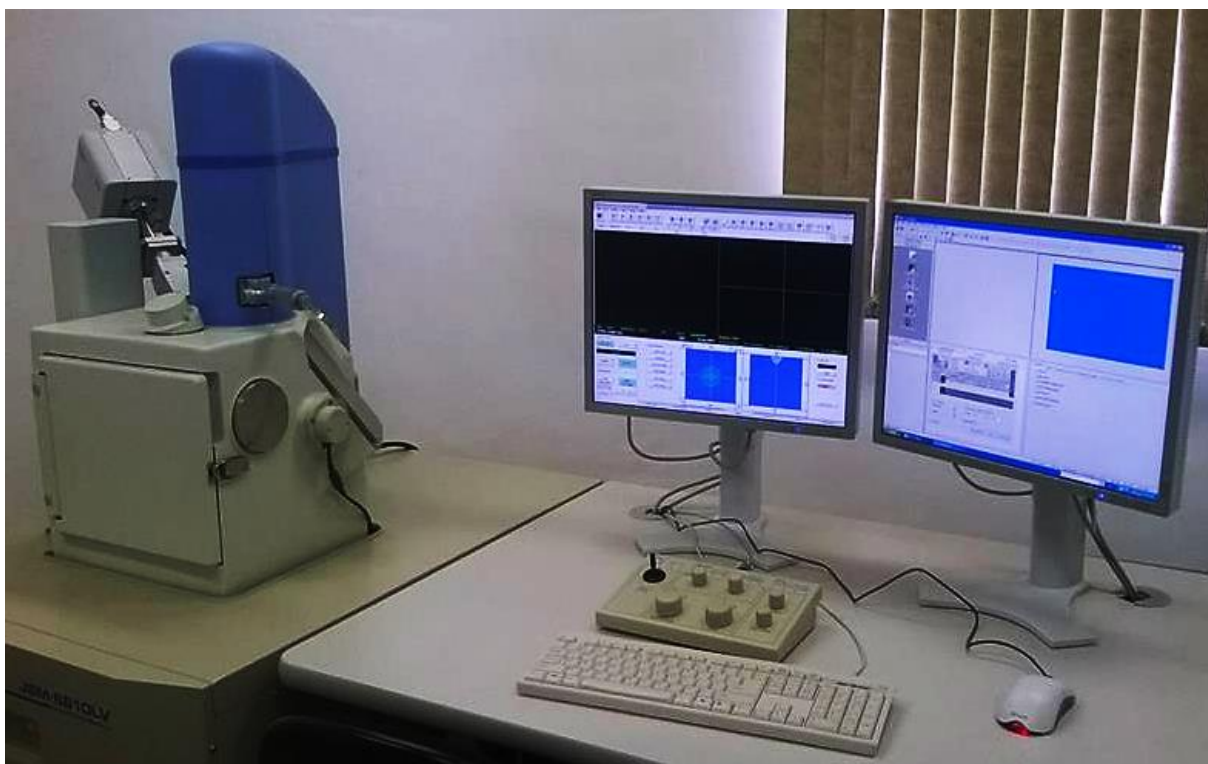


Figura 15 – Fotografia do microscópio eletrônico de varredura localizado no CEME-SUL, FURG.

3.1.4.2 – EDX

Espectrômetro por energia dispersiva é um equipamento que determina qualitativamente os elementos presentes em uma determinada amostra e dá indícios quantitativos de porcentagem elementar dos elementos inorgânicos detectáveis. Isto é possível através da aplicação de raios X na superfície da amostra e a posterior análise da energia dispersada (fluorescência). A técnica de fluorescência de raios X é não destrutiva e se aplica a todos os tipos de amostras, incluindo sólidos, líquidos e pós. A limitação é a faixa de leitura, pois não compreende elementos orgânicos (C, H, O, N) devido a faixa de leitura ser a partir do elemento sódio, até o elemento urânio. A análise foi realizada em um espectrofotômetro (EDX-720 – SHIMADZU), Figura 16, a fim de avaliar se os processos de dopagem foram eficientes, analisando a presença e o teor de prata resultante após os processos. Também, foi avaliado o teor de elemento contaminantes residual, pois o meio é rico em cloro e nem todo consegue ser removido na lavagem posterior a dopagem. Todas as amostras produzidas nas metodologias de dopagem foram analisadas.



Figura 16 – Fotografia do espectrofotômetro EDX 720 utilizado nas análises

3.1.4.3 – Difração de raios-x

Com o intuito de determinar as fases presentes nos materiais obtidos e confirmar a obtenção do β -TCP, análises de difração de raios X foram realizadas em um difratômetro Shimadzu XRD 6000, Figura 17.



Figura 17 – Fotografia do difratômetro SHIMADZU modelo XRD-6000.

A difração de raios-X é uma técnica utilizada para obter as características estruturais de materiais, permitindo determinar as fases cristalinas do mesmo. O funcionamento do difratômetro consiste basicamente na geração de raios-X através do bombardeamento de elétrons em um alvo metálico, cobre para este equipamento, fazendo com que os elétrons das camadas mais internas sejam ejetados do átomo constituinte do metal, e conseqüentemente, os elétrons das camadas externas decaem, liberando energia, ou seja, emitindo os raios-X. Na análise se obtém um registro gráfico dos sinais, que as reflexões originam, nos detectores eletrônicos de radiação. Os raios-X atingem a amostra e são espalhados coerentemente obtendo-se as informações citadas (BLEICHER; SASAKI, 2000).

3.1.4.4 – UV-Vis

Para avaliar a dopagem de prata pela HA deficiente em cálcio e pelo β -TCP, foram realizadas análises de espectroscopia de absorção UV-Vis nas soluções resultantes do processo de imersão, e nas soluções de partida. As análises foram realizadas em um Espectrofotômetro UV-VIS da marca Agilent Technologies, modelo Cary 100 conforme Figura 18. Esta técnica é utilizada para obter informações sobre a absorção ou transmissão de uma amostra. A amostra é posicionada no caminho óptico de uma fonte de luz UV-Vis. Esta passa pela amostra em uma determinada faixa de comprimentos de ondas e então o equipamento quantifica o quanto de luz é absorvida ou transmitida pela amostra. Esta técnica é muito devido a sua robustez, custo relativamente baixo e do grande número de aplicações. O princípio de funcionamento se dá quando a radiação eletromagnética contínua passa através de um material transparente, uma parte dessa radiação pode ser absorvida e como resultado da absorção de energia, os átomos ou moléculas passam de um estado de baixa energia (estado fundamental) para um estado de energia mais alta (estado excitado), processo este quantizado (LOPES, 2008). A radiação eletromagnética que é absorvida tem energia exatamente igual à diferença de energia entre os estados excitado e fundamental.



Figura 18 – Fotografia do espectrofotômetro UV-VIS utilizado nas análises.

