

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

**“ACONDICIONAMENTO DE HIDROXIAPATITA  
NANOPARTICULADA EM SACHÊS BIODEGRADÁVEIS  
PARA APLICAÇÃO COMO FERTILIZANTE MINERAL”**

**Camila Rodrigues Sciena\***

**São Carlos - SP  
2015**

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

**“ACONDICIONAMENTO DE HIDROXIAPATITA  
NANOPARTICULADA EM SACHÊS BIODEGRADÁVEIS  
PARA APLICAÇÃO COMO FERTILIZANTE MINERAL”**

**Camila Rodrigues Sciena\***

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE EM QUÍMICA. Área de concentração: QUÍMICA

**Orientadora: Dra Elaine Cristina Paris  
\* bolsista CAPES**

**São Carlos - SP  
2015**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia  
Programa de Pós-Graduação em Química

---

**Folha de Aprovação**

---

Assinaturas dos membros da comissão examinadora que avaliou e aprovou a Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Camila Rodrigues Sciema, realizada em 24/07/2015:

---

Profa. Dra. Elaine Cristina Paris  
Embrapa

---

Prof. Dr. Adriano Cesar Rabelo  
UFSCar

---

Prof. Dr. Juliano Elvis de Oliveira  
UFLA

## Dedicatória

Dedico este trabalho:  
Aos meus pais Valdemir e Lídia,  
Aos meus irmãos Vinícius e Renan,  
e aos meus amigos.

"Eu não falhei. Só descobri 10 mil  
caminhos que não eram o certo"

Thomas Edison

## **Agradecimentos**

À Dra. Elaine Cristina Paris pela orientação, paciência, ensinamentos, confiança e amizade, que proporcionou uma ótima experiência e lição de vida.

Ao Dr. Daniel Souza Corrêa, pelo auxílio e suporte durante a minha fase inicial na Embrapa Instrumentação.

Aos Drs Mario José de Aquino, Adriano Cesar Rabelo e Juliano Oliveira pelas ótimas sugestões, críticas construtivas e elogios que possibilitaram uma melhor elaboração no seguinte trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de São Carlos (PPGQ-UFSCar), pela oportunidade de cursar o mestrado.

À CAPES pela bolsa de estudos a mim concedida.

Aos integrantes do grupo de pesquisa o qual pertenço, que sempre unido, proporcionou um ambiente descontraído e agradável, além do auxílio sempre que necessário: Lílian, Luiz, João, Vanessa, Henrique, Bruno, Sara, Ariane, Paola e Kárcio.

Aos amigos que se disponibilizaram a me auxiliar fazendo a leitura do texto: Luiz, Vanessa, Rafaela, Fábio, Alexandra, Marcela e João Otávio.

Aos meus pais, Valdemir Sciena e Maria Lídia Rodrigues Sciena, por todo amor e confiança.

Aos meus irmãos, Vinícius Rodrigues Sciena e Renan Rodrigues Sciena, por todo amor e incentivo.

À minha cunhada Helen Cristina Morelli Fidencio Sciena e ao meu sobrinho Matheus Fidencio Sciena, pelo estímulo a seguir meus sonhos e sair do senso comum.

Às minhas amigas Camila de Luca e Andrea de Luca por compreenderem a minha ausência nesse período de fundamental importância em minha vida profissional e pessoal.

À Vanessa Priscila Scagion e a Gláucia Silveira Brichi por me introduzirem à Embrapa, pelas risadas, e pela companhia durante toda essa jornada.

## Lista de Abreviaturas

ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AEA	Agência Europeia do Ambiente
ATP	Adenosina Trifosfato
ATR	<i>Attenuated Total Reflectance</i>
BET	Brunauer, Emmett e Teller
CEPEA	Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada
COP	Coprecipitada
COP H36	Coprecipitada submetida a tratamento hidrotermal por 36 h
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DRX	Difração de Raios X
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FEG	<i>Field Emission Gun</i> – Fonte de emissão de campo
FTIR	Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de <i>Fourier</i>
FWHM	<i>Full Width at Half Maximum</i> – Largura à meia altura
HAP	Hidroxiapatita
JCPDS	<i>Joint Committee of Powder Diffraction Standards</i>
MET	Microscopia Eletrônica de Transmissão
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
NP	Nanopartículas
PEC	Pectina
ppm	Parte por Milhão
RNA	Ácido Ribonucleico
TPS	Amido termoplástico
UREIA H36	Coprecipitada na presença de ureia hidrotermalizada por 36 h
UV-Vis	Ultravioleta - Visível

## Lista de Tabelas

TABELA 3.1: Reagentes, com respectiva pureza e marca, utilizados durante o trabalho .....	21
TABELA 3.2 - Métodos utilizados para síntese das amostras, assim como sua denominação.....	24
TABELA 3.3: Massas dos compostos utilizados para produção das blendas poliméricas. ....	29
TABELA 4.1: Tabela de atribuição das bandas observadas no FTIR e suas referências na literatura. ....	38
TABELA 4.2: Tamanhos médios de partículas obtidas pelos métodos de contagem os tamanhos médios de cristalitos pelo método teórico utilizando a equação de Scherrer. ....	47
TABELA 4.3: Apresentação dos valores de Potencial Zeta e do BET para as amostras Cop, Cop H36, Ureia H36 e Comercial, utilizadas na liberação. ....	48
TABELA 4.4: Bandas referentes às blendas e suas respectivas referências. ....	51

## Lista de Figuras

FIGURA 1.1: Representação da vista lateral da cela unitária da Hidroxiapatita: verde $\text{Ca}^{2+}$ , roxo $\text{P}^{5+}$ , rosa $\text{O}^{2-}$ e vermelho $\text{H}^{+}$ <sup>34</sup> .	6
FIGURA 1.2: Estrutura química da amilopectina. <sup>71</sup>	14
FIGURA 1.3: Estrutura química da pectina <sup>71</sup> .	15
FIGURA 3.1: Esquema do procedimento experimental de trabalho.	20
FIGURA 3.2: Esquema de síntese para a amostra de hidroxiapatita obtida por coprecipitação.	22
FIGURA 3.3: Esquema de síntese para a amostra de hidroxiapatita obtida por coprecipitação seguida de tratamento hidrotermal na presença de ureia.	24
FIGURA 3.4: Formulações das blendas e as respectivas massas de cada polímero utilizado.	29
FIGURA 3.5: Esquema de prensagem das blendas.	30
FIGURA 3.6: Simulação da produção do sachê polimérico contendo hidroxiapatita.	32
FIGURA 3.7: Esquema de preparação de alíquotas.	33
FIGURA 4.1: Difractogramas de raios X (DRX) obtidos para as amostras que foram submetidas ao tratamento hidrotérmico de 12 à 48h.	36
FIGURA 4.2: Espectros na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras submetidas ao envelhecimento hidrotermal de 12 a 48 horas.	37
FIGURA 4.3: Espectros FT-Raman obtidos para as amostras hidrotermalizadas de 12 a 48 horas.	39
FIGURA 4.4: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) para as amostras obtidas por tratamento hidrotérmico. Os tempos de hidrotermalização são: a) e b) 12 horas, c) e d) 24 horas, e) e f) 36 horas e g) e h) 48 horas.	40
FIGURA 4.5 - Esquema de interação das partículas de HAP e moléculas de ureia <sup>32</sup> .	41
FIGURA 4.6: Difractogramas de raios X (DRX) obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial.	43
FIGURA 4.7: Espectros da região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial.	44
FIGURA 4.8: a) Espectros de FT-Raman obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial. B) Maior magnificação na região de 840 a 1000 $\text{cm}^{-1}$ .	45
FIGURA 4.9: Imagens obtidas por MET das amostras a) Cop, b) Cop H36, c) Ureia H36 e d) Comercial.	46
FIGURA 4.10: Blendas de amido e pectina e suas composições.	48
FIGURA 4.11: Difractogramas de raios X para as blendas produzidas.	49
FIGURA 4.12: Espectros de FTIR obtidos para as blendas produzidas.	50
FIGURA 4.13 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da seção transversal das blendas de amido e pectina na forma de filmes.	52
FIGURA 4.14: Micrografias das blendas de 100 PEC, 100 TPS e 50 TPS : 50 PEC com magnificação de 3000 vezes. Setas evidenciam a presença de grânulos in natura do amido. O círculo com linha contínua mostra a região com presença de rugosidade enquanto o círculo pontilhado demonstra a região lisa.	53



FIGURA 4.15: Termogravimetria e derivada primeira das blendas obtidas. Linha pontilhada em 140 °C indica a temperatura de processamento. ....	54
FIGURA 4.16: Sachês de TPS:PEC utilizados para o teste de degradação em água dos mesmos. Da esquerda para direita: 100 TPS, 75 TPS: 25 PEC, 50 TPS: 50 PEC, 25 TPS: 75 PEC e 100 PEC, respectivamente.....	55
FIGURA 4.17 - Degradação dos sachês na presença de água.....	56
FIGURA 4.18: Solubilidade dos sachês de acordo com sua composição. Da esquerda para a direita: 100 TPS, 75 TPS : 25 PEC, 50 TPS : 50 PEC, 75 PEC : 25 TPS e 100 PEC.....	57
FIGURA 4.19: Espectros de absorção da liberação de íons fósforo, pelas partículas de HAP em Ácido Cítrico e Água, complexadas com o íon molibdato. ....	58
FIGURA 4.20: Curva padrão que relaciona absorbância e concentração das amostras. ....	58
FIGURA 4.21: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em água deionizada e temperatura controlada de 40°C. ....	59
FIGURA 4.22: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em água deionizada à temperatura ambiente. ....	61
FIGURA 4.23: Liberação das nanopartículas de hidroxiapatita em solução de ácido cítrico em pH 5. ....	62
FIGURA 4.24: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em solução de ácido cítrico com pH 1 à temperatura ambiente.....	63
FIGURA 4.25: Sachês confeccionados a partir da blenda 75 TPS : 25 PEC. Da esquerda para direita, Cop, Cop H36, Ureia H36 e Comercial, respectivamente.....	64
FIGURA 4.26 - Liberação de fósforo a partir de hidroxiapatita nanoparticulada acondicionada em sachê polimérico biodegradável. ....	64

## Resumo

ACONDICIONAMENTO DE HIDROXIAPATITA NANOPARTICULADA EM SACHÊS BIODEGRADÁVEIS PARA APLICAÇÃO COMO FERTILIZANTE MINERAL. O Brasil apresenta necessidade de utilização de fertilizantes para a produção agrícola nacional. Conseqüentemente, há grande dependência de mercados estrangeiros, já que aproximadamente 75% desses adubos são importados. No caso do adubo fosfatado, a principal rota de produção é pela adição de ácido sulfúrico à rocha fosfática, formando ácido fosfórico e sulfato de cálcio, também chamado de fosfogesso. Este é gerador de grande problema ambiental, já que grandes quantidades desse subproduto se encontram estocados sem um uso final. Com a finalidade de contribuir para a minimização desta questão, o presente trabalho tem por objetivo analisar a liberação íons fosfato através da solubilização da hidroxiapatita (HAP) sintetizada em laboratório com o intuito de avaliar sua possível aplicação como fertilizante mineral. Dado que a HAP apresenta baixa solubilidade, visou-se sintetizar um material nanoestruturado, a fim de auxiliar a sua dissolução, uma vez que, esta propriedade é normalmente dependente do tamanho de partículas. De modo a minimizar os efeitos de lixiviação do material no solo, foram processadas blendas biodegradáveis de amido e pectina para a produção de sachês para o acondicionamento da HAP particulada, assim como a liberação lenta dos íons provenientes da mesma. A hidroxiapatita utilizada no presente trabalho foi obtida pelo método de coprecipitação por via úmida seguida, ou não, de tratamento hidrotérmico. Com a utilização de surfactante e variação no tempo de hidrotermalização foram obtidos materiais com morfologia tipo bastonetes e fitas. Para caracterização das amostras sintetizadas foi utilizado um difratômetro de raios X. Os resultados obtidos a partir deste mostraram que as partículas produzidas neste trabalho se apresentaram em fase única sem a ocorrência de fases secundárias indesejáveis. O FTIR e FT-Raman confirmaram o resultado obtido pelo DRX. A partir dos potenciais Zeta foi observado que a amostra de menor área superficial se apresentou mais estável em solução que o restante dos compostos analisados. Foi observado, também, que o aumento da cristalinidade do material obtido acarretou em uma menor solubilização do mesmo em pH neutro. O ensaio de liberação foi repetido em pH ácido, mostrando que meios mais ácidos acarretam em maiores dissoluções das amostras. A partir dos ensaios de liberação foi possível constatar que as amostras que apresentaram maior solubilização em pH neutro, aproximadamente  $4,5 \text{ mg L}^{-1}$  de fósforo liberado, foram as de menor tamanho e com menor grau de cristalinidade. Já as amostras maiores e mais cristalinas formaram soluções de concentrações de, no máximo,  $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ . Já os ensaios feitos em pH ácido evidenciaram que as amostras, independentemente do tamanho e cristalinidade apresentado, são facilmente solubilizadas. Foram empregadas blendas para acondicionar a HAP, e a escolhida para se utilizar no presente trabalho foi a de 75 TPS : 25 PEC, devido a sua maior maleabilidade e maior resistência em solução. As solubilidades obtidas para as amostras contidas no sachê apresentaram altos valores, mesmo que em pH próximo ao neutro, indicando sua potencialidade de uso.

## Abstract

PACKAGING HYDROXYAPATITE NANOPARTICLE IN BIODEGRADABLE SACHETS FOR USE AS MINERAL FERTILIZER. In 2013, the portion of the Brazilian agrarian system in the gross domestic product reached 22.54% according to CEPEA. The production of agricultural commodities is extremely dependent on imported fertilizer, as 74.6% of the material used on national soil has foreign origin. In the case of phosphate fertilizers, the main route for production is by adding sulfuric acid to the phosphate rock, producing phosphoric acid and calcium sulfate, also known as phosphogypsum. This is a major environmental problem generator, since large quantities of by-product are stored without an end use. In order to minimize this issue, this work aims to examine the release of phosphate by hydroxyapatite (HAP) solubilization synthesized in the laboratory in order to assess your application as mineral fertilizer. Since the HAP have low solubility, it was aim at synthesizing a nanostructured material to aid its dissolution, since this property is, normally, dependent on the particle size. In order to minimize the effects of leaching of the soil material were processed blends of biodegradable starch and pectin for the production of sachets for packaging of HAP particulate as well as the slow release thereof. The hydroxyapatite used in this study was obtain by wet coprecipitation method followed by hydrothermal treatment or not. With the use of surfactants and variation in the hydrothermal treatment time, rod and whiskers morphology materials were obtain. For characterization of the synthesized samples was using an x-ray diffractometer. The results from this showed that the particles produced in this study are present in a single step without the occurrence of undesirable secondary phases. The FTIR and FT-Raman confirmed the result obtained by XRD. From the Zeta potential was observed that the sample of smaller surface area is made more stable in solution than the rest of the analyzed compounds. It was also observe that increasing the crystallinity of the material resulted in a lower solubility at neutral pH thereof. The release assay was repeated at acidic pH, indicating that more acidic conditions lead to higher dissolutions of samples. From the release tests it was found that the samples had higher solubility at neutral pH, approximately 4.5 mg L<sup>-1</sup> of phosphorus released, were smaller and less degree of crystallinity. For the larger and more crystalline sample solutions formed concentrations of at most 1.5 mg L<sup>-1</sup>. Since the tests made at acidic pH showed that the samples, regardless of the size and crystallinity presented are easily solubilized. All solutions obtained showed the phosphorus concentration around 15 mg L<sup>-1</sup>. Blends were used to condition the HAP, and chosen to be used in the present work was to TPS 75: 25 PEC, due to its greater flexibility and greater resistance in solution. The solubility obtained for the samples contained in the sachet showed high values, even at pH close to neutral, indicating its potential use.

## Sumário

1. Introdução.....	1
1.1. Nutrição Mineral .....	2
1.2. Fósforo e seus Fertilizantes .....	3
1.3. Apatitas .....	4
1.3.1. Hidroxiapatita.....	5
1.3.2. Solubilidade da Hidroxiapatita .....	7
1.3.3. Métodos de Síntese da HAP .....	9
1.3.3.1. Coprecipitação .....	10
1.3.3.2. Método Hidrotermal.....	12
1.4. Polímeros Biodegradáveis .....	13
1.4.1. Amido .....	14
1.4.2. Pectina.....	15
1.4.3. Blendas de Amido e Pectina.....	16
1.4.4. Processamento das Blendas .....	17
2. Objetivos.....	19
2.1. Objetivos Gerais.....	19
2.2. Objetivos Específicos .....	19
3. Materiais e Métodos:.....	20
3.1. Sequência Metodológica: .....	20
3.2. Materiais Utilizados: .....	21
3.3. Métodos Experimentais de Síntese da Hidroxiapatita (HAP): .....	21
3.3.1. Hidroxiapatita por Coprecipitação:.....	21
3.3.2. Hidroxiapatita por Coprecipitação Seguida de Hidrotermalização: .....	23
3.3.3. Hidroxiapatita Seguida de Hidrotermalização na Presença de Ureia: ...	23
3.4. Técnicas de Caracterização da HAP.....	24
3.4.1. Difractometria de Raios X (DRX).....	25
3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).....	25
3.4.3. Espectroscopia Raman.....	26
3.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG) .....	26
3.4.5. Microscopia Eletrônica de Trasnmissão (MET) .....	27

3.4.6.	Análise de Área Superficial Específica .....	27
3.4.7.	Potencial Zeta.....	28
3.5.	Preparação das blendas poliméricas .....	28
3.5.1.	Prensagem Térmica .....	30
3.6.	Técnicas de Caracterização das Blendas .....	30
3.6.1.	Difração de Raios X.....	31
3.6.2.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	31
3.6.3.	Termogravimetria (TGA).....	31
3.6.4.	Degradação dos sachês em Água.....	31
3.7.	Confecção dos Sachês .....	32
3.8.	Teste de Solubilidade.....	33
3.9.	Determinação dos Teores de Fósforo Solubilizados .....	34
4.	Resultado e Discussões .....	36
4.1.	Otimização da síntese de hidroxiapatita hidrotermicamente tratadas na presença de ureia. ....	36
4.2.	Caracterização das amostras de hidroxiapatita sintetizadas.....	42
4.3.	Caracterização das Blendas de Amido:Pectina .....	48
4.4.	Testes de solubilidade das amostras de HAP.....	57
4.4.1.	Solubilização das Nanopartículas de Hidroxiapatita .....	59
4.4.2.	Liberação das Nanopartículas de Hidroxiapatita Acondicionadas no Sachê 64	
5.	Conclusões .....	66
6.	Sugestões para Trabalhos Futuros.....	67
	Referências Bibliográficas .....	68

## 1. Introdução

No Brasil, o sistema agrário é responsável por uma grande parte da economia. Para compreender melhor a importância desse setor, em 2013, sua parcela no Produto Interno Bruto chegou 22,54%, de acordo com o Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada (CEPEA)<sup>1</sup>. É necessário ressaltar que a produção de *commodities* agrícolas no país é extremamente dependente de tecnologias agrícolas, como os fertilizantes. Isto ocorre, devido à existência de solos com baixa fertilidade, seja de modo natural ou causado pelo uso desordenado do mesmo<sup>2</sup>.

Os fertilizantes são definidos pelo artigo 3º, inciso I do decreto nº 86.955/82. De acordo com este documento, qualquer substância mineral ou orgânica, natural ou sintética fornecedora de um ou mais nutrientes das plantas é considerada um fertilizante<sup>3</sup>. Estas substâncias têm como função principal repor ao solo os nutrientes necessários para o desenvolvimento completo do vegetal.

Um dado alarmante para o setor agrário, e conseqüentemente para a economia brasileira, consiste na dependência da importação dos fertilizantes para o uso em solo nacional, cerca de 74,6% de todo o material utilizado nas culturas agrícolas brasileiras tem origem estrangeira<sup>4</sup>. De acordo com José Carlos Polidoro, vice-líder da rede BrasilFert, criada pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), essa dependência deve aumentar ainda mais em 2015<sup>5</sup>.

Esses insumos são produzidos principalmente pelos Estados Unidos, Marrocos e Rússia. O Brasil se encontra somente na sétima posição. No caso do adubo fosfatado, a principal rota de produção é pela adição de ácido sulfúrico à rocha fosfática, formando ácido fosfórico e sulfato de cálcio (fosfogesso)<sup>6</sup>. Este último é gerador de grande problema ambiental, já que grandes quantidades do mesmo encontram-se estocadas, sem um uso final em todo o mundo. De acordo com BECKER<sup>7</sup>, em somente uma fábrica do Marrocos são bombeados ao Oceano Atlântico cerca de 25.000 toneladas do material diariamente.

Apesar do transtorno ecológico, a agricultura brasileira necessita utilizar adubos agrícolas, visando à manutenção do solo, já que não é possível aumentar a eficiência dos ciclos biogeoquímicos e, conseqüentemente, a fertilidade do solo. Além dos argumentos econômicos, outro fator favorável à utilização de fertilizantes é o crescimento da população mundial. De acordo com as teorias de Malthus, economista do século XVII, tal crescimento acarretaria na escassez de alimentos<sup>8</sup>. Isto ainda não

ocorreu devido ao aumento da área de cultivo, e ao incremento na produção, entretanto, de acordo com GERLAND *et al.*<sup>9</sup>, estima-se um aumento populacional de 7,2 para 9,6 bilhões, até 2050. Este contínuo aumento da população estimula uma maior produção de fertilizantes, o que torna esta classe de substâncias um fator de grande necessidade para manutenção da vida humana<sup>10</sup>.

## 1.1. Nutrição Mineral

As plantas necessitam de elementos essenciais para o seu desenvolvimento. Ao todo são 16 elementos essenciais, entre eles metais e não metais, além de Carbono (C), Hidrogênio (H) e Oxigênio (O). Pode-se segregar tais nutrientes em dois grupos, os macronutrientes e os micronutrientes. Esta classificação é dada de modo quantitativo, ou seja, os macronutrientes Nitrogênio (N), Fósforo (P), Potássio (K), Enxofre (S), Magnésio (Mg) e Cálcio (Ca) são absorvidos em maior escala enquanto os micronutrientes Ferro (Fe), Manganês (Mn), Zinco (Zn), Cobre (Cu), Boro (B), Molibdênio (Mo), Cloro (Cl), Cobalto (Co), Selênio (Se) e Níquel (Ni) sofrem menor absorção<sup>11</sup>.

Para ser considerado como um elemento essencial, este deve obedecer a três regras: Primeiro, a planta não pode completar seu ciclo de vida na sua ausência. Segundo, ele não pode ser substituível por outro elemento. E por último, mas não menos importante, o elemento deve estar diretamente ligado ao metabolismo da planta<sup>12</sup>. Todos apresentam grande variabilidade de funções nos organismos em questão, sendo que sua deficiência pode comprometer o desenvolvimento dos mesmos<sup>13</sup>.

Os fertilizantes minerais são compostos fundamentais para o desenvolvimento completo do vegetal a ser desenvolvido no solo. Como muitos elementos em abundância no planeta não são absorvidos pelas plantas, ou seu processo de absorção é muito lento, torna-se necessária a adição de alguns desses nutrientes em formas mais acessíveis, buscando suprir as deficiências dos vegetais e aumentar a produtividade<sup>14</sup>.

## 1.2. Fósforo e seus Fertilizantes

O fósforo (P) é o segundo macronutriente mais absorvido durante o crescimento e desenvolvimento das plantas e, também, não pode ser substituído por nenhum outro elemento químico. De acordo com MALAVOLTA<sup>15</sup>, esse elemento está associado a regulação de atividades enzimáticas, é um constituinte do ATP (adenosina trifosfato), está envolvido na síntese de sacarose e participa dos principais processos energéticos, como a fotossíntese, fixação do CO<sub>2</sub> e biossíntese. Além disto, o fósforo é um dos principais componentes da estrutura molecular do DNA e RNA, que são responsáveis pela transmissão genética. A deficiência dessa substância nos vegetais é um dos maiores limitantes na produção agrícola mundial, pois pode prejudicar seu desenvolvimento, comprometendo a produção das sementes ou restringindo o crescimento da planta, sendo esse processo irreversível durante o desenvolvimento da mesma.

Apesar de toda a sua importância, o uso exagerado também acarreta em efeitos nocivos, como danos às raízes das plantas em início de desenvolvimento<sup>16</sup>. A aplicação das fontes de fósforo deve ser feita de modo consciente, já que sua dose necessária varia de acordo com a fonte utilizada da planta que se deseja adubar e do solo onde esta será plantada<sup>17</sup>.

Mesmo sendo o segundo elemento químico mais necessário para o desenvolvimento vegetal, o fósforo solúvel disponível no solo se apresenta em baixíssima quantidade. Aproximadamente 0,1% de todo fósforo presente no solo encontra-se dissolvido para a possível absorção pelas plantas<sup>18</sup>. Isso ocorre devido a presença de Ferro e Alumínio no solo que causam a sua precipitação em complexos, sendo esses indisponíveis para as plantas.

Os fertilizantes fosfatados têm como única fonte economicamente viável as rochas fosfáticas, que podem ser tanto ígneas quanto sedimentares. Cerca de 95% das jazidas brasileiras correspondem as ígneas, e seu maior acúmulo encontra-se em Minas gerais, Goiás e São Paulo<sup>6</sup>.

Os fertilizantes de fósforo são obtidos a partir da reação de rochas fosfáticas, mineral insolúvel, com ácidos, a fim de torná-las solúveis. Apesar de existirem várias rotas de síntese, como a clorídrica e a nítrica, no Brasil a única rota utilizada é a sulfúrica, já descrita anteriormente. Esse processo é lento e dispendioso<sup>18</sup>.



Uma diferente possibilidade do uso de minerais fosfáticos é a partir da ativação mecânica do mesmo, feita através de moagem. Esta apresenta-se como uma técnica mais limpa comparada à anterior e está baseada na presença de um grande número de defeitos na estrutura do material. De acordo com estudos, o aumento da solubilidade a partir da ativação mecânica depende também da origem desse mineral<sup>19</sup>. Durante o tratamento mecânico podem ser alcançados diversos objetivos, como deformações plásticas, fraturas, esmirilhamento e ativação mecânica. Cada uma dessas finalidades é determinada pela quantidade de energias aplicada. Para a ativação mecânica, há um grande gasto de energia, maior que para moagem e até mesmo deformação<sup>20</sup>.

A partir de um moinho do tipo planetário, CHAIKINA e AMAN<sup>20</sup> investigaram o efeito da ativação mecânica da apatita sedimentar. A partir delas foram produzidas partículas que apresentaram tamanho nanométrico e, conseqüentemente, maior área superficial. Estes resultados apoiam os obtidos por TÕNSUAADU *et al.*<sup>19</sup>, que obtiveram menores cristais de apatita após a moagem em um moinho planetário, acarretando no crescimento da área de superfície implicando em uma maior solubilidade. Dado o exposto, nota-se que o controle de tamanho é um parâmetro de grande importância para a solubilidade do material. Assim, saber o tamanho de partículas é um fator essencial para a solubilização de minerais contendo fosfato, a fim de contribuir para a utilização de fontes alternativas como fertilizante de uso direto no solo.

O fósforo existe abundantemente na crosta terrestre. Seus minérios apresentam como principal aplicação a agricultura, sendo o grupo das apatitas o mais importante.

### 1.3. Apatitas

As apatitas apresentam fórmula geral  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$ , onde X é um halogênio, ocorrendo na forma estrutural hexagonal ou monoclinica. As apatitas diferenciam-se devido a presença de ânions distintos, como a fluoroapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ), a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) e, em menor quantidade, a cloroapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ ), sendo essas presentes em rochas ígneas<sup>13</sup>. Mudanças nas características da apatita, como solubilidade, estabilidade térmica e dureza

podem ser acarretadas a partir de substituições em sua estrutura<sup>21</sup>. Os maiores depósitos são encontrados na Rússia, Brasil, África e Estados Unidos<sup>22</sup>.

A apatita tem sido altamente estudada de modo a observar o comportamento deste mineral em ambientes variados<sup>23</sup>. Assim, busca-se averiguar as particularidades desse material como a composição, estrutura e efeitos das composições químicas na estrutura da apatita<sup>22</sup>.

Neste trabalho tem-se interesse na hidroxiapatita devido a sua simplicidade de sintetizar comparado as demais apatitas.

