

08 a 11 de Outubro de 2018  
Instituto Federal Fluminense  
Búzios - RJ

## SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE HIDROXIAPATITA RECOBERTA COM NANOPARTÍCULA DE PRATA (AgNPs) PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA GUIADA

**Ingrid Russoni de Lima**<sup>1</sup> – ingridrussoni@gmail.com

**Lucas Furtado**<sup>2</sup> – e-mail-lflpereira001@gmail.com

**Gabrielle Cristine Lemos Duarte Freitas**<sup>3</sup> -gabriellecristine@id.uff.br

**Renata Antoum Simão**<sup>4</sup>- renata@metalmat.ufrj.br

**José Adilson de castro**<sup>5</sup>- joseadilsoncastro@id.uff.br

**Gláucio Soares Fonseca**<sup>6</sup>- glaucio@metal.eeimvr.uff.br

<sup>1,3,4,5</sup> Universidade Federal Fluminense, UFF, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica de Volta Redonda (PPGEM)- Volta redonda, RJ, Brasil

<sup>2</sup>Universidade Federal Fluminense, UFF, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica (PGMEC)- Volta redonda, RJ, Brasil

<sup>4</sup>Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, UFRJ (PEMM)- Rio de Janeiro, RJ, Brasil

**Abstract.** *The hydroxylapatite was synthesized by wet co-precipitation and slow digestion having as precursor reagents such as orthophosphoric acid and calcium hydroxide. In this way the synthesis of the deficient hydroxyapatite is started, the metal-based synthesis artifact is assembled in a Becker with calcium hydroxide solution (CaOH) with phosphoric acid drip at the rate of 5 drops per minute in constant flow in a total of 5 hours on a magnetic stirring heating plate. The obtained mass was dried, crushed and sieved in sieves and the powders were pressed by uniaxial pressing using a 500Kg force in a steel die with a diameter of 15mm and a height of 3-4mm. Then the pellets obtained were calcined at 1100 degrees Celsius and characterized by DRX, FTIR, Raman, AFM, in addition to dilatometer and hysteresis analysis. After this step the silver nanoparticles (AgNPs) were synthesized on the surface and analyzed by SEM and EDS. The results showed that it was possible to obtain the matrix of hydroxyapatite and to cover with silver nanoparticles (AgNPs).*

**Key words:** *hydroxyapatite synthesis, silver nanoparticles, physico-chemical characterization*

## 1-Introdução

É sabido que a hidroxiapatita é classicamente um dos material mais biocompatíveis presentes. Possui inúmeras propriedades amplamente descritas na literatura. Entretanto ainda possui a problemática de ser um material friável logo sujeitos à fratura em especial a fratura estroboscópica que ocorre nas cerâmicas após a etapa de sinterização em especial quando em espessuras finas. Devido a esta inconveniência o material ainda hoje é restrito a enxertos de substitutos ósseos críticos de pouca espessura em regiões de pouca incidência de tensões como a regisção retro-molar da mandíbula e maxila. Além disso a hidroxiapatita se insere no grupo químico dos fosfato de cálcio que são materiais cerâmicos que apresentam propriedades particulares como biocompatibilidade e similaridade química com os tecidos ósseos e dentários dos seres vivos. Sua morfologia porosa permite que estes se apresentem como material apropriado para a utilização em substituição de pequenas partes de tecido ósseo, já que proporciona o crescimento de canais de sistemas nervosos, suporte para vasos sanguíneos como também suporte para deposição de fármacos. Dentre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita se apresenta como fosfato mais estável, o qual é encontrado em maior proporção nos tecidos ósseo e dentário no organismo (Santos, 2016).

A Hidroxiapatita (HA) é um dos compostos pertencente à família das apatitas. Estes compostos cristalinos possuem a fórmula geral  $[M_{10}(Y_6)Z_2]$ , onde:  $M = Ca, Sr, Ba, Cd, Pb$ ;  $Y = PO_4, VO_4, AsO_4, SO_4, SiO_4, GeO_4$ ;  $Z = F, Cl, OH, O, Br$  [1]. A nomenclatura das apatitas é referente ao ânion monovalente presente na estrutura, ou seja, fluorapatita (F), cloroapatita (Cl), hidroxiapatita (OH), etc [1, 2]. O termo apatita vem do grego e significa “decepção”, em função dela ser confundida com a turmalina, berilo e outras. A hidroxiapatita é utilizada pelos vertebrados para compor o esqueleto, devido à sua capacidade de atuar como reserva de cálcio e fósforo. Além disso, a hidroxiapatita biológica é ainda composta por íons em concentrações diversas, tais como:  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $CO_3^{2-}$ , etc., permitindo o controle desses importantes íons nos líquidos corporais por meio da sua liberação ou armazenamento (Camargo, 2014)

A metodologia de caracterização clássica desse biomaterial consiste em usar espectroscopia de transformada de Fourier para identificação dos grupamentos químicos básicos que definem pertencer ou não a classe dos fosfatos de cálcio em especial identificar a hidroxiapatita além da cristalinidade da hidroxiapatita por meio da Difração dos Raios-X que compõe o requisito básico e principal de caracterização físico-química sendo as demais técnicas complementares a caracterização principal.

