



**Universidade de
Aveiro
2012**

Departamento de Engenharia de
Materiais e Cerâmica

**Micael dos Santos
Nascimento**

**Atividade eletromecânica da
hidroxiapatite para a regeneração óssea**



**Universidade de
Aveiro
2012**

Departamento de Engenharia de
Materiais e Cerâmica

**Micael dos Santos
Nascimento**

**Atividade eletromecânica da
hidroxiapatite para a regeneração óssea**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Materiais e Dispositivos Biomédicos, realizada sob a orientação científica da Dra. Paula Vilarinho e da Dra. Helena Fernandes, ambas Professoras Associadas do Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro

o júri

Presidente	Professor Doutor Rui Ramos Ferreira e Silva, Professor Associado, Universidade de Aveiro
Vogal – Arguente Principal	Doutora Paula Alexandrina de Aguiar Pereira Marques, Equiparada a Investigadora Auxiliar, Universidade de Aveiro
Vogal - Orientador	Professora Doutora Paula Maria Lousada Silveirinha Vilarinho, Professora Associada, Universidade de Aveiro
Vogal – Co-Orientador	Professora Doutora Maria Helena Figueira Vaz Fernandes, Professora Associada, Universidade de Aveiro

“Não há mestre que não possa ser aluno.”

Baltasar Gracián

Aos meus pais e irmão

Ao meu afilhado Rafael

À Daniela Lopes

agradecimentos

A realização deste trabalho apresentado nesta dissertação não seria possível sem a colaboração de algumas pessoas, a quem eu quero deixar gravado o meu sincero OBRIGADO!

Agradeço em particular às minhas orientadoras, Dra. Paula Vilarinho e Dra. Helena Fernandes por terem proposto este tema, pela disponibilidade, apoio, incentivo e confiança que sempre me demonstraram.

Grato também estou à Nathalie Barroca e ao Sebastian Zlotnik pela imensa ajuda prestada para a realização deste trabalho, pela sua disponibilidade, apoio e conselhos prestados, sem os quais, tudo se tornaria muito mais complicado e difícil.

Aos meus amigos feitos graças a este mestrado, Diogo Corrente, Mariana Marinho, Cristina Mesquita, Pedro Félix, Ana Pires, Sandra Correia, Gonçalo Castro e Isabel Abreu, pelo apoio e amizade demonstrados ao longo destes dois anos de muito estudo e fraternidade.

Aos também meus amigos, Diana Lopes, Ana Pedrosa, André Fernandes, Rui Gonçalves, Júlio Santos, Andreia Pereira, Maximiliano Castro, Vânia Pôjo, Sara Pereira, Diana Cabeleira e Maria João Gonzalez, pela paciência, apoio e momentos de felicidade proporcionados.

Especial agradecimento à Daniela Lopes, pelo carinho, amizade e acima de tudo pelo sincero amor demonstrado ao longo desta feliz caminhada que estamos a traçar juntos.

Sobretudo aos meus pais pela ajuda, força e amor.

Palavras-chave

regeneração óssea; hidroxiapatite; cerâmicos; filmes finos; sol gel; propriedades dielétricas; piezoelectricidade.

Resumo

O interesse pela aplicação de biomateriais para substituição e regeneração óssea aumentou significativamente na última década. A hidroxiapatite [HAp; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] é considerada um dos biomateriais mais promissores, devido à sua biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade. O osso exibe um comportamento piezoelétrico e, como tal, desenvolve carga elétrica sob a aplicação de tensão mecânica e vice-versa, pensando-se que tal comportamento influencia a atividade de formação óssea. As propriedades elétricas da HAp preparada na forma de monolítico e na forma de filme fino têm sido estudadas nos últimos anos. Neste âmbito, foi referido que a HAp não apresenta resposta piezoelétrica. No entanto recentemente um coeficiente piezoelétrico d_{33} foi reportado para filmes finos de HAp preparados pelo método sol gel. Perante esta aparente contradição pretende-se com este trabalho averiguar a existência de atividade piezoelétrica em monolíticos de HAp e comparar a sua resposta com a dos filmes finos, com o objetivo de contribuir para o esclarecimento destas diferenças de comportamento. Assim, prepararam-se monolíticos de HAp por prensagem uniaxial de pós através da mistura convencional de óxidos, seguido de uma caracterização morfológica por SEM, caracterização estrutural por DRX e caracterização dielétrica através da medição de permitividade dielétrica, perdas dielétricas, resistividade elétrica e coeficiente piezoelétrico d_{33} . Cerâmicos com densidade final de 96% apresentaram valores de permitividade dielétrica de 13, perdas dielétricas de 0,6 e uma resistividade elétrica na ordem dos $10^{11}\Omega\text{m}$ para a frequência de 1MHz. Estes monolíticos apresentaram comportamento piezoeletrico nulo ($d_{33}= 0 \text{ pC/N}$). Replicou-se a metodologia reportada na literatura relativa à preparação de filmes finos de HAp por sol gel, nos quais se mediu pela primeira vez um coeficiente piezoelétrico d_{33} . A caracterização estrutural por DRX do filme fino obtido mostrou que o mesmo se apresentou sempre amorfo, não se conseguindo assim a sua caracterização dielétrica, contrariando o que é reportado na literatura relativamente à existência de um coeficiente piezoelétrico em filmes finos de HAp. Assim, concluiu-se que será necessário um estudo mais aprofundado e uma pesquisa mais criteriosa sobre a possibilidade de actividade piezoelétrica da HAp. No estágio actual de conhecimento parece assim razoável continuar a admitir-se que o comportamento piezoelétrico exibido pelo osso deve ser fundamentalmente atribuído à presença das fibras de colagénio e não da fase inorgânica de hidroxiapatite.

Keywords

bone regeneration; hidroxyapatite; piezoelectricity; sol gel; dielectric properties; thin films.

Abstract

The interest on biomaterials for bone replacement and regeneration has increased significantly in the last decade. Hydroxyapatite [HAp; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$] is considered one of the most promising biomaterials due to its biocompatibility, bioactivity and osteoconductivity. The bone displays a piezoelectric behavior and therefore develops electric charges under the application of mechanical stress. This behavior influences the activity of bone formation. The electrical properties of HAp prepared as monolithic materials or as thin films have been studied in recent years. In this context, it has been referred that no piezoelectric response is exhibited by HAp. However a piezoelectric coefficient d_{33} has recently been reported for HAp thin films prepared by the sol gel method. The purposes of the present work is to ascertain the existence of piezoelectric activity in bulk HAp and compare its response with the one exhibited by HAp thin films aiming to contribute for the understanding of those apparently contradictory behaviors. HAp as monolithic material was prepared by uniaxial pressing of powders produced by conventional mixing of oxides. Morphological characterization was assessed by SEM, crystalline phases were identified by XRD and for the dielectric characterization measuring of dielectric permittivity, dielectric losses, electrical resistivity and piezoelectric coefficient d_{33} were performed. Ceramics with final density of 96% exhibited a dielectric permittivity of 13, dielectric losses of 0,6 and electrical resistivity around $10^{11}\Omega\text{m}$ for 1MHz frequency. No piezoelectric behaviour ($d_{33}= 0 \text{ pC/N}$) was found in these HAp monolithics. The next step in this work was to replicate the methodology reported in the literature on the preparation of HAp thin films by the sol gel technique aiming to measure a piezoelectric coefficient d_{33} , as reported for the first time in the literature for HAp in film. Contrarily to what is claimed in the literature the obtained HAp thin films were essentially amorphous for all heat treatments performed and no reliable dielectrical characterization was achieved.

Thus, it was concluded that a deeper study and a more thorough research on the possibility of piezoelectric activity of HAp should be carried out. At the present stage of knowledge it seems reasonable to assume that the piezoelectric behavior exhibited by the bone might be primarily attributed to the presence of collagen fibers rather than to its inorganic phase - HAp.

Índice

Lista de Símbolos e Acrónimos	I
Índice de Figuras	II
Índice de Tabelas	IV
Enquadramento, Objetivos e Estrutura da Dissertação	VI
Capítulo I - Estado de Arte	1
I.1 O Osso	3
I.2 Piezoelectricidade	5
I.2.1 Piezoelectricidade óssea	7
I.3 Hidroxiapatite (HAp)	8
I.3.1 Propriedades dielétricas da HAp	12
I.4 Âmbito da dissertação	15
Capítulo II - Materiais e Métodos	23
II.1 Preparação de monolíticos e filmes finos	25
II.1.1 Preparação de monolíticos de HAp	25
II.1.2 Preparação de filmes finos	26
II.2 Caracterização dos monolíticos e filmes finos obtidos	29
II.2.1 Caracterização morfológica e estrutural	29
II.2.1.1 Distribuição do tamanho de partículas e BET	29
II.2.1.2 Termogravimetria (TG)	29
II.2.1.3 Difração de Raios-X (DRX)	29
II.2.1.4 Microscopia Eletrónica de Varrimento (SEM)	30
II.2.2 Caracterização dielétrica	31
II.2.2.1 Resistividade elétrica (Ω)	34
II.2.2.2 Permittividade dielétrica (ϵ)	34
II.2.2.3 Perdas dielétricas ($\tan \delta$)	35
II.2.2.4 Coeficiente piezoelétrico d_{33}	35
Capítulo III - Resultados e Discussão	39
III.1 Caracterização morfológica, estrutural e dielétrica de monolíticos de HAp	41
III.1.1 Caracterização morfológica e estrutural	41

III.1.2 Caracterização dielétrica	46
III.1.2.1 Resistividade elétrica vs frequência.....	46
III.1.2.2 Permittividade dielétrica vs frequência.....	48
III.1.2.3 Perdas dielétricas vs frequência	49
III.1.2.4 Coeficiente piezoelétrico.....	50
III.2 Caracterização morfológica, estrutural e dielétrica dos filmes finos de HAp	51
III.2.1 Caracterização morfológica e estrutural	51
Capítulo IV - Conclusões e Perspetivas Futuras	57
Referências bibliográficas	61

Lista de Símbolos e Acrônimos

AFM: <i>Atomic Force Microscope</i>	θ : Ângulo que o raio incidente faz com os planos de reflexão
ASE: Área Superficial Específica	d^* : Distância entre os planos cristalográficos
BET: <i>Brunauer, Emmett e Teller Method</i>	λ : Comprimento de onda do raio-X
Ca/P: Razão cálcio fosforo	D : Vetor deslocamento elétrico
CaO: Óxido de cálcio	ϵ : Permitividade dielétrica
CaOH₂: Dihidróxido de cálcio	d : Coeficiente piezoelétrico
DRX: Difração de Raios-X	T* : Tensão mecânica
DSC: <i>Differential Scanning Calorimetry</i>	S : Deformação
EDS: <i>Energy Dispersive X-Ray</i>	s : Coeficiente elástico
FA: Fluorapatite	e : Coeficiente de pressão piezoelétrico
FTIR: <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>	ρ (Ωm) : Resistividade elétrica
HAp: Hidroxiapatite	ρ : Densidade dos monolíticos
ICP: <i>Inductively Coupled Plasma</i>	ρ_l : Densidade do líquido
PFM: <i>Piezoelectric Force Microscope</i>	P_s : Peso seco
PLD: <i>Pulser Laser Deposition</i>	P_i : Peso imerso no líquido
SEM: <i>Scanning Electron Microscopy</i>	Z* : Impedância
SFM: <i>Spin-flip Model</i>	θ^* : Ângulo de fase
Si: Silício	R : Resistência
TCP: Fosfato Tricálcio (α , β)	C_p : Capacitância
TEA: Trietanolamina	t : Espessura do monolítico
TEM: <i>Transmission Electron Microscopy</i>	ϵ_0 : Permitividade do vácuo ($8,854 \times 10^{-12} \text{ F.m}^{-1}$)
TEP: Trietil fosfato	A : Área do eletrodo
TFA: Trifluoracético	D* : Diâmetro dos eletrodos
TG: Termogravimetria	$\tan \delta$: Perda dielétrica
XPS: <i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i>	P : Polarização
T : Temperatura	X : Tensão
E : Campo elétrico	Hz : Frequência

Índice de Figuras

Figura 1 - Os dois principais constituintes do osso são o colagénio tipo I e a hidroxiapatite (adaptado de Completo, 2010).....	4
Figura 2 - Organização do osso compacto (Kryszewski M., 2004).	4
Figura 3 - a) Na remodelação óssea os osteoclastos precedem os osteoblastos. b) Na modelação óssea a reabsorção e a formação ocorre em diferentes locais. (adaptado de Erikson <i>et al.</i> , 1984)5	5
Figura 4 - Efeito piezoelétrico: a) direto ou gerador b) inverso ou motor (www.bostonpiezooptics.com/?D=6, em 25/05/12).....	6
Figura 5 - Reabsorção e crescimento ósseo em resposta à aplicação de uma carga mecânica (www.easyheight.com/proof_remodel2.jpg em10.12).....	7
Figura 6 - Número de artigos nos últimos 12 anos sobre o estudo da aplicabilidade da HAp para a regeneração óssea (<i>in sciencedirect</i>).	9
Figura 7 – a) Estrutura cristalina hexagonal da HAp (plano ac), b) Estrutura cristalina hexagonal da HAp (plano ab) (adaptado de Meza, 2010).	11
Figura 8 - Estrutura cristalina monoclinica da HAp (adaptado de Zahn, 2008)	11
Figura 9 – Anomalia dielétrica próxima dos 210°C (adaptado de Toshiyuki, 1999).	12
Figura 10 – Transição de fase próxima dos 210°C (adaptado de Tofail <i>et al.</i> , 2005).....	13
Figura 11 - Deposição de eléctrodos de ouro por evaporação sobre os discos de HAp sinterizados.32	32
Figura 12 – Amostras obtidas após a colocação dos eléctrodos. a) monolítico com eléctrodo de prata, b) monolítico com eléctrodo de ouro.	32
Figura 13 - Ilustração da configuração utilizada na medição da resposta eléctrica dos monolíticos de HAp.....	33
Figura 14 - Câmara de corona/ gaiola de <i>Faraday</i>	33
Figura 15 – A perda dielétrica é dada pelo valor da tangente do ângulo δ (www.rfcafe.com/references/electrical/dielectric-constants-strengths.htm em 01.13)	35
Figura 16 - Direções tensoriais i e j para definição das relações constitutivas do comportamento piezoelétrico (adaptado de Zhang, 2001).	36
Figura 17 - d_{33} Meter APC YE2730A com porta-amostras. O porta-amostras é composto pelos contactos que controlam a força e frequência da força aplicada (contacto 1) e o sinal eléctrico obtido nos terminais das pontas de prova (contacto 2).....	37
Figura 18 - Distribuição do tamanho de partícula do pó sintético de HAp.	41
Figura 19 - Micrografia do pó sintético de HAp obtida no SEM.	42
Figura 20 - TG do pó sintético de HAp.....	42

Figura 21 - Difractogramas obtidos do monolítico de HAp e do pó sintético.....	43
Figura 22 - Micrografias em SEM do monolítico de HAp após tratamento térmico a 1200°C.....	44
Figura 23 - EDS do monolítico de HAp na região da amostra assinalada.	45
Figura 24 - Resistividade elétrica vs frequência para o monolítico de densidade de 91,7%	46
Figura 25 - Resistividade elétrica vs frequência para o monolítico de densidade de 96,5%	47
Figura 26 – Permittividade dielétrica vs frequência para os monolíticos de densidade de 96,5% e 91,7%.	48
Figura 27 – Perdas dielétricas vs frequência para os monolíticos de densidade de 96,5% e 91,7%.	49
Figura 28 - Difractogramas do pó obtido para a experiência 9 a diferentes temperaturas de calcinação.	52
Figura 29 - Micrografia por SEM da secção transversal do filme fino obtido com duas camadas de deposição sobre o substrato de silício.	53
Figura 30 – Difractogramas comparativos dos resultados dos filmes finos obtidos por Lang <i>et al.</i> , 2011 e do filme obtido neste estudo. Um filme amorfo resultou para as mesmas condições experimentais. (*)Substrato de silício.	54
Figura 31 – Difractogramas comparativos dos resultados obtidos para as diferentes temperaturas de recozimento utilizadas na preparação dos filmes finos a partir da solução estável. Todos os difractogramas foram realizados com um ângulo rasante de 3°. (*) Substrato de silício.	55

Índice de Tabelas

Tabela 1 - Resumo dos resultados obtidos das propriedades dielétricas em monolíticos de HAp sintética.	16
Tabela 2 - Resumo do processamento de filmes/pós de HAp pelo método sol-gel reportado na literatura.....	16
Tabela 3 - Condições de preparação de filmes finos de HAp por sol-gel estudadas neste trabalho.	28
Tabela 4 - Coeficientes piezoelétricos d_{33} obtidos para os monolíticos de HAp em função do campo elétrico aplicado e do tempo de polarização. Em qualquer das situações experimentais o valor do d_{33} foi nulo.	50

Preâmbulo

“O aumento da esperança média de vida nos países desenvolvidos, da percentagem da população com idade superior a 65 anos e o aumento da colocação de próteses em indivíduos mais jovens previsivelmente provocará um grande incremento de artroplastias de substituição, o que aumentará a necessidade das revisões das próteses” (Weller & Kunz, 2007).

“A possibilidade de estimulação elétrica da HAp aquando da sua implantação, têm feito da investigação das propriedades físico-químicas deste biomaterial uma minuciosa e importante tarefa” (Zakharov & Orlovskii, 2001).

Enquadramento, Objetivos e Estrutura da Dissertação

Enquadramento, Objetivos e Estrutura da Dissertação

O incessante interesse pela aplicação de biomateriais para substituição e regeneração óssea tem vindo a aumentar significativamente na última década.

Recentemente, as propriedades elétricas da hidroxiapatite ganharam interesse por causa da possibilidade de manipular eletricamente a sua carga superficial.

A hidroxiapatite [HAp; $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$], principal constituinte da parte inorgânica do osso, é considerada um dos biomateriais mais promissores, devido à sua biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade.

O osso exibe um comportamento piezoelétrico, associado às fibras de colagénio nele presente e, como tal, desenvolve carga elétrica sob a aplicação de tensão mecânica, pensando-se que tal comportamento influencia a atividade de formação óssea. Em alguns estudos tem sido investigada a possibilidade de estimular eletricamente o processo de regeneração óssea através do efeito de cargas elétricas aplicadas à HAp. Demonstrou-se recentemente que criando uma carga residual permanente na HAp, é possível melhorar a proliferação celular e a resposta das células envolventes ao material, permitindo uma melhor integração e cicatrização do implante.

As propriedades elétricas da HAp preparada na forma monolítica e de filmes finos têm sido estudadas nos últimos anos e a possibilidade de este biomaterial exibir piezoelectricidade nestas duas formas aventada. Neste âmbito a literatura refere para cerâmicos de HAp com uma simetria hexagonal ($P6_3/m$) ou monoclinica ($P2_1/b$) uma atividade piezoelétrica nula.

Mais recentemente, *Lang et al*, (2011), reportaram pela primeira vez a existência de piezoelectricidade em filmes finos de HAp preparados por sol gel em substratos de silício, com valores de $d_{33}=16\text{pC/N}$. Estes últimos resultados levantam de imediato uma questão: Há ou não resposta piezoelétrica intrínseca na HAp?

Para além do esclarecimento da diferença de comportamento entre a HAp na forma monolítica e a HAp na forma de filme fino, a verificar-se a possibilidade de ambos os componentes do osso, colagénio e HAp exibirem comportamento piezoelétrico, ficam abertos inúmeros caminhos para o desenvolvimento de soluções capazes de acelerar a regeneração óssea. Em particular, no caso da HAp poderá ser possível a sua utilização como filme em superfícies de próteses, por exemplo na prótese da anca, de modo a

promover a sua integração local e, contribuir assim para a redução da taxa de rejeição verificada nestes implantes ósseos.

Pretende-se assim com este trabalho averiguar a existência de atividade piezoelétrica em monolíticos de HAp e comparar a sua resposta com a de filmes finos de HAp, com o objetivo de compreender o seu comportamento elétrico e contribuir para o esclarecimento das diferenças reportadas.

