INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

HIDROXIAPATITA SINTÉTICA NANOESTRUTURADA E ESMALTE DENTAL AQUECIDOS E IRRADIADOS POR LASER DE Er,Cr:YSGG. CARACTERIZAÇÃO POR FTIR E POR DRX.

JOSÉ DA SILVA RABELO NETO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Maria Zezell

SÃO PAULO
2009

INSTITUTO DE PESQUISAS ENERGÉTICAS E NUCLEARES
Autarquia Associada à Universidade de São Paulo

HIDROXIAPATITA SINTÉTICA NANOESTRUTURADA E ESMALTE DENTAL AQUECIDOS E IRRADIADOS POR LASER DE Er,Cr:YSGG. CARACTERIZAÇÃO POR FTIR E POR DRX.

JOSÉ DA SILVA RABELO NETO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais.

Orientadora: Profa. Dra. Denise Maria Zezell

SÃO PAULO
2009

Dedicatória

Aos meus pais, Cláudio e Maria Emilia, por todo apoio, ajuda e por todos os ensinamentos de vida e exemplos que me influenciaram a sempre buscar uma vida digna e honesta.

Aos meus irmãos, Cláudio, Cláudia e Marília pelos momentos de aprendizados conjuntos de vida.

À minha esposa, Andrezza, por ter me apoiado, pelos exemplos de perseverança, por ter me dado forças em todos os momentos difíceis, pelo companheirismo, paciência, compreensão e principalmente por todo amor que me faz a cada dia ter empenho em encarar e vencer todos os desafios da vida. A vitória é nossa.

Aos meus sogros, Fátima e Vitório, por todo o apoio e ajuda em todos os momentos.

Agradecimentos especiais

A Profa. Dra. Denise Maria Zezell, pela oportunidade de ter a honra de ser orientado por esta pessoa amável, competente, amiga e que me ensinou muito nesta jornada.

Ao Prof. Dr. Mário Ernesto Giroldo Valério, a quem atribuo os meus primeiros aprendizados no mundo científico, um mentor que me deu exemplos de competência, liderança, justiça e a busca da verdade.

A Profa. Dra. Vera Lúcia Mazzocchi e ao Prof. Dr. Carlos Benedicto Ramos Parente, por toda a ajuda, ensinamentos científicos e pessoais e por toda compreensão.

Agradecimentos

A Profa. Dra. Sônia Licia Baldochi, pelos conselhos de grande relevância para minha formação científica e para o desenvolvimento da pesquisa.

Ao Prof. Dr. Gessé Eduardo Calvo Nogueira, pelos questionamentos engrandecedores apresentados no exame de capacidade.

Ao Prof. Dr. Luciano Bachmann, pelos conselhos científicos, discussões, apoio e sempre aberto e disposto a contribuir para a evolução científica.

A Profa. Dra. Patrícia Aparecida da Ana, pelas discussões e elucidações dos questionamentos científicos na área de aplicação de laser na odontologia, pelo exemplo de competência e de postura diante dos desafios da ciência.

À Profa. Dra. Martha Simões Ribeiro pelo uso de equipamentos do laboratório e pelo apoio no desenvolvimento do trabalho científico.

Ao Prof. Dr. Reginaldo Muccillo do CCTM-IPEN, pelo uso de equipamentos do laboratório para desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas de laboratório e amigos Carolina, Moisés, Felipe, Viviane, Thiago, Claudia, José Quinto, Ilka por todos os momentos de aprendizados e ensinamentos no desbravar dos questionamentos da pesquisa científica.

Ao Waldir pelo apoio técnico nos trabalhos desempenhados no Laboratório de Biofotônica.

Ao Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares (IPEN-CNEN/SP), em particular o Centro de Lasers e Aplicações (CLA) pela oportunidade de aprimorar minha formação de pesquisador e de utilizar suas instalações para desenvolver o trabalho de pesquisa.

Ao Laboratório Nacional de Luz Síncroton (LNLS/CNPq) pela aprovação de projeto para utilização da sua linha D12A - XRD1 7760 para coleta dos difratogramas de raios-X das amostras deste trabalho científico.

Ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido por meio da bolsa de mestrado da quota institucional IPEN-USP.

A Rede de Nanofotônica - MCT/CNPq 29/2005 - Processo 555170/2005-5 pelos auxílios financeiros ao presente trabalho.

A FAPESP pelo auxílio financeiro concedido através do processo CEPID - Centro de Pesquisa, Inovação e Divisão de Óptica e Fotônica - 05/51689-2.

A CAPES pelo auxílio financeiro concedido através do processo PROCAD - 0349/05-4.

"Saiba dominar-se e vencer-se a si mesmo. Vitorioso não é aquele que vence os outros, mas o que vence a si mesmo, dominando seus vícios e superando seus defeitos. A vitória sobre si mesmo é muito difícil, e quem consegue isto pode ser classificado como verdadeiro herói. Aprenda a dominar-se, e jamais desanime. Se desta vez não conseguiu, recomece e um dia sairá vitorioso."

Autor desconhecido

HIDROXIAPATITA SINTÉTICA E ESMALTE DENTAL AQUECIDOS E IRRADIADOS POR LASER DE Er,Cr:YSGG. CARACTERIZAÇÃO POR FTIR E POR DRX.

José da Silva Rabelo Neto

RESUMO

Este estudo procurou avaliar as mudanças físicas e/ou químicas que ocorrem na hidroxiapatita (HAP) sintética e na presente no esmalte dental sob ação de aquecimento térmico em forno ou irradiação com o *laser* de Er,Cr:YSGG (2,79 μm). Busca-se obter variações em sua estrutura a fim de torná-los mais resistentes à desmineralização, visando e prevenir a formação da cárie dental. A HAP sintética foi produzida pela reação das soluções de $Ca(NO_3)$ e $(NH_4)_2HPO_4$ com controle de temperatura e pH. O esmalte foi coletado do dentes bovinos e triturados. As amostras em pó de HAP sintética e esmalte foram submetidas a aquecimento térmico em forno nas temperaturas de 200 °C, 400 °C, 600 °C, 800 °C e 1000 °C. Foram feitas irradiações laser com 5,79 J/cm^2, 7,65 J/cm^2, 10,55 e 13,84 J/cm^2 para a HAP sintética e de 7,53 J/cm^2, 10,95 J/cm^2 e 13,74 J/cm^2 para o esmalte. As amostras foram avaliadas por difração de raios-X(DRX) para análise das fases cristalográficas presentes e análise pelo método de Rietveld para comprovação destas fases cristalográficas e determinação de respectivas proporções no material. Foram obtidos também as variações de parâmetros de rede da cela unitária (eixo-a, eixo-c e volume), tamanho dos cristalitos e taxas de ocupações dos sítios dos átomos de Ca e P de ambos os materiais. As amostras foram ainda analisadas por espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), que mostrou as variações composicionais ocasionadas pelos tratamentos calculando-se as áreas das bandas referentes aos radicais carbonato, fosfato, água adsorvida e hidroxila. A termografia no infravermelho foi usada para medir a temperatura superficial gerada pelo feixe do *laser* nas amostras sólidas de esmalte. Com relação às fases cristalográficas presentes só foram encontradas além da fase majoritária de hidroxiapatita, as fases de fosfato de octacálcio (OCP) nas amostra de HAP sintética e tricálcio

