



Universidade Federal do Amazonas – UFAM
Faculdade de Tecnologia – FT
Departamento de Engenharia de Materiais – DEMA
Curso de Engenharia de Materiais



RAYLENE LARYSSA SANTOS DE SOUZA

Síntese e caracterização de hidroxiapatita provida da escama do pirarucu (*Arapaima gigas*) dopada com titânia para aplicação em regeneração óssea como *Scaffold*

Monografia

Orientador: Prof. Dr. Jean Carlos Silva Andrade

MANAUS – AM

2022

RAYLENE LARYSSA SANTOS DE SOUZA

Síntese e caracterização de hidroxiapatita provida da escama do pirarucu (*Arapaima gigas*) dopada com titânia para aplicação em regeneração óssea como *Scaffold*

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Amazonas, como partados requisitos necessários à obtenção do título de Engenheira de Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Jean Carlos Silva Andrade

MANAUS – AM

2022

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

S729s Souza , Raylene Laryssa Santos de
Síntese e caracterização de hidroxiapatita provida da escama do pirarucu (Arapaima gigas) dopada com titânia para aplicação em regeneração óssea como Scaffold / Raylene Laryssa Santos de Souza . 2022
63 f.: il. color; 31 cm.

Orientadora: Jean Carlos Silva Andrade
TCC de Graduação (Engenharia de Materiais) - Universidade Federal do Amazonas.

1. Hidroxiapatita . 2. Titânia . 3. Biomateriais . 4. Pirarucu . 5. Regeneração Óssea . I. Andrade, Jean Carlos Silva. II. Universidade Federal do Amazonas III. Título

RAYLENE LARYSSA SANTOS DE SOUZA

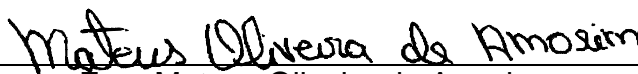
Síntese e caracterização de hidroxiapatita provida da escama do pirarucu (*Arapaima gigas*) dopada com titânia para aplicação em regeneração óssea como *Scaffold*

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Amazonas, como partados requisitos necessários à obtenção do título de Engenheira de Materiais.


BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Jean Carlos da Silva Andrade
Presidente da Banca / Universidade Federal do Amazonas - UFAM



Eng. Mateus Oliveira de Amorim
Mestrando PPGCEM - UFAM



Prof. Msc. Darbens Silvio Correia Júnior
Fundação Centro de Análise, Pesquisa e Inovação Tecnológica - FUCAPI

MANAUS – AM

2022

DEDICATÓRIA

Dedico a todos de contribuíram direta e indiretamente para construção de minha carreira acadêmica e profissional.

AGRADECIMENTOS

A Deus e a todas as pessoas que amo, família, namorada, amigos e professores.

RESUMO

Biomateriais são substâncias ou mesmo um conjunto de substâncias, que podem ser classificadas como sintéticas ou naturais, que têm capacidade de serem utilizados parcialmente como sistema de tratamento, reposição ou substituição de tecidos e partes funcionais do corpo humano ou até mesmo órgãos (HASHIM, 2020). Considerada um material cerâmico, pertencendo à classe das biocerâmicas, a hidroxiapatita pode ser produzida por meio sintético, onde apresenta elevada resistência à corrosão e ainda por cima, se caracteriza como um material bioativo, podendo assim ser equivalente à química da matriz óssea, fazendo com que suas substâncias interajam e findem em ligações com a hidroxiapatita natural do organismo, induzindo uma osseointegração através de sua alta compatibilidade como tecido ósseo vivo, o que gera uma regeneração do tecido ósseo hospedeiro (JANGA, 2018). A titânia se mostra presente como uma camada na superfície do titânio comercial puro, utilizado como base na grande maioria dos implantes, que se forma de modo espontâneo, o que dificulta a interação do tecido com o material. É necessário que um implante possua uma superfície estrutural que apresente rugosidade e poros, o que não serve apenas para garantir propriedades mecânicas ao osso, mas sim para que a osseointegração ocorra. Por isso, estudos buscam essa desejada estrutura para a superfície óssea, adicionando a titânia em camada, reativamente maior, surgindo assim o descobrimento de propriedades biológicas do material que pode ser agregado à HAp, se tornando um biomaterial (MASAKAZU, 2018). O intuito da pesquisa com a hidroxiapatita é concatenar metodologias de sintetização e caracterização de pós providos da hidroxiapatita natural, obtida de escamas do *Arapaima gigas* (Pirarucu), sendo alteradas relativamente com titânia. Mantendo o foco também na investigação da substância obtida, com a intenção de criar uma biocerâmica com prováveis efeitos tecnológicos nas indústrias regionais e nacionais, agregando valor à resíduos da indústria pesqueira e aumentando a possibilidade da utilização médica da substância no campo de regeneração óssea.

Palavras-chave: Hidroxiapatita, Titânia, Biomateriais, Pirarucu, Regeneração Óssea.

ABSTRACT

Biomaterials are substances or even a set of substances, which can be classified as synthetic or natural, which have the capacity to be used partially as a treatment system, replacement of tissues and functional parts of the human body or even organs (HASHIM, 2020). Considered a ceramic material, belonging to the class of bioceramics, hydroxyapatite can be produced by synthetic means, where it has high corrosion resistance and is characterized as a bioactive material, thus being able to be equivalent to the chemistry of bone matrix, causing its substances to interact and end up in bonds with the body's natural hydroxyapatite, inducing osseointegration through its high compatibility with living bone tissue, which generates a regeneration of the host bone tissue (JANGA, 2018). Titania is present as a layer on the surface of pure commercial titanium, used as a base in the vast majority of implants, which forms spontaneously, which makes it difficult for the tissue to interact with the material. It is necessary that an implant has a structural surface that presents roughness and pores, which not only serves to guarantee mechanical properties to the bone, but also for osseointegration to occur. Therefore, studies seek this desired structure for the bone surface, adding titania in a reactively larger layer, thus resulting in the discovery of biological properties of the material that can be added to HAp, becoming a biomaterial (MASAKAZU, 2018). The purpose of the research with hydroxyapatite is to concatenate methodologies for the synthesis and characterization of powders provided with natural hydroxyapatite, obtained from scales of *Arapaima gigas* (Pirarucu), being relatively altered with titania. Keeping the focus also on the investigation of the obtained substance, with the intention of creating a bioceramic with probable technological effects in regional and national industries, adding value to the residues of the fishing industry and increasing the possibility of the substance's medical use in the field of bone regeneration.

Keywords: Hydroxyapatite; Titania; Biomaterials; Arapaima; Bone Regeneration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Seção longitudinal ao longo do osso, mostrando os ossos cortical e trabecular.....	22
Figura 2 - Exemplos de como é a estrutura de um <i>Scaffold</i>	23
Figura 3 - Estrutura atômica da Hidroxiapatita.....	25
Figura 4 - <i>Arapaima gigas</i> (Pirarucu).....	30
Figura 5 - <i>Pygocentrus nattereri</i> (Piranha vermelha)	31
Figura 6 - Escamas de pirarucu sendo lavadas.....	31
Figura 7 - Estrutura das escamas de pirarucu.....	32
Figura 8 - Fórmulas estruturais das três ocorrências do dióxido de titânio. (a) Estrutura do Rutilo. (b) Estrutura da Anatase. (c) Estrutura da Brookita...34	
Figura 9 - Fluxograma do processo de produção de HAp natural.....	36
Figura 10 - Fluxograma do processo de produção de TiO ₂ pela metodologia Sol-Gel.....	37
Figura 11 - Fluxograma do processo de dopagem de HAp - TiO ₂	38
Figura 12 – Molde metálico para confecção de corpo de prova possuindo d = 15 mm.....	40
Figura 13 – Prensa hidráulica (15 kN) utilizada para produção dos corpos de prova.....	40
Figura 14 – Ensaio de compressão realizado em uma das amostras.....	41
Figura 15 – Preparação da solução para o SBF.....	42
Figura 16 – Despejamento de solução em placas de petri.....	43
Figura 17 – DRX da amostra de 100% HAp.....	45
Figura 18 – DRX da amostra de 100% TiO ₂	46
Figura 19 – DRX da amostra de 75% HAp – 25% TiO ₂	47
Figura 20 – DRX da amostra de 50% HAp – 50% TiO ₂	47

Figura 21 – DRX da amostra de 25% HAp – 75% TiO ₂	48
Figura 22 – Gráfico de TG/DSC da amostra 100% HAp.....	49
Figura 23 – Gráfico de TG e DTG da Hidroxiapatita obtida a partir do <i>Arapaima gigas</i> presente em literatura atual.....	50
Figura 24 - Gráfico de TG/DSC da amostra 100% TiO ₂	50
Figura 25 - Gráfico de TG/DSC do TiO ₂ na morfologia de Anatase presente em literatura.....	51
Figura 26 - Gráfico de TG/DSC da amostra de 75% HAp – 25% TiO ₂	51
Figura 27 - Gráfico de TG/DSC da amostra de 50% HAp – 50% TiO ₂	52
Figura 28 - 28: Gráfico de TG/DSC da amostra de 25% HAp – 75% TiO ₂	52
Figura 29 - Corpos de prova em triplicata prensados antes de serem sinterizados.....	53
Figura 30 - Corpos de prova em triplicata prensados depois de serem sinterizados.....	53
Figura 31 - Ensaio de compressão da amostra de 100% TiO ₂	54
Figura 32 - Ensaio de compressão na amostra de 100% HAp.....	55
Figura 33 - Ensaio de compressão na amostra de 75% HAp – 25% TiO ₂	55
Figura 34 - Ensaio de compressão na amostra de 50% HAp – 50% TiO ₂	56
Figura 35 - Ensaio de compressão na amostra de 25% HAp – 75% TiO ₂	56
Figura 36 - MEV da amostra de 100% HAp.....	57
Figura 37 - MEV da amostra de 100% TiO ₂	58
Figura 38 - MEV da amostra de 75% HAp – 25% TiO ₂	58
Figura 39 - Amostras submersas na solução SBF.....	59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Métodos mais comuns de produção de <i>Scaffolds</i> de biocerâmicas.....	22
Tabela 2 - Evolução dos estudos utilizando escamas de peixes como matéria prima para extração de HAp.....	27
Tabela 3 - Composição das pastilhas de HAp - TiO ₂	36
Tabela 4 - Reagentes utilizados na produção da solução de SBF.....	40
Tabela 5 - Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 100% TiO ₂	41
Tabela 6 - Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 100%.....	42
Tabela 7 - Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 75% HAp – 25% TiO ₂	42
Tabela 8 - Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 50% HAp – 50% TiO ₂	42
Tabela 9 - Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 25% HAp – 75% TiO ₂	42
Tabela 10 - Massa das pastilhas antes da técnica de SBF.....	57
Tabela 11 - Massa das pastilhas depois da técnica de SBF.....	58
Tabela 12 - Variação de massa das pastilhas depois da técnica de SBF.....	58

LISTA DE SIGLAS

HAp – Hidroxiapatita

β -TCP – Fosfato Tricálcico

DRX – Difractometria de Raios-X

ICSD – Inorganic Crystal Structure Database

FRX – Espectrometria de Fluorescência de Raios-X

TG – Termogravimetria

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial kN – Kilo Newton

MPa – Megapascal

MEV – Microscópio Eletrônico de Varredura

SBF - *Simulated Body Fluid*

UFAM – Universidade Federal do Amazonas

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. OBJETIVOS	16
2.1. Objetivo Geral	16
2.2. Objetivos Específicos.....	16
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
3.1. O que são biomateriais?	17
3.2. Cerâmicas e biocerâmicas	17
3.3. Biocerâmicas na estrutura óssea	19
3.4. Hidroxiapatita (HAp).....	22
3.4.1. Obtenção de Hidroxiapatita.....	24
3.4.2. <i>Arapaima gigas</i> , uma fonte biogênica.....	25
3.5. Titânia (TiO ₂).....	30
4. METODOLOGIA.....	32
4.1. Obtenção de HAp natural tendo o <i>Arapaima gigas</i> como fonte biogênica	32
4.2. Obtenção de TiO ₂ partir do método sol-gel	33
4.3. A dopagem de HAp-TiO ₂	34
4.4. Fluorescência de Raio X (FRX).....	35
4.5. Difractometria de Raio X (DRX)	36
4.6. Análises térmicas (TG e DSC)	36
4.7. Produção de pastilhas e ensaio mecânico de compressão	36
4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	38
4.9. Teste de bioatividade SBF <i>in vitro</i>	39
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Espectrometria de Fluorescência de Raio X (FRX).....	40

5.2.	Difratometria de Raio X (DRX)	42
5.3.	Termogravimetria De Massa (TG) Termogravimetria Derivada (DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	45
5.4.	Produção de pastilhas e ensaio mecânico de compressão	49
5.5.	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	53
5.6.	Teste de bioatividade SBF <i>in vitro</i>	55
6.	CONCLUSÃO	57
7.	REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

A hidroxiapatita (HAp) é vastamente empregada como um biomaterial, pois possui composição química congênere com a do tecido ósseo, sendo classificada como uma biocerâmica. Esse campo de pesquisa, biocerâmicas, é um tanto novo já que não apresentara existência até a década de 70. A HAp é denominada, na categoria das biocerâmicas, como um material bioativo, tratando-se do auxílio no reestabelecimento do organismo, estando relacionado à interação do tecido circundante sucedendo na resposta do organismo que possui o implante, agindo como se fosse proveniente. A hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ é um fosfato de cálcio que tem aplicação ortodôntica e ortopédica, que proporciona um microambiente condutivo auxiliando o crescimento do tecido ósseo (AMORIM, 2020).

A titânia (TiO_2) é um material cerâmico, sendo um dos pigmentos mais relevantes que são produzidos, possuindo mundialmente uma escala de produção por volta de 4,5 milhões de toneladas por ano. Os óxidos de titânio possuem três tipos de polimorfos, quando um sólido se cristaliza em mais de uma estrutura, sendo eles o rutilo, anatase e brookita, tendo utilização em tintas e revestimentos. O dióxido de titânio é um material biocompatível, não tóxico e inerte, por isso vem obtendo atenção para seu potencial em vastas áreas de aplicações como sensores, pigmento branco e outros (GOTO, 2021).

Tanto o titânio quanto a hidroxiapatita vêm sendo utilizados em larga escala na produção de materiais biomédicos, essencialmente no ramo ortopédico e odontológico, tendo a HAp capacidade de ser compatível com matéria viva e capacidade osteocondutora e o titânio resistência a tenacidade e corrosão, estável quimicamente e biocompatível. Todos esses fatores, como propriedades físicas e químicas, conduzem os dois materiais serem bem requisitados na área médica (GOTO, 2020).

A maior razão para formarmos um material compósito é para agregarmos as propriedades desejadas a um material, já que o mesmo não possui tal. O dióxido de titânio tem como finalidade adicionar propriedades que são deficientes na HAp, tornando-a assim, mais resistente mecânica e quimicamente, como o desejado (JANGA, 2018). Com o avanço da tecnologia, houve crescimento na produção de

materiais mais consumidos visando lucro, fazendo a comunidade científica buscar meios de preservar os recursos naturais que temos e produzir para o mercado o que é exigido, causando o menor risco possível de impacto ecológico (AMORIM, 2020).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Produzir amostras de biomateriais a partir da hidroxiapatita provida da escama do *Arapaima gigas* dopada com titânia, e avaliar a utilização no campo médico de regeneração óssea como *scaffold*.

2.2. Objetivos Específicos

Obter a titânia por meio do método de co-precipitação associado a química sol gel;

Aplicar tratamento térmico nas escamas para a obtenção dos cristais de HAp;
Dopar a HAp com a TiO_2 ;

Caracterizar a matéria prima por meio de Fluorescência de Raio X (FRX), Difração de Raio X (DRX), Termogravimetria de Massa (TG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), e teste de bioatividade (SBF) *in vitro*;

Levantar possibilidade do uso de HAp - TiO_2 para a produção de *scaffolds*.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. O que são biomateriais?

Biomateriais são substâncias ou mesmo um conjunto de substâncias, podendo ser tanto sintéticas quanto naturais, que tem capacidade de serem utilizadas parcialmente como sistema de tratamento, reposição ou substituição de tecidos e partes funcionais do corpo humano ou até mesmo órgãos (HASHIM, 2020).