A hidroxiapatita HA sendo um mineral componente do tecido biológico duro é constituída de 70% de peso do osso humano. Diferentes métodos de síntese e aplicação biomédica tem recebido atenção devido a sua alta biocompatibilidade e característica de osteocondutividade. Além disso, método de síntese tem sido desenvolvendo desde o da co-precipitação, além do método da via dos nitratos, método sol-gel, precipitação química, reação do estado sólido, método da deposição química à vapor, micro-ondas. E, uma das influências e motivações mais importantes seria a capacidade da hidroxiapatita e funcionalizar pelo carreamento de liberação de drogas, reparação dos tecdos dentários e reparo da cartilagem. Entretanto, a biocompatibilidade da hidroxiapatita é influenciada pelo proliferação bacteriana que pode ocorrer em sua superfície. Alguns implantes ortopédicos revestidos por hidroxiapatita representam substrato ideal para o crescimento bacteriano. Assim, como resultado complicações por infecção e proliferação bacteriana após a reposição cirúrgica tem sido apontada como a principal causa das falhas além do dano fisiológico e custos adicionais após a etapa cirúrgica (Riaz, 2018; Igashira, 2017).

A prata é introduzida na hidroxiapatita pois os inúmeros trabalhos têm reconhecido a prata como um forte inibidor do crescimento bacteriano. Além disso a prata exibe boa estabilidade térmica, baixa volatilidade, é biocompatível, não-tóxica e exerce efeito bactericida quando na interação de superfície. Podemos fazer recobrimento de nanopartículas de prata sobre a superfície da hidroxiapatita bem como promover a dopagem de prata ( $\text{Ag}^+$ ) na hidroxiapatita tem sido usado pela síntese por diferentes métodos de precipitação, método do refluxo de microndas, método sol-gel, ultrasônico, processo de deposição eletrostática por Spray-Pirólise seguido de sinterização direta a temperaturas de cerca de  $800^{\circ}\text{C}$  a  $1200^{\circ}\text{C}$ . O raio iônico da prata é de  $(1.28 \text{ \AA})$  e a  $\text{Ag}^+$  é substituída pelo elemento cálcio de menor raio-iônico  $\text{Ca}^{2+}$   $(0.99 \text{ \AA})$  em relação aos parâmetros de rede da hidroxiapatita que provoca alteração na tensão e deformação na estrutura cristalina (Riaz, 2018)

Neste caso, o intuito desse trabalho foi inicialmente apenas o de promover a síntese de nanopartículas de prata usando o método clássico de Lee e Meng na superfície das pastilhas de hidroxiapatita estequiométrica calcinadas a  $1100^{\circ}\text{C}$  promovendo a caracterização físico-química para futuramente através do auxílio com a modelagem em conjunto com o experimental obter parâmetros ótimos de controle do processo.

## **2- Material e métodos**

Dessa maneira, inicia-se com a separação dos reagentes e a síntese de hidroxiapatita deficiente. Para os reagentes de síntese usa-se ácido ortofosfórico, além do hidróxido de cálcio ( $\text{H}_3\text{PO}_4$  e  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ ) respectivamente. Inicialmente monta-se o artefato de síntese com base em haste metálica. Em um Becker levar a mistura de água ultra-pura com o hidróxido de cálcio. Inicia-se usando 2 gramas aferidos em balança eletrônica analítica dissolvida de maneira ponderal e aos poucos em 50 mL de água ultra-pura em Becker de 250 mL de boca mais estreita acoplada em pHmetro, termômetro a fim da reação ocorrer e ser estabilizada a 40 graus Celsius. Quando se atingiu a temperatura desejada, iniciou-se o processo de gotejamento da solução ácida. O gotejamento sobre a reação ocorre usando um fluxo de 5 gotas por minuto de ácido fosfórico sobre a solução em um volume total de 30 mL ocorrido em torno de 5 horas total de reação que ocorrer em Becker sobre a placa de aquecimento com agitação magnética (usamos 1 agitador magnético no interior da solução que ocorreu a reação). Para a primeira síntese, usamos gotejamento do ácido fosfórico e um regulador de soro fisiológico adaptado acoplado a haste que compõe o garfo de apreensão da solução a fim de proceder gotejamento constante em fluxo de fluxo constante de 5 gotas por minuto. Ao término do gotejamento manteve-se a temperatura por 24 horas (período de maturação da solução). Terminada a digestão de cerca de 12 horas de síntese a solução em forma de gel foi seca em estufa por cerca de 3 dias, em seguida macerada com gral e pistilo na forma de gral de ágata, após maceração homogênea foi passado em tamises a fim de determinação de faixa granulométrica de pós com granulometria abaixo de 200 micrômetros. Os pós obtidos a partir da síntese à verde foram caracterizados em histeresímetro.

