

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

Obtenção e Caracterização de Fosfatos de Cálcio Visando
Aplicações Médicas

Marcos Aurélio Napolitano

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE PROFISSIONAL EM QUÍMICA, área de concentração: QUÍMICA TECNOLÓGICA.

Orientador: Prof. Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira

São Carlos - SP

2012

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

N216oc Napolitano, Marcos Aurélio.
Obtenção e caracterização de fosfatos de cálcio visando
aplicações médicas / Marcos Aurélio Napolitano. -- São
Carlos : UFSCar, 2013.
57 f.

Dissertação (Mestrado profissional) -- Universidade
Federal de São Carlos, 2012.

1. Química inorgânica. 2. Biomateriais. 3. Material
cerâmico. 4. Apatita. I. Título.

CDD: 546 (20^a)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Departamento de Química
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA
Curso de Mestrado Profissional

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a defesa de dissertação de Mestrado Profissional do candidato
Marcos Aurelio Napolitano, realizada em 01 de março de 2012:


Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira


Dra. Marília Wellichan Mancini


Prof. Dr. Emerson Rodrigues de Camargo

Dedicatória

Dedico este trabalho as meus pais, Arnor e Antonieta, pela dedicação e incentivo aos meus estudos desde criança quando eu mesmo tenho que incentivar outras;

À minha esposa, Priscila, pelo companheirismo, amor, paciência e compreensão;

Aos meus filhos, Sofia e Enzo, por me mostrarem que, para ser feliz, precisamos somente “existir”;

À Deus, por estar sempre presente me guiando;

À todos os amigos e familiares que fizeram parte desta caminhada.

"Un peu de science éloigne de Dieu, beaucoup de science y ramène."

"Um pouco de ciência nos afasta de Deus, muita nos aproxima."

Louis Pasteur

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Cauê Ribeiro de Oliveira, pela orientação e dedicação para com este trabalho e pela amizade consolidada;

Aos membros da banca, Dra. Marília Wellichan Mancini e Prof. Dr. Emerson Camargo, pela disposição em participar desta avaliação;

À EMBRAPA/CNPDIA, pela estrutura fornecida para o desenvolvimento deste trabalho;

À UFSCar pela estrutura fornecida;

À DMC pelo incentivo, compreensão e estrutura fornecida;

À todos os amigos da EMBRAPA, UFSCar e DMC que colaboraram direta ou indiretamente comigo.

Lista de Abreviações

EMBRAPA/CNPDIA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Instrumentação - São Carlos, SP, Brasil

UFSCar - Universidade Federal de São Carlos

DMC - DMC Importação e Exportação de Equipamentos LTDA

NUPEN- Núcleo de Pesquisa e Ensino de Fototerapia nas Ciências da Saúde

P, D&I - Pesquisa, desenvolvimento e inovação

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

HA - Hidroxiapatita

β -TCP - Tricálcio Fosfato na fase β

AC - Ácido Cítrico

CC - Carbonato de Cálcio

Ca/P - Razão molar da hidroxiapatita

EG - Etilenoglicol

DRX - Difração de Raios X

BET - Iniciais dos sobrenomes Brunauer, Emmett e Teller, inventores da teoria BET, que descreve a adsorção de moléculas gasosas em um substrato sólido

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier

EDS - Espectroscopia de Energia Dispersiva

Lista de tabelas

TABELA 1: Relação dos reagentes testados	32
TABELA 2: Valores encontrados para área superficial (BET).	40
TABELA 3: Análise preliminar dos custos de produção (valores de fevereiro 2012).....	49
TABELA 4: Análise mercadológica do produto (valores de novembro 2011)..	50
TABELA 5: Lucratividade das primeiras produções (fevereiro 2012)	51

Lista de Figuras

FIGURA 1: Estrutura cristalina da hidroxiapatita (Munoz)	14
FIGURA 2: Modelo de osso “dente” (Fonte: Acta Salutaris, 2011)	16
FIGURA 3: Difração de raios X para as diversas temperaturas e tempos testados	33
FIGURA 4: Difração de raios X para as sínteses com mudanças da quantidade de reagentes	35
FIGURA 5: Espectro de FTIR das resinas calcinadas à 1000 °C - 12 horas	37
FIGURA 6: Espectro Raman da resina calcinada à 1000 °C - 12 horas	39
FIGURA 7: Micrografia da resina calcinada à 350°C – 30 minutos – 2:1:1. Escala 1 micrômetro.....	41
FIGURA 8: Micrografia da resina calcinada à 350°C – 30 minutos – 2:1:1. Escala 200 nanômetros.....	41
FIGURA 9: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – 2:1:1. Escala 1 micrômetro. HA + β -TCP	42
FIGURA 10: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – 2:1:1. Escala 200 nanômetros. HA	43
FIGURA 11: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – 2:1:1. Escala 200 nanômetros. β -TCP	43
FIGURA 12: Material calcinado à 350 °C - 30 minutos.....	45
FIGURA 13: Material calcinado obtido à 1000 °C - 12 horas.....	45
FIGURA 14: Diagrama de produtividade da síntese e comercialização	47

Sumário

Resumo	10
Abstract	11
1- INTRODUÇÃO.....	13
1.1-Métodos de obtenção da hidroxiapatita	18
1.2-Métodos de síntese das hidroxiapatitas:	19
1.3- Caracterização da hidroxiapatita e aspectos de biocompatibilidade.....	20
1.4- A empresa DMC.....	25
2- OBJETIVOS.....	28
3- MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1 - Sínteses das apatitas pelo método dos precursores poliméricos	29
3.2 - Análise da eficiência do método	30
3.3 - Análise preliminar de custos de operação e produção	31
4- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	32
4.1 - Caracterização por difração de raios X	32
4.2 - Caracterização por espectroscopia no infra vermelho	36
4.3 – Caracterização por espectroscopia raman.....	37
4.4 – Caracterização da área superficial pela isoterma BET	39
4.5- Análise morfológica via microscopia eletrônica de varredura.....	40
5- ANÁLISE DE EFICIÊNCIA DO MÉTODO.....	46
6- ANÁLISE PRELIMINAR DE CUSTOS DE OPERAÇÃO E PRODUÇÃO	49
7- CONCLUSÕES	53
8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	54

Resumo

OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FOSFATOS DE CÁLCIO VISANDO APLICAÇÕES MÉDICAS

A busca por biomateriais que sejam compatíveis com ossos humanos é um dos temas mais pesquisados atualmente, pois podem ser utilizados tanto como enxertos, próteses, quanto como liberadores de fármacos, preenchimento dérmico entre outros. Esse estudo descreve um método de síntese de apatitas que podem ser utilizadas na área médica e odontológica para osteocondução, preenchimento ósseo, liberação de fármacos ou cargas biológicas para ligas com outros materiais biocompatíveis cerâmicos, sua caracterização e escalonamento de produção em escala industrial, os custos gerais de produção e venda do produto. A hidroxiapatita, conhecido biomaterial, foi sintetizada via técnica dos precursores poliméricos. A sua caracterização demonstrou uma mistura de fases com um tricálcio fosfato na fase β , que é considerado também um material ósseo condutor e que agrega propriedades distintas nos quesitos velocidade e tipo de osseointegração. As caracterizações realizadas do material foram a difração de raios X, Espectroscopia no Infra Vermelho, Espectroscopia Raman, Tamanho de Área Superficial (BET) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Por tratar-se de uma pesquisa voltada à indústria, também foram realizados testes de batelada para produção do material em escala industrial e uma estimativa de custos de produção e uma comparação de venda com produtos presentes atualmente no mercado nacional e internacional. Como conclusão, pôde-se descrever a síntese de um material compatível com os existentes no mercado do ponto de vista químico, por se tratar de um material diferenciado devido à mescla de fases de hidroxiapatita e tricálcio fosfato na fase β , e financeiro devido à viabilidade de produção em larga escala, comparando-se os custos atuais e demanda.

Abstract

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF CALCIUM PHOSPHATE FOR MEDICAL APPLICATIONS

The search for biomaterials compatible with human bones is one of the most investigated topics in science today, due to its applications, not only as grafts, but as releasing drug agents, dermal fillers, among others. The present study describes a recent method for synthesis of apatites, which can be used in medical and dentistic applications for osteoconduction, bone formation, releasing of biological agents or fillers for alloys with other biocompatible ceramic material or not. The characterization of this material, the form of industrial scale production and overhead costs of production and sales are presented. The hydroxyapatite, a known biomaterial, was synthesized by polymeric precursors method. The characterization shows a mixture of phases with a β tricalcium phosphate phase, which is also considered a template for bone material and has distinct properties regarding speed and type of osseointegration. The characterizations performed in this material were X-ray diffraction, Infrared Spectroscopy, Raman Spectroscopy, Size Surface Area (BET) and Scanning Electron Microscopy (SEM). Since it was a research work oriented to industry, tests were also conducted for batch production of the material on industrial scale and the perspective of production costs was evaluated, comparing the projected sales with currently national and international products available on the market. In conclusion, the synthesis of a compatible material with the existing market is described in the chemical point of view, due to the fact it is a different material due to the mixture of phases, and due to the financial viability of large-scale production and comparing actual costs demand.

1- INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novos procedimentos médico-odontológicos tem impactado significativamente a qualidade de vida da população brasileira nas últimas décadas. Certos procedimentos voltados à estrutura óssea, como os implantes dentários e cirurgias de reconstrução ou introdução de próteses internas vão além dos aspectos estéticos imediatamente envolvidos, devolvendo muitas vezes, a capacidade laboral, a manutenção de atividades rotineiras (como na alimentação e locomoção) e, portanto, impactando a vida do paciente como um todo. Porém, estes procedimentos dependem continuamente do desenvolvimento de materiais biointegráveis que permitam substituir, mimetizar ou integrar-se com os materiais ósseos, e que possam ser produzidos em padrões elevados de controle de qualidade.

Fardin *et al.*,⁽¹⁾ descrevem que os enxertos ósseos podem ser definidos como **Autógenos**: o osso é removido do mesmo indivíduo em que o enxerto será usado; **Homógenos**: tecido removido de indivíduo da mesma espécie, geneticamente não relacionado com o receptor; **Heterógenos**: tecido retirado de doador de espécie diferente da do receptor (ex.: tecido animal implantado em receptor humano). **Materiais sintéticos**: produtos sintetizados em laboratório com características semelhantes ao osso humano.

Os autores destacam que o melhor tipo de enxerto é o autógeno, mas que este é limitado devido à baixa oferta no corpo para regiões maiores.

Smith *et al.*,⁽²⁾ mostraram que os ossos são formados por uma fase mineral composta por fosfatos de cálcio (CaP) e uma fase de matriz orgânica que tem como base o colágeno. A principal componente inorgânica é a hidroxiapatita, $(Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2)$, que possui um cristal característico nanométrico da ordem de 15 a 200 nm. Estes cristais de apatita apresentam-se emaranhados na matriz orgânica de fibras de colágeno, formando as estruturas dos ossos lamelares e

corticais. A matriz de colágeno possui um diâmetro médio em torno de 100 nm. Estes componentes são responsáveis pelo desenvolvimento e crescimento ósseo, e junto com outras células existentes nos ossos como os osteoblastos e outras células ósseas, dão o equilíbrio necessário para uma saúde óssea perfeita.

Segundo Munoz,⁽³⁾ a hidroxiapatita apresenta uma estrutura cristalina com um sistema com simetria de rotação hexagonal em um plano de reflexão e com parâmetros de célula $a = b = 9,418 \text{ \AA}$ e $c = 6,884 \text{ \AA}$. A FIGURA 1 apresenta a célula unitária de hidroxiapatita, que a partir de um arranjo tetraédrico de fosfatos (PO_4^{-3}), forma a estrutura final.