fosfato da fase β (β-TCP) no esmalte aquecido a 800 °C. Apresentaram-se mudanças nos parâmetros de rede da cela unitária da HAP sintética e do esmalte, com diminuição do eixo-a, volume e tamanho dos cristalitos até as temperaturas entre 400 °C e 600 °C e também nas amostras irradiadas a laser. Acima da temperatura de 600 °C há o aumento destes parâmetros de rede. A relação Ca/P em todas as amostras sofreram diminuições, sendo que na amostra de esmalte irradiada a 7,53 J/cm^2 apresentou Ca/P igual a 1,6817 e a irradiada a 13,74 J/cm^2 apresentou Ca/P igual a 1,6831. A espectroscopia mostrou que os efeitos tanto do aquecimento como da irradiação *laser* podem ser observados principalmente nas bandas de carbonato, água adsorvida e hidroxila e que as mudanças da rede cristalográfica podem ser correlacionadas com substituições de carbonato em sítios de hidroxilas e fosfatos. Ambos os tratamentos causam também diminuição da concentração de carbonatos, sendo que este efeito ocorreu com maior intensidade nas irradiações a laser e houve ainda diminuição na quantidades de água adsorvida e hidroxilas. Todas estas alterações modificam as propriedades do material, como sua solubilidade e consequentemente influenciam na resistência à desmineralização de interesse para processos como prevenção da cárie dental e erosão dental.

NANOSTRUCTURED SYNTHETIC HYDROXYAPATITE AND DENTAL ENAMEL HEATED E IRRADIATED BY ER,CR:YSGG. CHARACTERIZED BY FTIR AND XRD.

José da Silva Rabelo Neto

ABSTRACT

The study evaluate the physical changes and/or chemical that occurs in synthetic hydroxyapatite (HAP) and in enamel under action of thermal heating in oven or *laser* irradiation of Er,Cr:YSGG that may cause changes in its structure to make them more resistant to demineralization aiming the formation of dental caries. The synthetic HAP was produced by reaction of solutions of $Ca(NO_3)$ and $(NH_4)_2HPO_4$ with controlled temperature and pH. The enamel powder was collected from the bovine teeth. Samples of powder enamel and synthetic HAP were subjected to thermal heating in oven at temperatures of 200 °C, 400 °C, 600 °C, 800 °C and 1000 °C. For the *laser* irradiation of materials, were made with 5,79 J/cm^2 of irradiation, 7,65 J/cm^2, 10,55 J/cm^2 and 13,84 J/cm^2 for synthetic HAP and 7,53 J/cm^2, 10,95 J/cm^2, and 13,74 J/cm^2 for the enamel. The samples were evaluated by X-ray diffraction (XRD) for analysis of crystallographic phases and analysis by the Rietveld method, to determine their respective proportions in the material, as well as results of changes of the lattice unit cell parameters (axis-a, axis-c and volume), crystallites sizes and the occupation rate of sites of Ca and P atoms. The samples were analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), which should compositional changes due to treatment related to carbonate, phosphate, adsorbed water and hydroxyl radicals content. The infrared was used to measure the surface temperature generated by the *laser* beam in the solid samples of enamel. Besides the major hydroxyapatite crystallographic phases, there was formations of octacalcium phosphate (OCP) and phase β of tricalcium phosphate (β-TCP) in enamel heated at 800 °C. There was reduction of the axis-a, volume and size of crystallites to the temperatures between 400 °C and 600 °C and also on laser irradiated samples. Above the temperature of 600 °C it is observed the effect in the lattice parameters. The Ca/P relation in all the samples

decreased. The enamel samples irradiated by 7,53 J/cm^2 showed Ca/P equal to 1,6817 and by 13,74 J/cm^2 Ca/P was 1,6831. Spectroscopy results showed that both the heating and *laser* irradiation cause changes primarily in the bands of carbonate, water adsorbed and hydroxyl and the crystallographic changes of the lattice may be correlated with changes in carbonate in the sites of hydroxyl and phosphates. The effects of heating in oven and *laser* irradiation causes reduction of carbonate content, and this effect was more evident in laser irradiated samples, there was also decreases in water and adsorbed hydroxyl contents. All these changes alter the properties of the material, as its solubility and therefore affect the demineralization process and can be useful for caries prevention as well as dental erosion prevention.

SUMÁRIO

Página

1. INTRODUÇÃO 14
2. OBJETIVOS 18
3. REVISÃO DA LITERATURA 19
3.1. Esmalte dental 19
3.2. Fosfatos de cálcio 21
3.2.1. Hidroxiapatita (HAP) - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ 22
3.2.2. Fosfato de octacálcio (OCP) - $Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$ 27
3.2.3. Tricálcio fosfato da fase β (β -TCP), Whitlockite - $Ca_3(PO_4)_2$ 28
3.3. Cárie dental 29
3.4. *Laser* na prevenção da cárie. 31
3.5. Efeitos térmicos em apatitas sintéticas e naturais. 34
3.6. Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)... 36
3.7. Difratometria de Raios-X (DRX). 38
3.8. Método de Rietveld. 41
4. MATERIAL E MÉTODOS. 44
4.1.Produção de amostras de hidroxiapatita sintética nanoestruturada. 44
4.2. Preparação de amostras de esmalte natural. 46
4.3. Irradiação laser Er,Cr:YSGG. 47
4.5. Termografia no infravermelho. 50
4.6. Difração de Raios-X (DRX) 51
4.7. Método de Rietveld. 52
4.8. Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)... 53
5. RESULTADOS. 56
5.1. Resultados da Termografia no infravermelho. 56
5.2. Resultados de Difratometria de Raios-X e Método de Rietveld. 56
5.2.1. Esmalte aquecido e irradiado a laser. 56
5.2.2. Hidroxiapatita sintética aquecida e irradiada a laser 69
5.3. Resultados de Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) 82
5.3.1. Esmalte aquecido e irradiado a laser. 82

5.3.1.1. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_2)$ 83
5.3.1.2. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_3)$ 84
5.3.1.3. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_4)$ 86
5.3.1.4. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida. 87
5.3.1.5. Banda de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_2)$. 89
5.3.1.6. Bandas de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_4)$. 90
5.3.2. Hidroxiapatita (HAP) sintética e irradiada a laser. 92
5.3.2.1. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_2)$ 93
5.3.2.2. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_3)$ 94
5.3.2.3. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_4)$ 95
5.3.2.4. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida. 97
5.3.2.5. Banda de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_2)$. 100
5.3.2.6. Bandas de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_4)$. 101
6. DISCUSSÃO 103
6.1. Difração de Raios-X e método de Rietveld. 103
6.2. Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). 107
6.2.1. Bandas de carbonato (CO_3^{2-}). 107
6.2.1. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida 110
6.2.1. Bandas de Fosfato (PO_4^{3-}). 112
7. CONCLUSÕES. 113
8. TRABALHOS FUTUROS 114
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS. 115

1. INTRODUÇÃO

A utilização da irradiação *laser* nas áreas de saúde já se expandiu para muitas especialidades odontológicas, fisioterápicas, veterinárias e médicas. Especificamente na área odontológica, podemos citar alguns procedimentos que já são utilizados clinicamente: prevenção de cárie dental[1], diminuição da hipersensibilidade dentinária[2], desinfecção intracanal[3] e remoção de tecido cariado[4,5]. A implantação segura do uso clínico de processos diagnósticos, preventivos e/ou terapêuticos a *laser* depende da compreensão das interações dos diversos comprimentos de onda *laser*, densidades de energias e larguras temporais com os tecidos dentais utilizando técnicas físicas e químicas. Durante a década de 80 e 90, vários grupos investigaram as interações *laser* e tecidos duros dentários com ênfase nas propriedades ópticas e térmicas, no intuito de gerar novos procedimentos clínicos efetivos e seguros, sendo que o tratamento da superfície do esmalte ou dentina pela irradiação *laser*, a fim de aumentar sua resistência à desmineralização, é umas das principais áreas visadas para pesquisas futuras[6].