Em seguida foram confeccionadas pastilhas de hidroxiapatita colocando os pós obtidos após a síntese à verde em matriz de ácido lubrificada com óleo mineral com diâmetro de 15 mm e altura do pó de 3,4 mm. Em seguida, leva-se em prensa hidráulica por meio de prensagem uniaxial usando 500 Kgf em um tempo de 1 minutos por prensagem de cada pastilha usando uma matriz de aço obtendo assim pastilhas circulares.

Estas pastilhas foram calcinadas a  $1100^{\circ}\text{C}$  em forno mufla modelo Q318M24 com faixa de trabalho entre  $300^{\circ}\text{C}$  à  $1200^{\circ}\text{C}$  com tensão de 220 Volts e potência de 3720 Watts usando uma rampa específica de aquecimento de subida, manutenção e de descida em graus Celsius até

atingir o patamar de 1100<sup>0</sup>C por meio de obtenção otimização após algumas sínteses. As pastilhas calcinadas obtidas são conservadas em dessecador.

Em seguida, as mesmas foram selecionadas e obte-se a síntese de nanopartículas de prata (AgNPs). A metodologia de síntese selecionada após ensaios iniciais de metodologia à verde foi a de seguir com base no método de redução do citrato a fim de conhecer o processo, caracterizá-lo e no futuro modelá-lo e compreende-lo antes de partir para outras metodologias. Assim o método selecionado consiste na adição de solução de nitrato de prata (AgNO<sub>3</sub>) em um Erlenmeyer com água destilada. A solução resultante é elevada à ebulição branda (com temperaturas variando de 80 a 90°C. Posteriormente, cerca de 2 a 5 minutos fora adicionado foi adicionado 4mL de uma solução de citrato de sódio 1%*m\*v. A suspensão resultante passa por diferentes padrões de colorimetria e a avaliação em UV-Vis em especial em leitura de absorbância na faixa de 300 a 400nm. Para todos as condições avaliadas foi possível verificar a mudança de coloração esperada e, conseqüentemente, reação de redução do AgNO<sub>3</sub>

E, a fim de aferir propriedades da hidroxiapatita deficiente formada usaremos as técnicas de caracterização físico-química por meio de três(3) técnicas básicas: DRX (Difração de Raios-X) e espectroscopia de transformada de Fourier (FTIR) além da análise de Espectroscopia Raman e Microscopia de Força Atômica (AFM). Após a síntese de nanoprata sobre a superfície da hidroxiapatita, a mesma é caracterizada por MEV e EDS analisando a superfície do compósito.

## 2.1- Caracterização Físico-química

### 2.1.1- Caracterização por Difração dos Raios-X

Os pós foram retriturados em gral de ágata e peneirados em tamizes inferiores a 100 micrômetros. Os pós foram caracterizados a fim de verificar as fases cristalinas obtidas mesmo nos pós à verde e possíveis fase inrentes a hidroxiapatita. Foi utilizado para esta análise o Difrátômetro Bruker, modelo D2 Advance Brunker, com tubo de cobre (radiação K $\alpha$  = 1,5418 Å) com corrente utilizadas no tubo foram 30 kV e 10 mA, respectivamente, para a obtenção dos difratogramas. O difratômetro utilizado possui geometria  $\theta$ - $\theta$ . A velocidade de varredura do goniômetro foi de 0,02°/s, sendo o intervalo de varredura de 20° a 45°

### 2.2- Análise de espectroscopia do Infra-vermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas com auxílio do espectrofotômetro de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier, modelo Thermo Scientific Nicolet iS50, equipado com o acessório de reflectância total atenuada (ATR), varredura de 64, resolução 2 cm<sup>-1</sup> na faixa de 4000 a 400 cm<sup>-1</sup>.

### 2.3- Espectroscopia Raman

Foi usado para análise um aparelho Raman marca Witec-focus innovations-modelo alpha300 ([www.witec.de](http://www.witec.de)) cujo preparo envolveu “plain Si supplied by wit ec” operando em um comprimento de onda de 785nm de comprimento de onda e intensidade de laser máxima do tipo output, a objetiva usada para a observação da análise de aumento100x NA0.95, o diâmetro de pinhole durante a operação foi de 100micrômetros em um tempo de integração usado de 50ms e grating de 600g\mm. O centro espectral de 950 rel 1\cm e filtro Raman do tipo Raman EdgeFilter com investigated line 1st order SiLine e medida de alto pico de

2000cts com tempo de integração usado para as nanopartículas de prata de 1 segundo usando a metodologia de análise foi realizada pelo pontual das amostras

#### 2.4- Microscopia de Força Atômica (AFM)

A análise foi feita em equipamento marca Witec Alpha 300 com Modo contato intermitente Ponta 7.4N\m de 160Khz com foco variando de imagens variando de 20 micrômetro a faixa de cerca de 70 nanômetros em foto de campo. Em aumentos de 5x5, 3x3 e 2x2.