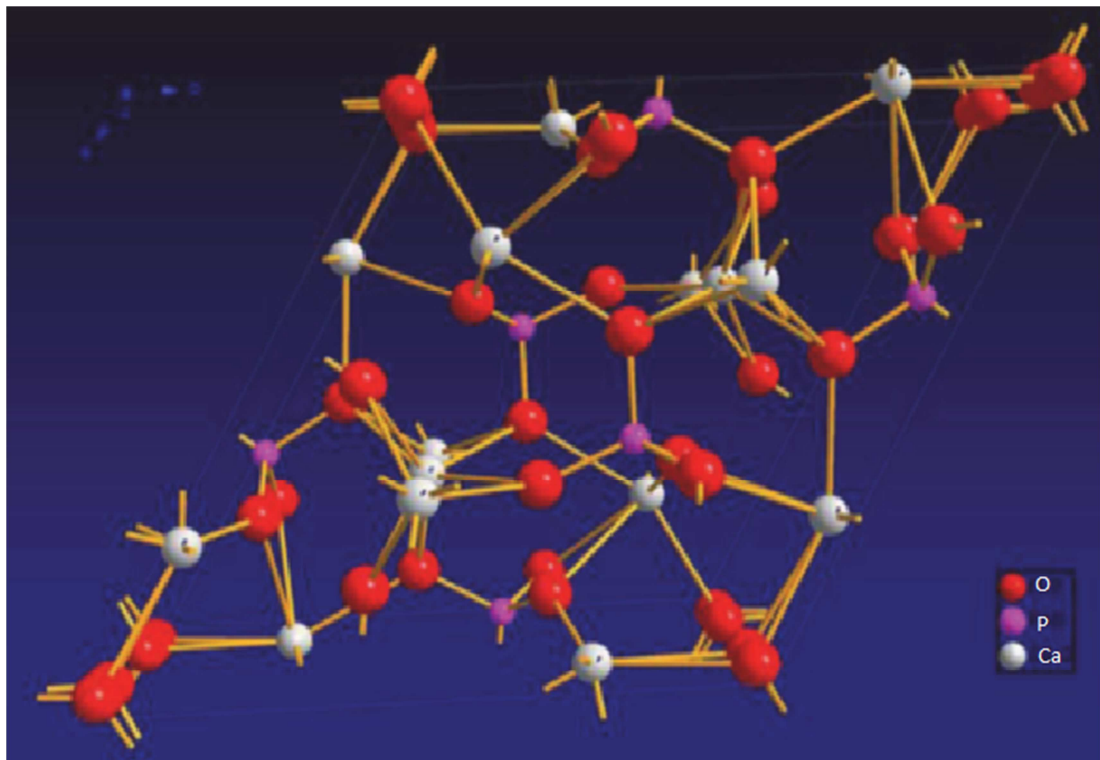


FIGURA 1: Estrutura cristalina da hidroxiapatita (Munoz)

Costa *et al.*,⁽⁴⁾ destacam que os primeiros estudos com materiais cerâmicos voltados a aplicações biomédicas datam de 1930, utilizando uma cerâmica de fosfato tricálcico para regeneração de defeitos ósseos, mas que somente nos anos 50 começaram aparecer materiais comerciais. Descrevem também que, nos anos 70, os tricálcio fosfatos foram pela primeira vez descritos como utilizados na área odontológica, neste caso, utilizando-se o β -TCP (tricálcio fosfato na fase β) para reparo de doenças periodontais e introduzindo o conceito de porosidade como característica importante para este tipo de biocerâmica.

A hidroxiapatita foi descrita como constituinte mineral natural dos ossos e dentes (FIGURA 2), representando 30 e 70 % de suas massas respectivamente⁽⁴⁾. Os autores enfatizam que a hidroxiapatita sintética possui propriedades de biocompatibilidade e osteointegração que a tornam substituta do osso humano em implantes e próteses. Ainda, estas propriedades e a alta capacidade de absorver ou adsorver moléculas tornam a hidroxiapatita um excelente carregador de medicamentos nos tratamentos de tumores ósseos e na remoção de metais pesados em solos poluídos. A fórmula da hidroxiapatita é descrita como $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ com razão Ca/P igual a 1,67, sendo o fosfato mais estável e menos solúvel de todos.

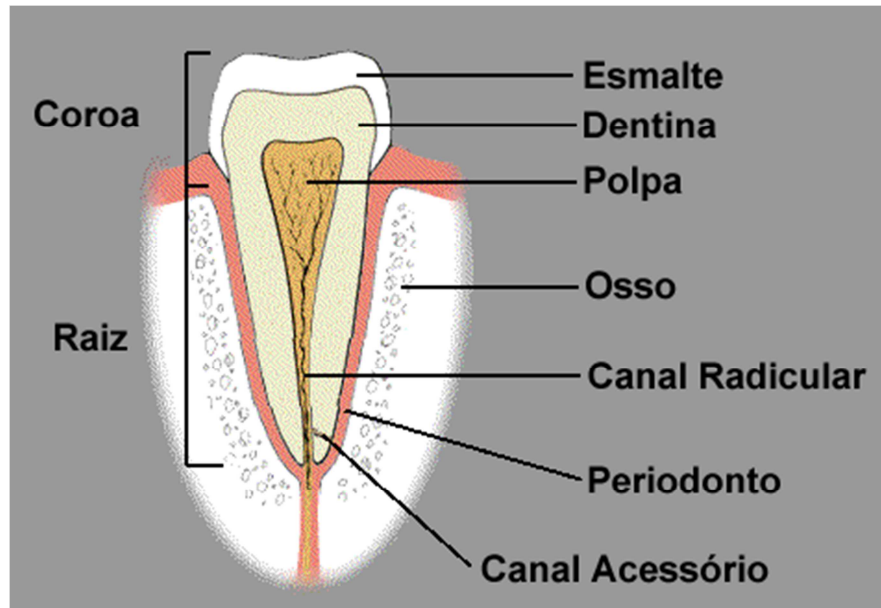


FIGURA 2: Modelo de osso “dente” (Fonte: Acta Salutaris, 2011)

Rigo *et al.*,^(5, 6) destacaram em seus trabalhos que materiais cerâmicos e metálicos para substituição ou construção de partes do tecido ósseo humano têm se tornado cada vez mais frequentes. As principais características necessárias destacadas são a biotolerância, bioinatividade e bioatividade para materiais biocompatíveis, pois cada uma representa uma aplicação do material nos ossos. Nestes trabalhos, os autores utilizaram a hidroxiapatita recoberta em substratos metálicos, classificando as vantagens e desvantagens na utilização de cada tipo de revestimento.

Ogawa *et al.*,⁽⁷⁾ evidenciaram em seu trabalho as propriedades dos biomateriais, em especial a hidroxiapatita e colágeno, na liberação de fármacos em tecidos ósseos devido a sua baixa circulação sanguínea. Este tipo de utilização tem vantagens quando o problema ou doença podem ser tratados diretamente em seu sítio. Um implantável poderia agir de forma mais pontual e, visto que os biomateriais não precisam ser removidos em outras cirurgias devido a bioreabsorção, tornam a técnica uma das mais modernas nos dias atuais.

Saleh, *et al.*,⁽⁸⁾ ressaltaram em seu trabalho que a hidroxiapatita, por constituir cerca de 95% da fase mineral dos ossos permite a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas, sendo ela utilizada para reorganização e crescimento ósseo. Neste trabalho os autores também apresentam um método para obtenção de hidroxiapatita por via úmida, aspectos da caracterização físico-química e procedimentos metodológicos para implantação *in vivo*.

Amirall *et al.*,⁽⁹⁾ relataram em seu trabalho o uso de fosfato de cálcio para implantes ósseos, por apresentarem excelente biocompatibilidade e biorreatividade e também se mostram biodegradáveis. Ressaltam adicionalmente o uso destes materiais com certa porosidade para que ajam como melhores percussores de tecido ósseo.

Em seu trabalho, Moreira *et al.*,⁽¹⁰⁾ observaram que implantes de hidroxiapatita realizados em fêmur de ratos Wistar mostram-se biocompatíveis e restauraram a falha óssea, destacando a rapidez para produtos que apresentavam grânulos menores que um diâmetro de 212 μm , o que leva a evidência que partículas menores são melhores aceitas e incorporadas pelo corpo destes animais.

Carlo *et al.*,⁽¹¹⁾ apontaram em seu trabalho que compósitos contendo 10% de hidroxiapatita e 90% de polihidroxibutirato implantados em coelhos são uma boa opção para implantes em defeitos ósseos. Destacam-se, neste trabalho, dados clínicos, radiológicos, histológicos e histomorfológicos em coelhos implantados e não implantados, e os melhores resultados são observados para os animais que receberam os implantes.

Algumas variações de hidroxiapatita, como a sintética e carbono (HAC) e sintética, carbono e fosfato biácido de sódio (HACF), foram implantadas em ulna de coelhos por Vital *et al.*,⁽¹²⁾ a fim de avaliar a biocompatibilidade e

comportamento. Os resultados obtidos mostraram que estes materiais são meios eficientes de crescimento precoce de ossos, não apresentando sinais de infecção e nem evidências de rejeição.

1.1- Métodos de obtenção da hidroxiapatita

A hidroxiapatita na forma de grânulos pode ser obtida a partir de diversos métodos, o que permite prever-se comportamentos biológicos diferenciados. Santos *et al.*,⁽¹³⁾ destacaram em seu trabalho precursores alternativos como o nitrato de cálcio e o ácido fosfórico, pelo método sol-gel. Pela análise de difração de raios X, os autores mostraram que a estrutura apatita apresenta-se formada em temperaturas a partir de 300 °C, aumentando o tamanho do cristal quando acrescida esta para calcinação. A análise por MEV mostrou a presença de poros, importantes para aplicação biomédicas, favorecendo a osseointegração.

Em seu trabalho, Araújo *et al.*,⁽¹⁴⁾ sintetizaram uma amostra de hidroxiapatita por via úmida com razão molar controlada de Ca/P = 1,67, analisando-a por difração de raios X para verificar a adequação no procedimento de síntese. Conclui-se que a amostra analisada não continha impurezas substitucionais em quantidades significativas, sendo que os resultados experimentais conferem o formato elipsoidal da hidroxiapatita estudada.

Rigo *et al.*,⁽¹⁵⁾ prepararam uma amostra de hidroxiapatita sintetizada pelo método da precipitação, e nesta foram feitas análises de microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia na região do infravermelho e difração de raios X. Casos clínicos foram realizados para verificar a promoção de tecido ósseo para instalação de implantes dentários. Os resultados mostraram uma hidroxiapatita com elevado grau de pureza e observou-se nos estudos histológicos um adequado crescimento de tecido ósseo, possibilitando os implantes dentários.

Kim *et al.*,⁽¹⁶⁾ mencionaram a importância da biocompatibilidade de implantes odontológicos de titânio, e destacaram a eletroforese de filme fino de hidroxiapatita na superfície de pinos de titânio. Como conclusão, destacaram que o filme fino foi obtido com alto grau de cristalinidade, espessura e liberdade de substratos dos pinos de titânio.

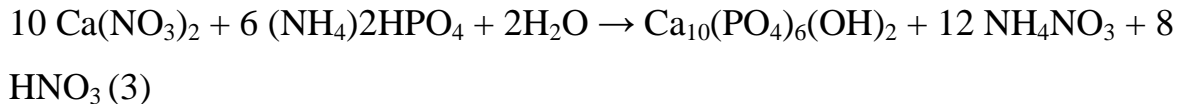
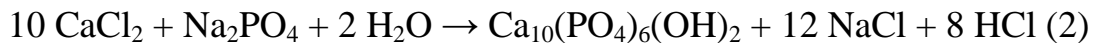
1.2- Métodos de síntese das hidroxiapatitas:

A. Métodos via úmida: ⁽²⁾

A.1. Reação ácido-base



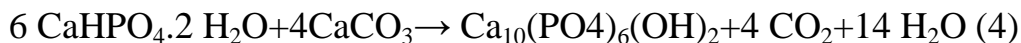
A.2. Reação entre sais de fosfato e cálcio



$$T = 80^\circ \text{C}$$

Nestas rotas, o produto final normalmente é obtido como um pó, com partículas pequenas menores que 10µm e cristalinidade similar aos tecidos naturais, ou seja, baixa cristalinidade.

B. Métodos via seca



$$T > 900^\circ \text{C}$$

Nas rotas acima, o produto é normalmente um pó de alta cristalinidade, em função das altas temperaturas envolvidas na sua produção.

C. Método Hidrotérmico

No método hidrotérmico cristalização acontece sob pressão e temperatura acima de 100 °C. Neste processo, a solução reacional é submetida ao aquecimento em frascos selados, sendo que, nestas condições, a precipitação ocorre em temperaturas superiores à da ebulição da água, portanto em condições de pressão autogerada. O produto final também é um pó, variando de tamanhos nanométricos a milimétricos com porosidade e cristalinidade semelhantes à hidroxiapatita obtida de corais.