3.2 – Resultados e Discussões

3.2.1 – MEV

Utilizando a técnica de microscopia eletrônica de varredura foi realizada uma inspeção visual nos materiais obtidos, nelas, foram avaliadas questões como aspecto, forma, morfologia e tamanho. Para realização das análises, o material foi previamente seco em estufa por 24h a 80°C e então uma pequena aliquota de pó foi colocada diretamente sobre o stub com fita de carbono. Foram feitas imagens dos precursores, HA deficiente em cálcio e β -TCP e de 3 amostras de cada metodologia, solução 1, 3 e 5 de cada grupo. Como dentre as amostras obtidas pelas metodologias não ocorreu mudança morfológica visualmente significativa, se utilizou uma micrografia representando cada metodologia.

Na micrografia da Figura 19, podemos visualizar as partículas de hidroxiapatita deficiente em cálcio, obtida por precipitação e antes do processo de calcinação. Este foi o material de partida para as 2 metodologias empregadas. Como podemos perceber, o material não apresenta forma definida e está bem aglomerado, pois passou por um processo de secagem e não foi disperso antes de ser utilizado nas

metodologias nem no preparo da amostra para realizar a microscopia. Como o material é aglomerado, ou seja, não está ligado quimicamente, ele foi utilizado desta maneira diretamente, pois como as partículas são ligadas entre si apenas por interações físicas, no processo de diluição nas soluções contendo os íons de prata estas se desfazem, restando apenas o material dissolvido e disperso nas soluções, uma vez que ambos são solúveis em água.

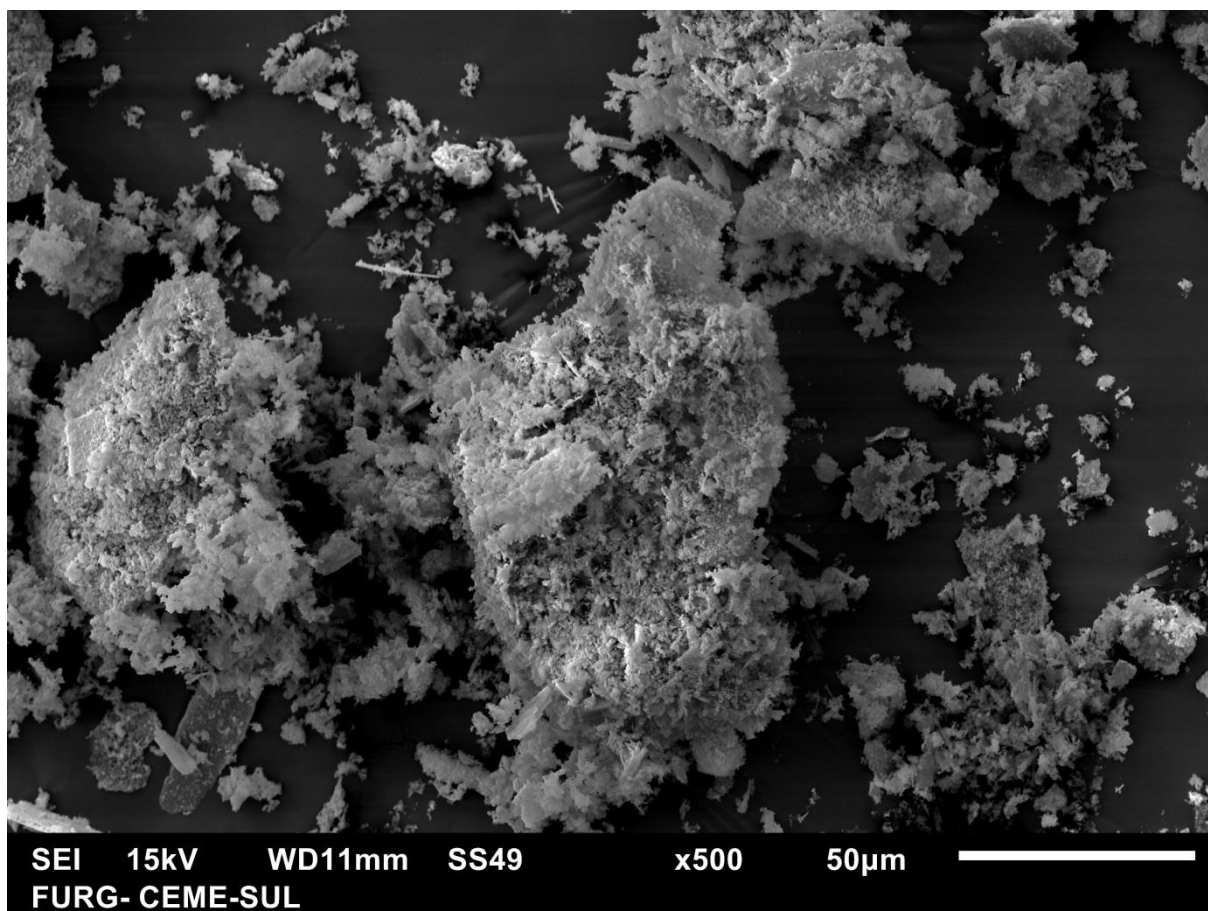


Figura 19 – Micrografia da vista geral das partículas de hidroxiapatita deficientes em cálcio

Para uma melhor avaliação, na Figura 20, observamos o mesmo material com uma maior aproximação, e nela visualizamos que ainda não existe uma forma de partícula definida, apenas um aglomerado de material que se transformará em partículas após o processo de calcinação, onde se consolidarão as ligações químicas e onde ocorrerá a eliminação de impurezas que possam estar presentes no material, devido a contaminantes, tanto de reagentes como dos processos.