A tecnologia dos biomateriais teve avanço durante e após a primeira e a segunda guerra mundial. Com o intuito de que amputações de membros não ocorressem, buscaram-se tipos de materiais que não pudessem causar algum dano grave ao organismo lesionado. Obviamente, o início dessa procura por um material correto não foi bem sucedido, ocorrendo morte de muitos pacientes, o que de fato ajudou, de certa forma, a selecionar os devidos materiais que fossem capacitados de aplicação em tecidos vivos. A seleção baseava-se na identificação de materiais tendo alicerce em suas fórmulas e propriedades estruturais, para que se conhecesse o que cada material provocaria na saúde de quem estivesse recebendo-o (UMAR, 2020).

Os biomateriais possuem propriedades de extrema importância tais como ser biocompatível e biofuncional. Ser biocompatível é ter a competência de ser aceito pelo tecido que receberá o implante sem causar danificações. Ser biofuncional é poder desempenhar uma aplicabilidade específica, como por exemplo, estar no lugar de um osso que foi substituído por um material (HASHIM, 2020).

Estes materiais são delimitados em Materiais Bioativos, aqueles que são biocompatíveis e se ligam, após inicialmente implantados, química e biologicamente com o tecido vivo; Materiais Bioinertes sendo os que tem biocompatibilidade, mas não possuem reatividade com o organismo; Materiais Bioabsorvíveis são absorvidos sucessivamente pelo organismo (HASHIM, 2020).

3.2. Cerâmicas e biocerâmicas

Segundo Callister e Rethwisch (2012, p. 07) “As cerâmicas são compostos formados entre elementos metálicos e não metálicos; na maioria das vezes são óxidos, nitretos e carbetos”. Assim as cerâmicas consistem em compostos sólidos

inorgânicos que compõem diversas proporções, por meio de artifícios de ligações iônicas ou covalentes, contendo estrutura atômica altamente compactada.

Atomicamente, essas estruturas podem ser abertas e complexas, possuindo óxidos metálicos, carbonetos, hidretos e muitos. Mecanicamente falando, as cerâmicas são materiais rígidos e resistentes, algumas vezes essas características são até comparadas com as dos materiais metálicos, apresentam também boa dureza. Esse tipo de material é bem frágil, ou seja, possui baixa ductilidade, fazendo com que seja mais propício a uma fratura, porém estudos científicos vêm tentando mudar essa característica. Além de todas essas propriedades, as cerâmicas possuem capacidade isolante ao calor e a eletricidade, podendo também alguns óxidos serem magnéticos (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

As biocerâmicas são cerâmicas biocompatíveis com um organismo vivo, sendo amplamente utilizado em implantes odontológicos e reposições ortopédicas, justamente por possuírem propriedades químicas, mecânicas e biológicas apropriadas para uma boa adesão, migração da substância no corpo e crescimento celular. As biocerâmicas podem ser classificadas conforme a resposta que causam no tecido vivo no qual as mesmas estão sendo implantadas, podendo ser inertes (Alumina e Zircônia), osteocondutivas (HAp), osteoindutivas (vidros bioativos) e cerâmicas reabsorvíveis (β trifosfato de cálcio e vidros de fosfato) (BAINO et al., 2016).

As cerâmicas biológicas (biocerâmicas) sendo bioativas, osteocondutivas e osteoindutivas; interagem fisiologicamente com os fluidos corpóreos, formando a apatita biológica com um subproduto provido de uma reação química na existência de atividade celular. A presença da apatita formada gera a formação de um novo osso na região comprometida. Alguns materiais como fosfatos de cálcio e vitrocerâmicas são regularmente citados como exemplo na classificação de biocerâmicas. Em relação ao processamento, esses materiais são preparados em forma de pós, revestimentos nos substratos, peças densas, misturas injetáveis e peças porosas. As biocerâmicas possuem excelentes propriedades no que se refere a biocompatibilidade e bioatividade, entretanto, mecanicamente falando, podem ser carentes de tal aspecto quando relacionado a ductilidade (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

A ação bioquímica e de metabolismo do corpo humano pode instigar a degradação das biocerâmicas no sistema fisiológico de um indivíduo. Este processo é dependente da composição química do biomaterial utilizado, assim como a relação de porosidade física do material, densidade, granulometria das partículas e grau de cristalinidade. A degradação de biomateriais segue uma ordem de passos como a dissolução físico-química do material, que por sua vez é dependente do pH oriundo e solubilidade das substâncias, a fragmentação das partículas do material pela reação bioquímica e processos metabólicos e, por fim, questões biológicas como o englobamento de partículas sólidas pela célula (fagocitose), reduzindo o pH local. Todo o processo de biodegradação irá diversificar conforme o tipo de material. Por exemplo, os fosfatos de cálcio são reabsorvíveis quando são submetidos a organismos vivos, tendo sua taxa de reabsorção aumentada e com a minimização de interação de cálcio e fósforo. Com isso, esse tipo de material (cerâmicas reabsorvíveis), tem utilização no campo de formação de novos tecidos no ambiente lesionado. A seleção e especificação desses materiais depende da interação entre o grau de reabsorção e de regeneração óssea, sendo as mais utilizadas hidroxiapatita, fosfato de cálcio bifásico e trifosfato de cálcio (CAVALCANTE, 2019).

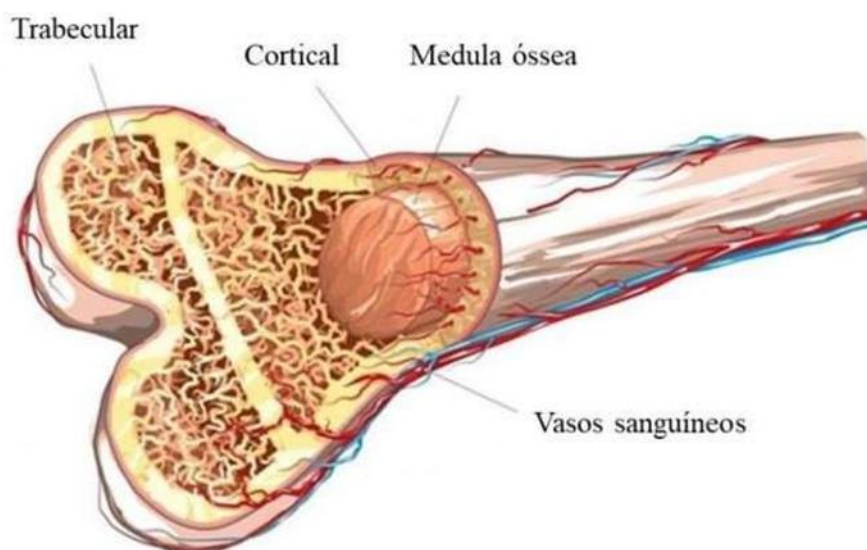
3.3. Biocerâmicas na estrutura óssea

Os requisitos para um implante cerâmico dependem de qual função ele terá no corpo. Por exemplo, os requisitos para uma total prótese de quadril são diferentes para um implante de joelho. Geralmente as biocerâmicas utilizadas em implantes estão relacionadas com o tecido ósseo. Os ossos são materiais ativos de vida, tendo como composição algumas células e suprimento de sangue envolvido em uma estrutura compósita. Essa estrutura compósita é composta por colágeno e cristais de apatita de cálcio e fosfato, na qual se assemelha estruturalmente como a hidroxiapatita, componente no qual dá ao osso sua dureza. Os cristais de apatita acicular são de 20-40 nm de comprimento e 1.5-3.0 nm de largura na matriz de fibra de colágeno (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

Existem dois, de vários, tipos de ossos que preocupam na utilização de materiais cerâmicos, sendo eles o osso cortical e o trabecular. O osso trabecular possui uma menor densidade em relação ao osso cortical. Integralmente, os ossos possuem uma condensada camada externa do osso cortical cobrindo o osso

trabecular, que é o que parece ser esponjoso, tendo aparência de um favo de mel onde possui partes pontiagudas chamadas de trabéculas (JANGA, J. M. KIMB, S. PARKC, T. HAN, 2018).

Figura 01: Seção longitudinal ao longo do osso, mostrando os ossos cortical e trabecular.



Fonte: <https://questoesdefisiocomentadas.wordpress.com/tag/fisioterapia-para-fraturas/>

Existe uma significativa importância na ciência e biomedicina a utilização dos biomateriais cerâmicos. Esses materiais biológicos encarregam-se de apresentar características como custo benefício, disponibilidade, reprodutibilidade, esterilidade, redução de morbidade e segurança. A produção de novas biocerâmicas possui a contribuição de inovações da ciência e engenharia de materiais, pretendendo aumentar de forma significativa a qualidade de vida de um paciente. Atualmente, a aplicabilidade dessas inovações utilizadas na medicina inclui materiais como componentes de próteses articulares em forma de peças sólidas, preenchimentos ósseos com pós e grãos cerâmicos, cimento ósseo com formulações que são injetáveis e *scaffolds* com alguns materiais de estruturas porosas (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

3.3.1. Biocerâmicas de estruturas porosas e *scaffolds*

Os biomateriais de estruturas porosas possuem funcionalidade idênticas aos dos *scaffolds*, que têm mecanismos semelhantes a pontes para multiplicação e

desenvolvimento celular, tendo uso como um recipiente de armazenamento celular e moléculas sinalizadoras (CAVALCANTE, 2019). A formação e a estrutura de um *scaffold* têm função essencial no potencial de ocupação celular. O mesmo deve possuir características biocompatíveis com o tecido, bioreabsorvíveis sendo contactantes ao metabolismo do organismo vivo, osteocondutor e osteoindutor, sendo o último uma prioridade. A estrutura de um *scaffolds* é tridimensional e com alta porosidade, contendo poros que se interligam para o crescimento da célula e do tecido, transportando substâncias como nutrientes e resíduos relacionados ao metabolismo. Os poros ampliam a região da superfície, acessível para a sobreposição entre os ossos e o implante, aumentando assim a osseointegração, em consequência o tempo de interação interfacial osso-implante reduz (LIM, S. S. FOO, 2017).

Figura 02: Exemplos de como é a estrutura de um *Scaffold*.



Fonte: <https://inventariandochina.wordpress.com/2016/06/17/chinese-scientists-treat-spinal-cord-injury-with-biomaterial-scaffold/>.

Com isso, essa estrutura porosa presente nos *scaffolds* executa a função de destinação celular e transporte de nutrientes auxiliando a regeneração óssea. Para que ocorra o desenvolvimento do crescimento do tecido ósseo, há a necessidade de que o tamanho de poros seja maior que 100 μm , assim é mantido a estabilização da vascularização e transitabilidade celular por mais tempo. Quando um *scaffold* possui uma alta porosidade, a resistência mecânica é diminuída, assim a produção de biocerâmicas porosas é um processo que possui grandes obstáculos dentro do campo da ciência dos materiais e engenharia de tecidos. (CAVALCANTE, 2019).

Os materiais convenientes para o desenvolvimento de *scaffolds* são os fosfatos de cálcio, que atuam como um molde 3D poroso, permitindo que ocorra a multiplicação de células ósseas e a formação de um novo osso dentro dessa rede de poros. Existem

vastos métodos de produção de *scaffolds* como os de réplica de esponja ou espuma polimérica, moldes de impressão 3D e outros (LI et al., 2018). Essas metodologias possuem formas de controle da estrutura tridimensional dos *scaffolds*, dependendo totalmente do meio de produção característico da técnica.

Com isso, cada técnica será mais conveniente dependendo do tamanho, conexão entre os poros e quantidade final de poros, tendo suas vantagens e desvantagens dependendo da metodologia utilizada para determinada aplicação em questão (LIM, S. S. FOO, 2017).

Tabela 01: Métodos mais comuns de produção de *Scaffolds* de biocerâmicas.

Método	Processo	Vantagens	Desvantagens
Espuma (<i>gas foaming</i>)	Um agente formador de gás <i>in situ</i> é misturado com uma suspensão estável de partículas em uma geometria predefinida. O gás que sai da reação permite a formação de poros no andaime	Processo barato, boa técnica para preparar amostras grandes	Processo complexo, propriedades mecânicas fracas. Controle deficiente sobre o tamanho dos poros e sua distribuição.
Impressão 3D	Impressão a partir do pó usando uma impressora 3D	Geometria complexa do andaime, tamanho controlado do poro, poros com interconectividade elevada, elevada resistência à compressão.	Custo elevado Pós-processamento complexo
Evaporação do solvente (solvente casting)	Mistura de cerâmica em pó com solvente para formar pasta grossa, sinterização a alta temperatura para obter andaime poroso	Processo simples, barato, controle sobre o tamanho dos poros	Propriedades mecânicas pobres Presença de <i>porogen</i> no andaime
Molde de sacrifício	Uma espuma de polímero é revestida com suspensão de partículas de biocerâmicas e sinterizada no suporte	Processo simples, barato, bom controle sobre a conectividade dos poros	Resistência baixa à compressão
<i>Freeze casting</i>	Congelamento de pasta cerâmica com dispersante e ligante. Sinterização de pasta congelada a alta temperatura.	Alta resistência mecânica	Processo complexo, Pouco controle sobre a geometria e distribuição dos poros
Esferas de polímero	Sinterização de cerâmicas em pó com esferas de polímero a alta temperatura.	Processo simples, barato	Pouca resistência e controle sobre a distribuição dos poros, geometria simples

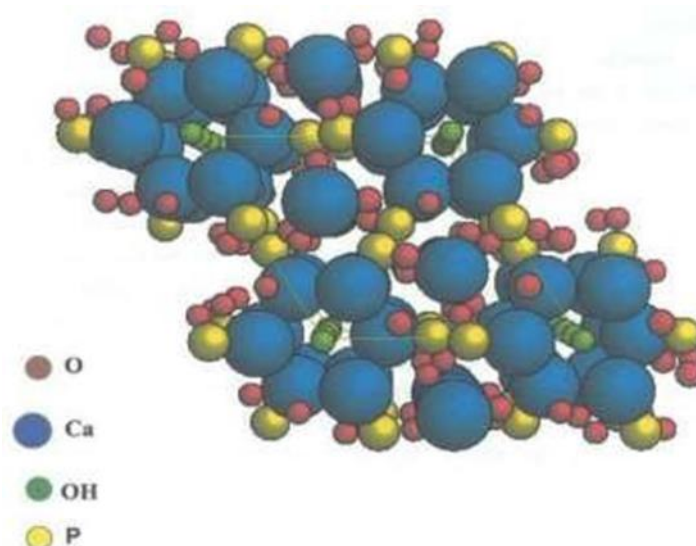
Fonte: CAVALCANTE, 2019.

3.4. Hidroxiapatita (HAp)

A HAp $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ é um constituinte do organismo dos seres vivos composta por fósforo e cálcio, logo é denominada como fosfato de cálcio, encontrando-se corrente no estágio mineral ósseo e nos dentes. Esse fosfato de cálcio tem forma estrutural hexagonal, pertencendo ao grupo espacial P63/m, tendo uma razão molar dos seus átomos de cálcio e fósforo (Ca/P) de 1,67. Possui dez átomos

de cálcio, que tem localidade em sítios atômicos que não são equivalentes, com quatro átomos no Sítio I, formando um tetraedro e seis no Sítio II, formando um octaedro (AMORIM, 2020).

Figura 03: Estrutura atômica da Hidroxiapatita.



Fonte: https://inis.iaea.org/collection/NCLCollectionStore/_Public/48/004/48004433.pdf

Considerada um material cerâmico, pertencendo à classe das biocerâmicas, a hidroxiapatita pode ser produzida por meio sintético, onde apresenta elevada resistência à corrosão, e ainda por cima se caracteriza como um material bioativo, podendo assim ser equivalente à química da matriz óssea, fazendo com que suas substâncias interajam e findem em ligações com a hidroxiapatita natural do organismo, induzindo uma osseointegração através de sua alta compatibilidade como tecido ósseo vivo, o que gera uma regeneração do tecido ósseo hospedeiro (CAVALCANTE, 2019).