1.3- Caracterização da hidroxiapatita e aspectos de biocompatibilidade

Conz *et al.*,⁽¹⁷⁾ compararam seis amostras distintas de hidroxiapatitas para aplicações médicas e odontológicas em crescimento ósseo. As amostras foram produzidas por diferentes fabricantes e analisadas por MEV, difração de raios X, espectroscopia na região do infravermelho e medidas de área superficial. Os resultados mostram que somente uma amostra de hidroxiapatita estava de acordo com especificações dos fabricantes e os autores ressaltaram que as análises propostas no trabalho deveriam ser utilizadas como critério de controle da qualidade.

Em seu trabalho, Duarte *et al.*,⁽¹⁸⁾ descreveram aspectos histológicos de uma hidroxiapatita sintética quando implantada na mandíbula de cães. Observaram crescimento ósseo e vascular no interior dos poros, intensa proliferação de osteoblastos e neovascularização na presença da amostra. A biocompatibilidade, destacada, também indica que a amostra permitiu a sua integração com o processo alveolar por meio da formação direta de um osso lamelar. Notou-se também que a neoformação óssea ocorreu à medida que a hidroxiapatita foi degradada.

Em sua caracterização de compostos nanométricos de hidroxiapatita, Vandiver *et al.*,⁽¹⁹⁾ propuseram o uso da técnica de espectrometria de força atômica, visto que esta técnica é muito promissora para elucidar em escala molecular os processos físico-químicos que ocorrem na superfície do material. Os autores destacaram o uso de difração de raios X, fluorescência de raios X e microscopia eletrônica de varredura, como técnicas para validar a caracterização proposta. Similarmente, para comparação da estrutura obtida em materiais sintéticos, Araújo *et al.*,⁽²⁰⁾ utilizaram o método de Rietveld, aplicando funções de perfil diferentes, e encontraram grande similaridade da amostra de referência, hidroxiapatita, comparada ao método proposto.

Okawa *et al.*,⁽²¹⁾ propuseram a técnica de inversão de polaridade para caracterização de fosfato de cálcio depositados em pinos de titânio e suas ligas de uso odontológico e ortopédico. Os autores também fazem uso das técnicas de difração de raios X, espectroscopia de fotoelétron de raios X e microscopia de força atômica (AFM), que são utilizadas para validação do método proposto.

Para preparação e caracterização de compostos nanométricos de hidroxiapatita, Taria *et al.*,⁽²²⁾ propuseram uma síntese utilizando como base um polímero de estireno. Os resultados, analisados por difração de raios X, infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e microscopia de força atômica, apresentam uma síntese eficiente para produção de hidroxiapatita de alta cristalinidade e pureza.

O uso de hidroxiapatita nanométrica em vários tamanhos de grãos *in vivo* é descrito por Zhu *et al.*,⁽²³⁾ utilizando modelos de falhas ósseas em coelhos. O material utilizado foi a hidroxiapatita sintética com tamanhos de grãos entre 50 e 500 μm , analisados por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, análise bioquímica e análise estatística. Os resultados obtidos mostraram que os poros deste material devem estar entre 100 e 250 μm para que se sobressaíam

melhores na regeneração óssea, indicando, que esse seria um possível conjunto ideal para novos materiais biocompatíveis.

Novos materiais são testados a cada dia para regeneração óssea, e foi isto que Liuyun *et al.*,⁽²⁴⁾ fizeram em seu trabalho, propondo uma mistura de hidroxiapatita, quitosana e carboximetilcelulose, visando melhor biocompatibilidade. A caracterização foi realizada por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, microscopia de transmissão, espectroscopia no infravermelho, e testados em células ativas para teste de biocompatibilidade. Os resultados mostraram que o material se comportou-se muito bem no teste de biocompatibilidade e que as caracterizações mostraram que a hidroxiapatita depositada possui um bom nível de cristalinidade e pureza, sendo este produto possível promissor na engenharia de tecidos ósseos.

Kajad *et al.*,⁽²⁵⁾ descrevem em seu trabalho testes com uma pasta de hidroxiapatita nanométrica de uso em regeneração óssea. Nos testes realizados foi investigada a proliferação de ligamento periodontal humano em culturas de células na presença da pasta. Os resultados mostraram que este tipo de produto, comparado com grupo controle sem a hidroxiapatita nanométrica, foi estimulante de proliferação celular, possibilitando melhora para crescimento ósseo em regeneração periodontal.

Kumar *et al.*,⁽²⁶⁾ relataram uma síntese de composto formado por quitosana e hidroxiapatita nanométrica. Os autores descrevem uma metodologia de síntese e caracterização por microscopia eletrônica de varredura e difração de raios X da morfologia do composto obtido. Sugeriram ainda que o produto possa ser utilizado como um bom fator de crescimento ósseo de materiais nanoestruturados de quitosana.

Kim *et al.*,⁽²⁷⁾ descreveram o desenvolvimento de um compósito a base de ácido polilático co-glicólico com hidroxiapatita nanométrica para uso como

potencial osteocondutor. Neste estudo compararam o composto com osso desproteínado bovino de uma marca comercial. Os testes foram realizados em defeitos cavitários em ratos, sendo que no grupo controle não foi colocado qualquer tipo de composto. Os resultados mostraram que o composto sintético teve um rendimento de crescimento ósseo comparável ao produto comercial bovino, sendo este um possível produto comercial a ser explorado.

Em uma síntese de hidroxiapatita nanométrica, Nandi *et al.*,⁽²⁸⁾ descrevem uma metodologia de preparo em solução aquosa com combustão e teste de eficácia em cabras. O estudo foi dirigido para análise histopatológica de defeitos feitos em raios de cabras. Observaram que, no grupo em que havia sido utilizada a hidroxiapatita nanométrica, o defeito foi repostado mais uniformemente que no grupo controle, mostrando assim as propriedades que este novo produto pode apresentar na promoção de regeneração óssea.

Puckett *et al.*,⁽²⁹⁾ descrevem em seu trabalho a importância de superfícies de tamanho nanométrico para um perfeito crescimento ósseo, visto que nas culturas de células osteoblásticas, responsáveis por crescimento ósseo no corpo humano em que foi realizado o estudo, a melhor resposta foi observada em superfícies que apresentavam este tipo de especificidade.

Nukavarapu *et al.*,⁽³⁰⁾ mostraram que modelos de polifosfazeno com hidroxiapatita nanométrica podem ser utilizados na confecção de produtos para engenharia de tecidos ósseos. Os autores ainda descreveram, ainda, a importância da realização de estudos *in vitro* com células osteoblásticas para que se obtenha um bom parâmetro de biocompatibilidade dos compostos estudados, e finalizam com bom resultado para o produto proposto no quesito crescimento ósseo e biocompatibilidade.

Dentre os demais fosfatos recomendados para utilização de regeneração óssea, pode-se destacar os tricálcio fosfatos (TCPs). Ain *et al.*,⁽³¹⁾ sintetizaram

em seu trabalho um desses fosfatos mais empregados, o β -TCP, juntamente à hidroxiapatita, formando assim um material bifásico. A vantagem deste tipo de material é que a hidroxiapatita demora mais para ser absorvida pelo corpo humano (em torno de seis meses) enquanto que a absorção do β -TCP demora cerca de dois meses. Neste trabalho obteve-se uma hidroxiapatita mais pura e após sintetizada, submetida a temperaturas mais elevadas (de 1100 a 1200 °C), sendo observada a formação do fosfato a partir de 1150 °C. As caracterizações foram realizadas utilizando difração de raios X, espectroscopia no infravermelho, termogravimetria e microscopia eletrônica de varredura. Os resultados obtidos mostraram que a metodologia de obtenção do fosfato foi satisfatória, visto que o material apresentou-se com alto grau de porosidade e com alto grau de cristalinidade.

Varma *et al.*,⁽³²⁾ descrevem um seu trabalho, uma metodologia utilizando precursor de gel citrato para obter fosfatos que podem ser utilizados como biocerâmicas. Neste trabalho, os autores descrevem o uso de um precursor polimérico amorfo contendo cálcio, fosfato, nitrato e citrato, e que com aquecimento a partir de 550 °C, ocorre substituição de carbonato no grupo fosfato. Com análises de termogravimetria, espectroscopia no infravermelho, difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura, notou-se a formação de hidroxiapatita com bom grau de porosidade.

Baseados neste estudos, podemos concluir que uma hidroxiapatita ou grupo de fosfatos de cálcio, sintetizados por uma rota química com controle de tamanho e porosidade, pode ter um grande interesse em diversos seguimentos e na empresa DMC Importação e Exportação de Equipamentos LTDA seria um grande avanço em uma nova área de produtos, os biomateriais.

1.4- A empresa DMC

Histórico

A empresa DMC Importação e Exportação de Equipamentos LTDA, interessada no desenvolvimento de um projeto voltado à produção comercial de enxerto ósseo, foi criada em 1998, na cidade de São Carlos, SP. Atua no desenvolvimento e industrialização de bens de capital e de consumo para os segmentos médico, hospitalar e odontológico. Este mercado demanda altos investimentos financeiros em estruturas de P,D&I e requer mão de obra qualificada, bem como, é regido por fortes concorrentes internacionais.

Em 2003, partindo da identificação da necessidade de aprimoramento dos agentes químicos fotossensíveis e visando maior compatibilidade entre estes e os sistemas de fotoativação disponíveis no mercado, desenvolveu novas soluções em termos de um conjunto químico.

Lançou em 2009 o primeiro clareador dental fotoativado contando com a nanotecnologia para reduzir a concentração de peróxido de hidrogênio a apenas 15%, através de nanopartículas de TiO_2 nitrogenadas, aumentando o conforto e diminuindo marcadamente a sensibilidade do paciente. Em 2010 lança o primeiro *laser* cirúrgico nacional, voltado ao atendimento de intervenções cirúrgicas na odontologia e medicina.

A empresa possui certificado de “Boas Práticas de Fabricação”, registros de todos os produtos junto ao Ministério da Saúde/ANVISA e a certificação ISO 13485, necessária para obtenção da Marcação CE.

O NUPEN, Núcleo de Pesquisa e Ensino de Fototerapia nas Ciências da Saúde é um departamento da empresa que coordena as atividades de educação, pesquisa e desenvolvimento das técnicas de clareamento dental, laserterapia, terapia fotodinâmica, fotoativação e cirurgia a laser. Disponibiliza aos profissionais da odontologia e de diversas especialidades médicas o acesso ao estudo e aprimoramento das técnicas e prática para o uso de novas tecnologias que desenvolvidos. Incentiva e patrocina pesquisas que culminem na criação de

conceitos modernos de tratamentos que elevem o conforto do paciente, a segurança de tratamentos minimamente invasivos.

Comercialmente, a empresa tem cobertura mundial e está representada em todo o território nacional por uma equipe composta por vinte e um distribuidores no Brasil, sucursal no EUA, exportando para os seguintes países: Alemanha, Arábia Saudita, Argélia, Argentina, Bolívia, Chile, Colômbia, Filipinas, Finlândia, Líbano, México, Paraguai, Peru, Síria e Tailândia.

A sede da empresa situa-se na cidade de São Carlos - SP, onde se localizam a unidade fabril, o departamento de P,D&I, o departamento de Marketing e o centro administrativo da empresa. A empresa possui três divisões:

Divisão de Equipamentos de Alta Tecnologia: produzem lasers terapêuticos, lasers cirúrgicos médicos e odontológicos, motores para implantes, *shavers*, fontes de luz para artroscopia, equipamentos para clareamento dental foto-ativado, equipamentos de profilaxia, fotopolimerizadores, fotóforos, etc.;

Divisão Cirúrgica: produzem instrumentos cirúrgicos de precisão acionados por motor elétrico ou turbina, contra-ângulos, lâminas, serras, *drills*, brocas, craneótomos, perfuradores, conjuntos para cirurgia e micro-motores aplicados à neurocirurgia, artroscopia e ortopedia em geral;

Divisão Química: produzem hemostáticos de usos médico e odontológico, agentes clareadores, barreiras gengivais, gel para microabrasão, dessensibilizantes e cuidados pós-clareamento.