#### 2.5- Microscopia Eletrônica de varredura (MEV\EDS)

A análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foi usada a fim de identificar possíveis poros, rugosidade de superfície e estrutura topográfica e possíveis concavidades de superfície. As esferas de quitosana foram metalizadas em um metalizador marca Emitech, modelo K550X, sob corrente de 50 mA por 180 s. O MEV apresenta detector de elétrons secundários (Jeol JSM – 5800 LV-UFF Volta Redonda). Os parâmetros de operação utilizados foram voltagem de 20 kV a 21.24kV, WD de 11mm e distância de trabalho de 14-15 mm.

### 3- Resultados e Discussão

#### 3.1- Caracterização físico-química

##### 3.1.1- Caracterização por Difração dos Raios-X (DRX)

Os espectros de Difração dos Raios X obtidos dos pós obtidos à verde após a síntese mostrou picos referentes à Hidroxiapatita, entretanto na amostra não calcinada o aspecto do espectro representou a fase amorfa do sistema, ou seja não cristalina.

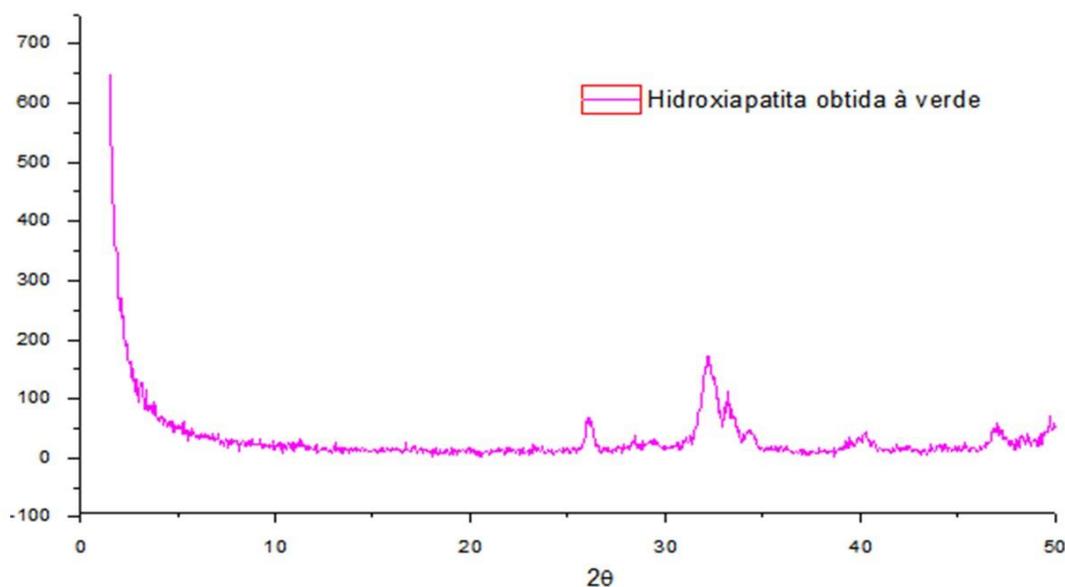


Figura 1: Difratograma representando o espectro obtido pela técnica de Difração dos Raios X

### 3.1.2- Caracterização por Espectroscopia do Infra-vermelhor (FTIR)

Da mesma maneira que o espectro de DRX a análise foi feita dos pós obtidos pela síntese ainda á verde. Os resultados mostraram que foi possível obter a hidroxiapatita identificando os grupamentos químicos principais necessariamente presentes (Figura 2).

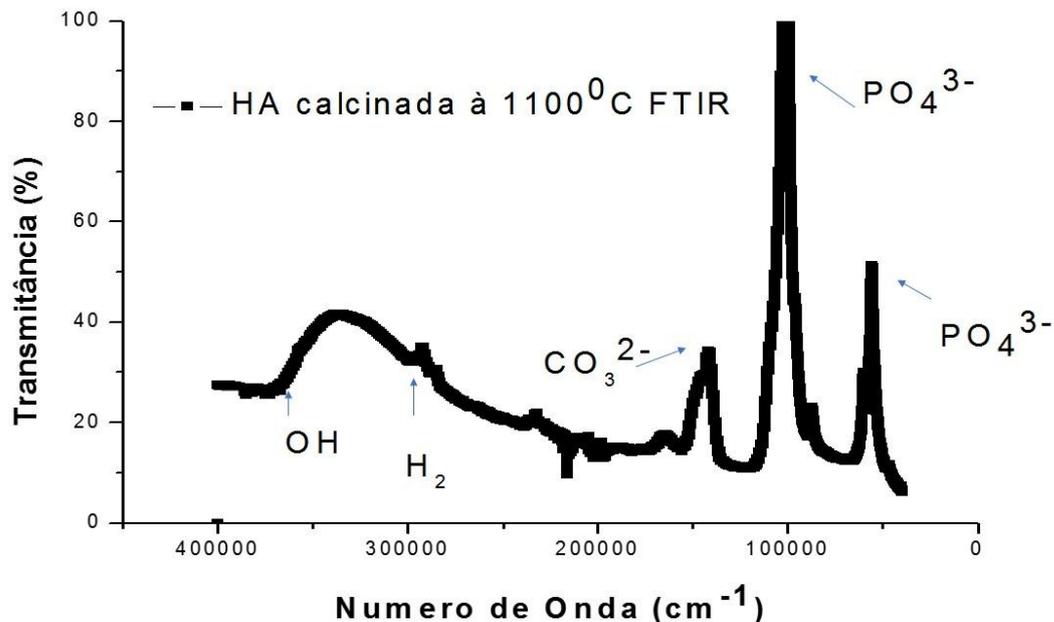


Figura 2: Espectro de infra-vermelho com transformada de Fourier (FTIR) da hidroxiapatita