O presente trabalho é resultado de investigação conduzida no Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro. Esta tese encontra-se estruturada em quatro capítulos. O CAPÍTULO I consta de uma introdução geral e de uma revisão ao estado de arte do tema de modo a proporcionar uma compreensão dos conceitos associados a esta temática e, também dos procedimentos efetuados no decorrer da investigação. No CAPÍTULO II faz-se uma síntese dos procedimentos experimentais utilizados na realização do trabalho e uma breve descrição das técnicas de caracterização utilizadas. O CAPÍTULO III é dedicado à apresentação e discussão dos principais resultados obtidos. E, por último, no CAPÍTULO IV, apresentam-se as conclusões mais relevantes, perspetivando-se algumas futuras investigações na área.

Capítulo I - Estado de Arte

Capítulo I - Estado de arte

I.1 O Osso

O esqueleto, sistema importante para o corpo quer do ponto de vista biomecânico quer metabólico, é constituído por ossos individuais e por tecidos que permitem a ligação entre eles. O osso é o principal constituinte deste sistema e difere dos outros tecidos devido à sua rigidez e dureza. Estas características advêm dos sais inorgânicos impregnados na matriz óssea, consistindo em fibras de colagénio, uma grande variedade de proteínas não-colagénicas e minerais (Vauhan, 1981; Bronner *et al.*, 1999). Esta rigidez e dureza permitem ao esqueleto manter a forma do corpo; proteger os tecidos moles do crânio, as cavidades torácicas e pélvicas; e transmitir a força de contração muscular de uma parte do corpo para outra durante o movimento. A componente mineral do osso serve como depósito de iões, particularmente de cálcio, que também contribui para a regulação da composição do fluido extracelular. O osso é assim um material estrutural auto-reparador, capaz de adaptar a sua massa, forma e propriedades às mudanças mecânicas e metabólicas. O osso é um material anisotrópico, o que quer dizer que oferece graus de resistência e rigidez diferentes em resposta às forças aplicadas em diferentes direções (Gurgel, 2002).

O osso é composto por dois tecidos especializados: o tecido vascular e o tecido calcificado. O tecido vascular é composto pela medula e pelos vasos sanguíneos. A medula constitui o *habitat* para as células hematopoiéticas e para as células estaminais não diferenciadas enquanto os vasos sanguíneos permitem as trocas metabólicas e o tráfego de sinais moleculares para manter a dinâmica da fisiologia do osso (Junqueira e Carneiro, 1999). O tecido calcificado é constituído por uma fase inorgânica (60 a 70% do peso seco), uma fase orgânica (~35%) e água (5 a 8%). A fase inorgânica corresponde a nanocristais de hidroxiapatite (HAp) e a fase orgânica é constituída por nanofibras de colagénio do tipo I (90%), proteínas não colagénicas (10%) e pelas células ósseas (figura 1).

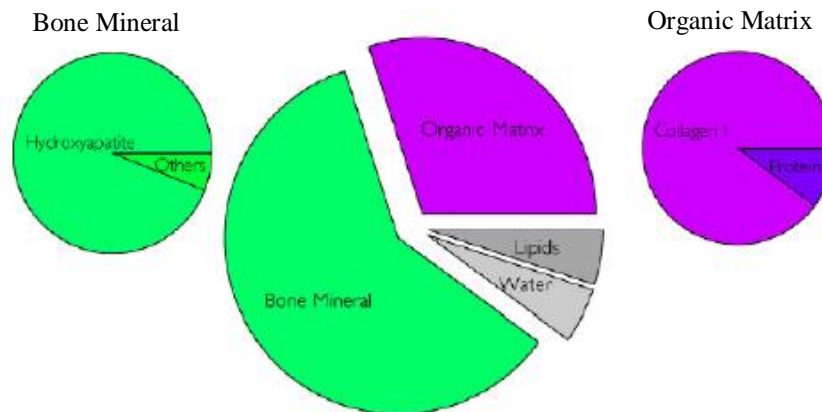


Figura 1 - Os dois principais constituintes do osso são o colagénio tipo I e a hidroxiapatite (adaptado de Completo, 2010).

O colagénio do tipo I, as proteínas não colagénicas e os cristais de HAp formam a “matriz extracelular”, em relação às células ósseas, os osteoblastos, os osteoclastos e os osteócitos são responsáveis pela formação, reabsorção e manutenção do osso, respetivamente. Os cristais de HAp estão como que “embutidos” nas fibrilhas de colagénio (figura 2) (Junqueira e Carneiro, 1999).

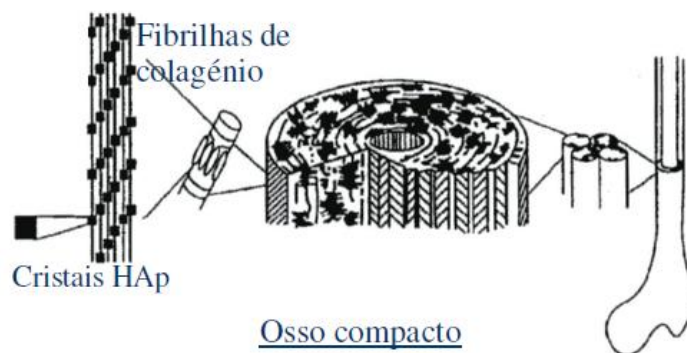


Figura 2 - Organização do osso compacto (Kryszewski M., 2004).

Estas fibrilhas podem estar organizadas de duas formas nos ossos longos: numa direção preferencial como no osso compacto ou em direções mais ou menos aleatórias como no osso esponjoso. O arranjo destas fibrilhas mineralizadas determina a direção e a magnitude das tensões que podem ser suportadas (Junqueira e Carneiro, 1999).

Os estímulos elétricos/mecânicos podem influenciar a regeneração óssea. É pois de extrema importância compreender os processos inerentes à sua regeneração, designadamente no que respeita ao seu: crescimento e remodelação.

A estrutura óssea é dinâmica, ou seja, há continuamente osso novo a substituir osso velho a uma taxa de aproximadamente 10% / ano (Vaananen *et al.*, 2000). Deste modo, os ossos conseguem manter a sua forma enquanto crescem. As causas da remodelação óssea e o seu sistema de controlo permanecem ainda desconhecidos. No entanto, sabe-se que a atividade conjunta dos osteoclastos, principais responsáveis pela reabsorção e dos osteoblastos, principais responsáveis pela formação, possibilitam esta remodelação (figura 3) (Eriksen *et al.*, 1984; Bronner *et al.*, 1999).

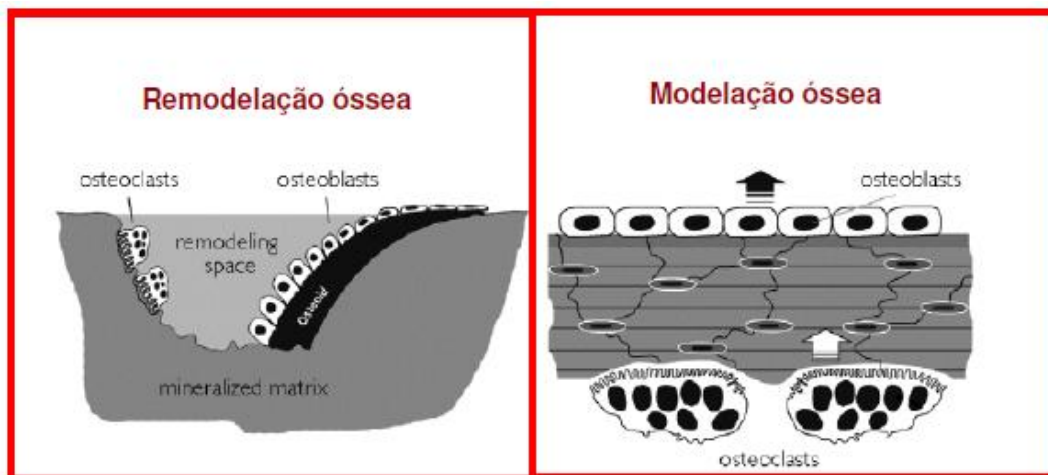


Figura 3 - a) Na remodelação óssea os osteoclastos precedem os osteoblastos. b) Na modelação óssea a reabsorção e a formação ocorre em diferentes locais. (adaptado de Erikson *et al.*, 1984)

I.2 Piezoelectricidade

O efeito piezoelétrico foi demonstrado primeiramente por Pierre Curie quando este verificou que alguns cristais apresentavam um valor de corrente (carga) quando submetidos a tensões mecânicas (Sessler, 1987).

Se em condições de campo elétrico nulo uma força mecânica provocar o desenvolvimento de cargas elétricas num isolador (polarização), estes materiais são chamados de piezelétricos. A piezoelectricidade é a capacidade de certos materiais desenvolverem uma carga elétrica proporcional a uma tensão mecânica aplicada ou vice-versa (Vilarinho, 2005).

Num piezoelétrico a magnitude da polarização depende da magnitude da tensão aplicada e o sinal da carga produzida depende do tipo de tensão aplicada (tração ou compressão). A polarização gerada a partir de uma tensão mecânica é chamado de efeito direto ou gerador (figura 4a), enquanto o efeito inverso ou motor está associado à deformação mecânica derivada de um campo elétrico aplicado (figura 4b). As relações entre a tensão, deformação e a força do campo elétrico, definem os coeficientes de piezoeletricidade (Vilarinho, 2005).

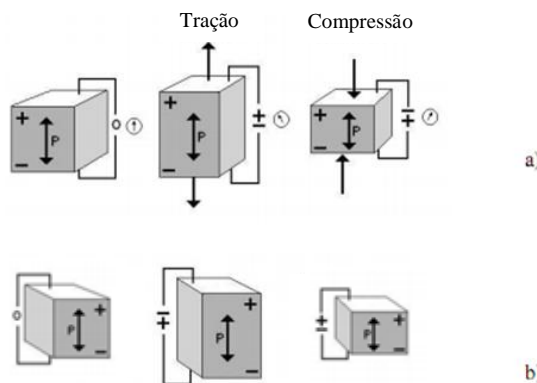


Figura 4 - Efeito piezoelétrico: a) direto ou gerador b) inverso ou motor (www.bostonpiezooptics.com/?D=6, em 25/05/12).

O efeito piezoelétrico pode ser descrito de forma simplificada, desconsiderando a simetria do material, pelas seguintes equações:

$$D = dT^* + \epsilon E \quad (1.1)$$

$$S = sT^* + dE \quad (1.2)$$

O efeito piezoelétrico direto (1.1) tem a sua aplicação em sensores, enquanto o efeito piezoelétrico inverso (1.2) tem a sua aplicação em atuadores. O efeito piezoelétrico representa uma dependência linear da deformação com o campo elétrico, portanto, se o sentido do campo elétrico é invertido, o sentido da deformação também será invertido (Ramos, 2006).

I.2.1 Piezoelectricidade óssea

Nos anos 40, *Yasuda et al.* descobriram a bioeletricidade no osso, quando, ao aplicar estímulos térmicos, químicos, mecânicos e elétricos a um osso longo, observaram a formação de calo ósseo mesmo na ausência de fratura. Pensaram então que havia um sinal comum a todos os estímulos testados que se gerava no osso para permitir o seu crescimento: um sinal elétrico. Demonstraram também que o osso gera um sinal elétrico quando estimulado mecanicamente, de tal forma que as regiões submetidas à compressão geram uma carga negativa e as submetidas à tração geram uma carga positiva (figura 5), descobrindo assim pela primeira vez, um caráter piezoelétrico existente no osso atribuído às fibras de colagénio nele presente. (Fukada e Yasuda, 1957).

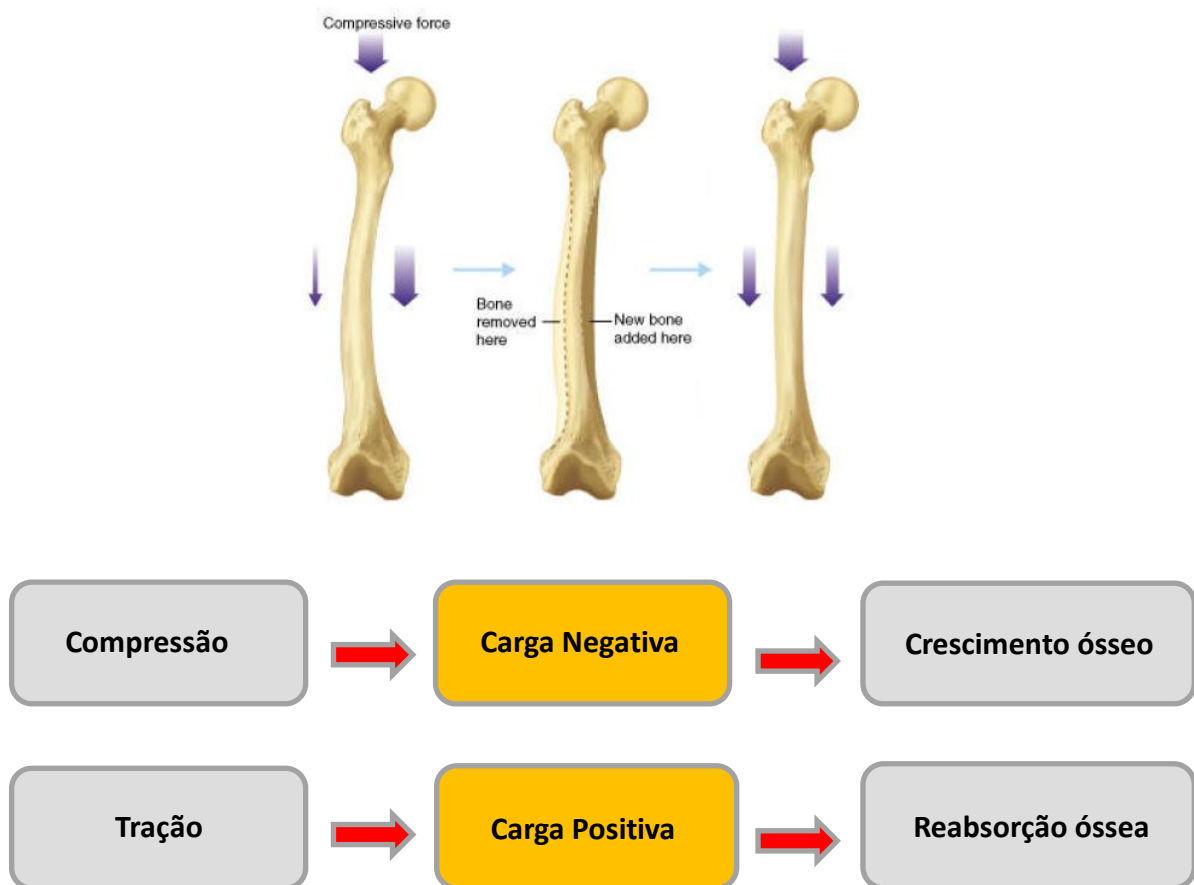


Figura 5 - Reabsorção e crescimento ósseo em resposta à aplicação de uma carga mecânica (www.easyheight.com/proof_remodel2.jpg em10.12).

Os estudos de Yasuda foram posteriormente complementados por Fukada, 1957, um ortopedista japonês que verificou o caráter piezoelétrico do osso aplicando uma força ao longo do eixo de um osso longo e registrando a geração de um sinal elétrico à sua superfície (Fukada e Yasuda, 1957). Mostraram ainda que a constante piezoelétrica mais importante no osso é a constante d_{14} relativa a uma tensão de corte aplicada ao longo do eixo longo do osso que cria uma polarização à superfície do osso cuja direção é perpendicular ao eixo longo do osso (Fukada e Yasuda, 1957). O valor desta constante foi medido no osso seco, sendo de 0,2pC/N e foi mostrado que depende de diversos fatores como a carga aplicada ao osso, a frequência à qual é aplicada a carga e o teor de água no osso (Fukada e Yasuda, 1957; Maeda e Fukada, 1982). Também foi provado que o caráter piezoelétrico do osso se deve à piezoelectricidade do colagénio cujas fibras se alinham em resposta à aplicação de um campo elétrico (Marino e Becker, 1970).

I.3 Hidroxiapatite (HAp)

O enorme interesse pela aplicação de biomateriais para substituição e regeneração óssea tem vindo a aumentar significativamente na última década.

Um desses biomateriais é a hidroxiapatite (HAp), principal constituinte da parte inorgânica do osso.

No gráfico da figura 6, apresenta-se a evolução do nº de publicações, nos últimos 12 anos relacionadas com estudos da HAp para aplicações em regeneração óssea, onde como palavras-chave para a pesquisa, se utilizaram “*hydroxyapatite bone regeneration*”.

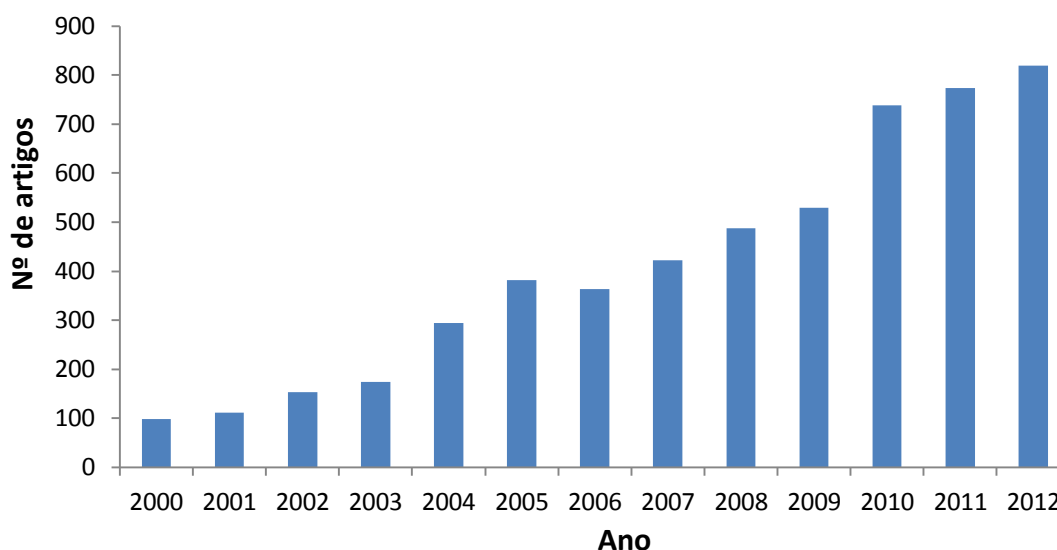


Figura 6 - Número de artigos nos últimos 12 anos sobre o estudo da aplicabilidade da HAp para a regeneração óssea (*in sciencedirect*).

É evidente a importância crescente deste biomaterial em aplicações clínicas, e daí a necessidade de aprofundar o conhecimento das suas propriedades, não só biológicas mas também químicas, físicas e eletromecânicas, consideradas essenciais no seu desempenho em situações de regeneração óssea.

Por biomaterial entende-se um material de origem natural ou sintética destinado a contactar com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do organismo. A sua aplicação deve salvaguardar a manutenção das suas propriedades e características estruturais enquanto, simultaneamente, substitui a função para a qual foi criado. Deverá permitir uma adequada resposta celular à sua superfície, ter uma resistência mecânica compatível com a função, ser esterilizável e não apresentar características oncogénicas. O sucesso de um biomaterial no organismo depende da sua capacidade em desempenhar a função do tecido ou órgão a substituir e da sua biocompatibilidade (Gutierrez *et al*, 2006).

Devido à sua excelente biocompatibilidade, bioatividade e propriedades osteocondutivas (Mahabole *et al*, 2005; Kaygili *et al*, 2012) a HAp é um material muito atrativo para aplicações biomédicas como material de substituição óssea em ortopedia e odontologia e para revestimentos de implantes metálicos.

A HAp natural existente no osso humano é predominantemente cristalina, embora possa existir na fase amorfa. As propriedades físicas e químicas da HAp sintética foram

exaustivamente estudadas e os resultados obtidos mostraram que o seu comportamento *in vivo* é muito semelhante ao comportamento da HAp biológica (Cüneyt, 2001). No entanto, o uso clínico da HAp sintética apresenta algumas limitações devido à sua lenta biodegradação (Bohner, 2001). A velocidade de reabsorção é de máxima importância para a aplicação de materiais em situações de regeneração, pois o processo de degradação do implante deve ser concomitante com a formação do novo tecido.

A HAp pura é estequiométrica ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) e é caracterizada por uma razão molar Ca/P de 10:6 e uma densidade de $3,159 \text{ g/cm}^3$ (Zhang, 1997).