Vista a possibilidade de desenvolver e produzir produtos de ordem médica/ odontológica na área de biomateriais, em 2009 iniciou-se este trabalho em parceria com a Universidade Federal de São Carlos, pelo Mestrado Profissional, com a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA Instrumentação) em São Carlos, pelo orientador e equipamentos e DMC com reagentes, equipamentos de produção, salários e testes relacionados ao registro

de possível produto junto a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O possível produto criado desta parceria emplacaria a uma nova fase de produtos que atualmente a empresa não domina. Somente a hidroxiapatita como enxerto ósseo, hoje produzida por somente algumas empresas, seria para a DMC, uma grande conquista de desenvolvimento e comprometimento com os clientes que sempre esperam produtos de alto nível tecnológico.

Espera-se que este produto, no futuro próximo, represente cerca de 30% das vendas da divisão química, visto que o valor agregado e as possibilidades de misturas com outros agentes osteocondutores são eminentes e promissoras.

2- OBJETIVOS

O objetivo principal deste trabalho foi avaliar o escalonamento da produção de hidroxiapatita e outras apatitas de fosfatos de cálcio como β -TCP (tricálcio fosfato) por métodos de síntese, definindo condições para a produção em escala piloto e semi-industrial do material. Para tanto, foram tratados os seguintes objetivos parciais:

- Síntese das apatitas pelo método baseado no método dos precursores poliméricos em diferentes condições de síntese e caracterização dos produtos obtidos;
- Análise da eficiência do método escolhido para diferentes produções em batelada e;
- Análise, em caráter preliminar, da projeção de custos de operação, produção e comercialização do material como produto para o mercado médico-odontológico.

3- MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 - Sínteses das apatitas pelo método dos precursores poliméricos

Resinas de hidroxiapatita (HA) e β -TCP foram obtidas pelo método dos precursores poliméricos. À uma solução aquosa 0,3 mol/L de ácido cítrico (AC), aquecida a 60 °C e mantida em agitação, foi adicionado carbonato de cálcio (CC) em uma razão molar inicial Ca/P=1,67. Esta razão molar foi obtida da literatura específica em estudos prévios, onde se verificou que com esta proporção molar obteve-se maior eficiência para obtenção da hidroxiapatita. Após a solubilização completa, adicionou-se o ácido fosfórico concentrado (85% em massa), formando uma solução que foi polimerizada pela adição de etilenoglicol (EG), na razão molar AC:EG igual a 1:2. Após a polimerização, o material foi calcinado a 350 °C para eliminação da fração orgânica, em forno elétrico, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, durante 30 min.

Os materiais obtidos foram macerados em almofariz e pistilo, peneirados em peneira granulométrica de 100 MESH (150 μ m) marca Bronzinox e novamente calcinados em forno elétrico em temperaturas de 750, 900 e 1000 °C, e em tempos de 2 e 12 horas. Esses tempos foram escolhidos visando um melhor aproveitamento dos horários de funcionamento da empresa (2 horas, sem contar tempo prévio de aquecimento do forno), e no máximo 12 horas (representando uma queima em horário alternativo “*overnight*”). Foram obtidos desta forma pós nanométricos de diferentes tamanhos e graus de cristalinidade.

Os tamanhos de partícula foram avaliados por microscopia eletrônica de varredura, definindo-se também desta forma características morfológicas importantes em processos biológicos, como a existência de cantos e arestas salientes.

A caracterização dos pós foi realizada utilizando-se:

- Difração de raios X (DRX): Os experimentos de caracterização de raios X foram realizados na EMBRAPA Instrumentação, São Carlos – SP, e o equipamento utilizado foi um Shimadzu XRD 6000, com ângulo 2θ de 10 a 70 graus, a $1^\circ/\text{min}$.
- Espectroscopia no Infravermelho: os experimentos foram realizados na UFSCar, São Carlos – SP, e o equipamento utilizado foi um Bruker FTIR, com número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} em pastilhas de KBr.
- Espectroscopia Raman: Os experimentos de caracterização de Raman foram realizados na UFSCar, São Carlos – SP, e o equipamento utilizado foi Bruker FT-Raman, com número de onda de 4000 a 400 cm^{-1} .
- Medidas da área específica pela adsorção de N_2 segundo a isoterma BET: os experimentos foram realizados na Embrapa Instrumentação, através equipamento ASAP 2020 V3.03.
- Microscopia eletrônica de varredura: os experimentos foram realizados na Embrapa Instrumentação, no equipamento JEOL 6310

3.2 - Análise da eficiência do método

Foi realizado um estudo multivariado da síntese do material, variando-se a concentração dos precursores, o excesso de ácido fosfórico na síntese, o tempo de calcinação e os equipamentos utilizados.

A meta desta etapa foi definir as condições máximas de concentração de precursores e as condições mínimas de tempo e temperatura de calcinação nas quais a fase HA é formada de acordo com a otimização feita anteriormente.

Nesta etapa obteve-se diagrama de produtividade da síntese da fase para produção em etapas futuras do material em escala piloto e semi-industrial. Foi também avaliada a viabilidade de outros métodos, tais como calcinação e moagem contínua, como opções para a produção em escala do material.

3.3 - Análise preliminar de custos de operação e produção

Foi realizada, a caráter preliminar, a análise de custos de produção em bancada do material e em estimativas paramétricas de produção piloto. Foi feita a contabilização formal de cada etapa de processamento, levantando-se custos da matéria prima, processo, mão-de-obra e comparando esses valores a outros processos da empresa (estimativa paramétrica), para projeção de possibilidade de preço final.

Nesta etapa, alcançou-se um valor mais próximo do real de produção para que fosse entregue à empresa interessada uma perspectiva de custos e apelo junto aos outros tipos de sínteses. Esta fase foi imprescindível, pois como é conhecido nas indústrias, o custo de produção é levado em conta desde a adaptação do chão de fábrica, passando pelo consumidor final até o potencial de rejeitos de produção no que se refere à poluição do ambiente.

4- RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para um melhor entendimento sobre as relações de síntese, montou-se a TABELA 1, que mostra de forma simplificada as razões molares seguidas adiante:

TABELA 1: Relação dos reagentes testados

	Inicial	Diminuindo o ácido cítrico		Sem etilenoglicol	
ácido cítrico	3	2	1,5	2	1,5
carbonato de cálcio/ácido fosfórico	1	1	1	1	1
etilenoglicol	1	1	1	0	0

4.1 - Caracterização por difração de Raios X

A FIGURA 3 mostra os difratogramas dos materiais obtidos em diferentes condições de calcinação. Os materiais foram calcinados em dois tempos distintos, 2 e 12 horas. Incluímos também a primeira pré-calcinação, a 350 °C durante 30 minutos.

Análise de temperatura e tempo na síntese

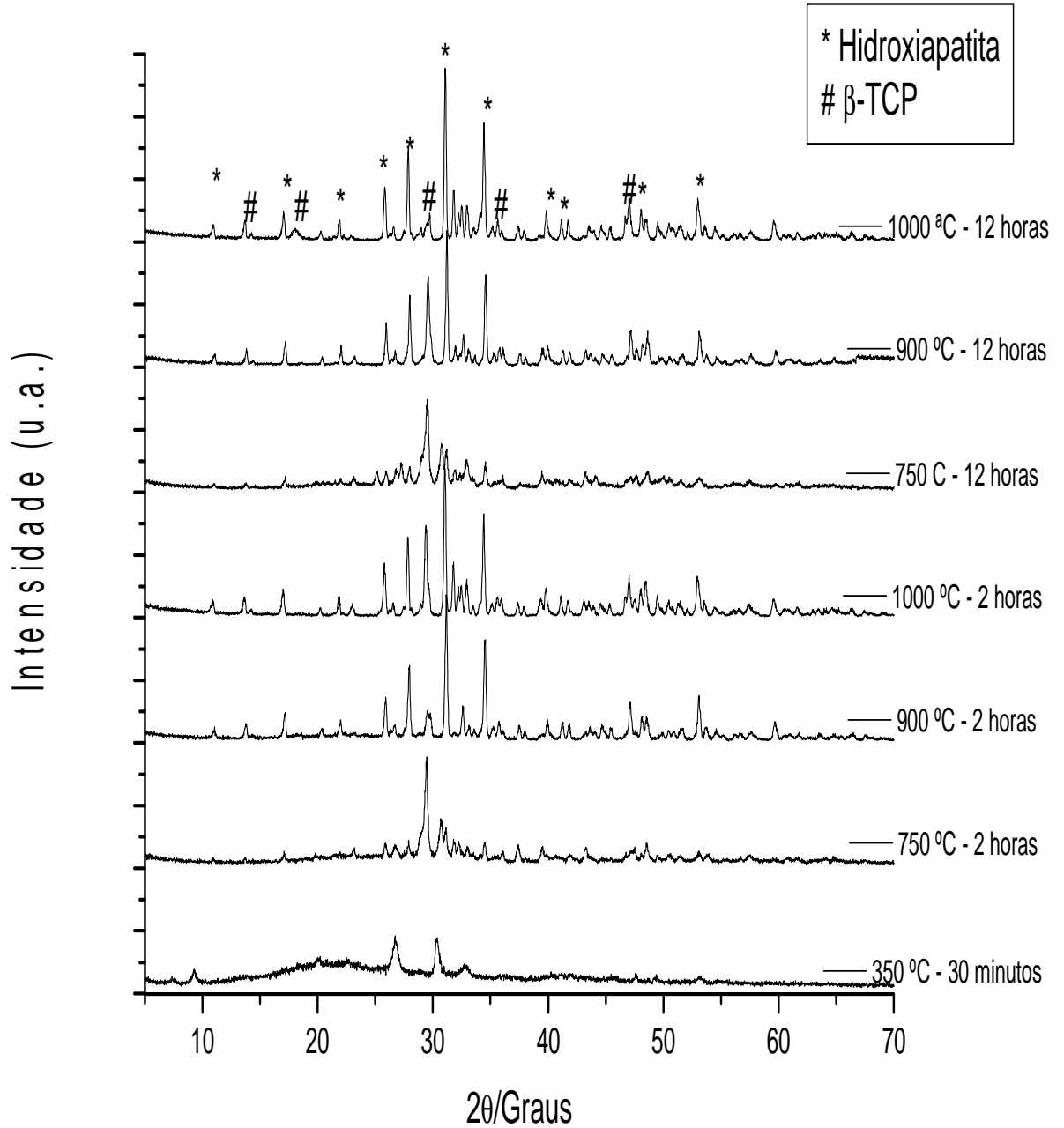


FIGURA 3: Difração de raios X para as diversas temperaturas e tempos testados.

É possível observar pela FIGURA 3 que nas temperaturas mais baixas houve formação da fase HA, porém com baixa cristalinidade, revelada pelos picos característicos pequenos das apatitas desta fase. Mesmo o aumento do tempo de tratamento térmico não resultou em melhora significativa. Por outro lado, observou-se grande variação da fase HA com o aumento da temperatura até 1000 °C e 12 horas de patamar, onde houve boa cristalização, observada pelo aumento da intensidade dos picos característicos, da hidroxiapatita e β -TCP. Este tempo foi escolhido para melhor aproveitamento do tempo dentro da empresa, pois o processo poderia ser realizado fora do expediente normal de trabalho durante a noite (*overnight*).

Em seguida foram realizadas análises para se verificar qual melhor concentração de reagentes seria melhor e mais simples para formação das apatitas. A FIGURA 4 mostra os difratogramas de raios X para concentrações diferentes de reagentes, já descritas.