A cárie dental é uma doença extremamente prevalente e que é imensamente custosa aos serviços de saúde. A principal alteração estrutural na formação das lesões é a desmineralização do esmalte por ácidos de origem bacteriana[7]. Atualmente sabe-se que existem três fatores responsáveis pelo desenvolvimento da cárie: 1) a existência da placa bacteriana; 2) um substrato onde as bactérias encontram seus nutrientes; 3) um hospedeiro susceptível, que seria o esmalte dental. Estes fatores precisam agir concomitantemente para que a cárie se desenvolva, pois a ausência de qualquer um destes comprometerá o desenvolvimento da cárie dental. Uma maneira utilizada para a prevenção da cárie é a atuação junto ao terceiro fator: fortalecer o esmalte para que o mesmo não sofra os efeitos do ácido que será produzido pelas bactérias cariogênicas.

O esmalte possui matriz orgânica reduzida, aproximadamente 2% em peso do tecido. Esta matriz é composta por 58% de proteínas, 40% de lipídios e traços de açúcares, citratos e íons de lactato. O esmalte também possui uma matriz mineral de 95% em peso e 3% de água. A matriz mineral tanto do esmalte como da dentina é composta por hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$] carbonatada

(CaHAP). Esta matriz possui cristais de hidroxiapatita com radicais de carbonato substituindo parcialmente os radicais de fosfato e hidroxilas[8,9]. A hidroxiapatita sintética (HAP, $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$) é um dos materiais mais interessantes para implante devido à sua composição biológica semelhante aos tecidos nativos, sendo estudada extensivamente e aplicada em vários campos[10].

No caso de prevenção da cárie, a interação do *laser* irá alterar a parte mineral, deixando-o menos solúvel à ação ácida[6]. Substituições na rede cristalina do mineral podem torná-lo mais solúvel que a hidroxiapatita pura[8]. A principal substituição é a do carbonato que se inseri em alguns fosfatos da estrutura elevando o mineral a um estado mais solúvel[11,12].

Os cristais de apatita que formam o osso natural são menores que 50 nm. Este é um fator crucial no entendimento da solubilidade biológica das apatitas. A presença de CO_3^{2-} em sua estrutura é outro fator de primordial importância como principal fonte de distorção da estrutura, criando micro-estresse e defeitos cristalinos em suas proximidades, que por sua vez desempenham um papel fundamental na solubilidade[13]. Os íons CO_3^{2-} contidos na HAP carbonatada originam-se do CO_2 presente no ar durante a preparação da HAP carbonatada e adição de íons CO_3^{2-} contido nos reagentes como impureza[14].

A remoção por ablação do grupo carbonato da molécula de hidroxiapatita-carbonatada por meio da aplicação de *lasers* de alta potência, resulta num aumento da resistência ao meio ácido[15]. As interações *lasers* com os tecidos podem ser classificadas em três grandes categorias: 1) Interação com o mineral, 2) Interação com a proteína e 3) interação com a água[6]. A ablação por *laser* no tecido ocorre com a combinação do efeito da alta densidade de energia e da absorção da radiação em uma frequência específica para cada tecido, ocasionando, no caso da água presente no esmalte, a vaporização da mesma, causando micro-explosões na estrutura. A energia do *laser* é fortemente absorvida pelas micro-gotas da água, que são parcialmente responsáveis pelos efeitos de corte do tecido duro por ablação[15,16,17].

Nos últimos anos, vários *lasers* na faixa do infravermelho têm sido propostos para aplicações em tecidos duros. Em particular, o *laser* pulsado Er,Cr:YSGG (Érbio, Cromo: Ítrio, Escândio, Gálio e granada) tem sido proposto como candidato à ablação eficiente do tecido duro pelo alto coeficiente de absorção que permite uma larga relação energia/volume e mínima difusão de calor, o que

aumenta as taxas de ablação com o mínimo de dano térmico colateral[17,18]. O *laser* Er,Cr:YSGG apresenta comprimento de onda de 2780 nm e mostra um forte pico de absorção no espectro da hidroxiapatita (HAP) e da água (FIG.1), que conduz a uma elevada eficiência ablativa, onde há os picos em 2700 nm e 2900 nm correspondentes ao grupo OH^- e água livre, respectivamente; um pequeno pico em aproximadamente 7000 nm coincidente com a absorção do CO_3^{2-} ; uma absorção em 9600 nm coincidente com o grupo fosfato na molécula. A absorção da água é mostrada como uma linha pontilhada e a absorção da hidroxiapatita como uma na linha em vermelho na FIG.1. Esta energia absorvida é convertida em calor e, em seguida os fluxos de calor como consequência da radiação térmica são emanados para fora do tecido[6]. O limiar de ablação no esmalte é de 4-18 J/cm^2 para o *laser* Er,Cr:YSGG[19,22,70,71].

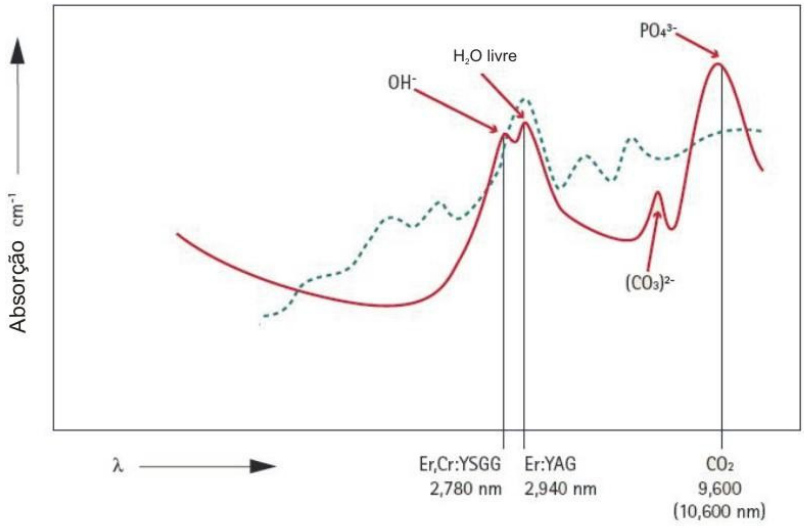

Figura 1: Curva de absorção da hidroxiapatita carbonatada (CHA) e água e interação com comprimento de onda dos *lasers* de Er,Cr:YSGG, Er:YAG e CO_2[15].