Sabe-se que, na realidade, a composição química da HAp biológica, embora seja variável ao longo da vida, não possui a fórmula estequiométrica ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). Esta HAp apresenta-se habitualmente como uma apatite deficiente em cálcio, enriquecida com outros íons devido à sua facilidade em acomodar uma ampla variedade de substituições na sua rede cristalográfica (Gittings *et al.*, 2009). Substituições iônicas recorrentes na HAp biológica envolvem a incorporação de íons como o carbonato (CO_3^{2-}), podendo também existir a incorporação de silício (Si), magnésio (Mg), flúor (F), cloro (Cl) e outros elementos. Tais substituições afetam propriedades como a bioatividade, a biocompatibilidade, e a velocidade de degradação da HAp (Kheradmandfard e Fathi, 2010).

A ocorrência de substituições iônicas na HAp estequiométrica (pura) leva a alterações na sua rede, influenciando a simetria apresentada pelos cristais. As substituições iônicas na HAp natural vão diminuindo ao longo da vida e a sua estrutura vai-se aproximando da forma estequiométrica, apresentando-se cada vez mais cristalina. Este aumento da cristalinidade da HAp com o decorrer dos anos leva a diferenças na velocidade de remodelação do tecido ósseo que se resumem, de um modo geral, a uma diminuição da velocidade de degradação que resulta numa menor atividade de remodelação óssea (Kovaleva *et al.*, 2010).

Também a atividade celular provoca a dissolução parcial da HAp. Os íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} libertados para o meio aumentam a já existente sobressaturação dos fluidos biológicos o que, por sua vez, leva à precipitação de apatites carbonatadas, semelhantes às do tecido ósseo. Estas apatites carbonatadas, que se formam na superfície dos biomateriais, facilitam a adesão de proteínas do meio, levando a uma maior adesão, proliferação e diferenciação por parte das células osteogénicas, que reconhecem um ambiente biologicamente mais próximo do natural. Estas condições favorecem a produção de uma matriz extracelular

biomineralizada, uma vez que esta camada de apatite carbonatada exerce uma importante atividade osteocondutora que contribui para um melhor desempenho biológico do biomaterial (Zhang *et al.*, 2010).

Foram identificadas como fases cristalinas da HAp a hexagonal ($P6_3/m$) e a monoclinica não centrossimétrica ($P2_1/b$) (figura 7 e 8, respetivamente). Como parâmetros de rede para a hexagonal, $a=b=0.946\text{nm}$; $c=0.685\text{nm}$, e para a monoclinica $a=0.948\text{nm}$; $b=1.896\text{nm}$; $c=0.683\text{nm}$ (Calderín, 2003; Tofail *et al.*, 2005; Baxter *et al.*, 2010; Bystrov *et al.*, 2011).

A estrutura hexagonal, tem um arranjo desordenado do grupo hidroxilo ao longo do eixo c , com os iões do grupo hidroxilo apontando em direções opostas em relação ao espelho plano em $z=0.25$ e $z=0.75$ (figura 7). A estrutura monoclinica apresenta um arranjo ordenado do grupo hidroxilo, formando colunas (figura 8).

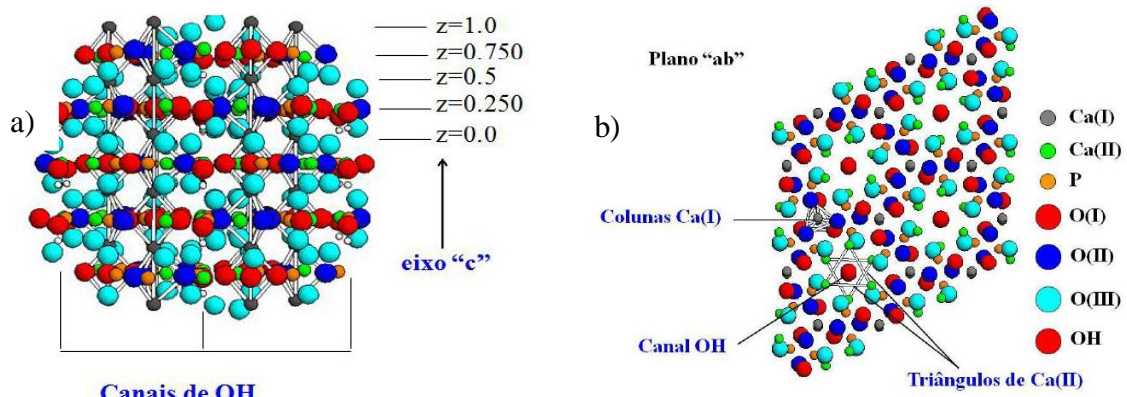


Figura 7 – a) Estrutura cristalina hexagonal da HAp (plano ac), b) Estrutura cristalina hexagonal da HAp (plano ab) (adaptado de Meza, 2010).

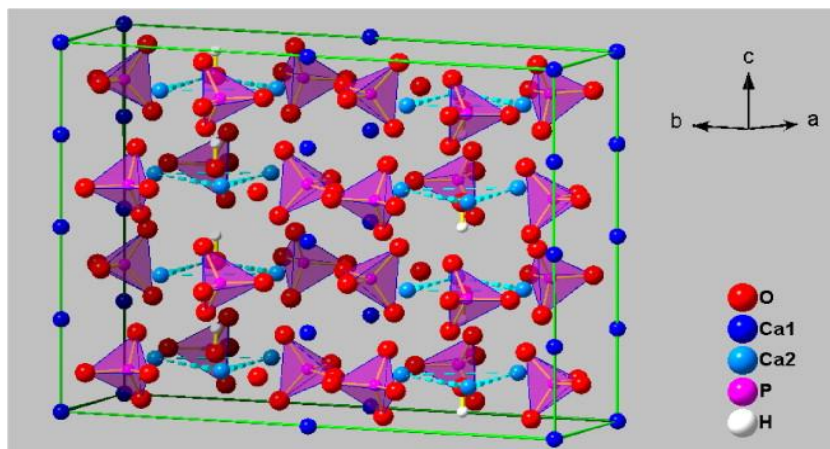


Figura 8 - Estrutura cristalina monoclinica da HAp (adaptado de Zahn, 2008)

I.3.1 Propriedades dielétricas da HAp

Em 1999, Toshiyuki *et al.*, nos seus estudos de caracterização dielétrica da HAp observaram uma anomalia dielétrica perto dos 210°C (figura 9).

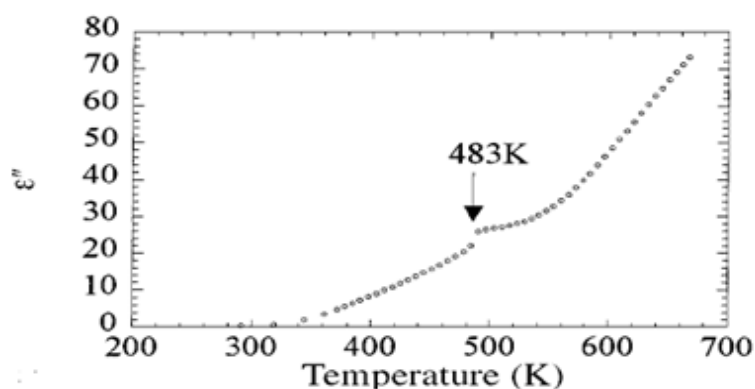


Figura 9 – Anomalia dielétrica próxima dos 210°C (adaptado de Toshiyuki, 1999).

Esta anomalia foi relacionada com a transição de fase da estrutura anti-ferroelétrica característica da estrutura monoclinica $P2_1/b$ para a estrutura paráelétrica hexagonal $P6_3/m$, onde ocorre uma alteração dos momentos dipolares do grupo hidroxilo (OH). Assim, o momento dipolar do íon hidroxilo é ordenado para temperaturas inferiores a 210°C, e desordenado para temperaturas superiores a 210°C. A HAp apresentava assim duas diferentes estruturas no arranjo do grupo hidroxilo.

Recentemente, Tofail *et al.*, (2005), através de potenciais cálculos empíricos interatômicos simularam a hipótese de que a HAp sintética possa pertencer a uma nova classe cristalina polar, isto é, $P2_1$ ou $P6_3$, apresentando a possibilidade da HAp ser piezoelétrica, aquando da transição de fase verificada perto dos 210°C de anti-ferroelétrica para ferroelétrica (figura 10), e não para uma estrutura paráelétrica, como antes tinha sido referido por Toshiyuki *et al.*, (1999).

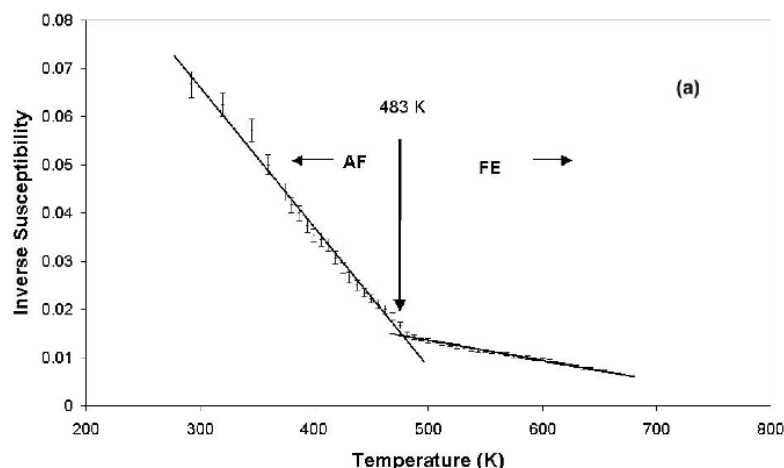


Figura 10 – Transição de fase próxima dos 210°C (adaptado de Tofail *et al.*, 2005)

Segundo os mesmos autores é provável que a reorientação das colunas de OH⁻ juntamente com a rotação do fosfato tetraédrico dê origem a estas novas propriedades dielétricas da HAp. A ausência de centro de simetria na estrutura polar P2₁ aponta para potenciais propriedades piezoelétricas para esta fase da HAp (Tofail *et al.*, 2005; Haverty *et al.*, 2005; Tofail *et al.*, 2009). Posto isto, estudaram o comportamento dielétrico e elástico da HAp com base em 3 modelos estruturais: a estrutura monoclinica não polar P2₁/b, a estrutura monoclinica polar P2₁ e a estrutura hexagonal polar P6₃, todas elas com arranjos ordenados dos iões do grupo hidroxilo (Tofail *et al.*, 2005), apresentando pela primeira vez valores experimentais do coeficiente de pressão piezoelétrico e_{14} em monolíticos de HAp ($e_{14} = -0,65 \text{ C.m}^{-2}$) para as simetrias polares hexagonal (P6₃) e monoclinica (P2₁). Os autores referem no entanto que uma comparação direta com outros valores experimentais ou teóricos não é possível até ao momento devido á falta de informação experimental existente, não sendo assim estes valores fidedignos (Tofail *et al.*, 2005).

Ainda segundo Tofail *et al.*, 2009, em estudos realizados posteriormente, a existência de anisotropia é um pré-requisito para medir piezoelectricidade em amostras policristalinas em monolíticos, dado que um agregado policristalino com grãos orientados aleatoriamente irá resultar em um não efeito direcional de rede, e como consequência a não existência de piezoelectricidade, mesmo que os grãos individuais possam apresentar piezoelectricidade.

Estes investigadores relatam ainda que nos seus estudos, uma forte evidência experimental de natureza piezoelétrica a nível macroscópico em monolíticos de HAp para

a simetria polar monoclínica ($P2_1$), foi provada qualitativamente, contudo, um valor quantitativo específico do coeficiente piezoelétrico d_{14} não foi estabelecido (Tofail *et al.*, 2009).

Em virtude desta problemática, as propriedades elétricas em monolíticos de HAp têm vindo a ser estudadas há algum tempo, assim como a possibilidade deste biomaterial se comportar como piezoelétrico, mas até ao momento, nada está confirmado experimentalmente, relativamente á certeza da existência de piezoelectricidade intrínseca em monolíticos de HAp.

As propriedades elétricas da HAp em filmes finos também têm vindo a ser objeto de investigação em trabalhos recentes, Lang *et al.*, 2011, reportaram a existência de piezoelectricidade em filmes finos de HAp obtidos pelo método sol gel e depositados sobre um substrato de silício por *spincoating*. Os autores sugerem que, após deposição do filme fino sobre o substrato de silício, a alta temperatura de calcinação cristalizou o filme de HAp e converteu a maioria dos pares dos iões do grupo hidroxilo para uma configuração paralela. Assim, a HAp desenvolveu uma estrutura maioritariamente com dipolos orientados aleatoriamente e após o arrefecimento, devido à polaridade destes dipolos orientados, resultou numa rede estrutural polar, promovida pelo carácter cristalino do substrato e pela sua rugosidade (Lang *et al.*, 2011).

A constatação deste comportamento, por Lang *et al.*, 2011, em HAp na forma de um filme fino veio reativar a discussão sobre o papel da morfologia da HAp nas suas propriedades, designadamente piezoelétricas, em que a possibilidade de produzir eficazmente filmes finos de HAp pode trazer grandes vantagens para a aplicação clínica, nomeadamente através da produção de revestimentos biocompatíveis sobre materiais implantáveis que podem acelerar a cura de fraturas ósseas, especialmente em ossos longos, onde a regeneração é habitualmente lenta e ainda como isoladores elétricos nesses dispositivos implantáveis (Hontsu *et al.*, 1997; Hoepfner e Case *et al.*, 2001; Silva *et al.*, 2009).

I.4 Âmbito da dissertação

Esta tese surge com o objetivo de esclarecer a existência ou não de uma resposta piezoelétrica em monolíticos e filmes finos de HAp, visto que, até ao momento várias dúvidas têm surgido relativamente a este interessante tema.

Irá produzir-se e caracterizar morfológica, estrutural e dielectricamente monolíticos de HAp a partir de um pó sintético de HAp, e tentará replicar-se os estudos realizados por Lang *et al.*, 2011 em que produziram filmes finos de HAp pelo método sol gel por *spincoating*, com elevada cristalinidade, usando como precursores de cálcio e fósforo, o nitrato de cálcio tetrahidratado e o pentóxido de fósforo, respetivamente, e como solvente o etanol. Utilizam ainda como metodologia uma temperatura de secagem de 200°C (1-2h) e uma temperatura de calcinação de 700°C (1h) com uma taxa de aquecimento e arrefecimento de 5°C/min.

Com a finalidade de comparar os resultados obtidos nesta dissertação com os já existentes na literatura relativamente às propriedades dielétricas em monolíticos será apresentada de seguida uma tabela onde se resume cronologicamente os vários resultados encontrados (tabela 1), assim como se apresenta um resumo do que é reportado na literatura acerca da produção de filmes/pós de HAp pelo método sol-gel, (o método que foi utilizado neste trabalho), com referência aos precursores usados, condições experimentais utilizadas, técnicas de processamento e técnicas de caracterização dos produtos obtidos. Apresentam-se ainda alguns comentários relativos aos resultados obtidos e algumas observações a ter em consideração sobre cada procedimento (tabela 2).

Tabela 1 - Resumo dos resultados obtidos das propriedades dielétricas em monolíticos de HAp sintética.

Artigo	Eléttrodo	Sistema cristalino	Porosidade (%)	Permitividade dielétrica	Perdas dielétricas	Resistividade (Ω)	Frequência (MHz)
Toshiyuki <i>et al.</i> , 1999	Platina	Monoclínica (P2 ₁ /b)	2,4	$\epsilon = 15.4$	$\tan \delta = 0,1$	Não indica	0.1
Fanovich <i>et al.</i> , 1999	Prata	Não indica	14	$\epsilon = 12.61$	Não indica	Não indica	1
Hoepfner, Case, 2001	Cobre	Hexagonal (P6 ₃ /m)	7	$\epsilon = 12$ $\epsilon = 13.2$	Não indica	Não indica	0.045 1
Zakharov, Orlovoskii 2001	Prata	Hexagonal (P6 ₃ /m)	Não indica	$\epsilon = 12.5$ $\epsilon = 10$	$\tan \delta = 0.1$ $\tan \delta = 0.1$	Não indica	0.001 0.005
Mahabole <i>et al.</i> , 2005	Prata	Hexagonal (P6 ₃ /m)	Não indica	$\epsilon = 9-12$	$\tan \delta = 0.1$	Não indica	1
Tofail <i>et al.</i> , 2005	Não indica	Monoclínica (P2 ₁) Hexagonal (P6 ₃)	Não indica	$\epsilon = 7.5$ $\epsilon = 7.5$	Não indica	Não indica	Não indica
Silva <i>et al.</i> , 2005	Ouro	Hexagonal (P6 ₃ /m)	Não indica	$\epsilon = 10-13.7$	$\tan \delta = 0.06-0.39$	Não indica	0.001
Gittings <i>et al.</i> , 2008	Ouro	Hexagonal (P6 ₃ /m)	5-10 30-40	$\epsilon = 13$ $\epsilon = 80$	Não indica	Não indica	1
Silva <i>et al.</i> , 2009	Prata	Não indica	Não indica	$\epsilon = 8-10$	$\tan \delta = 0.057-0.14$	Não indica	0.001
Tofail <i>et al.</i> , 2009	Prata	Monoclínica (P2 ₁)	2	$\epsilon = 12.22$	Não indica	Não indica	1000
Kaygili <i>et al.</i> , 2012	Ouro	Hexagonal (P6 ₃ /m)	Não indica	$\epsilon = 2.06$	Ilegível	1.27×10^{11}	1

Tabela 2 - Resumo do processamento de filmes/pós de HAp pelo método sol-gel reportado na literatura.

Artigo	Sistema	Precusores/solvente	Técnica de proc.	Condições experimentais sol	Resultado obtido	Técnicas de caracterização	Razão Ca/P	Comentários/Observações
Brendel <i>et al.</i> , 1992	HAp	Nitrato de cálcio Fenildiclorofosfina Solvente: Acetona	Dip coating	Recozimento: 900-1100°C	Filme	DRX; FTIR; SEM; TGA; ICP	X	Os substratos foram de alumina e titânio metálico. No DRX existiram 2 fases cristalinas, HAp e β -TCP.
Breme <i>et al.</i> , 1995	HAp	Óxido de cálcio Fosfato de trietila	Dip coating	Secagem: 130°C, 1h Recozimento: 600-800°C	Filme	DRX	X	Os substratos foram dopados com manganês. No DRX houve a fase cristalina da HAp.
Haddow <i>et al.</i> , 1996	HAp	Acetato de cálcio Fosfito de trietila Solvente: água destilada	Dip coating 2.5mm/s	Secagem: 100°C Recozimento: 1000°C	Filme	DRX; XPS; DTA/TGA	1.62	No DRX constatou-se a existência da fase cristalina HAp.
Russel <i>et al.</i> , 1996	HAp	Nitrato cálcio tetrahidratado Hidrogênio fosfato de n-butyl Solvente: 2-metoxietanol	Spin coating	Secagem: 350°C, 1min Recozimento: 500-950°C	Filme	DRX	X	O recozimento foi feito em atmosfera de N ₂ com altas velocidades de aquecimento e arrefecimento.
Chai <i>et al.</i> , 1998	HAp	Dietóxido de cálcio Trietil fosfito Solvente: etanol	Spin coating 2500rpm, 10s	Pó: Envelhecimento: 70°C Calcinação: 500°C, 15min, 10°/min Filme: Hidrólise: 70°C, 10 min Secagem: 500°C, 15min Recozimento: 1000°C, 15min	Filme e pó	DRX; TGA/DTA;	X	Como substratos foram usados a alumina, zircônio e titânio. Houve cristalização da fase HAp entre os 500-600°C.
Lopatin <i>et al.</i> , 1998	HAp	Ácido fosfato n-butyl (n-BAP) Nitrato cálcio tetrahidratado Solvente: 2-metoxietanol	Spin coating 8000 rpm	Secagem: 320°C, 10min Recozimento: 620°C, 3min	Filme	DRX; AFM	X	Acima dos 1100°C formam-se fases secundárias como OHA e TCP cerca dos 850°C. O substrato usado foi de silício.