Os trabalhos de Mirta (2015) mostraram semelhanças nos aspectos de bandas na faixa de onda de banda vibracional de  $\text{PO}_4^{3-}$  ao se tornar definido, de mesmo modo idêntica- se região de  $\text{OH}^-$  a medida em que aumenta o tamanho da partícula. No material estudado por ela houve ausência da banda de OH ao contrário do nosso estudo onde esteve presente. Do mesmo modo identificamos no trabalho que a incorporação de impurezas dentro do corpo da hidroxiapatita (HA) perturba os modos vibracionais das bandas de  $\text{OH}^-$  and  $\text{PO}_4^{3-}$ . Além disso estudos mostram que calcinação nas temperaturas de menor para um maior aumento de temperatura das escala de 700<sup>0</sup>C, 900<sup>0</sup>C à 1150<sup>0</sup>C apresentam um maior decaimento das bandas e indicando um maior tamanho de partículas o que demonstrou coerente aos estudos pilotos desse material presente.

### 3.1.3- Caracterização da hidroxiapatita por espectroscopia Raman

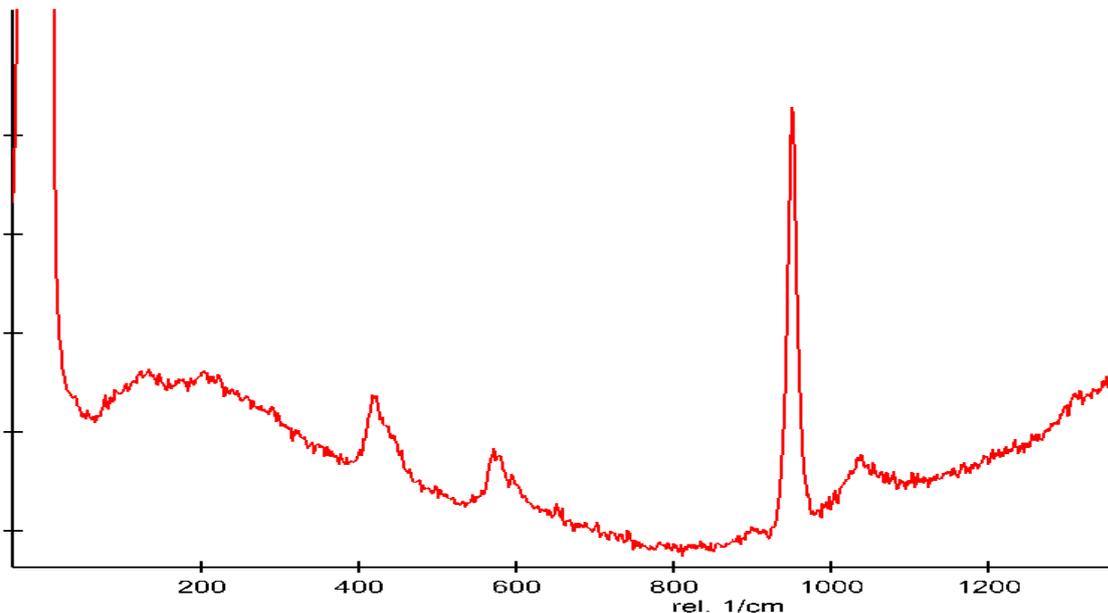


Figura 3: Espectro raman obtidos da hidroxiapatita sintetizada

Foi identificado os picos principais presente na hidroxiapatita em especial os obtidos nos pontos de 400, 600 e na faixa de 900 à 1000. Ao comparar na literatura um espectro de Raman obtido de uma hidroxiapatita de um esmalte dentário pelos estudos de Zavala-Alonso (2012) foi possível identificar de maneira exatamente semelhante no perfil ao da hidroxiapatita obtida sendo as áreas de picos de 400 identificados como  $\text{PO}_4^{3-}$ , bem como os sinais de 600 e 950. Sendo assim o requisito principal como identificador de varredura positiva para identificação da hidroxiapatita obtida usando esta ferramenta de análise.