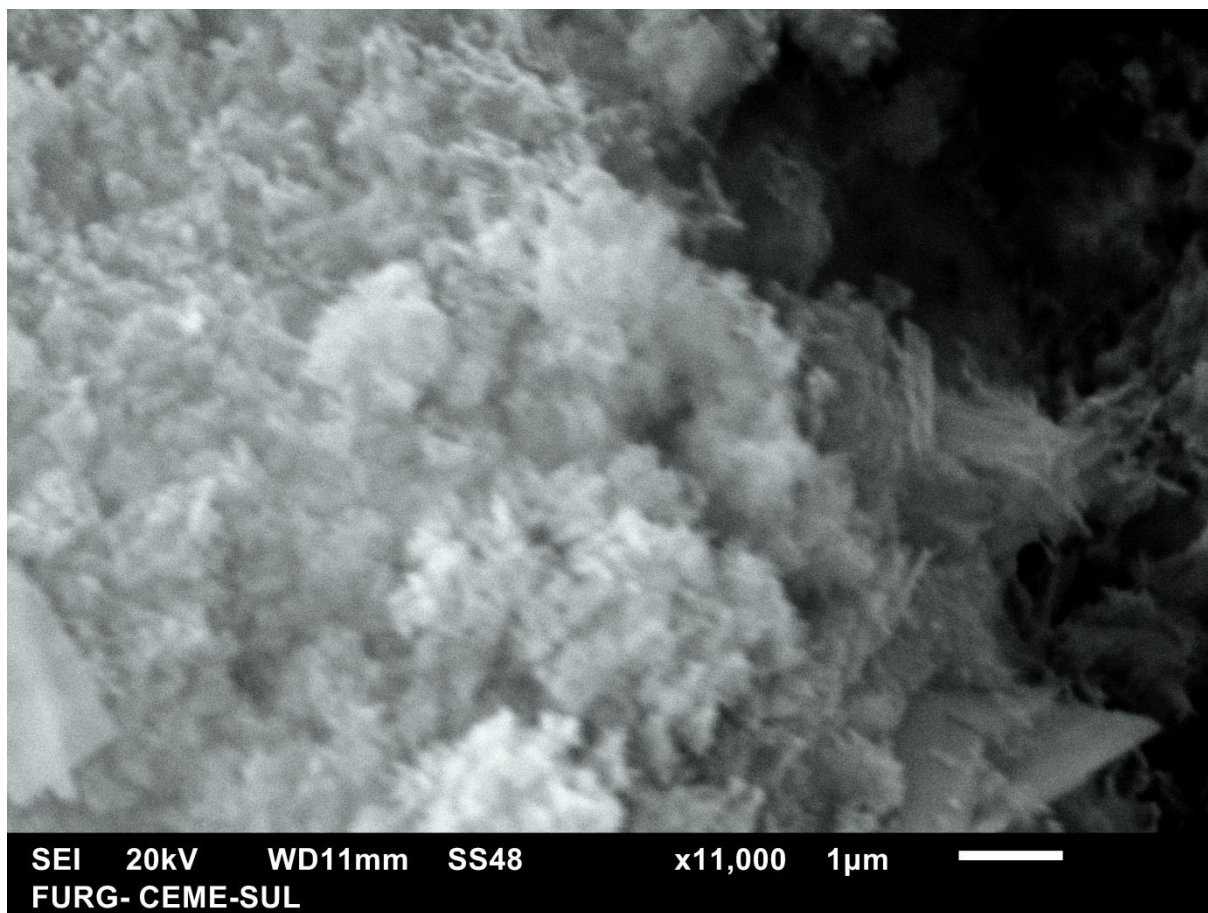


Figura 20 – Micrografia da Hidroxiapatita deficiente em cálcio, 11000x.

Após o processo de calcinação que foi realizado na hidroxiapatita deficiente em cálcio, o que observamos é o material da Figura 21, o β -TCP, onde já é possível definir a presença de partículas esféricas agregadas. Isso ocorre devido ao processo de coalescência provocado pela sinterização. Esse processo gera condições para a formação de pescoços, ou seja, é fornecida energia suficiente para a consolidação do material, e também, para a formação de agregados, junção de partículas por ligações químicas. Como o material está apresentado em agregados pequenos, não se faz necessário o uso de técnicas como a de moagem para desagregar o material, podendo este ser utilizado na aplicação proposta diretamente após a síntese.

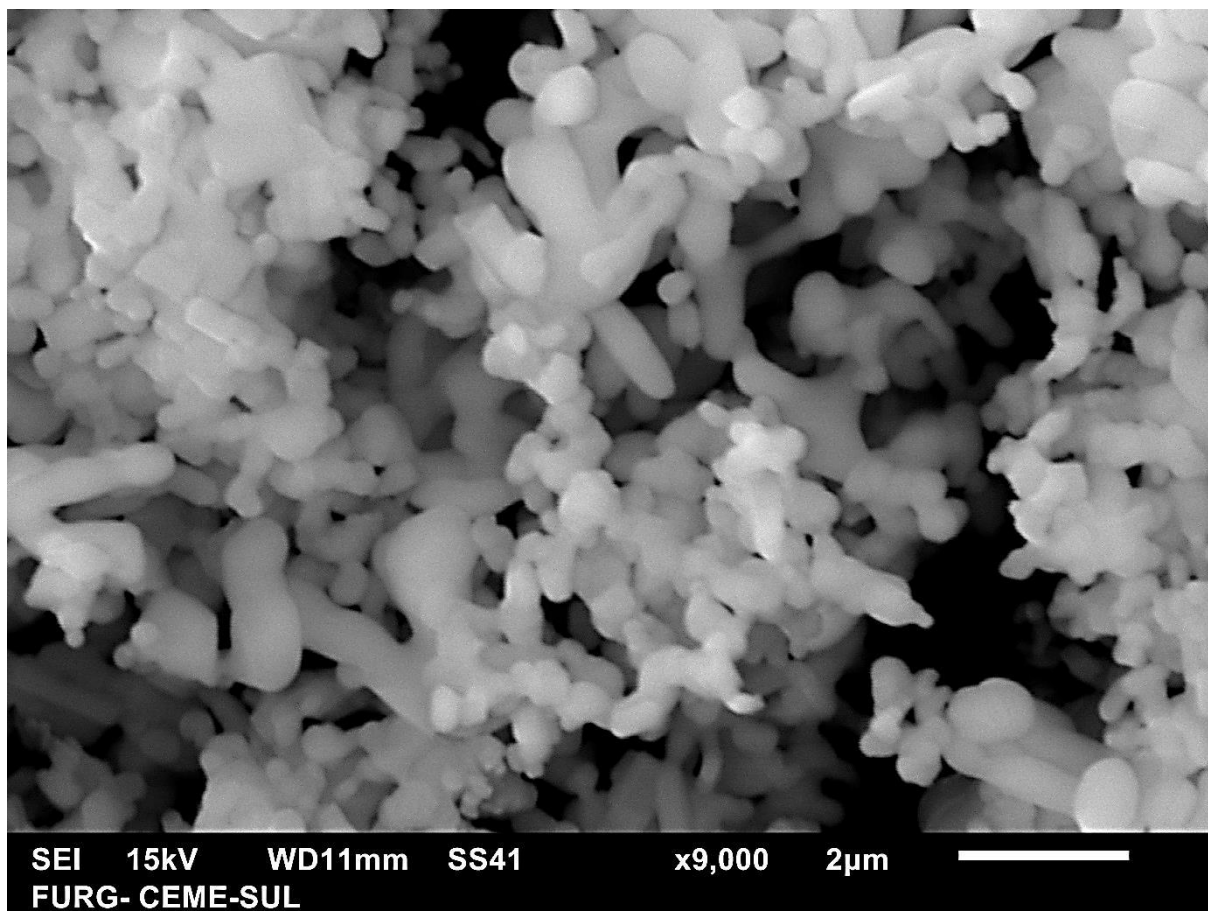


Figura 21 – Micrografia do β -TCP

O material obtido na metodologia 1 pode ser visualizado na Figura 22, nela vemos que ocorreu a formação de agregados micrométricos formados por partículas extremamente pequenas, provavelmente nanométricas. Essa morfologia ocorreu devido ao fato de que no processo de dopagem, o β -TCP previamente calcinado é dissolvido e não passa por novo processo de tratamento térmico que favoreça o crescimento de partículas, apenas secagem em estufa, o qual não fornece energia suficiente para que isso aconteça. Assim apenas pequenas interações físicas e químicas, uniram essas nanopartículas nestes agregados. Outro fator importante e que é benéfico para a aplicação pretendida, é que em sua formação, os agregados deixam espaços vazios, gerando partículas porosas. Isso acarreta em um material com menor densidade o que é muito útil para aplicação como biomaterial. Aqui vale ressaltar também que não foi observada partículas de prata, o que é um bom indício de que no processo a prata continuou em sua forma manométrica, pois com o microscópio não seria possível visualizá-las devido a sua resolução.