Através de uma grande semelhança química entre a HAp e tecido ósseo, essa biocerâmica é considerada uma das mais biocompatíveis que se tem conhecimento, o que acarreta na possibilidade de crescimento dos ossos onde se encontra, definida como osteocondutora, além disso, por ser uma cerâmica bioativa, propicia a multiplicação de fibroblastos e osteoblastos, além de outras células do tecido ósseo, sendo incapaz de diferenciar essas substâncias em sua superfície, o que prova a

grande semelhança da HAp com a matriz óssea. A superfície da hidroxiapatita permite a interação de ligações do tipo dipolo, fazendo que moléculas de água e proteínas sejam adsorvidas na superfície induzindo, assim, a regeneração tecidual (AMORIM, 2020).

A conduta biológica da HAp é sujeita de sua composição química e de particularidades físicas, assim a metodologia que se utiliza na sua obtenção, reagentes e síntese, possui grande interferência no produto final. O índice de solubilidade varia conforme sua forma, seus poros (porosidade) e seus cristais (cristalinidade), podendo ser solúvel em soluções ácidas de forma superior e incapaz de ser solúvel em soluções alcalinas, por isso o pH é controlado com rigorosidade ao decorrer da síntese e ao envelhecer do produto (CAVALCANTE, 2019).

3.4.1. Obtenção de Hidroxiapatita

A obtenção de hidroxiapatita pode ocorrer através de vários métodos de sínteses, sendo as mesmas: síntese por via úmida, síntese por via seca, meio hidrotermal e metodologia sol-gel (CAVALCANTE, 2019).

- Síntese por via úmida: é um método que apresenta praticidade e é grandemente utilizado para produção de hidroxiapatita. Consiste em uma reação química entre uma fonte de fosfatos e cálcio, com o auxílio de aditivos como ácidos e bases. Possui alta precisão no controle de morfologia e cristalização na produção de HAp, sendo a técnica mais utilizada para este fim (CAVALCANTE, 2019).

- Síntese por via seca: é a metodologia mais utilizada quando o objetivo em questão é obter um produto com um alto grau de cristalinidade e uma baixa granulometria. Entretanto não consiste em um bom método quando relacionado a obtenção de um material com um bom balanceamento estequiométrico. Ao realizar uma reação supracitada, deve-se ter cautela adicionando lentamente o ácido fosfórico na reação. Este processo é utilizado de forma industrial na produção de HAp, já que o único resíduo oriundo do processo é água (SANTOS, 2019).

- Síntese sol-gel: utiliza reagentes organometálicos para a mineralização de soluções por meio de precursores. Essa técnica faz o uso de meio químico suave, utilizando temperaturas relativamente baixas quando comparadas a técnicas

convencionais de produção de HAp. Ocorre por meio de hidrólise dos reagentes precursores, formando uma suspensão sólida de substâncias em meio aquoso (FIHRI, 2017).

- Síntese hidrotermal: é tida como uma precipitação química, onde o envelhecimento da substância ocorre com o auxílio de alta temperatura, normalmente

maior que o ponto de ebulição da água, no interior de uma autoclave ou vaso de pressão (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

Há basicamente duas formas principais de produzir pós-cerâmicos, via seca e via úmida. Com isso, pesquisas mostram que a produção por via seca possui mais vantagem, já que apresenta elevada produtividade e custos inferiores. Porém esse processo produz um cristalito demasiado e desproporcional. Em relação ao método por via úmida, sua produção gera cristalitos ínfimos e, em sua defesa, estudos apontam que esse método possui maior simplicidade, apresentam um custo pequeno e reatividade, por sua estequiometria e homogeneidade (CAVALCANTE, 2019).

- Os métodos de precipitação podem apresentar variáveis tais como pH, temperatura de produção, concentração molar dos reagentes, taxa de adição de reagentes, tempo de agitação, tempo de envelhecimento e temperatura de calcinação (TOMAS; BALAKRISHNAN; SREEKALA, 2018).

3.4.2. *Arapaima gigas*, uma fonte biogênica

Além dos meios sintéticos de produção de HAp, alternativas de produção desse material por meio de fontes naturais vêm aumentando no decorrer dos últimos anos, tendo como matéria prima resíduos, isso inclui conchas do mar, ossos de animais bovinos e suínos, escamas e ossos de peixes (CAVALCANTE, 2019). Várias pesquisas mostram que atualmente o crescimento da utilização de escamas de peixe como uma das principais matérias primas de extração de colágeno e HAp, como mostra a tabela 02.

Tabela 02: Evolução dos estudos utilizando escamas de peixes como matéria prima para extração de HAp.

Espécie do Peixe	Produto	Área de Aplicação	Referência (País)
Carpa Rohu (<i>Labeo Rohita</i>)	Catalisador de HAp	Catalisador para a síntese de Biodiesel	CHAKRABORTY; BEPARI; BANERJEE, 2011. (Índia)
Tilápia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Pó de HAp	Fabricação de ossos artificiais	HUANG; HSIAO; CHAI, 2011. (Taiwan)
Tilápia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Nano pó de HAp	Tratamento de efluentes aquosos: remoção de selênio	KONGSRI et al., 2013. (Tailândia)
Sardinha (<i>Sardina Pilchardus</i>)	Pó de HAp e pó de cloroapatita	Aplicações biomédicas	PICCIRILO et al., 2014. (Portugal)
Carpa rohu (<i>Labeo Rohita</i>) e Catla (<i>Catla Catla</i>)	Scaffold de HAp	Enxerto ósseo	PANDA; PRAMANIK; SUKLA, 2014. (Índia)
Não mencionado	Disco compacto de HAp	Reparação óssea	PRASAD et al., 2015. (Índia)
Carpa rohu (<i>Labeo Rohita</i>) e Catla (<i>Catla Catla</i>)	Scaffold de HAp (“andaime” ósseo)	Enxerto ósseo	MONDAL et al., 2016. (Índia)
Tilápia (<i>Oreochromis Mossambicus</i>)	Scaffold de HAp	Enxerto ósseo	MONDAL; PAL; DEY, 2016. (Índia)
Carpa (<i>Cyprinidae</i>)	Pó de HAp	Aplicações biomédicas	MUHAMMAD et al., 2016. (China, Paquistão, Malásia)
<i>Probarbus Jullieni</i>	Scaffold de HAp	Enxerto ósseo	PON-ON et al., 2016. (Tailândia)
Catla (<i>Catla Catla</i>)	Pó de HAp	Aplicações biomédicas	PAUL et al., 2017. (Índia)
Não mencionado	Biocompósito de Ácido Polilático preenchido com HAp	Reparação óssea	PRASAD et al., 2017a. (Índia)
Não mencionado	Biofilme de Ácido Polilático reforçado com HAp	Acessórios de vedação ou bloqueio para fixação de dispositivos	PRASAD et al., 2017b. (Índia)
Perca-gigante (<i>Lates Calcarifer</i>)	Bioplástico à base de glúten de trigo e HAp	Bioplástico	THAMMAHIWES; RIYAJAN; KAEWTATIP, 2017. (Tailândia)
Tilápia (<i>Oreochromis sp.</i>)	Nanoestruturas híbridas de Au/HAp	Reparo e regeneração do tecido ósseo, aumento da compatibilidade sanguínea e imunossensores	CHAI; NISHIKAWA; TAGAYA, 2018. (Japão)
Não mencionado	HAp nanoestruturadas	Aplicações biomédicas	CHAI; TAGAYA, 2018. (Japão)
Não mencionado	Espuma de amido preenchida com pó de HAp	Enchimento de compósitos poliméricos para melhoria de propriedades	CHIARATHANAKRIT; RIYAJAN; KAEWTATIP, 2018. (Tailândia)
<i>Probarbus jullieni</i>	Scaffold de biocompósito de HAp carregada de íons minerais/Ácido Polilático/Quitossana	Enxerto ósseo	PON-ON et al., 2018. (Tailândia)
Pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>)	Pó de HAp	Aplicações biomédicas	CAVALCANTE; 2019. (Brasil)
Pirarucu (<i>Arapaima gigas</i>)	Pó de HAp	Aplicações biomédicas	AMORIN; 2020. (Brasil)

Fonte: Adaptado de CAVALCANTE (2019); Autora.

O *Arapaima gigas*, popularmente chamado de Pirarucu, faz parte da família Arapaimidae e taxonomicamente pertence à ordem dos osteoglossiformes, na qual é o alicerce evolutivo dos peixes teleósteos, que viviam em tempos jurássicos, tendo localização provável no então supercontinente denominado Pangea.

O pirarucu é titulado como o maior peixe que possui escamas do mundo, tendo a possibilidade de ter seu peso total de até 200Kg e seu comprimento medir cerca de três metros (AMORIM, 2020).

Figura 04: *Arapaima gigas* (Pirarucu).



Fonte: <http://www.klimanaturali.org/2012/12/pirarucu-arapaima-gigas.html>

Seu nome tem proveniência da língua indígena Tupi onde pira significa peixe e urucu significa vermelho, baseado na cor de suas escamas nas bordas e na sua parte inferior do peixe. Tal característica de coloração é variante dependendo do sexo do animal e de seu período reprodutor. O *Arapaima gigas* habita áreas tropicais que se apossam de água doce, como por exemplo a América do Sul, podendo ser encontrado em países como Peru, Bolívia, Guiana e Brasil, já que possuem as bacias do Rio Amazonas e do rio Tocantins-Araguaia em parte de suas hidrografias.

Essa espécie de peixe habita em lagos sazonais, compartilhado habitat com mais de 30 espécies de peixes piranhas, principalmente a *Pygocentrus nattereri* (Piranha vermelha) sendo essa espécie a maior predadora do *Arapaima gigas*.

Quando esses lagos estão em período de seca, tanto os pirarucus e as piranhas permanecem nos lagos, onde esse predador (piranha vermelha), ataca diversos animais como outros peixes, mamíferos, aves e répteis (com exceção de jacarés). Por esse motivo, o pirarucu se protege das piranhas utilizando a dureza de suas escamas, elemento esse (as escamas) que cobrem e guardam a pele do peixe (HERNÁNDEZ, 2017).

Figura 05: *Pygocentrus nattereri* (Piranha vermelha).



Fonte: <https://blogdopesgador.com/piranha-vermelha-peixe/>

Geralmente, os peixes possuem integrantes de alguns materiais em sua escama, tais como hidroxiapatita com deficiência de cálcio e fibras colagenosas tipo I. Com a mineralização de suas fibras, há a formação de distintas estruturas, tal como a estrutura do compensado, ou uma estrutura óssea formada a partir de cristais de hidroxiapatita. Com isso, a escama desse peixe se mostra bastante apta a ser submetida a tratamentos e procedimentos de extração de HAp assim como outros peixes já estudados (CAVALCANTE, 2019).

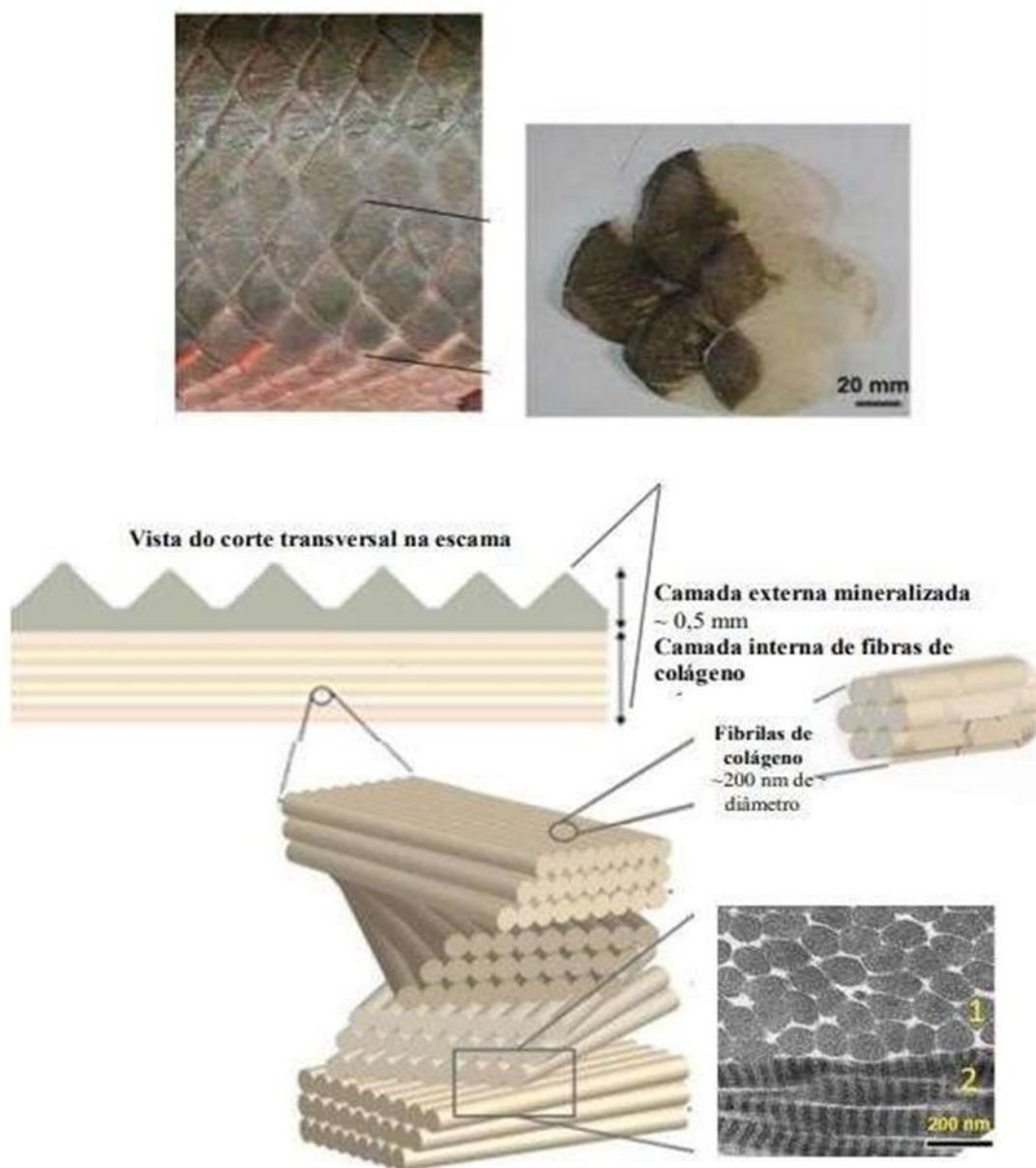
Figura 06: Escamas de pirarucu sendo lavadas.



Fonte: Autora.

As fibras compostas de colágeno estruturam-se em divergentes formas, equivalente a estrutura da madeira compensada, possuindo várias camadas compactas e complementadas com camadas mineralizadas de HAp (CAVALCANTE, 2019). A camada externa dessas escamas possui grande rugosidade por estar em contato total com a água, já a camada interna é mais aveludada. A camada externa é grandemente mineralizada, já a interna possui distintas direções de fibrilas de colágeno com um arranjo lamelar (HERNÁNDEZ, 2017).

Figura 07: Estrutura das escamas de pirarucu sendo lavadas.



Fonte: CAVALCANTE, 2019.