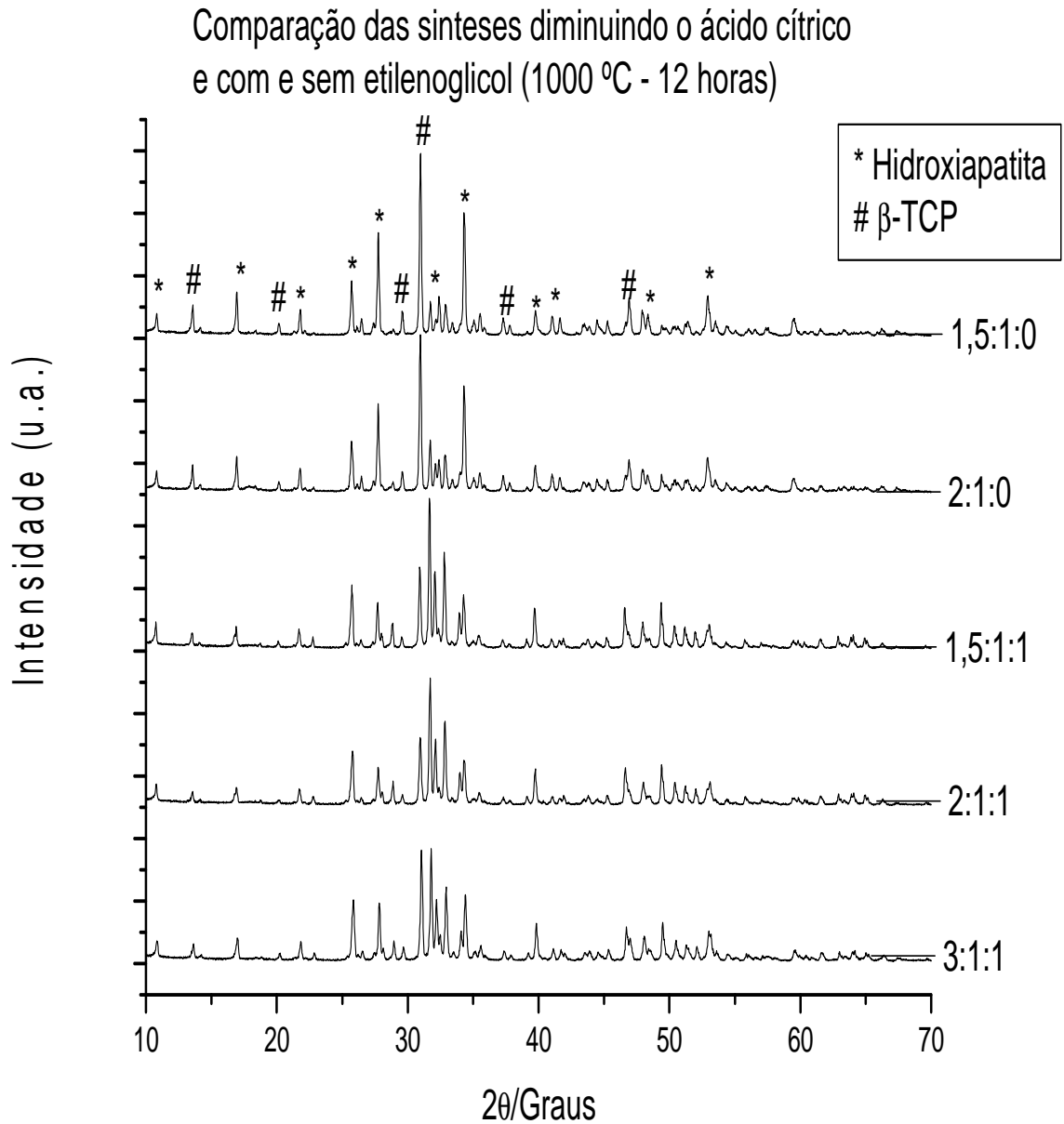


FIGURA 4: Difração de raios X para as sínteses com mudanças da quantidade de reagentes

Observando a FIGURA 4 verificou-se que concentrações acima de 1,5 em ácido cítrico e a presença de etilenoglicol são mais favoráveis a formação de

hidroxiapatita. Já em concentrações em 1,5 de ácido cítrico e com ausência de etilenoglicol, os picos mais característicos são dos de β -TCP.

Desta forma podemos prever que as sínteses com maior formação de hidroxiapatita pode ser utilizada para formação de blocos que necessitem uma demora maior de osteointegração, como blocos ou peças que são empregadas em partes do corpo que exijam certa resistência mecânica, e as sínteses que apresentam maior formação de β -TCP podem ser utilizadas em pós ou peças que exijam maior velocidade de osteointegração e que necessitem de menor resistência mecânica.

4.2 - Caracterização por espectroscopia no infra vermelho

Foram coletados espectros de infravermelho com os materiais (1,5:1:0); (1,5:1:1) e (2:1:1), FIGURA 5, para verificar melhor a formação de hidroxiapatita ou β -TCP. Percebe-se uma formação mais eficiente da hidroxiapatita com maior quantidade de ácido cítrico (2:1:1) e na presença de etilenoglicol (comparação entre (1,5:1:0) e (1,5:1:1)). Os picos característicos da HA aparecem nos espectros em 3450 cm^{-1} (OH), 1995 cm^{-1} (Ca^{2+}), 1397 cm^{-1} (CO_3^{2-}) e em $1035, 969$ e 599 cm^{-1} para (PO_4^{3-}).

Para a formação mais acentuada do β -TCP, percebemos que sem etilenoglicol (1,5:1:0), a banda característica do (OH) é melhor definida comparada com espectros das resinas que foram sintetizadas com auxílio do elitenoglicol.

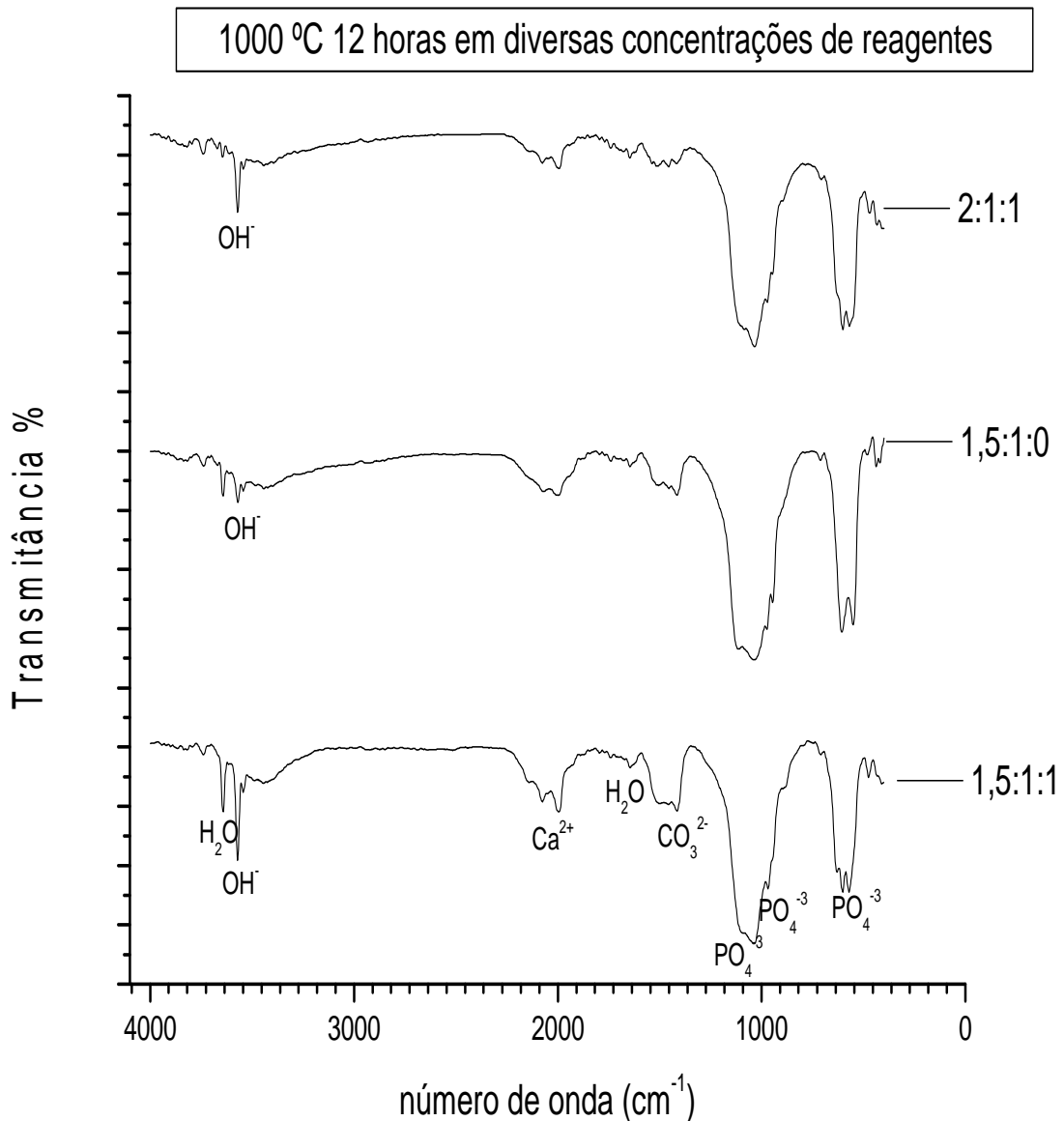


FIGURA 5: Espectro de FTIR das resinas calcinadas à 1000 °C - 12 horas

4.3 – Caracterização por espectroscopia Raman

Foram coletados espectros Raman para os materiais (2:1:0) e (2:1:1), FIGURA 6, a fim de verificar-se a formação de hidroxiapatita e β -TCP. Percebe-se uma formação da hidroxiapatita mais acentuada com mais ácido cítrico (2:1:1) e na presença de etilenoglicol. O pico característico desta formação aparece nos espectros em 790 cm^{-1} . O pico em 695 cm^{-1} demonstra a formação

da fase β -TCP. Nos dois espectros percebe-se uma mistura de fases, mas não na mesma porcentagem e fazendo-se a diferença entre elas podemos encontrar uma relação aproximada desta porcentagem.

Fórmula utilizada para este cálculo:

$\% \beta\text{-TCP} = \text{Intensidade pico } \beta\text{-TCP} * 100 / (\text{Intensidade pico } \beta\text{-TCP} + \text{Intensidade pico HA}) = 35,87\% \text{ para } (2:1:1) \text{ e } 39,89\% \text{ para } (2:1:0)$

$\% \text{HA} = \% \beta\text{-TCP} - 100 = 64,13\% \text{ para } (2:1:1) \text{ e } 60,11\% \text{ para } (2:1:0)$

Podemos determinar que para sínteses com a presença de (EG) temos a relação (HA: β -TCP) em 64:36 e síntese sem a presença de (EG) em 60:40.

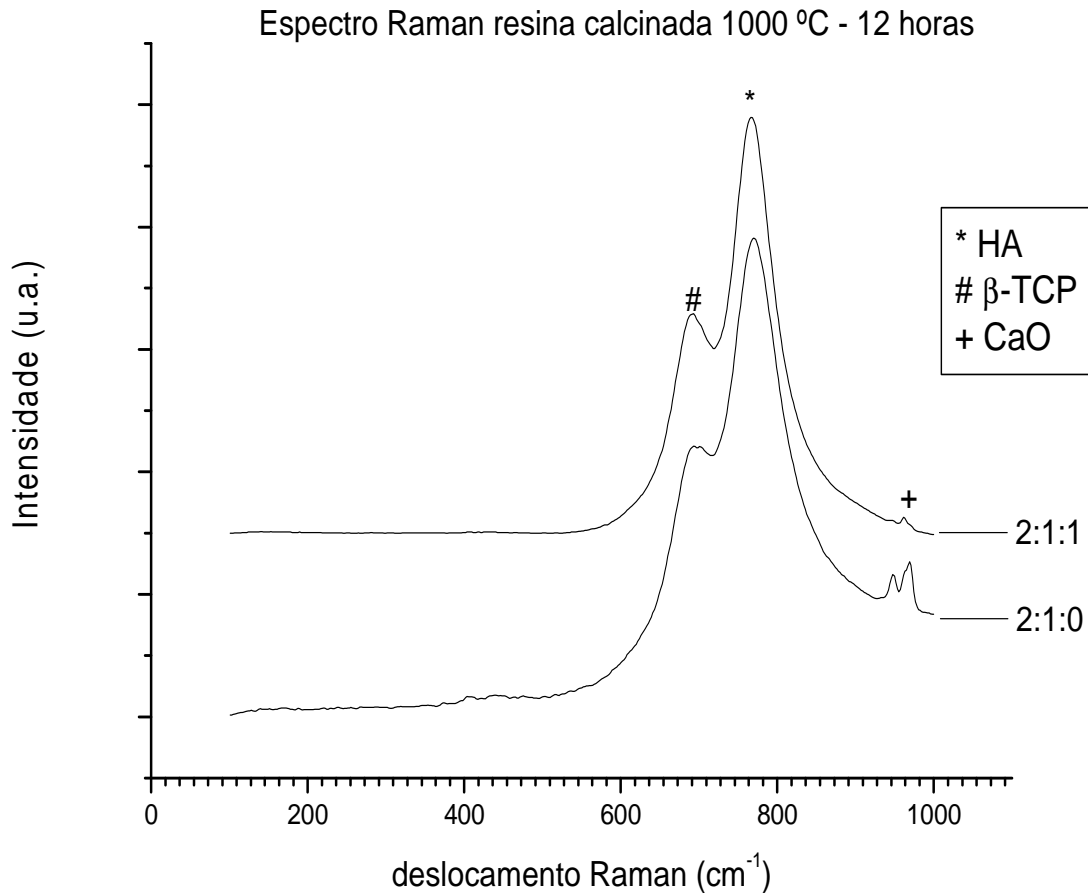


FIGURA 6: Espectro Raman da resina calcinada à 1000 °C - 12 horas

4.4 – Caracterização da área superficial pela isoterma BET

Foram realizadas medidas de área de superfície dos materiais (1,5:1:0), (1,5:1:1) e (2:1:1) para verificar qual formação (hidroxiapatita ou β -TCP) possui menor tamanho de partícula. Pelos dados levantados na literatura podemos definir, para o caso de osteointegradores, que um tamanho de partícula menor seria o material mais rapidamente absorvido e osteointegrado, causando menor inflamação. Percebe-se que a maior área superficial foi a do material (1,5:1:1) (20,297 m²/g). Porém, comparando-se com as demais sínteses, nota-se que este aspecto não é crítico, visto que a menor área superficial obtida (15,676 m²/g) está muito próxima desse valor devido ao erro experimental descrito. Assim,