Artigo	Sistema	Precusores/solvente	Técnica de proc.	Condições experimentais sol	Resultado obtido	Técnicas de caracterização	Razão Ca/P	Comentários/Observações
Hwang e Lim., 1999	HAp	Nitrato cálcio Ácido fosfórico Solvente: metanol	Spin coating 2000rpm, 5s	Secagem: 300°C, 1min Recozimento: 300,500,700°C, 10min	Filme	DRX; FTIR; SEM	X	O substrato usado foi de silício. Aos 500° existia apenas a fase cristalina da HAp. Aos 700°C a pareceu a fase β-TCP devido á decomposição da HAp carbonatada.
Hwang et al., 2000	HAp	Nitrato cálcio Ácido fosfórico Solvente: metanol	Spin coating 2000rpm, 5s (10x)	Secagem: 300°C, 1min Recozimento: 300,500,700°C, 3min	Filme	DRX; FTIR TG/DTA; SEM	X	O substrato usado foi de alumina. Os filmes de HAp tiveram a cristalinidade aumentada com o aumento da temperatura de recozimento. Através da análise FTIR, o carbonato foi substituído pelos iões fosfato na rede cristalina da HAp a partir dos 500°C.
Lim et al., 2001	HAp	Nitrato cálcio tetrahidratado Ácido fosfórico Solvente: etileno glicol monometil éter	Spin coating 3500 rpm, 5s	Secagem: 150°C, 15min Pirolisado: 500°C, 5min Recozimento: 500°C, 30min	Filme	DRX; SEM;EDX; SBF	X	Não existem segundas fases O recozimento foi feito em árgon
Tkalcec et al., 2001	HAp e TCP	Cálcio 2-etilhexanoato 2-etil-hexil-fosfato Solvente: etanol	Dip coating 1mm/s	Pó: Secagem: 130°C, 4h Calcinação: 400-1400°C Filme: Secagem: 130°C, 4h Calcinação: 400-900°C	Pó e filme	DRX; FTIR; SEM DTA/TGA	1.56 e 1.77	O melhor resultado foi obtido com uma calcinação a 1000°C, 3h para o pó e a 900°C para o filme
Cheng et al., 2001	HAP /FA	Nitrato cálcio tetrahidratado Pentóxido fósforo Ácidotrifluoracético (TFA) Solvente: etanol e trietanolamina (TEA)	X	Secagem – 150°C Calcinação – 500-900°C, 2h	Pó	DRX; FTIR; SEM	X	Houve a adição de ácido acético para aumentar a acidez quando a mistura teve uma baixa razão de TFA/TEA. Quando [TEA]/[Ca]*[TFA] > 1.00, ocorre precipitação depois de misturar.

Artigo	Sistema	Precusores/solvente	Técnica de proc.	Condições experimentais sol	Resultado obtido	Técnicas de caracterização	Razão Ca/P	Comentários/Observações
Hsieh <i>et al.</i> , 2002	HAp	Nitrato cálcio tetrahidratado Trietil fosfato (TEP) Solvente: 2-metoxietanol	Spin coating 1500 rpm	Envelhecimento: 80-90°C, 16h Secagem: 80-90°C, 4h Após Spin: Secagem: 200°C, 15min Recozimento: 400°C, 1min Recoz. final: 600°C, 1min	Filme	DRX; SPX; SEM	X	O substrato usado foi Ti6Al4V. Para reduzir a possibilidade de oxidação do substrato, foi aplicado um aquecimento rápido de 300°C/min. Foi depositado 4 camadas para se obter um filme espesso.
Manso <i>et al.</i> , 2002	HAp	Nitrato cálcio tetrahidratado Ácido fosfórico Solvente: etanol	Deposição por spray	Calcinação: 500,650,1000°C, 15min	Filme	DRX; FTIR; SEM EDX	1.80	O substrato usado foi de silício. A partir dos 650°C obteve-se um filme policristalino e poroso de HAp com elevada pureza.
Liu <i>et al.</i> , 2002	HAp	Nitrato cálcio Trietil fosfite Solvente: água destilada	X	Envelhecimento: 45°C, 30, 60, 120 min. Secagem: 80°C, 16h Calcinação: 200,300°C, 2h 400,500°C, 10min, 10°/min	Pó	FTIR; DRX; SEM/TEM; DTA/TGA	X	
Beganskiene <i>et al.</i> , 2003	HAP	Nitrato cálcio tetrahidratado Trimetil fosfato e dimetil fosfato Solvente: água destilada	X	Envelhecimento: 60°, 24h e 72h Secagem: 250°C, 6h Calcinação: 400,500,750,1000°C, 3h	Pó	DRX FTIR	X	Trimetil fosfato: No DRX, a 1000°C (24h de envelhecimento) aparece como fases cristalinas a HAp, CaO e CaOH ₂ . Para os 1000°C (72h) apenas aparece a HAp e CaO. Dimetil fosfato: No DRX a 1000°C (2h de envelhecimento) aparece como fases cristalinas a HAp e CaO.
Cheng <i>et al.</i> , 2003	HAp/FA	Nitrato cálcio tetrahidratado Pentóxido de fosforo Solvente: etanol	Dip coating 3cm/min (5x)	Secagem – 150°C, 10min Recozimento – 600°C, 15min	Filme	DRX; FTIR SEM/EDS	X	O substrato usado foi Ti6Al4V.

Artigo	Sistema	Precusores/solvente	Técnica de proc.	Condições experimentais sol	Resultado obtido	Técnicas de caracterização	Razão Ca/P	Comentários/Observações
Santos <i>et al.</i> , 2005	HAP	Nitrato cálcio Acido fosfórico Solvente: metanol	X	Calcinação: 300,500,700°C	Pó	DRX; FTIR SEM/EDS TGA/DSC	1.67	As fases de HAp tornaram-se mais estáveis sem 2 ^{as} fases a 700°C. O tamanho do cristal e o teor de HAp aumentaram com o aumento da temperatura de calcinação.
Zhang <i>et al.</i> , 2006	FHAp	Nitrato cálcio Pentóxido de fosforo Hexafluorofosforico Solvente: etanol	Dip coating 3cm/min	Secagem: 150°C, 15min Recozimento: 500,600,700°C	Filme	DRX SPX SEM/EDS	1.63- 1.70	Para os 600°C obteve-se apenas a fase cristalina da HAp.
Hijón <i>et al.</i> , 2006	HAp	Nitrato cálcio Trietil fosfite Solvente: etanol, agua destilada, água e etanol	Dip coating 800-2500 µm/s	Envelhecimento – 60°C a vários tempos Secagem – 100°C, 1h Recozimento – 550°C, 10min	Filme	DRX; FTIR; SBF SEM/EDS; SFM ED; TEM	1.4-1.7	O substrato usado foi Ti6Al4V. O melhor resultado para fazer filmes de HAp foi obtido através do solvente água seguido da adição de etanol após os processos de (hidrólise/condensação) com um tempo de envelhecimento entre as 6h e 72h.
Kim <i>et al.</i> , 2007	Hap	Nitrato cálcio tetrahidratado Ácido fosfórico Solvente: metanol	Deposição por Spray (ESD)	Recozimento: 500°C, 30min	Filme	DRX; FTIR SEM	X	O substrato usado foi de silício, e foi aquecido a 50-120°C para evaporar a componente orgânica durante a pulverização. O recozimento foi feito com um fluxo de ar. O melhor resultado foi aos 80°C de aquecimento do substrato. Verifica-se esta temperatura é o ponto de ebulição do metanol.
Ghomi <i>et al.</i> , 2011	HAP	Nitrato cálcio tetrahidratado Pentóxido de fosforo Solvente: etanol	X	Misturado e agitação: 24h Envelhecimento: 24h Secagem: 80°C, 24h Calcinação: 600°C, 2min, 5°C/min	Pó	BET; DRX SEM/EDS; TEM Método de Arquimedes SBF; FTIR	X	

Artigo	Sistema	Precusores/solvente	Técnica de proc.	Condições experimentais sol	Resultado obtido	Técnicas de caracterização	Razão Ca/P	Comentários/Observações
Roest <i>et al.</i> , 2011	HAp	X	Spin coating 2000rpm, 20s	Recozimento: 550°C, 2h	Filme	SEM, DRX	X	O substrato usado foi de Ti6Al4V com várias rugosidades de superfícies.
Lang <i>et al.</i> , 2011	HAp	Nitrato de cálcio tetra hidratado Pentóxido de fosforo Solvente: etanol	Spin coating	Misturado e agitado: 60°C, 1h Secagem: 200°C, 1-2h Recozimento: 700°C, 1h, 5°C/min	Filme	DRX; SEM; AFM	X	O substrato usado foi de silício.

Capítulo II - Materiais e Métodos

Capítulo II – Materiais e Métodos

Neste capítulo será apresentada uma síntese dos procedimentos experimentais utilizados para a preparação de monolíticos de HAp, assim como uma breve descrição das técnicas de caracterização utilizadas neste trabalho (morfológica, estrutural e dielétrica). Apresentar-se-á também uma sucinta descrição dos procedimentos experimentais usados para a preparação dos filmes finos pelo método sol gel.

II.1 Preparação de monolíticos e filmes finos

II.1.1 Preparação de monolíticos de HAp

O presente estudo sobre a atividade eletromecânica da HAp para a regeneração óssea iniciou-se através da preparação de monolíticos (cerâmicos) de HAp. O pó de HAp utilizado é um pó comercial sintético, da companhia *Capital[®]R*. Para a preparação de cada monolítico, pesaram-se 0,3g do pó para um molde cilíndrico com 10mm de diâmetro e prensou-se á pressão de 0,98MPa durante 30s, numa prensa uniaxial. Prepararam-se cerca de 20 pastilhas. As pastilhas prensadas foram de seguida pesadas, medidas as suas dimensões (diâmetro e espessura) e calculada a sua densidade em verde (cerca de 50% de densificação).

Com base nos dados referidos na literatura (Rosa *et al.*, 2000), as pastilhas foram sinterizadas num forno tubular, á temperatura de 1280°C durante 3h, com uma taxa de aquecimento e arrefecimento de 10°C/min. A densidade dos monolíticos foi medida pelo método de Arquimedes (1.3):

$$\rho = \frac{P_s}{P_s - P_i} \times \rho_l \quad (1.3)$$

onde ρ e ρ_l são as densidades do monolítico e do liquido utilizado, respetivamente. P_s e P_i são os pesos das amostras seca e imersa no líquido, respetivamente. O líquido usado foi água, tomando-se para ρ_l (22°C) o valor de 0,9978g/cm³. Para o cálculo da percentagem de densificação usou-se como densidade teórica da HAp o valor de 3,156 g/cm³. Foi obtida uma densidade final média dos monolíticos de aproximadamente 96%.

II.1.2 Preparação de filmes finos

Com o objetivo de preparar filmes finos de HAp, usou-se o método sol-gel. Com base na literatura (Cap.1), foram realizadas várias experiências para obter uma solução estável e reprodutível e que permitisse a obtenção de filmes finos homogêneos e sem fissuras com uma razão molar Ca/P de 1,67. Os precursores e solventes testados encontram-se discriminados na tabela 3.

As sucessivas alterações que se realizaram tiveram como objetivo a otimização da solução obtida. A preparação das soluções foi realizada numa hote, dada a toxicidade dos precursores e solventes utilizados.

Devido à elevada toxicidade e à dificuldade de manuseamento devido à baixa temperatura de ignição do precursor de fósforo utilizado por Lang *et al.*, 2011, pentóxido de fósforo no método sol gel, optou-se inicialmente por alterar este precursor para o ácido fosfórico, mantendo-se como precursor de cálcio o nitrato de cálcio tetrahidratado (experiências 1-5), e preparam-se filmes finos conforme reportado na literatura com estes precursores (Hwang e Lim, 1999). Contudo, com este precursor e depois de várias alterações na metodologia de preparação nomeadamente às concentrações/solventes e tratamento térmico utilizados, ocorria sempre precipitação na solução obtida. Assim, optou-se por usar os mesmos precursores que Lang *et al.*, 2011 (experiências 6 e 7), mas na solução obtida também ocorreu precipitação.

Assim, na sequência destas adversidades, mudou-se novamente o precursor de fósforo para o dietil fosfito, usando como solvente a água destilada (experiência 8) e o trietil fosfato, usando como solvente o 2-metoxietanol (experiência 9), conforme a literatura (Beganskiene A. *et al.*, 2003; Hsieh M. *et al.*, 2002). Resultaram soluções estáveis sem precipitados, e com a viscosidade adequada para um bom espalhamento sobre o substrato. Contudo, a solução da experiência 9 foi a que aderiu melhor ao substrato.

Assim os resultados apresentados ao longo deste estudo correspondem aos filmes preparados através dos reagentes de nitrato de cálcio tetrahidratado e trietil fosfato como precursores de cálcio e fósforo respetivamente, e do solvente 2-metoxietanol, depositados por *spincoating* a 3500rpm durante 30s, seguido de uma secagem a 200°C durante 1h, e um tratamento térmico (recozimento) a 700°C durante 1h, com uma taxa de aquecimento e arrefecimento de 5°C/min, parâmetros estes iguais aos reportados por Lang *et al.*, 2011 (experiência 9).

Os substratos usados para efetuar a deposição dos filmes são de silício com dimensões de aproximadamente $1 \times 1 \text{ cm}^2$. A limpeza dos substratos foi feita com etanol.

Tabela 3 – Condições de preparação de filmes finos de HAp por sol-gel estudadas neste trabalho.

Experiência	Reagentes	Concentração / Solvente	Spin coating	Tratamento térmico	Observações
1	Nitrato de cálcio tetrahidratado 1,18g Ácido fosfórico 0,342ml	1M / Etanol 5ml	Gotas de 0,1ml 3000rpm, 30s	650°C durante 15min, 10°C/min	Ocorreram precipitados.
2	Nitrato de cálcio tetrahidratado. 5,9g Ácido fosfórico 1.709ml	5M / Etanol 5ml	Gotas de 0,1ml 3000rpm, 30s	650°C durante 15min, 10°C/min	Aqueceu-se a solução a 65°C durante 1h. Solução precipitou e ficou com cor branca.
3	Nitrato de cálcio tetrahidratado 5,9g Ácido fosfórico 1.709ml	20M / Etanol 1ml	Gotas de 0,1ml 3000rpm, 30s	650°C durante 15min, 10°C/min	Aqueceu-se a solução a 65°C durante 1h. Solução precipitou e ficou com cor branca.
4	Nitrato de cálcio tetrahidratado 4,72g Ácido fosfórico 1,368ml	20M / Metanol 1ml	Gotas de 0,1ml 3000rpm, 30s	Secagem: 300°C, 1min. 700°C, 15min, 10°C/min	Aqueceu-se a solução a 60°C. Formou-se um gel. Elevada viscosidade.
5	Nitrato de cálcio tetrahidratado 1,18g Ácido fosfórico 0,342ml	5M / Metanol 1ml	Gotas de 0,1ml 3000rpm, 30s	Secagem: 300°C, 1min. 700°C, 15min, 10°C/min	Aqueceu-se a 60°C. Adicionou-se 0,5ml de metanol para ajustar a viscosidade e concentração.
6	Nitrato de cálcio tetrahidratado 0,236g Pentóxido de fosforo 0,141g	Etanol 2ml	Gotas de 0,1ml, 4000rpm, 30s	Secagem: 200°C, 5min (2x) 700°C, 1h, 10°C/min	Adicionou-se 4ml de etanol para ajustar a viscosidade. Ocorreu precipitação.
7	Nitrato de cálcio tetrahidratado 1g Pentóxido de fósforo 0.36g	Etanol 5ml	Gotas de 0,1ml, 4000rpm, 30s	Secagem: 200°C, 5min (2x) 700°C, 1h, 10°C/min	Aqueceu-se a 60°C, 30min cada reagente. Aqueceu-se a mistura a 60°C, 1h. Ocorreu precipitação.
8	Nitrato de cálcio tetrahidratado 11,81g Dietil fosfito 3,861g	Água destilada, 25ml Água destilada, 5ml	Gotas de 0,1ml, 3500rpm, 30s	Secagem: 200°C, 15min (3x) 325°C, 5min; 700°C, 5min.	Obteve-se uma solução estável.
9	Nitrato de cálcio tetrahidratado 11,81g Trietil fosfato 5ml	2-metoxietanol, 25ml 2-metoxietanol, 5ml	Gotas de 0,1ml, 3500rpm, 30s	Secagem: 200°C, 1h 700°C, 1h, 5°C/min	A solução aderiu melhor ao substrato. Obteve-se uma solução estável.

II.2 Caracterização dos monolíticos e filmes finos obtidos

II.2.1 Caracterização morfológica e estrutural

II.2.1.1 Distribuição do tamanho de partículas e BET

O pó sintético de HAp foi caracterizado em termos de distribuição de tamanho médio de partículas utilizando um equipamento *COULTER LS Particle Analyser LS 230*.

A área superficial específica do pó de HAp foi determinada pelo método de adsorção física do gás azoto, desenvolvido por Brunauer, Emmett e Teller (BET), utilizando um equipamento *Micromeritics Gemini 2380V2*.

II.2.1.2 Termogravimetria (TG)

A termogravimetria (TG), é uma técnica através da qual se regista a alteração da massa de uma determinada substância devido à interação desta com a atmosfera, a reações de vaporização e de decomposição, e é medida em função da temperatura à qual é submetida a amostra com base numa programação controlada.

A TG dos pós sintéticos de HAp foi realizada num equipamento *SETARAM*, até à temperatura máxima de 1400°C com uma velocidade de aquecimento e arrefecimento de 10°C/min.

II.2.1.3 Difração de Raios-X (DRX)

Com base no arranjo atómico interno de cada material é possível por Difração de Raios-X identificar a natureza cristalográfica dos materiais e fases nele presente.

O arranjo periódico dos iões/átomos/moléculas na rede cristalina causa interferências construtivas responsáveis pelo padrão de difração característico que surge quando o sólido cristalino é irradiado por um feixe de Raios-X (Cullity e Stock, 2001; Hammond, 2001). Uma vez que os comprimentos de onda dos Raios-X são aproximadamente iguais às distâncias entre os planos atómicos dos sólidos cristalinos, quando um feixe de Raios-X

colide com um sólido cristalino este difrata-se de acordo com os planos atômicos e seus arranjos. Em 1913, Bragg demonstrou a relação existente entre a distância que separa os planos de átomos, o comprimento de onda da radiação X incidente e ângulo de difração, ficando esta relação conhecida como Lei de Bragg (1.4),

$$n\lambda = 2d^* \sin \theta \quad (1.4)$$

onde n é um número inteiro positivo (habitualmente 1, difração de primeira ordem), λ é o comprimento de onda do Raio-X, d^* a distância entre planos cristalográficos e θ o ângulo que o raio incidente faz com os planos de reflexão.

Os planos de difração, assim como as suas respectivas distâncias interplanares, as densidades dos átomos ao longo de cada plano cristalino e o padrão de difração por ela gerado, são características específicas e únicas de cada substância cristalina (Cullity e Stock, 2001; Hammond, 2001).

Os difratogramas do pó, monolíticos e filmes finos obtidos foram adquiridos num difratômetro de Raios-X de marca *Rigaku Geigerflex Dmax-C*. Este difratômetro encontra-se equipado com um monocromador curvo de grafite, utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$. Para o pó e monolíticos, foram definidos os ângulos de varrimento, $20^\circ < 2\theta < 70^\circ$, tendo em atenção a posição dos picos de maior intensidade da HAp, e para os filmes finos a partir de um ângulo rasante de 3° foi definido os ângulos de varrimento, $20^\circ < 2\theta < 50^\circ$. No presente trabalho, o recurso a esta técnica teve como objetivo a identificação das fases cristalinas presentes no pó sintético, monolítico e filmes finos. Os picos das diferentes amostras de HAp foram indexados com base nas fichas padrões JCPDS (#09-0169, #09-0345, #76-0694, #89-4405).

II.2.1.4 Microscopia Eletrônica de Varrimento (SEM)

Com a utilização da técnica de microscopia eletrônica de varrimento, MEV (ou, do inglês, *Scanning Electron Microscopy* - SEM), é possível observar e caracterizar a microestrutura dos materiais a uma escala nanométrica (nm) ou micrométrica (μm), devido à sua grande profundidade de campo. (Amenlinckx, *et al.*, 1997).