Temperaturas da superfície do material acima de 800 °C a 1200 °C, causam fusão do material e transformações da estrutura[20]. Outros estudos têm mostrado que as temperaturas de 400 °C e acima são necessários para decompor o carbonato incluso no esmalte e transformar a HAP carbonatada em HAP menos solúvel[8]. Em temperaturas entre 100 °C e 300 °C existe um aumento da desidratação, seguido da carbonização de proteínas e lipídios[15]. No caso da terapia preventiva da cárie, a menor densidade de energia possível do *laser* deve ser escolhida de modo a haver modificação da superfície e/ou transformação do mineral para uma forma menos solúvel, enquanto que ao mesmo tempo mantém-

se um mínimo de ablação. Portanto, a densidade de energia escolhida deverá ser inferior ao limiar de ablação, mas o suficiente para causar efeitos térmicos desejados, porém não nocivos aos tecidos circunvizinhos[6].

Embora haja muitos estudos sobre a irradiação laser em esmalte, ainda há muitos questionamento com relação às mudanças provocadas pelo laser neste material, principalmente a nível cristalográfico e a influência destas alterações nas propriedades do esmalte, como por exemplo a sua resistência à desmineralização. Nosso trabalho teve como motivação, estudar quais mudanças o laser provoca a nível cristalográfico da hidroxiapatita no esmalte e procurar explicar suas causas.

2. OBJETIVOS

1 - Produzir e caracterizar hidroxiapatita sintética nanoestruturada.

2 - Avaliar mudanças físicas e químicas ocasionadas por aquecimento por forno ou por irradiação laser (Er,Cr:YSGG) da HAP e do esmalte dental.

3. REVISÃO DA LITERATURA

3.1. Esmalte dental

O esmalte, estrutura acelular mais superficial e visível do órgão dental, é a estrutura mais resistente do corpo humano e o tecido mais mineralizado, composto por aproximadamente 95% de mineral, 2% material orgânico e 3% de água em peso[21,22]. A parte mineral do esmalte é constituída de Hidroxiapatita, ela é o principal constituinte dos ossos e dentes (esmalte e dentina) nos sistemas biológicos, o esmalte é mais denso do que a dentina e o osso, pois estes apresentam aproximadamente 70% e 65% de parte mineral, respectivamente. A fase inorgânica do esmalte, dentina e osso diferem-se em sua relação Ca/P, sendo de 1.64 para o esmalte humano, 1,62 para a dentina e 1,70 para o osso[23]. Na TAB. 1 estão representadas as relações Ca/P e as respectivas fases de fosfatos de cálcio.

A relação Ca/P tem relação importante com a acidez e solubilidade destes materiais. Quanto menor a relação Ca/P maior é a acidez e solubilidade da mistura. Para relações menores que 1:1 tanto a acidez e solubilidade são muito elevadas e estes parâmetros diminuem substancialmente para razões perto de 1,67:1[13]. As apatitas biológicas não são estequiométricas, tendo relação Ca/P <1,67 para o esmalte e a dentina e >1,67 para o osso[23]. As ocorrências das fases de fosfatos de cálcio em sistema biológicos humanos estão representadas na TAB. 2.

Em estudos de solubilidade comparativa de esmalte, dentina e osso foi visto que a dissolução ocorreu na seguinte ordem: dentina > osso > esmalte. A diferença de solubilidade pode ser atribuída às diferenças de tamanho de cristalitos. Como também, a alta concentração de CO_3^{2-} na dentina e osso pode fazer com que sejam mais solúveis que o esmalte[23].

Tabela 1: Fosfatos de cálcio organizado por relação Ca/P[13]

Nome	Abreviação	Fórmula	Ca/P
Tetracálcio fosfato	TTCP	$Ca_4O(PO_4)_2$	2.0
Hidroxiapatita	OHAp	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1.67
Cálcio fosfato amorfo	ACP	$Ca_{10-x}H_{2x}(PO_4)_6(OH)_2$	
Tricálcio fosfato (α, β, γ)	TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1.50
Fosfato de octacálcio	OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	1.33
Dicálcio fosfato dihidratado (brushite)	DCPD	$CaHPO_4.2H_2O$	1.0

Tricálcio fosfato (monetite)	DCP	$CaHPO_4$	1.0
Fosfato de cálcio (α, β, γ)	CPP	$Ca_2P_2O_7$	1.0
Pirofosfato de cálcio dihidratado	CPPD	$Ca_2P_2O_7.2H_2O$	1.0
Fosfato de heptacálcio	HCP	$Ca_7(P_5O_{16})_2$	0.7
Tetracálcio fosfato diácido	TDHP	$Ca_4H_2P_6O_20$	0.67
Fosfato de cálcio mono-hidratado	MCPM	$Ca(H_2PO_4)2.H_2O$	0.5
Metafosfato de cálcio	CMP	$Ca(PO_3)_2$	0.5

Tabela 2: Fosfatos de cálcio encontradas em sistemas biológicos humanos[23].

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Ocorrências
Apatita	$(Ca,Z)_{10}(PO_4,Y)_6(OH,X)_2$	Esmalte, dentina, osso, calculo dental, cálculo urinário, pedras, calcificação de tecidos moles.
Fosfato de octacálcio, OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	Cálculos dental e urinário
Dicálcio fosfato dihidratado, DCPD (Brushite)	$CaHPO_4.2H_2O$	Cálculo dental, condrocalcionose, cristaluria e deposição nos ossos.
Tricálcio fosfato, β -TCP (Whitlockite)	$(Ca,Mg)_9(PO_4)_6$	Cálculos dental e urinário, pedras salivares, cárie dental, artrite cartilaginosa, calcificação de tecidos moles.
Fosfato de cálcio amorfo, ACP	$(Ca,Mg)_?(PO_4,Y')_?$	Calcificação de tecidos moles
Pirofosfato de cálcio dihidratado, CPPD	$Ca_2PsO_7.2H_2O$	Depósito em fluido sinovial

Z = Na, Mg, K, Sr etc; Y = CO_3, HPO_4; X = Cl, F; Y' = P_2O_7, CO_3

Os difratogramas de raios-X (FIG. 2) do esmalte mostram a forma mais estreita dos picos comparando com a dentina e osso, sugerindo que os cristais de esmalte são maiores que os da dentina e osso. O esmalte humano tem eixo-a da cela unitária de seus cristais maior que os da HAP pura, estudos *in vitro* têm mostrado que a incorporação de íons carbonato (CO_3^{2-}) e/ou magnésio causa a formação de cristais menores[23,24]. Na TAB. 3 estão representadas propriedades cristalográficas do esmalte e dentina humana.