### 1.3.1. Hidroxiapatita

A hidroxiapatita, ou HAP, apresenta composição  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  e é um material cerâmico com grande compatibilidade com os organismos vivos. Sua estrutura pode ocorrer de dois modos, hexagonal ou monoclínica.<sup>24,25</sup>

A HAP é amplamente usada na recuperação de tecidos ósseos, já que apresenta osteocondutividade, ou seja, favorece o crescimento do osso nos locais onde é encontrada, e também bioatividade, isto é, estabelece ligações de natureza química entre ela e o tecido ósseo permitindo a proliferação de células<sup>26-28</sup>. Entretanto, por apresentar grande fragilidade, a utilização em ossos que suportam grande massa corporal é inviabilizada<sup>29</sup>. Por outro lado, a sua utilização em tecidos ósseos que não suportam peso é amplamente utilizada, como na região maxilo-facial e implantes dentários. Estudos mostram o seu auxílio na recuperação de ossos traumatizados através da utilização de nanofibras incorporadas à hidroxiapatita, melhorando a mineralização dos osteoblastos, células responsáveis pela produção de matriz óssea no organismo<sup>30</sup>.

Na estrutura da HAP há a presença de sítios ácidos ( $\text{Ca}^{2+}$ ) e básicos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) na mesma cela unitária podendo ser aplicada, também, para catálise<sup>25</sup>. A partir da utilização de nanopartículas de HAP como catalisador, TSUCHIDA *et al.*<sup>31</sup> foram capazes de converter etanol em biogásolina.

As propriedades da HAP estão intimamente relacionadas com a cristalinidade, estequiometria, estrutura, pureza e tamanho de partículas do material. De modo nominal, a razão de Ca/P é de 1,67 na estrutura da HAP. Valores maiores que esse indicam a maior presença de Ca enquanto valores menores indicam a

deficiência do mesmo<sup>32,33</sup>. Na FIGURA 1.1 pode ser observada a estrutura hexagonal da HAP, constituída por íons cálcio, fosfato em arranjos tetraédricos e hidroxilas.

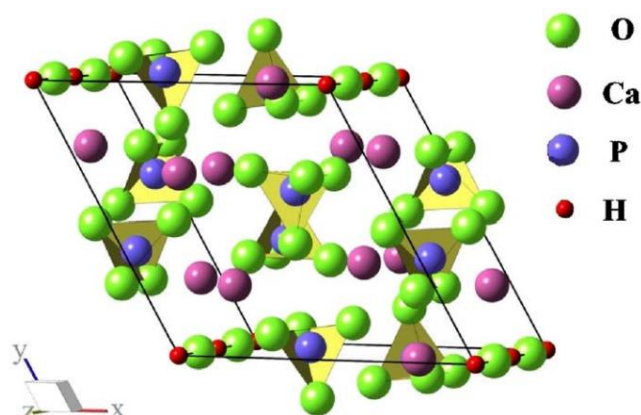


FIGURA 1.1: Representação da vista lateral da cela unitária da Hidroxiapatita: verde  $\text{Ca}^{2+}$ , roxo  $\text{P}^{5+}$ , rosa  $\text{O}^{2-}$  e vermelho  $\text{H}^{+}$  <sup>34</sup>.

Na estrutura da HAP o íon cálcio pode ser substituído por íons de outros metais como de cobre, zinco, ferro e cobalto. Já as hidroxilas podem ser substituídas por carbonatos, fluoretos e cloretos, os fosfatos por carbonatos e vanadatos. Ou seja, sua estrutura admite substituições na rede que alteram características como tamanho dos cristalitos, solubilidade e cristalinidade do material<sup>35</sup>. Essas substituições acarretam em uma estabilização, ou até mesmo o contrário, de diferentes fases do fosfato, devido à incorporação ou não de cátions e ânions à estrutura durante as fases de nucleação e crescimento do cristal. A mais preocupante de todas as substituições iônicas possíveis na estrutura da HAP é a do carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ ) pelos íons fosfato e hidroxila. Como já dito, essas substituições provocam mudanças na morfologia, solubilidade, deformação, tamanho do cristal e nos parâmetros de rede da cela unitária<sup>25</sup>.

Assim, são necessárias condições de síntese, nas quais as substituições por impurezas sejam controladas, de modo que o controle da estequiometria seja alcançado. A solubilidade da HAP está diretamente relacionada ao tamanho, distribuição e estrutura da mesma. Como solubilidade é o ponto chave deste trabalho os parâmetros de síntese devem ser cuidadosamente investigados.

### 1.3.2. Solubilidade da Hidroxiapatita

A solubilidade está diretamente relacionada ao tamanho de partículas. As nanopartículas, por exemplo, apresentam maior propensão a solubilizar que partículas micrométricas. Segundo MAYO *et al.*<sup>36</sup>, isso pode ser ocasionado pela maior área superficial apresentada pelas nanopartículas, resultando em uma maior reatividade das mesmas. Como consequência a solubilidade pode ter seu valor aumentado comparada às partículas micrométricas. Ostwald-Freundlich, por meio da equação 1, evidenciou matematicamente a relação entre a solubilidade e o tamanho de partículas<sup>37</sup>.

$$S_d = S_0 \cdot e^{\frac{\gamma V_m}{RTd}} \quad (1)$$

Na Equação 1,  $S_d$  é a solubilidade da partícula em questão,  $S_0$  é solubilidade da mesma no equilíbrio,  $R$  é a constante universal dos gases,  $T$  é a temperatura absoluta,  $V_m$  é o volume molar do soluto,  $d$  é o diâmetro de partícula e  $\gamma$  a tensão superficial<sup>37</sup>.

A solubilidade de carbonapatitas sintetizadas por precipitação e hidrólise em solução tampão foram analisadas por SHELLIS *et al.*<sup>38</sup>, e a partir de tal estudo foi observado que as amostras obtidas por hidrólise apresentaram menor solubilidade comparada às obtidas por precipitação. Estes autores observaram a diferença de tamanho das partículas obtidas pelos dois métodos. A amostra obtida por hidrólise apresentou uma grande faixa de tamanhos, ou seja, houve tanto a formação de cristais grandes como, também, a de pequenos. Deste modo os cristais maiores acarretaram em uma diminuição solubilidade geral do material.

Apesar de muitos estudos sobre a solubilidade da HAP estarem em desenvolvimento, tanto em escala nanométrica quanto micrométrica, até o momento não foi totalmente esclarecido o comportamento desse material em solução aquosa. Ainda existem diversas divergências em relação à formação de um produto de solubilidade ( $K_{ps}$ ) definido para essa substância<sup>39</sup>.

CLARK<sup>40,41</sup> e MORENO *et al.*<sup>39</sup> reportaram em seus trabalhos funções termodinâmicas que possibilitam o cálculo do produto de solubilidade da HAP com boa confiabilidade. O modelo que descreve a formação de complexos sobre a

superfície do sólido é o que melhor descreve a aparente anormalidade do comportamento da solubilidade da HAP em solução.

Entretanto, não é somente o tamanho de partículas que afetam a solubilidade da HAP. Muitos outros fatores também o fazem, como a variação do pH do meio, a estequiometria do composto, a cristalinidade e a morfologia obtida<sup>32</sup>. NINOMIYA *et al.*<sup>42</sup> verificaram a solubilidade de diferentes morfologias de cristais de  $\alpha$ -amilase. Nesse trabalho, ficou evidente que a solubilidade desta enzima é dependente da morfologia que ela apresenta.

A partir da adição de proteínas, enzimas, aminoácidos e outros compostos orgânicos também é possível variar a solubilidade da HAP<sup>43</sup>. Em geral, a HAP é apontada como solúvel em soluções ácidas, pouco solúvel em soluções aquosas e insolúvel em soluções básicas. Resultados similares quanto à solubilidade da HAP foram obtidos por KLEIN *et al.*<sup>44</sup> e por SKARTSILA e SPANOS<sup>45</sup>. O primeiro autor analisou amostras de fosfatos de cálcio, inclusive a HAP, variando o pH em 6,2 e 7,2 verificando a maior solubilidade em meios mais ácidos; enquanto os últimos pesquisaram as propriedades da HAP em solução ácida em diferentes concentrações. Os autores verificaram que os íons  $H^+$  foram consumidos na solução a partir da solubilização da HAP. Verificaram, também que este fenômeno apresenta maiores proporções à medida que ocorre a diminuição do pH. Este resultado é explicado por intermédio dos íons liberados com a solubilidade da HAP, que podem ser observados pela Equação 2. De acordo com esta equação verifica-se que a solubilização da HAP gera íons  $OH^-$ . Uma vez disponibilizada a HAP em solução ácida, os íons  $OH^-$  da estrutura serão consumidos pelos  $H^+$  provenientes do meio, favorecendo um deslocamento do equilíbrio para a direita e assim aumentando a solubilidade do material.



Do ponto de vista microestrutural da HAP, as que apresentam substituições por carbonato acarretam em um maior valor de solubilidade do material comparado às que apresentam substituições por flúor<sup>32</sup>. Em relação à estequiometria, aquelas que se encontram estequiométricas apresentam solubilidade inferior em relação as não estequiométricas já que substituições na rede podem acarretar em imperfeições estruturais, facilitando sua dissolução. Desse modo, a razão Ca/P de

1,67 acarreta em um  $K_{ps}$  inferior<sup>32</sup>. Outro fator que afeta o comportamento da HAP em meio aquoso é a cristalinidade. Substâncias mais cristalinas tendem a ser mais insolúveis, enquanto as que contêm menor grau de cristalinidade apresentam maior solubilidade. Isso está relacionado ao fato das amostras mais cristalinas maior energia de ligação dificultando a solubilização do material<sup>32</sup>.

Frente aos argumentos expostos, ressalta-se que as características como tamanho, estequiometria e cristalinidade do material estão intimamente relacionadas à solubilidade do mesmo. Sobretudo, essas características são obtidas por meio do tipo de síntese empregada. Desse modo, é necessária uma escolha adequada da rota sintética da HAP, de maneira a controlar seus parâmetros, já que esses influenciarão de forma direta na solubilidade do material resultante.

### 1.3.3. Métodos de Síntese da HAP

Para o presente trabalho, não só é necessária a utilização de métodos de síntese que acarretem na produção de HAP monofásica e nanoparticulada, como também permitam a variação de forma e de tamanho de partículas. Materiais que não se apresentem em grandes aglomerados também são necessários. Desse modo, para a obtenção do material com as características desejadas é de fundamental importância a escolha da metodologia a ser utilizada<sup>25,26,46,47</sup>. Pequenas alterações, como temperatura, tempo de gotejamento de reagentes e pH do meio afetam as propriedades de apatitas<sup>25,47</sup>. A partir de variações em alguns métodos de síntese é possível a obtenção do material com características desejadas, como estequiometria, grau de cristalinidade e morfologia<sup>46</sup>. Existe uma grande variedade de métodos para a obtenção de hidroxiapatita. Alguns deles são: método sol-gel, coprecipitação, hidrotermal, sonoquímica e hidrólise, sendo todos esses métodos por via úmida.

A técnica sol-gel consiste na mistura de fósforo e cálcio em quantidades estequiométricas. São utilizados alcóxidos e/ou sais dos respectivos cátions e ânions, que compõem a fase inorgânica final esperada como precursores. Todos são solubilizados em água e alcoóis, ocasionando a formação de um gel homogêneo resultante de uma reação de condensação<sup>25,48</sup>. LIU *et al.*<sup>49</sup> obtiveram HAP a partir deste método empregado. Trietilfosfito e nitrato de cálcio solubilizados em água e etanol. A solução permaneceu estável por cinco dias e, após a remoção do solvente a 60°C um gel branco foi formado. Este foi submetido a tratamento térmico à

temperatura de 350°C. O aumento do tempo de calcinação ocasionou um maior crescimento das partículas de HAP<sup>49</sup>.

O método de coprecipitação seguido de tratamento térmico foi empregado por MOBASHERPOUR *et al.*<sup>46</sup> para a obtenção da HAP a partir de soluções de nitrato de cálcio e fosfato de amônio. Vale ressaltar que hidróxido de amônio foi utilizado para ajustar o pH. Os resultados mostraram a obtenção de nanopartículas com êxito por meio desta técnica. Também foi observado o aumento no tamanho das nanopartículas com o aumento da temperatura utilizada no tratamento térmico.

NEIRA *et al.*<sup>50</sup> obtiveram HAP pelo método hidrotermal, os quais sintetizaram o material utilizando como precursores nitrato de cálcio tetrahidratado, fosfato de amônio e ureia. Neste trabalho foi observado que o aumento no pH da solução durante o processo hidrotermal a temperatura de 90°C favoreceu a formação de hidroxiapatita com estrutura hexagonal bem definida.

A partir do método sonoquímico, KIN e SATIO<sup>51</sup> sintetizaram HAP monofásica a partir da mistura de ácido fosfórico (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) e hidróxido de cálcio (Ca(OH)<sub>2</sub>) em quantidades estequiométricas e submetidas a homogeneização ultrassônica em variados períodos de tempo (5 a 120 minutos), tendo o pH e temperatura controlados.

NAKAHIRA *et al.*<sup>52</sup> obtiveram HAP com alto grau de cristalinidade a partir da hidrólise de α- tricálcio fosfato em solução alcoólica em pH 11. A morfologia resultante foi de fitas e fibras. Os autores não encontraram fases secundárias concorrentes.

Neste trabalho tem-se o interesse nos métodos de coprecipitação e hidrotermal para obtenção da HAP. Assim, estes estão discutidos de forma detalhada nos itens 1.3.3.1 e 1.3.3.2 a seguir.

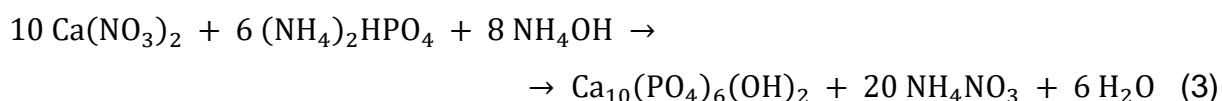
### **1.3.3.1. Coprecipitação**

Esta é uma das técnicas de síntese de nanopartículas mais populares, apresentando grande simplicidade em sua execução. Além disto, esse método é um dos mais utilizados para a obtenção de nanopartículas de HAP. Este procedimento envolve reações em meio aquoso entre precursores de cálcio e fósforo, a temperatura e pH controlados. Para a ocorrência de nucleações, a solução necessita estar

supersaturada, e, assim, formar as nanopartículas<sup>53,54</sup>. A velocidade de adição dos reagentes está diretamente relacionada à cinética da reação, ou seja, ela influencia na taxa de nucleação dos cristais. De acordo com BURDA et al.<sup>53</sup> caso o tempo de gotejamento de fosfato na solução de nitrato seja maior que o tempo necessário para nucleação, haverá a formação de partículas grandes. Por outro lado, caso o gotejamento se dê rápido haverá um maior número de núcleos formados, não havendo tempo suficiente para o crescimento de partículas<sup>55,56</sup>. Parâmetros como concentração dos reagentes, temperatura da reação, pH e tempo de envelhecimento precisam ser cuidadosamente controlados neste método, já que estas são variáveis cruciais para a pureza e características cristalográficas do material obtido<sup>25,54,56,57</sup>.

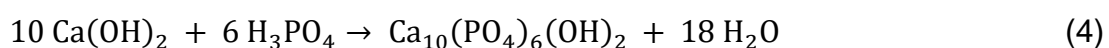
De acordo com a literatura, as duas rotas sintéticas mais frequentemente utilizadas são:

- a mistura de hidrogeno-fosfato de diamônio com nitrato de cálcio, demonstrada pela reação<sup>57</sup>:



Como é utilizado o hidróxido de amônio para a manutenção do pH do meio, após a síntese do material é necessária a lavagem do mesmo até pH neutro<sup>43,57,58</sup>.

- ácido fosfórico em contato com hidróxido de cálcio conforme a reação<sup>57</sup>:



Uma fase metaestável inicial é normalmente formada, neste método de síntese. Esta passa por processos intermediários de recristalização até a formação do sólido termodinamicamente estável. De acordo com as regras de maturação de Ostwald, que determinam qual composto se forma em determinadas condições do processo, em baixas saturações a primeira fase é a de maior solubilidade, na qual ocorrem dissolução e recristalização, transformando as fases subsequentes em menos solúveis<sup>59</sup>. Com base nestas regras, em valores de pH maiores que 7, a primeira fase a se precipitar é o fosfato de cálcio amorfo, o qual é transformado lentamente em hidroxiapatita, enquanto em valores de pH entre 5 e 7 pode ocorrer a formação de precursores como fosfato octacálcico e o fosfato de cálcio dihidratado<sup>59</sup>.

Assim, pode-se observar que a variação de aspectos como precursores, solventes, temperatura e mineralizadores podem acarretar na produção de materiais com características distintas.



### 1.3.3.2. Método Hidrotermal

O Método Hidrotermal consiste basicamente na cristalização de substâncias utilizando soluções aquosas a altas temperaturas sob pressão de vapor, durante longos períodos de tempo. Este procedimento é baseado na sobreposição entre a pressão como fator termodinâmico e as propriedades específicas da água, ou seja, a reação química ocorre em um sistema fechado, envolvendo um ou mais precursores diferentes, na presença de água a uma temperatura superior à sua ebulição<sup>53,60</sup>. A pressão de vapor e a água em temperatura elevada desempenham um papel diferente daquele na temperatura ambiente, sendo um importante fator no processo de cristalização<sup>53</sup>. A solubilidade da partícula é significativamente aumentada, ocorrendo processos de cristalização, redissolução e reprecipitação simultaneamente quando submetida ao tratamento hidrotérmico<sup>61</sup>. Assim, pequenos cristais em suspensão são solubilizados fazendo com que a nucleação e o crescimento das partículas ocorram de modo homogêneo. Normalmente, soluções insaturadas possuem uma taxa de crescimento menor comparada às soluções saturadas<sup>33</sup>.

Este método tem demonstrado grande eficácia no crescimento de nanocristais com controle da formação de fase (estequiometria), do tamanho e da morfologia das nanopartículas. O processo de síntese é realizado a temperaturas até 300°C<sup>53</sup>. Semelhante ao método de coprecipitação, vários fatores afetam o processo hidrotermal, como o tipo de precursor, pH da solução, relação água/precursor, temperatura, natureza do solvente e estabilizante<sup>53,60</sup>. A partir da variação de alguns destes parâmetros, é possível a síntese de partículas com tamanhos e estado de aglomeração controlados e, morfologia específica. A síntese hidrotérmica utilizando temperatura elevada em soluções sob alta pressão resulta na formação estruturas com grau de cristalinidade elevado e com razão Ca/P próximo ao valor estequiométrico<sup>62</sup>.

LIU *et al.*<sup>29</sup> sintetizaram HAP por meio de tratamento hidrotérmico com pH entre 6 e 9 a fim de constatar a influência do pH na estrutura e morfologia das nanopartículas de hidroxiapatita. As amostras apresentaram-se com alto grau de cristalinidade. O diâmetro médio de partículas obtidas em pH 6 foi de 3 a 10 nm, enquanto que as obtidas em pH 9 apresentaram diâmetro médio de 20 nm. A partir de

pH 14, a cristalinidade apresentada foi relativamente baixa, com diâmetro médio das partículas de 150 nm<sup>61</sup>.

Assim, tem-se que a composição química, o tamanho e a morfologia das partículas de HAP são totalmente vinculadas ao método e às condições de síntese empregadas. Uma vez que estes fatores são determinantes no processo de solubilidade da HAP, grandes quantidades de variações podem ser empregadas com a finalidade de otimizar este comportamento.

#### **1.4. Polímeros Biodegradáveis**

A liberação controlada de fertilizantes é uma alternativa para melhorar a disponibilidade de nutrientes para as plantas, reduzir as ameaças ambientais acarretando em um aumento da produtividade agrícola<sup>63</sup>. A utilização de polímeros, tanto orgânicos (termoplásticos ou resinas) quanto inorgânicos (à base de minerais) como revestimento para os fertilizantes é um recurso que pode ser aplicado para este fim. A capacidade de reter água de alguns destes materiais e sofrer degradação, resulta na liberação do agente ativo melhorando a nutrição das plantas. Esta característica de retenção aquosa reduz os gastos com água de irrigação e minimiza os impactos ambientais causados por lixiviação de fertilizantes solúveis em água, reduzindo a contaminação do ambiente originado pelo acúmulo de fósforo nas águas<sup>64</sup>. Por meio da variação da espessura e da composição do revestimento polimérico é possível obter o controle do processo de difusão dos nutrientes, sendo comumente utilizada uma mistura entre polímeros de baixa e de elevada permeabilidade<sup>63</sup>.

Os polímeros são compostos naturais ou sintéticos. Para sua formação se dá pela reação entre monômeros, até enfim a produção de macromoléculas. Seu peso molecular é dependente da quantidade de monômeros unidos por meio das reações de polimerização. Depois de formados, os polímeros apresentam propriedades físico-químicas diferentes dos monômeros de partida. Tecnicamente, os polímeros são altamente versáteis, podendo ser aplicados em diversas áreas. As classes de polímeros com grande interesse do setor industrial são aquelas derivadas de fontes renováveis, devido à crescente preocupação da sociedade com o desenvolvimento sustentável<sup>65</sup>. Estes polímeros são provenientes de fontes naturais como milho, batata, cana-de-açúcar e apresentam elevada taxa de

degradabilidade, já que sofrem ação de microrganismos, como bactérias, fungos e algas<sup>66</sup>. A limitação do uso desses polímeros biodegradáveis é a sensibilidade ao ambiente úmido, o qual aumenta a velocidade de degradação polimérica<sup>67</sup>. Houve um aumento de pesquisas para modificação e aperfeiçoamento destes, a fim de possibilitar o processamento e novas aplicações para estes materiais<sup>66</sup>.

### 1.4.1. Amido

O amido é um polissacarídeo formado por amilose e amilopectina<sup>65,68</sup>. A amilose é composta por unidades de glicose unidas por ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4. Já a amilopectina (FIGURA 1.2.) é formada por unidades de glicose unidas em  $\alpha$ -1,4 e  $\alpha$ -1,6, resultando em uma cadeia carbônica ramificada<sup>69</sup>. Dentre os polímeros biodegradáveis, o amido vem sendo amplamente empregado para o desenvolvimento de materiais compósitos devido à sua grande produção e por ser um produto natural de baixíssimo custo e renovável<sup>65,68</sup>. As proporções entre amilose e amilopectina que essas estruturas apresentam diferem em relação às fontes naturais, variedades de uma mesma espécie e de acordo com o grau de maturação da planta<sup>70</sup>.

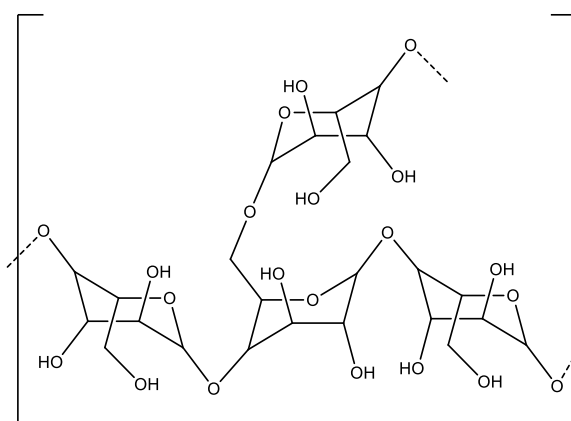


FIGURA 1.2: Estrutura química da amilopectina.<sup>71</sup>

Os polímeros derivados do amido são sensíveis à umidade presente no meio ambiente devido as ligações de hidrogênio entre as estruturas, já que o polímero apresenta agrupamentos hidroxila na molécula conferindo-lhe propriedades hidrofílicas. Este comportamento pode ser contornado com a adição de plastificantes, sendo glicerol o mais comumente utilizado para a obtenção do amido termoplástico. Para a obtenção o amido termoplástico é necessário desestruturar os grânulos *in*

*natura*. Para isso, o amido deve ser aquecido a temperaturas de 90 a 180°C na presença de um plastificante, como água ou glicerol. Durante o processamento, a água e os plastificantes conseguem formar ligações hidrogênio com o amido, já que o cada monômero apresenta no mínimo 3 grupos hidroxilas<sup>72</sup>. A partir de amidos de milho, contendo de 72 a 100% de amilopectina, CORRADINI *et al.*<sup>68</sup> obtiveram amido termoplástico por meio de processamento em um misturador intensivo a 160°C, usando glicerol como plastificante. Seus resultados mostraram que a razão amilose/amilopectina são responsáveis pela cristalinidade do amido e afetam as propriedades mecânicas, sendo que a presença de estruturas cristalinas no amido termoplástico melhorou a resistência mecânica do material<sup>68</sup>.

### 1.4.2. Pectina

Com grande potencial de aproveitamento, outro polímero biodegradável de fonte renovável é a pectina (PEC), cuja estrutura química está ilustrada na FIGURA 1.3. Este é um polissacarídeo extraído a partir do bagaço da maçã e, também, da casca de frutas cítricas<sup>73</sup>. Sua estrutura molecular define suas propriedades funcionais, como a retenção de água tornando o meio em gel devido à presença de ramificações em sua molécula. Essa característica varia de acordo com o grau de metilesterificação (GM) do polímero. No caso do GM ser igual ou superior a 50% as pectinas são chamadas HM (*high-methoxyl*) e menor LM (*low-methoxyl*)<sup>74,75</sup>. Essa propriedade faz com que este composto possa ser utilizado como agente gelificante e estabilizante<sup>75,76</sup>.

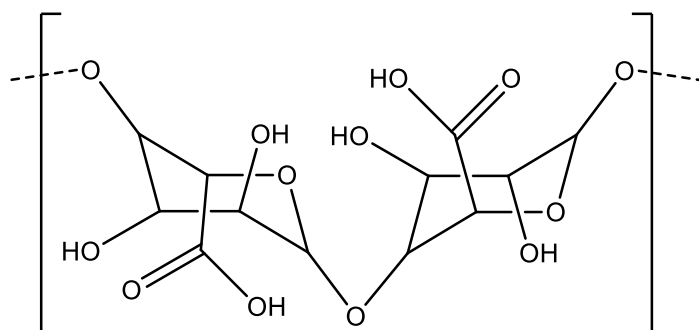


FIGURA 1.3: Estrutura química da pectina<sup>71</sup>.

Por apresentar excelente solubilidade aquosa e ser biodegradável a PEC pode ser utilizada para uma extensa gama de aplicações<sup>77</sup>. A principal fonte de

pectina comercial é a partir dos resíduos de processamento de frutas cítricas, cana-de-açúcar e suco de maçã. A extração do polímero é realizada em condições ácidas, precipitada e em seguida transformada em pó com características padronizadas<sup>75,76</sup>. MARINIELLO *et al.*<sup>78</sup>. mostraram que a utilização de pectina, farinha de soja e uma enzima capaz de fazer ligações isopeptídicas, entre as cadeias deste vegetal, permitiu a obtenção de filmes homogêneos com potencialidade para revestimento de fármacos ou como filme comestível para alimentos.

### 1.4.3. Blendas de Amido e Pectina

Uma alternativa economicamente viável para melhorar as propriedades dos materiais poliméricos é a mistura de polímeros, em condições de processamento adequadas, originando as blendas poliméricas. As blendas poliméricas vêm sendo amplamente utilizadas industrialmente como excipientes para alimentos, dispositivos médicos, inseticidas, detergentes, fertilizantes, entre outras aplicações<sup>77</sup>.

Blendas poliméricas são formadas pela mistura de dois ou mais polímeros que possuam características constitucionais ou configuracionais diferentes e com baixo grau de interação química<sup>65</sup>. A mistura dos componentes é uma característica muito importante para todos os tipos de blendas poliméricas, podendo estas serem miscíveis ou imiscíveis<sup>79,80</sup>. As misturas miscíveis apresentam uma única temperatura de transição vítrea, enquanto as misturas imiscíveis apresentam duas ou mais temperaturas de transição vítrea, de acordo com o número de diferentes polímeros que compõem o material<sup>79,81</sup>. A maioria das misturas entre polímeros é imiscível e precisa ser compatibilizada para otimizar a tensão interfacial, a morfologia e a adesão entre as fases no estado sólido, sendo que este processo pode ser realizado com a adição de um agente de compatibilização ou processamento reativo<sup>80</sup>. Desta forma, a compatibilização resulta na mistura de polímeros de acordo com as características finais desejadas, sendo que o ajuste da tensão interfacial determina o grau de dispersão<sup>80</sup>.

Para melhorar a processabilidade e aumentar a flexibilidade podem ser utilizados plastificantes com massa molecular menor em relação ao polímero, formando um material aparentemente homogêneo, mais flexível e de fácil processamento<sup>65</sup>. A escolha dos componentes na produção de uma blenda deve obedecer a critérios de propriedade, custo e processabilidade, a fim de que atinjam as propriedades desejáveis. A mistura entre a pectina, amido e glicerol representa uma

excelente estratégia para obtenção de materiais com propriedades mecânicas que permitem a utilização desta blenda como filmes comestíveis, biodegradáveis e como barreira na entrada de oxigênio<sup>65,77</sup>.

#### 1.4.4. Processamento das Blendas

O crescente interesse pelo desenvolvimento de blendas a partir de polímeros biodegradáveis tem intensificado as pesquisas por métodos de processamento das blendas, a fim de se avaliar a influência das condições de preparação sobre as propriedades viscoelásticas, mecânicas e morfológicas das mesmas.