O princípio físico de funcionamento do SEM baseia-se na incidência de um feixe de elétrons altamente acelerados, na região da amostra a ser observada, que interagem com a matéria e gera um conjunto de sinais (elétrons secundários, elétrons retrodifundidos, elétrons de Auger, raios-X característicos e outros fótons de várias energias) que são captados por detectores apropriados. Estes detectores convertem estes sinais em sinais elétricos que, ao terem intensidades variáveis, modulam a intensidade do feixe de elétrons que forma a imagem no tubo de raios catódicos. Os elétrons secundários e retrodifundidos são os de maior relevância na formação da imagem em SEM, devido a interagirem na zona superficial da amostra. Consoante o carácter condutor ou isolador da amostra, torna-se necessário recobrir o material por uma fina película metálica (Amenlinckx, *et al.*, 1997).

Neste trabalho, a superfície das amostras foi coberta com carbono visto ser um metal altamente condutor, através do equipamento de *sputtering* (K950X Turbo Evaporator).

Acolada ao SEM encontra-se uma ferramenta de análise de EDS (*Energy Dispersive X-ray analysis*) através da qual é possível determinar (qualitativa ou quantitativamente, neste último caso com recurso a padrões) a composição química elementar de uma área micrométrica da amostra.

Os pós sintéticos, os monolíticos de HAp e os filmes finos obtidos foram observados por SEM (*Hitachi S4100*).

Para a obtenção de imagens SEM dos monolíticos de HAp foi necessário previamente proceder ao polimento das amostras através de uma sequência de pastas de polimento até obter uma superfície plana e polida que foi de seguida tratada termicamente a cerca de 1200°C durante 2h para contrastar as fronteiras de grão.

II.2.2 Caracterização dielétrica

Os monolíticos foram caracterizados eletricamente (permitividade dielétrica, perdas dielétricas e resistividade) e algumas amostras caracterizadas do ponto de vista piezoelétrico. Os monolíticos foram polidos até uma espessura de aproximadamente 1cm e colocados elétrodos metálicos (ouro e prata) em ambas as faces dos discos. Os elétrodos de ouro foram colocados por evaporação de ouro (*Polaron SEM Coating Unit E5000*), em atmosfera de árgon, durante 12min, com uma corrente de 12mA, e pressão de 0,08torr (figura 11).

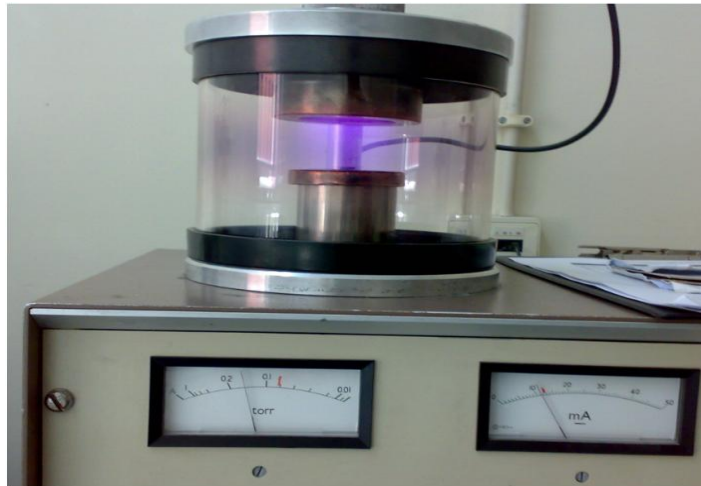


Figura 11 - Deposição de elétrodos de ouro por evaporação sobre os discos de HAp sinterizados.

Os elétrodos de prata foram pintados com uma tinta de prata sobre as superfícies dos discos de HAp, seguida de uma secagem a 100°C durante 24h para volatilizar o solvente da prata.

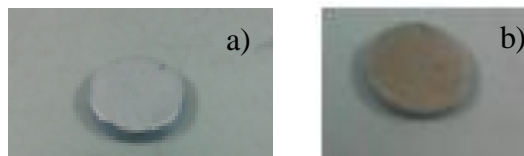


Figura 12 – Amostras obtidas após a colocação dos elétrodos. a) monolítico com elétrodo de prata, b) monolítico com elétrodo de ouro.

Para a caracterização elétrica dos monolíticos de HAp as medições elétricas e dielétricas foram realizadas usando uma ponte de impedâncias *Hewlett Packard 4284A Precision LCR Meter*, à temperatura ambiente, com uma variação da frequência aplicada (100Hz-1MHz), e com uma voltagem de 1V e de acordo com a configuração ilustrada na figura 13.

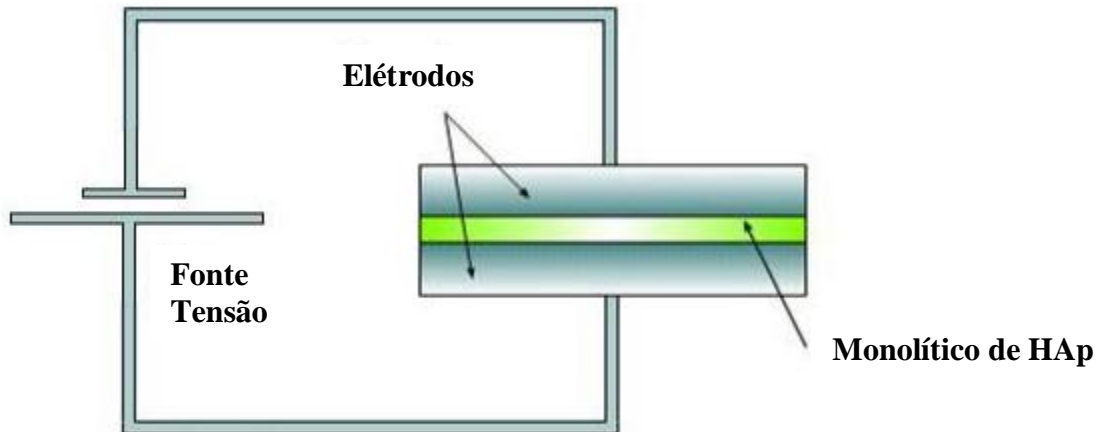


Figura 13 - Ilustração da configuração utilizada na medição da resposta elétrica dos monólitos de HAp.

Para a medição do coeficiente d_{33} dos monólitos de HAp, procedeu-se previamente à sua polarização por Descarga de Corona. Os monólitos foram colocados no interior da gaiola de *Faraday* e efetuadas as descargas elétricas consecutivas durante 30min a 12kV, e 1h a 14kV e 16kV (figura 14). Após a polarização foram medidos os coeficientes piezoelétricos d_{33} dos monólitos de HAp usando um equipamento *standard* de *Berlincourt* (*SINOCERA d_{33} Meter APC YE2730A*).



Figura 14 - Câmara de corona/ gaiola de *Faraday*.

II.2.2.1 Resistividade elétrica (Ω)

A resistividade elétrica é uma medida da resistência que um material oferece à passagem do fluxo de corrente elétrica, sendo tanto mais baixa quanto mais facilmente o material permitir a passagem de corrente elétrica.

Foi medida a resistividade elétrica dos monolíticos de HAp em corrente alternada com variação da frequência e calculada segundo a expressão:

$$R = \frac{|Z^*|}{\cos(\theta^*)} \quad (1.5)$$

em que, Z^* é a impedância e θ^* é o ângulo de fase.

II.2.2.2 Permitividade dielétrica (ϵ)

A permitividade dielétrica de um dado material determina a capacidade de um material isolador para se polarizar em resposta à aplicação de um campo elétrico (Clarke *et al.*, 2003).

A permitividade dielétrica dos monolíticos de HAp foi medida em função da frequência aplicada e calculada de acordo com as seguintes equações:

$$\epsilon = \frac{Cp \times t}{\epsilon_0 A} \quad (1.6)$$

onde A é a área do eletrodo e Cp a capacitância, obtidos a partir das fórmulas:

$$A = \frac{\pi \times D^{*2}}{4} \quad (1.7)$$

$$Cp = \frac{\sin(\theta^*)}{w \times |Z^*|} \quad (1.8)$$

sendo D^* o diâmetro dos eletrodos, t a espessura da amostra, e ϵ_0 a permitividade no vácuo ($8,854 \times 10^{-12} \text{F.m}^{-1}$).

II.2.2.3 Perdas dielétricas ($\tan \delta$)

Quando se aplica uma corrente alternada num condensador com dielétrico, a corrente que circula pelo circuito tem tanto uma componente em fase com a tensão (chamada de real) assim como uma componente fora de fase (denominada imaginária) onde ambas são causadas por uma perda resistiva ou absorção dielétrica. A esta perda, expressa pela razão entre a corrente fora de fase e a corrente em fase, chama-se de perda dielétrica, também conhecida como tangente de perda, $\tan \delta$. Fisicamente a perda dielétrica corresponde à razão entre a energia dissipada e a energia armazenada em cada ciclo, e depende da polarização e da condutividade do material dielétrico variando com a temperatura, frequência e humidade (Clarke *et al.*, 2003).

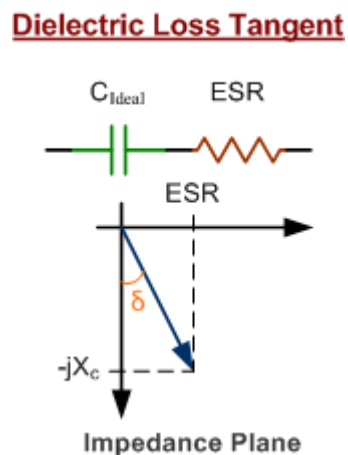


Figura 15 – A perda dielétrica é dada pelo valor da tangente do ângulo δ (www.rfcafe.com/references/electrical/dielectric-constants-strengths.htm em 01.13)

II.2.2.4 Coeficiente piezoelétrico d_{33}

As constantes piezoelétricas relacionam a deformação mecânica gerada por um campo elétrico (d_{ij}) e campo elétrico gerado por uma tensão mecânica (g_{ij}). A constante d , designada de coeficiente piezoelétrico (constante de deformação), indica a deformação mecânica produzida por um campo elétrico aplicado. Em geral d pode designar-se por:

$$d = \text{Desenvolvimento Deformação} / \text{Campo elétrico aplicado} \quad (1.9)$$

As constantes d_{ij} (expressas em V/m ou C/N) são expressas em função dos referidos sub-índices i (direção de campo elétrico associado ao potencial aplicado) e j (direção da tensão/deformação). Para materiais piezoelétricos é comum utilizar a constante d_{33} , força aplicada na direção 3 (eixo polar e paralelo ao sentido de polarização no material), na mesma superfície onde é gerada a carga (Lovinger, 1982; Icase, 2001; Zhang, 2001).

A medição dos coeficientes piezoelétricos d_{33} é de vital importância para estudar e determinar o comportamento piezoelétrico dos materiais e pode ser efetuada utilizando diferentes métodos e diferentes montagens experimentais. As mais comuns envolvem métodos eletro-óticos e métodos eletromecânicos. Estes métodos permitem a medição da deformação induzida pela aplicação de valor de tensão aplicado (em Volt) ao material, ou medindo a carga gerada no material (em Coulomb) aquando da aplicação de uma pressão (tensão) mecânica. Se a aplicação da força mecânica se dá na direção 3, sendo esta também a direção de polarização, é possível obter o valor de d_{33} (figura 16) (Zhang, 1999; Nikolai, 2005).

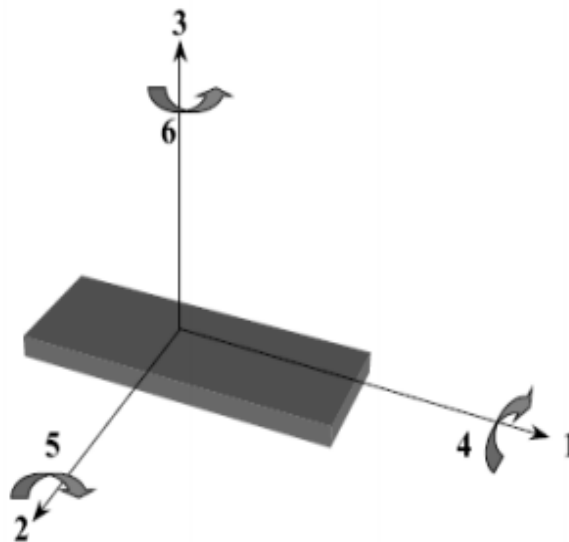


Figura 16 - Direções tensoriais i e j para definição das relações constitutivas do comportamento piezoelétrico (adaptado de Zhang, 2001).

Na medição do coeficiente piezoelétrico d_{33} , o sistema aplica uma pressão mecânica na direção normal ao material (direção 3 ou Z), da ordem de 0.25N sobre uma área de contacto pré-definida, estando a amostra também polarizada nesta direção. Esta força é aplicada ciclicamente num sinal de onda quadrada a baixas frequências (na gama dos 30Hz a 300Hz).

As pontas de prova (suporte da amostra) são condutoras e permitem medir a variação de tensão (V) aos terminais (amostra) com a variação da aplicação da força com a frequência pré-definida (figura 17).



Figura 17 - d_{33} Meter APC YE2730A com porta-amostras. O porta-amostras é composto pelos contactos que controlam a força e frequência da força aplicada (contacto 1) e o sinal elétrico obtido nos terminais das pontas de prova (contacto 2).

O valor do coeficiente piezoelétrico d_{33} é obtido em pC/N.

O coeficiente piezoelétrico das amostras polarizadas foi obtido imediatamente após os ensaios de polarização por descarga de corona. Previamente a cada ensaio é realizado um ensaio de verificação de calibração do aparelho com uma amostra calibrada (ajustando o zero do aparelho caso necessário). A amostra foi colocada entre as pontas de prova metálicas, sendo assegurado que não ocorria curto-circuito entre as pontas.

Posteriormente, as pontas são ajustadas à amostra (parafuso micrométrico) para que esta esteja bem fixa nas pontas e seja possível a leitura de um valor estável.

Capítulo III - Resultados e Discussão

Capítulo III - Resultados e Discussão

III.1 Caracterização morfológica, estrutural e dielétrica de monolíticos de HAp

III.1.1 Caracterização morfológica e estrutural

Os pós sintéticos de HAp foram caracterizados em termos de tamanho médio e morfologia das partículas e área superficial específica. Os resultados da distribuição do tamanho médio de partículas, apresentados na figura 18, indicam que estes pós têm uma distribuição bimodal, com um máximo a cerca de 3 μm e um outro máximo a cerca de 15 μm , indicando a possibilidade da presença de partículas aglomeradas. O tamanho médio de partícula medido foi de 2,576 μm .

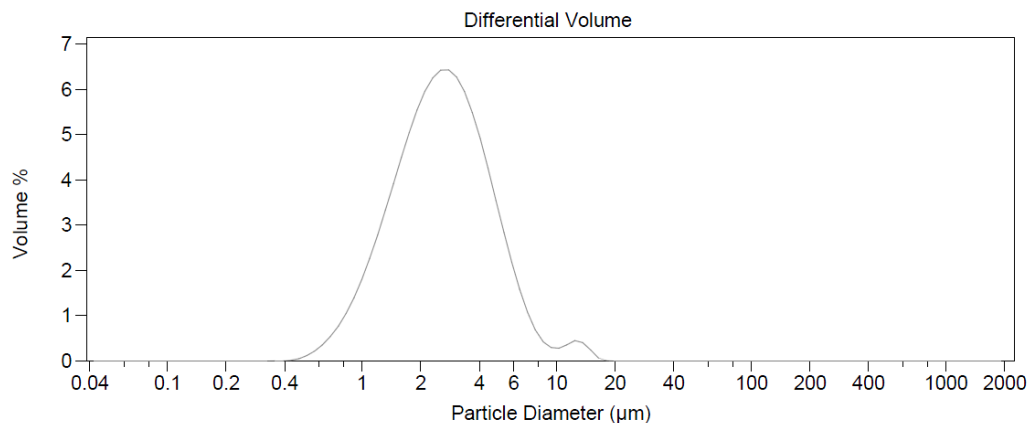


Figura 18 - Distribuição do tamanho de partícula do pó sintético de HAp.

Através da análise de BET, a distribuição do tamanho médio de partícula, indica um tamanho médio de partícula de 2,7 μm , o valor da área superficial específica (ASE) do pó sintético de HAp foi de 22,46 m^2/g . A figura 19 apresenta uma micrografia por SEM do pó em estudo.

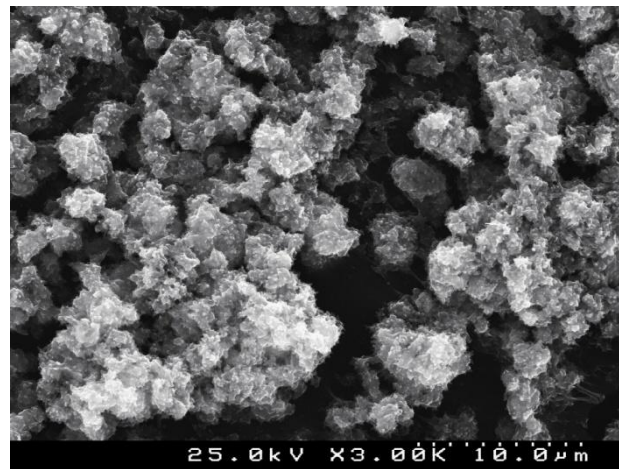


Figura 19 - Micrografia do pó sintético de HAp obtida no SEM.

Os resultados da análise termogravimétrica são apresentados na figura 20, constatando-se que ocorre uma perda sucessiva de massa do pó sintético de HAp até aos 6,5%, á temperatura de 1300°C.

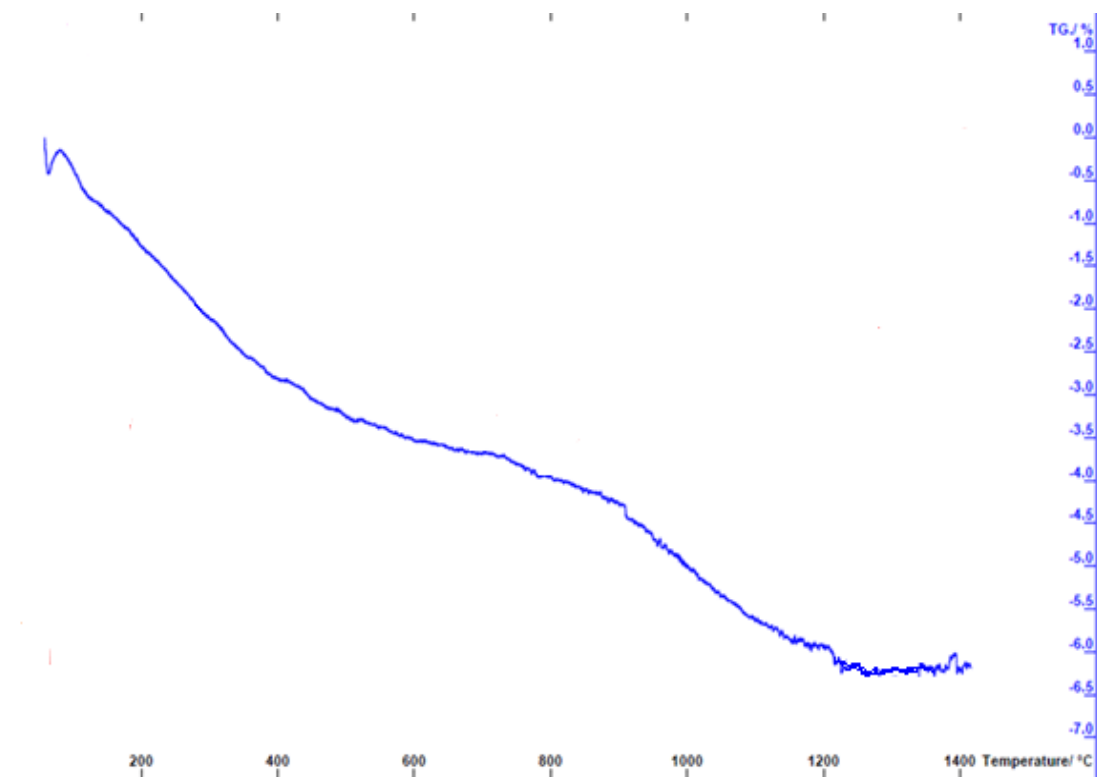


Figura 20 - TG do pó sintético de HAp.