Esta análise também pode ser empregada no estudo de tecido ósseo e também certas Patologias como a osteoporose que são tecidos que podem ser mimetizados pela síntese da hidroxiapatita. Assim nos estudos descritos por vendrame (2014) usando Raman foi possível avaliar a concentração de hidroxiapatita de cálcio (HAC,  $\sim 958/960\text{cm}^{-1}$  / cálcio, fosfato e carbonato) através da espectroscopia Raman no infravermelho próximo (ER-IVP) dos fragmentos ósseo removidos da mandíbula de pacientes com osteoporose do tipo I. Sessenta indivíduos foram divididos em 4 grupos: a) controle (n=15 indivíduos, sem osteoporose com T-score  $\geq -1$ ); b) teste 1 (15 indivíduos com osteopenia,  $-1 < \text{T-score} < -2.5$ ); c) teste 2 (n=15 indivíduos, com osteoporose em tratamento com alendronato com T-score  $\leq -2.5$ ; e d) teste 3 (n=15 indivíduos, com osteoporose aguardando início de tratamento para a osteoporose com T-score  $\leq -2.5$ ), de acordo com o padrão estabelecido pela Organização Mundial da Saúde. O tecido osteoporótico apresentou as mesmas características minerais quando comparado ao grupo controle. A estequiometria obtida pela espectroscopia Raman revelou diferenças entre os grupos controle e osteoporose (grupos teste 1 e 2) para médias por unidade de área (u.a.) de fosfato e carbonato, enquanto maiores proporções de fosfato/amid1 e carbonato/ amid1 foram observadas para a osteopenia.

### 3.1.4- Caracterização por Microscopia de Força Atômica (AFM)

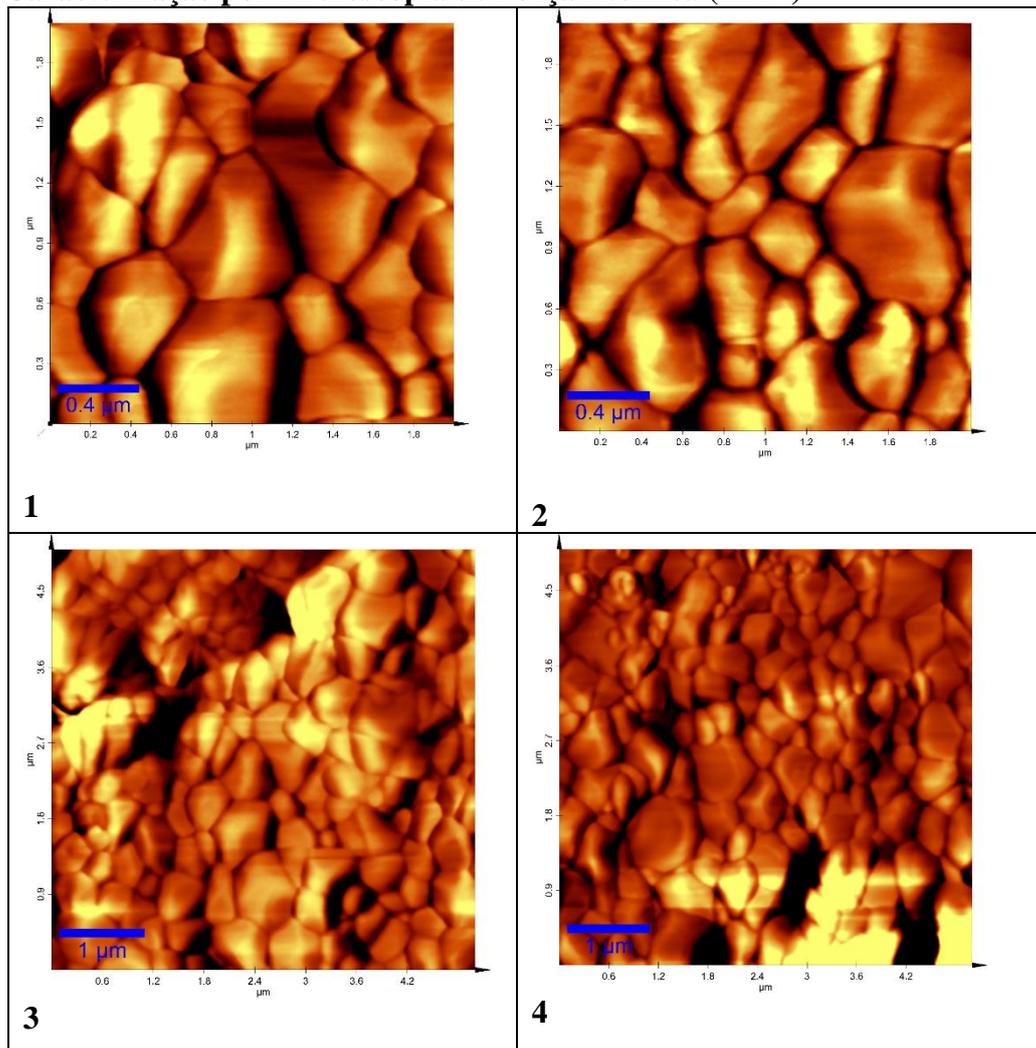
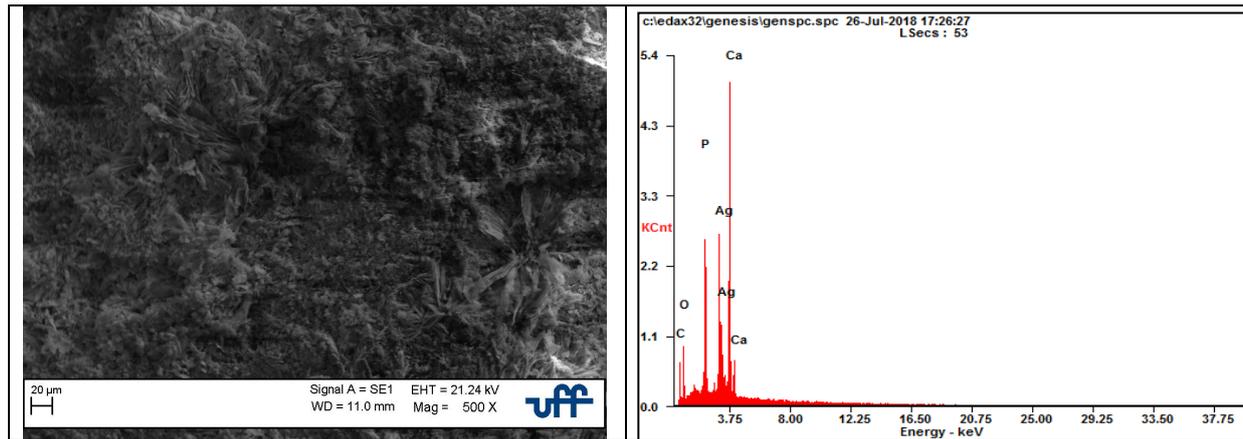