A mistura (ou preparação) das blendas poliméricas consiste na incorporação dos componentes poliméricos procurando atingir o estado de mistura desejado, sendo a blenda polimérica normalmente utilizada no estado fundido para facilitar a moldagem ou conformação<sup>82,83</sup>. É importante que após este processo a blenda mantenha suas propriedades morfológicas, o que irá garantir as propriedades finais de interesse<sup>82,83</sup>. A mistura dos polímeros geralmente é realizada em equipamentos convencionais de processamento de polímeros como extrusoras e misturadores de cilindros e misturadores Haake<sup>68,82,83</sup>.

O Haake é um misturador intensivo utilizado para pequenas quantidades de material. Durante o processamento, características como comportamento sob fluxo, sensibilidade térmica e cisalhamento dos polímeros são avaliadas através de um reômetro de torque acoplado ao misturador<sup>68</sup>. Este equipamento reproduz, em menor escala, o comportamento de equipamentos utilizados industrialmente, como misturadores, o que permite observar as características reológicas dos polímeros de maneira mais próxima das condições reais de processamento<sup>84</sup>. O comportamento reológico durante o processamento pode ser influenciado pelo teor de plastificante, temperatura de processamento, velocidade de rotação e a natureza do material<sup>68</sup>.

A técnica empregada com maior frequência no processamento de polímeros é a extrusão, devido ao processamento ser contínuo, rápido e eficiente, além de permitir a produção em escala industrial. A extrusão ocorre em um ambiente fechado pressurizado em alta temperatura e tensão de cisalhamento elevada, e consiste em forçar um material a passar por um orifício chamado matriz, conferindo-lhe um formato final<sup>85</sup>. FISHMAN *et al.*<sup>77</sup> extrudaram pectina, amido e glicerol em diferentes composições para avaliar as propriedades térmicas e mecânicas das

amostras. Os autores observaram que a quantidade de água pode ser ajustada para controlar o grau de gelatinização do amido, que por sua vez, pouco influenciou nas propriedades mecânicas dos filmes finais. Os autores também verificaram por análise térmica dinâmico-mecânica que a temperatura de transição vítrea do material foi de 50°C, indicando razoável flexibilidade à temperatura ambiente<sup>77</sup>.

Outra técnica para obtenção de filmes poliméricos é por *casting*, na qual a solução aquosa contendo os componentes é derramada sobre um substrato e o filme polimérico é obtido após a evaporação do solvente. Neste procedimento a forma de secagem influencia diretamente nas propriedades e na espessura do filme obtido<sup>69</sup>.

Como pode ser visto, existem diversas técnicas para obtenção de blendas poliméricas, sendo que a escolha da metodologia depende das propriedades finais desejadas, formato do produto, bem como da demanda na produção e dos equipamentos disponíveis para o uso. Dessa maneira, verifica-se que blendas poliméricas podem resultar em diferentes aplicações, que são dependentes de sua composição e processamento. Blendas que sejam efetivas para o emprego no revestimento de fertilizantes para liberação controlada vêm sendo estudadas, porém seu uso pode ser ampliado por intermédio de novas aplicações associadas a outros materiais disponíveis na natureza, reduzindo o custo e impacto ambiental, além de melhorar propriedades como ductilidade e sensibilidade a umidade.

## **2. Objetivos**

### **2.1. Objetivos Gerais**

Esse trabalho teve como objetivo a síntese de nanopartículas de hidroxiapatita (HAP) em diferentes morfologias e tamanhos, além de avaliar a solubilidade das nanopartículas de HAP em meio aquoso em diferentes pHs, e, conseqüentemente, obter as concentrações do fósforo liberado na solução. Para minimizar os efeitos da lixiviação, teve-se como foco a obtenção de blendas de amido de milho e pectina em diferentes proporções, assim como a confecção dos sachês da blenda produzida para incorporação de hidroxiapatita na mesma a fim de controlar a liberação das nanopartículas. Outro propósito desse estudo é a análise do tempo de liberação das nanopartículas de HAP acondicionadas nos sachês em meio aquoso. Deste modo, será possível observar as condições ideais para liberação do material, e em trabalhos futuros, tentar chegar à essas condições no material extraído naturalmente, para obtenção de melhores performances da rocha fosfática.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Síntese de hidroxiapatita em formas e tamanhos variados por coprecipitação e envelhecimento hidrotermal.
- Produção de filmes baseados em amido e pectina no misturador do tipo HAAKE com diferentes proporções dos polímeros de interesse.
- Acondicionamento eficiente das nanopartículas de HAP em sachês da blenda polimérica produzida.



### 3. Materiais e Métodos:

#### 3.1. Sequência Metodológica:

A sequência experimental utilizada na execução do trabalho é apresentada na forma de modelo esquemático FIGURA 3.1. As nanopartículas (NP) de hidroxiapatita (HAP) foram sintetizadas por coprecipitação e envelhecidas termicamente por hidrotermalização convencional. Em seguida, as NP foram caracterizadas por meio das técnicas de difratometria de raios X (DRX), espectroscopia FT-Raman, infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), fisissorção de nitrogênio (N<sub>2</sub>) com isotermas de B.E.T. (Brunauer, Emmett e Teller), potencial Zeta, microscopia eletrônica de varredura por emissão de campo (MEV-FEG) e microscopia eletrônica de transmissão (MET).

As blendas termoplásticas obtidas a partir de amido e de pectina foram caracterizadas pela técnica de termogravimetria (TGA) a fim de analisar as propriedades térmicas do material resultante, DRX e FTIR para sua análise estrutural e MEV para observar características de superfície e determinação da espessura. Para determinar a solubilidade das nanopartículas com e sem acondicionamento das blendas, utilizou-se a técnica de quantificação de íons fósforo por complexação, chamada azul de molibdênio. Esta utilizada em conjunto com a técnica de espectroscopia UV-Vis possibilitou quantificar o fósforo liberado em solução.

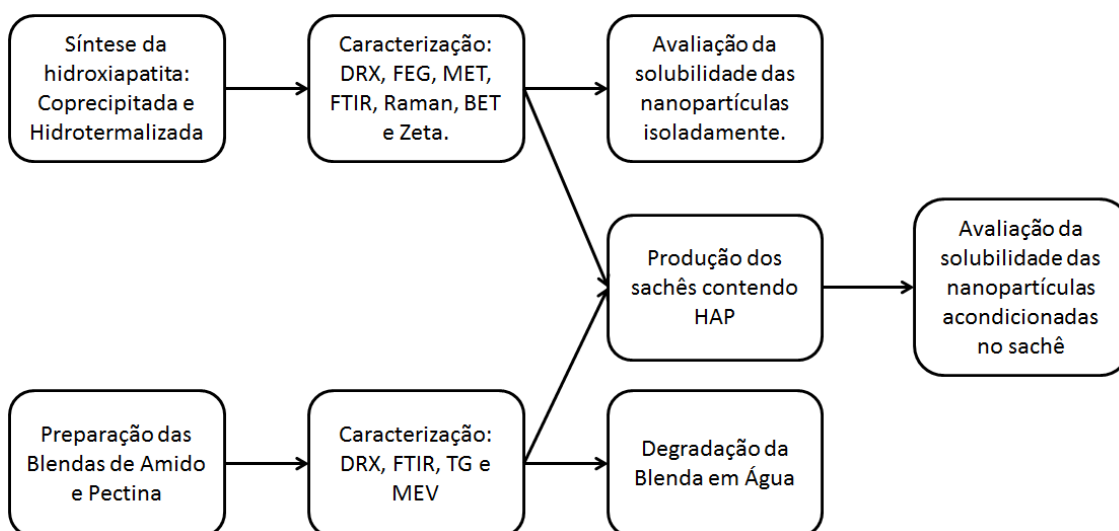


FIGURA 3.1: Esquema do procedimento experimental de trabalho.

### 3.2. Materiais Utilizados:

Os reagentes utilizados no trabalho são apresentados na TABELA 3.1. É necessário ressaltar que esses compostos foram empregados sem a prévia purificação.

TABELA 3.1: Reagentes, com respectiva pureza e marca, utilizados durante o trabalho

	Reagente	Teor (%)	Marca
1	Ácido Ascórbico	99	Synth
2	Ácido Cítrico	99,5	Aldrich
3	Ácido Esteárico	99	Synth
4	Ácido Sulfúrico	99,8	Êxodo
6	Amido de Milho	-	Corn Products
7	Fosfato de Amônio Bibásico	98	Synth
8	Glicerol	99,5	Synth
9	Hidroxiapatita	90	Aldrich
10	Hidróxido de Amônio	27	Synth
11	Molibdato de Amônio	83	Synth
12	Nitrato de Cálcio Tetra-hidratado	99	Synth
13	Solução Padrão de Fósforo para AA 1000 mg/L	-	Specsol
14	Pectina Genu USP B	-	CPKelco
15	Silicone Aerossol	-	Ultralub
16	Tartarato de Antimônio e Potássio	99	Synth
17	Ureia	99	Synth

### 3.3. Métodos Experimentais de Síntese da Hidroxiapatita (HAP):

#### 3.3.1. Hidroxiapatita por Coprecipitação:

Para a síntese da hidroxiapatita (HAP) por meio de coprecipitação por via úmida foram utilizados Nitrato de Cálcio Tetra-Hidratado ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ), Fosfato

de Amônio Bibásico ( $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ) e Hidróxido de Amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ) Todas as soluções foram preparadas com água deionizada previamente fervida.

Para a síntese com rendimento de 1 g do produto foi feita uma solução contendo 2,8 g de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  em 43 mL de água deionizada. Após completa solubilização, essa solução foi transferida para um balão de 3 bocas, como mostra a FIGURA 3.2. Em seguida, borbulhou-se nessa solução nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), para garantir uma atmosfera inerte dentro do balão e eliminar os gases solubilizados presentes. Concomitantemente, a solução de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  foi preparada utilizando 1,6 g do reagente em 20 mL de água deionizada. Após completa dissolução, essa solução foi transferida para uma bureta.

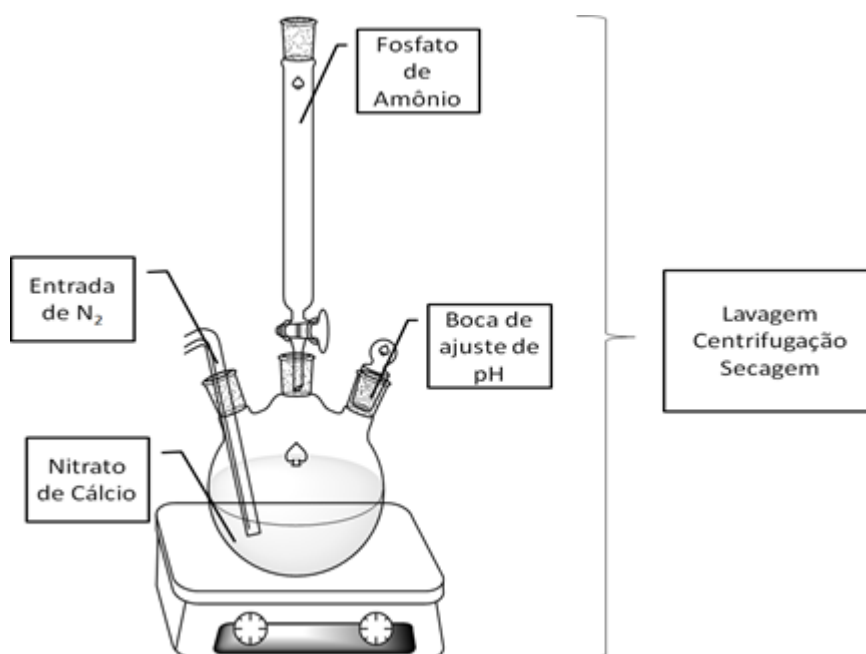


FIGURA 3.2: Esquema de síntese para a amostra de hidroxiapatita obtida por coprecipitação.

O pH da primeira solução preparada foi ajustado para 11 com adição de hidróxido de amônio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ). O gotejamento da solução de fosfato à solução de nitrato foi feito lentamente (aproximadamente  $0,5 \text{ mL min}^{-1}$ ), sob agitação constante e à temperatura ambiente. Em seguida, o precipitado formado foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e lavado com água destilada até atingir o pH neutro. Então, o produto foi ressuspensionado em etanol e seco a  $80^\circ\text{C}$  em estufa com circulação ar.

### **3.3.2. Hidroxiapatita por Coprecipitação Seguida de Hidrotermalização:**

Para avaliação do processo de envelhecimento da hidroxiapatita coprecipitada submeteu-se ao processo hidrotérmico. Para isso, a suspensão obtida após o término do gotejamento dos reagentes na síntese por coprecipitação foi transferida para um copo de teflon, o qual foi acoplado ao reator hidrotermal. O copo foi utilizado com a finalidade de evitar contaminação por ataques químicos ao reator metálico. Em seguida, o volume do copo de teflon foi completado com água deionizada até atingir 100 mL. Adicionou-se novamente  $\text{NH}_4\text{OH}$  a fim de corrigir o pH para 11 antes de ser fechado o reator hidrotérmico. O tratamento ocorreu por 36 horas a  $150^\circ\text{C}$ , sob pressão autógena de 14 atm.

Após o envelhecimento, o produto foi centrifugado a 12.000 rpm por 10 minutos e lavado com água destilada até atingir o pH neutro. O sólido foi ressuspenso em etanol e seco a  $80^\circ\text{C}$  em estufa de circulação de ar.

### **3.3.3. Hidroxiapatita Seguida de Hidrotermalização na Presença de Ureia:**

Para a síntese da hidroxiapatita hidrotermalizada, além do nitrato de cálcio e do fosfato de amônio, foi utilizada ureia. O esquema de produção pode ser observado na FIGURA 3.3. Inicialmente foram dissolvidos 2,8 g de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  em 23 mL de água deionizada e transferido para um balão. Concomitantemente foram dissolvidos 1,6 g de  $((\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4)$  em 20 mL de água também deionizada e transferiu-se para uma bureta. À primeira solução preparada ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ) foram adicionados 20 mL de uma solução de ureia de concentração de  $5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . Sob fluxo de nitrogênio ( $\text{N}_2$ ), o gotejamento foi feito lentamente, e o meio reacional foi mantido em agitação constante. Após o término da reação, a suspensão obtida foi transferida para um copo de teflon e completada com água deionizada até atingir 100 mL. Este copo foi colocado no reator hidrotermal e submetido ao tratamento hidrotérmico. Foram testados diferentes tempos de hidrotermalização (12, 24, 36 e 42 h) a  $150^\circ\text{C}$  sob pressão autógena de 14 atm em todos os casos.

Após a hidrotermalização, o produto foi lavado com água destilada e centrifugado a 12.000 rpm durante 15 minutos até atingir pH neutro. Em seguida, foi ressuspenso em etanol e seco a  $80^\circ\text{C}$  em uma estufa de circulação de ar.

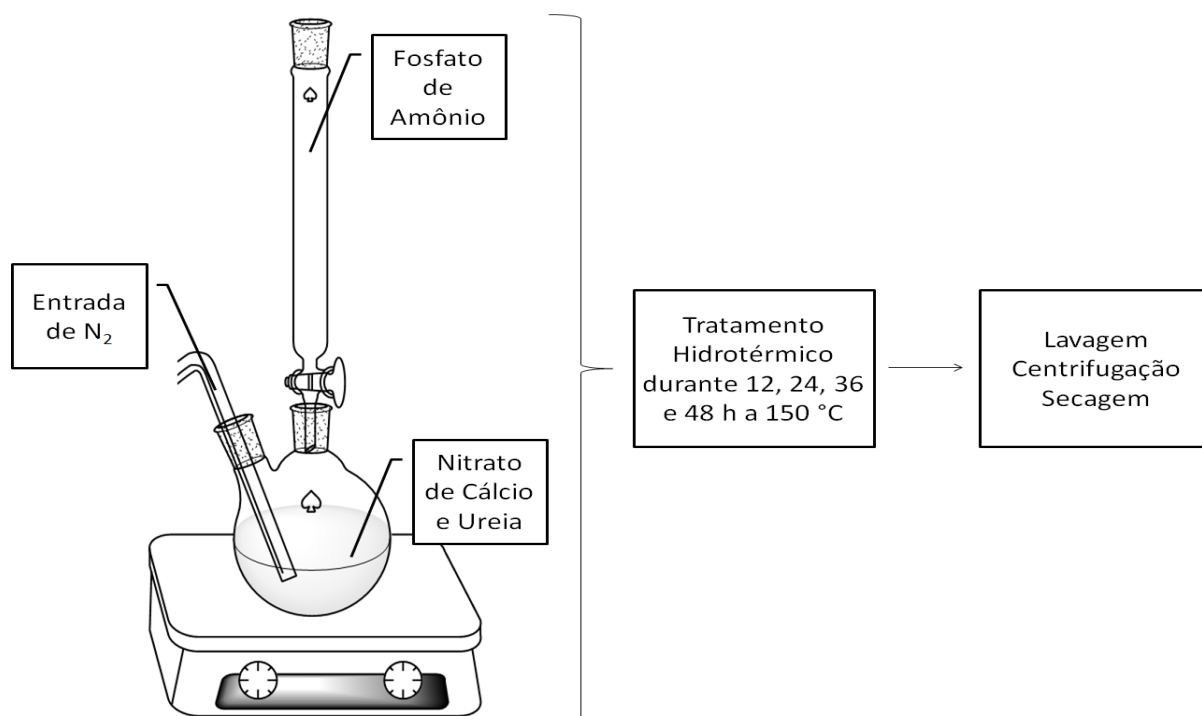


FIGURA 3.3: Esquema de síntese para a amostra de hidroxiapatita obtida por coprecipitação seguida de tratamento hidrotérmico na presença de ureia.

Para maior clareza tem-se a TABELA 3.2 apresentando os métodos de síntese utilizados para cada amostra, assim como sua denominação.

TABELA 3.2 - Métodos utilizados para síntese das amostras, assim como sua denominação.

Nome	Método
Cop	Coprecipitação
Cop H36	Coprecipitação seguida de tratamento hidrotérmico durante 36 horas.
Ureia Hx	Coprecipitação na presença de ureia seguida de tratamento hidrotérmico por x horas, sendo $x = 12, 24, 36$ e $48$

### 3.4. Técnicas de Caracterização da HAP

Após a obtenção das nanopartículas de hidroxiapatita, as seguintes técnicas de caracterização foram realizadas:

### 3.4.1. Difractometria de Raios X (DRX)

A partir do difratograma de raios X é possível obter informações sobre a ordem cristalográfica do material analisado em uma ordem a média e longa distância no retículo cristalino. Esta é a principal técnica utilizada para caracterização de substâncias cristalinas devido às características individuais de cada composto. Com esta técnica é possível identificar fases cristalinas e até mesmo supor o tamanho médio de cristalitos em questão, a partir de modelos matemáticos. Para isto, pode ser empregada a equação de Scherrer (Equação 4), em que  $k$  é o fator de forma da partícula,  $\lambda$  é o comprimento de onda do anodo usado (Cu  $K\alpha_1$  1,5406 Å),  $\theta$  é o ângulo de difração escolhido dado em radianos e  $\beta$  é a largura à meia altura do pico escolhido (FWHM).

$$L_C = \frac{\lambda k}{\beta \cos \theta} \quad (4)$$

Enquanto o difratograma de um material amorfo apresenta-se com ausência de picos, o de um material cristalino exhibe picos bem definidos que, quando comparados com as fichas cristalográficas de um banco de dados como a JCPDS (*Joint Committee of Powder Diffraction Standards*), pode-se identificar as fases presentes. Os difratogramas de raios X foram obtidos em um equipamento Shimadzu®, modelo LabX XRD-6000, utilizando radiação Cu-K $\alpha$  de  $\lambda=1,5406$  Å. Já as condições de análise foram  $\theta-2\theta$  com  $2\theta$  variando de 25 a 65°, velocidade de varredura contínua de 1°min<sup>-1</sup>. Neste trabalho, esta caracterização foi utilizada para confirmar o material de interesse, sua fase e sua cristalinidade.

### 3.4.2. Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Esta técnica consiste na interação entre a radiação emitida na região do infravermelho e o analito, resultando em sinais específicos que serão coletados pelo detector. Caso a molécula receba radiação eletromagnética com a mesma energia de uma de suas vibrações, a luz será absorvida e a variação será visualizada pelo detector. Nesse trabalho a técnica de FTIR foi utilizado com o propósito de observar a presença de espécies na superfície da amostra, além de confirmar a obtenção da

substância desejada, complementando os dados obtidos pelo DRX. Foi utilizado o modo de transmitância em um equipamento Bruker VERTEX FT-IR. Os resultados foram obtidos com 32 varreduras de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$  e resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.4.3. Espectroscopia Raman**

Assim como a espectroscopia na região do infravermelho, a espectroscopia Raman também apresenta caráter não destrutivo. Entretanto, esta se difere da primeira pelo fato de ocorrer processos de espalhamento inelástico da radiação na amostra analisada. A maior parte da luz dispersa nessa caracterização apresenta a mesma frequência que a luz incidida inicialmente na amostra (dispersão Rayleigh). Já uma parte minoritária desta luz tem sua frequência variada, devido a sua interação com a amostra (dispersão Raman). São essas as que trazem efetivamente as informações sobre o analito estudado. É uma técnica de alta resolução que em poucos segundos fornece informações químicas e estruturais de uma grande variedade de compostos, seja orgânico ou inorgânico. Para este trabalho, a utilização da espectroscopia Raman foi fundamental para caracterizar a estrutura cristalina e averiguar a presença de grupos funcionais indesejados presentes na rede cristalográfica do material. O aparelho utilizado foi Bruker VERTEX FT-IR acoplado com módulo FT-Raman RAM II, utilizando um laser Nd:YAG em 1064 nm com detector de germânio resfriado com nitrogênio líquido, resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 200 varreduras de 300 a 1700  $\text{cm}^{-1}$ .

### **3.4.4. Microscopia Eletrônica de Varredura com Fonte de Emissão de Campo (MEV-FEG)**

A microscopia eletrônica é uma técnica de amplo uso devido à resolução altamente superior ao do microscópio óptico e, também, pela facilidade de preparo de amostras. Com ela é possível obter imagens com grande magnificação e alta resolução, além de ser possível a obtenção de imagens com aspecto tridimensional. Nesta técnica uma fonte é utilizada para a emissão de elétrons em que é criado de um feixe fino e controlado. Após a interação do feixe com a amostra, os elétrons secundários e os retroespalhados são captados pelo detector para a criação da imagem. A partir das imagens obtidas pelo microscópio da marca JEOL® modelo

6701F foi possível observar a forma e aglomeração das nanopartículas sintetizadas. Foi, também, determinado o tamanho das partículas por intermédio das micrografias, com o auxílio do *software Image J*.

### 3.4.5. Microscopia Eletrônica de Transmissão (MET)

O microscópio eletrônico de varredura é um equipamento fundamental para avaliação tanto morfológica como cristalográfica. Por apresentar maior resolução que a microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo, utilizou-se a microscopia de eletrônica de transmissão para análise da forma e, também, do tamanho das partículas de hidroxiapatita utilizadas para avaliação da solubilidade e liberação de fósforo neste trabalho. Na microscopia eletrônica de transmissão o feixe de elétrons atravessa a amostra, diferentemente da MEV-FEG, assim é criada a imagem do tipo campo claro (*Bright Field*). Já os elétrons refratados pela amostra após a sua interação com a mesma dão origem às imagens do tipo campo escuro (*Dark Field*). As análises foram feitas a partir de um microscópio FEI TECNAI G2 F20 no laboratório de caracterização estrutural (LCE) do Departamento de Materiais da Universidade Federal de São Carlos (DEMA / UFSCar).

### 3.4.6. Análise de Área Superficial Específica

O Método BET, ou seja, Brunauer, Emmett e Teller que foram seus criadores, tem a capacidade de avaliar a adsorção em multicamadas de moléculas de  $N_2$  no material em questão e assim determinar a sua área superficial. Foram realizadas análises de adsorção de  $N_2$  objetivando determinar a área superficial específica dos materiais sintetizados. Devido à solubilização ser um fenômeno que ocorre a partir da superfície da matéria, o conhecimento da área superficial da mesma é fundamental para o melhor entendimento dos resultados obtidos no presente trabalho. O teste foi realizado no equipamento ASAP 2020 (Micrometrics). Foi realizado um pré-tratamento nas amostras em análise que constituiu na degaseificação. Para isso o material foi aquecido a  $100^\circ\text{C}$ , até atingir a pressão de  $10 \mu\text{m Hg}$ . Esta etapa é de grande importância para liberar os gases adsorvidos na amostra e evitar erros de medida. A leitura foi feita a pressões relativas ( $P/P_0$ ) predeterminadas pelo *software* (0,0500;



0,1125; 0,1750; 0,2375 e 0,3000) e o valor da área específica foi determinado por meio da isoterma de B.E.T., que descreve a adsorção em multicamadas<sup>86</sup>.

### 3.4.7. Potencial Zeta

Esta técnica pode ser usada para otimizar formulações de suspensões e emulsões, bem como prever a sua estabilidade a longo prazo. Existem três estados fundamentais da matéria, sólido, líquido e gasoso. Quando um desses estados apresenta-se disperso no outro é criado um sistema coloidal. Em alguns casos, estas partículas dispersas podem agregarem-se, formando aglomerados de grande tamanho que sedimentam na amostra. Em 1940, os pesquisadores Derjaguin, Verwey, Landau e Overbeek desenvolveram uma teoria sobre a estabilidade desses sistemas coloidais. De acordo com eles, a estabilidade de um coloide é determinada pela soma das forças atrativas e repulsivas de van der Waals existente entre as partículas suspensas devido às suas aproximações causadas pelo movimento Browniano. De modo simplório, o equipamento monitora a estabilidade das partículas em suspensão em magnitude da carga eletrostática presente em sua superfície. A medida do Potencial Zeta das suspensões foi realizada utilizando-se o equipamento Malvern Instruments - Zetasizer Nano ZS90. Para a realização dessas medidas, 1 mg de HAP foi dispersa em 15 mL de água deionizada e deixadas em um ultrassom de ponta por 5 min com amplitude de 30%.

## 3.5. Preparação das blendas poliméricas

As blendas foram preparadas de acordo com MOREIRA *et al.*<sup>87</sup>, utilizando-se os polímeros amido de milho e pectina. Além dos polímeros foram utilizados ácido esteárico e glicerol como plastificante, tendo esses pureza 99 e 99,5%, respectivamente, e também água deionizada. Diferentes proporções dos materiais foram misturadas a fim de avaliar qual blenda produzida seria ideal para o trabalho. O amido utilizado, rico em amilo-pectina, foi misturado com pectina (TPS:PEC) nas proporções de 100:0; 75:25; 50:50; 25:75, além de uma blenda completamente composta por pectina, 0:100.

Na TABELA 3.3 abaixo estão descritas as quantidades dos reagentes utilizados para a confecção das blendas:

TABELA 3.3: Massas dos compostos utilizados para produção das blendas poliméricas.

<b>Componente</b>	<b>Porcentagem em massa (%)</b>
Polímero	53
Glicerol	35,5
Ácido Esteárico	0,5
Água Deionizada	11

A quantidade de cada componente foi escolhida de modo a otimizar a capacidade máxima do misturador HAAKE. Em relação às proporções de cada polímero utilizado, a soma da massa de cada um é equivalente a 53% da massa total dos componentes. A FIGURA 3.4 mostra de forma esquemática as formulações das blendas produzidas.

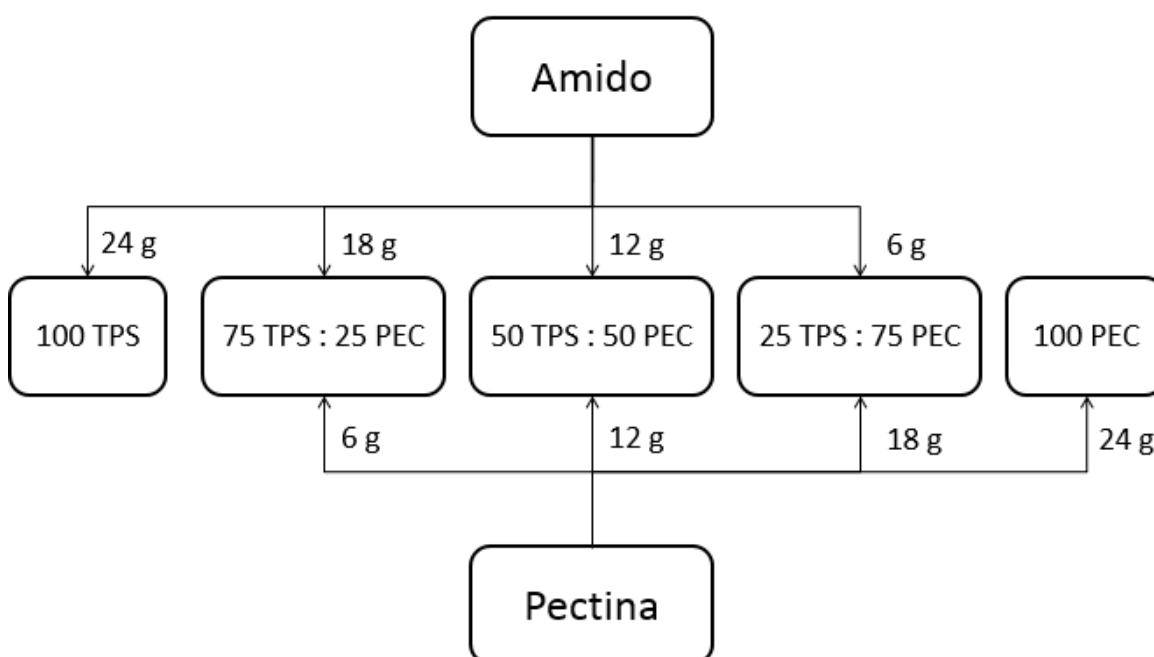


FIGURA 3.4: Formulações das blendas e as respectivas massas de cada polímero utilizado.