Na Figura 21 são apresentados os difratogramas de Raios-X dos pós e do monolítico de HAp, no sentido de avaliar as fases cristalinas presentes no monolítico de HAp. Em ambos os casos foi identificada a presença da fase de HAp no sistema hexagonal ($P6_3/m$), com elevado grau de cristalinidade, o que vai de encontro ao que foi já reportado na literatura (Tas, 2000; Mahabole *et al.*, 2005). Para os monolíticos, devido à elevada temperatura de sinterização, foi encontrada uma segunda fase associada ao fosfato tricálcico, TCP, também muitas vezes descrita na literatura (Fanovich *et al.*, 1999; Gittings *et al.*, 2008).

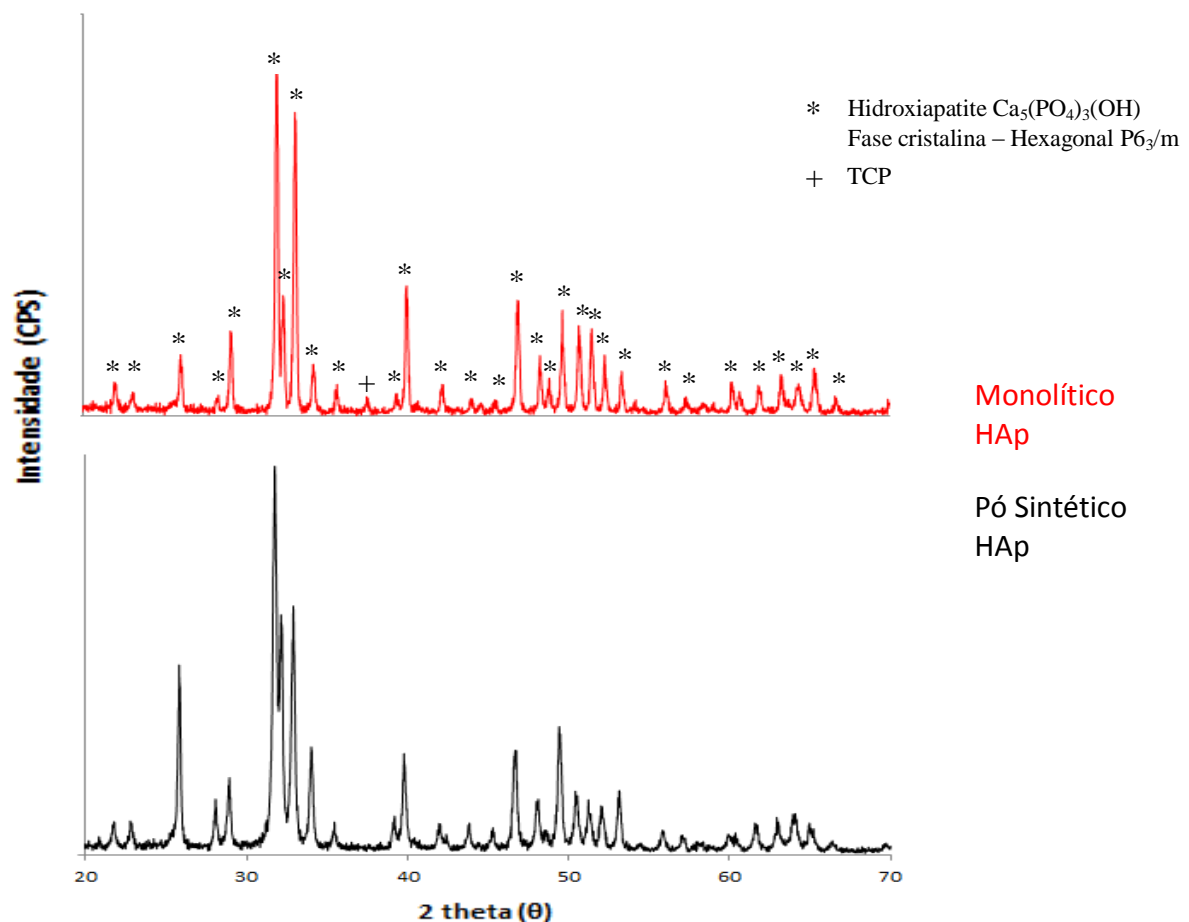


Figura 21 - Difratogramas obtidos do monolítico de HAp e do pó sintético.

A figura 22 mostra as micrografias do monolítico de HAp (duas ampliações) após o tratamento térmico a $1200^{\circ}C$, durante um total de 1h, a uma taxa de $10^{\circ}C/min$. A microestrutura apresenta-se homogénea e os cerâmicos são densos, confirmando a densificação calculada pelo método de Arquimedes com valores de cerca de 96%, e

apresentam uma distribuição de tamanho de grão bimodal, com um tamanho médio de grão de 3,4 μm , medido com auxílio de uma grelha de linhas paralelas de comprimento conhecido. Esta microestrutura está de acordo com o que se tem vindo a apresentar na literatura, correspondente a uma percentagem de densificação de cerca de $96\% \pm 0,5$ (Tas, 2000).

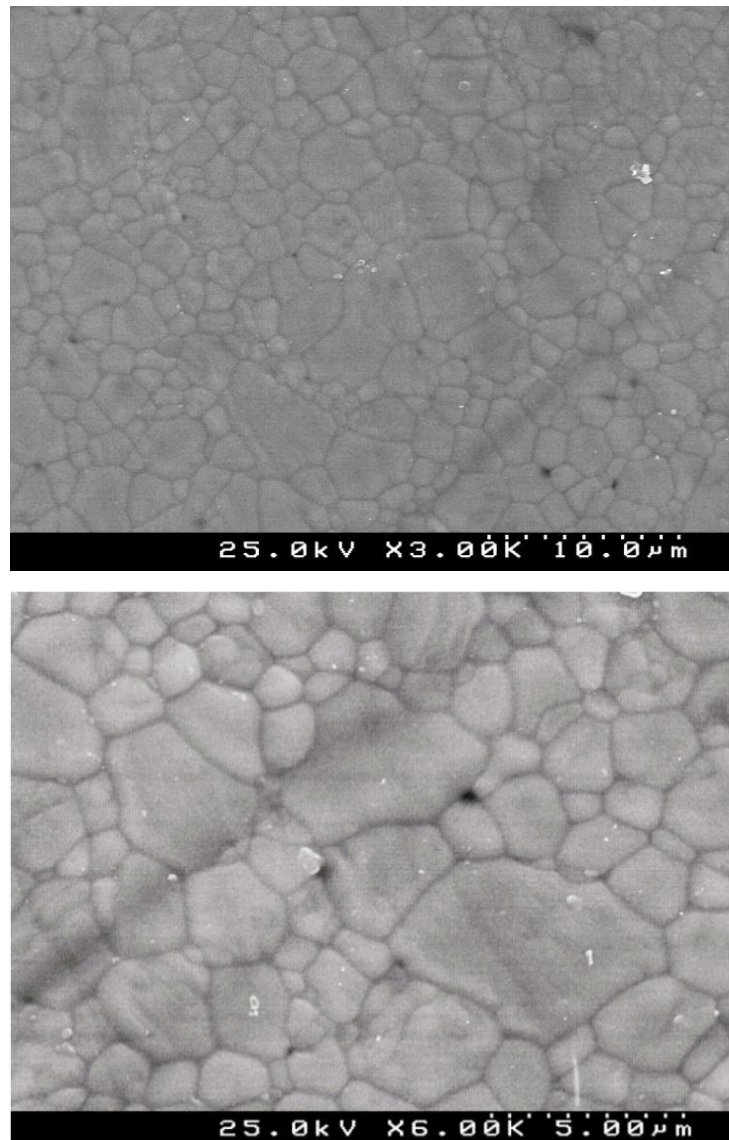


Figura 22 - Micrografias em SEM do monolítico de HAp após tratamento térmico a 1200°C.

A avaliação semiquantitativa da composição química dos monolíticos de HAp foi feita por EDS (figura 23) e foi determinada uma razão Ca/P de 1.70, estando de acordo com a razão Ca/P esperada de 1.67, determinado no pó sintético e correspondente à HAp estequiométrica.

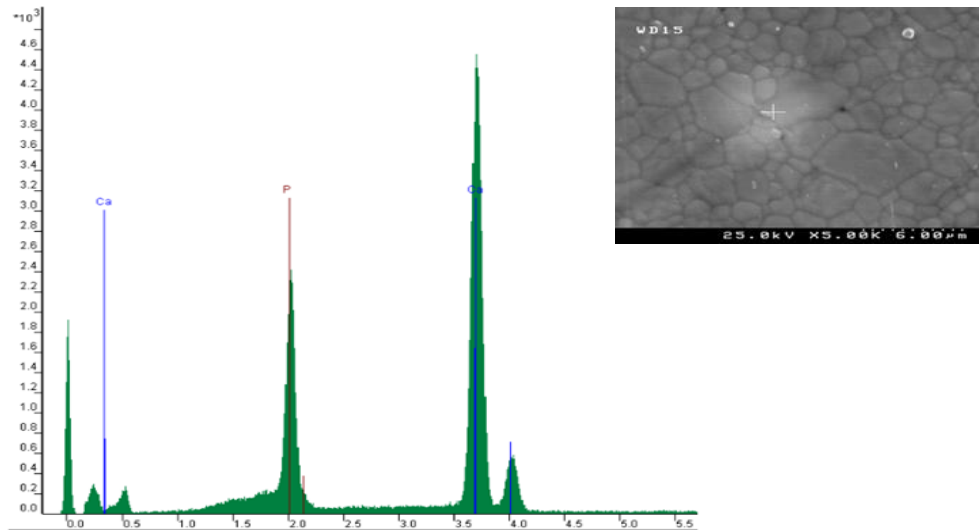


Figura 23 - EDS do monolítico de HAp na região da amostra assinalada.

III.1.2 Caracterização dielétrica

III.1.2.1 Resistividade elétrica vs frequência

A resistividade elétrica em corrente alternada dos monólitos de HAp foi medida em função da frequência (figuras 24 e 25). Foram efetuadas medidas em amostras com densidades diferentes, nomeadamente 91,7% e 96,5%, e o possível efeito da natureza do eletrodo foi avaliado usando eletrodos de ouro e de prata.

Os monólitos de HAp apresentam valores de resistividade ac que variam entre 2 e 3 $\times 10^{11} \Omega m$ para a frequência de 1 MHz, para ambas as densidades e tipos de eletrodos usados. À medida que a frequência aumenta, a resistividade das amostras diminui (de $10^{14} \Omega m$ para $10^{11} \Omega m$) sendo essa diminuição mais acentuada para as frequências mais baixas, o que poderá também estar relacionado com as limitações de medidas da ponte de impedâncias em causa, para as baixas frequências.

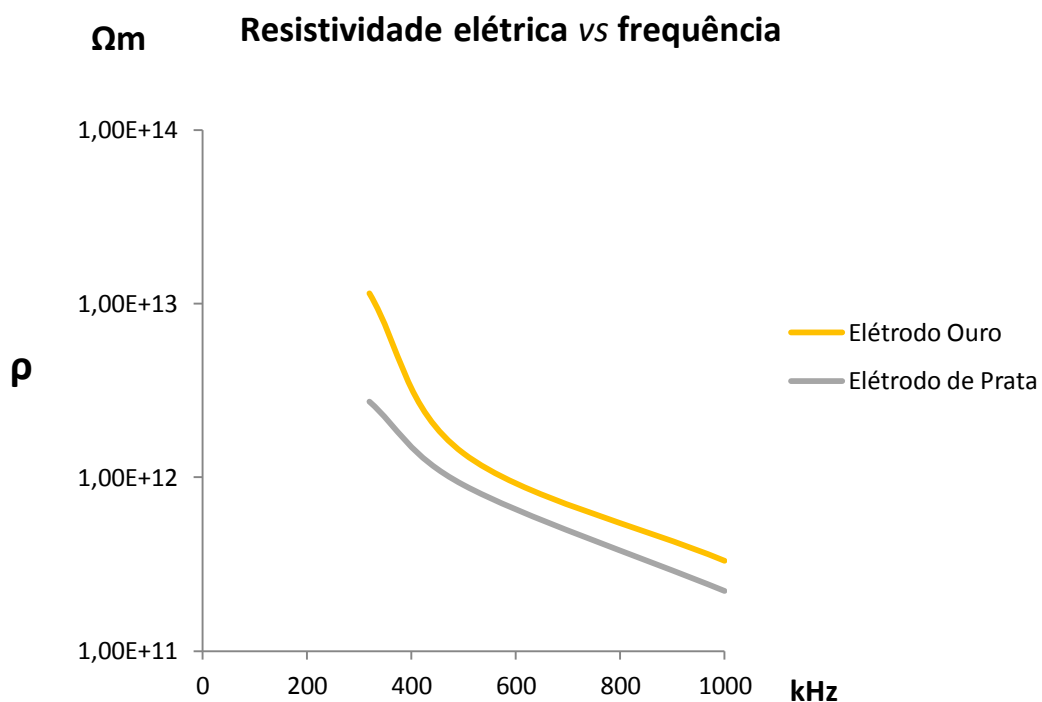


Figura 24 - Resistividade elétrica vs frequência para o monólito de densidade de 91,7%

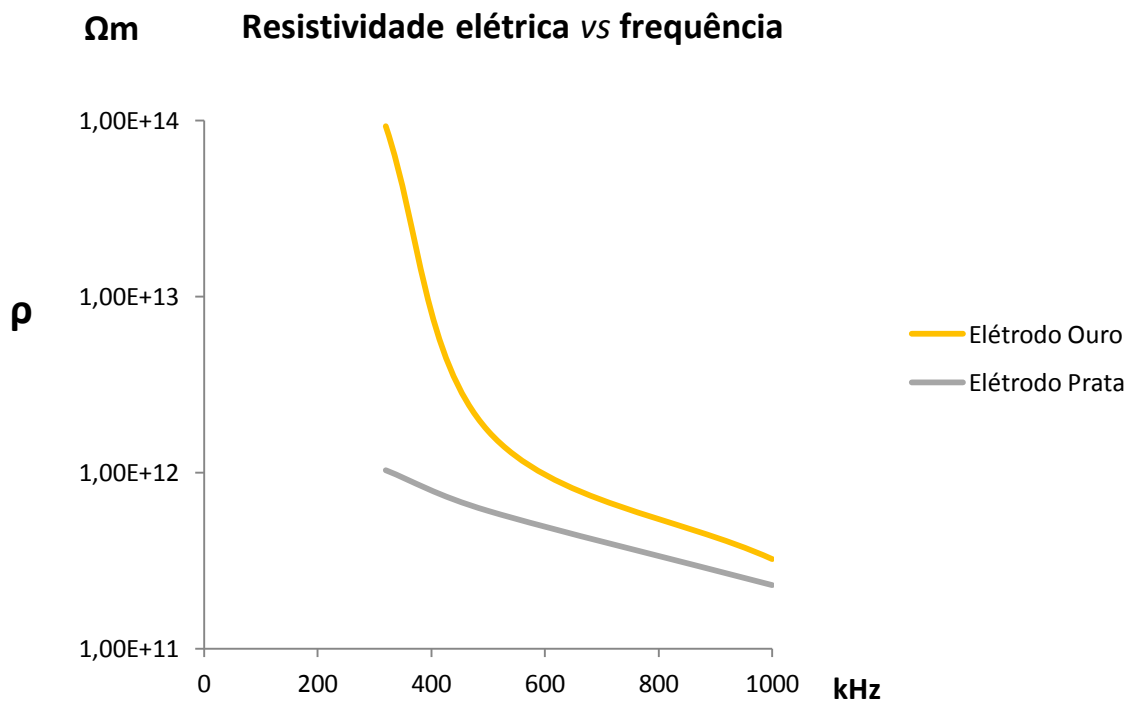


Figura 25 - Resistividade elétrica vs frequência para o monólítico de densidade de 96,5%

Os valores obtidos para a resistividade dos monólitos de HAp estão de acordo com os valores reportados por Kaygili *et al.*, 2012 (tabela 1), onde indicam um valor de resistividade de $10^{11}\Omega\text{m}$, para a HAp com a simetria hexagonal ($P6_3/m$) para a frequência de 1MHz.

Fazendo uma análise dos eletrodos utilizados, é notório que para os eletrodos de ouro se obtém um valor superior de resistividade, comparativamente com os eletrodos de prata, o que indica que para os eletrodos de ouro ocorre uma maior obstrução à passagem de corrente elétrica.

III.1.2.2 Permittividade dielétrica vs frequência

A permissividade dielétrica dos monolíticos de HAp foi medida em função da frequência, e os resultados obtidos estão representados na figura 26.

Para o monolítico de HAp de elevada densidade, os valores da permissividade dielétrica são de cerca de 13 a 1 MHz, com variações insignificantes e dentro da margem de erro da medição para as medidas efetuadas com os dois tipos de elétrodos. De notar ainda que a variação de permissividade dielétrica é praticamente independente da frequência de medida, na gama de medidas utilizadas.

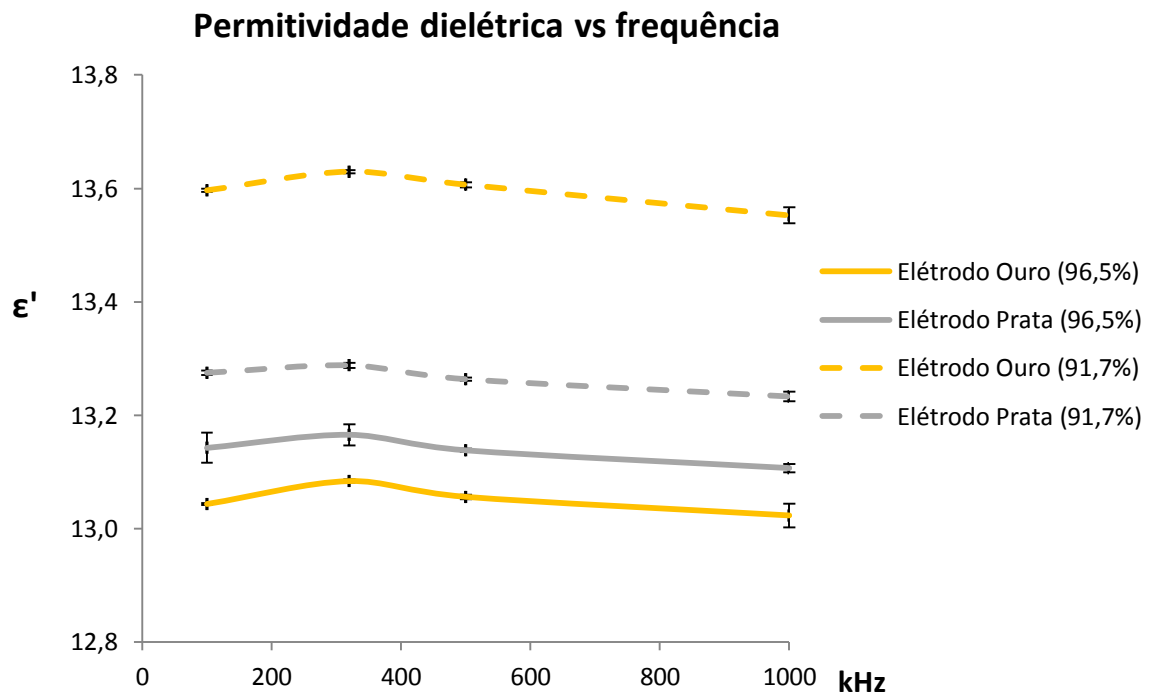


Figura 26 – Permittividade dielétrica vs frequência para os monolíticos de densidade de 96,5% e 91,7%.

Os resultados obtidos estão de acordo com os valores previamente reportados na literatura. Fanovich *et al.*, 1999 indicam um valor de 12,61 para uma densidade de 86% de cerâmicos de HAp, Gittings *et al.*, 2008, por sua vez indicam o valor de 13 para a frequência de 1MHz, para cerâmicos de HAp com uma porosidade entre 5-10% e Silva *et al.*, 2009, reportam valores entre 10 e 13,7 a 1 KHz.

III.1.2.3 Perdas dielétricas vs frequência

As perdas dielétricas dos monolíticos de HAp foram também medidas e a sua variação com a frequência está representada na figura 27.

De uma forma geral a perda dielétrica aumenta com o aumento da frequência de medida, atingindo-se valores elevados de perda dielétrica de 0,61 para os cerâmicos mais porosos e para as medições com elétrodos de prata. Como é bem conhecido a porosidade tem um efeito prejudicial na perda dielétrica dos cerâmicos isoladores, criando caminhos alternativos para o processo de condução. Este comportamento está também de acordo com os valores de resistividade obtidos para estas amostras. Os valores mais elevados de perda dielétrica para as amostras medidas com os elétrodos de prata podem estar relacionados com o método de deposição dos elétrodos, já que a deposição por evaporação garante uma melhor adesão dos elétrodos à superfície das amostras.