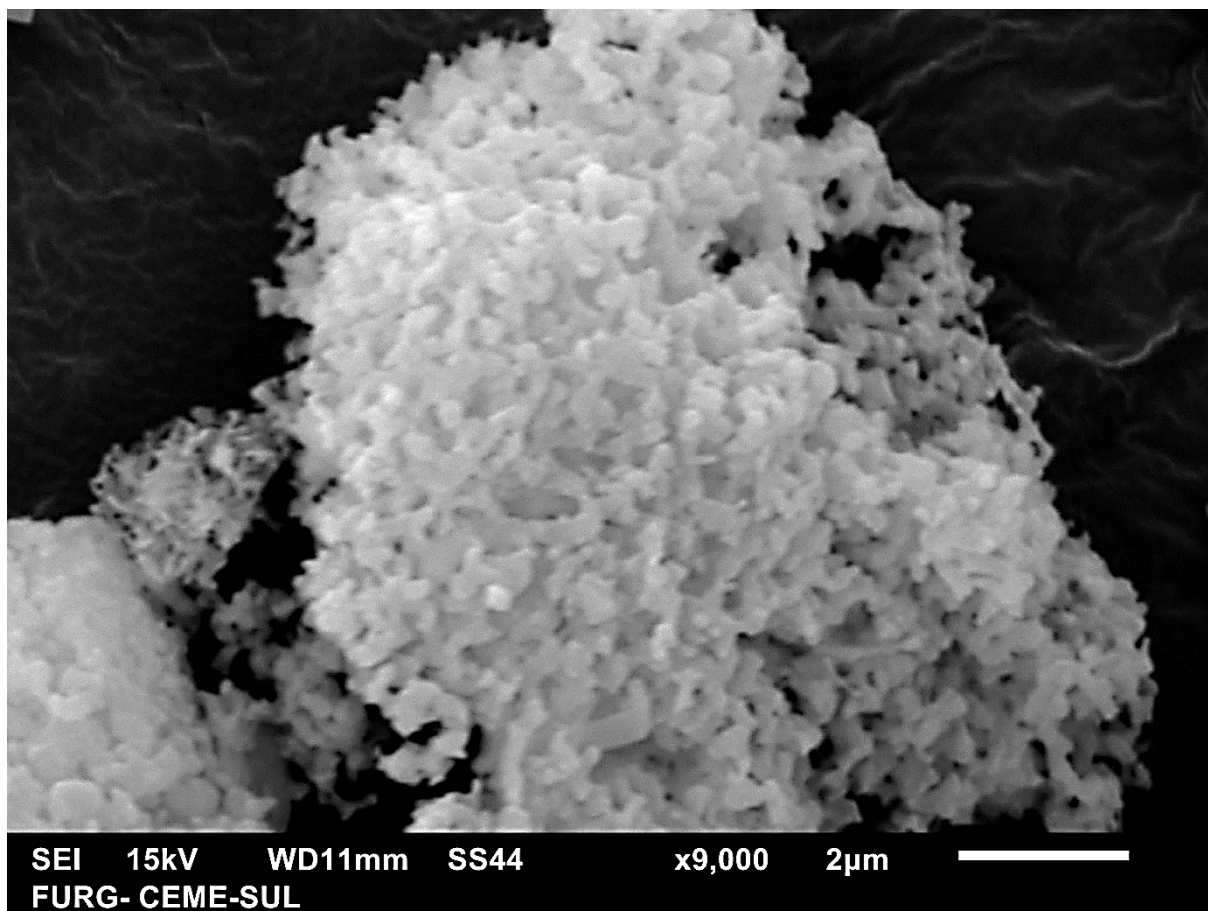


Figura 22 – Micrografia do β -TCP dopado com prata, metodologia 1.

Por fim, na Figura 23 temos o material obtido na metodologia 2, que passou por um processo de calcinação após a dopagem com prata. Nesta imagem visualizamos que morfologicamente o material obtido foi ligeiramente diferente do obtido na metodologia 1. Basicamente, são agregados similares, porém menores. Enquanto os agregados da metodologia 1 tendiam a uma forma esférica, os da metodologia 2 não apresentam forma definida, sendo caracterizados como agregados de partículas irregular. Esta diferença ocorreu devido a prata impedir o crescimento de partícula.

Nesta metodologia também não foi possível identificar prata, indício de que esta permaneceu nanométrica após a imersão e a calcinação, se mantendo dentro da rede cristalina do material.