As substâncias foram homogeneizadas manualmente em sacos plásticos até a produção de uma massa uniforme. Em seguida, as massas foram processadas em um misturador do tipo Haake durante 4 minutos, 130°C e 160 rpm. Para facilitar foi utilizado silicone em spray. O misturador Haake consiste em dois

rotores girando em contra-rotação dentro uma câmara de mistura, que possui um volume de 69 mL, com temperatura e rotações controladas. Neste aparelho os valores de torque aplicado nas amostras durante o processamento podem ser monitorados. Neste trabalho, utilizou-se um misturador do tipo Haake com unidade de base PolyLab Rheodrive 4 e misturador Rheomix OS4 equipado com rotores tipo roller. Após a obtenção da blenda, o material foi picado ainda quente em pequenos pedaços a fim de facilitar o processo de prensagem.

### 3.5.1. Prensagem Térmica

Para a prensagem das blendas e obtenção dos filmes foi utilizada uma prensa térmica com resfriamento a água. Foram utilizadas folhas plásticas termorresistentes para evitar contaminação da blenda e, também, a sua aderência ao metal, como mostra a FIGURA 3.5 Assim, após a temperatura da prensa estabilizar em 140°C, uma massa de 20 g de blenda foi submetida a 2 minutos de aquecimento para amolecimento do material, em seguida a pressão foi aumentada para 5 toneladas por onde permaneceu por mais 2 minutos, após isso aumentou-se novamente a pressão para 10 toneladas permanecendo por 3 minutos. A prensa foi resfriada a 60°C e o filme foi retirado da prensa.

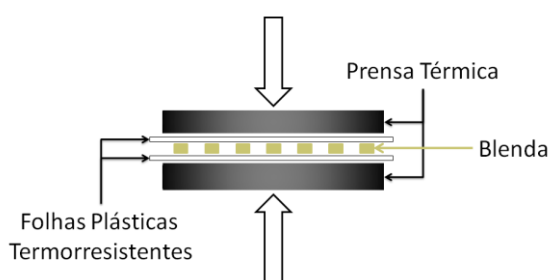


FIGURA 3.5: Esquema de prensagem das blendas.

## 3.6. Técnicas de Caracterização das Blendas

Após um mês a obtenção dos filmes das blendas poliméricas, o material foi submetido às seguintes caracterizações:

### 3.6.1. Difração de Raios X

A difração de raios X foi obtida de acordo com o item 3.4.1, ou seja, utilizando-se o mesmo equipamento com radiação Cu K $\alpha$ , nas condições de  $\theta$ -2 $\theta$  com 2 $\theta$  igual a 5-55°, com velocidade de 1°min<sup>-1</sup> em varredura contínua.

### 3.6.2. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Com auxílio das imagens obtidas pelo microscópio eletrônico de varredura foi possível observar a dispersão e a homogeneização de um polímero no outro por meio da fratura criogênica das blendas, além de ser possível a obtenção da espessura da mesma. As amostras foram fixadas no porta-amostras com uma fina camada de tinta de prata para dar contato elétrico e, em seguida, foram recobertas com ouro. Para esta análise contou-se com um microscópio eletrônico de varredura JEOL-JSM 6510.

### 3.6.3. Termogravimetria (TGA)

A análise termogravimétrica é uma técnica de caracterização em que a massa do material em análise é verificada à medida que ocorre um aumento da temperatura de modo pré-estabelecido. O aparelho é composto, basicamente, por um forno, uma microbalança, termopares e um fluxo de gás para arraste de vapores. O equipamento utilizado para fazer as caracterizações das blendas tem a marca *TA Instruments*, modelo Q500. Para tornar mais evidente os eventos ocorridos durante a análise, além de aperfeiçoar a resolução da medida, utilizou-se a derivada primeira da medida em função do tempo (dTG). As amostras, de 5 a 6 mg, foram colocadas no cadinho (porta-amostra) de platina e submetidos a aquecimento de 35 até 600°C a uma taxa de 10°C min<sup>-1</sup>. O fluxo de ar sintético utilizado para arraste foi de 60 mL min<sup>-1</sup>. Com essa caracterização foi possível observar a temperatura inicial de degradação da blenda.

### 3.6.4. Degradação dos sachês em Água

A blenda a ser utilizada para a confecção dos sachês deve conter características específicas para a sua possível utilização. Uma delas é o tempo de degradabilidade em água, já que a partir da decomposição do material as nanopartículas serão liberadas ao meio de interesse. Assim, é necessária a utilização da blenda que apresentar o tempo de durabilidade mais compatível à aplicação do material no solo. Outra característica importante a ser levada em consideração é a capacidade do material de se manter inerte ao ambiente. Assim, materiais que perdem água para o meio e ressecam, ou a retém e hidratam, são compostos de menor interesse para o trabalho.

### 3.7. Confecção dos Sachês

Após a obtenção do filme, este foi cortado em quadrados de 2 cm de aresta como evidenciado na FIGURA 3.6. Para a selagem das bordas, foram umedecidos três lados de dois quadrados de blenda com água destilada e sobrepostos. Uma termoprensa foi aquecida a 140°C e nela as três bordas já umedecidas anteriormente foram submetidas a aquecimento por poucos segundos, selando 75% da margem do sachê. Na última face aberta, foi introduzido a quantidade de 10 mg de Hidroxiapatita e a última borda foi fechada igualmente as anteriores, sem submeter o material aprisionado em seu interior ao aquecimento da prensa.

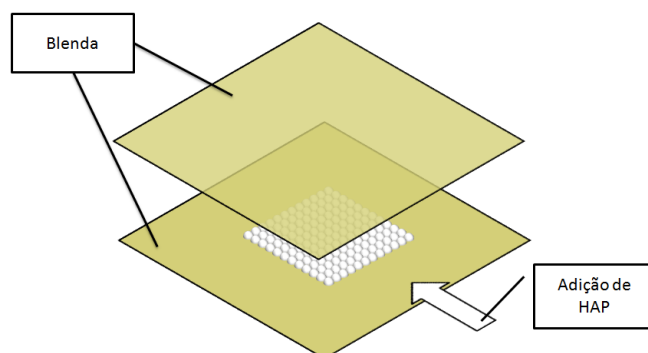


FIGURA 3.6: Simulação da produção do sachê polimérico contendo hidroxiapatita.

### 3.8. Teste de Solubilidade

Para a determinação da solubilidade das nanopartículas de hidroxiapatita foram preparados 15 sistemas para cada amostra estudada. Na FIGURA 3.7 pode ser observado que cada sistema foi composto por 10 mg de HAP e 50 mL de água deionizada ou solução de ácido cítrico (pH 1 ou 5), reservados em tubo falcon. Estes permaneceram estáticos à temperatura ambiente e em estufa, programada a 40 °C, até a retirada da alíquota. Essas retiradas eram feitas de modo periódico: 2, 4, 8, 12, 24, 32 e 48h. Após 48h, foram coletadas amostras de 24 em 24h durante 10 dias de solubilização, totalizando 15 alíquotas.

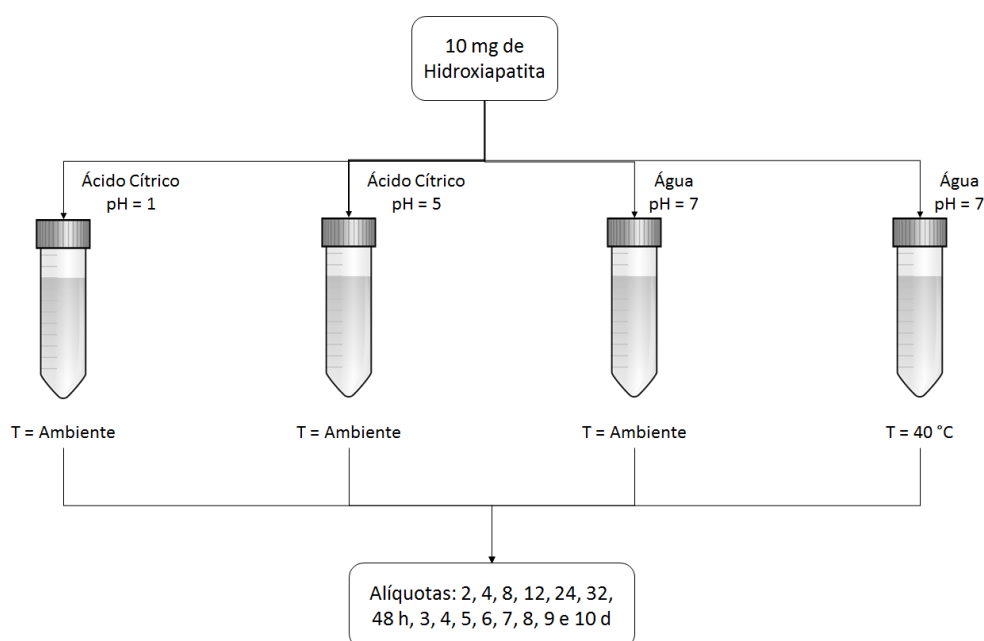


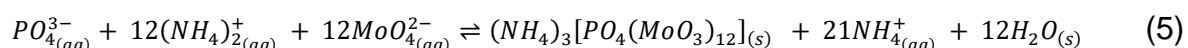
FIGURA 3.7: Esquema de preparação de alíquotas.

Para cada retirada de alíquota, os sistemas eram agitados de modo a homogeneizar a concentração do fosfato liberado durante o período de solubilização. Os tubos contendo as amostras foram centrifugados por 15 minutos a uma temperatura de 25°C, a 10.000 rpm. Já as amostras obtidas por coprecipitação na presença de ureia seguida de tratamento hidrotermal (Ureia H36), além da centrifugação, foram submetidas a filtrações por filtros hidrofóbicos de seringa com poros de 0,2 µm. Após a centrifugação, foram congeladas porções de 15 mL de cada amostra para determinação dos teores de fósforo em triplicata.

Para os sachês o procedimento de liberação se deu de modo diferente. Em um becker de 50 mL foi adicionado sachê contendo as nanopartículas. Foram retiradas alíquotas de 5 mL e esse volume foi repostado com água mili-Q, para manter a quantidade de solvente constante. O tempo de retirada foi de 24 em 24 horas até serem completos 10 dias de liberação.

### 3.9. Determinação dos Teores de Fósforo Solubilizados

De acordo com a norma da ABNT, Associação Brasileira de Normas Técnicas, e da Agência Europeia do Ambiente (AEA), a técnica mais utilizada e amplamente aceita para detecção de fósforo em escala laboratorial é o método azul de molibdênio<sup>88,89</sup>. Esta técnica permite a quantificação de fósforo presente em uma solução através de sua complexação com o íon molibdato (Mo), havendo a formação de um precipitado azul. A quantidade desse precipitado está diretamente relacionada à concentração de fósforo, já que este se apresenta na composição do complexo. Na equação 4 a seguir temos a reação, obtendo o fosfomolibidênio, entretanto, com o Mo apresentando número de oxidação (nox) +6. Com esse nox o complexo apresenta-se na coloração amarela, conseqüentemente com baixa absorvidade<sup>90,91</sup>.



Deste modo faz-se necessário o uso de reagentes redutores a fim de diminuir o nox do íon molibdato para +5, sendo essa uma reação lenta que deve contar com a presença de catalisadores como o tartarato de antimônio e potássio. Neste estado ele apresenta coloração azul e grande absorção em 880 nm<sup>92</sup>. Deste modo, para determinar os teores de fósforo solubilizados, foi utilizado o método colorimétrico. Sendo utilizado o equipamento da Shimadzu®, modelo UV-1601PC.

Preparou-se uma curva analítica com concentrações finais de 0; 0,5; 2,5; 5 ppm, preparadas a partir da diluição de uma solução padrão de fósforo de 1000 ppm (ou mg L<sup>-1</sup>). Assim, 1 mL da solução de 1000 ± 4 ppm foi transferida para um balão de 100 mL, completo com água deionizada e homogeneizado. A seguir, 5; 25 e 50 mL desta solução foram transferidos para outros 3 balões de, também, 100 mL e completos com água deionizada.

Para a complexação das amostras foram preparadas as seguintes soluções:

- Solução de Ácido Ascórbico  $0,4 \text{ mol L}^{-1}$ : em um balão de 100 mL foi adicionado 7 g de ácido ascórbico e completo com água deionizada.
- Solução de Ácido Cítrico  $0,11 \text{ mol L}^{-1}$ : 0,55 g de ácido cítrico foram transferidos para um balão de 25 mL e completo com água deionizada.
- Solução Mista: para a preparação dessa solução foi necessária prévia elaboração de outras soluções que, misturadas, deram origem à solução em questão. Foi utilizado 100 mL da solução de ácido sulfúrico, 22 mL da solução de molibdato de amônio e 2,4 mL de tartarato de antimônio e potássio para a obtenção de 124,4 mL de reagente misto. Segue abaixo a preparação de cada solução em específico.
  - Solução de Ácido Sulfúrico  $4,6 \text{ mol L}^{-1}$ : em um balão de 100 mL foi adicionado 25 mL de ácido sulfúrico concentrado e completo com água deionizada.
  - Solução de Molibdato de amônio  $0,08 \text{ mol L}^{-1}$ : transferiu-se 2,38 g de molibdato de amônio para um balão de 25 mL. Em seguida, o mesmo foi completo com água deionizada.
  - Solução de Tartarato de Antimônio e Potássio  $0,05 \text{ mol L}^{-1}$ : em um balão de 10 mL foi transferido 0,324 g do sal e completo com água deionizada.

Para a complexação de cada amostra, um banho termostatizado foi preaquecido a  $50^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, foram preparadas as amostras em tubos de ensaio com tampas rosqueadas. Neles foram colocados 0,5, 1 ou 5 mL da alíquota recolhida, dependendo da taxa de solubilização observada, e em seguida completado com água deionizada até atingir 5 mL. A esses tubos foram adicionados 0,2 mL da solução de ácido cítrico, 2 mL de ácido ascórbico e 2 mL da solução mista. Após isso, foram fechados, homogeneizados e permaneceram no banho durante 15 minutos. As amostras foram caracterizadas por medidas de absorbância no UV-Vis após o banho.



## 4. Resultado e Discussões

Neste tópico serão abordados e discutidos os resultados obtidos com as técnicas utilizadas para caracterização. É necessário ressaltar que a otimização da síntese foi realizada somente para a síntese da HAP na presença de ureia já que, de acordo com trabalhos anteriores realizados pelo grupo, para a síntese de HAP submetida ao tratamento hidrotérmico na presença de amônia, o tempo de tratamento não teve influência significativa importou na variação do tamanho médio de diâmetro das nanopartículas. Assim, após a otimização da síntese na presença de ureia foi escolhido o melhor tempo de tratamento hidrotérmico, o qual também foi empregado para a amostra hidrotérmalizada na presença de amônia.

### 4.1. Otimização da síntese de hidroxiapatita hidrotérmicamente tratadas na presença de ureia.

Para as amostras de HAP sintetizadas na presença de ureia com o tratamento hidrotérmico, foi utilizada a técnica de difratometria de raios X com a finalidade de confirmar os produtos sintetizados e conhecimento das fases produzidas. Seguem na FIGURA 4.1 os difratogramas obtidos para as amostras sintetizadas na presença de ureia com tratamento hidrotérmico:

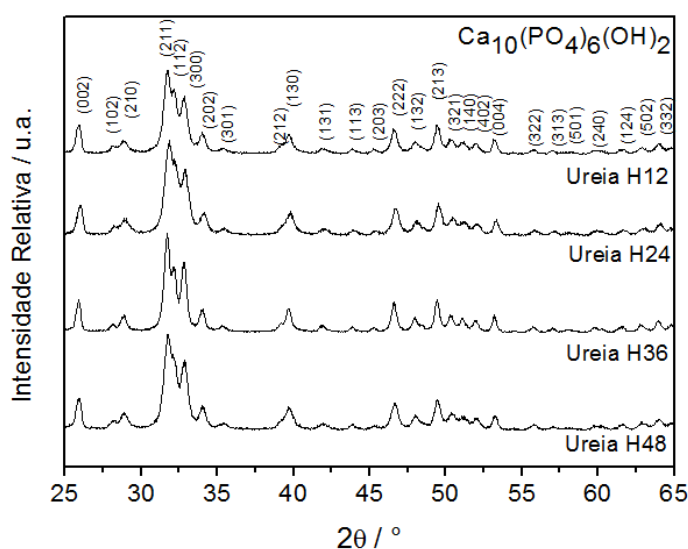


FIGURA 4.1: Difratogramas de raios X (DRX) obtidos para as amostras que foram submetidas ao tratamento hidrotérmico de 12 à 48h.

A partir deste difratograma foi possível observar, segundo a ficha cristalográfica *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) de número

01-089-4405, que todas as amostras obtidas apresentaram os picos característicos da hidroxiapatita de estrutura hexagonal. Não foram encontrados picos referentes a fases secundárias, indicando a pureza do material. Todas as amostras sintetizadas apresentaram alto grau de cristalinidade. Estes resultados obtidos concordam com SANTOS *et al.*<sup>93,94</sup> que obtiveram HAP com alto grau de cristalinidade pelo método de precipitação por via úmida. É possível observar, também, que os picos (211) e (300) da HAP submetida ao tratamento durante 36 horas apresentaram-se mais intensos quando comparados às outras amostras. Isso indica um crescimento preferencial em certos planos da amostra, obtendo-se o material na forma de fitas<sup>29</sup>.

Com a finalidade de observar os grupos presentes na estrutura da hidroxiapatita, foi utilizada a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). Na FIGURA 4.2 podem-se observar os espectros das amostras de HAP obtidas na presença de ureia sob envelhecimento hidrotérmico de 12 a 48 horas.

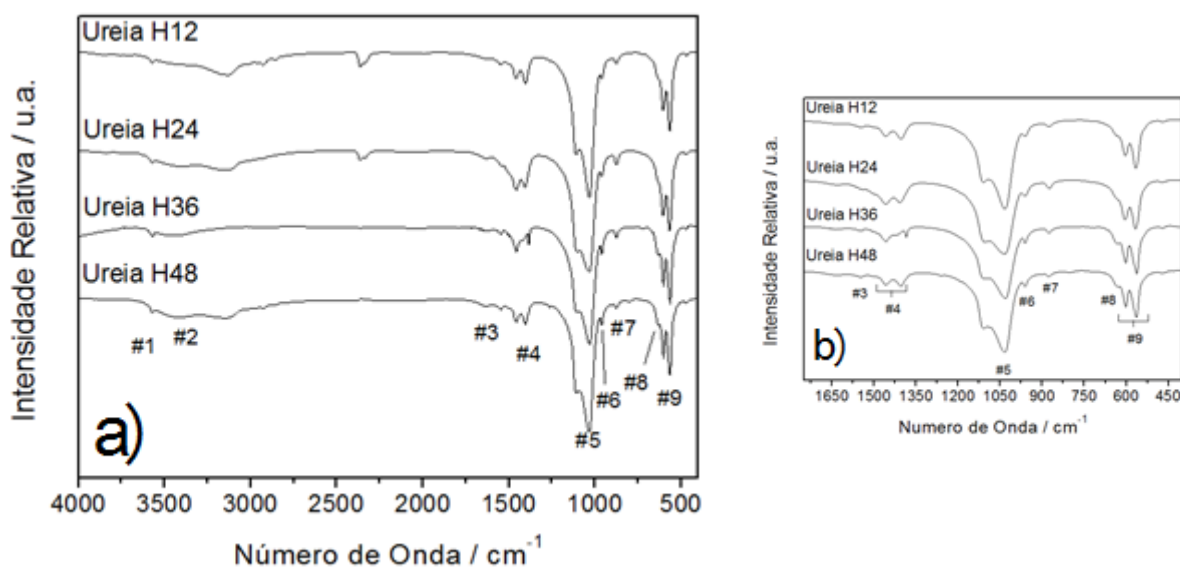


FIGURA 4.2: Espectros na região do Infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) das amostras submetidas ao envelhecimento hidrotérmico de 12 a 48 horas. Em a) gráfico completo, em b) intervalo de 1750 a 400  $\text{cm}^{-1}$  ampliado.

As bandas presentes em 472, 565, 603 e 1030  $\text{cm}^{-1}$  (# 9 e # 5) são referentes à vibração angular do grupo fosfato. Já as bandas em 962 (# 6) e 1093  $\text{cm}^{-1}$  estão relacionadas ao estiramento vibracional do mesmo. Em 3570 e 634  $\text{cm}^{-1}$  (# 1 e # 8) indicam a presença do modo vibracional da hidroxila estrutural da HAP. As bandas na região de 1400 a 1460  $\text{cm}^{-1}$  (#4) indicam a presença do grupo carbonato,

também anunciado na banda em  $875\text{ cm}^{-1}$  (#7). Estas últimas indicam a presença do grupo, entretanto, não se sabe dizer pelo FTIR se este encontra-se adsorvido na superfície do material ou como substituinte na estrutura, já que em literatura foram encontradas informações controversas<sup>95,96</sup>. Já a banda presente em  $3140\text{ cm}^{-1}$  está relacionada à estrutura da ureia utilizada nas sínteses, a qual não foi totalmente removida com a lavagem<sup>97</sup>. As bandas presentes em  $3431$  (#2) e  $1633$  (#3) correspondem à absorção de água pela amostra.

Na TABELA 4.1 encontram-se todas as informações obtidas na literatura referentes a caracterização de FTIR para as amostras de HAP.

TABELA 4.1: Tabela de atribuição das bandas observadas no FTIR e suas referências na literatura.

Banda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição	Referência
3580	Vibração Hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) – Estrutural	98, 95, 99, 100, 101, 102
3431	Absorção de Água ( $\text{H}_2\text{O}$ )	95, 99, 100, 101
1633	Absorção de Água ( $\text{H}_2\text{O}$ )	95, 100, 101
1458	$\text{CO}_3^{2-}$	95, 99, 100, 101, 102, 103
1421	$\text{CO}_3^{2-}$	95, 99, 100, 101, 102, 103, 104
1093	Estiramento Vibracional Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	98, 99, 101
1030	Vibração Angular Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	98, 95, 99, 100, 101, 104
962	Estiramento Vibracional Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	98, 99, 100, 101, 104
875	$\text{CO}_3^{2-}$	95, 99, 100, 101, 102, 103, 104
634	Vibração Hidroxila ( $\text{OH}^-$ ) – Estrutural	98, 95, 100, 101
603	Vibração Angular Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	98, 95, 99, 101
565	Vibração Angular Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	98, 95, 99, 100, 101
472	Vibração Angular Fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ )	95, 101

Como ferramenta adicional para a caracterização estrutural da obtenção da HAP sintetizada e auxiliar a análise do carbonato exibido no FTIR, foi feita a espectroscopia FT-Raman, complementando a caracterização das amostras. Os espectros obtidos para as nanopartículas de HAP envelhecidas de 12 a 48 horas na presença de ureia podem ser observados na FIGURA 4.3. De acordo com O'SHEA *et al.*<sup>105</sup>, o íon fosfato livre apresenta quatro modos Raman ativos, sendo esses designados por  $\nu_1$  ( $\sim 980\text{ cm}^{-1}$ ),  $\nu_2$  ( $363\text{ cm}^{-1}$ ),  $\nu_3$  ( $1082\text{ cm}^{-1}$ ) e  $\nu_4$  ( $514\text{ cm}^{-1}$ ). Entretanto,

ao ser incorporado à estrutura da hidroxiapatita, suas frequências variam, mas ainda preservam sua identidade no espectro. O pico mais intenso  $\nu_1$  presente no gráfico ( $960\text{ cm}^{-1}$ ) é referente ao estiramento simétrico do fosfato tetraédrico presente na hidroxiapatita<sup>55,106</sup>. Já os picos  $\nu_4$  existentes em  $607$ ,  $590$  e  $579\text{ cm}^{-1}$  são referentes ao modo de vibração triplamente degenerada do grupo  $\text{PO}_4^{3-}$ . Na região de  $1020$  a  $1100\text{ cm}^{-1}$  foi possível observar o modo vibracional  $\nu_3$  referente ao estiramento assimétrico triplamente degenerado do íon em questão. Ainda sobre o fosfato, foi possível observar a presença de seu modo vibracional  $\nu_2$  duplamente degenerado entre  $400$  e  $500\text{ cm}^{-1}$ .

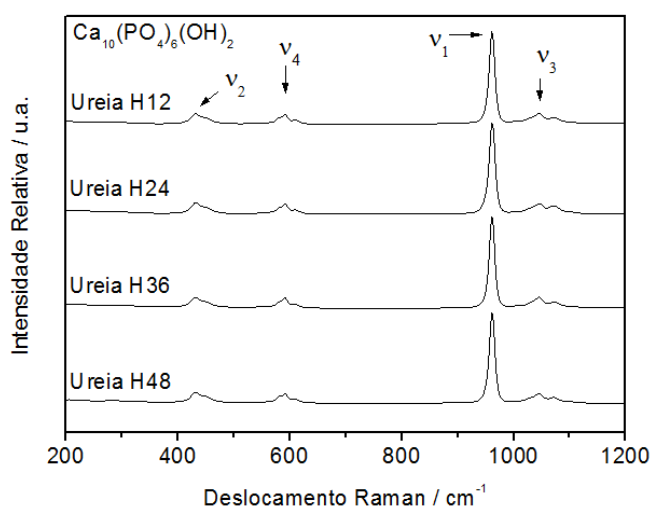


FIGURA 4.3: Espectros FT-Raman obtidos para as amostras hidrotermalizadas de 12 a 48 horas.

De acordo com PENEL *et al.*<sup>107</sup>, a presença de carbonato substituinte na estrutura da HAP acarreta em um ombro no pico mais intenso do gráfico, referente ao fosfato, como já citado acima. Assim, não há indícios da presença do grupo carbonato como íon substituinte na estrutura da amostra. Conseqüentemente, o carbonato observado no espectro de FTIR apresenta-se adsorvido no material.

Foi feita análise de microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) com o objetivo de analisar a forma, bem como a distribuição e homogeneidade das amostras obtidas por meio da síntese de hidroxiapatita com tratamento hidrotérmico na presença de ureia. Com auxílio das imagens adquiridas com o MEV-FEG foi possível identificar a estrutura lamelar mais escura presente no fundo da imagem, sendo esta correspondente à tinta carbono utilizada na preparação da amostra, enquanto as partes mais claras correspondem à HAP.