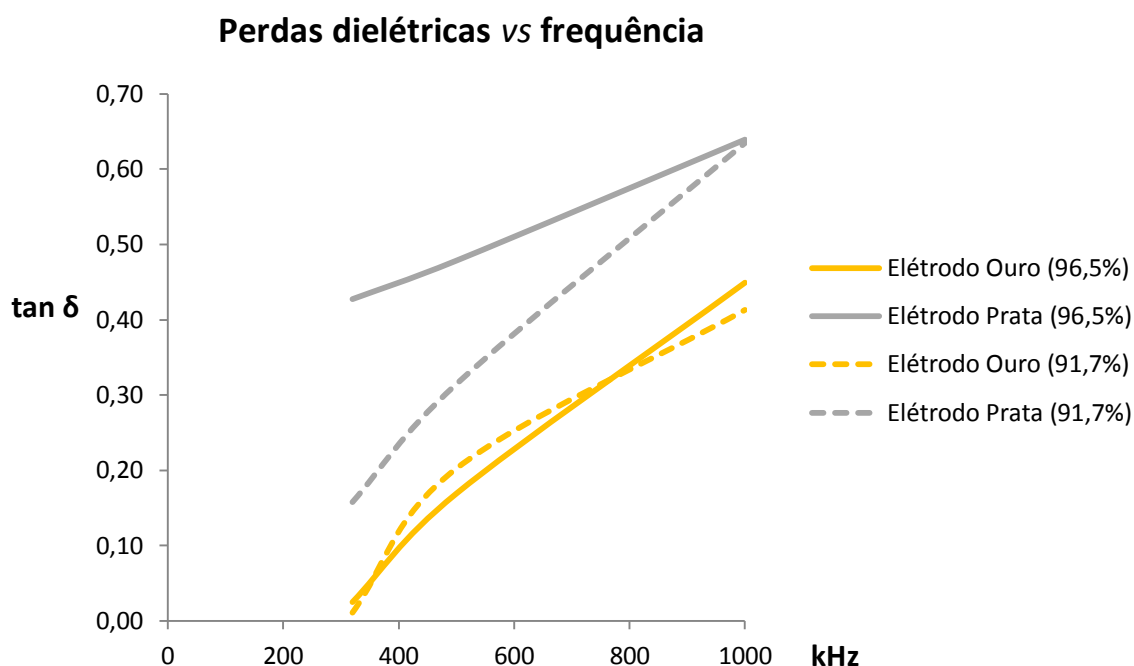


Figura 27 – Perdas dielétricas vs frequência para os monolíticos de densidade de 96,5% e 91,7%.

Os resultados obtidos neste estudo estão de acordo com o que é reportado na literatura, como se apresenta na tabela 1, em que Mahabole *et al.*, 2005 relatam valores de perdas

dielétricas de 0,1 em monolíticos de HAp com o sistema cristalino hexagonal, para a frequência de 1MHz, utilizando elétrodos de prata, sem no entanto fazerem referência à porosidade do monolítico. Silva *et al.*, 2005 também descrevem perdas dielétricas entre os 0,06 em monolíticos de HAp para o mesmo sistema cristalino, utilizando elétrodos de ouro, mas para a frequência de 1kHz, desconhecendo-se também o valor da porosidade desses monolíticos. Segundo a literatura, com o aumento da temperatura, ocorre um aumento das perdas dielétricas em monolíticos de HAp (Toshiyuki *et al.*, 1999; Zakharov e Orlovskii, 2001).

III.1.2.4 Coeficiente piezoelétrico

O valor do coeficiente piezoelétrico d_{33} foi medido para os monolíticos de HAp polarizados para diferentes campos elétricos (12, 14 e 16 kV) e diferentes tempos de polarização (30 e 60 minutos), Para cada uma destes ensaios os valores obtidos para o d_{33} foram sempre nulos ($d_{33} = 0$ pC/N). Os cerâmicos não polarizados apresentaram também uma resposta piezoelétrica nula (Tabela 4).

Dos vários coeficientes piezoelétricos existentes, os nossos resultados só mostraram um valor nulo para o d_{33} , indo de encontro ao que tem vindo a ser afirmado na literatura para o sistema cristalino hexagonal ($P6_3/m$) da HAp (Toshiyuki *et al.*, 1999; Tofail *et al.*, 2005).

Tabela 4 - Coeficientes piezoelétricos d_{33} obtidos para os monolíticos de HAp em função do campo elétrico aplicado e do tempo de polarização. Em qualquer das situações experimentais o valor do d_{33} foi nulo.

Tensão de Descarga (kV)	Tempo Polarização (min)	d_{33} (pC/N)
Não Polarizado	X	0
12	30	0
14	60	0
16	60	0

III.2 Caracterização morfológica, estrutural e dielétrica dos filmes finos de HAp

III.2.1 Caracterização morfológica e estrutural

Os filmes finos obtidos foram preparados a partir da solução mais estável (experiência 9 da tabela 3). De forma a estudar o processo de cristalização dos filmes finos foram efetuados tratamentos térmicos a diferentes temperaturas (400, 500, 600 e 700°C) aos pós obtidos deste gel previamente seco a 120°C durante 24h e as fases formadas foram identificadas por difração de Raios-X (figura 28).

Analisando os difratogramas na figura 28, para o pó calcinado à temperatura de 400°C, verifica-se alta cristalinidade e surgem para além da fase da HAp como fase secundária a fase do fosfato de cálcio ($\text{Ca}_2(\text{P}_2\text{O}_7)$). Para o pó calcinado à temperatura de 500°C, também se verifica a existência de uma fase secundária própria do fosfato de cálcio ($\text{Ca}_2(\text{P}_2\text{O}_7)$). Após o tratamento térmico à temperatura de 600°C, o espectro de Raios-X mostrou elevada cristalinidade das fases presentes neste pó, tanto para a fase HAp, como para a fase secundária própria do fosfato de cálcio ($\text{Ca}_2(\text{P}_2\text{O}_7)$). Com o tratamento térmico aos 700°C, surge uma nova fase cristalina relativa ao TCP. Para temperaturas ainda mais elevadas, e como é relatado na literatura, verifica-se uma decomposição deste material, resultando no aparecimento de novas segundas fases, nomeadamente o CaO (Lopatin *et al.*, 1998).

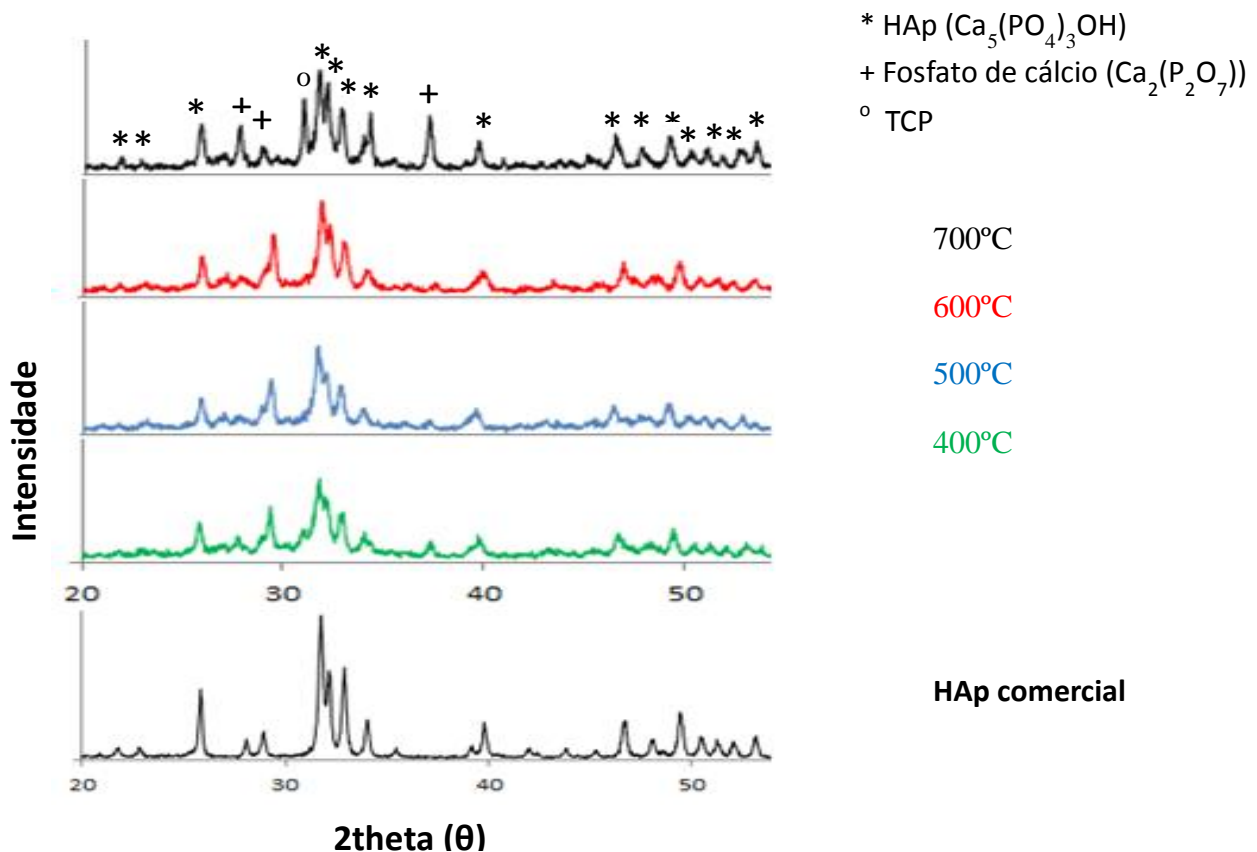


Figura 28 - Difratogramas do pó obtido para a experiência 9 a diferentes temperaturas de calcinação.

Visto que da solução estável se obtinham pós de HAp com elevada cristalinidade, procedeu-se à sua deposição na forma de filme fino em substratos de silício, sobre os quais se efetuaram 2 deposições da solução, obtendo-se um filme com uma espessura de aproximadamente 750nm, medidos através de SEM (figura 29).

Assim, usaram-se as seguintes condições:

- ✓ Spin Coating 3500rpm, 30seg (2x);
- ✓ Temperatura de secagem: 200°C, 1h;
- ✓ Temperatura de recozimento: 700°C, 1h;

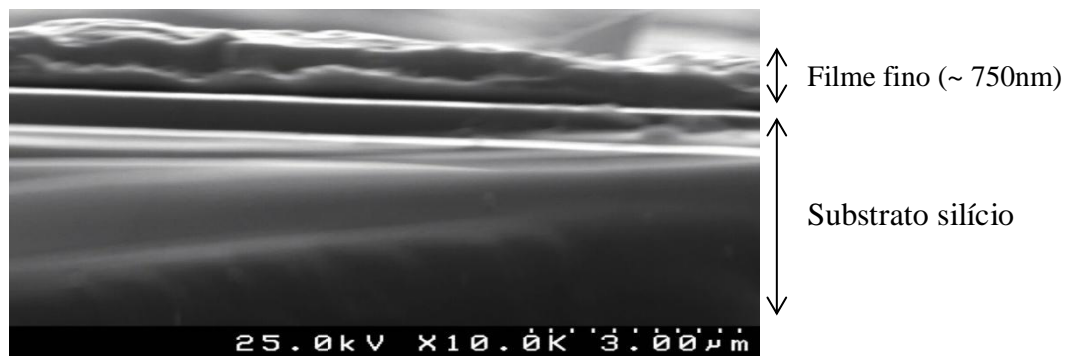


Figura 29 - Micrografia por SEM da seção transversal do filme fino obtido com duas camadas de deposição sobre o substrato de silício.

A figura 30 mostra o difratograma de ângulo rasante (3°) do filme fino obtido sobre o substrato de silício. Verifica-se que o filme fino obtido é amorfo, sendo os picos de maior intensidade relativos ao substrato e não ao filme fino.

Comparando os resultados obtidos com os reportados por Lang *et al.*, 2011, não se verifica qualquer semelhança em relação à cristalinidade do filme fino, apesar de terem sido utilizadas idênticas condições experimentais, designadamente no que se refere à temperatura de tratamento térmico.

Para a solução do trabalho aqui apresentado realizaram-se ainda outras condições experimentais, nas quais se utilizou uma temperatura de secagem de 125°C e de recozimento de 325°C , assim como é reportado na literatura por Lopatin *et al.*, 1998, e ainda uma temperatura de secagem de 200°C e de recozimento de 500°C , assim como é reportado na literatura por Hsieh *et al.*, 2002 obtendo-se também para estas condições um filme fino amorfo (figura 31).

Relativamente à existência de atividade piezoelétrica da HAp na forma de filme fino, tal como foi constatado por Lang *et al.*, 2011, não foi possível reproduzir os resultados obtidos por estes autores. Uma pesquisa mais criteriosa na literatura e porventura a conceção de experiências especificamente desenhadas para o efeito poderão ajudar a esclarecer se a HAp apresenta de facto atividade piezoelétrica quando produzida na forma de filmes finos.

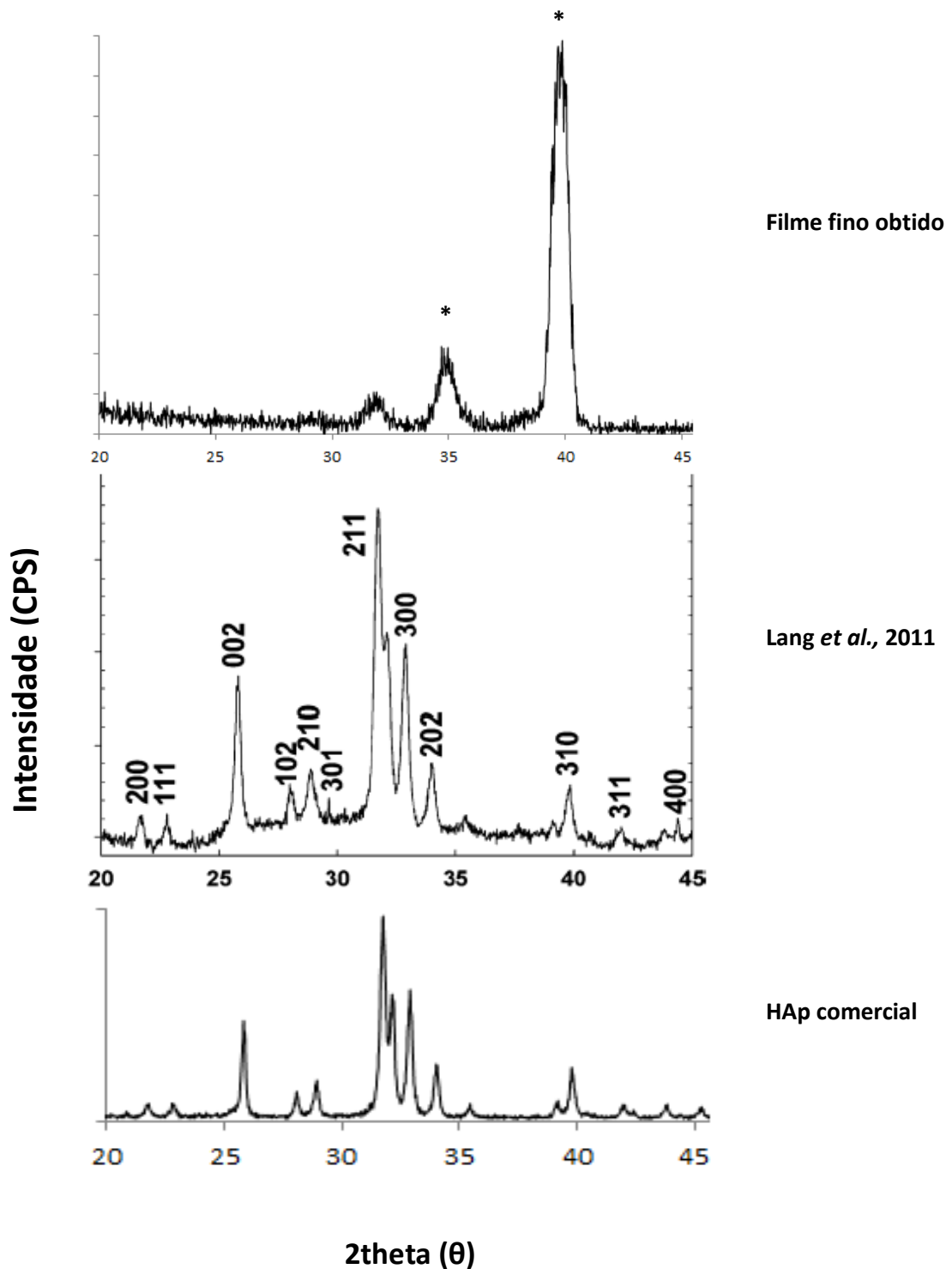


Figura 30 – Difractogramas comparativos dos resultados dos filmes finos obtidos por Lang *et al.*, 2011 e do filme obtido neste estudo. Um filme amorfo resultou para as mesmas condições experimentais. (*)Substrato de silício.

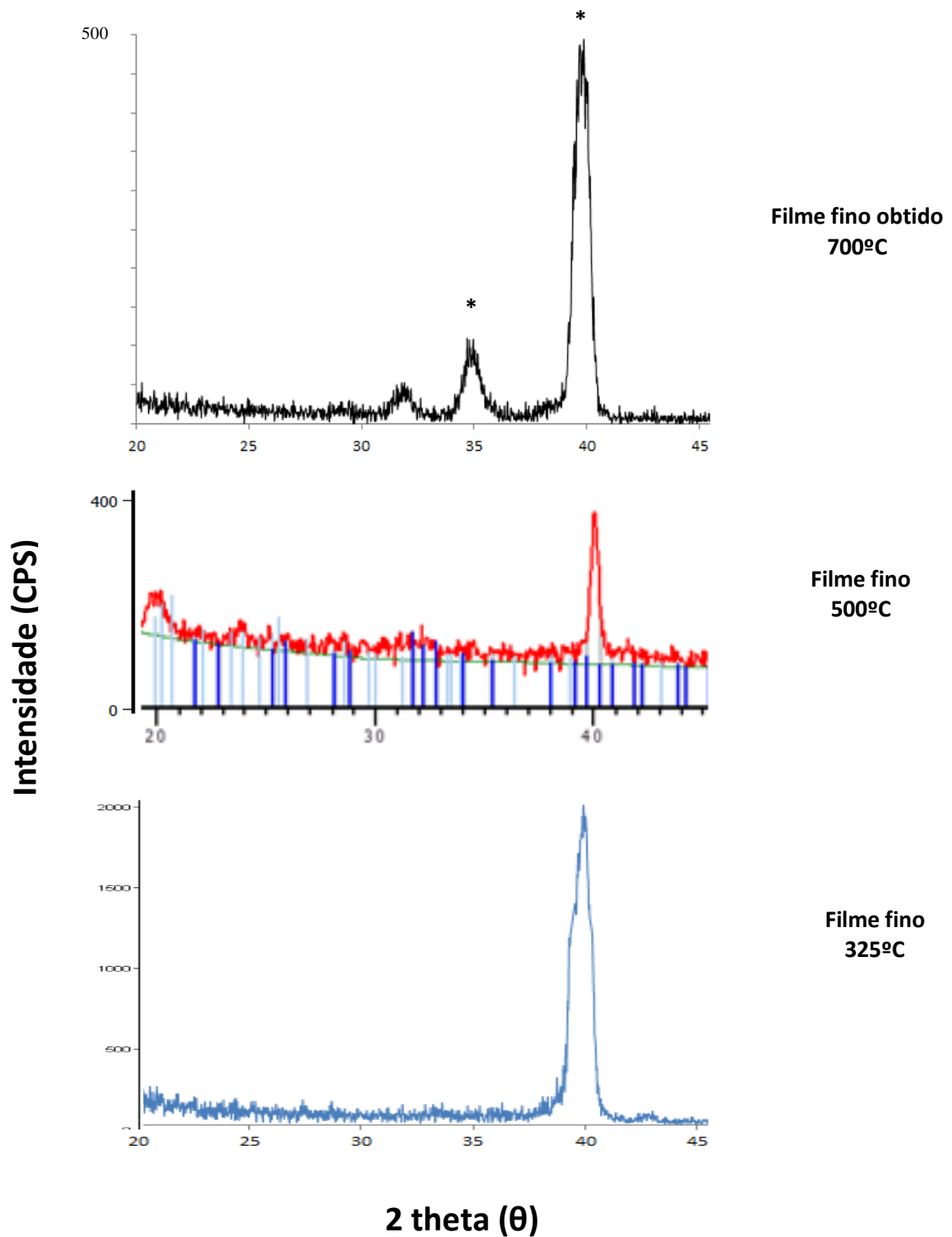


Figura 31 – Difratogramas comparativos dos resultados obtidos para as diferentes temperaturas de recozimento utilizadas na preparação dos filmes finos a partir da solução estável. Todos os difratogramas foram realizados com um ângulo rasante de 3°. (*) Substrato de silício.