Figura 4 : Imagem de AFM obtidas das pastilhas de hidroxiapatita

Nas imagens da superfície das pastilhas obtidas da hidroxiapatita mostra que faixa de grãos obtidas variando em média 0,4micrômetro à 1 micrômetro o que poderia ser viável na interação com células de fibroblastos e osteoblastos no processo de biointeração do biomaterial com o fluido biológico. Foi possível verificar na análise morfológica por Microscopia de Força Atômica a presença de grãos que compõe o corpo das pastilhas variando na escala de 1micrômetro iniciando a fronteira abaixo dos 1000nanômetros.

### 3.1.5- Caracterização específica da superfície da hidroxiapatita revestida por nanopartículas de prata (AgNPs) por Microscopia Eletrônica de varredura (MEV)

Caracterização da superfície coberta com nanopartículas de prata (AgNPs) por Microscopia eletrônica de Varredura (MEV) acoplada por EDS obteve-se imagens das pastilhas de hidroxiapatita e, foi possível verificar que houve a formação de um microfilme de nanoprata não tanto homogêneo porém entremeados com regiões da prata e hidroxiapatita poderia contribuir não apenas com a biocompatibilidade natural da hidroxiapatita mas também com a capacidade de bactericida e fungicida atuante pella simples presença da prata na superfície formando o nano-filme.



<b>Element</b>	<b>Wt %</b>	<b>At %</b>
<b>C K</b>	16.23	35.35
<b>O K</b>	18.92	30.93
<b>P K</b>	10.84	09.15
<b>AgL</b>	26.03	06.31
<b>CaK</b>	27.98	18.26

Figura 5 : Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) obtido da superfície das pastilhas de hidroxiapatita recobertas com filme de nanop prata

Foi possível obter o filme de prata sobre a superfície da hidroxiapatita, entretanto ainda não é garantida a fixação do mesmo sobre a superfície ao longo prazo, logo estudos posteriores devem ser investidos pois uma superfície com as propriedades vantajosas da hidroxiapatita aliada as propriedades benéficas das nanopartículas de prata propiciaria um ambiente propício a maior biocompatibilidade do sistema requisito principal da garantia da biointegração dentro do período crítico de 24-48 horas onde qualquer exacerbação da resposta inflamatória aguda do organismo humano promovido pelo Sistema Imunológico poderia ser ao menos modulada ou mimetizada a fim de garantir uma melhor resposta da aplicação do biomaterial.

### 3.1.6- Análise do dilatômetro e histeresímetro

Foi feita as duas análises apenas para comprovação do comportamento clássico de HÁ durante a rampa de aquecimento no dilatômetro com atmosfera inerte também com a temperatura máxima de 1100<sup>0</sup>C. Além disso o perfil do material de hidroxiapatita obtida à verde logo após a síntese demonstrou se tratar de um material de comportamento Diamagnético.

## 4- Início da Modelagem do conjunto Hidroxiapatita x nanop prata com Programa ANSYS

Deu-se início a modelagem do Sistema realizados com o programa ANSYS a fim de verificar defeitos na rede e a relação da pressão com os coeficientes de tensão exercido tanto pelo material nas paredes da matriz com o modelamento do efeito inverso das paredes da matriz sendo exercidas sobre a superfície da massa do material. Entretanto viu-se que a estabilidade da malha ainda é deficiente e ajustes tanto do modelo quanto na obtenção de pós homogêneos obtidos da síntese à verde da hidroxiapatita ainda devem ser melhorada.