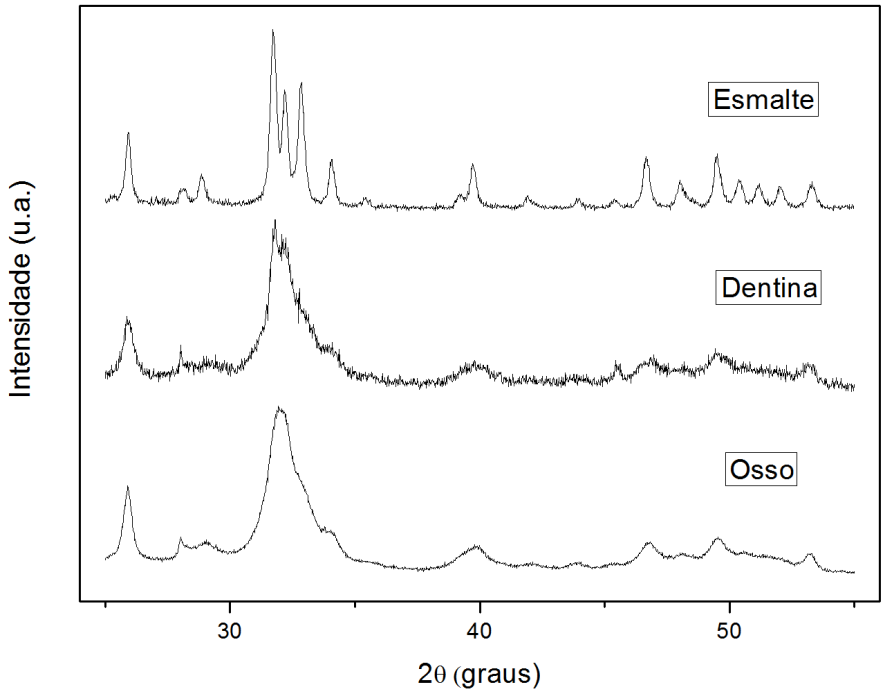

Figura 2: Difratogramas de DRX de amostras de osso, dentina e esmalte dentário.

Tabela 3: Propriedades cristalográficas do esmalte e da dentina humana[23].

	Esmalte	Dentina
Eixo-a (nm)	0,944	0,942
Eixo-c (nm)	0,688	0,688
Cristalinidade [1]	70-75	33-37
Cristais (nm x nm) [2]	130x30	20x4
Razão molar de Ca/P	1,63	1,61

3.2. Fosfatos de cálcio

A família dos fosfatos de cálcio (TAB. 1) é de especial interesse para a odontologia e medicina porque são de normal ocorrência no esmalte, dentina e osso e patologicamente, por exemplo em cálculo dental e calcificações (TAB. 2). Apresentam associações com a formação, progressão e controle da cárie em esmalte e dentina, com também o uso em odontologia preventiva e reparadora[23]. Os fosfatos de cálcio são da família dos minerais que contem íons de cálcio (Ca^{2+})

[1] A cristalinidade é determinada a partir da razão de espalhamento da radiação coerente pela incoerente.
[2] O tamanho dos cristais foi determinado a partir de valores médios correspondentes a suas seções transversais.

em conjunto com ortofosfatos (PO_4^{3-}), metafosfatos ou pirofosfatos ($P_2O_7^{4-}$) e ocasionalmente hidrogênio (H) e íons hidróxido (OH^-). Os cálcios ortofosfatos são sais de ácido fosfórico tribásico (H_3PO_4) e podem formar compostos que contem íons $H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-} ou PO_4^{3-}. O íon $H_2PO_4^-$ normalmente não é encontrado em sistemas biológicos e ambos os íons HPO_4^{2-} e PO_4^{3-} ocorrem na parte mineral de ossos e dentes e várias calcificações patológicas[25].

3.2.1. Hidroxiapatita (HAP) - $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$

A parte mineral de ossos e dentes é composta pela forma cristalina do fosfato de cálcio similar à Hidroxiapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$]. A família mineral das apatitas [$A_{10}(BO_4)_6X_2$] é cristalizada em prismas hexagonais, onde A é usualmente Ca^{2+} ou Pb^{2+}, B é P^{5+} ou As^{5+} e X é F^-, Cl^- ou $(OH)^-$ [26,27].

Vários sinônimos e abreviações têm sido usados para designar a hidroxiapatita, como: OHAP, HAP, HAp e pentacálcio monohidratadoortofosfato. A HAP é o fosfato de cálcio mais usado como implantes, porque é o mais similar à parte mineral de osso e dentes[13]. As dimensões da cela unitária são: a = b = 9,4343 Å, c = 6,8681 Å, V = 529,3 $Å^3$ [28], a cela unitária, com átomos adjacentes, de HAP de esmalte dental encontrada por método de Rietveld está representada na FIG.3.

De um ponto de vista da composição, as apatitas biológicas são sempre deficitárias de cálcio ou carbonatadas, sendo então chamada de hidroxiapatita carbonatada. A presença de CO_3^{2-} na estrutura é um fator de importância primordial, pois é a principal fonte de distorção da rede cristalina, criando microestresses e defeitos nas suas proximidades, influenciando muito a solubilidade[13]. Há situações onde ocorre a incorporação de CO_3^{2-}, uma delas é quando em meio com dióxido de carbono (CO_2) tendo uma quantidade de ácido carbônico (H_2CO_3), este se dissocia e forma íons (H^+) e íons carbonato (CO_3^{2-}), a presença destes íons reage com os componentes da estrutura da HAP provocando a incorporação de carbonatos na estrutura e reações de (H^+) com fosfatos (PO_4^{3-}) influenciando a solubilidade do material. Na FIG.4 temos a representação da cela unitária, com átomos adjacentes, da HAP carbonatada e as

respectivas acomodações do carbonato inserido na estrutura. Na FIG.5 vemos uma ampliação da FIG.4 na região onde há a incorporação de carbonatos.