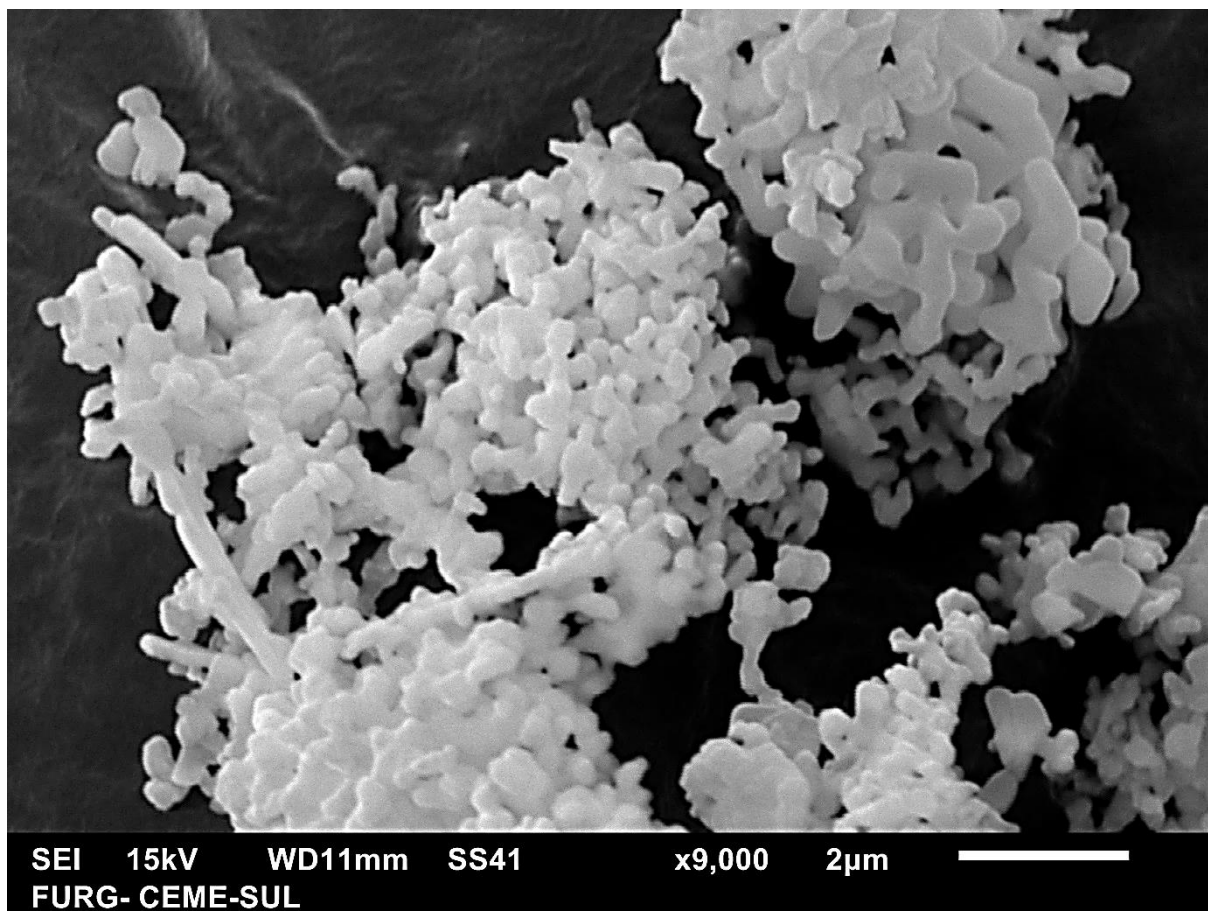


Figura 23 – Micrografia da HA dopada e calcinada, metodologia 2.

3.2.2 – EDX

Com o auxílio da técnica de espectroscopia de fluorescência por energia dispersiva, foi possível comprovar que os métodos de imersão utilizados na dopagem dos materiais com prata foram eficientes, uma vez que em todas as amostras testadas, para ambas as metodologias, foram observadas a presença deste elemento na composição elementar. Na tabela 3, resultados para metodologia 1, e tabela 4, resultados para metodologia 2, podemos observar um comportamento muito similar nos resultados em ambos os métodos, indicando que ambos os materiais utilizados, β -TCP e HA deficiente em cálcio, apresentam o mesmo potencial de absorção de íons metálicos. Nos resultados foi possível analisar também que o processo de lavagem e calcinação não foi capaz de remover o cloro em sua totalidade. Para contornar isto, um reagente alternativo pode ser utilizado, como o nitrato de cálcio, pois os excedentes de reação formado (NO_x) são mais facilmente removidos no processo de

queima. Vale ressaltar aqui que estes resultados não confirmam a presença da prata em dimensão nanométrica, apenas a presença de íons de prata, podendo estes estarem presente em dimensões micrométricas ou ainda em grandes aglomerados. E que os resultados obtidos pelo equipamento utilizado são qualitativos, com aproximações quantitativas, pois o mesmo não tem poder de quantificar com precisão os elementos presentes. Sendo assim, esta análise serviu apenas para validar o método de dopagem, mostrando que a prata das soluções testadas consegue ser absorvida pelo β -TCP e pela HA deficiente em cálcio pelo método de imersão proposto.

Tabela 3 – Análise de composição química das amostras da metodologia 1.

Amostra	% Ag	%Cl
sol1	7,459	4,748
sol2	4,272	5,338
sol3	2,223	5,380
sol4	0,997	6,740
sol5	0,579	6,474

Tabela 4 – Análise de composição química das amostras da metodologia 2

Amostra	% Ag	%Cl
sol1	8,526	--
sol2	2,778	5,338
sol3	1,499	4,045
sol4	1,063	4,312
sol5	0,594	3,429

3.2.3 – DRX

Com o auxílio da análise de difração por raio-x, foram identificadas as fases formadas nos materiais obtidos. Na Figura 24, observamos os difratogramas para a hidroxiapatita deficiente em cálcio, e para o β -TCP obtidos pelo processo de precipitação e posterior calcinação. No gráfico, podemos observar a formação do β – TCP após o tratamento térmico realizado na hidroxiapatita deficiente em cálcio. Neste material, foram identificados fases de β -TCP(fase majoritária), α -TCP e β -pirofosfato de cálcio(fases minoritárias). A pureza total do β -TCP não foi alcançada por este

através de comparação dos picos encontrados com os picos das seguintes fichas cristalográficas: JCPDS 09-169 para o β -TCP, JCPDS 09-346 para o beta pirofosfato de cálcio, JCPDS 09-0348 para o α -TCP e JCPDS 04-783 para as nanopartículas de prata.

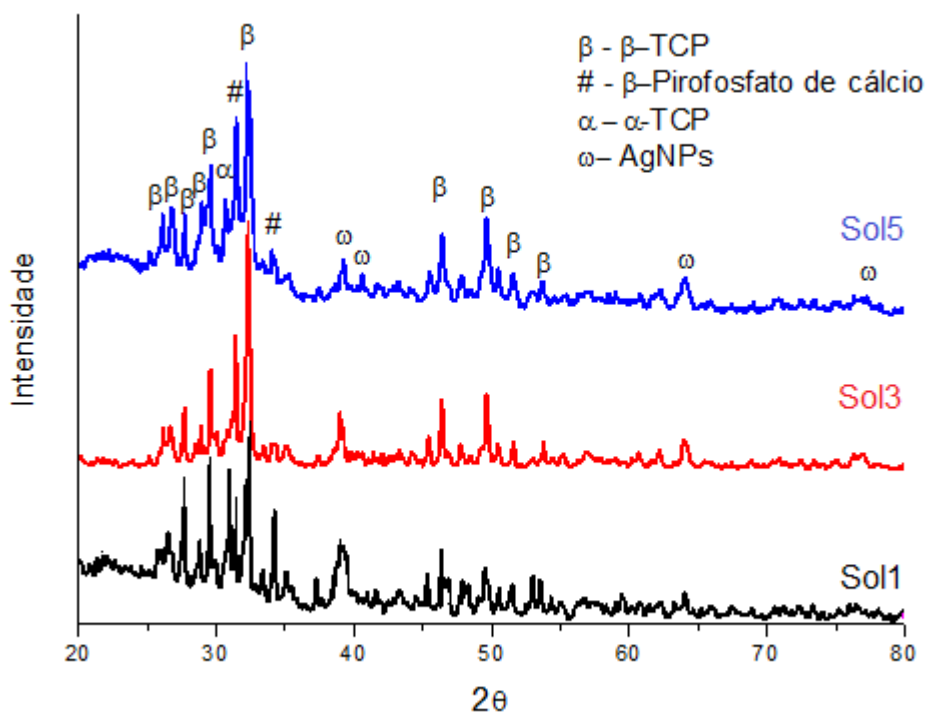


Figura 25 – Difratoograma de raio-x comparativo entre β -TCP dopado com AgNPs da metodologia 1 em diferentes soluções.