3.5. Titânia (TiO_2)

Sendo materiais utilizados no ramo biomédico, o titânio e suas ligas são os melhores, em relação a biocompatibilidade e propriedades mecânicas, do que outros materiais. Denominado como o nono elemento com mais abundância do planeta, o titânio abrange uma identificação muito grande com o oxigênio, gerando a ocorrência maior de seu formato óxido. Portanto, o Ti é capaz de formar compostos com tais

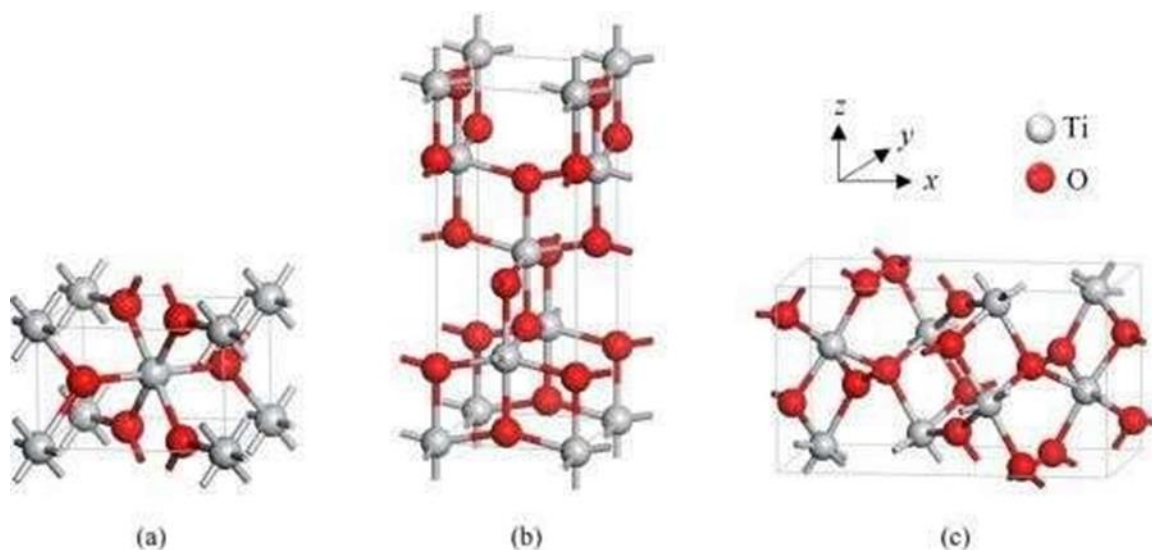
estados de oxidação: +2, +3, +4. O estado +2 sofre a perda de dois elétrons da camada 4s, já os outros estados de maior oxidação sofrem com a perda de um ou dois elétrons da camada 3d, tendo que nesses estados de maior oxidação, não há exatamente uma perda de elétrons, mas sim um compartilhamento com outros átomos de maior eletronegatividade. Origina-se, com a perda desses elétrons, óxido de titânio, denominada Titânia, que é um material branco com uso em tintas (como pigmento opacificante), e outros materiais como papel, tipos de tecidos e em materiais plásticos (ABDELHALIMA, 2018).

O Ti, contudo, ainda não possui uma usabilidade duradoura na área médica, pois a biocompatibilidade desse material necessita de aprimoramento, por isso existe uma grande necessidade médica que sua superfície seja modificada, o que nos leva ao estudo do titânio revestido com hidroxiapatita. O estudo da modificação de sua superfície é maior no campo da medicina relacionado à implantes, sendo eles dentários ou ortopédicos. O titânio é utilizado nesses implantes por possuir uma maior compatibilidade gerada pela formação de óxido na sua superfície (GOTO, 2021).

A ocorrência do dióxido de titânio é grande em variados minerais, sendo um deles o rutilo, o qual apresenta maior índice de refração em relação ao diamante, entretanto, é um material com alta maciez para ter utilidade como pedra preciosa, esses aspectos possibilitam na moagem um tamanho de grão muito pequeno e fino, ainda por cima é um produto atóxico, possui estabilidade e não apresenta custo elevado. Encontra-se também, como anatase e brookita (JANGA, J. M. KIMB, S. PARKC, T. HAN, 2018).

Tais minerais com a presença de dióxido de titânio apresentam divergentes estruturas, constituindo em Ti^{4+} localizados no meio de um octaedro de oxigênio. O rutilo é simetricamente tetragonal e por meio de uma ligação octaédrica se dá sua estrutura. Estruturalmente, o arranjo aniônico e catiônico da anatase é semelhante, tendo ainda seu cristal como tetragonal, contudo, cada um de seus octaedros é deformado e separado em quatro arestas com demais octaedro. Já na brookita, um caso mais complexo, seu octaedro partilha tanto suas arestas quanto suas pontas ou ângulos. Com isso, tem-se a propensão, dos três, de que continuamente serão menos simétricos (PRAKASH, 2021).

Figura 08: Fórmulas estruturais das três ocorrências do dióxido de titânio. (a) Estrutura do Rutilo. (b) Estrutura da Anatase. (c) Estrutura da Brookita.



Fonte: <https://scientia-amazonia.org/wp-content/uploads/2016/06/v4-n2-36-59-2015.pdf>

A titânia se mostra presente como uma camada na superfície do titânio comercial puro, utilizado como base na grande maioria dos implantes, que se forma de modo espontâneo, o que dificulta a interação do tecido com o material. É necessário que um implante possua uma superfície estrutural que apresente rugosidade e poros, o que não serve apenas para garantir propriedades mecânicas ao osso, mas sim para que a osseointegração ocorra. Por isso, estudos buscam essa desejada estrutura para a superfície óssea, adicionando a titânia em camada, reativamente maior, surgindo assim o descobrimento de propriedades biológicas do material que pode ser agregado à HAp, se tornando um biomaterial (UMAR, 2020).

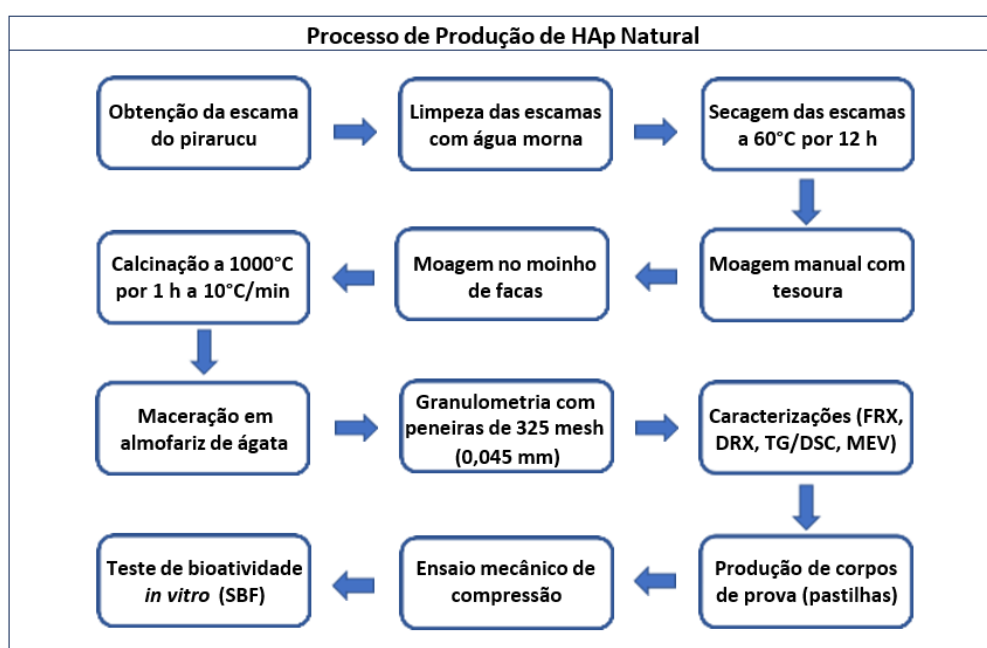
4. METODOLOGIA

4.1. Obtenção de HAp natural tendo o *Arapaima gigas* como fonte biogênica

Como fase inicial, assim que se obter as escamas do *Arapaima gigas*, ocorrerá uma lavagem das escamas com água morna, para que as mesmas percam um pouco dos resíduos da pele do peixe e em seguida secas em estufa à 60°C durante aproximadamente 12 horas, para que não percam suas propriedades à uma temperatura muito alta (CAVALCANTE, 2019).

Após secas, as escamas serão moídas com o auxílio do moinho de facas, para que possam ser cominuídas em um tamanho menor, já que as escamas apresentam um tamanho considerável para manuseio e apresentam grande rigidez ao corte. Após essa fase inicial, as escamas serão calcinadas à 1000°C durante uma hora em forno mufla, processo no qual tem o intuito de remover matéria orgânica do material e a indução térmica faz com que ocorra a formação dos cristais de hidroxiapatita natural. Em seguida, o pó de HAp será homogeneizado sendo cominuído novamente através da maceração em almofariz de Ágata, para consequentemente ser peneirado em peneiras de malha Tyler de 325 mesh (abertura de 0,045mm), para assim prosseguir para o processo posterior com a titânia (CAVALCANTE, 2019).

Figura 09: Fluxograma do processo de produção de HAp natural.



Fonte: Autora.

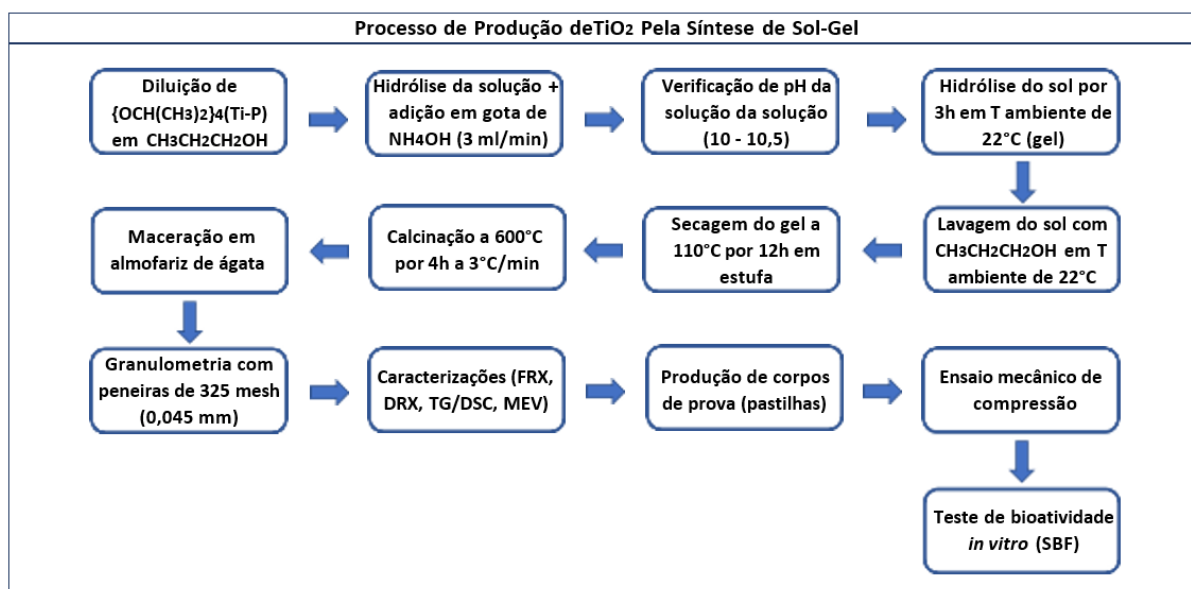
4.2. Obtenção de TiO₂ partir do método sol-gel

Para a obtenção da titânia, será diluído Ti {OCH(CH₃)₂}₄(Ti-P) Isopropóxido de Titânio (98%) por (CH₃CH₂CH₂OH) álcool N – Propanol (30%) em hidrólise, sendo adicionado gota por gota (3ml/mim) uma solução aquosa de Hidróxido de Amônia (NH₄OH) durante agitação ininterrupta no agitador magnético, até que seu pH se encontrasse entre 10 – 10,5 (GOTO, 2020).

Após a obtenção do desejado pH, o sol ficará agitando por 3 horas em temperatura ambiente de 22°C, para que ocorra a polimerização do gel. Dando seguimento ao fim da agitação, o sol será lavado em meio aquoso alcoólico de álcool N – Propanol, permanecendo em temperatura ambiente, por meio de filtro sendo auxiliado por uma bomba a vácuo (GOTO, 2020).

Posteriormente à lavagem, o gel será seco em estufa à 110°C durante 12 horas. Em seguida o pó fino oriundo da secagem, será submetido a calcinação em forno mufla à 600°C com a taxa de 3°C por minuto em um patamar de 4 horas (GOTO, 2021).

Figura 10: Fluxograma do processo de produção de TiO₂ pela metodologia Sol-Gel



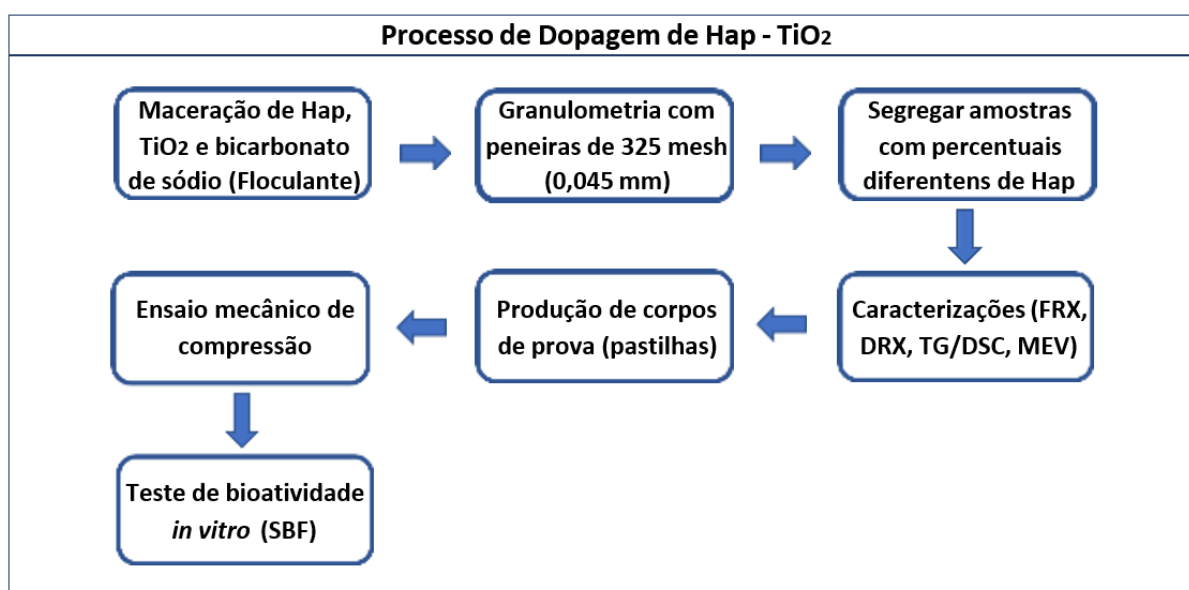
Fonte: Autora.

4.3. A dopagem de HAp-TiO₂

A metodologia pretendida a ser utilizada na dopagem do material o tornando o um compósito segue tal raciocínio: Inicialmente os materiais, hidroxiapatita e titânia, serão maceradas juntamente com bicarbonato de sódio, por ser um material conhecido como ligante e floculante, conforme algumas porcentagens de tais materiais para testes. Em seguida, os mesmos serão peneirados por peneiras de

malha Tyler de 325 mesh para possuir uma padronização em seus cristais. Tendo o material separado, a preparação dos corpos de prova para alguns ensaios será confeccionada em pastilhas, contendo cinco pastilhas com a concentração para cada porcentagem de concentração dos materiais conforme a tabela 01 abaixo (ABDELHALIMA, 2018):

Figura 11: Fluxograma do processo de dopagem de HAp - TiO₂.



Fonte: Autora.

Tabela 03: Composição das pastilhas de HAp - TiO₂

Qty	Composição %HAp	Composição %TiO ₂
3	100%	0%
3	75%	25%
3	50%	50%
3	25%	75%
3	0%	100%

Fonte: Autora.

4.4. Fluorescência de Raio X (FRX)

O equipamento de Espectrometria de fluorescência de raios-X (FRX) do LaMAC é da marca Panalytical modelo: Epsilon 3XL (Figura 9), é capaz de realizar Análises quantitativa e qualitativa e sua faixa de leitura vai do Fluor (F) ao Urânio (U),

executa até 10 análises simultaneamente, possui sistema de hélio padrão e consome 500ml/min com uma pressão de 1 bar.

4.5. Difratometria de Raio X (DRX)

A caracterização de Difratometria de Raio-X (DRX) foi realizada no equipamento de modelo XRD-7000 Shimadzu, com varredura contínua em uma faixa de varredura de 5° a 100° e um ângulo de 2θ . Essa técnica foi utilizada para identificar fases cristalinas dos materiais utilizados no trabalho em comparação com os padrões CIF (Crystallographic Information File) já existentes em literaturas diversas e base de dados ICSD (Inorganic Crystal Structure Database).

4.6. Análises térmicas (TG e DSC)

Para as análises de TG/DSC foi utilizado o equipamento SDT Q600 da Ta Instrument, localizado no laboratório de Ensaios Físico-Químicos dos Materiais/FT/UFAM. As amostras foram aferidas a aproximadamente 10 mg, a taxa de aquecimento de 10 °C/min até a temperatura final de 1000 °C, com fluxo de gás N 5.0 de 30 ml/min. O cadinho utilizado nos testes foi o de alumina de 90 microlitros sem tampa. A TG teve o intuito de identificar a variação de massa que a amostra sofreu durante o processo de tratamento térmico (calcinação), validando possíveis eliminações de materiais durante o tratamento que pôde ser evidenciado pelos eventos térmicos presentes nos gráficos de DSC.