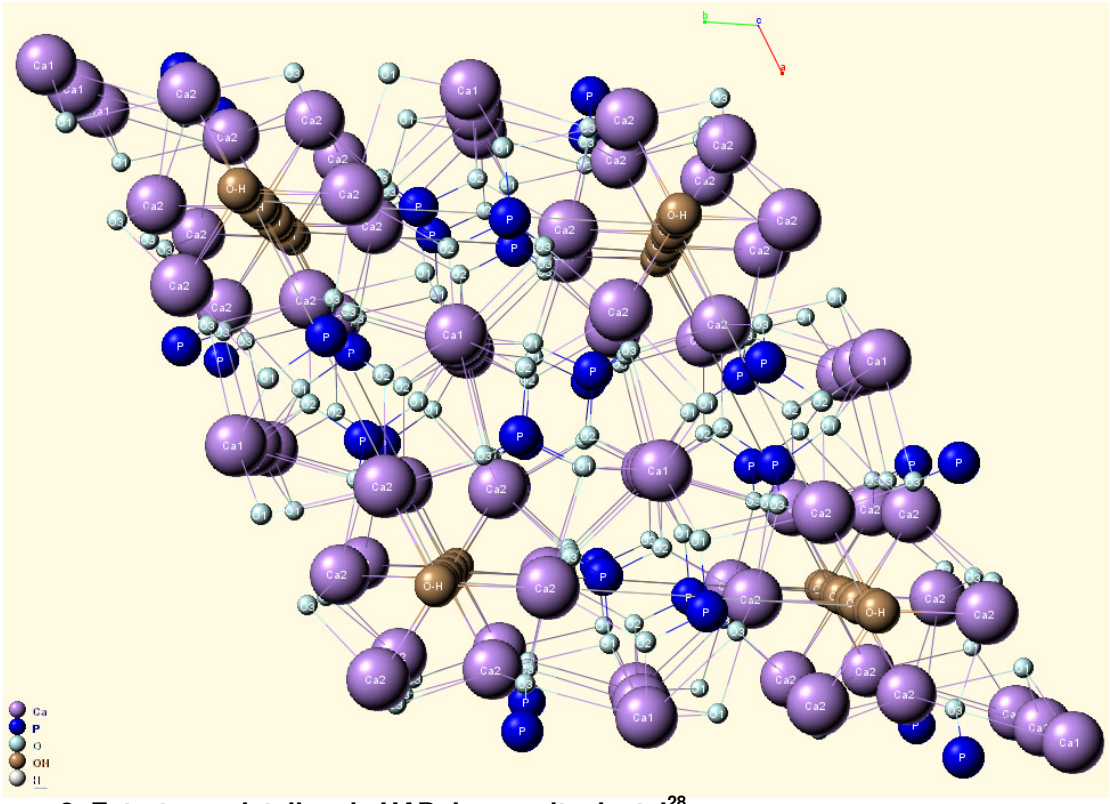

Figura 3: Estrutura cristalina de HAP de esmalte dental[28].

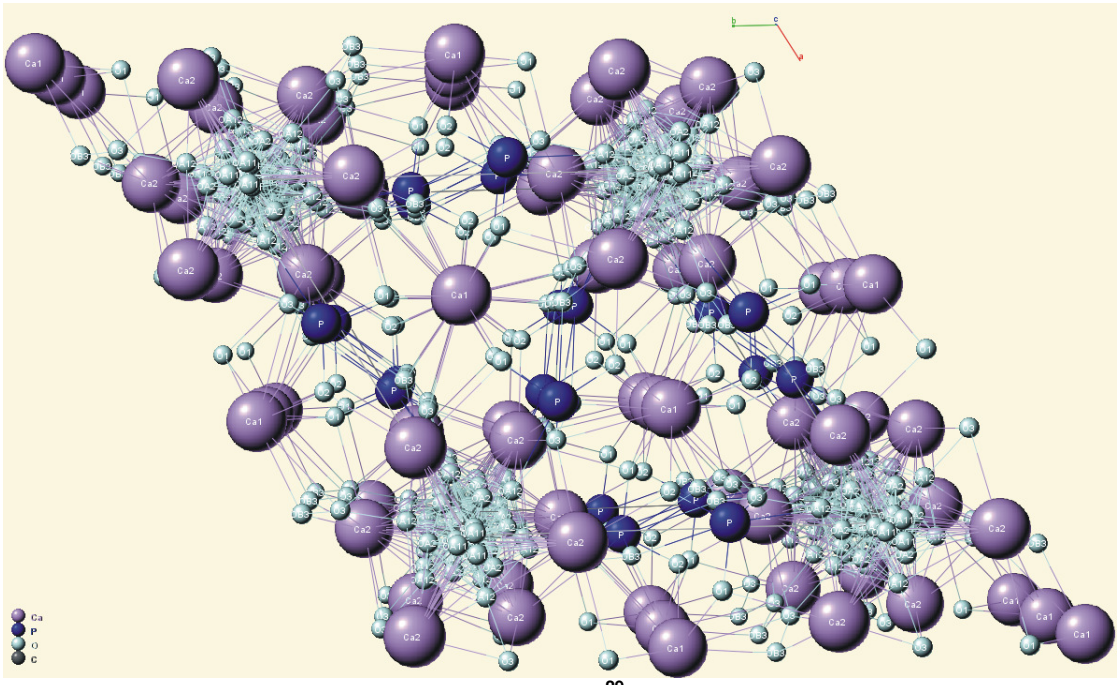

Figura 4: Estrutura cristalina de HAP-carbonatada[29].

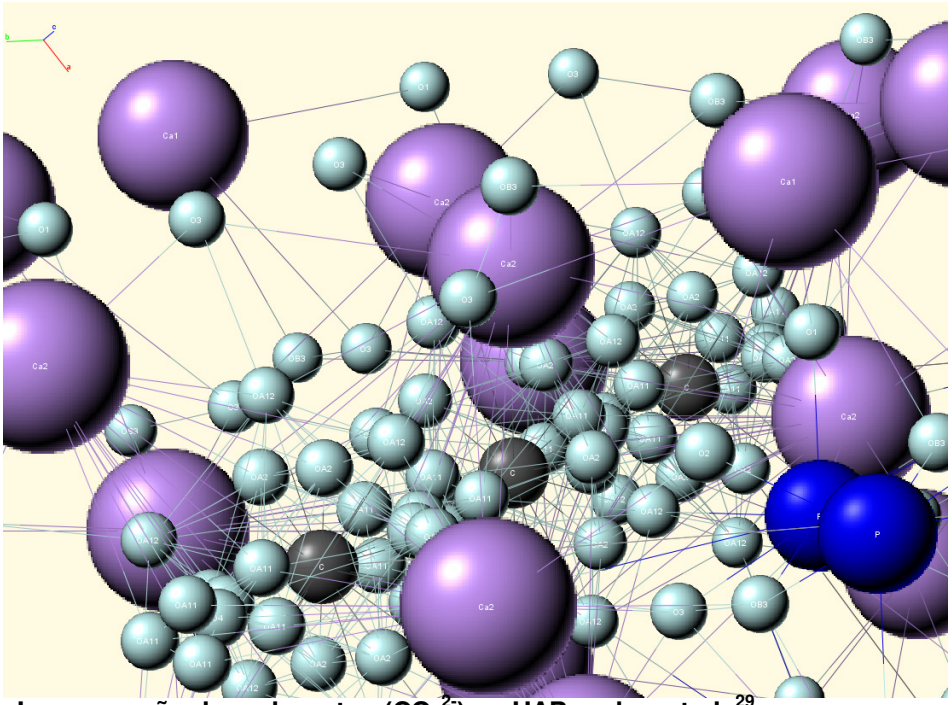

Figura 5 : Incorporação de carbonatos (CO_3^{2-}) na HAP-carbonatada[29].

Há dois tipos de classificação de incorporação de carbonatos nas apatitas, classificadas como tipo-A e tipo-B dependendo do modo de substituição: CO_3^{2-} para OH (tipo A) e CO_3^{2-} para PO_4^{3-} (tipo B). O tipo A provoca aumento dos eixo-a e diminuição do eixo-c na cela unitária da HAP. A incorporação de carbonatos tipo B pode causar os seguintes efeitos: (a) decréscimo nos eixo-a e aumento do eixo-c na cela unitária, (b) decréscimo no tamanho dos cristais, (c) aumenta da tensão do cristal, (d) mudança na morfologia do cristal, (e) diminuição da cristalinidade e (f) aumento da solubilidade do material [23].

A alta solubilidade das apatitas com maior quantidade de carbonato pode ser explicada pelo efeito do carbonato no decréscimo do tamanho do cristal e consequentemente aumento da área superficial, como também possível efeito na tensão do cristal. Ainda, a ligação Ca-CO_3 é mais fraca que a ligação Ca-PO_4, então isto faz com que o HAP carbonatada seja mais susceptível à dissolução ácida do que a menos carbonatada[23].