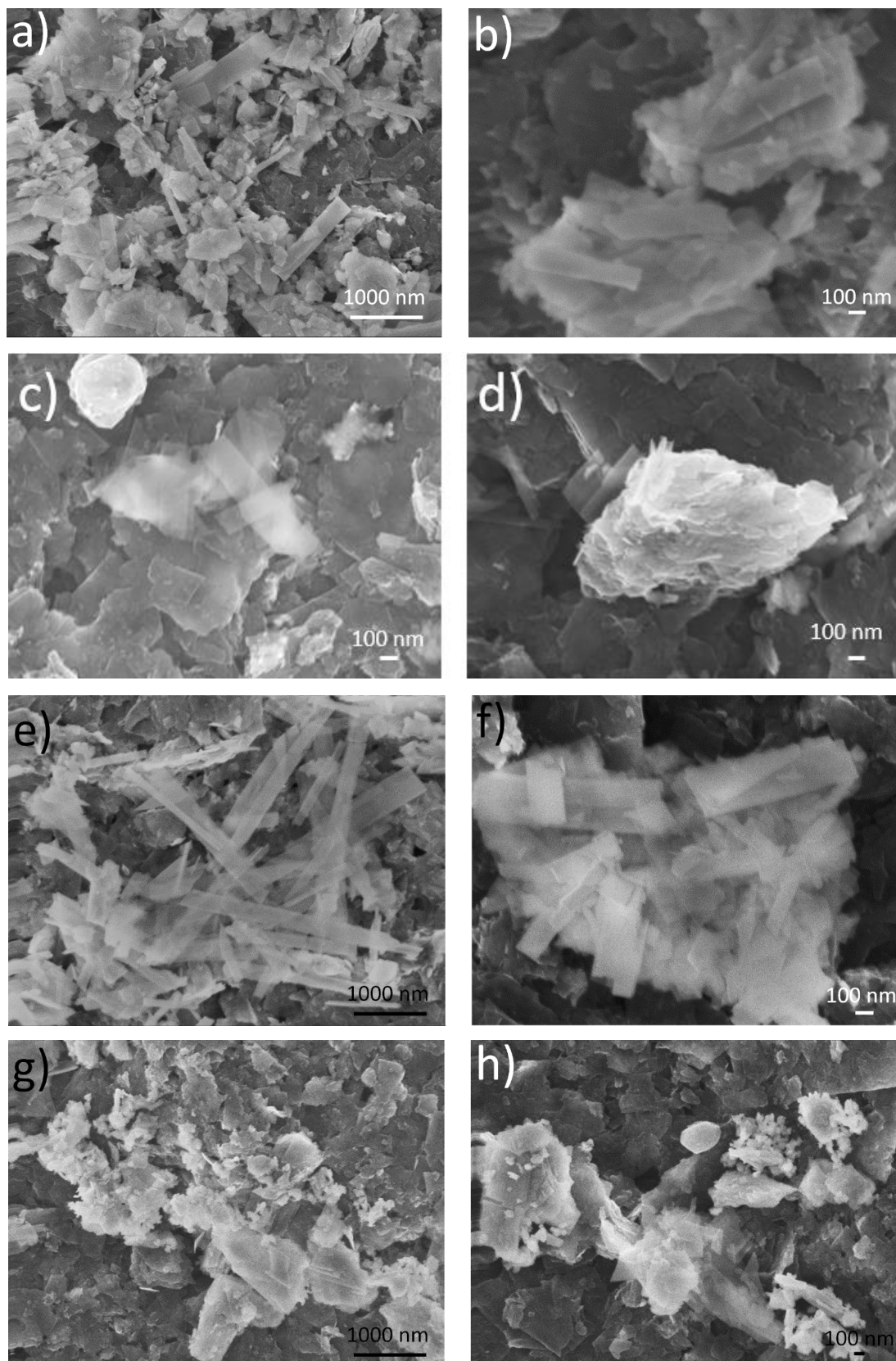


FIGURA 4.4: Imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura com emissão de campo (MEV-FEG) para as amostras obtidas por tratamento hidrotérmico. Os tempos de hidrotérmalização são: a) e b) 12 horas, c) e d) 24 horas, e) e f) 36 horas e g) e h) 48 horas.

Todas as amostras apresentaram, mesmo que parcialmente, morfologia similar a placas agregadas e fitas. Isto se deve à utilização de ureia durante a síntese e envelhecimento hidrotérmal das amostras. De acordo com KOTTEGODA *et al.* A interação da ureia e a superfície da HAP acarreta em interações intermoleculares que contribuem para a mudança de forma das amostras. Na FIGURA 4.5 tem-se a representação dessas interações.

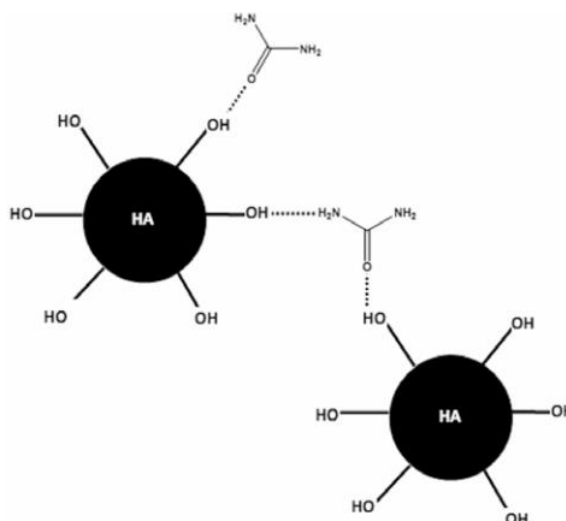


FIGURA 4.5 - Esquema de interação das partículas de HAP e moléculas de ureia<sup>32</sup>.

Estes resultados estão de acordo com obtidos por LIN *et al.*<sup>108</sup>, que sintetizaram hidroxiapatita na presença de ureia seguido de tratamento hidrotérmico, obtendo fitas sem a presença de bastonetes, sendo estes a morfologia mais comum. Nas imagens a) e b) da FIGURA 4.4, referentes à hidroxiapatita hidrotérmalizada durante 12 horas é possível notar a grande variedade de tamanho das placas produzidas. As imagens c) e d) referem-se a 24 horas de tratamento hidrotérmico, em que é possível observar a presença de dois tipos de estrutura, uma em fitas e outra em agregados compactados compostos por placas de HAP. Já nas imagens e) e f) pode-se observar maior definição das fitas formadas no tempo de 36 horas. Este dado corrobora com o difratograma obtido para esta amostra exibido na FIGURA 4.1, o qual indicou um crescimento preferencial formando fitas, como já dito anteriormente. Estas partículas (FIGURA 4.4 e-f) apresentaram uma faixa mais estreita de distribuição de valores de diâmetro médio e uma melhor definição da forma das fitas, quando comparadas às amostras tratadas a 12 horas (FIGURA 4.4 a-b). Porém, ao submeter a HAP a 48 horas de tratamento hidrotérmico, imagens g) e h), nota-se que o processo



originou placas agregadas com grande variedade de tamanhos. Deste modo, a partir destes dados foi escolhida a amostra com maior homogeneidade para efetuar a liberação de fosfato no meio. A amostra utilizada foi a de 36 horas.

#### **4.2. Caracterização das amostras de hidroxiapatita sintetizadas.**

Foram sintetizadas diferentes nanopartículas de HAP sendo estas: Cop, Cop H36 e Ureia H36, além da utilização de uma Comercial. O tempo de 36 horas, como já dito anteriormente, foi determinado por meio da etapa anteriormente discutida com a utilização de ureia na síntese (Ítem 4.1).

A partir dos difratogramas apresentados na FIGURA 4.6 foi possível a caracterização estrutural das amostras sintetizadas, assim como da comercial utilizada no trabalho. Pode-se observar que as amostras que sofreram tratamento hidrotérmico apresentaram picos mais definidos, sugerindo um aumento da cristalinidade do material. A amostra coprecipitada apresentou pior definição dos picos, indicando que a mesma apresenta menor grau de cristalinidade comparada às demais. Isto pode ser verificado mais claramente a partir dos picos (211), (112) e (300), pelo aumento da intensidade relativa entre os mesmos.

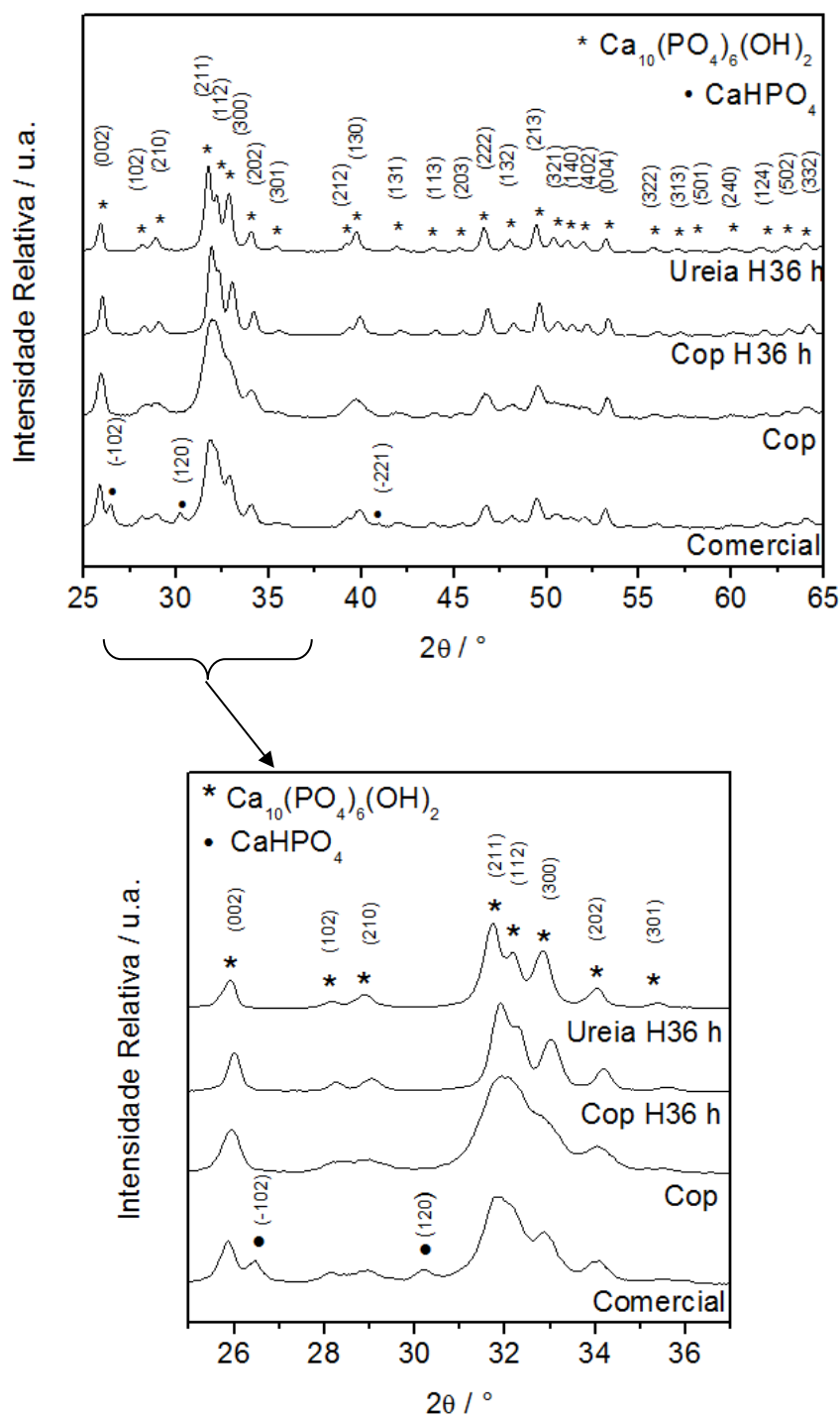


FIGURA 4.6: Difratoogramas de raios X (DRX) obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial com maior magnificação na faixa de 25,5 até 36,5°.

Todas as amostras de HAP analisadas (FIGURA 4.5) apresentaram sistema cristalino hexagonal de acordo com a ficha cristalográfica JCPDS de numeração 01-089-4405. Entretanto, a amostra comercial apresentou picos adicionais às outras em  $2\theta$  igual a 26°, 30° e 41°, que não são pertencentes à fase HAP de interesse. Esses picos foram identificados como uma fase secundária do



composto Hidrogeno Fosfato de Cálcio ( $\text{CaHPO}_4$ ), também chamado de monetita, segundo a ficha JCPDS número 01-077-0128. Caso similar e pode ser relatado por LIU *et al.* <sup>29</sup> que obtiveram uma mistura de  $\text{CaHPO}_4$  e hidroxiapatita ao seguirem a síntese sem ajuste de pH. Assim, pode-se afirmar que a amostra comercial tem menor grau de pureza. Em nenhuma das amostras foram encontrados picos referentes à presença da fase adicional de Carbonato de Cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ).

Como método adicional para a análise da formação do composto hidroxiapatita, foi utilizada a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A FIGURA 4.7 ilustra os espectros obtidos para as quatro amostras de hidroxiapatita sintetizadas.

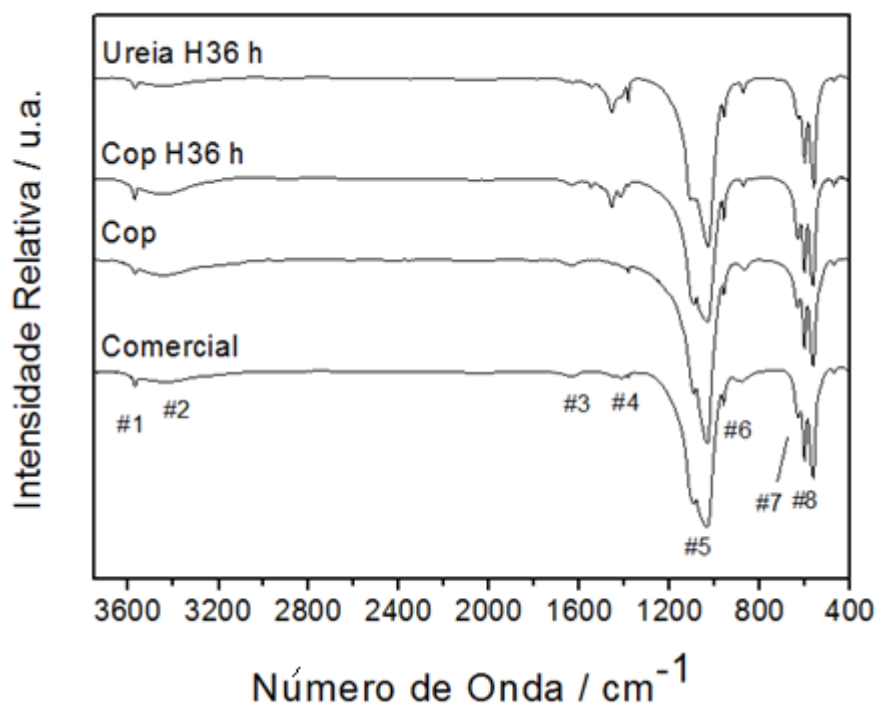


FIGURA 4.7: Espectros da região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial.

A partir da FIGURA 4.77 é possível observar que as amostras submetidas a tratamento hidrotermal apresentam uma maior presença de carbonato. Enquanto a amostra comercial e a coprecipitada apresentam graus inferiores deste produto. Isso pode ser observado nas bandas presentes em 1458, 1421 (#4) e 875 (#7)  $\text{cm}^{-1}$  <sup>95,99-102</sup>. Já as bandas referentes à presença de fosfato são facilmente observadas nas quatro amostras por meio dos modos vibracionais iguais em 1093, 1030, 962, 603, 565 e 472 (#5, #6 e #9)  $\text{cm}^{-1}$  <sup>95,101</sup>. Apesar dos espectros FTIR indicarem a presença de  $\text{CO}_3^{2-}$ , é necessário ressaltar que nos difratogramas de DRX não foram encontrados picos referentes à presença de estruturas cristalinas nas quais

este ânion seja constituinte. Isto pode ser explicado pela inexistência ou baixíssima quantidade desse composto indesejado, caso presente como substituinte na estrutura do material.

É possível observar, também, a presença de absorção de água pela amostra, caracterizada pelas bandas em 3431 (#2) e 1633 (#3)  $\text{cm}^{-1}$  <sup>100,101</sup>. Já as bandas encontradas em 3570 (#1) e 634 (#8)  $\text{cm}^{-1}$  confirmam a presença de grupos hidroxila na estrutura da HAP <sup>95,99-103</sup>.

As amostras foram caracterizadas também por espectroscopia FT-Raman a fim de avaliar a estrutura das partículas em uma ordem da curta e média distância no retículo cristalino, bem como determinar a natureza dos grupos carbonatos detectados pelo FTIR. Os resultados obtidos por FT-Raman para estas amostras podem ser observadas na FIGURA 4.8

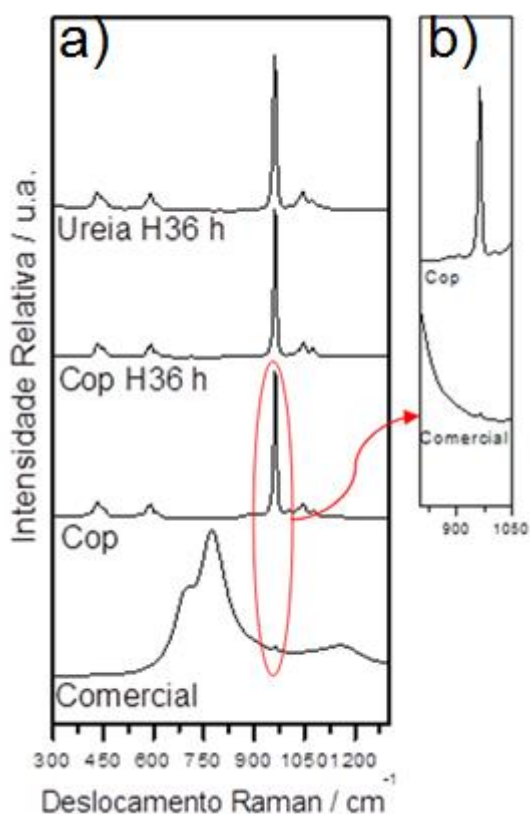


FIGURA 4.8: a) Espectros de FT-Raman obtidos para as amostras Ureia H36, Cop H36, Cop e Comercial. B) Maior magnificação na região de 840 a 1000  $\text{cm}^{-1}$ .

Pela análise da FIGURA 4.8 a, verifica-se todos os modos vibracionais das amostras sintetizadas são coincidentes com as amostras obtidas na presença de ureia (FIGURA 4.3). Este fato indica que as partículas de HAP sintetizadas em diferentes condições de síntese (FIGURA 4.8 a) apresentam-se monofásicas, exibindo

somente os modos vibracionais referentes ao fosfato. Esses modos estão localizados nas regiões de 400 a 500  $\text{cm}^{-1}$  e de 1020 a 1100  $\text{cm}^{-1}$  e, também, nos picos presentes em 960, 607, 590 e 579  $\text{cm}^{-1}$  <sup>55,93,105,107</sup>. Não foram encontrados modos vibracionais do carbonato, confirmando que a presença dele se dá pela adsorção à superfície das partículas de HAP. Já na amostra comercial, foram obtidos modos vibracionais com aspectos e posições diferentes das esperadas para as vibrações do fosfato da HAP. Esses picos apresentaram-se divergentes também do espectro formado pela monetita <sup>109</sup>. Assim, não foi possível caracterizar esta amostra com a técnica de FT-Raman. Entretanto, ao fazer uma ampliação no gráfico (FIGURA 4.8 b) é possível observar a pequena intensidade do modo vibracional do fosfato em 960  $\text{cm}^{-1}$ , assim confirmando a presença de HAP nesta amostra, como observado pelo gráfico de DRX (FIGURA 4.6).

Com a finalidade de observar a morfologia e a dispersão das amostras sintetizadas e da amostra comercial, para a averiguação da solubilidade e consequente liberação de íons fósforo para a solução, foi feita a microscopia eletrônica de transmissão (MET).

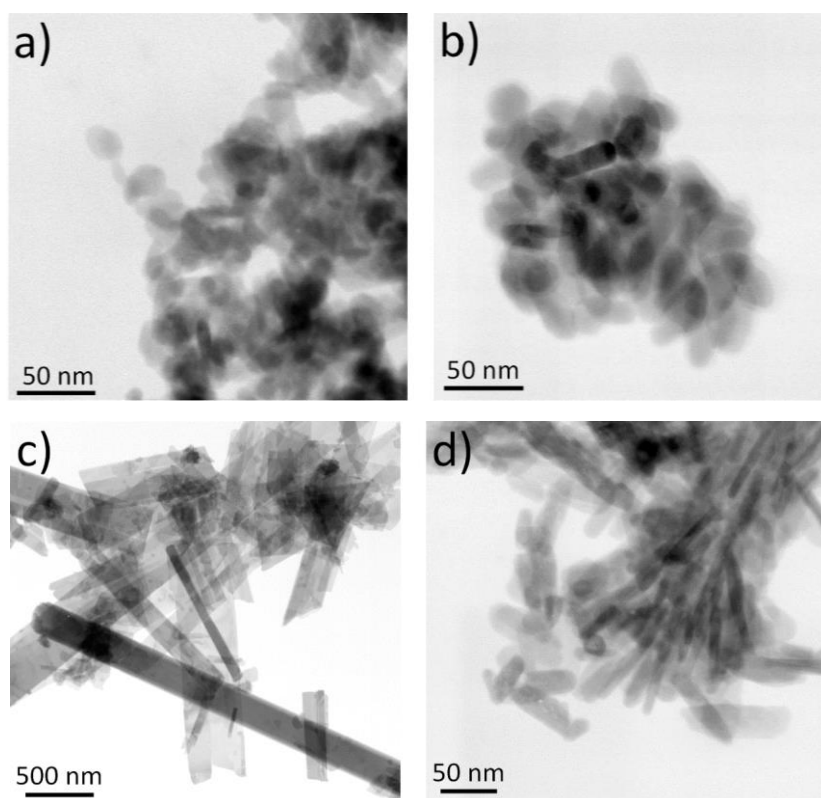


FIGURA 4.9: Imagens obtidas por MET das amostras a) Cop, b) Cop H36, c) Ureia H36 e d) Comercial.

É possível observar na FIGURA 4.9 que as amostras a), b), e d) apresentaram formato do tipo bastonete, sendo essas as amostras Cop, Cop H36 e Comercial, respectivamente. Já a amostra H36 (imagem c) da FIGURA 4.9 apresentou formato de fitas e tamanho superior às outras amostras, o que pode ser atribuído à sua interação com a ureia durante a sua síntese, como já mencionado anteriormente. A partir do *software* gratuito *Image J* foi possível obter a distribuição do diâmetro médio de todas as amostras a partir de seus respectivos histogramas de distribuição. Foram obtidos, também, os valores aproximados de tamanho médio de coerência cristalográfica (cristalito), antes e após a solubilização do material, pela utilização da equação de Scherrer<sup>110</sup> e os respectivos difratogramas para essas três amostras. Os resultados são mostrados na TABELA 4.2 a seguir:

TABELA 4.2: Tamanhos médios de partículas obtidas pelos métodos de contagem, e os tamanhos médios de cristalitos pelo método teórico utilizando a equação de Scherrer antes da liberação (inicial) e após o teste de solubilidade.

<b>Amostra</b>	<b>Diâmetro Médio (nm)</b>	<b>Cristalito Inicial (nm)</b>	<b>Cristalito após solubilidade (nm)</b>
<b>Cop</b>	10 – 12	5	3,7
<b>Cop H36</b>	16 – 18	6,2	4,9
<b>Ureia H36</b>	16 – 430	5,2	5,0
<b>Comercial</b>	14 – 30	5,2	4,5

Pela análise da TABELA 4.2, pode-se notar que os tamanhos dos cristalitos após a solubilização diminuíram, sugerindo uma possível solubilização do contorno entre as partículas. Este efeito foi mais pronunciado na amostra Cop, em que seu cristalito foi reduzido em aproximadamente 25% de seu tamanho.

Para a avaliação da estabilidade dos sistemas coloidais e obtenção da área superficial do material, foram realizados estudos de potencial zeta e da adsorção/dessorção de N<sub>2</sub>. Os dados obtidos estão descritos na TABELA 4.3. É possível observar que a amostra Ureia H36 apresentou o maior valor de potencial Zeta. Valores de potenciais acima de 30, em módulo, correspondem a maior número de cargas presentes nas paredes do material, o que equivale a amostras estáveis, enquanto as amostras que apresentam valores menores de potencial Zeta, também em módulo, tendem a se aglomerar e decantar<sup>16,111</sup>.

TABELA 4.3: Apresentação dos valores de Potencial Zeta e do BET para as amostras Cop, Cop H36, Ureia H36 e Comercial, utilizadas na liberação.

Amostra	Cop	Cop H36	Ureia H36	Comercial
Potencial Zeta (mV)	-11,0	-10,7	-25,4	-12,1
BET (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	53	47,3	25,3	52,1

A partir dos resultados adquiridos por BET, é possível observar que as amostras obtidas por coprecipitação (Cop), por coprecipitação seguida de tratamento hidrotermal (Cop H36) e a Comercial apresentaram aproximadamente o dobro de área superficial que a amostra obtida por coprecipitação e tratamento hidrotermal na presença de ureia (Ureia H36). Isso se deve ao maior tamanho da última, já que menores partículas apresentam maiores áreas de exposição ao meio.

### 4.3. Caracterização das Blendas de Amido:Pectina

Após a obtenção das blendas foi possível observar que a coloração das mesmas variou de acordo com a porcentagem de pectina presente. Na FIGURA 4.10 foi possível verificar que a blenda composta somente por amido é amarelada e transparente. Entretanto, à medida que a porcentagem de pectina foi aumentada na blenda, esta passou a apresentar tons mais escuros e opacos.

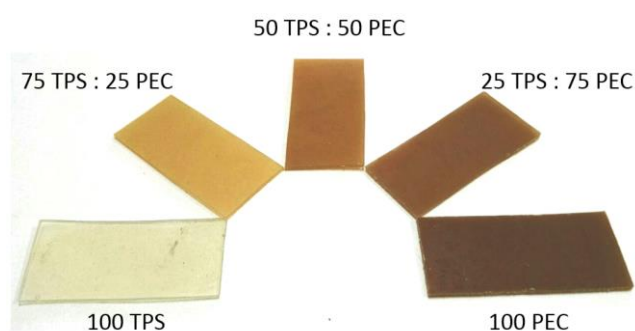


FIGURA 4.10: Blendas de amido e pectina e suas composições.

Foi feita a caracterização por difratometria de Raios X de modo a avaliar a cristalinidade bem como as fases presentes nos filmes produzidos. A FIGURA 4.11 ilustra os difratogramas para as diferentes composições das blendas, desde 100 TPS até 100 PEC. Todos difratogramas apresentaram uma banda larga característica em

$2\theta$  de 10 a 25° sugerindo uma desordem cristalográfica destes compostos. Para a blenda de pectina pura não foi encontrado nenhum pico no difratograma, indicando que o material não é cristalino. Já no difratograma do filme composto por somente amido notou-se a presença de 4 picos localizados em  $2\theta$  igual a 13, 17, 19,7 e 22,3°. A presença destes picos indicam a semi-cristalinidade do amido utilizado, devido a presença do componente do amido, amilopectina, o qual apresenta cristalinidade<sup>87</sup>. Nota-se, também, que à medida que a porcentagem de amido decresceu nas blendas, a intensidade dos picos reduziu. Estes resultados condizem com CORRADINI *et al.*<sup>112</sup>, que ao preparar blendas de amido e zeína obtiveram difratogramas de raios X com picos similares aos obtidos neste estudo. Apesar do material de fixação da amostra em  $2\theta$  igual a 29 e 44°, não foram encontradas fases contaminantes.

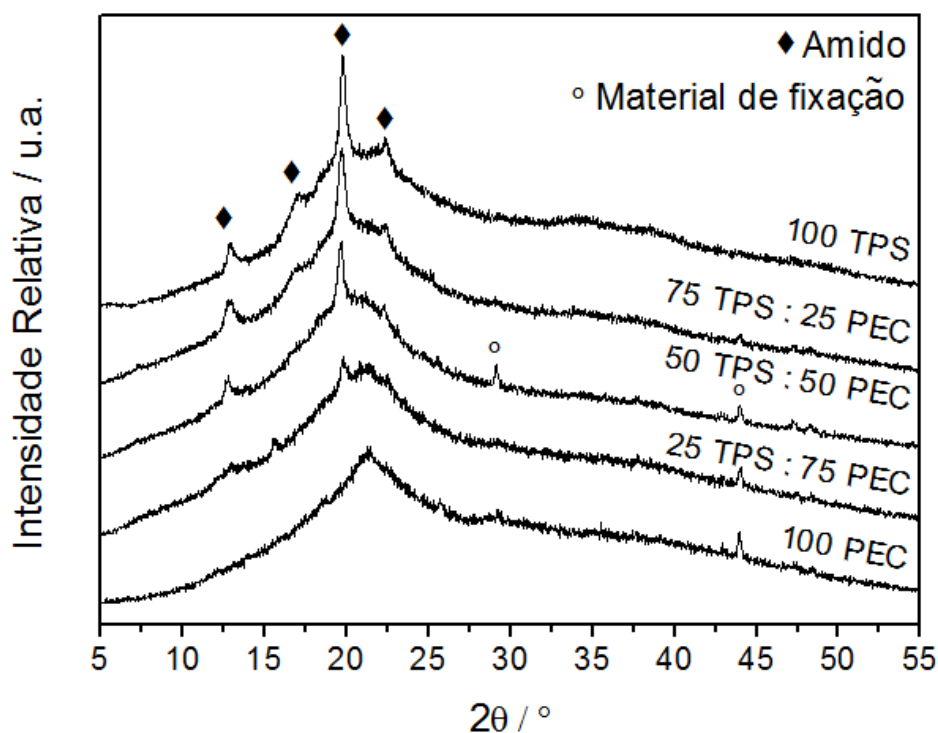


FIGURA 4.11: Difratogramas de raios X para as blendas produzidas.

Para confirmação dos grupos presentes na estrutura das blendas foi feita a espectroscopia na região do infravermelho com o módulo ATR (*Attenuated Total Reflectance*). Na FIGURA 4.12 é possível observar o espectro obtido por tal análise.