4.7. Produção de pastilhas e ensaio mecânico de compressão

A produção das pastilhas foi por meio de prensa hidráulica de do modelo Marcon, com capacidade máxima de 15 kN (Kilo Newton), aplicando uma força de 1,5 kN a uma pressão de 350 MPa, tendo o molde metálico de confecção de corpo de prova um diâmetro de 15 mm e uma quantidade de aproximadamente 1g de amostra para a produção da pastilha. Após esse processo, as pastilhas foram pesadas e medidas (diâmetro e altura) para serem submetidas ao processo de sinterização para auxiliar na fixação e conformação dos corpos de prova em um forno mufla a uma temperatura de 1000°C em um patamar de 10°C/min no período de 1 hora e 30 min. Em seguida esses corpos de prova foram pesados e medidos novamente para a verificação de parâmetros ocorridos no processo de sinterização.

Figura 12: Molde metálico para confecção de corpo de prova possuindo $d = 15 \text{ mm}$



Fonte: Autora.

Figura 13: Prensa hidráulica (15 kN) utilizada para produção dos corpos de prova.



Fonte: Autora.

No que se refere ao ensaio mecânico de compressão foi utilizado a máquina de ensaios mecânicos universal AME 5kN a uma velocidade de 0,5 mm / min. Onde cada amostra apresentou os padrões existentes na literatura em relação ao grau de deformação, que podem ser observados nos gráficos abaixo.

Figura 14: Ensaio de compressão realizado em uma das amostras.



Fonte: Autora.

4.8. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O MEV foi realizado no espectrômetro de modelo x-act da Oxford Instruments com o intuito de verificar a morfologia e características das microestruturas das

substâncias em estudo, onde o microscópio eletrônico de varredura nos possibilita a observação das amostras em uma de ordem de dois a cinco nanômetros.

4.9. Teste de bioatividade SBF *in vitro*

Para verificar a biocompatibilidade do material com o organismo, foi realizado o ensaio de SBF (*Simulated Body Fluid*) onde foi preparado uma solução a base de água para simular o comportamento do sangue. Pra produção desse meio utilizou-se as seguintes quantidades de reagentes.

Tabela 04: Reagentes utilizados na produção da solução de SBF.

Solução SBF							
Composição	NaCl	NaHCO ₃	KCl	K ₂ HPO ₄	MgCl ₂ 6H ₂ O	CaCl	Na ₂ SO ₄
QTY	8g	0,3528g	0,2237g	0,1742g	0,3050g	0,3676g	0,0710g

Fonte: Autora.

A solução foi diluída em 1L de água destilada e agitada em temperatura ambiente por meio de um agitador magnético por 1 hora para que as partículas sólidas dos reagentes fossem totalmente diluídas, até atingir um pH 7,35 a 7,45 que é o valor do pH do sangue humano. Quando a solução atingiu o pH esperado, a mesma foi despejada em uma quantidade 30ml em placas de petri onde constavam as pastilhas sinterizadas. As amostras ficaram submersas durante 5 dias, sendo trocado o fluido a cada 1 dia e as amostras pesadas para verificação de perda de massa.

Figura 15: Preparação da solução para o SBF.



Fonte: Autora.

Figura 16: Despejamento de solução em placas de petri.



Fonte: Autora.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Espectrometria de Fluorescência de Raio X (FRX)

Com a técnica foi possível identificar a presença de Ti de forma majoritária na amostra de 100% TiO_2 , além de outros óxidos em menor quantidade. Já para a amostra de 100% HAp, mostra-se presente de forma dominante o CaO e P_2O_5 respectivamente. A composição das amostras de 75% HAp – 25% TiO_2 , 50% HAp – 50% TiO_2 e 25% HAp – 75% TiO_2 , manifestaram percentuais das duas substâncias aproximadas ao percentual que as nomeiam.

Tabela 05: Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 100% TiO_2 .

Fonte: Autora.

Tabela 06: Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 100% HAp.

FRX - 100% Titânia (TiO_2)				
Composição	P_2O_5	CaO	Ti	Ag
QTY	0,32%	0,18%	99,31%	0,15%

FRX -100% HAp						
Composição	MgO	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	Sr	Ag
QTY	0,17%	24,83%	0,14%	75,05%	0,15%	0,10%

Fonte: Autora.

Tabela 07: Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 75% HAp – 25% TiO₂.

FRX -75% HAp / 25% Titânia (TiO ₂)							
Composição	MgO	P ₂ O ₅	K ₂ O	CaO	Ti	Sr	Ag
QTY	0,11%	16,99%	0,106%	55,95%	26,46%	0,13%	0,10%

Fonte: Autora.

Tabela 08: Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 50% HAp – 50% TiO₂.

FRX -50% HAp / 50% Titânia (TiO ₂)					
Composição	P ₂ O ₅	CaO	Ti	Sr	Ag
QTY	9,70%	34,96%	54,90%	0,10%	0,14%

Fonte: Autora.

Tabela 09: Análise de FRX demonstrando o percentual de composição química da amostra de 25% HAp – 75% TiO₂.

Fonte: Autora.

FRX - 25% HAp / 75% Titânia (TiO ₂)				
Composição	P ₂ O ₅	CaO	Ti	Ag
QTY	5,14%	18,55%	75,98%	0,16%

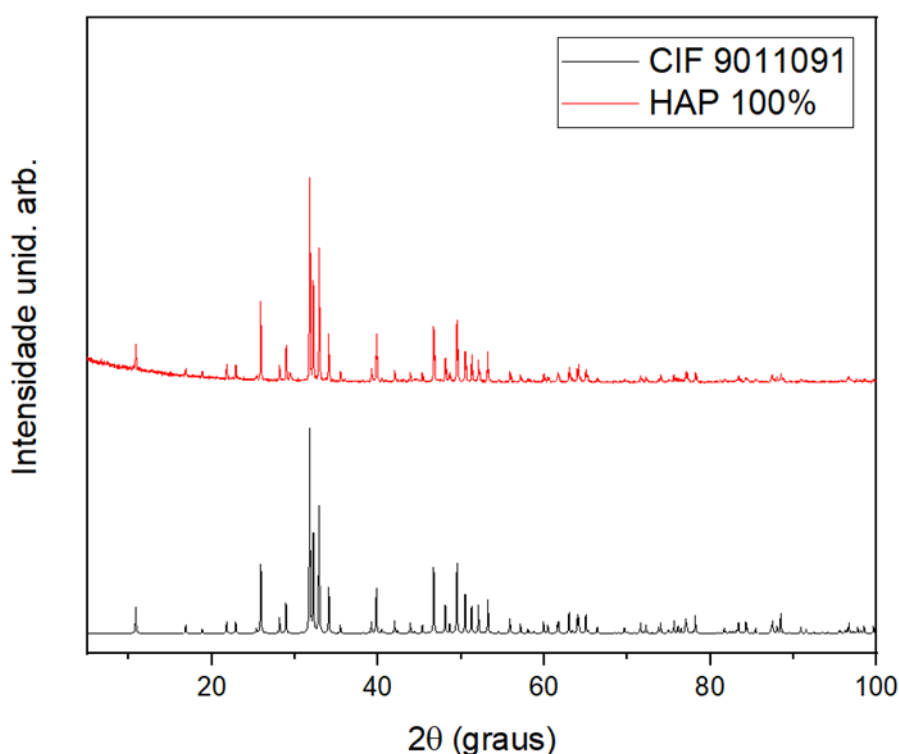
As escamas do *Arapaima gigas* apresentam boas propriedades para a produção de hidroxiapatita, pois a presença de substâncias como fosfato e cálcio é altamente relevante, como a análise mesmo de FRX identificou. Com isso as escamas se mostram uma grande candidata para ser utilizada como matéria prima na produção de hidroxiapatita por meio de fontes naturais. A titânia também apresentou características necessárias que eram esperadas em relação a composição com óxidos e titânio identificadas pela espectroscopia de FRX. Outro ponto importante dessa técnica é que o percentual presente de HAp e TiO₂ nas amostras dopadas foram comprovados com uma quantidade aproximada as proporções de cada uma, havendo uma pequena diferença em relação a exatidão desses percentuais, podendo ser um problema de perda de amostra durante a fabricação das mesmas ou até mesmo uma balança de precisão descalibrada.

5.2. Difractometria de Raio X (DRX)

A técnica de DRX foi utilizada para identificar fases cristalinas dos materiais utilizados no trabalho em comparação com os padrões CIF (Crystallographic Information File) já existentes em literaturas diversas e base de dados.

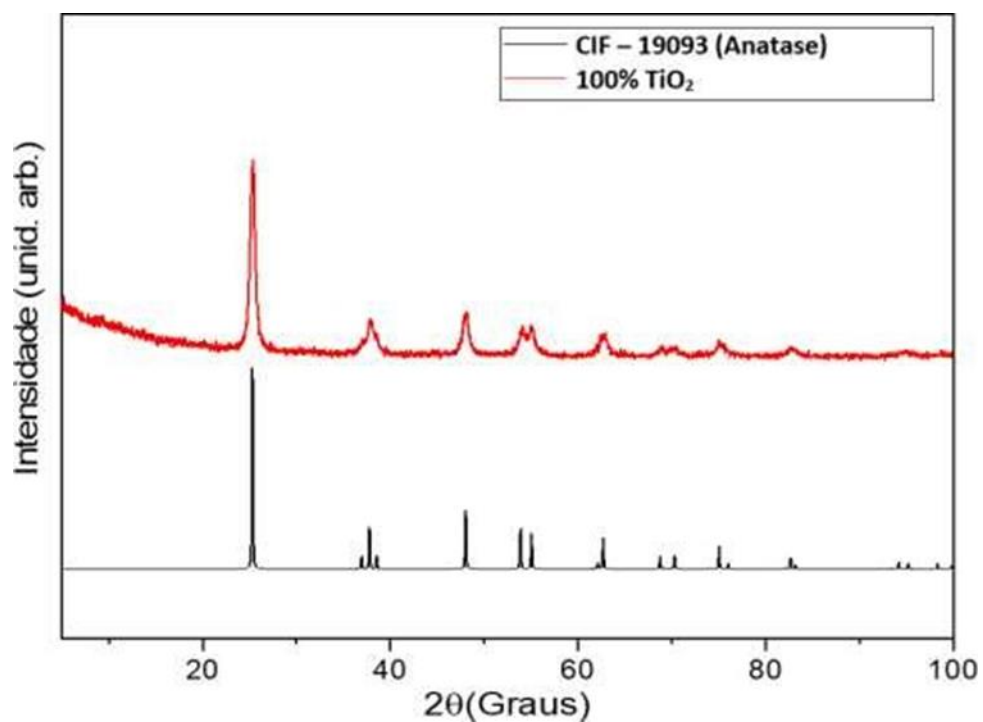
A figura 17 apresenta os dados de DRX da hidroxiapatita, a mesma foi comparada com um padrão cristalográfico CIF-9011091, extraído da base de dados ICSD. A partir da observação da comparação entre os padrões, é possível verificar que a amostra corresponde a uma fase única de hidroxiapatita, apresenta picos estreitos e com uma linha de base sem elevações, o que nos mostra que temos um material cristalino. Os picos mais intensos das amostras, são encontrados entre 30° - 40° de 2θ .

Figura 17: DRX da amostra de 100% HAp.



Fonte: Autora.

A amostra de DRX do Titânio foi comparada com um padrão cristalográfico CIF-19093, também extraído da base de dados ICSD, sua estrutura foi relacionada alótropo de anatase. Trata-se de um material cristalino, e que possui uma maior orientação em aproximadamente 25° de 2θ , onde verificamos o pico mais intenso.

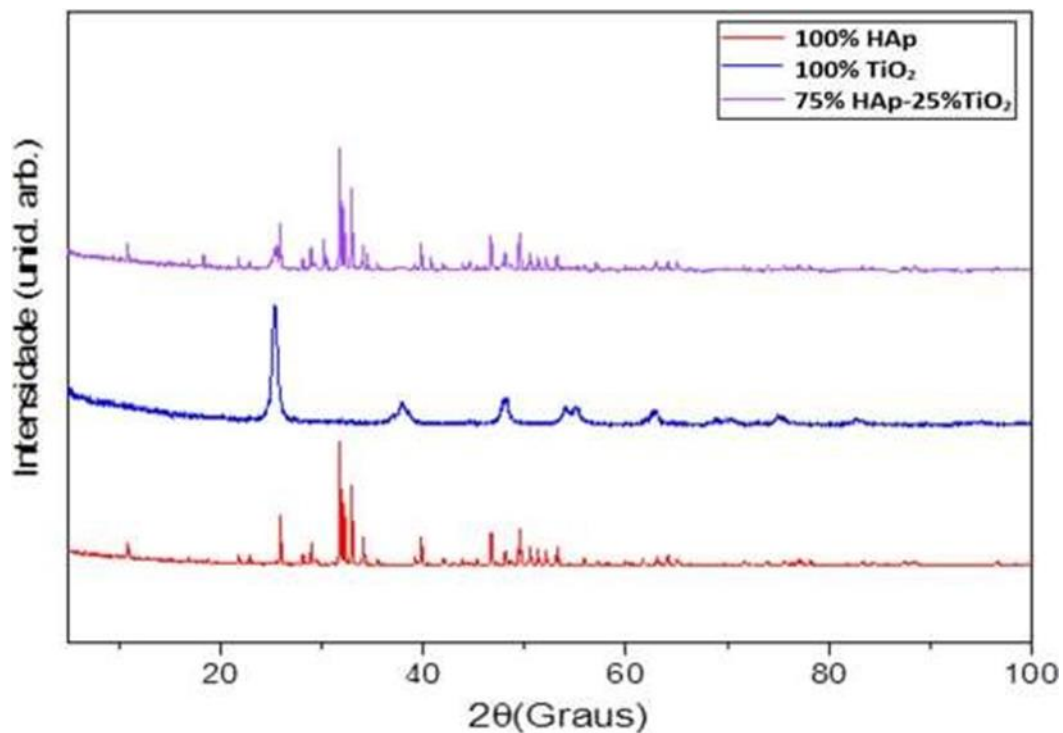
Figura 18: DRX da amostra de 100% TiO₂.

Fonte: Autora.

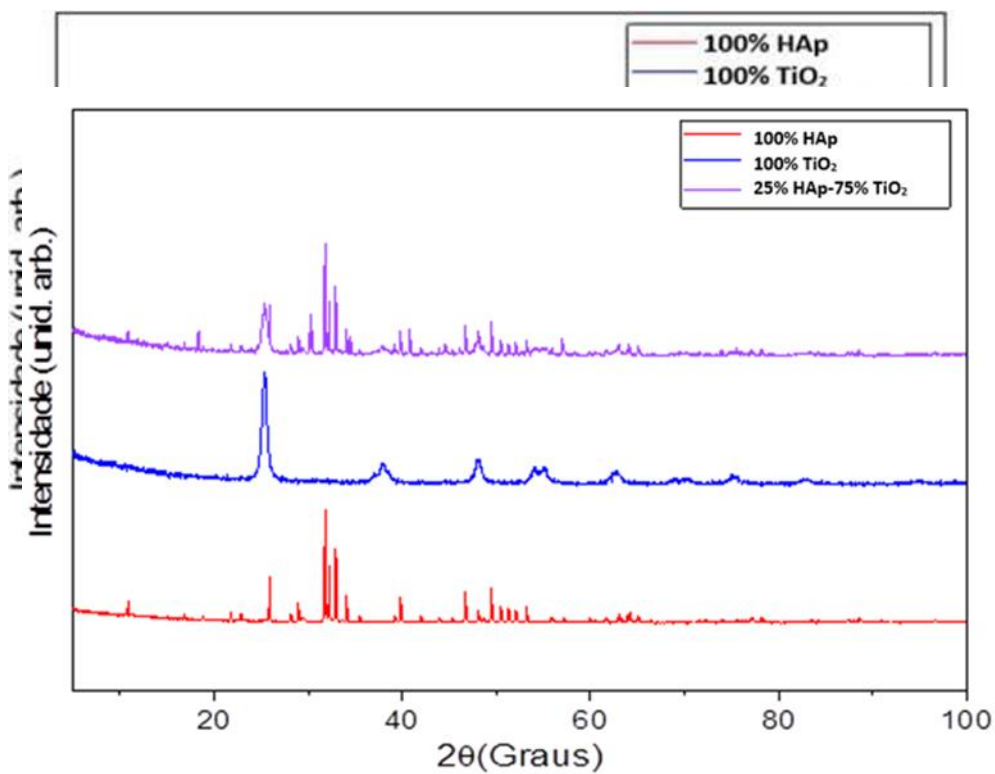
As misturas apresentadas através das figuras 19, 20 e 21, mostraram que o material em mistura permaneceu com uma boa cristalinidade para todas as amostras analisadas.