O mesmo padrão e as mesmas fases foram encontradas na difração para a metodologia 2, como podem ser observadas na Figura 26, que mostra os difratogramas obtidos nas análises das amostras sintetizados com as mesmas soluções (Sol 1,3 e 5). Isto é um indício de que o material pode ser obtido por ambas as metodologias, sem alterações significativas nas fases obtidas no processo de dopagem com β -TCP ou HA deficiente em cálcio.

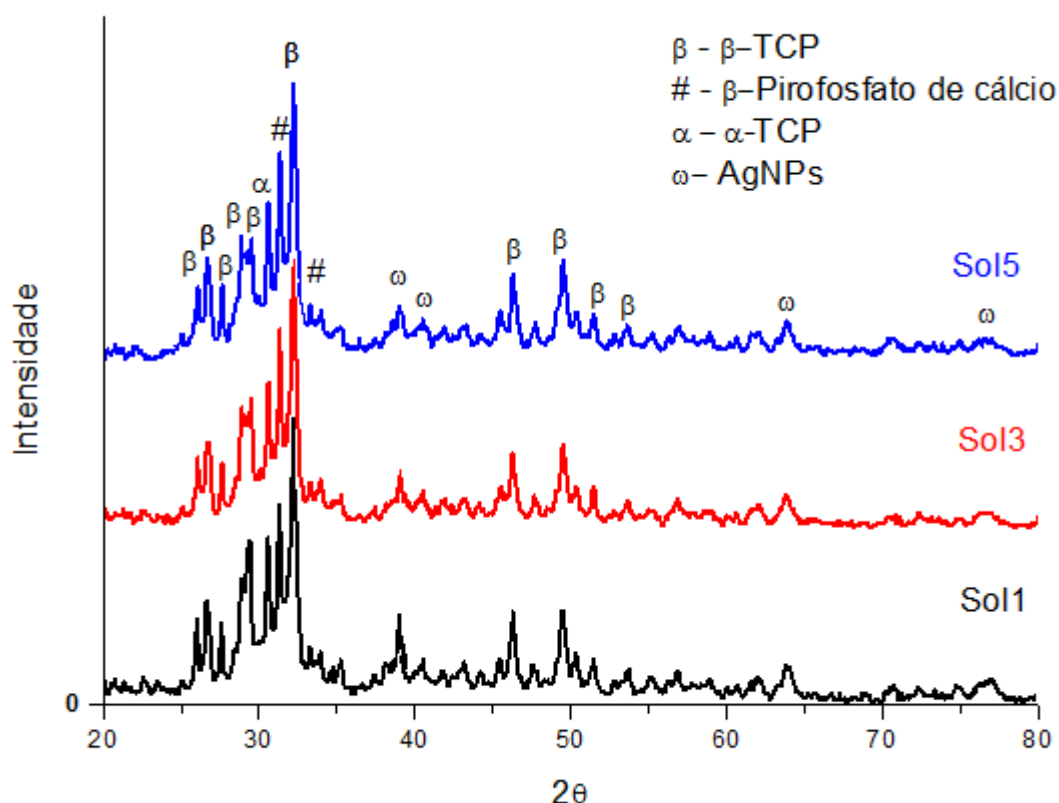


Figura 26 – Difratoograma de raio-x comparativo entre β -TCP dopado com AgNPs da metodologia 1 em diferentes soluções.

3.2.4 – UV-Vis

As soluções de nanopartículas de prata foram analisadas por espectrofotometria na região do ultravioleta – visível, na faixa de comprimento de onda entre 300 e 600 nm. Nesta análise, foi avaliado o comprimento de onda da banda plasmônica das AgNPs, que deve ser observada na região de 350-450 nm, para que comprove a obtenção da prata em dimensões nanométricas (NETO, 2010). Este comprimento de onda pode variar nesta faixa, pois depende do quanto as nanopartículas estão agregadas, de sua morfologia e tamanho das nanopartículas obtidas. Sendo assim podemos observar em todos espectros obtidos para as soluções de nanopartículas de prata (Figuras 27, 28 e 28), que as absorbâncias das soluções ficam menores com o decréscimo na concentração de prata nas soluções produzidas por diluição da solução originária (S5) da síntese proposta.

Para avaliar qual metodologia foi mais eficiente na absorção de nanopartículas de prata, foi realizada a caracterização comparando as soluções após as 2 horas do processo de imersão das metodologias 1 e 2 com as soluções padrões (Sol 1, 3, e 5).

Na Figura 27 podemos constatar que quando comparada a absorção de AgNPs pelas metodologias 1 e 2, percebemos que a metodologia 1, que utiliza o β -TCP na dopagem se mostrou mais eficiente, pois ocorreu uma maior redução do pico de absorbância das AgNPs, indicando que uma maior quantidade de nanopartículas foi removida da solução.