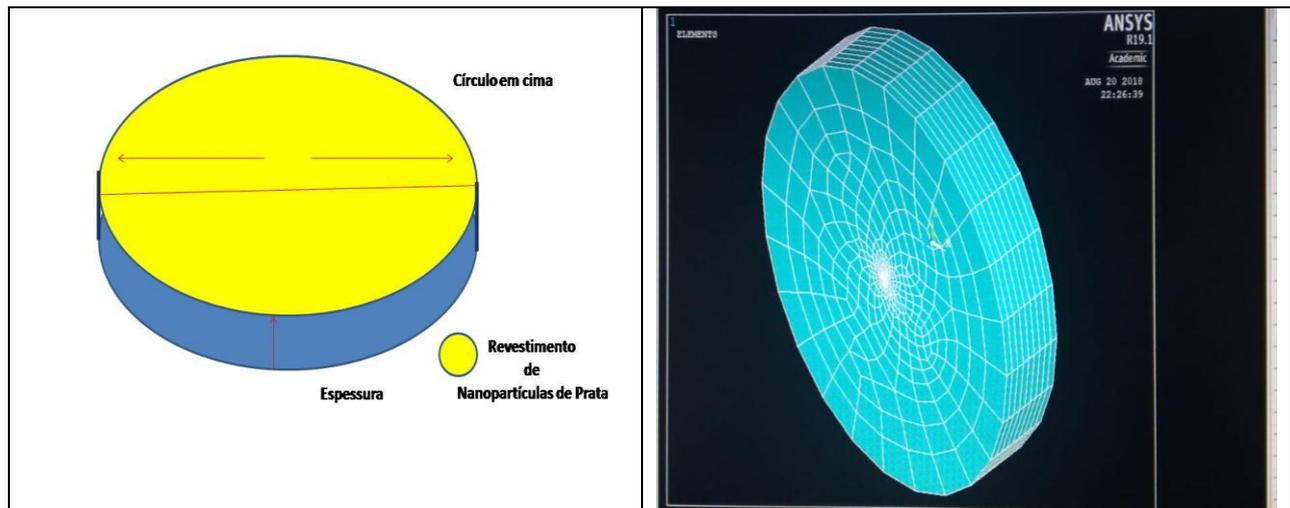


Figura 6: Modelagem das pastilhas de Hidroxiapatita obtidas por prensagem Uniaxial

## 5. Conclusão

Foi possível obter o material sintetizado inicialmente pela técnica de co-precipitação. Após ajustes foi possível obter uma otimização inicial e os resultados mostraram coerência com os parâmetros da hidroxiapatita (HA) do grupo dos fosfatos de cálcio. Assim a varredura inicial das técnicas de caracterização físico-química mostraram identificação das principais fases e picos, além de identificar a morfologia da superfície da nanopartícula (AgNPs) sobre a superfície da hidroxiapatita. Modelagem inicial a partir da etapa de prensagem e obtenção das pastilhas de hidroxiapatita estão sendo inicialmente desenvolvida a fim de otimizar novamente todos os parâmetros e contribuir para o melhor ajuste no processo das vias da obtenção de hidroxiapatita.

**Agradecimentos:** Agradecimentos as análises de DRX e FTIR realizadas no IMA (Instituto de Macromoléculas professora Eloisa Mano e técnico Bonifácio (UFF) pela contribuição com o desenvolvimento do gotejador imprescindível à etapa de síntese

## Referências Bibliográfica

- Santos, M. V. B., Osajima, J. A. Silva Filho, E. C., 2016, Hidroxiapatita: suporte para liberação de fármacos e propriedades antimicrobianas, *Cerâmica* 62 256-265
- Camargo, C. L., Mortari, S, R, Volkmer, T. M, 2014, Síntese de hidroxiapatita por precipitação em diferentes temperaturas, XXIV Congresso Brasileiro de Engenharia Biomédica, CBEB 2014 1/4 CBEB 2014
- Wang, J., Gong, X., Hai, J. Li, T., 2018, *Vacuum*, V. 152, pp. 132-137
- Igashira, H., Kamo, M., Kyomoto, M., Ikom, T., 2017, Fabrication of hydroxyapatite microparticles including silver nano-dots at grain boundary for long-term antimicrobial property, *Biomaterials and Soft materials*, V. 2, pp. 1285-1290, issue 24
- Mirta, M., Leite, F. L., Herrmann, P. S. P., Pissetti, F. L., Rossi, A. M., Moreira, E. L., Mascarenhas, Y. P., *Materials research*, 2012V. 15 (4), pp. 622-627
- Zavala-Alonso, V., Rodriguez, J. P. L., Terrones, H., Marin, N. P. Castanon, G. A., Anusavise, 2012, *Journal of Oral Science*, V. 54 n.1, pp 93-98
- Ibuki, F. K., 2014, Síntese e caracterização de nanopartículas funcionalizadas e análise de interação dessas com o tecido dentinário. Tese apresentada a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo para obtenção do título de doutor em odontologia
- Vendrame, M. C., 2014 Avaliação da concentração de hidroxiapatita de cálcio através da espectroscopia Raman no infra-vermelho próximo (ER-IVP) dos fragmentos ósseo removidos da mandíbula de pacientes com osteoporose. *Revista Educação*, V. 9, n. 2. ESP