Figura 19: DRX da amostra de 75% HAp – 25% TiO₂

Fonte: Autora.

Figura 20: DRX da amostra de 50% HAp – 50% TiO₂.

Fonte: Autora.

Figura 21: DRX da amostra de 25% HAp – 75% TiO₂.

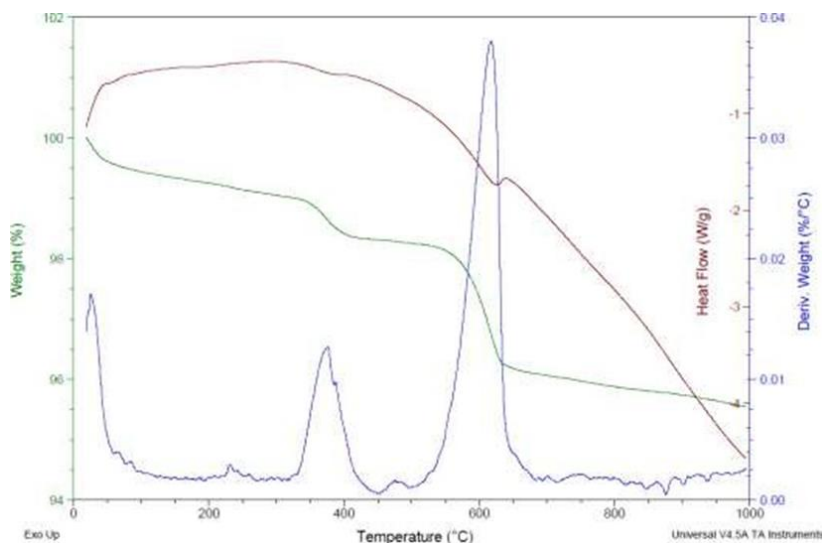
Fonte: Autora.

Nota-se que referente ao DRX foi possível identificar que para a amostra de HAp a cristalinidade foi obtida nos mesmos pontos do padrão ICSD 9011091, provando assim estar na fase cristalina ideal que a hidroxiapatita deve ter. Para a amostra de TiO_2 é observado que as fases presentes correspondem a morfologia de anatase com o padrão ICSD 19093, sendo assim esse material também se encontra em padrões já estabelecidos por bases de dados científicas e literárias. Portanto as amostras dopadas apresentam assim, a presença dos dois materiais em seus picos de cristalinidade, tendo picos mais intensos de HAp conforme o percentual é alterado.

5.3. Termogravimetria De Massa (TG) Termogravimetria Derivada (DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Através da curva termogravimétrica TG (Curva verde), verificamos que o primeiro patamar de decaimento térmico tem início em 0°C e vai até aproximadamente 350°C representando uma perda de massa de aproximadamente 1,5% até o segundo patamar, se compararmos com a curva DTG (curva azul), verificaremos um único pico que representa um evento térmico acontecendo em uma faixa que vai de 350°C até a um pouco acima de 400°C . O segundo patamar de decaimento térmico observado na curva de TG, vai até aproximadamente a temperatura de 560°C , após isso, verifica-se uma perda de massa mais acentuada até a temperatura de 640°C , com um perda de massa de 4% do total do material, após o segundo patamar é também onde é observado o maior pico na curva de DTG, bem como uma reação endotérmica identificada através da curva de DSC (Curva vermelha) na temperatura de 600°C . Toda essa discussão é demonstrada através da figura 17, que representa uma amostra de 100% HAp, que em até 1000°C , apresenta uma perda de massa menor que 5%.

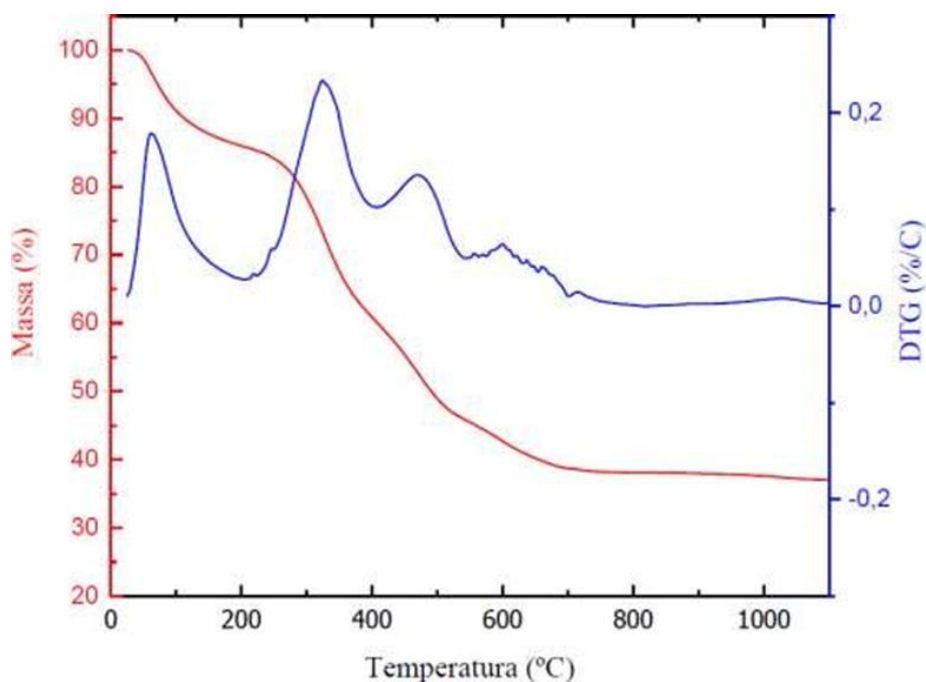
Figura 22: Gráfico de TG/DSC da amostra 100% HAp.



Fonte: Autora.

A amostra de TiO_2 apresentada, nos mostra um material que apresenta uma boa estabilidade térmica, uma vez que não foi verificada uma grande variação de perda de massa após a temperatura de 150°C , contudo, é possível que o material tenha absorvido umidade, uma vez que observa-se um grande decaimento de massa no início do aquecimento.

Figura 23: Gráfico de TG e DTG da Hidroxiapatita obtida a partir do *Arapaima gigas* presente em literatura atual.



Fonte: CAVALCANTE, 2019.

Figura 24: Gráfico de TG/DSC da amostra 100% TiO₂.

Fonte: Autora.

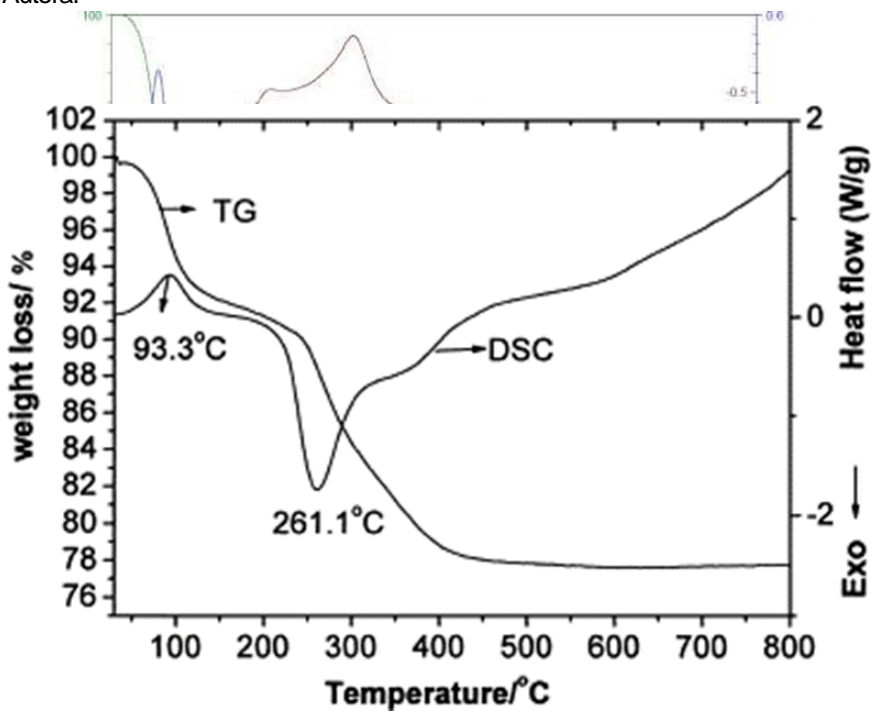
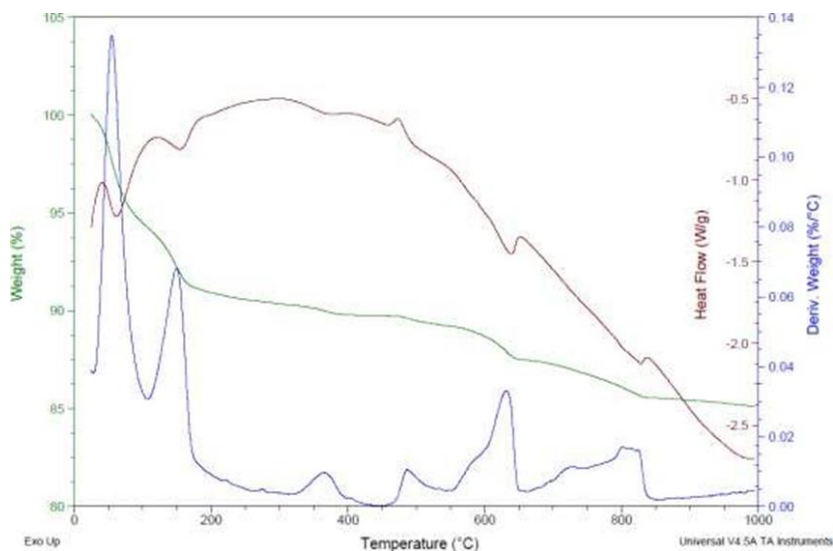


Figura 25: Gráfico de TG/DSC do TiO₂ na morfologia de Anatase presente em literatura

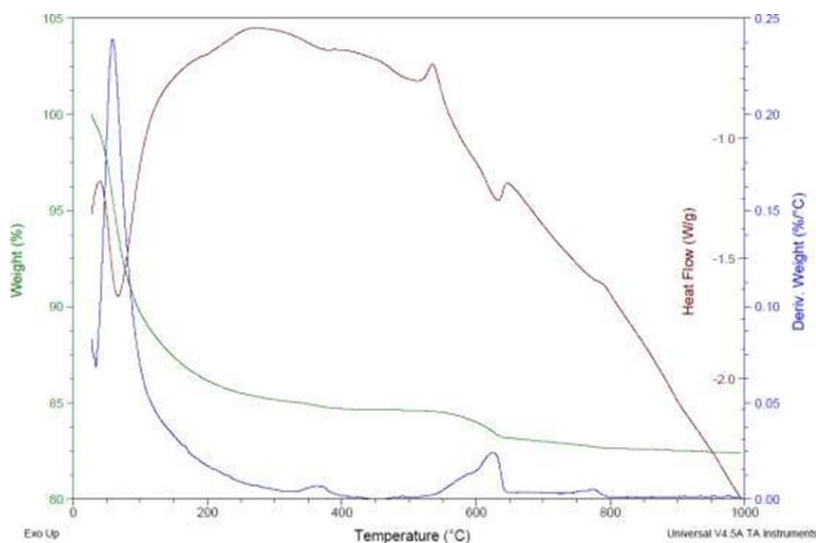
Fonte: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167577X03007961>.

Figura 26: Gráfico de TG/DSC da amostra de 75% HAp – 25% TiO₂.



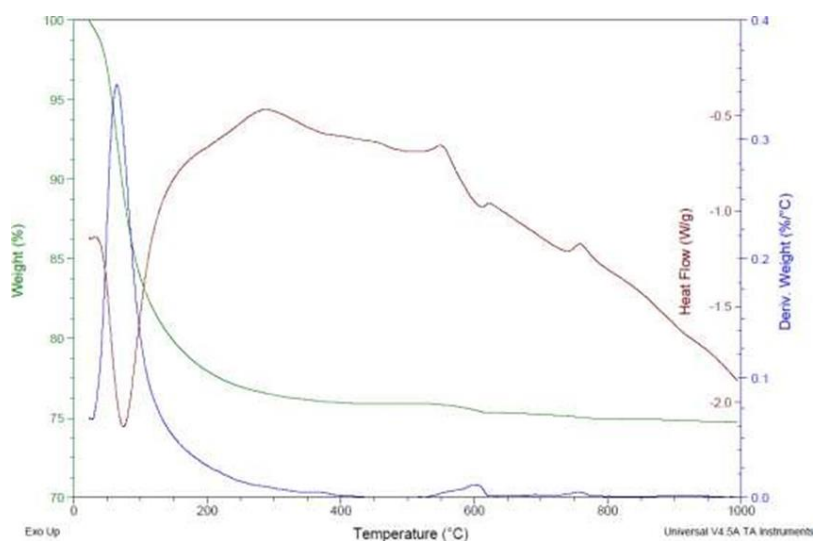
Fonte: Autora.

Figura 27: Gráfico de TG/DSC da amostra de 50% HAp – 50% TiO₂.



Fonte: Autora.

Figura 28: Gráfico de TG/DSC da amostra de 25% HAp – 75% TiO₂.



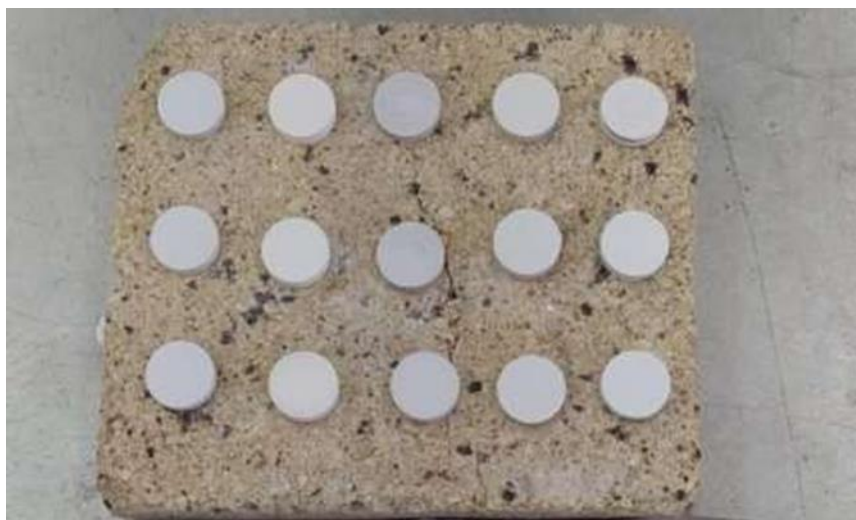
Fonte: Autora.

Já a TG mostra que a perda de massa da amostra ocorre logo no início do aquecimento, sendo associado com os picos exotérmicos do DSC, caracterizando perda de umidade, queima de matéria orgânica e formação de fases (cristais) de HAp entre 800°C a 1000°C, conforme a literatura estabelece. A titânia mostra uma brusca perda de massa também no início do aquecimento, sendo uma queda característica desse material já registrada em outras pesquisas, o pico exotérmico bem acentuado prova a

reação de desidratação do material e formação da fase de anatase entre 400° e 600° com a curva atingindo uma estabilidade. Assim como nas outras técnicas, as amostras dopadas mostram as duas características dos materiais, sendo alteradas conforme o percentual de HAp e TiO₂ presente na amostra.