Capítulo IV - Conclusões e Perspetivas Futuras

Capítulo IV – Conclusões e Perspetivas Futuras

O interesse pela aplicação de biomateriais para substituição e regeneração óssea aumentou significativamente na última década. A hidroxiapatite é considerada um dos biomateriais mais promissores, devido à sua biocompatibilidade, bioatividade e osteocondutividade.

O osso exibe um comportamento piezoelétrico e, como tal, desenvolve carga elétrica sob a aplicação de tensão mecânica, pensando-se que tal comportamento influencia a atividade de formação óssea.

As propriedades elétricas da HAp preparada na forma de monolítico e na forma de filme fino têm sido estudadas nos últimos anos. Além disso, a piezoelectricidade nestas duas formas também tem sido estudada. Pretendeu-se assim com este trabalho averiguar a existência de atividade piezoelétrica em monolíticos de HAp e comparar a sua resposta com filmes finos obtidos, com o objetivo de contribuir para o esclarecimento destas diferenças de comportamento.

Assim, prepararam-se monolíticos de HAp por prensagem uniaxial, seguido de uma caracterização morfológica por SEM, caracterização estrutural por DRX e caracterização dielétrica por medição de permitividade dielétrica, perdas dielétricas, resistividade elétrica e coeficiente piezoelétrico d_{33} .

Para os monolíticos preparados, uma densidade final média de 96% foi obtida através de uma pressão de prensagem utilizada no seu processamento de 1ton e com uma temperatura de sinterização de 1300°C, sendo assim esta temperatura e pressão usada ótimas para se adquirir monolíticos de elevada densidade para este material.

Resultaram também valores de permitividade dielétrica = 13, perdas dielétricas de 0,6 e uma resistividade elétrica na ordem dos $10^{11}\Omega\text{m}$ para 1MHz, e ainda um coeficiente piezoelétrico nulo ($d_{33} = 0 \text{ pC/N}$). Os filmes finos foram obtidos por *spincoating* do sol mais estável (nitrato de cálcio tetrahidratado e trietil fosfato como precursores de cálcio e fósforo e o 2-metoxietanol como solvente) foram caracterizados morfológica e estruturalmente. Da replicação das condições experimentais descritas por Lang *et al.*, 2011, resultou sobre os substratos de silício um filme fino amorfo com aproximadamente 750nm de espessura contrariamente ao filme com elevado grau de cristalinidade descrito por estes investigadores.

Os resultados reportados por Lang *et al.*, não foram possíveis replicar, sendo este um fator adicional para a controvérsia provocada pelos seus resultados relativos à existência de uma atividade piezoelétrica em filmes finos de HAp, visto que, nem um filme cristalino se conseguiu obter.

No entanto, uma possível existência de atividade piezoelétrica em filmes finos de HAp possibilitará o seu uso em revestimentos biocompatíveis de materiais implantáveis de modo a poder acelerar o processo de regeneração óssea localizada nos pacientes através de uma estimulação elétrica, ou então, como materiais isoladores em dispositivos médicos bio-eletrônicos.

Este é assim um tema com amplo desenvolvimento, o qual pode trazer um enorme avanço no campo do processamento de novos dispositivos biomédicos, com novas e vantajosas propriedades para a área da medicina, sendo um tema ainda muito precoce e com vasta investigação.

O desenvolvimento deste projeto demonstrou que as propriedades elétricas da HAp podem vir a ter um enorme impacto no desenvolvimento de novos dispositivos biomédicos. Neste sentido, em estudos posteriores, seria interessante:

- ✓ Investir na preparação de filmes finos de HAp com grau de cristalinidade controlável;
- ✓ Persistir na possibilidade de existência de uma atividade piezoelétrica na HAp na forma de filme fino;
- ✓ Confirmar a possível existência de comportamento piezoelétrico em cerâmicos de HAp nas possíveis novas simetrias encontradas.

Referências bibliográficas

Referências Bibliográficas

Amenlinckx, S. et. al (1997). Electron Microscopy: Principals and Fundamentals. VCH, capítulo2.

Baxter F.R., Bowen C.R., Turner I.G., Dent A.C.E., (2010). "Electrically Active Bioceramics: A Review of Interfacial Responses", Annals of Biomedical Engineering, v.38, p.2079-2092.

Beganskiene A., Dudko O., Sirutkaitis R., Giraitis R., (2003). "Water based sol-gel synthesis of hydroxyapatite". Materials Science, v.9, p.1392-1320.

Bohner M.; (2001). "Physical and chemical aspects of calcium phosphates used in spinal surgery", J. Eur. Spine, v.10, p.114-121.

Boston Piezo-Optics Inc., "An Introduction to Piezoelectric Transducer Crystals". Disponível em: <http://www.bostonpiezooptics.com/?D=6>. Consultado em: 25/05/12.

Breme J., Zhou Y., Groh L., (1995). "Development of a Titanium Alloy Suitable for na Optimized with Hydroxyapatite", Biomaterials, v. 16, p. 239-244.

Brendel T., Engel A., Russel C., (1992). "Hydroxyapatite Coatings by a Polymeric Route"; Journal of Material. Science: Mater. Med., v. 3, p. 175-179.

Bronner F., Worrel R.V., (1999). "Orthopedics Principles of Basic and Clinical Science".

Bystrov V.S., Paramonova E., Dekhtyar Yu, Katashev A., Karlov A., Polyaka N., Bystrova A.V., Patmalnieks A., Kholkin A.L., (2011). "Computational and experimental studies of size and shape related physical properties of hydroxyapatite nanoparticles", Journal of Physics: Condens. Matter, v.23, 065302.

Calderin L., Stott M.J., (2003). "Electronic and crystallographic structure of apatite", Physical Review B, Vol. 67, 134106-1.

Chai C.S., Gross K.A., Ben-nissan B., (1998). "Critical ageing of hydroxyapatite sol-gel solutions", *Biomaterials*, v.19, 2291-2296.

Cheng K., Shen G., Weng W., Han G., Ferreira J.M.F., Yang J. (2001). "Synthesis of hydroxyapatite/fluoroapatite solid solution by a sol-gel method", *Materials Letters*, v.51, p.37-41.

Cheng K., Han G., Weng W., Qu H., Du P., Shen G., Yang J., Ferreira J.M.F., (2003). "Sol gel derived flouridated hydroxyapatite films", *Materials Research Bulletin*, v.38, p.89-97.

Clarke B., Gregory A., Cannell D., Patrick M., Wylie S., Youngs I., Hill G., (2003). "A guide to characterization of dielectric materials at RF and microwave frequencies". The Institute of Measurements and Control. London.

Completo A., Fonseca F., (2010). "Fundamentos de Biomecânica – Músculo - Esquelética e Ortopedia", *Biomet*, p.237-255.

Cullity, B.; Stock, S. (2001). *Elements of X-Ray Diffraction*. 3ª Edição, New Jersey - USA, Prentice Hall.

Cüneyt A.T., (2001). "Molten Salt Synthesis of Calcium Hydroxyapatite Whiskers", *Journal Am. Ceramic Society*, v.84, 2, p.295-300.

Eriksen E.F., Gundersen H.J., Melsen F., Moseleilde (1984). "Reconstruction of the formative site in iliac trabecular bone in 20 normal individuals employing a kinetic model for matrix and mineral opposition. *Metab. Bone Dis. Relat. Res.*; s: 243.

Fanovich M.A., Castro M.S., López J.M.P. (1997). "Analysis of the microstructural evolution in hydroxyapatite ceramics by electrical characterisation", *Ceramics International*, v.25, p. 517-522.

Fukada E., Yasuda I., (1957). "On the Piezoelectric Effect of Bone", *Journal of the Physical Society of Japan*, v.12, no.10, p.1158-1162.

Ghomi H., Fathi M.H., Edris H., (2011). "Preparation of nanostructure hydroxyapatite scaffold for tissue engineering applications", *Journal of Sol-Gel Science Technology*, v.58, p.642-650.

Gittings, J., Bowen C.R., Turner I.G., Baxter F., Chaudhuri J., (2008). “Characterisation of Ferroelectric-Calcium Phosphate composites and Ceramics”, *Journal of the European Ceramic Society*, v.27, p.4187-4190.

Gittings, J., Bowen C.R., Dent A.C.E., Turner I.G., Baxter F.R., Chaudhuri J.B., (2009). “Electrical Characterization of Hydroxyapatite-Based Bioceramics”, *Acta Biomaterialia*, v.5, p.743-754.

Gurgel S.J.L., (2002). “Respostas Ósseas a Cargas Mecânicas”, Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Gutierrez, Lopes M.M.A., Hussain N.S., Cabral A.T., Santos L.A.J.D., (2006). “Substituintes Ósseos: Conceitos Gerais e Estado Actual”, ed. M. A. Lopes. Porto: *Arquivos de Medicina*: 19(4), p.153-162.

Hammond, C. (2001). *The Basics of Crystallography and Diffraction*. 2ª Edição, Oxford: International Union of Crystallography, Oxford University.

Haverty D., Tofail S.A.M., Stanton K.T., McMonagle J.B. (2005). “Structure and stability of hydroxyapatite: Density functional calculation and Rietveld analysis”, *Physical Review B*, v.71, 094103.

Haddow D.B., James P.F., Van Noort R. (1996). “Characterization of Sol-Gel Surfaces for Biomedical Applications”, *Journal of Materials Science: Mater. Med.*, v.7, p.255-260.

Hijón N., Victoria C. M., Isabel I., Angel G. M., Maria V., (2006). “Nanocrystalline bioactive apatite coatings”, *Solid State Sciences*, v.8, p.685-691.

Hoepfner T.P., Case E.D., (2001). “The porosity dependence of the dielectric constant for sintered hydroxyapatite”, in *Dielectric Properties of Hydroxyapatite*, p.643-650.

Hontsu S., Matsumoto T., Ishii J., Nakamori M., Tabata H., Kawai T., (1997). “Electrical properties of hydroxyapatite thin films grown by pulsed laser deposition”, *Thin Solid Films*, v.295, p.214-217.

Hshieh M.F., Pwerng L.H., Chin T.S., (2002). “Hydroxyapatite coating on Ti6Al4V alloy using a sol–gel derived precursor”, *Materials Chemistry Physics*, v.74, p.245-250.

Hwang, K., Lim, Y., (1999). “Chemical and structural changes of hydroxyapatite films by using a sol-gel method”, *Surface and Coatings Technology*, v.115, p.172-175.

Hwang K., Song J., Kang B., Park Y., (2000). “Sol-gel derived hydroxyapatite films on alumina substrates”, *Surface & Coatings Technology*, v.123, p.252-255.

Icase, 2001. “Piezoelectric Polymers”, ICASE, NASA Langley Research Center.

Junqueira e Carneiro, (1999): *Histologia Básica*, Guanabara Koogan, 9ª edição, Rio de Janeiro

Kaygili O., Tatar C., Yakuphanoglu F., (2012). “Structural and dielectrical properties of $Mg_3Ca_3(PO_4)_2$ bioceramics obtained from hydroxyapatite by sol–gel method”, *Ceramics International*, v.38, p.5713-5722.

Kheradmandfard, M., Fathi, M., (2010). “Preparation and characterization of Mg-doped fluorapatite nanopowders by sol–gel method”. *Journal of Alloys and Compounds*, v.504, p.141-145.

Kim B., Jeong J., Jeon Y., Jeon K., Hwang K., (2007). “Hydroxyapatite layers prepared by sol–gel assisted electrostatic spray deposition”, *Ceramics International*, v.33, p.119-122.

Kryszewski M., (2004). “Fifty Years of Study of the Piezoelectric Properties of Macromolecular Structured Biological Materials”, *Acta Physica Polonica A*, v.105, n°4.

Kovaleva, E., Shabanov M. P., Putlayev V. I., Filippov Ya. Yu., Tretyakov Y. D., Ivanov V. K., (2008). “Carbonated Hydroxyapatite Nanopowders for Preparation of Bioresorbable Materials”, *Mat.-Wiss. U. Werkstofftech*, v.39, no.11, p.822-829.

Lang S. B., Tofail S.A.M., Gandhi A.A., Gregor M., Wolf-Brandstetter C., Kost J., Bauer S., Krause M., (2011). “Pyroelectric, piezoelectric, and photoeffects in hydroxyapatite thin films on silicon”, *Applied Physics Letters*, v.98, 123703.

Lim Y., Hwang K., Park Y., (2001). “Sol-Gel Derived Functionally Graded TiO₂/HAP Films on Ti-6Al-4V Implants”, *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v.21, p.123-128.

Liu D.M., Yang Q., Troczynski T., Tseng W., (2002). “Structural evolution of sol-gel-derived hydroxyapatite”, *Biomaterials*, v.23, p.1679-1687.

Lopatin C.M., Pizziconi V., Alford T.L., Laursen T., (1998). “Hydroxyapatite powders and thin films prepared by a sol-gel technique”, *Thin Solid Films*, v.326, p.227-32.

Lopatin C.M., Alford T.L., Pizziconi V.B., Kuan M., Laursen T., (1998). “Ion-beam densification of hydroxyapatite thin films”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, v.145, p.522-531.

Lovinger A.J., (1982). *Developments in Crystalline Polymers*, v.1, Ed. D.C. Bassett, London, Elsevier Applied Science.

Mahabole M.P., Aiyer R.C., Ramakrishna C.V., Sreedhar B., Khairnar R.S., (2005). “Synthesis, characterization and gas sensing property of hydroxyapatite ceramic”, *Bull. Mater. Sci.*, v.28, p.535-545.

Maeda H., E Fukada, (1982). “Effect of Water on Piezoelectric Dielectric and Elastic Properties of Bone”, *Biopolymers*, v.21, no.10, p.2055-2068.

Manso M., Langlet M., Jiménez C., Martínez-Duart J.M., (2002). “Microstructural study of aerosol-gel derived hydroxyapatite coatings”, *Biomolecular Engineering*, v.19, p.63-66.

Marino A.A., Becker R.O., (1970). “Piezoelectric effect and growth control in bone”, *Nature* v.228 p.473-474

Meza, E.O.L, (2010). “Produção e caracterização de recobrimentos nanoestruturados biocompatíveis de hidroxiapatite e hidroxiapatite substituída com fluor usando a técnica de FR Magnetron Sputtering de alvos opostos”, tese de Mestrado em Ciências no Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas, Rio de Janeiro.

Nikolai P., Brioso P., Cruz J., Vilarinho P., Kholkin A., (2005). *Rev. Sci. Instrum.*, v.76 085101.

Ramos C.A.X, 2006. “Materiais compósitos Inteligentes”, tese de doutoramento em Ciência da Engenharia, Departamento de Engenharia da Universidade do Porto, FEUP.

Roest R., Latella B.A., Heness G., Bem-Nissan B., (2011). “Adhesion of sol-gel hydroxyapatite nanocoatings on anodised pure titanium and titanium (Ti6Al4V) alloy substrates”, *Surfaces & Coatings Technology*, v.205, p.3520-3529.

Rosa A.L., Shareef, M.Y., Noort, R.V., (2000). “Effect of preparing and sintering conditions on hydroxyapatite porosity.” *Pesqui Odontol Bras*, v.14, no.3, p.273-277, jul./set.

Russell S.W., Luptak K., Suchicital C.T., Alford T. L. and Pizziconi V.B., (1996). “Chemical and Structural Evolution of Sol-Gel-Derived Hydroxyapatite Thin Films under Rapid Thermal Processing”, *Journal of Am. Ceramic Society*, v.79, no.4, p.837-842.

Santos M. L., Florentino A.O., Saeki M.J., Aparecida A. H., Fook M.V.L., Guastaldi, A.C., (2005). “Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico”, *Eclética Química*, v.30, n.3, p.29-35.

Sessler G. M., (1987). *Electrets*, Edited by G. M. Sessler, 2nd Ed., Springer-Verlag.

Silva C.C., Valente M.A., Graça M.P.F., Sombra A.S.B., (2005). “The modulus formalism used in the dielectric analysis of hydroxyapatite and calcium phosphate with titanium formed by dry ball milling”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, v.351, p.2945-2950.

Silva C.C., Graça M.P.F., Sombra A.S.B., Valente M.A. (2009). “Structural and electrical study of calcium phosphate obtained by a microwave radiation assisted procedure”, *Physica B*, v.404, p.1503-1508.

Tas A.C.,(2000). “Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37°C in synthetic body fluids”. *Biomaterials*, v.21, p.1429-1438.

Tkalcec E., Sauer M., Nonninger R., Schmidt H., (2001). "Sol-gel-derived hydroxyapatite powders and coatings", *Journal of Materials Science*, v.36, p.5253-5263.

Tofail S.A.M., Haverty D., Stanton K.T., Mcmonagle J. B. (2005). "Structural Order and Dielectric Behaviour of Hydroxyapatite", *Ferroelectrics*, v.319, p.117-123.

Tofail S. A. M., Haverty D., Cox F., Erhart J., Hána P., Ryzhenko V., (2009). "Direct and ultrasonic measurements of macroscopic piezoelectricity in sintered hydroxyapatite", *Journal of Applied Physics*, v.105, 064103.

Toshiyuki I., Yamazaki A., Nakamura S., Akao M., (1999). "Preparation and dielectric property of sintered monoclinic hydroxyapatite". *Journal of Materials Science*; v.18; p.1225-1228.

Vaananen H.K., Zhao H., Mulari M., Hallen J.M., (2000). "The Cell Biology of Osteoclast Function". *Journal of Cell Science*; 113(3):377.

Vauhan J., (1981). "The physiology of bone", Oxford Science Publications, Third edition.

Vilarinho P. M., (2005). "Functional Materials: Properties, Processing and Applications, in Scanning Probe Microscopy: Characterization, Nanofabrication and Device Application of Functional Materials", 3 -33, edited by P. M. Vilarinho, Yossi Rosenwaks and Angus Kingon, Kluwer Academic Publishers.

Waller I.M.R., Kunz M., (2007). "Physical activity and pain following total hip arthroplasty", *Physiotherapy*, v.93, p.23-29

www.easyheight.com/proof_remodel2.jpg em 10.12

Zahn D., Hochrein O., (2008). "On The Composition and Atomic Arrangement of Calcium-Deficient Hydroxyapatite: An ab-initio Analysis." *Journal of Solid State Chemistry*, v.181, p.1712-1716.

Zakharov N. A. e Orlovskii V. P. (2001). "Dielectric Characteristics of Biocompatible $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ Ceramics", *Technical Physics Letters*, v.27, no.8, p.629-631.

Zhang, H., Zhang M., Shen Y., Pan H., Zhang K., William W.L., (2010).” Biocompatibility and Bioactivity of Hydroxyapatite Whiskers Reinforced bis GMA based Composites”, 3rd International Conference on Biomedical Engineering and Informatics, p.1640-1644.

Zhang Q., Furukawa T., Bar-Cohen Y., Scheinbeim J., (1999). “Electroactive Polymers”, Materials Research Society Symposia Proceedings, v.600.

Zhang Q., Bharti V., (2001). Physics Review B, v.63, p.184-103

Zhang S., Xianting Z., Yongsheng W., Kui C., Wenjian W., (2006). “Adhesion strength of sol-gel derived fluoridated hydroxyapatite coatings”, Surface & Coatings Technology, v. 200, p.6350-6354.

Zhang S. e Gonçalves K.E., (1997). "Preparation and Characterization of thermally stable nanohydroxyapatite", Journal of Materials Science: Materials in Medicine, v.8, p.25-28.