A solubilidade é convencionalmente descrita como a quantidade de sólido que pode dissolver em unidade de volume da solução. Para os fosfatos de cálcio, esta quantidade pode mudar em várias ordens de grandeza com a mudança de pH e concentrações de ácidos e bases. Na FIG. 6 é mostrado um diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio. Na FIG. 7 é mostrado o mesmo diagrama em duas dimensões para melhor visualização. Cada curva no

diagrama, conhecida como curva isotérmica de solubilidade, pode ser calculada pela constante de solubilidade (Ksp) dos compostos (TAB. 4). A curva isoterma descreve a solubilidade do sal, expressado em total de concentrações totais de cálcio e de fosfato na solução saturada em função do pH. Sendo a HAP o fosfato de cálcio mais estável (menos solúvel) para a maior amplitude de faixa de pH (4.4 e acima)[30].

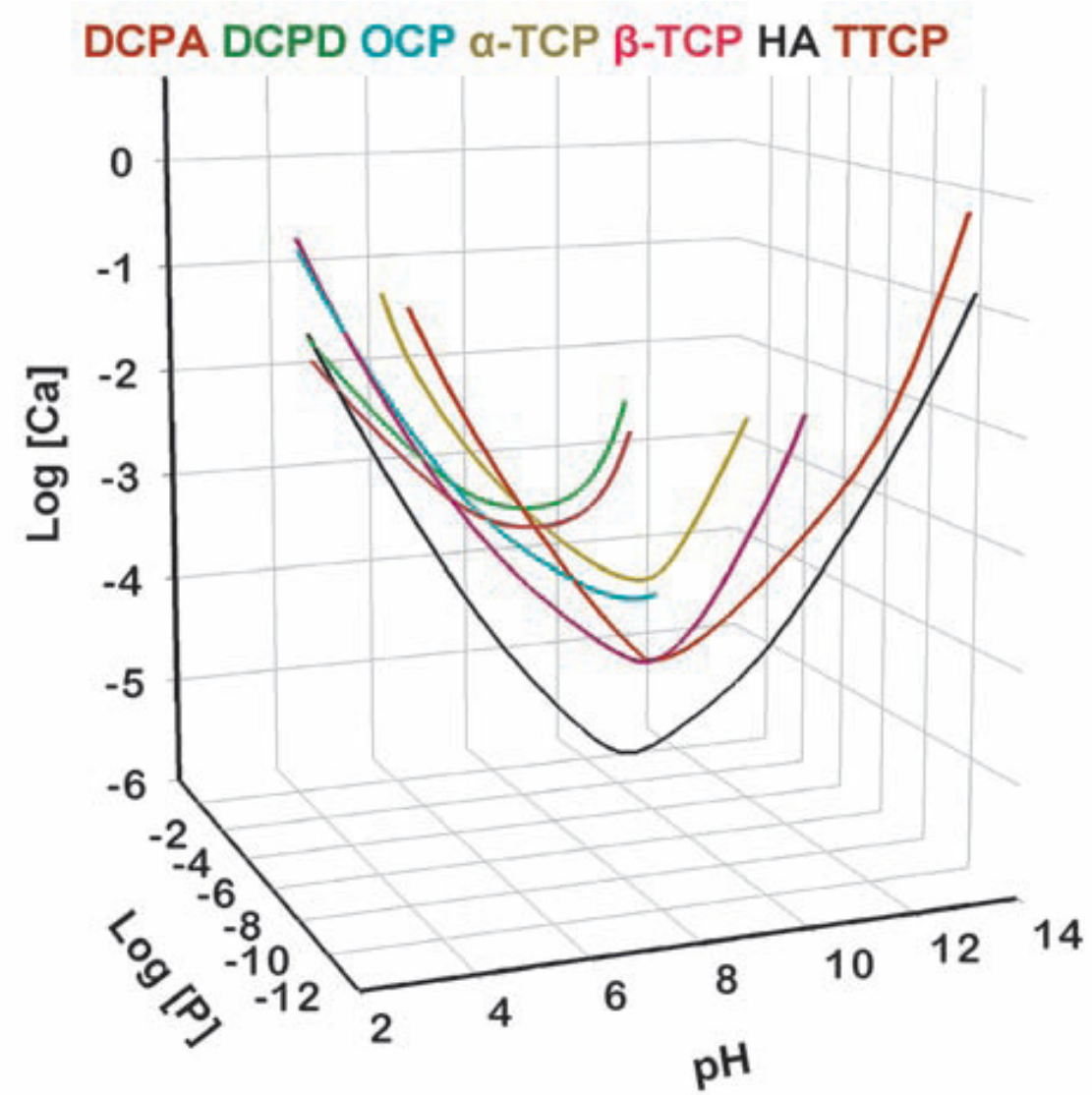

Figura 6: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio[30].

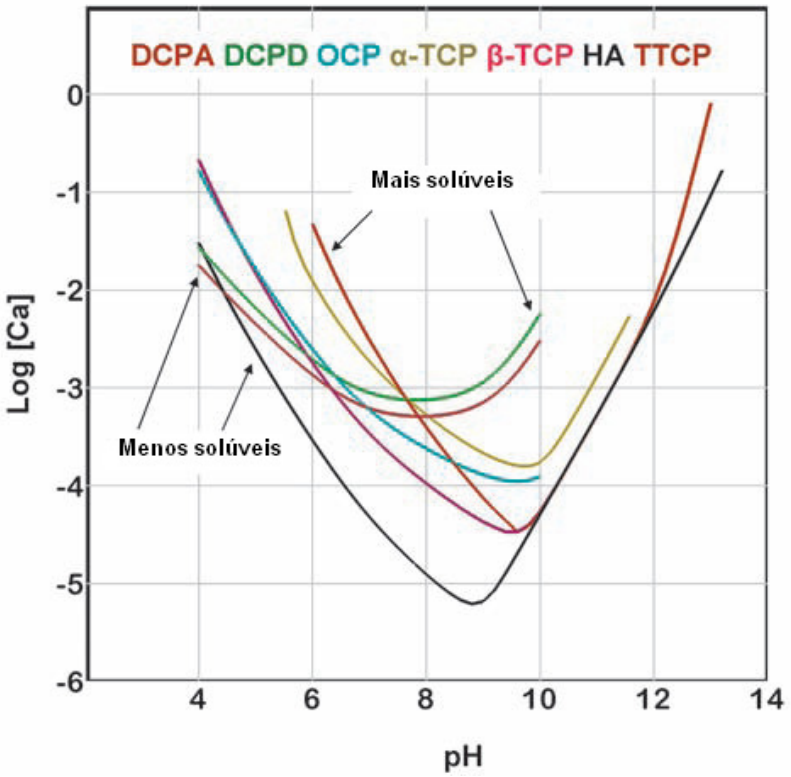

Figura 7: Diagrama de fase de solubilidade dos fosfatos de cálcio em duas dimensões[30].

Tabela 4: Fosfatos de cálcio e suas respectivas constantes de solubilidade a 25 °C[30].