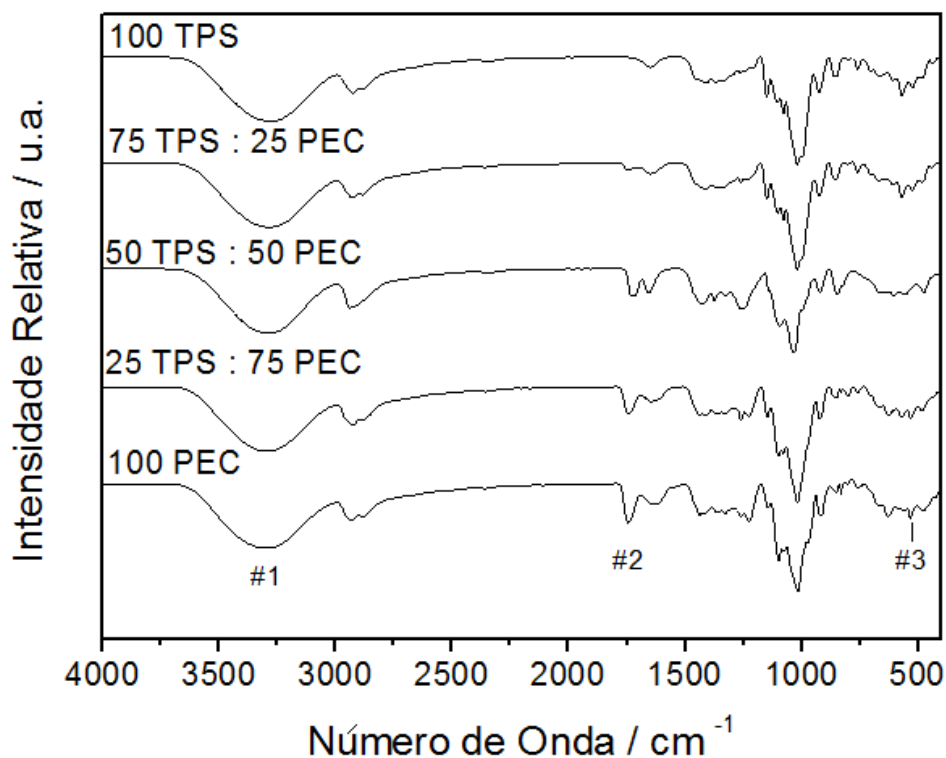


FIGURA 4.12: Espectros de FTIR obtidos para as blendas produzidas.

A partir do gráfico é possível observar a banda em  $1731\text{ cm}^{-1}$  (#2) referente à presença do grupo ácido carboxílico que consta somente na estrutura da pectina como mostrado na FIGURA 1.3: Estrutura química da pectina<sup>71.12</sup>. Assim, o espectro evidencia uma melhor definição da banda à medida que há o aumento da porcentagem de PEC presente nas blendas. Já a banda presente em  $519\text{ cm}^{-1}$  (#3) está relacionada ao anel pirano, e a exibida em  $3286\text{ cm}^{-1}$  (#1) está ligado ao estiramento OH, ambos presentes na estrutura do amido e da pectina. Verificou-se as bandas referentes à deformação do  $\text{CH}_2$  em  $851$ ,  $1262$ ,  $1438$  e  $2934\text{ cm}^{-1}$ , bem como o estiramento C-C em  $753$ ,  $1105$  e  $1144\text{ cm}^{-1}$ . Foi observada, também, a presença de deformação angular O-H em  $1076$ ,  $1379$  e  $1624\text{ cm}^{-1}$ . Na TABELA 4.4, tem-se a relação de bandas presentes nos espectros recolhidos para as amostras de FTIR das blendas produzidas e sua atribuição.

TABELA 4.4: Bandas referentes às blendas e suas respectivas referências.

Banda	Atribuição	Referência
519	Modo da estrutura do anel piranose	113,114
753	Estiramento C-C	113
851	Deformação CH <sub>2</sub>	113
920	Modo vibracional da estrutura da ligação glicosídica α-1,4	113
1076	Deformação angular C-OH	113,115
1105	Estiramento C-O, C-C	115
1144	Estiramento C-O, C-C	113
1262	Deformação CH <sub>2</sub>	115
1379	Deformação angular O-H	116
1438	Deformação CH <sub>2</sub>	115
1624	Deformação angular O-H / Estiramento COO <sup>-</sup>	103,117 116,118
1653	Absorção de água	113 118
1731	Ácido carboxílico	103,116
2934	Deformação CH <sub>2</sub>	113
3286	OH ligado a carbono secundário / estiramento OH	103,117

Dessa maneira, por intermédio das análises descritas acima, pode-se verificar que somente os compostos de interesse foram encontrados não apresentando contaminantes nas blendas.

A partir da fratura criogênica dos filmes, foi possível a análise das amostras de modo a se obter informações sobre sua homogeneidade e espessura.



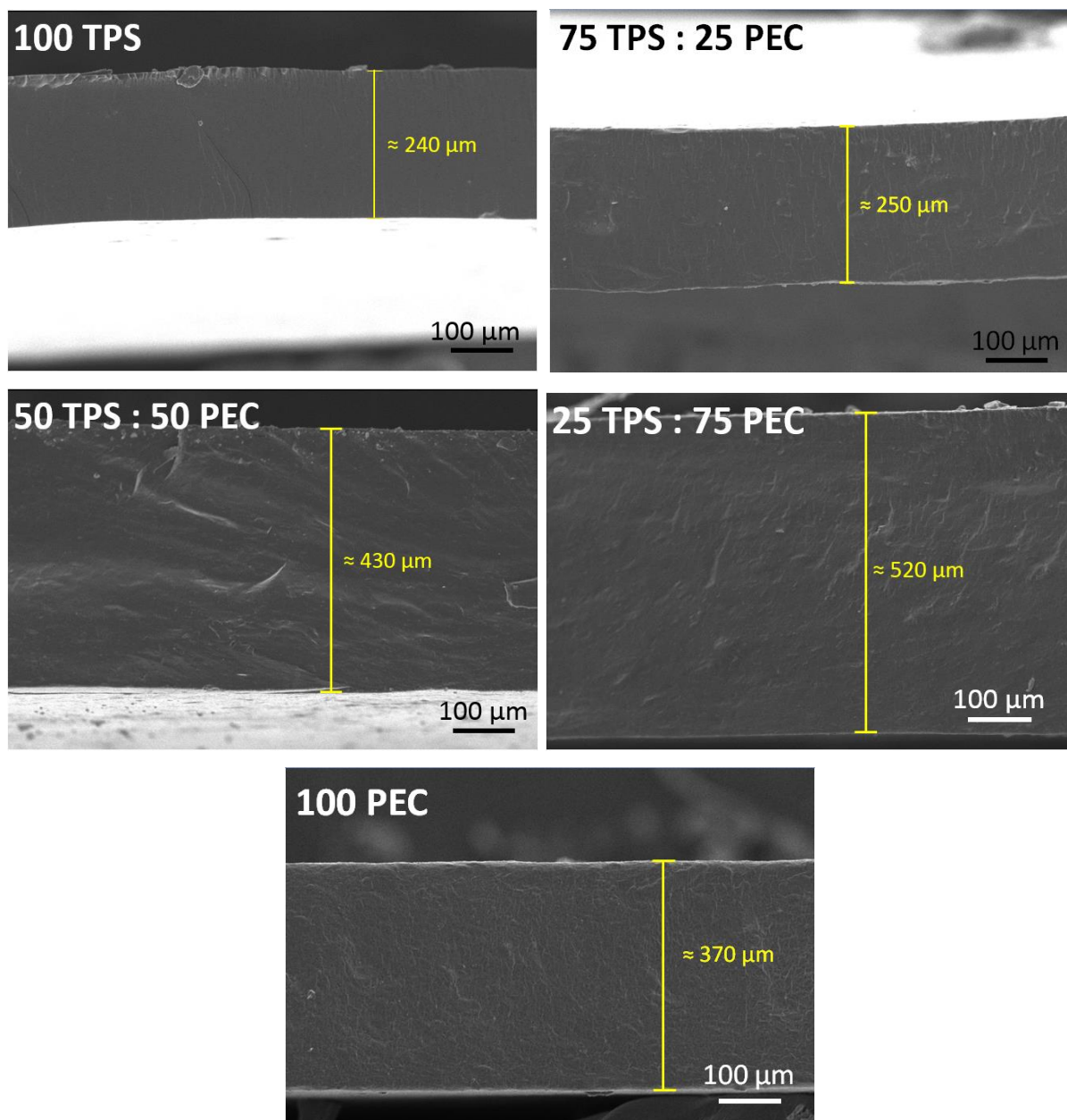


FIGURA 4.13 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura da seção transversal das blendas de amido e pectina na forma de filmes.

Pelas imagens da FIGURA 4.13 nota-se que a partir da prensagem do material foram obtidos filmes de espessuras praticamente controladas ao longo da extensão analisada. A blenda composta somente por amido apresentou a menor espessura devido à sua menor viscosidade e maior escoabilidade<sup>19</sup>. Já a blenda 100 PEC, por apresentar maior viscosidade, apresentou espessura maior que a da 100TPS. Nas blendas mistas verifica-se o aumento da espessura à medida que ocorre o aumento da porcentagem de pectina, já que a segunda apresenta menor

escoamento que o primeiro. As blendas mistas apresentaram maior espessura que as puras, indicando que os polímeros formam uma mistura não homogênea.

Realizando-se uma análise da superfície fraturada dos filmes das blendas 100 PEC, 50 TPS : 50 PEC e 100 TPS (FIGURA 4.14), pode-se observar que a blenda composta somente por pectina apresentou alto grau de rugosidade. Em contrapartida, a blenda composta por somente amido apresentou estrutura lisa com a presença de pequenos grânulos *in natura* do amido (indicados por setas) os quais não foram desestruturados durante o tempo de mistura no HAAKE. Assim, referente à blenda mista (50 TPS : 50 PEC) nota-se a presença de regiões com maior rugosidade (circulada por linha contínua) e regiões com menor rugosidade (circulada por linha pontilhada). Isto está associada à falta de homogeneidade da blenda. Estes resultados concordam com MOREIRA<sup>119</sup>, que obteve as mesmas características para as blendas de amido e pectina produzidas.

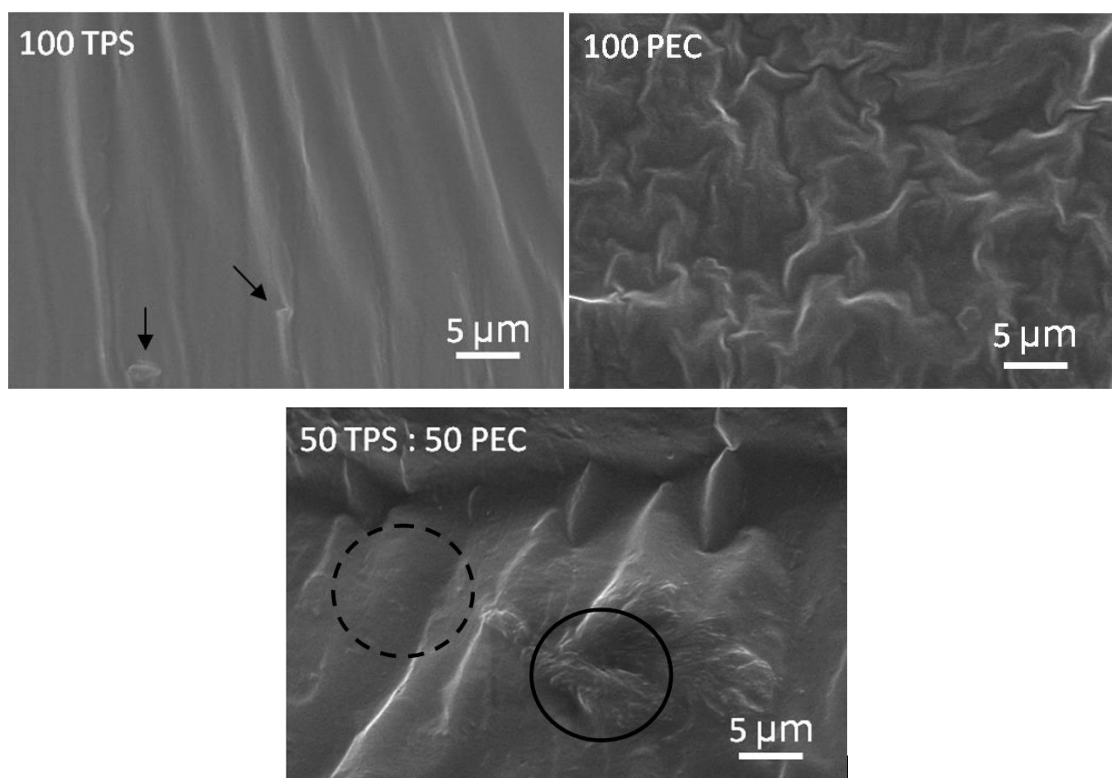


FIGURA 4.14: Micrografias das blendas de 100 PEC, 100 TPS e 50 TPS : 50 PEC com magnificação de 3000 vezes. Setas evidenciam a presença de grânulos *in natura* do amido. O círculo com linha contínua mostra a região com presença de rugosidade enquanto o círculo pontilhado demonstra a região lisa.

Com a finalidade de verificar o comportamento de degradação das amostras frente à temperatura de processamento (140°C), foi feita a análise

termogravimétrica das blendas. Os dados obtidos são apresentados na FIGURA 4.15, onde há a marcação da temperatura de processamento por uma linha pontilhada.

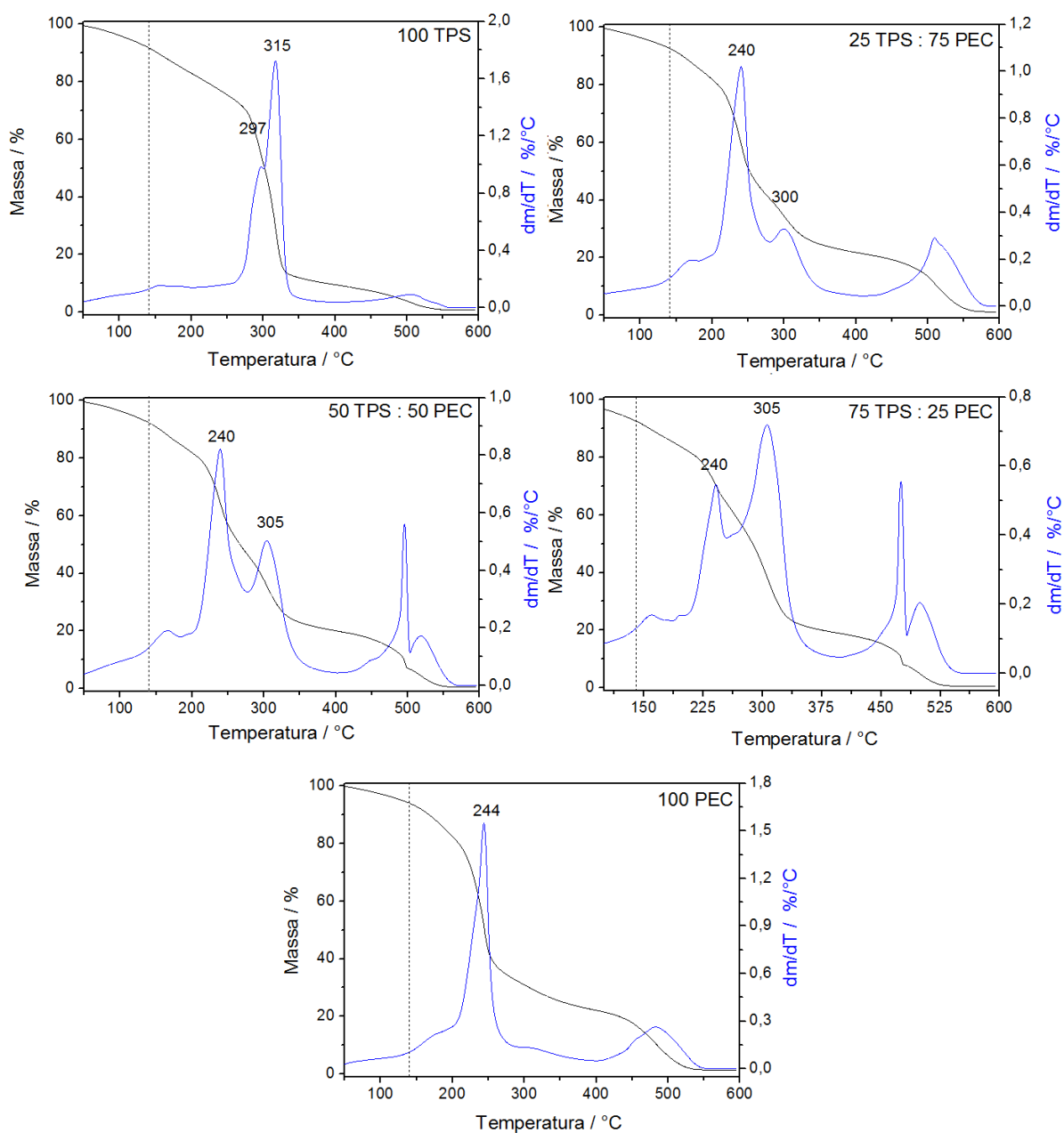


FIGURA 4.15: Termogravimetria e derivada primeira das blendas obtidas. Linha pontilhada em 140 °C indica a temperatura de processamento.

Na FIGURA 4.15 é possível observar as degradações para cada blenda e, para facilitar a análise, as respectivas curvas de DTG. O primeiro processo de degradação ocorrido em todas as blendas está relacionado à perda de materiais de baixa massa molar e compostos mais voláteis, como água<sup>120</sup>. Na blenda 100 TPS observa-se três eventos grandes de degradação. O primeiro, em 297 °C, está

relacionado à degradação do glicerol. O segundo, em 315 °C e o terceiro, em 510°C, estão relacionados à degradação do amido. Na blenda 100 PEC há somente dois eventos de perda de massa, um em aproximadamente 244°C, sendo referente à primeira degradação da pectina, e outro presente em 475, referente à segunda degradação da pectina. Já as blendas compostas pelos dois polímeros apresentam tanto o evento de degradação referente à pectina como a do amido. Isso pode ser observado, também, através da intensidade dos picos, já que na blenda 25 TPS : 75 PEC exibe o pico relativo a pectina com maior intensidade que o pico relativo ao amido. O contrário pode ser considerado na amostra 75 TPS: 25 PEC. Esse comportamento indica uma falta de miscibilidade entre os polímeros utilizados<sup>119</sup>. Em todos os filmes produzidos, a degradação na temperatura de processamento foi inferior a 10% da massa do material. Já a completa degradação das amostras ocorreram em temperaturas inferiores a 675°C. Pode-se afirmar, também, que não houve eventos de perda de massa significativos a temperaturas inferiores a 140°C, temperatura utilizada no processo de produção dos filmes.

Foram realizados ensaios de solubilidade das blendas em formas de sachês a fim de determinar qual apresenta tempo de solubilização mais compatível com o propósito de uso. Os sachês empregados no teste de degradação em água podem ser visualizados na FIGURA 4.16, em que há a presença de todas as formulações de blendas produzidas neste trabalho. Verifica-se que as blendas com maior teor de pectina apresentam suas bordas irregulares, enquanto as blendas com maiores teores de amido têm suas bordas uniformes. Isto é provocado por uma maior rigidez e menor maleabilidade da blenda com altos teores de pectina. Em contrapartida, o sachê composto somente por amido apresentou grande retenção de água do ambiente, tornando-a úmida com aspecto pegajoso.



FIGURA 4.16: Sachês de TPS:PEC utilizados para o teste de degradação em água dos mesmos. Da esquerda para direita: 100 TPS, 75 TPS: 25 PEC, 50 TPS: 50 PEC, 25 TPS: 75 PEC e 100 PEC, respectivamente.

Na FIGURA 4.17 estão as imagens das degradações em água à temperatura ambiente de todas blendas produzidas no trabalho com a variação do tempo de permanência.

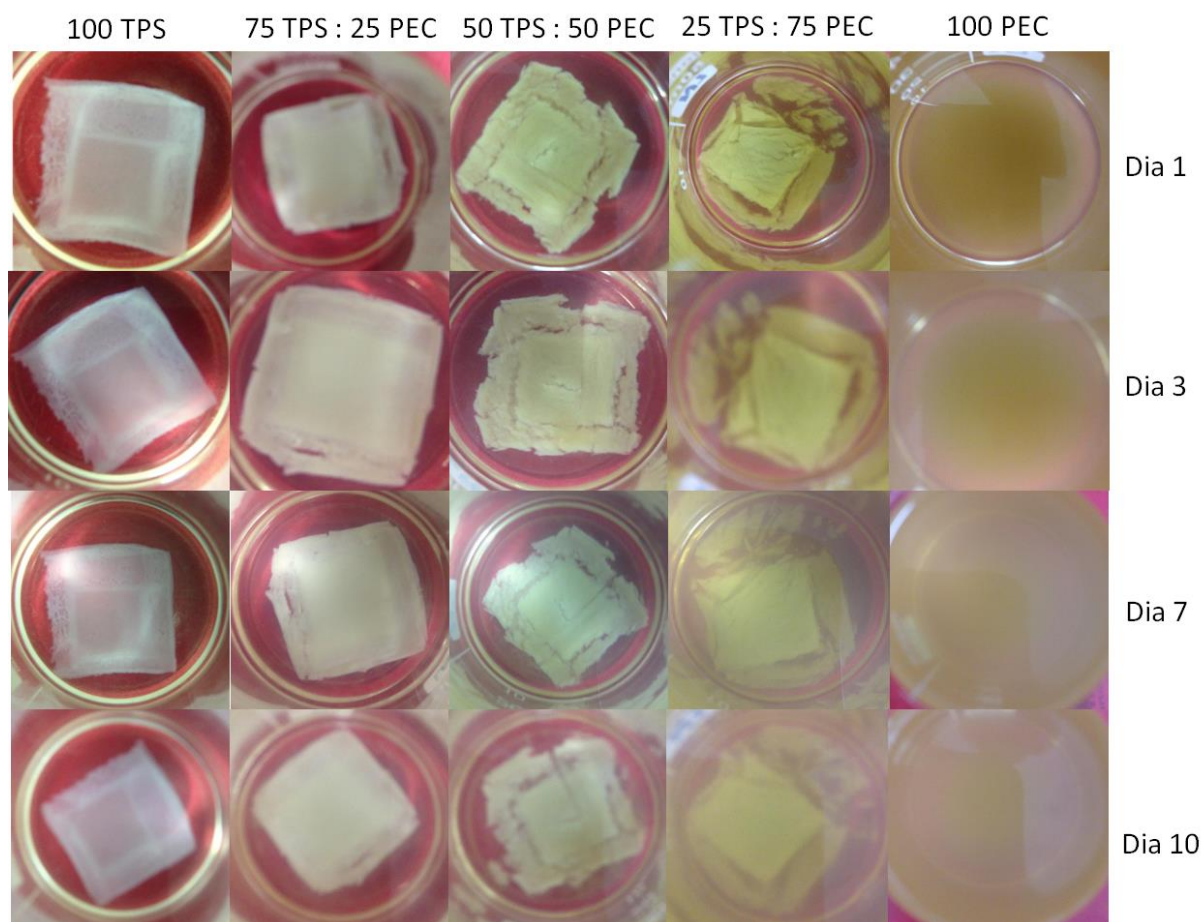


FIGURA 4.17 - Degradação dos sachês na presença de água.

Verificou-se que o filme composto por somente pectina foi solubilizado em menos de 24 horas após o início do teste, inviabilizando o mesmo para utilização. Notou-se, também, que a medida que os teores de amido aumentam na blenda, sua resistência à degradação aumenta. Entretanto, as blendas 50 TPS : 50 PEC e 25 TPS : 75 PEC apresentaram rachaduras nos dias iniciais de degradação, também inviabilizando as suas utilizações para composição dos sachês. Este comportamento pode ser atribuído ao efeito das maiores concentrações de pectina presentes nestas blendas. Já o filme composto somente por amido apresentou grande resistência ao desgaste permanecendo praticamente intacto ao decorrer do ensaio. Assim, a blenda que não apresentou rachaduras durante os dias iniciais, mas também não se apresentou tão duradoura quanto a amostra composta por somente amido, foi a



selecionada para produção dos sachês para a liberação, sendo esta a blenda de 75 TPS : 25 PEC.

Na FIGURA 4.18 é possível observar a diferença da coloração da suspensão obtida durante o processo de solubilização das blends de acordo com a sua composição para o período de 5 dias. A blenda de amido, localizada à esquerda apresenta-se inteira, enquanto a blenda de pectina, localizada à direita, apresenta-se completamente solubilizada. É possível observar, também, a partir dessa imagem a maior solubilização do sachê de acordo com o aumento da quantidade de pectina presente na blenda.

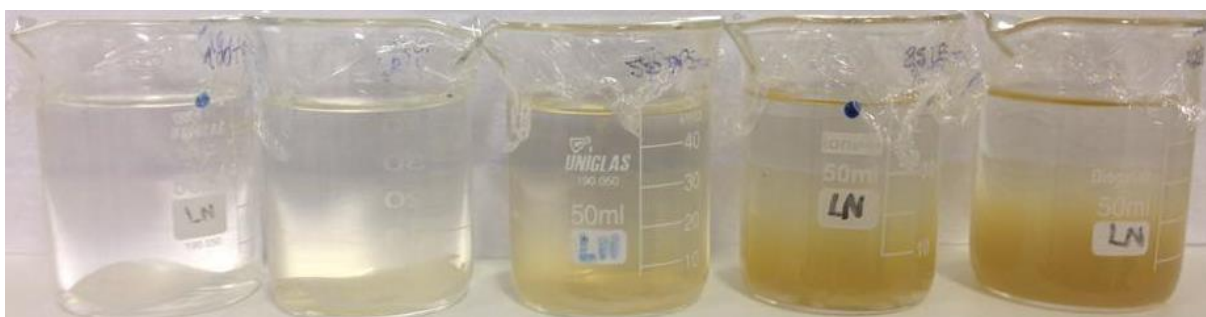


FIGURA 4.18: Solubilidade dos sachês de acordo com sua composição. Da esquerda para a direita: 100 TPS, 75 TPS : 25 PEC, 50 TPS : 50 PEC, 75 PEC : 25 TPS e 100 PEC.

#### 4.4. Testes de solubilidade das amostras de HAP

Com o propósito de quantificar o fósforo liberado em solução, a partir da solubilidade das partículas de HAP com diferentes formas e diâmetros médios foi utilizada a espectroscopia UV-Visível em conjunto com a técnica azul de molibdênio. Os espectros das amostras cuja solubilidade foi avaliada em pH 1 controlado com ácido cítrico e em água podem ser vistos na FIGURA 4.19. Nela nota-se a presença de duas bandas mais intensas, uma em aproximadamente 880 nm e outra de menor intensidade em aproximadamente 716 nm, sendo essas correspondentes às transições d-d do íon  $\text{Mo}^{5+}$ . A banda de 880 nm foi utilizada para análise, já que esta apresenta maior absorbância às transições do complexo formado. É possível verificar, também, que as intensidades das amostras em ácido cítrico apresentam uma absorbância superior às amostras liberadas em água. Isso indica uma maior solubilidade da amostra nesta solução, já que a concentração de fósforo está diretamente ligada à absorbância medida.

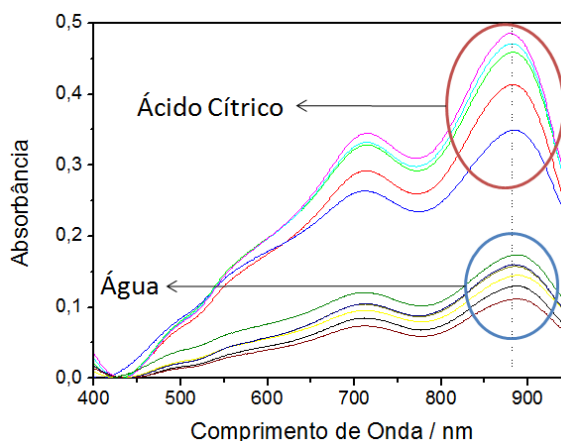


FIGURA 4.19: Espectros de absorção da liberação de íons fósforo, pelas partículas de HAP em Ácido Cítrico e Água, complexadas com o íon molibdato.