observando-se os resultados anteriores, a síntese (2:1:1) (16,061 m²/g) mostra-se ainda mais conveniente.

A TABELA 2 apresenta os valores encontrados de área de superfície para os materiais testados descritos:

TABELA 2: Valores encontrados para área superficial (BET).

	(1,5:1:0)	(1,5:1:1)	(2:1:1)
Área superficial (m ² /g)	15,676	20,297	16,061
Erro: ± 0,021			

4.5- Análise morfológica via microscopia eletrônica de varredura

Foram obtidas micrografias de microscopia eletrônica de varredura (MEV) para o material (2:1:1), para verificar-se a morfologia da hidroxiapatita e do β -TCP pelo tamanho de partículas e morfologia. Percebe-se que a amostra apresenta duas fases morfológicas bem distintas, indicando a presença de hidroxiapatita e β -TCP em uma mesma síntese.

As FIGURAS 7 a 11 mostram as características morfológicas dos produtos obtidos.

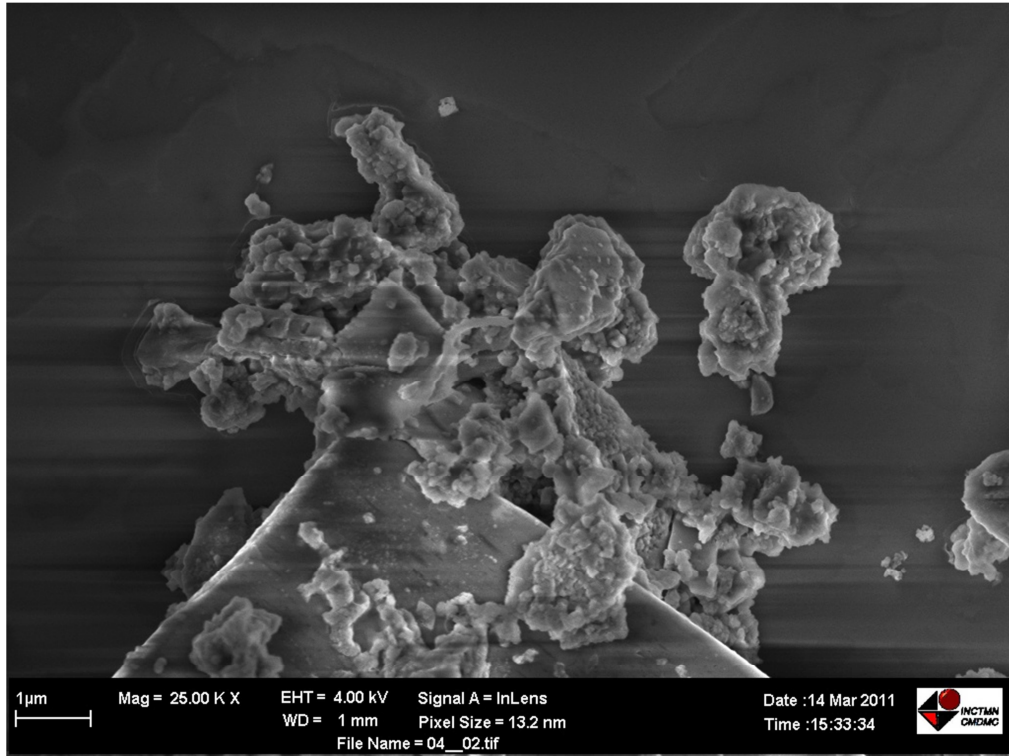


FIGURA 7: Micrografia da resina calcinada à 350°C – 30 minutos – (2:1:1).
Escala 1 micrômetro.

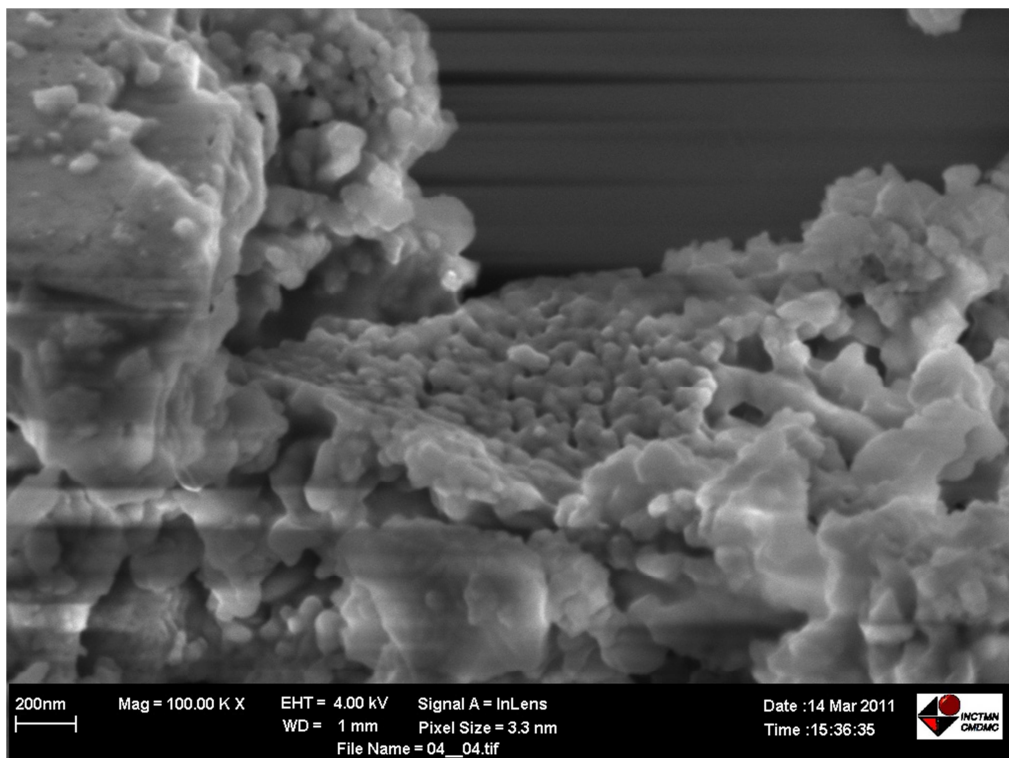


FIGURA 8: Micrografia da resina calcinada à 350°C – 30 minutos – (2:1:1).
Escala 200 nanômetros.

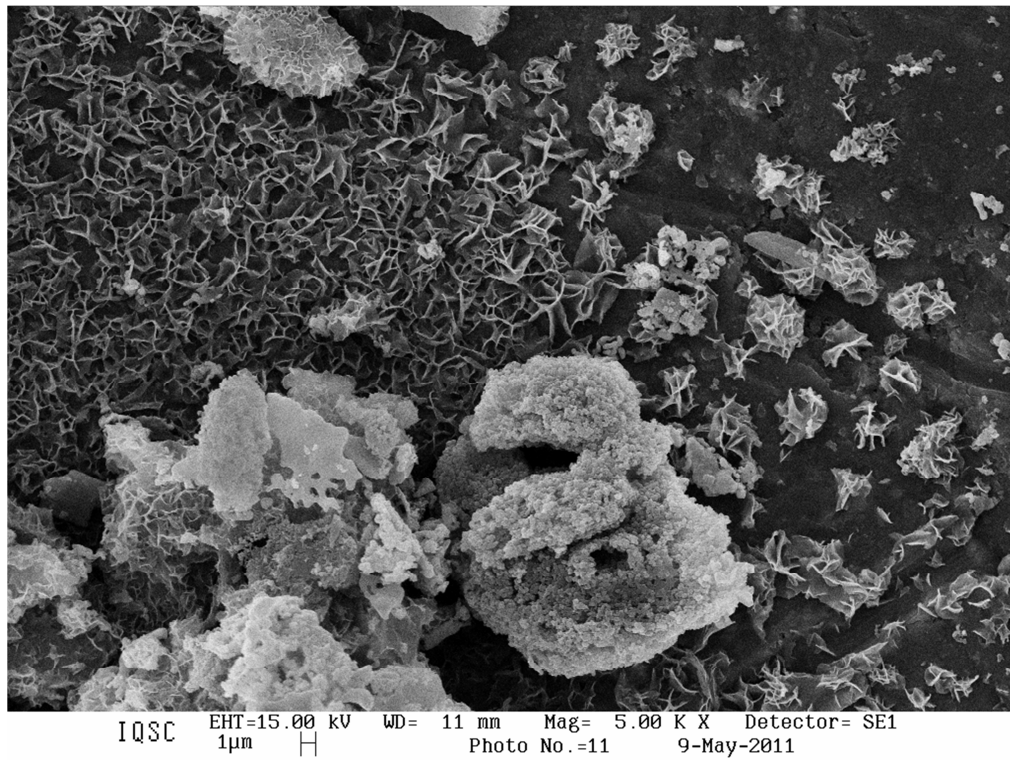


FIGURA 9: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – (2:1:1).

Escala 1 micrômetro. HA + β -TCP

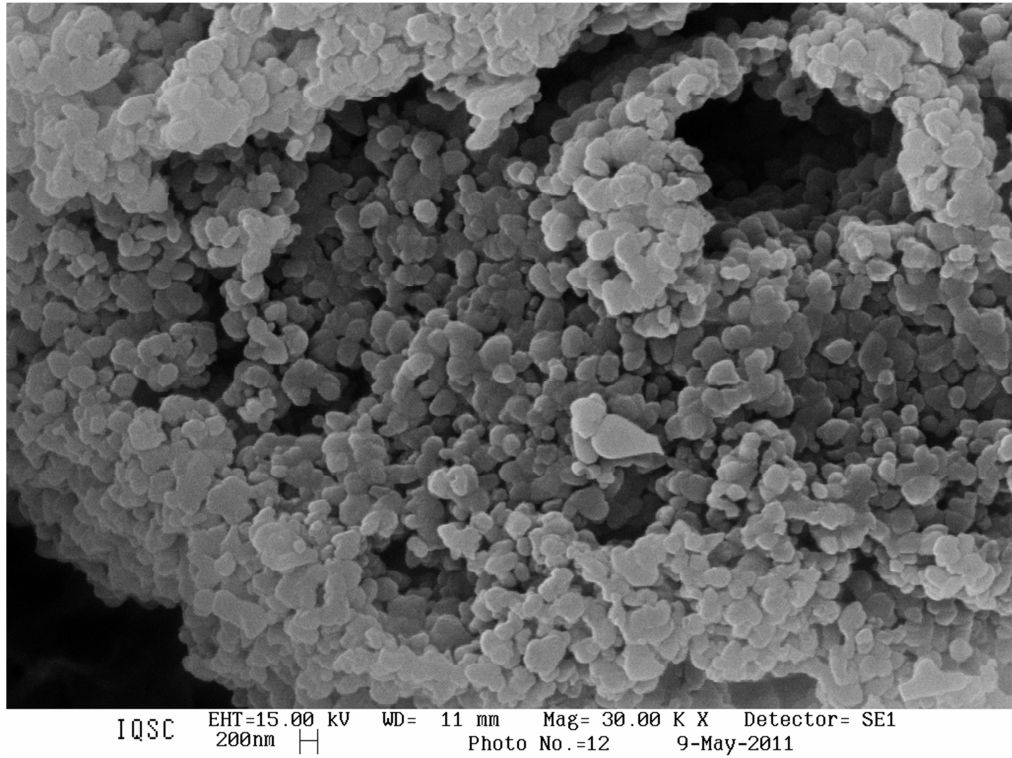


FIGURA 10: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – (2:1:1).