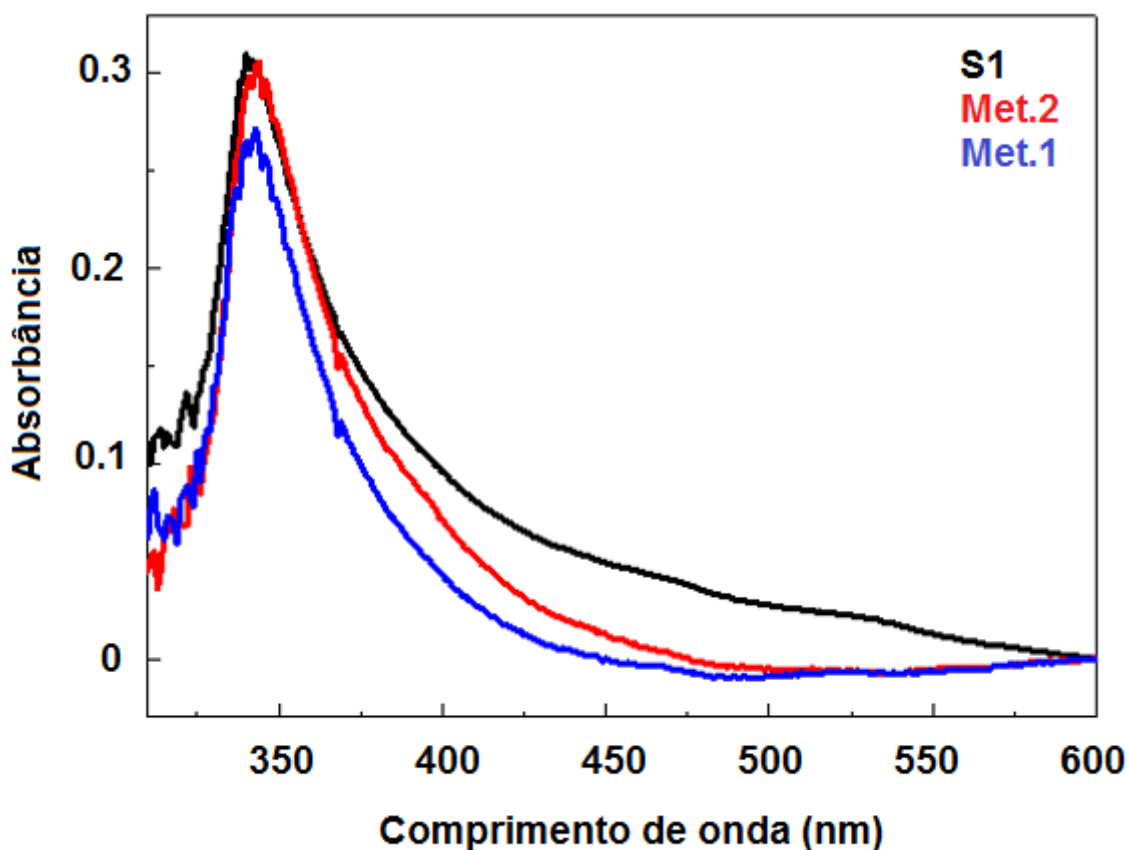


Figura 27 – Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 1.

O mesmo ocorre para a solução 3 e 5, onde o pico de absorbância da prata sofreu maior redução para metodologia 1 em ambos casos, como podemos observar nas Figuras 28 e 29.

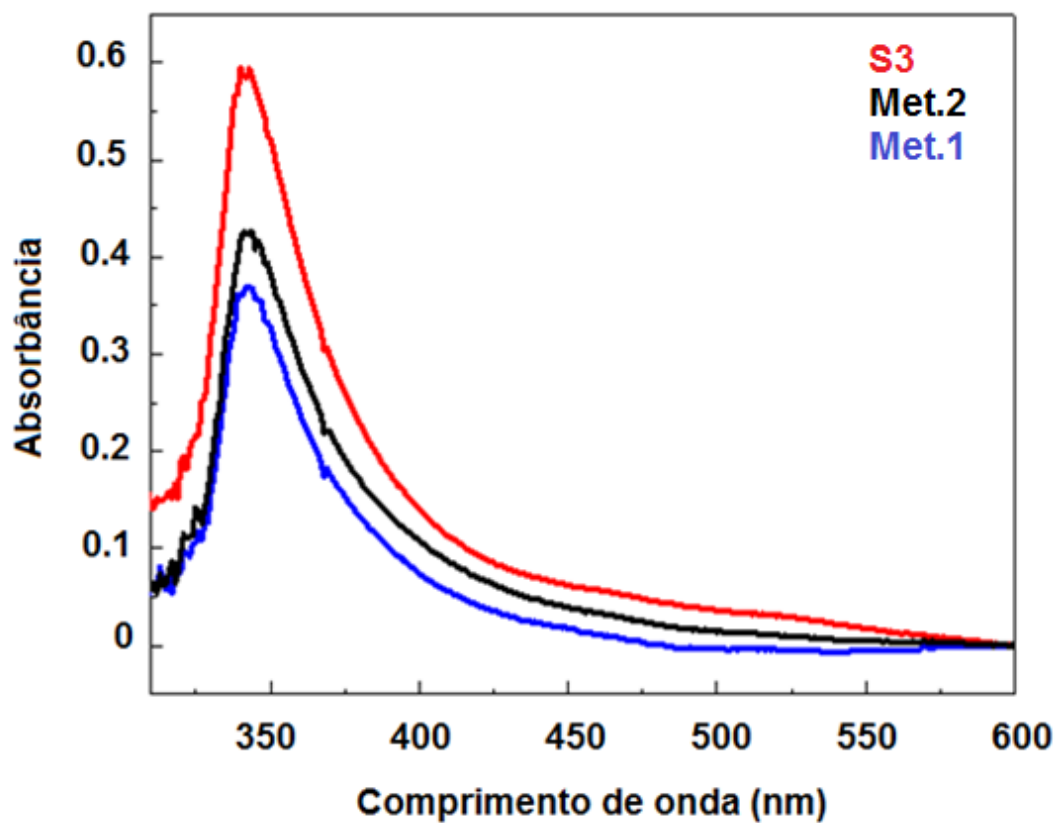


Figura 28 – Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 3.

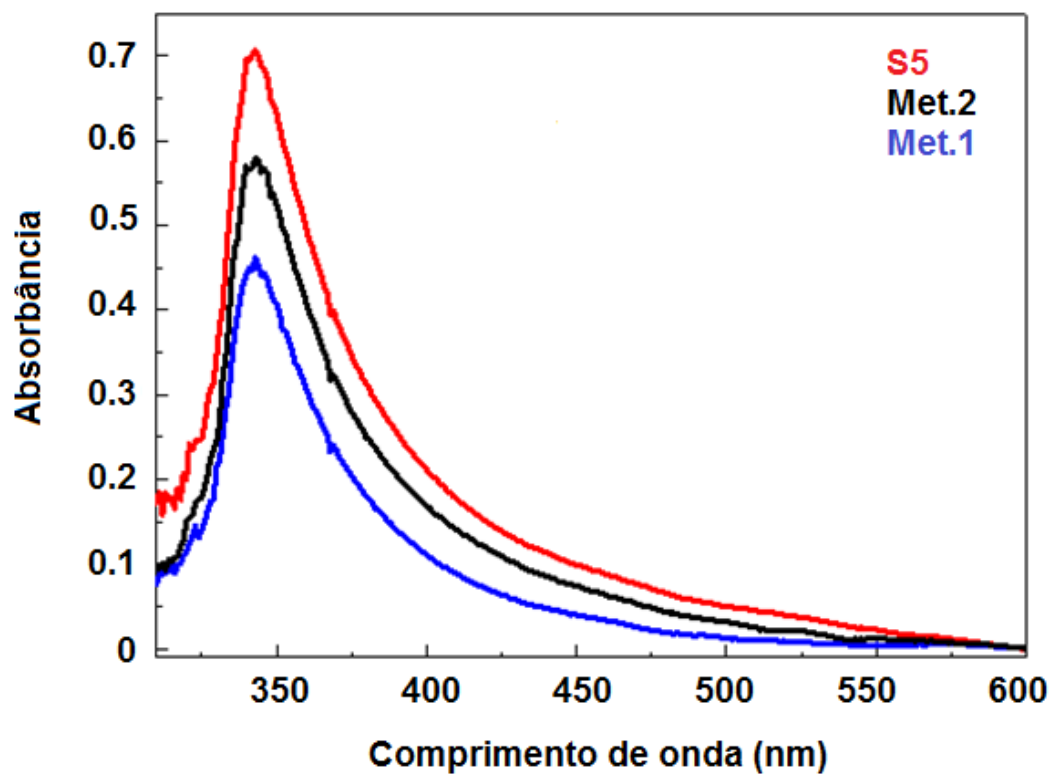


Figura 29 – Gráfico do espectro UV-Vis do processo de absorção da metodologia 1 e 2 para a solução 5.