5.4. Produção de pastilhas e ensaio mecânico de compressão

Figura 29: Corpos de prova em triplicata prensados antes de serem sinterizados.



Fonte: Autora.

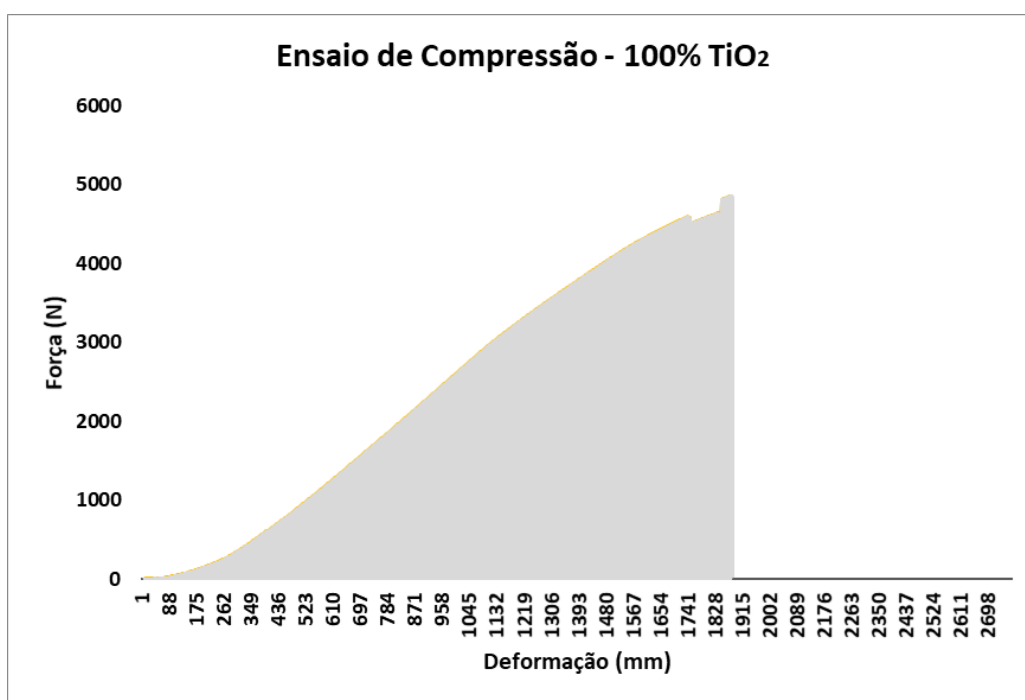
Figura 30: Corpos de prova em triplicata prensados depois de serem sinterizados.



Fonte: Autora.

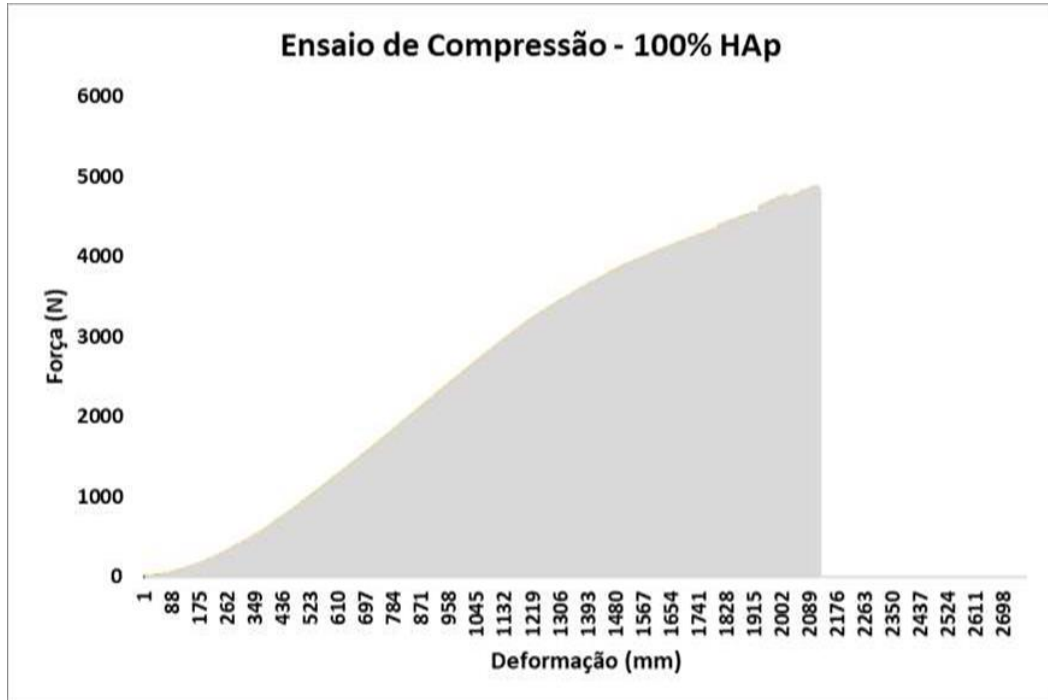
Antes mesmo da sinterização é notável a estrutura das pastilhas em relação a fragilidade variada conforme o grau de hidroxiapatita é alterado. A amostra de 100% HAp se mostrou totalmente compacta e resistente, já a de 100% TiO₂ por mais que tenha apresentado uma boa compactação não era adá resistente. As amostras dopadas se tornavam menos resistentes conforme o percentual de HAp era diminuído. Após o processo de sinterização, fica claro a alteração de tamanho, massa e coloração das amostras, isso ocorre devido as interações de ocorrem nas pastilhas conforme o grau de composição de HAp. A titânia apresentou grande variação de massa e as amostras com maiores percentuais da mesma eram alteradas conforme essa quantidade. Além disso o processo de sinterização deixou as amostras com menos HAp menos resistentes ainda.

Figura 31: Ensaio de compressão da amostra de 100% TiO₂.



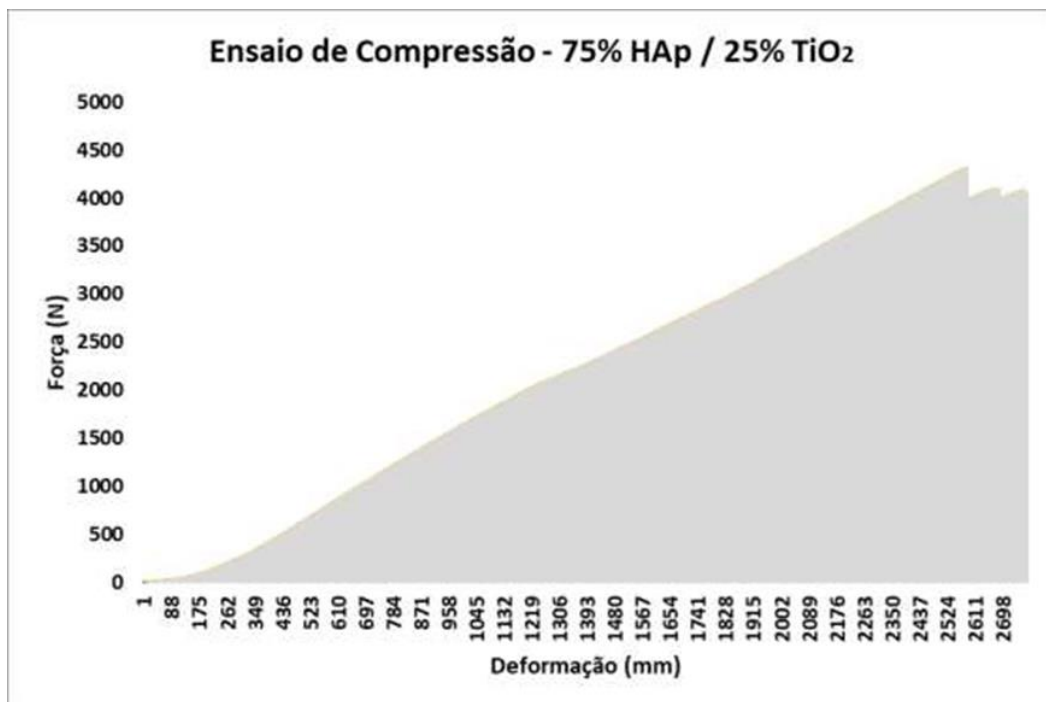
Fonte: Autora.

Figura 32: Ensaio de compressão na amostra de 100% HAp.



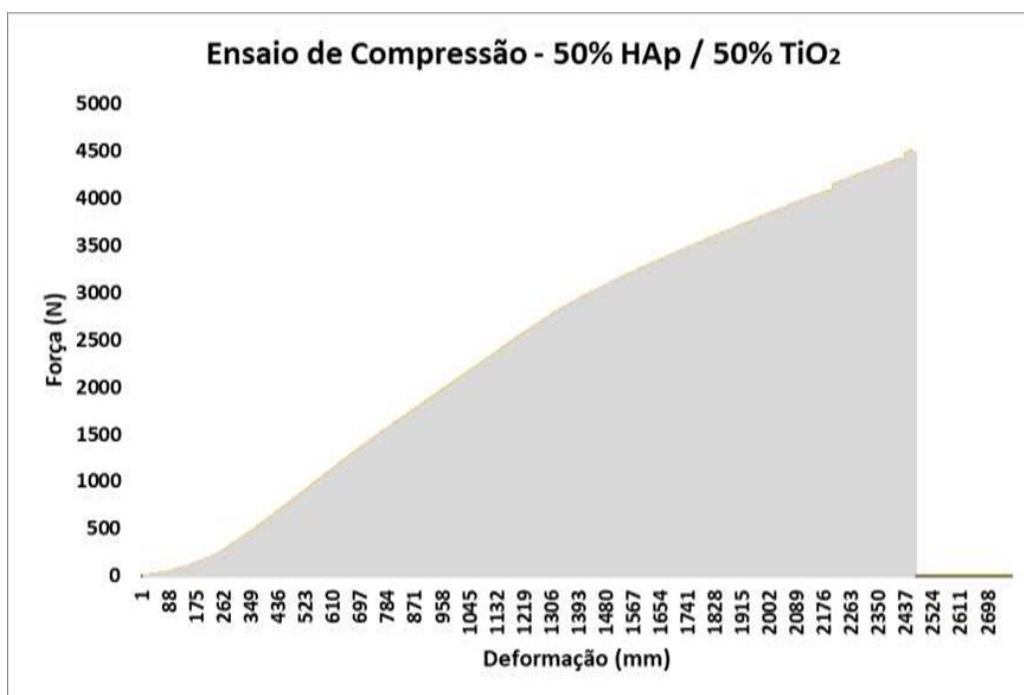
Fonte: Autora.

Figura 33: Ensaio de compressão na amostra de 75% HAp – 25% TiO₂



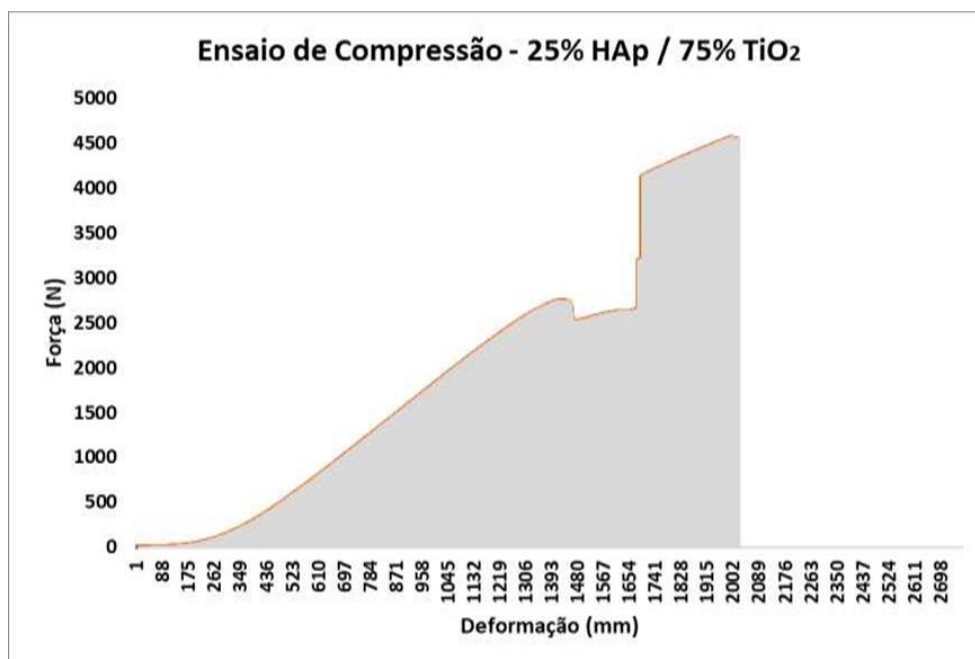
Fonte: Autora.

Figura 34: Ensaio de compressão na amostra de 50% HAp – 50% TiO₂.



Fonte: Autora.

Figura 35: Ensaio de compressão na amostra de 25% HAp – 75% TiO₂.



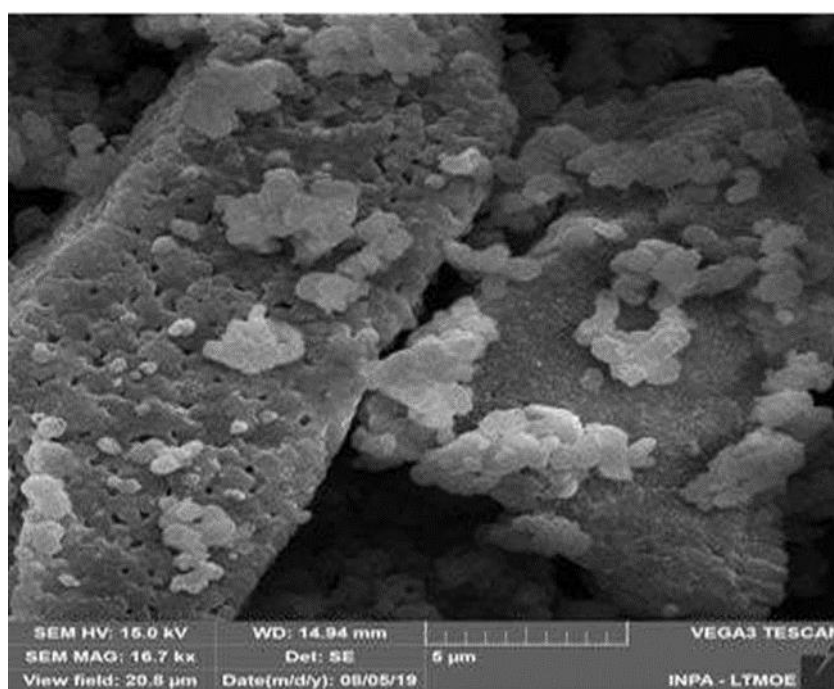
Fonte: Autora.

Para comprovar a resistência mecânica dessas pastilhas, o ensaio mecânico apontou que a amostra de titânia teve seu primeiro rompimento próximo as 4.2 kN aplicados. A hidroxiapatita se mostrou mais resistente em comparação ao TiO_2 com um rompimento próximo ao limite do equipamento (5 kN). Em relação as outras amostras a resistência mecânica variou conforme o percentual de HAp, sendo a de 75% HAp a mais resistente das três, seguidas da de 50% e 25%.