Escala 200 nanômetros. HA

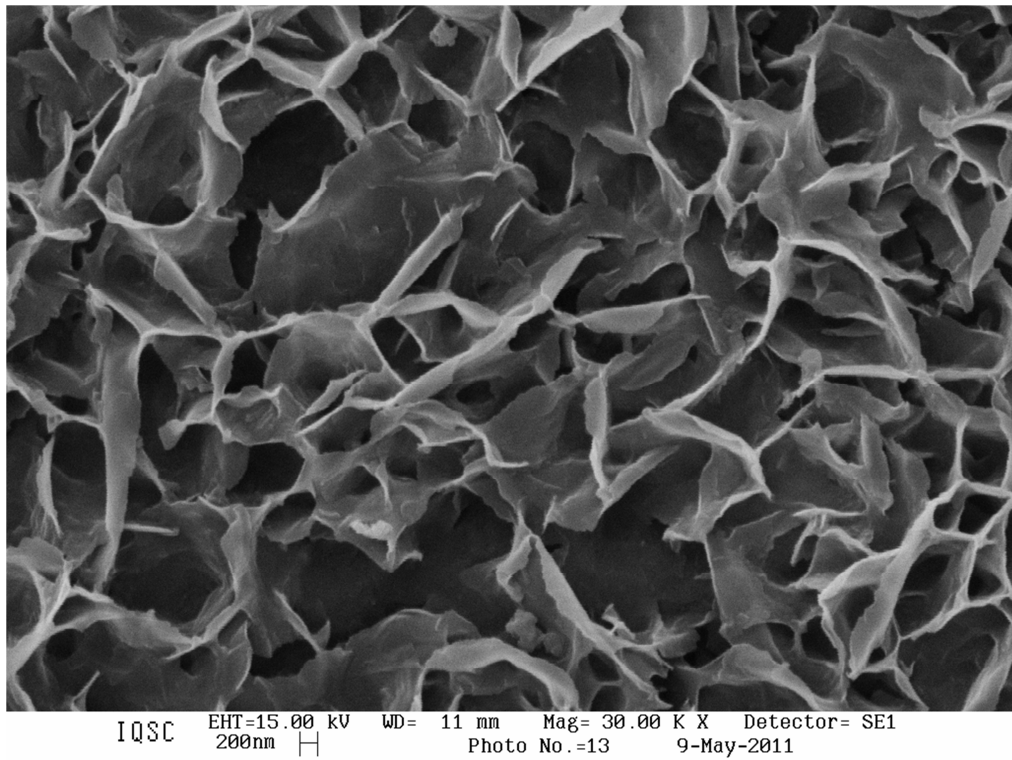


FIGURA 11: Micrografia da resina calcinada à 1000 °C – 12 horas – (2:1:1).

Escala 200 nanômetros. β -TCP

Observa-se nas FIGURAS 7 e 8, correspondentes às resinas calcinadas a 350 °C, que ainda não se formou um conjunto homogêneo de tamanhos e formas do produto, indicando que a temperatura ainda não está adequada para obtenção dos produtos cristalinos, como observados nos DRX a esta temperatura, pois lá observa-se poucos picos característicos dos produtos estudados.

A FIGURA 9 correspondente à resina calcinada a 1000 °C – escala de 1 micrômetro. Observa-se imagens de duas fases distintas, uma com forma de “escamas” e outra com forma de “esferas”. Atribui-se a fase de escamas o β -TCP, que neste caso representa em torno de 36%, calculado pelo EDS, do produto e o tamanho de grão, melhor visualizado na FIGURA 11 (1000 °C – escala 200 nanômetros) na ordem de 1 micrômetro.

Na FIGURA 10, imagem da resina calcinada a 1000 °C – escala de 200 nanômetros, observa-se a HA com forma de “esferas” para os grãos e o tamanho em torno de 350 nm.

Pode-se dizer que o produto final escolhido (2:1:1), mescla de HA e β -TCP, não apresenta homogeneidade em suas formas, tamanhos de grãos e concentrações. Porém estas características não estão fora do mercado nacional e internacional de produtos ósseos sintéticos, pois existem concorrentes no mercado que se utilizam desta mistura para obterem resultados positivos nos quesitos velocidade de integração e aplicabilidade em pontos que dependem de estruturas mecanicamente compatíveis.

A FIGURA 12 mostra a resina calcinada (2:1:1) a 350 °C – 30 minutos, antes de sofrer maceração e peneiração. Podemos notar que além de apresentar uma coloração cinza escuro, esta ainda não apresenta as características da HA e do β -TCP apresentadas pelas caracterizações descritas.

Na FIGURA 13 é apresentada a resina calcinada (2:1:1) a 1000 °C – 12 horas, produto final, apresentando uma coloração branca e com as características descritas anteriormente para utilização em reconstrução óssea.



FIGURA 12: Material calcinado à 350 °C - 30 minutos



FIGURA 13: Material calcinado obtido à 1000 °C - 12 horas

5- ANÁLISE DE EFICIÊNCIA DO MÉTODO

De acordo com as caracterizações obtidas, podemos afirmar que o estudo multivariado realizado da síntese do material definiu uma produção mais dirigida para concentrações de (2:1:1), 12 horas como tempo de forno, 1000° C de temperatura de calcinação e rendimento neste de 70% baseado nos dados de entrada de matérias-primas e produto final. Estas condições são favoráveis por sintetizar-se uma mescla de maior concentração de hidroxiapatita e também pela maior facilidade de homogeneização na etapa de misturas de matérias primas onde é evaporada toda a água formando uma resina, etapa esta que foi de maior dificuldade na mistura onde não se fez utilização do etilenoglicol. Um dos objetivos do estudo, que foi a síntese, foi atingido nesta etapa. Com isso, puderam-se redigir processos de registros do produto junto a ANVISA, visto que é este órgão governamental que controla a produção e venda de produtos médicos e odontológicos e que a empresa DMC está sujeita a inspeções constantes.

Os dois processos de registros que foram feitos são os seguintes:

1- **Clareador dental Lase Peroxide HA** - Reg. ANVISA 80030810115

Este produto já se encontra devidamente registrado e pode ser comercializado, tratando-se de um gel de clareamento dental que se utiliza do produto desenvolvido como carga de HA e β -TCP, para diminuição da perda de minerais dos dentes, devido à alta oxidação do peróxido de hidrogênio, que é o princípio ativo do gel.

2- **Grafting HA** - Protocolo ANVISA nº 2010087229PA

Este é o principal produto provindo do estudo, e no momento ainda encontra-se em fase de registro. Trata-se de um compósito à base de HA e β -TCP, para preenchimento ósseo com aplicações odontológicas e médicas, uma

vez que no registro está contemplando uma família de produtos com pós, blocos e géis a base deste material.

O diagrama de produtividade da síntese e comercialização apresenta as etapas a serem seguidas para produção e comercialização do material. Foi também avaliada a pertinência de outros métodos, tais como calcinação e moagem contínua, como opções para a produção em escala do material, mas estas representam grande custo de fabricação quanto a máquinas e materiais e o material formado não apresenta características físico-químicas idênticas ao proposto, não sendo assim passíveis de comparação.

A FIGURA 14 mostra o diagrama de produtividade e comercialização que poderão ser empregados na empresa, para produção comercial dos produtos registrados:

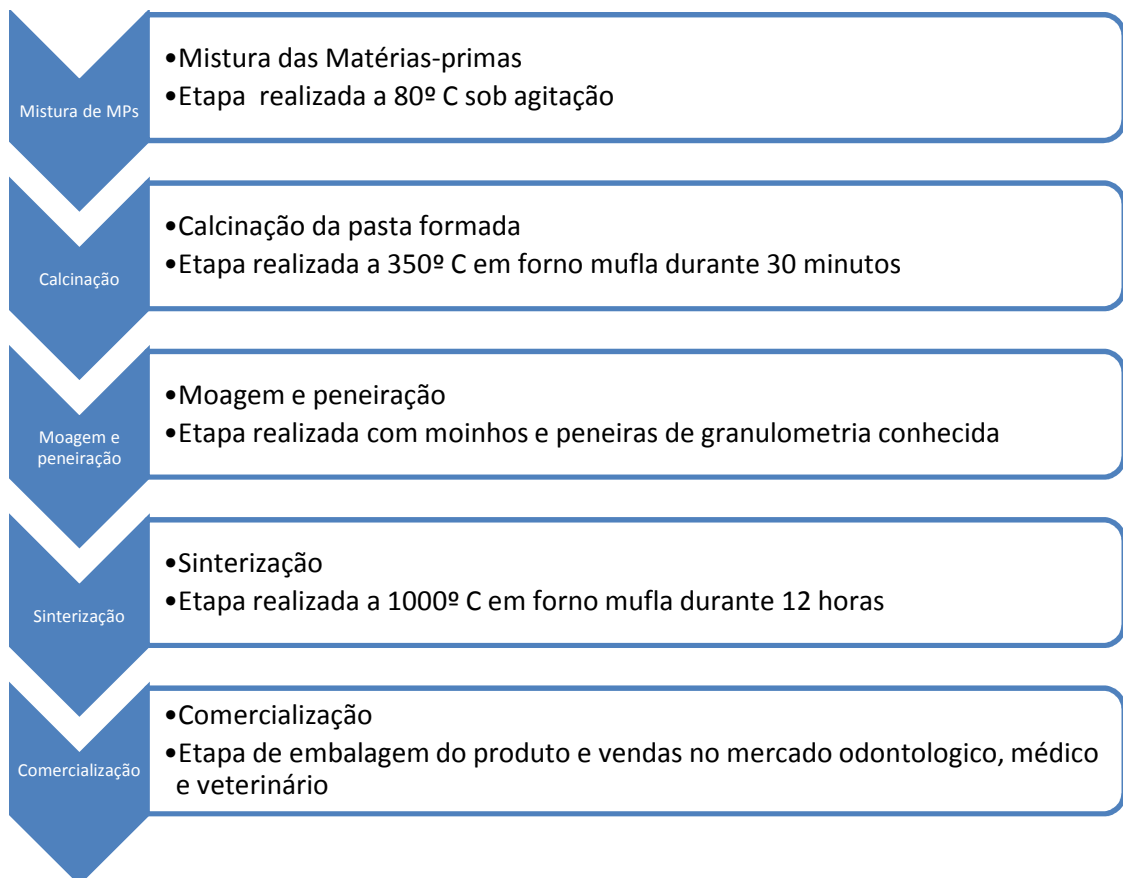


FIGURA 14: Diagrama de produtividade da síntese e comercialização

Este diagrama foi enviado para a ANVISA na documentação de registro, pois as BPFs exigem o diagrama de produção e comercialização do material.

6- ANÁLISE PRELIMINAR DE CUSTOS DE OPERAÇÃO E PRODUÇÃO

A análise de custos de produção em bancada do material foi realizada baseando-se da experiência da empresa DMC Importação e Exportação de Equipamentos LTDA nos custos de cada produto fabricado na planta de São Carlos – SP. Os custos incluem impostos municipais, estaduais e federais, o que representa bem a realidade do dia a dia das vendas.

A TABELA 3 mostra a projeção preliminar de custos de produção para 100g e 500g do produto final.