Assim, conclui-se que o β -TCP mostra-se mais eficiente, com um maior poder de absorção de nanopartículas do que a hidroxiapatita deficiente em cálcio. Este fenômeno ocorre, pois a HA não passou por um processo de tratamento térmico, que possibilitaria a consolidação das ligações químicas, sendo assim, de certa forma é um composto menos estável e logo, está menos propício a dopagem por absorção, adsorção ou troca iônica entre íons de prata e cálcio. Outro fator que colabora para este resultado é a questão morfológica, uma vez que a HA não mostra morfologia definida o que deixa sua área superficial mais baixa, quando comparado com o β -TCP, como pode-se observar nas imagens de microscopia.

4 Conclusões

O método de precipitação proposto se mostrou apto à obtenção de compostos de β -TCP, mesmo com presença de algumas fases não desejadas, pois ambas (α -TCP e pirofosfato de cálcio), são fosfatos de cálcio, o que não impede a utilização do material na aplicação proposta. O mecanismo de dopagem se mostrou simples, e muito eficiente para ambas às metodologias testadas, sendo que a metodologia 1 mais eficiente no processo de dopagem. Quanto ao material obtido, podemos concluir que através das caracterizações realizadas, que se trata de um material muito promissor, pois é morfológicamente um agregado de partículas muito pequenas, dopado com nanopartículas de prata. Este fato permite que o material seja mais facilmente incorporado a materiais resinosos, sem que perca suas propriedades e vantagens do pequeno tamanho de suas partículas. Quanto a obtenção em maiores escalas para aplicação industrial, esta metodologia mostra-se muito viável, uma vez que se utiliza de processos simples e de reagente acessíveis e de baixo custo, viabilizando assim o desenvolvimento de produtos com esta tecnologia.

Referências

ALBREKTSSON T. JOHANSSON C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. **Competência:** Eur SpineJ. 2001; v.10, p. 96-101, 2001.

ANDRADE, Flávio Augusto Cavadas. **Desenvolvimento de hidroxiapatita contendo nanopartículas de prata com propriedades antibacterianas**. 2013. 119 f. Dissertação (Mestrado em Bioengenharia) - Bioengenharia, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

BLEICHER, L.; SASAKI, J. M. **Apostila: introdução à difração de raios X em cristais**. Universidade Federal do Ceará, Ceará, 2000.

BEOLCHI, Rafael da Silva. **Adição de complexo vitamínico em duas biocerâmicas e seu efeito na regeneração óssea**. 2009. 82 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Nuclear - Materiais) - Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

BERTÉ, Rodrigo. **Síntese e caracterização de nanopartículas de prata conjugadas com peptídeos antimicrobianos**. 2013. 104f. Dissertação (Mestrado em Física Aplicada) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2013.

CABALA, Guillermo van Erven. **Desenvolvimento de filtros cerâmicos impregnados com nanopartículas de prata para desinfecção de água para consumo humano contaminada com bactéria fecal**. 2013. 132f. Dissertação (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) - Programa de Pós Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

CALLISTER, Jr., William D., **Ciência e Engenharia de Materiais: uma introdução**; 7 ed. Rio de Janeiro, LTC, 2008.

CHAMAKURA, K. et al. Comparison of bactericidal activities of silver nanoparticles with common chemical disinfectants. **Competência:** Colloids and Surfaces B: Biointerfaces. V.84; p 88-96, 2011

CUNHA, Mateus Araújo. **Síntese e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada obtidas por aspersão de soluções em chama**. 2010. 60p. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia de materiais) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. Fosfato de cálcio de interesse biológico: Importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Competência:** Química Nova, v.33, 7p. 1352-1358, 2010.

LEE, P. C.; MEISEL, D. J. Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. **Competência:** Phys. Chem. v 86, p 3391-3395, 1982.

LEE, S. H. D.; PAI, Y.; CHANG, S. Effect of pH control of mixture solution on the fabrication of the highly pure B-tricalcium phosphate powders synthesized by liquid-solid mixture precipitation method. **Competência:** Materials Letters, v. 102-1, p 76-79, 2013.

LOK, C.N. et al. Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles. **Competência:** Journal of Proteome, v. 5 (4), p 916–924, 2006.

LOPES, Renata Pereira. **Estudo de processos alternativos para a degradação de compostos de relevância ambiental com monitoramento dos produtos formados por Espectrometria de Massas com Fonte de Ionização Electrospray (ESI-MS).** 2008. Dissertação (Mestrado em Química) – Faculdade de Química, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte - MG, 2008.

MUNRO, C. H. et al. Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering. **Competência:** Langmuir. V11, 3712-3720, 1995.

NETO, Elias Antônio Berni. **Desenvolvimento de nanobiocompósitos contendo nanopartículas de prata para aplicações bactericidas.** 2010, 112f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Instituto de Física, Universidade de São Paulo, São Carlos - SP, 2010.

ORÉFICE, Rodrigo Lambert.; PEREIRA, Marivalda Magalhães; MANSUR, Sander Herman. **Biomateriais Fundamentos & Aplicações.** 1 ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 537 p

RIBEIRO, Christiane. **Processamento e caracterização de cerâmicas à base de hidroxiapatita e fosfato-tricálcico.** 2003, 112p. Dissertação de mestrado (Ciências na área de tecnologia nuclear-materiais) – IPEN, Associado à Universidade de São Paulo, São Paulo-SP, 2003.

RODRIGUES, C. V. M. et al. Characterization of a bovine collagen-hydroxyapatite composite scaffold for bone tissue engineering. **Competência:** Biomaterials, v. 24, p. 4987- 4997, 2003.

SILVA, Antônio L. C. M. da et al. SPR biosensors based on gold and silver nanoparticle multilayer films. **Competência:** J. Braz. Chem. Soc., v. 25, p 928-934, 2014.

YIN. H et al. Large-scale and size-controlled synthesis of silver nanoparticles under microwave irradiation. **Competência:** Materials Chemistry and Physics, v.83 p. 66–70, 2004.