Para a construção da curva analítica foram utilizadas quatro soluções contendo 0 (branco); 0,5; 2,5 e 5,0 ppm de fósforo, respectivamente. Essas foram complexadas e lidas no UV-Vis e, após, foram construídos gráficos relacionando a concentração com a absorbância obtida. Essa curva foi feita para cada dia de análise, a fim de minimizar erros que possam ser causados pela leitura do equipamento. Na FIGURA 4.20 temos um exemplo de curva padrão. É necessário ressaltar que apesar da amostra de 5 ppm apresentar uma absorbância maior que 1, isso não foi verificado experimentalmente. Para amostras concentradas foram efetuadas suas diluições, de modo a impedir a presença de valores de absorbâncias acima de 1. Para isso foi utilizada a equação que relaciona a concentração de uma solução e seu volume:

$$C_i \cdot V_i = C_f \cdot V_f \quad (6)$$

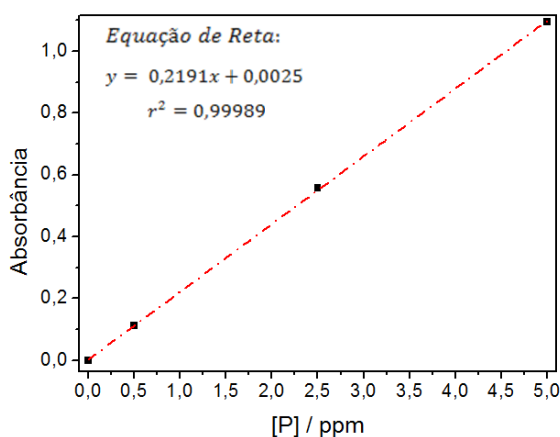


FIGURA 4.20: Curva padrão que relaciona absorbância e concentração das amostras.

#### 4.4.1. Solubilização das Nanopartículas de Hidroxiapatita

A fim de analisar o comportamento de liberação de íons fósforo a partir da hidroxiapatita na forma de pós dispersos, ou seja, sem a utilização do sachê para acondicionamento dos mesmos, foram realizados ensaios em água deionizada e, também, em soluções de ácido cítrico, a fim de simular os ácidos orgânicos presentes no solo. Vale ressaltar que o valor nominal de fósforo para todas as amostras é de 37 ppm

O teste de liberação realizado em água se deu de dois modos diferentes. O primeiro em água com controle de temperatura a 40°C, em estufa, a fim de simular temperaturas próximas na lavoura. O segundo, à temperatura ambiente, em bancada. Na FIGURA 4.21 tem-se o resultado da liberação em estufa.

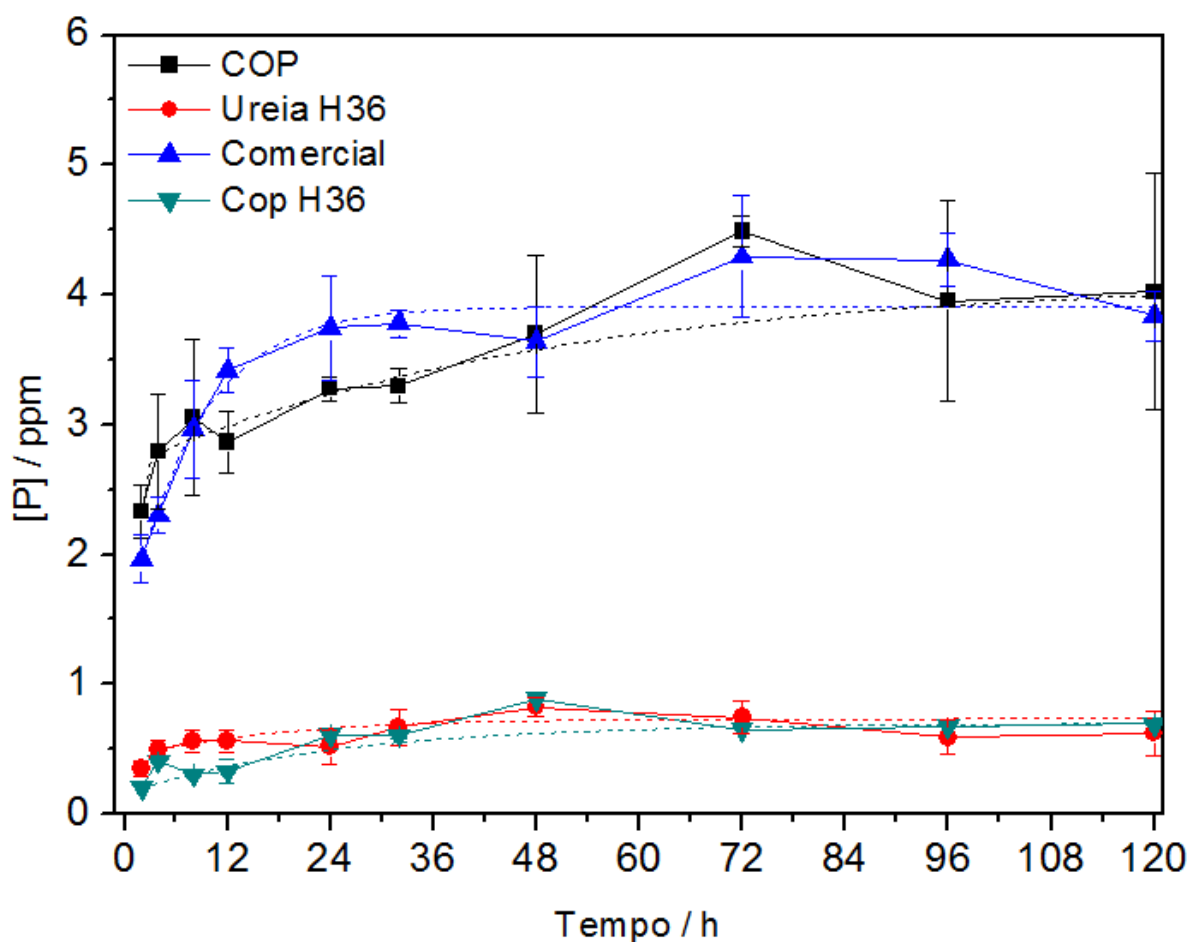


FIGURA 4.21: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em água deionizada e temperatura controlada de 40°C.



Analisando a FIGURA 4.21 pode-se notar que a solubilidade das amostras Cop e Comercial apresentam maior solubilidade (de 2 a 4 ppm aproximadamente) comparadas às amostras Ureia H36 e Cop H36 (de 0 a 1 ppm) Estes dados estão de acordo com os resultados de DRX para as amostras (FIGURA 4.6), em que foi mostrada a maior cristalinidade das amostras que foram submetidas a envelhecimento hidrotérmico, além de maior diâmetro médio. Esse resultado corrobora com trabalhos encontrados em literatura, os quais indicam uma menor solubilidade com o aumento da cristalinidade de materiais e, também, do diâmetro médio de partículas<sup>32</sup>. Nota-se também que para todas as amostras a liberação máxima ocorre entre 12 a 24 horas, sendo que após este período a solubilização permanece praticamente constante, indicando que o comportamento tende ao equilíbrio.

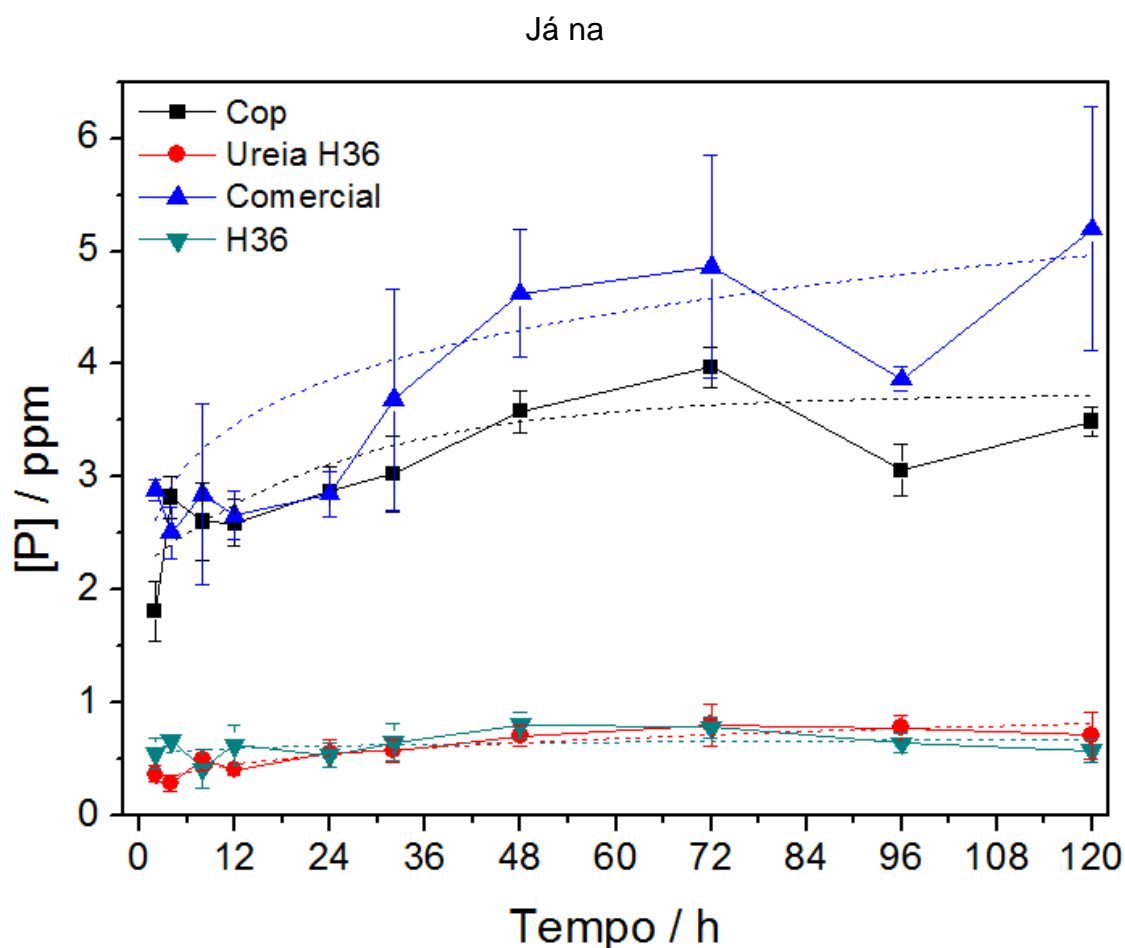


FIGURA 4.22 têm-se os resultados para liberação em água deionizada à temperatura ambiente. Aqui foi possível observar respostas similares às obtidas na FIGURA 4.21 para todas as amostras avaliadas, indicando que não há alteração significativa para a análise em temperatura ambiente ou 40°C. Assim, foi determinado que os próximos testes de liberação poderiam ser feitos em temperatura ambiente.

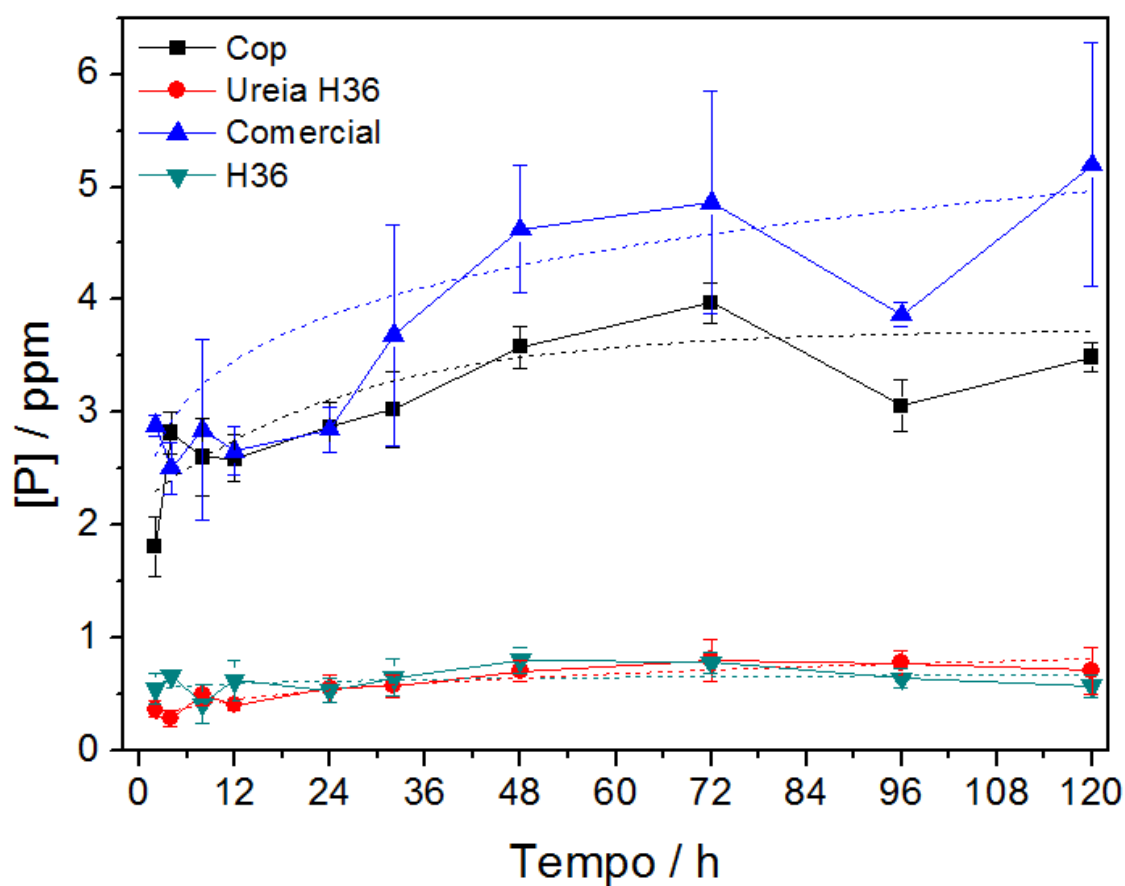


FIGURA 4.22: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em água deionizada à temperatura ambiente.

O teste de liberação efetuado em ácido cítrico foi realizado em dois pHs diferentes. O primeiro, condição semelhante à maior parte dos solos Brasileiros, em pH 5<sup>121</sup>, enquanto que o segundo, em condições mais drásticas em pH 1.

A liberação em solução de ácido cítrico com pH 5 pode ser observada abaixo na FIGURA 4.23

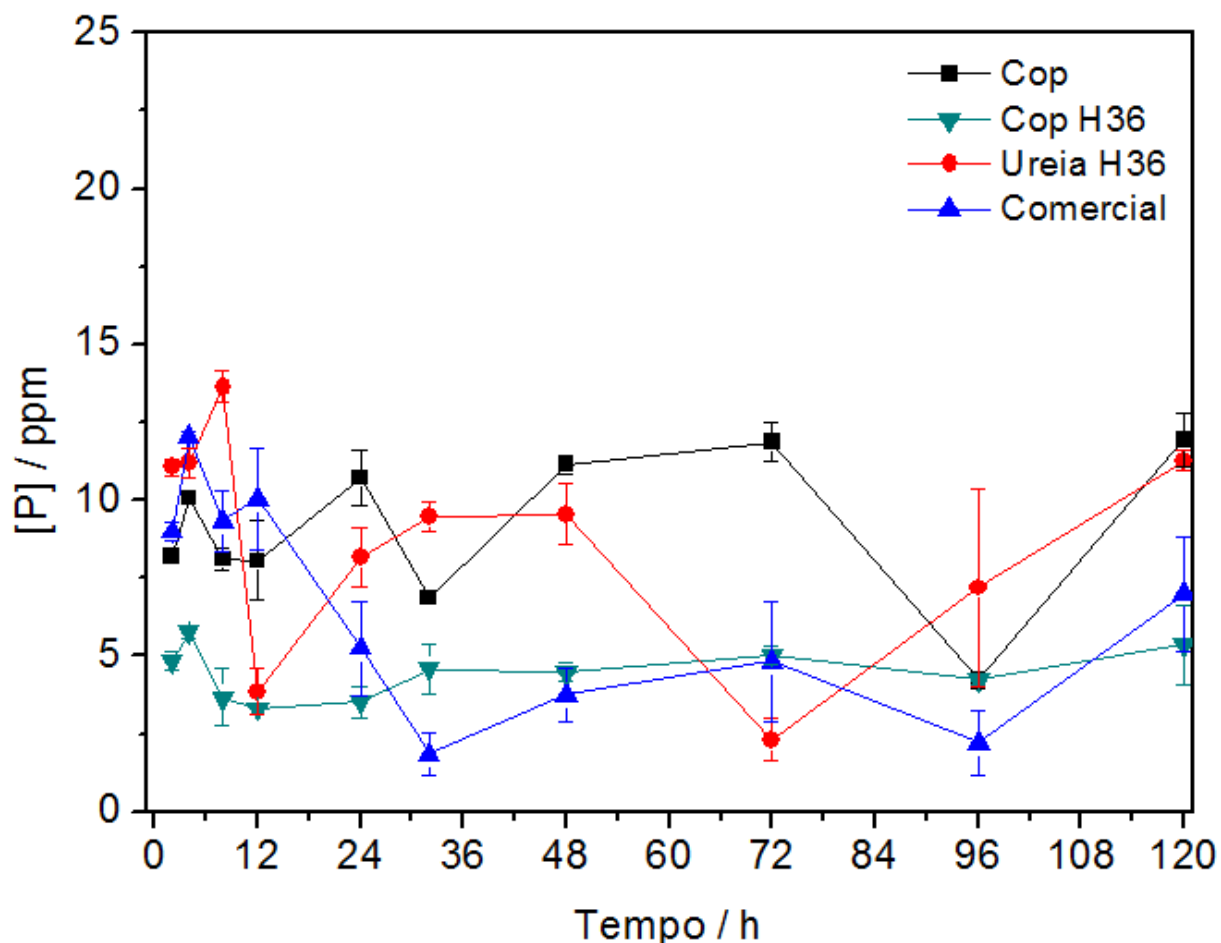
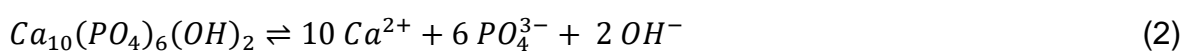


FIGURA 4.23: Liberação das nanopartículas de hidroxiapatita em solução de ácido cítrico em pH 5.

Verifica-se um crescimento significativo na solubilidade das partículas de HAP (de 2 a 14 ppm), sendo o valor nominal da amostra de 37 ppm. Nota-se, também, que todas apresentam valores semelhantes, independentemente do grau de cristalinidade, do tamanho de partículas e da sua área superficial. Esses dados corroboram com a FIGURA 4.19, que evidencia uma maior absorvância para as liberações em solução de ácido cítrico comparadas às liberações em água.

Isso ocorre devido ao equilíbrio de solubilidade da hidroxiapatita, o qual se dá pela seguinte equação:



Pelo princípio de Le Chatelier, o sistema tende a reestabelecer o equilíbrio perturbado, ou seja, o hidroxônio proveniente do ácido cítrico consome hidroxilas liberadas durante a solubilização da HAP. Com isso, o equilíbrio desloca-se no sentido de formação de produtos, solubilizando de modo mais intenso as amostras.

Na FIGURA 4.24 tem-se as amostras de HAP liberadas em solução de ácido cítrico em pH 1. Nota-se um aumento na solubilidade para valores entre 14 a 28 ppm quando comparado aos resultados obtidos em pH 5 (FIGURA 4.23) para estas amostras. O aumento da solubilidade das partículas de HAP quando o pH do meio foi reduzido de 5 para 1 resultou em uma maior concentração de íons hidroxônios no meio aquoso, causando maior deslocamento de equilíbrio e consequentemente, aumento observado para a solubilização.

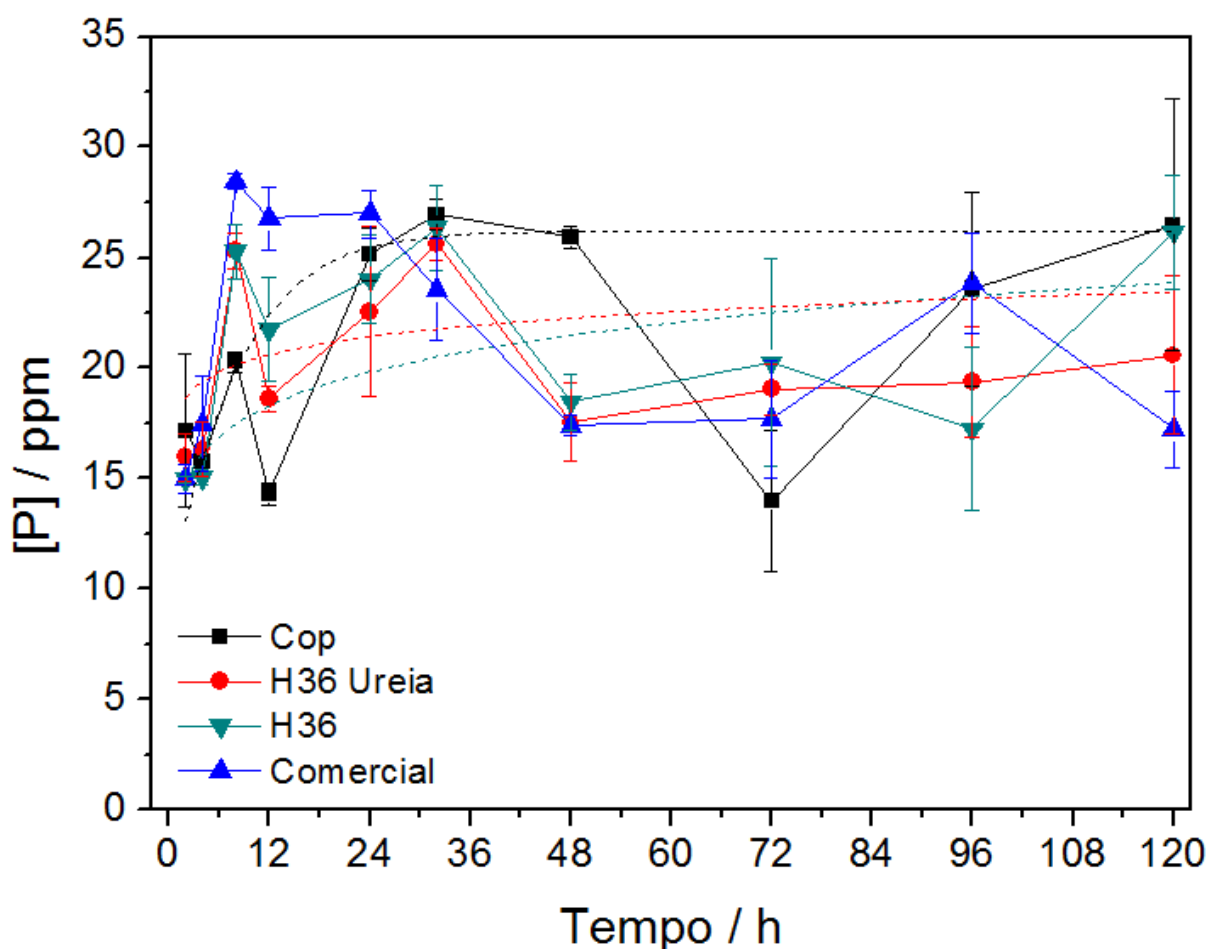


FIGURA 4.24: Liberação de fósforo a partir das nanopartículas de HAP sintetizadas e comercial durante cinco dias em solução de ácido cítrico com pH 1 à temperatura ambiente.

Dessa maneira, pode-se verificar que para as amostras avaliadas no presente trabalho, a dissolução da HAP ocorre em meios ácidos de modo similar independentemente da variação do diâmetro de partículas em uma faixa de 18 a 26 nm, do grau de cristalinidade e da forma das partículas (bastonetes ou fitas). Foi observado, também, que a medida que há uma diminuição do pH a solubilidade da HAP aumenta.

#### 4.4.2. Liberação das Nanopartículas de Hidroxiapatita Acondicionadas no Sachê

Os sachês foram produzidos todos a partir da blenda 75 TPS: 25 PEC devido a sua maior flexibilidade e maior durabilidade comparada às outras blendas mistas como discutido no item 4.3. Segue na FIGURA 4.25 os sachês de cada amostra de HAP prontos para liberação, todos contendo 10 mg de HAP. É possível notar o grande volume da amostra Ureia H36, comparada às outras amostras.



FIGURA 4.25: Sachês confeccionados a partir da blenda 75 TPS : 25 PEC. Da esquerda para direita, Cop, Cop H36, Ureia H36 e Comercial, respectivamente.

O gráfico de liberação de fósforo a partir das NP de HAP acondicionadas no sachê pode ser observado na FIGURA 4.26.

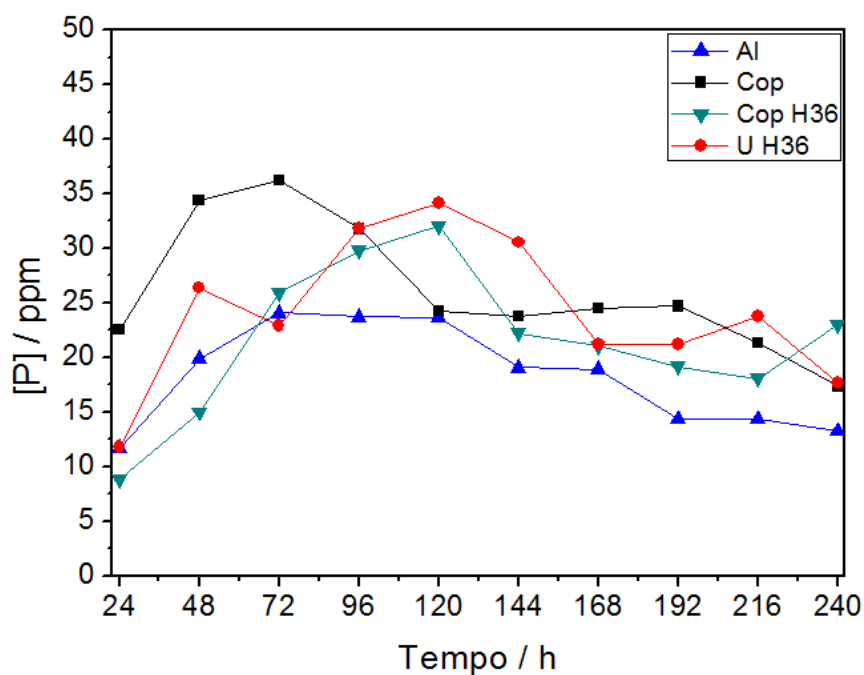


FIGURA 4.26 - Liberação de fósforo a partir de hidroxiapatita nanoparticulada acondicionada em sachê polimérico biodegradável.

Pela análise da FIGURA 4.26 verifica-se que a liberação de íons fósforo, teve o valor máximo a partir de 48 a 120 h para todos os sistemas, apresentando valores entre 24 e 36 ppm, correspondentes a 65 – 97% do valor máximo esperado. Este fato pode ser atribuído ao início do processo de decomposição dos sachês, possibilitando a passagem dos íons fósforo para o meio aquoso. Para períodos superiores à 168 h não houveram variações no comportamento do sistema, sugerindo que o limite de solubilidade do sistema foi atingido.

Realizando-se uma análise comparativa para a liberação máxima obtida para o sistema não acondicionado em sachês, verifica-se que o acondicionamento resultou em um aumento considerável da solubilidade da HAP para todas as amostras. Uma vez que o pH atingido pelo sistema com a degradação da blenda é 6, esperava-se que a liberação fosse inferior ao sistema analisado em pH 1 para as partículas não acondicionadas (FIGURA 4.24). Porém, o comportamento observado foi contrário a este fato, sendo que os valores de solubilidade máxima para o sistema acondicionado (24 a 36 ppm) foram superiores ao sem acondicionamento (20 a 28 ppm). Desta maneira, outros fatores favoreceram à solubilização da HAP, além da presença dos íons hidroxônio. Um possível fator que pode ser atribuído a este processo foi a presença de fungos, que foram formados durante o período de avaliação da solubilidade do sistema, favorecidos pela presença do amido em solução. Este fato está de acordo com o descrito por SHIPTON<sup>122</sup>, que descrevem que bactérias e fungos podem solubilizar fosfatos inorgânicos, assim como fosfatos de cálcio a fim de satisfazer suas demandas de fósforo.

Dessa maneira, visando-se uma futura aplicação direta deste material no solo, verifica-se que a formação de fungos pela umidade proveniente do mesmo irá favorecer a liberação de íons fósforo para o meio. Porém, para uma possível aplicação comercial deste sistema faz-se necessária a adição de ativos como biocidas às blendas componentes dos sachês a fim de não ocorrerem perdas de material devido ao crescimento de fungos durante o tempo de prateleira.

## 5. Conclusões

A partir dos resultados apresentados no item anterior pode-se concluir que:

- A solubilidade das nanopartículas de HAP está diretamente relacionada ao grau de cristalinidade das mesmas em meio aquoso. A partir da determinação de fósforo liberado ficou evidente que as amostras que sofreram envelhecimento hidrotérmico apresentaram menor solubilidade comparada às outras sem o mesmo tratamento.
- Com a diminuição do pH do meio ocorre uma maior solubilização da HAP independentemente do tamanho de partículas e da cristalinidade das amostras, posto que ao acidificar o meio, todas as amostras apresentaram concentrações de fósforo oscilantes e similares.
- A degradabilidade das blendas são características que podem ser controladas por meio de alterações entre as proporções dos polímeros amido de milho e pectina utilizados, sendo a blenda mais interessante para a utilização no trabalho a 75 TPS : 25 PEC.