TABELA 3: Análise preliminar dos custos de produção (valores de fevereiro 2012)

	Unid.	Valor (R\$)	Quant. p/ 100 g Produto (g)	Quant. p/ 500 g Produto (g)	Custo MP 100 g (R\$)	Custo MP 500 g (R\$)
Carbonato de Cálcio PA	Kg	14,23	0,06563	0,32815	0,93	4,67
Ácido Cítrico PA	Kg	13,95	0,379	1,895	5,29	26,44
Ácido Fosfórico PA	Litro	53,00	0,04548	0,2274	2,41	12,05
Água Purificada	Litro	2,50	1,9804	9,902	4,95	24,76
Etilenoglicol PA	Litro	9,80	0,25272	1,2636	2,48	12,38
Embalagem (estéril)	PC	2,50	200	1000	500,00	2.500,00
gastos com energia	KwH	0,36	60	60	21,60	21,60
gastos com mão de obra	Hora	5,00	36	36	180,00	180,00
gastos com análises*	Hora	60,00	5	5	300,00	300,00
Total (R\$)					1.017,66	3.081,90
Total com impostos (R\$)					2.340,62	7.088,36

Para conferência do valor a ser praticado para venda do produto final, foi realizada uma análise mercadológica de produtos similares de empresas conhecidas e que possuam registro ANVISA de seus produtos. A TABELA 4 abaixo representa a análise realizada:

TABELA 4: Análise mercadológica do produto (valores de novembro 2011)

Empresa	Produto	Peso (g)	Valor (R\$)	Modelo
Baumer	GenMix	0,5g	112,00	Enxerto ósseo bovino
Baumer	GenOx	0,5g	80,00	Enxerto ósseo bovino
Osteogen	Hidroxiapatita	0,4g	108,90	HA:β-TCP (40:60)
JHS	HAP-91	0,5g	55,00	25% colágeno e 75% HA
Bionnovation	Hidroxiapatita	0,5g	72,05	Hidroxiapatita (100%)
Genius	GenPhos	0,5g	80,70	HA:β-TCP (70:30)
DMC	Grafting HA	0,5g	60,00	HA:β-TCP (70:30)

Para o cálculo final da lucratividade nas primeiras produções, foi realizada uma análise do valor de venda X o gasto inicial incluindo-se os impostos.

A TABELA 5 mostra a projeção de lucratividade prevista para as primeiras produções (fevereiro de 2012).

TABELA 5: Lucratividade das primeiras produções (fevereiro 2012)

Quantidade Produzida (g)	Unidades de 0,5 g produzidas	Gasto Inicial (R\$)	Valor Comercializado (R\$) - 0,5 g	Valor total comercializado (R\$)	Lucro Total R\$
100	200	2.340,62	60,00	12.000,00	9.659,38
500	1000	7.088,36	60,00	60.000,00	52.911,64

7- CONCLUSÕES

O método adotado trata-se de um bom método de trabalho, devido à limpeza, mistura de fases, rendimento (70%), tamanho de partículas obtido (nanométricas) e pelo fato de se obter primeiramente uma “matéria-prima inicial” passível de estocagem, isto é, na primeira calcinação a 350 °C, o material obtido poderia ser estocado e após uma quantidade maior, calcinar a 1000 °C.

Os custos de fabricação são muito competitivos com mercado atual, frente a grandes empresas do ramo com tradição mercadológica, visto que a DMC não possui ainda, um grande portfólio e histórico de venda de biomateriais, estes custos são pertinentes para uma boa aceitação do público consumidor.

Os materiais formados podem ser utilizados como matéria-prima para novos produtos na empresa (clareadores dentais, implantes metálicos e enxertos com materiais diversos), visto que se tratando de uma empresa voltada e produção de equipamentos e materiais médicos e odontológicos, não será este o último produto a ser desenvolvido, e a possibilidade de formação de blocos ou peças específicas já é uma realidade no mercado e é de grande interesse na empresa.

Na síntese destes materiais a temperatura é fundamental para obtenção de materiais mais cristalinos, visto que a partir de 700 °C inicia-se uma boa cristalinidade e a 1000 °C esta torna-se mais efetiva.

Segundo as normas ISO 13779-3:2008 ⁽³⁴⁾ e ISO 13779-1:2008 ⁽³⁵⁾, que tratam de materiais de hidroxiapatita pura para aplicações médicas, os produtos não seriam considerados “hidroxiapatita pura”, mas provou-se na introdução e durante todo o trabalho que o mercado de biomateriais osteocondutores não está interessado neste tipo hidroxiapatita pura, mas numa mescla de materiais que

possam ter um diferencial tanto na velocidade de absorção quanto na performance frente a necessidades mecânicas do produto.

8- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FARDIN, A.C. et al. Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura. **Innov. Implant. J., Biomater. Esthet.**. São Paulo, v.5, n.3, p.48-52, set./dez. 2010.
2. SMITH, I. O.; MCCABE, L. R.; BAUMANN, M. J. MC3T3-E1 osteoblast attachment and proliferation on porous hydroxyapatite scaffolds fabricated with nano phase powder. **International Journal of Nanomedicine**. v.1, n.2, p. 89–194, 2006.
3. MUÑOZ, E. M. R. Hydroxyapatite-Based Materials: Synthesis and Characterization. In: **Biomedical Engineering – Frontiers and Challenges**. Editado por FAZEL-REZAI, R. 2011. p. 75 – 98.
4. COSTA, A. C. F. M. et al. Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações. **Revista Eletrônica de Materiais e Processos**. v.4.3, p.29-38, 2009. Disponível em:
<http://www.dema.ufcg.edu.br/revista/index.php/REMAP/article/viewFile/105/123>. Acesso em: 28/02/2013.
5. RIGO, E.C.S. et al. Implantes metálicos recobertos com hidroxiapatita. **Revista Brasileira de Engenharia Biomédica**. v.15, n.1-2, p. 21-29, jan/ago 1999.
6. RIGO, E.C.S. et al.. Evaluation in vitro and in vivo of biomimetic hydroxyapatite coated on titanium dental implants. **Materials scienc& Engineering**. C 24, p. 647-651, 2004.
7. OGAWA, C. A.; PLEPIS, M. G. Liberação in vitro de cloridrato de ciprofloxacina em compósitos hidroxiapatita:colágeno. **Polímeros: ciência e tecnologia**. v.12, n.2, p.115-122, 2002.
8. SALEH J. et al. Obtenção e avaliação de hidroxiapatita in vivo. In: XVI Congresso Brasileiro de Ciência e Engenharia de Materiais. Porto Alegre – RS 28 de novembro a 02 de dezembro de 2004.
9. ALMIRALL, A.; DELGADO, J.A.; ALFONSO, A. Fosfatos de cálcio porosos: Métodos de Preparación. In: VII Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. Habana 2007, artículo T062.

10. MOREIRA, A. S. B.; PASTORELI, M. T.; DAMASCENO, L. H. F.; DEFINO, H. L. A. Estudo experimental da influência das dimensões dos grânulos de hidroxiapatita na integração óssea. **Acta Ortop Brás.** v.11, n.4, p. 240-250, out/dez, 2003.
11. CARLO, E. C. et al. Compósito para fabricação de implantes reabsorvíveis para osteossíntese: avaliação da biocompatibilidade em coelhos. **Ciência Rural.** Santa Maria-RS, v.39, n.1, p. 135-140, jan-fev, 2009.
12. VITAL, C.C. et al. Biocompatibilidade e comportamento de hidroxiapatita em falha óssea na urina de coelhos. **Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec.** v.58, n.2, p.175-183, 2006.
13. SANTOS, M. L. et al. Síntese de hidroxiapatita pelo método sol-gel utilizando precursores alternativos: nitrato de cálcio e ácido fosfórico. **Ecl. Quím.** São Paulo, v.30, n.3, p. 29-35, 2005.
14. ARAÚJO, J. C. de et al. Síntese da hidroxiapatita e refinamento estrutural por difração de raios-X. **Quím. Nova.** v.30, n.8, p.1853-1859, 2007.
15. RIGO, E. C. S. et al. Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação. **Ver. Dental Press Periodontia Implantol.** Maringá, v.1, n. 3, p. 39-50, jul./ago./set. 2007.
16. KIM, K. H.; RAMASWAMY, N. Electrochemical surface modification of titanium in dentistry. **Dent. Mater. J.** v.28, n.1, p.20–36, 2009.
17. CONZ, M. B. et al. Physicochemical characterization of six commercial hydroxyapatites for medical-dental applications as bone graft. **J. Appl. Oral Sci.** v.13, n.2, p.136-140, 2005.
18. DUARTE, T.S. et al. Osteointegração da hidroxiapatita sintética no processo alveolar da mandíbula de cães: aspectos histológicos. **Arq. Brás. Méd. Vet. Zootec.** v.58, n.5, p.849-853, 2006.
19. VANDIVER, J. et al. Nanoscale variation in surface charge of synthetic hydroxyapatite detected by chemically and spatially specific high-resolution force spectroscopy. **Biomaterials.** V. 26, p. 271-283, 2005.
20. ARAÚJO, J.C. de et al. Análise estrutural de uma hidroxiapatita carbonatada pelo método de Rietveld aplicando funções de perfil diferentes. **Metalurgia & Materiais.** Ouro Preto, v.61, n.4, p.479-484, out. dez. 2008.
21. OKAWA, S. et al. Characterization of calcium phosphate deposited on valve metal by anodic oxidation with polarity inversion. **Dental Materials Journal.** v.28, n.4, p.513–518, 2009.

22. TARI, N. E.; MOTLAGH, M. M. K. Effect of Poly (Sodium 4-Styrene Sulfonate) on the Morphology of Hydroxyapatite Particles. **Bioinorganic Chemistry and Applications**. V. 2009, Article ID 303176, 3 pages.
23. ZHU, W. et al. Experimental study of nano-HA artificial bone with different pore sizes for repairing the radial defect. **International Orthopaedics (SICOT)**. v.33, p.567–571, 2009.
24. LIURYUN, J. et al. Preparation and biological properties of a novel composite scaffold of nano-hydroxyapatite/chitosan/carboxymethyl cellulose for bone tissue engineering. **Journal of Biomedical Science**. v.16, n. 65, 2009. Disponível em: <http://www.jbiomedsci.com/content/16/1/65>.
25. KASAJ, A. et al. Ability of nanocrystalline hydroxyapatite paste to promote human periodontal ligament cell proliferation. **Journal of Oral Science**. v.50, n.3, p.279-285, 2008.
26. KUMAR, R. et al. Chitosan-mediated crystallization and assembly of hydroxyapatite nanoparticles into hybrid nanostructured films. **J. R. Soc. Interface**. v.5, p.427–439, 2008.
27. KIM, S. S.; KIM, B. S. Comparison of Osteogenic Potential Between Apatite-Coated Poly(Lactide-Co-Glycolide)/Hydroxyapatite Particulates and Bio-Oss. **Dental Materials Journal**. v.27, n.3, p.368 – 375, 2008.
28. NANDI, S. K. et al. Efficacy of nano-hydroxyapatite prepared by an aqueous solution combustion technique in healing bone defects of goat. **J. Vet. Sci.** v.9, n.2, p.183-191, 2008.
29. PUCKETT, S. et al. Nano rough micron patterned titanium for directing osteoblast morphology and adhesion. **Int. Journal of Nanomedicine**. v.3, n.2, p.229-241, 2008.
30. NUKAVARAPU, S. P. et al. Polyphosphazene/Nano-Hydroxyapatite Composite Microsphere Scaffolds for Bone Tissue Engineering. **Biomacromolecules**. v.9, n.7, p.1818-1825, 2008
31. AIN, R. N. et al. Preparation of Biphasic Calcium Phosphate Ceramics Powders and Conversion to Porous Bodies. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON CONSTRUCTION AND BUILDING TECHNOLOGY. Malásia, setembro 2008. P. 245-256.
32. VARMA, H.K.; SURESH BABU, S. Synthesis of calcium phosphate bioceramics by citrate gel pyrolysis method. **Ceramics International**. v.31, p.109–114, 2005.

34. ISO 13779-3:2008: specifies methods of test for the chemical analysis and assessment of crystallinity and phase composition of hydroxyapatite-based materials such as coatings and sintered products.

35. ISO 13779-1:2008 specifies requirements for ceramic hydroxyapatite intended for use as surgical implants.