5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

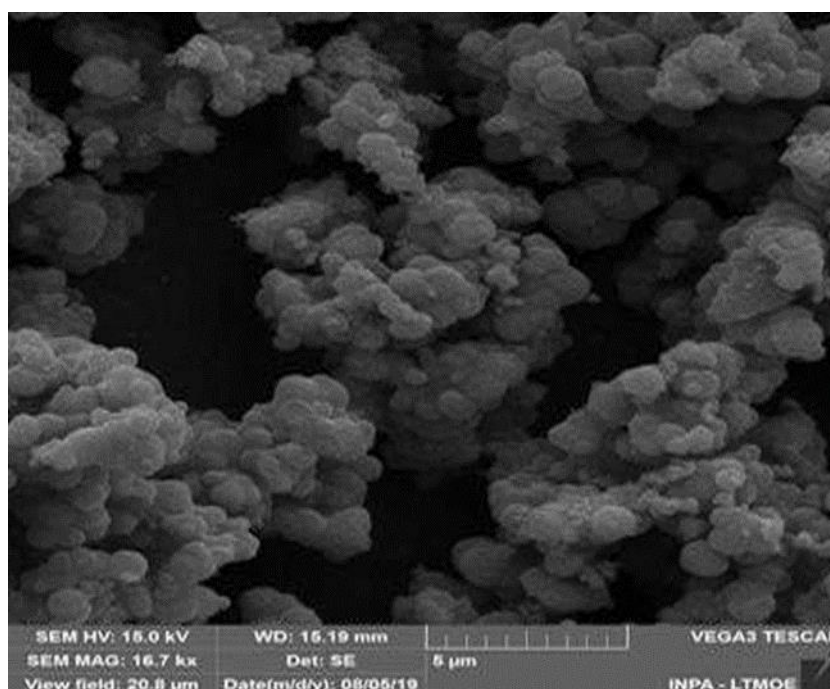
A Técnica foi aplicada apenas em 3 amostras, pela limitação de tempo de uso do laboratório cedido de forma gratuita, sendo as mesmas a de 100% HAp, 100% TiO_2 e 75% HAp – 25% TiO_2 .

Figura 36: MEV da amostra de 100% HAp.



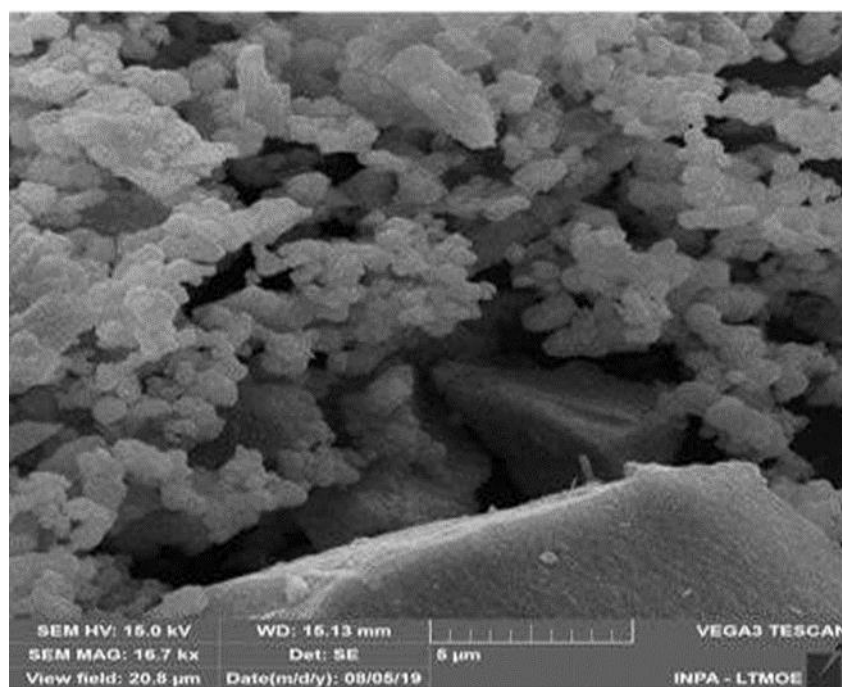
Fonte: Autora.

Figura 37: MEV da amostra de 100% TiO_2 .



Fonte: Autora.

Figura 38: MEV da amostra de 75% HAp – 25% TiO₂.



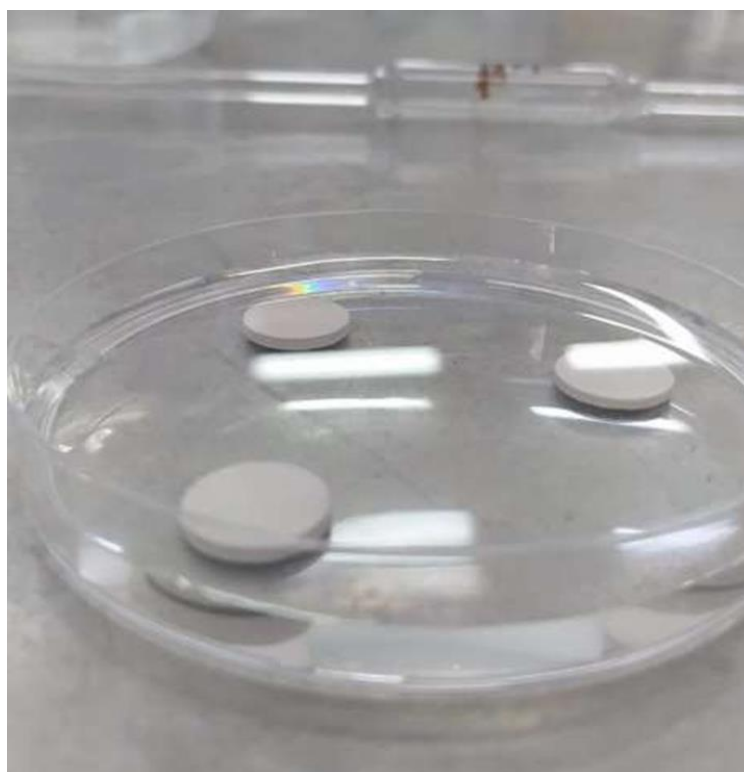
Fonte: Autora.

A microscopia eletrônica de varredura apontou as partículas de HAp em uma morfologia semelhante a um couve flor, característica da HAp presente em várias

literaturas. Já a titânia mostra partículas esféricas aglomeradas como o comportamento de partículas que a anatase tem quando submetida a microscopia. Como a amostra de 75% HAp – 25% TiO₂ se mostrou mais relevante que as outras duas amostras dopadas, ela foi a única a ter a morfologia analisada no MEV, se comportando exatamente como as outras técnicas já configuraram, há a presença das duas morfologias nas partículas ligadas, provando que a interação de hidroxiapatita e titânia é totalmente possível.

5.6. Teste de bioatividade SBF *in vitro*

Figura 39: Amostras submersas na solução SBF.



Fonte: Autora.

Tabela 10: Massa das pastilhas antes da técnica de SBF.

Massa das Pastilhas Antes do Ensaio SBF					
-	100% HAp	100% TiO ₂	75% HAp - 25% TiO ₂	50% HAp - 50% TiO ₂	25% HAp - 75% TiO ₂
-	1,32	1,22	1,16	1,41	1,16
-	1,14	1,37	1,22	1,34	1,22
-	1,28	1,11	1,36	1,28	1,36
Média (g)	1,25	1,23	1,25	1,34	1,25

Fonte: Autora.

Tabela 11: Massa das pastilhas depois da técnica de SBF.

Massa das Pastilhas Depois do Ensaio SBF					
-	100% HAp	100% TiO ₂	75% HAp - 25% TiO ₂	50% HAp - 50% TiO ₂	25% HAp - 75% TiO ₂
-	0,61	0,51	0,79	0,74	0,63
-	0,59	0,56	0,81	0,79	0,59
-	0,55	0,63	0,78	0,69	0,61
Média (g)	0,58	0,57	0,79	0,74	0,61

Fonte: Autora.

Tabela 12: Variação de massa das pastilhas depois da técnica de SBF.

Variação de Massa das Pastilhas Ocasionalada Pelo Ensaio SBF					
	100% HAp	100% TiO ₂	75% HAp - 25% TiO ₂	50% HAp - 50% TiO ₂	25% HAp - 75% TiO ₂
Antes	1,25	1,23	1,25	1,34	1,25
Depois	0,58	0,57	0,79	0,74	0,61
Variação (g)	0,336666667	0,333333333	0,546666667	0,396666667	0,363333333

Fonte: Autora.

Como já notado no teste de SBF as amostras de HAp e TiO₂ perderam uma quantidade de massa considerável em 5 dias de teste e como já esperado a amostra de 75% HAp se mostrou com uma maior perda de massa em relação as outras dopadas e até mesmo a de 100% HAp, isso porque a amostra interagiu melhor com o fluido simulador do sangue humano, se degradando mais rápido que as outras e com isso se provou ser a mais biocompatível das amostras.

6. CONCLUSÃO

Nota-se que a utilização de recursos providos a partir de rejeitos pesqueiros, neste caso escamas, podem ser uma via de produção de biocerâmicas de forma precisa e eficaz. As propriedades da escama do Pirarucu possuem eficiência altamente comprovada, pois a química presente no material possibilita, por meio de tratamentos térmicos, a obtenção de vários fosfatos de cálcio, como a hidroxiapatita. Além de ser uma estratégia ecológica de reaproveitamento de resíduos, o meio de obtenção de HAp apresentada, não possui custo elevado e nem necessita de muitos recursos para aplicação em linhas de pesquisa.

Através de todas as técnicas é possível notar que a amostra de 75% HAp – 25% TiO₂ é a mais adequada para um possível uso em produção de *scaffolds*, pois possui maior resistência mecânica e maior compatibilidade com o sangue. Para que isso seja 100% comprovado, sugere-se que mais testes como de porosidade, densidade e testes *in vivo* sejam realizados para que garantam o uso desse material na aplicação médica necessária.

7. REFERÊNCIAS

ABDELHALIMA, M. A. K. BANDAR, M. A. S. The physical properties of phosphate calcium glass doped with titanium oxide nanoparticles. Department of Physics and Astronomy, College of Science, King Saud University, P.O. Box 2455, Riyadh 11451, Saudi Arabia. 2018. Medical Physics Section, Department of Radiodiagnostic and Medical Imaging, King Fahad Armed Forces Hospital, P.O. Box 9862, Jeddah 21159, Saudi Arabia. 2018.

AMORIM M. O. Síntese e caracterização de hidroxiapatita natural extraída de escamas de pirarucu (*Arapaima gigas*). Revista Matéria, Rio de Janeiro, RJ, 25 de janeiro de 2020.

ARBIND, P. State of art review on bioabsorbable polymeric *scaffolds* for bone tissue. Engineering. Mechanical Engineering Department, Katihar Engineering College, (Department of Science & Technology, Govt. of Bihar), Katihar, Bihar 854109, India, 2021.

ARUMUGAM, R. Development of novel mechanically stable porous nanocomposite (PVDF-PMMA/HAp/TiO₂) film *scaffold* with nanowhiskers surface morphology for bone repair applications. a Centre for Nanoscience and Technology, Pondicherry University, Pondicherry, India. 2019.

BAINO, F.; CADDEO, S.; NOVAJRA, G.; ITALE-BROVARONE, C, V Using porous bioceramic *scaffolds* to model healthy and osteoporotic bone, Journal of the European Ceramic Society, v, 36, n, 9, p, 2175-2182, 2016.

CAVALCANTE, L. D. A. DESENVOLVIMENTO DE BIOCERÂMICA POROSA A PARTIR DA HIDROXIAPATITA EXTRAÍDA DE ESCAMAS DE PIRARUCU (*Arapaima gigas*). Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM) da Universidade Federal do Amazonas, como requisito para obtenção do título de Mestre em Ciência e Engenharia de Materiais. Área de concentração: Propriedades físicas, mecânicas e modelagem de materiais. Manaus, AM. 2019.

FIHRI, A. et al. Hydroxyapatite: A review of syntheses, structure and applications in heterogeneous catalysis. *Coordination Chemistry Reviews*. v. 347. p. 48–76. 2017.

FONSECA, F. M. Síntese de hidroxiapatita dopada com prata. 2015. 120 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Materiais) - Instituto Militar de Engenharia – IME, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

GALDINO, A. G. S. Produção e caracterização de arcabouços porosos de compósitos hidroxiapatita-Titânia (HA-TiO₂) para uso em engenharia tecidual óssea. 2011. 148 f. Tese (Obtenção do título de doutor em Engenharia Mecânica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, 2011.

GOTO, T. CHO, S. H. OHTSUKI, C. SEKINO, T. Selective adsorption of dyes on TiO₂-modified hydroxyapatite photocatalysts morphologically controlled by solvothermal synthesis. The Institute of Scientific and Industrial Research (ISIR-SANKEN), Osaka University, 8-1 Mihogaoka, Ibaraki, Osaka 567-0047, Japan 2021.

GOTO, T. Photocatalytic properties and controlled morphologies of TiO₂-modified hydroxyapatite synthesized by the urea-assisted hydrothermal method. The Institute of Scientific and Industrial Research (ISIR), Osaka University, 8-1 Mihogaoka, Ibaraki, Osaka 567-0047, Japan, 2020.

HASHIM, M. S. KHALEEL, R. S. The bioactivities of prepared Ti, Zn, TiO₂, ZnO and Al₂O₃ nanoparticles by rapid breakdown anodization technique. Physics Department, Education College, Mustansiriyh University, Baghdad, Iraq, 2020.

HERNÁNDEZ, E. J. G. P.; CARVALHO JR., R. N.; JOELE, M. R. S. P.; ARAÚJO, C. S.; LOURENÇO, L. F. H. Effects of modified atmosphere packing over the shelf life of sous vide from captive pirarucu (*Arapaima gigas*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. v. 39. p. 64-100. 2017.

JANGA, J. M. KIMB, S. PARKC, T. HAN, C. Ultra-fine structures of Pd-Ag-HAp nanoparticle deposition on protruded TiO₂ barrier layer for dental implant. Department of Integrative Medical Sciences, Nambu University, Gwangju, Republic of Korea, 2018. Department of Mechanical System Engineering, Nambu University, Gwangju, Republic of Korea, 2018. Department of Research and Development, Eco-Tech Korea,

Gwangju, Republic of Korea, 2018. Department of Dental Materials & Research Center of Nano-Interface Activation for Biomaterials, College of Dentistry, Chosun University, Republic of Korea, 2018.

LI. Z.; JIA. S.; XIONG. Z.; LONG. Q.; YAN. S.; HAO. F.; LIU. J.; YUAN. Z. 3D-printed *scaffolds* with calcified layer for osteochondral tissue engineering. Journal of Bioscience and Bioengineering. 2018.

LIM, S. S. FOO, D. C. Y. Simulation and scale-up study for a chitosan–TiO₂ nanotubes *scaffold* production. Department of Chemical & Environmental Engineering, University of Nottingham Malaysia Campus, 43500 Semenyih, Selangor, Malaysia, 2017.

MASAKAZU, K. Yuta, I. KANAE, S. MAIKO, K. Y. HIROYASU, K. Surface structure and *in vitro* apatite-forming ability of titanium doped with various metals. Graduate School of Engineering, Tohoku University, Sendai 980-8579, Japan, 2018. Graduate School of Dentistry, Tohoku University, Sendai 980-8575, Japan, 2018.

MUNDSTOCK, K. B. OLIVEIRA, A. P. N. Avaliação Da Biocompatibilidade De Vidro E Vitrocerâmica Do Sistema SNCP (SiO₂-Na₂O-CaO-P₂O₅). Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. 2012.

PRAKASH, C. WANDRA, R. SINGH, S. PRAMANIK, A. BASAK, A. AGGARWAL, A. N. Synthesis of functionalized TiO₂-loaded HAp-coating by ball-burnishing assisted electric discharge cladding process. School of Mechanical Engineering, Lovely Professional University, Punjab, India, 2021. Mechanical Engineering, National University of Singapore, Singapore, 2021. School of Civil and Mechanical Engineering, Curtin University, Australia, 2021. Adelaide Microscopy, The University of Adelaide, Australia e Department of Orthopedic Surgery, Post Graduate Institute of Medical Education & Research, Chandigarh, India 2021.

SANTOS, A. G. A. Síntese e Caracterização de Hidroxiapatita obtida A partir da Casca de Ovo de Galinha para Aplicação em Biocerâmicas. Universidade Federal do Pará. Faculdade de Engenharia de Materiais. Ananindeua, Pará. 2019.

SHERMAN. V. R.; QUAN. H.; YANG. W.; RITCHIE. R. O.; MEYERS. M. A. A comparative study of piscine defense: The scales of *Arapaima gigas*. *Latimeria chalumnae* and *Atractosteus spatula*. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. n. 73. p. 1-16. 2017.

TOMAS. S.; BALAKRISHNAN. P.; SREEKALA. M. S. *Fundamental Biomaterials: Ceramics*. Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Elsevier. 2018.

UMAR, M. *Arabinoxylan-co-AA/HAp/TiO₂ nanocomposite scaffold potential material for bone tissue engineering: An *in vitro* study*. a Department of Polymer Engineering and Technology, University of the Punjab, Lahore 54590, Pakistan. 2020.