Dado o exposto, nota-se a viabilidade da utilização das NP de HAP armazenadas em sachês poliméricos de amido e pectina com a finalidade de uso agrícola. Sendo ótima alternativa para amenizar o processo de lixiviação do material.

## 6. Sugestões para Trabalhos Futuros

- Investigar a concentração de íons de fósforo da HAP em solução aquosa por meio de técnicas adicionais, tais como, absorção atômica e/ou plasma acoplado por indução (ICP) e ressonância magnética nuclear para confirmar os dados obtidos pelo método UV-Vis;
- Estudar diferentes composições poliméricas e/ou métodos de processamento para a obtenção de blendas uniformes, de modo a controlar e reproduzir o processo de degradação das mesmas;
- Avaliar a degradação da blenda polimérica TPS:PEC sob ação de luz ultravioleta-visível e em função da temperatura do solo;
- Realizar testes em diversos tipos de solo como: argiloso, arenoso, humoso e calcário;
- Ensaios agropecuários utilizando o sistema de adubação convencional e o sistema amido/pectina contendo nanopartículas de HAP, para verificar possível aumento de produtividade na lavoura, ocasionadas pela maior disponibilidade e retenção de fósforo no solo.



## Referências Bibliográficas

1. Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada - ESALQ/USP. Disponível em: <http://cepea.esalq.usp.br/pib/>. Acessado em: 23 de Jun. 2015 2015
2. RESENDE, Á. V. D. Micronutrientes na Agricultura Brasileira: Disponibilidade, Utilização e Perspectivas, 2005; Vol. 64.
3. DECRETO Nº 86.955. Disponível em: [http://legis.senado.gov.br/legislacao/ListaNormas.action?numero=86955&tipo\\_norma=DEC&data=19820218&link=s](http://legis.senado.gov.br/legislacao/ListaNormas.action?numero=86955&tipo_norma=DEC&data=19820218&link=s). Acessado em: 22 de Junho 2015
4. Associação Nacional para Difusão de Adubos - ANDA. Disponível em: <://www.anda.org.br/index.php?mpg=03.00.00&ver=por>. Acessado em: 6 de Maio de 2015 2015
5. Empresa Brasileira em Pesquisa Agropecuária. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-noticias/-/noticia/2156809/congresso-internacional-traz-o-debate-sobre-fertilizantes-para-o-rio-de-janeiro>. Acessado em: 17 de Julho 2015
6. Fertilizantes: Uma visão global sintética. Disponível em: [http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes\\_pt/Galerias/Arquivos/conheciment o/bnset/set2404.pdf](http://www.bndes.gov.br/SiteBNDES/export/sites/default/bndes_pt/Galerias/Arquivos/conheciment o/bnset/set2404.pdf). Acessado em: 6 de Maio 2-15
7. BECKER, P. Phosphates and Phosphoric Acid—Raw Materials, Technology, and Economics of the Wet Process; 2° ed.; Marcell Dekker: New York, 1989.
8. GALOR, O. W., D. N. "Population, Technology, and Growth: From Malthusian Stagnation to the Demographic Transition and beyond". *Am Econ Rev*, **90** 806, 2000.
9. GERLAND, P. R., A. E.; SEVCIKOVÁ, H.; LI, N.; GU, D.; SPOORENBERG, T.; ALKEMA, L.; FOSDICK, B. K.; CHUNN; J.; LALIC, N.; BAY, G.; BUETTNER, T.; HEILIG, G. K.; WILMOTH, J. "World population stabilization unlikely this century". *Science*, **346** 5, 2014.
10. A importância do uso de fertilizantes para o meio ambiente. Disponível em: <http://www.aptaregional.sp.gov.br/acesse-os-artigos-pesquisa-e-tecnologia/edicao-2012/julho-dezembro-2/1317-a-importancia-do-uso-de-fertilizantes-para-o-meio-ambiente/file.html>. Acessado em: 23 de Junho 2015
11. BOLLARD, E. & BUTLER, G. "Mineral nutrition of plants". *ANNU REV PLANT PHYS*, **17** (1): 77, 1966.
12. MARSCHNER, H. Mineral Nutrition of Higher Plants; 3 ed.; Academic Press: Inglaterra, 2011.
13. LAPIDO-LOUREIRO, F. E. M. R. N. J. F. Fertilizantes: Agroindústria e Sustentabilidade; 1 ed.; CETEM: Rio de Janeiro, 2009.
14. GROSS, R. A. & KALRA, B. "Biodegradable polymers for the environment". *Science*, **297** (5582): 803, 2002.
15. MALAVOLTA, E. O futuro da nutrição de plantas tendo em vista aspectos agronômicos, econômicos e ambientais. *Informações Agronômicas* [Online Early Access]. Published Online: 2008. [https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/\\$file/jornal-121.pdf](https://www.ipni.net/ppiweb/brazil.nsf/87cb8a98bf72572b8525693e0053ea70/d20fb44d85259bf7032572530062870e/$file/jornal-121.pdf).
16. MOTSKIN, M.; WRIGHT, D. M.; MULLER, K.; KYLE, N.; GARD, T. G.; PORTER, A. E. & SKEPPER, J. N. "Hydroxyapatite nano and microparticles: Correlation of particle properties with cytotoxicity and biostability". *Biomaterials*, **30** (19): 3307, 2009.
17. BASTOS, A. L.; COSTA, J. P. V. D.; SILVA, I. D. F. D.; RAPOSO, R. W. C.; OLIVEIRA, F. D. A. & ALBUQUERQUE, A. W. D. "Resposta do milho a doses de fósforo". *Rev. bras. eng. agríc. ambient.*, **14** 485, 2010.
18. BEN FARHAT, M.; FARHAT, A.; BEJAR, W.; KAMMOUN, R.; BOUCHAALA, K.; FOURATI, A.; ANTOUN, H.; BEJAR, S. & CHOUAYEKH, H. "Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of *Serratia marcescens* CTM 50650 isolated from the phosphate mine of Gafsa". *Arch. Microbiol.*, **191** (11): 815, 2009.
19. TONSUAADU, K.; KALJUVEE, T.; PETKOVA, V.; TRAKSMAA, R.; BENDER, V. & KIRSIMAE, K. "Impact of mechanical activation on physical and chemical properties of phosphorite concentrates". *Int. J. Miner. Process.*, **100** (3-4): 104, 2011.

20. CHAIKINA, M. V. & AMAN, S. "Fracture, grinding, mechanical activation and synthesis processes in solids under mechanical action". *Sci. Sinter.*, **37** (2): 93, 2005.
21. WOPENKA, B. & PASTERIS, J. D. "A mineralogical perspective on the apatite in bone". *Mater. Sci. Eng. C-Biomimetic Supramol. Syst.*, **25** (2): 131, 2005.
22. TOLEDO, M. C. M. D. & PEREIRA, V. P. "A variabilidade de composição da apatita associada a carbonatos". *Rev. inst. geol.*, **22** 27, 2001.
23. POTEGLER, F. ESTUDO DA COMINUIÇÃO NA SOLUBILIDADE DA ROCHA FOSFÁTICA BAYÓVAR, Departamento de Química, 2014. Tese de Doutorado, 86p.
24. POSNER, A. S. "CRYSTAL CHEMISTRY OF BONE MINERAL". *Physiol. Rev.*, **49** (4): 760, 1969.
25. COSTA, A. C. F. M.; LIMA, M. G.; LIMA, L. H. M. A.; CORDEIRO, V. V.; VIANA, K. M. S.; SOUZA, C. V. & LIRA, H. L. "Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações". *REMAP*, **4** (3), 2009.
26. DOROZHKIN, S. V. "Bioceramics of calcium orthophosphates". *Biomaterials*, **31** (7): 1465, 2010.
27. MOBASHERPOUR, I.; HESHAJIN, M. S.; KAZEMZADEH, A. & ZAKERI, M. "Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method". *J. Alloy. Compd.*, **430** (1-2): 330, 2006.
28. LOU, Z. Y.; ZENG, Q.; CHU, X.; YANG, F.; HE, D. W.; YANG, M. L.; XIANG, M. L.; ZHANG, X. D. & FAN, H. S. "First-principles study of the adsorption of lysine on hydroxyapatite (100) surface". *Appl. Surf. Sci.*, **258** (11): 4911, 2012.
29. LIU, J. B.; YE, X. Y.; WANG, H.; ZHU, M. K.; WANG, B. & YAN, H. "The influence of pH and temperature on the morphology of hydroxyapatite synthesized by hydrothermal method". *Ceram. Int.*, **29** (6): 629, 2003.
30. VENUGOPAL, J.; LOW, S.; CHOON, A.; SAMPATH KUMAR, T. S. & RAMAKRISHNA, S. "Mineralization of osteoblasts with electrospun collagen/hydroxyapatite nanofibers". *J Mater Sci: Mater Med*, **19** (5): 2039, 2008.
31. TSUCHIDA, T.; YOSHIOKA, T.; SAKUMA, S.; TAKEGUCHI, T. & UEDA, W. "Synthesis of Biogasoline from Ethanol over Hydroxyapatite Catalyst". **47** (5): 1443, 2008.
32. FULMER, M. T.; ISON, I. C.; HANKERMAYER, C. R.; CONSTANTZ, B. R. & ROSS, J. "Measurements of the solubilities and dissolution rates of several hydroxyapatites". *Biomaterials*, **23** (3): 751, 2002.
33. BYRAPPA, K. & OHACHI, T. *Crystal growth technology*; 1 ed.; Elsevier: New York, 2003.
34. SNYDERS, R.; MUSIC, D.; SIGUMONRONG, D.; SCHELNBERGER, B.; JENSEN, J. & SCHNEIDER, J. M. "Experimental and ab initio study of the mechanical properties of hydroxyapatite". **90** (19): 193902, 2007.
35. HENCH, L. L. & WILSON, J. *An introduction to bioceramics*; 1 ed.; World Scientific: Singapore, 1993; Vol. 1.
36. MAYO, M. J.; SEIDENSTICKER, J. R.; HAGUE, D. C. & CARIM, A. H. "Surface chemistry effects on the processing and superplastic properties of nanocrystalline oxide ceramics". *Nanostruct. Mater.*, **11** (2): 271, 1999.
37. ISHAAYA, I.; NAUEN, R. & HOROWITZ, A. R. *Insecticides design using advanced technologies*; 1 ed.; Springer: Holanda, 2007.
38. SHELLIS, R. P.; LEE, A. R. & WILSON, R. M. "Observations on the apparent solubility of carbonate-apatites". *J. Colloid Interface Sci.*, **218** (2): 351, 1999.
39. NEUMAN, W. F. & NEUMAN, M. W. "THE NATURE OF THE MINERAL PHASE OF BONE". *Chem. Rev.*, **53** (1): 1, 1953.
40. CLARK, J. S. "SOLUBILITY CRITERIA FOR THE EXISTENCE OF HYDROXYAPATITE". *Can. J. Chem.-Rev. Can. Chim.*, **33** (11): 1696, 1955.
41. MORENO, E. C.; GREGORY, T. M. & BROWN, W. E. "PREPARATION AND SOLUBILITY OF HYDROXYAPATITE". *J. Res. Nat. Bur. Stand.*, **A 72** (6): 773, 1968.
42. NINOMIYA, K.; YAMAMOTO, T.; OHEDA, T.; SATO, K.; SAZAKI, G. & MATSUURA, Y. "Morphology and solubility of multiple crystal forms of Taka-amylase A". **222** (1-2): 311, 2001.
43. CUNHA, M. A. Síntese e caracterização de hidroxiapatita nanoestruturada obtidos por aspersão de solução em chama, Engenharia de Materiais., 2010. Trabalho de conclusão de curso, 60p.
44. KLEIN, C. P. A. T.; BLIECK-HOGEMRST, J. M. A.; WOLKET, J. G. C. & GROOT, K. "Studies of the solubility of different calcium phosphate ceramic particles in vitro". *Biomaterials*, **11** (7): 509, 1990.

45. SKARTSILA, K. & SPANOS, N. "Surface characterization of hydroxyapatite: Potentiometric titrations coupled with solubility measurements". *J. Colloid Interface Sci.*, **308** (2): 405, 2007.
46. MOBASHERPOUR, I.; HESHJAIN, M. S.; KAZEMZADEH, A. & ZAKERI, M. "Synthesis of nanocrystalline hydroxyapatite by using precipitation method". *J. Alloy. Compd.*, **430** (1-2): 330, 2007.
47. AFSHAR, A.; GHORBANI, M.; EHSANI, N.; SAERI, M. & SORRELL, C. "Some important factors in the wet precipitation process of hydroxyapatite". *mater Design*, **24** (3): 197, 2003.
48. SANTOS, M.; FLORENTINO, A.; SAEKI, M.; APARECIDA, A.; FOOK, M. L. & GUASTALDI, A. "Synthesis of hydroxyapatite by sol-gel method using alternative precursors: calcium nitrate and phosphoric acid". *Eclat. Quím.*, **30** 29, 2005.
49. LIU, D. M.; TROCZYNSKI, T. & TSENG, W. J. "Water-based sol-gel synthesis of hydroxyapatite: process development". *Biomaterials*, **22** (13): 1721, 2001.
50. NEIRA, I. S.; GUITIAN, F.; TANIGUCHI, T.; WATANABE, T. & YOSHIMURA, M. "Hydrothermal synthesis of hydroxyapatite whiskers with sharp faceted hexagonal morphology". *J. Mater. Sci.*, **43** (7): 2171, 2008.
51. KIM, W. & SAITO, F. "Sonochemical synthesis of hydroxyapatite from H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> solution with Ca(OH)<sub>2</sub>". **8** (2): 85, 2001.
52. NAKAHIRA, A.; SAKAMOTO, K.; YAMAGUCHI, S.; KANENO, M.; TAKEDA, S. & OKAZAKI, M. "Novel Synthesis Method of Hydroxyapatite Whiskers by Hydrolysis of alpha-Tricalcium Phosphate in Mixtures of Water and Organic Solvent". **82** (8): 2029, 1999.
53. BURDA, C.; CHEN, X. B.; NARAYANAN, R. & EL-SAYED, M. A. "Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes". *Chem. Rev.*, **105** (4): 1025, 2005.
54. CUSHING, B. L.; KOLESNICHENKO, V. L. & O'CONNOR, C. J. "Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles". *Chem. Rev.*, **104** (9): 3893, 2004.
55. KOUTSOPOULOS, S. "Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods". *J. Biomed. Mater. Res.*, **62** (4): 600, 2002.
56. RIGO, E. C. S.; GEHRKE, S. A. & CARBONARI, M. "Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método da precipitação". *Rev. dental press periodontia implantol.*, **1** (3): 39, 2007.
57. KWEH, S. W. K.; KHOR, K. A. & CHEANG, P. "The production and characterization of hydroxyapatite (HA) powders". *J. Mater. Process. Technol.*, **90** 373, 1999.
58. MAMANI, J. B. Estrutura e propriedades de nanopartículas preparadas via sol-gel, Instituto de Física, 2009. Tese de doutorado, p.
59. GOUVEIA, D. S. Obtenção de pós nanométricos de hidroxiapatita sintetizados com magnésio utilizando ultra-som, INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES 2008. Tese de doutorado, p.
60. DEMAZEAU, G. "Solvothermal and hydrothermal processes: the main physico-chemical factors involved and new trends". *Res. Chem. Intermed.*, **37** (2-5): 107, 2011.
61. SOMIYA, A.; HISHINUMA, K. & AKIBA, T. "A new materials processing - Hydrothermal processing". *Bull. Mat. Sci.*, **18** (6): 811, 1995.
62. ELLIOTT, J. C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates; 1 ed.; Elsevier: Amsterdam, 1994.
63. SHAVIV, A. "Advances in controlled-release fertilizers". **71** 1, 2001.
64. CHATZOUDIS, G. K. & RIGAS, F. "Macroreticular hydrogel effects on dissolution rate of controlled-release fertilizers". *J. Agric. Food Chem.*, **46** (7): 2830, 1998.
65. SCHLEMMER, D.; SALES, M. J. A. & RESCK, I. S. "Preparação, caracterização e degradação de blendas PS/TPS usando glicerol e óleo de buriti como plastificantes". *Polímeros*, **20** 6, 2010.
66. BRITO, G.; AGRAWAL, P.; ARAÚJO, E. & MÉLO, T. "Biopolímeros, polímeros biodegradáveis e polímeros verdes". *REMAP*, **6** (2): 127, 2011.
67. YU, L.; DEAN, K. & LI, L. "Polymer blends and composites from renewable resources". *Prog. Polym. Sci.*, **31** (6): 576, 2006.
68. MATTOSO, L. H.; CURVELO, A. A. S.; CARVALHO, A. J.; MEDEIROS, E. S.; LOTTI, C. & CORRADINI, E. "Estudo Comparativo de Amidos Termoplásticos Derivados do Milho com Diferentes Teores de Amilose". *Polímeros*, **15** (4): 5, 2005.

69. MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. & YAMASHITA, F. "Filmes de amido: produção, propriedades e potencial de utilização". *Sem: Cie. Agra.*, **31** (1): 137, 2010.
70. TEIXEIRA, E. M. Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos, Instituto de Química, 2007. Tese de doutorado, p.
71. NELSON, D. L.; LEHNINGER, A. L. & COX, M. M. *Lehninger principles of biochemistry*; 4 ed.; Macmillan: New York, 2008.
72. MA, X.; YU, J. & KENNEDY, J. F. "Studies on the properties of natural fibers-reinforced thermoplastic starch composites". *Carbohydr Polym*, **62** (1): 19, 2005.
73. MAY, C. D. "Industrial pectins: Sources, production and applications". **12** (1): 79, 1990.
74. LOFGREN, C.; WALKENSTROM, P. & HERMANSSON, A. M. "Microstructure and rheological behavior of pure and mixed pectin gels". *Biomacromolecules*, **3** (6): 1144, 2002.
75. KASAPIS, S. "Viscoelasticity of oxidized starch/low methoxy pectin mixtures in the presence of glucose syrup". *Int. J. Food Sci. Technol.*, **37** (4): 403, 2002.
76. WILLATS, W. G. T.; KNOX, P. & MIKKELSEN, J. D. "Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel". *Trends Food Sci. Technol.*, **17** (3): 97, 2006.
77. FISHMAN, M. L.; COFFIN, D. R.; KONSTANCE, R. P. & ONWULATA, C. I. "Extrusion of pectin/starch blends plasticized with glycerol". *Carbohydr. Polym.*, **41** (4): 317, 2000.
78. MARINIELLO, L.; DI PIERRO, P.; ESPOSITO, C.; SORRENTINO, A.; MASI, P. & PORTA, R. "Preparation and mechanical properties of edible pectin-soy flour films obtained in the absence or presence of transglutaminase". *J. Biotechnol.*, **102** (2): 191, 2003.
79. AJJI, A. & UTRACKI, L. A. "Interphase and compatibilization of polymer blends". *Polym. Eng. Sci.*, **36** (12): 1574, 1996.
80. UTRACKI, L. A. "Compatibilization of polymer blends". *Can. J. Chem. Eng.*, **80** (6): 1008, 2002.
81. KONING, C.; VAN DUIN, M.; PAGNOULLE, C. & JEROME, R. "Strategies for compatibilization of polymer blends". *Prog. Polym. Sci.*, **23** (4): 707, 1998.
82. ITO, E. N.; PESSAN, L. A.; HAGE JR, E.; COVAS, J. A. & DE POLÍMEROS, D. D. E. "Análise do desenvolvimento morfológico da blenda polimérica PBT/ABS durante as etapas de mistura por extrusão e moldagem por injeção". *Polímeros*, **14** (2): 83, 2004.
83. LIM, L. T.; AURAS, R. & RUBINO, M. "Processing technologies for poly(lactic acid)". *Prog. Polym. Sci.*, **33** (8): 820, 2008.
84. MARCONCINI, J. Estudo da blenda poli (tereftalato de etileno) reciclado e poliolefinas recicladas, Departamento de Química, 2005. Tese de doutorado, p.
85. HUNEAULT, M. A. & LI, H. B. "Morphology and properties of compatibilized polylactide/thermoplastic starch blends". *Polymer*, **48** (1): 270, 2007.
86. ATKINS, P. & DE PAULA, J. "Físico-Química. 7ª". **1** (2), 2004.
87. MOREIRA, F. K. V.; MARCONCINI, J. M. & MATTOSO, L. H. C. "Analysis of the influence of composition and processing parameters on the mechanical properties of biodegradable starch/pectin blends". *Polym. Bull.*, **69** (5): 561, 2012.
88. MCLAUGHLIN, M. J.; MCBEATH, T. M.; SMERNIK, R.; STACEY, S. P.; AJIBOYE, B. & GUPPY, C. "The chemical nature of P accumulation in agricultural soils-implications for fertiliser management and design: an Australian perspective". *Plant Soil*, **349** (1-2): 69, 2011.
89. HANRAHAN, G.; SALMASSI, T. M.; KHACHIKIAN, C. S. & FOSTER, K. L. "Reduced inorganic phosphorus in the natural environment: significance, speciation and determination". *Talanta*, **66** (2): 435, 2005.
90. AVEROUS, L.; MORO, L.; DOLE, P. & FRINGANT, C. "Properties of thermoplastic blends: starch-polycaprolactone". *Polymer*, **41** (11): 4157, 2000.
91. JARVIE, H. P.; WITHERS, P. J. A. & NEAL, C. "Review of robust measurement of phosphorus in river water: sampling, storage, fractionation and sensitivity". *Hydrol. Earth Syst. Sci.*, **6** (1): 113, 2002.
92. SANTOS, M. L. S.; MUNIZ, K.; FEITOSA, F. & NETO, B. B. "Estudo das diferentes formas de fósforo nas águas da Plataforma Continental do Amazonas". *Quím. Nova*, **30** (3): 569, 2007.
93. ANDRE, R. S.; PARIS, E. C.; GURGEL, M. F. C.; ROSA, I. L. V.; PAIVA-SANTOS, C. O.; LI, M. S.; VARELA, J. A. & LONGO, E. "Structural evolution of Eu-doped hydroxyapatite nanorods monitored by photoluminescence emission". *J. Alloy. Compd.*, **531** 50, 2012.

94. SANTOS, M. H.; OLIVEIRA, M. D.; SOUZA, L. P. D. F.; MANSUR, H. S. & VASCONCELOS, W. L. "Synthesis control and characterization of hydroxyapatite prepared by wet precipitation process". **7** 625, 2004.
95. TRIPATHI, G. & BASU, B. "A porous hydroxyapatite scaffold for bone tissue engineering: Physico-mechanical and biological evaluations". *Ceram int*, **38** (1): 341, 2012.
96. SLOSARCZYK, A.; PASZKIEWICZ, Z. & PALUSZKIEWICZ, C. "FTIR and XRD evaluation of carbonated hydroxyapatite powders synthesized by wet methods". *J. Mol. Struct.*, **744** 657, 2005.
97. National Institute of Standards and Technology (NIST). Disponível em: <http://webbook.nist.gov/cgi/cbook.cgi?Name=urea&Units=SI&clR=on>. Acessado em: 25 de Junho 2015
98. CHEN, F.; WANG, Z. C. & LIN, C. J. "Preparation and characterization of nano-sized hydroxyapatite particles and hydroxyapatite/chitosan nano-composite for use in biomedical materials". *Matter Lett*, **57** (4): 858, 2002.
99. GIBSON, I. R.; BEST, S. M. & BONFIELD, W. "Chemical characterization of silicon-substituted hydroxyapatite". *J Biomed Mater Res*, **44** (4): 422, 1999.
100. RAMAY, H. R. & ZHANG, M. Q. "Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds by combination of the gel-casting and polymer sponge methods". *Biomaterials*, **24** (19): 3293, 2003.
101. PANDA, R. N.; HSIEH, M. F.; CHUNG, R. J. & CHIN, T. S. "FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nano-particles synthesized by hydroxide-gel technique". *J. Phys. Chem. Solids*, **64** (2): 193, 2003.
102. REHMAN, I. & BONFIELD, W. "Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy". *J. Mater. Sci.-Mater. Med.*, **8** (1): 1, 1997.
103. SKOOG, D. A. H., F. J.; NIEMAN, T.A. *Princípios de Análise Instrumental*; 5 ed.; Bookman: São Paulo, 2002.
104. WAN, Y. Z.; HONG, L.; JIA, S. R.; HUANG, Y.; ZHU, Y.; WANG, Y. L. & JIANG, H. J. "Synthesis and characterization of hydroxyapatite-bacterial cellulose nanocomposites". *Compos Sci Technol*, **66** (11-12): 1825, 2006.
105. O'SHEA, D. C.; BARTLETT, M. L. & YOUNG, R. A. "Compositional analysis of apatites with Laser-Raman spectroscopy: (OH,F,Cl)apatites". *Arch Oral Biol.*, **19** (11): 995, 1974.
106. AZA, P.; GUITIAN, F.; SANTOS, C.; DE AZA, S.; CUSCO, R. & ARTUS, L. "Vibrational properties of calcium phosphate compounds. 2. Comparison between hydroxyapatite and  $\beta$ -tricalcium phosphate". *Chem. Mater*, **9** (4): 916, 1997.
107. PENEL, G.; LEROY, G.; REY, C. & BRES, E. "MicroRaman spectral study of the PO<sub>4</sub> and CO<sub>3</sub> vibrational modes in synthetic and biological apatites". *Calcified Tissue Int*, **63** (6): 475, 1998.
108. LIN, K.; CHANG, J.; ZHU, Y.; WU, W.; CHENG, G.; ZENG, Y. & RUAN, M. "A facile one-step surfactant-free and low-temperature hydrothermal method to prepare uniform 3D structured carbonated apatite flowers". **9** (1): 177, 2008.
109. CASCIANI, F. & CONDRATE, R. "The Raman spectrum of monetite, CaHPO<sub>4</sub>". **34** (3): 385, 1980.
110. KLUG, H. P. & ALEXANDER, L. E. "X-ray diffraction procedures". 1954.
111. ZETA-METER, I.; Zeta-Meter, Inc., Staunton: 1997.
112. CORRADINI, E.; CARVALHO, A. J. F. D.; CURVELO, A. A. D. S.; AGNELLI, J. A. M. & MATTOSO, L. H. C. "Preparation and characterization of thermoplastic starch/zein blends". *Mat. Res*, **10** (3): 227, 2007.
113. KIZIL, R.; IRUDAYARAJ, J. & SEETHARAMAN, K. "Characterization of irradiated starches by using FT-Raman and FTIR spectroscopy". *J Agr Food Chem*, **50** (14): 3912, 2002.
114. WILHELM, H.-M.; SIERAKOWSKI, M.-R.; SOUZA, G. & WYPYCH, F. "Starch films reinforced with mineral clay". *Carbohydr Polym*, **52** (2): 101, 2003.
115. SEKKAL, M.; DINCO, V.; LEGRAND, P. & HUVENNE, J. "Investigation of the glycosidic linkages in several oligosaccharides using FT-IR and FT Raman spectroscopies". *J Mol Struct*, **349** 349, 1995.
116. GNANASAMBANDAM, R. & PROCTOR, A. "Determination of pectin degree of esterification by diffuse reflectance Fourier transform infrared spectroscopy". *Food Chem*, **68** (3): 327, 2000.
117. XU, Y.; KIM, K. M.; HANNA, M. A. & NAG, D. "Chitosan-starch composite film: preparation and characterization". *Ind Crop Prod*, **21** (2): 185, 2005.

118. CHATJIGAKIS, A.; PAPPAS, C.; PROXENIA, N.; KALANTZI, O.; RODIS, P. & POLISSIOU, M. "FT-IR spectroscopic determination of the degree of esterification of cell wall pectins from stored peaches and correlation to textural changes". *Carbohydr Polym*, **37** (4): 395, 1998.
119. MOREIRA, F. K. V. Desenvolvimento de nanocompósitos poliméricos biodegradáveis a partir de pectina, amido e nanofibras de celulose, Departamento de Engenharia de Materiais, 2010. Dissertação de mestrado, p.
120. CAMPOS, A.; MARCONCINI, J. M.; IMAM, S. H.; KLAMCZYNSKI, A.; ORTIS, W. J.; WOOD, D. H.; WILLIAMS, T. G.; MARTINS-FRANCHETTI, S. M. & MATTOSO, L. H. C. "Morphological, mechanical properties and biodegradability of biocomposite thermoplastic starch and polycaprolactone reinforced with sisal fibers". *J. Reinf. Plast. Compos.*, **31** (8): 573, 2012.
121. Produção de Sementes Sadias de Feijão Comum em Várzeas Tropicais. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Feijao/FeijaoVarzeaTropical/solos.htm#ph>. Acessado em: 06 de Julho 2015
122. SHIPTON, W. *The Biology of Fungi Impacting Human Health*; PartridgeIndia, 2012.