Nome	Abreviação	Fórmula	Ca/P	Ksp
Tetracálcio fosfato	TTCP	$Ca_4O(PO_4)_2$	2.0	10^{-38}
Hidroxiapatita	HA	$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	1.67	$10^{-116,8}$
Cálcio fosfato amorfo	ACP	$Ca_{10-x}H_{2x}(PO_4)_6(OH)_2$	1.50	$10^{-25,2}$
Tricálcio fosfato (α)	α-TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1.50	$10^{-28,9}$
Tricálcio fosfato (β)	β-TCP	$Ca_3(PO_4)_2$	1.50	$10^{-25,5}$
Fosfato de octacálcio	OCP	$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$	1.33	$10^{-96,6}$
Dicálcio fosfato dihidratado (brushite)	DCPD	$CaHPO_4.2H_2O$	1.0	$10^{-6,59}$
Dicálcio fosfato (monetite)	DCPA	CaHPO4	1.0	$10^{-6,9}$
Fosfato de cálcio anidro	MCPA	$Ca(H_2PO_4)_2$	0.5	Muito solúvel
Fosfato de cálcio mono-hidratado	MCPM	$Ca(H_2PO_4)2.H_2O$	0.5	Muito solúvel

Em estudos de espectroscopia de absorção no infravermelho, as bandas encontradas para o carbonato na HAP estão posicionadas aproximadamente em 1545 cm^{-1}, 1450 cm^{-1} e 880 cm^{-1} para substituições tipo A e aproximadamente 1465 cm^{-1}, 1412 cm^{-1} e 873 cm^{-1} para substituições tipo B[25]. Na TAB. 5 está a representação das atribuições da substituição do carbonato.

Tabela 5: Bandas de carbonato e suas respectivas substituições[25].

Frequência (cm^{-1})	Atribuições
Esmalte	
1545	Tipo A CO_3^{2-} em OH^-
1450	
880	
1465	Tipo B CO_3^{2-} em PO_4^{3-}
1412	
873	

3.2.2. Fosfato de octacálcio (OCP) - $Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$

O fosfato de octacálcio - OCP (octacálcio bihidrogenofosfato tetrafosfato pentahidratado) tem como fórmula $Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$, embora o teor de água seja bastante variável. O OCP ocorre frequentemente numa posição intermediária na precipitação termodinamicamente mais estável da OHAp e as apatitas biológicas. Porque a nucleação e crescimento da OCP são mais fáceis do que a OHAp. Então, entendendo o crescimento da OCP e sua hidrólise é potencialmente de grande importância para a compreensão dos processos de mineralização em ossos e dentes e na remineralização em lesões de cárie[25].

A rede cristalina do OCP é tricíclica, com grupo espacial P1- e cela unitária com a = 19,692, b = 9,523, c = 6,835 Å e α = 90,15°, β = 92,54° e γ = 108,65° e v = 1213,06 $Å^3$ [31]. Na FIG. 8 temos a representação da cela unitária do OCP.

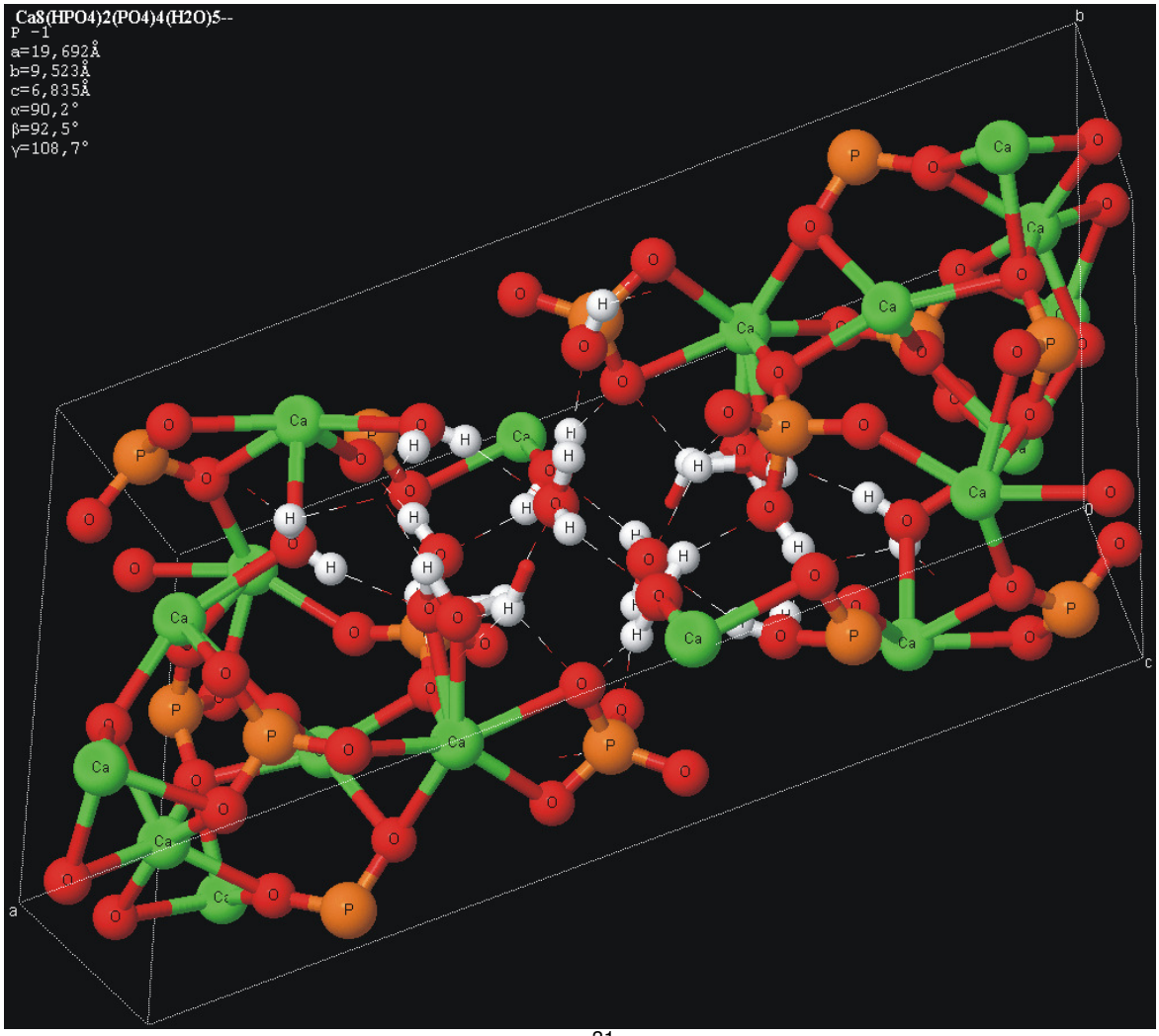

Figura 8: Cela unitária do fosfato de octacálcio[31].

3.2.3. Tricálcio fosfato da fase β (β -TCP), Whitlockite - $Ca_3(PO_4)_2$

A whitlockite pura não é obtida por reações em sistemas aquosos. Ela é obtida somente por reações de estado sólido a temperaturas acima de 800 ºC[23]. Ele apresenta uma estrutura romboedra com grupo espacial R3c, cela unitária a = 10,439 Å e c = 37,375 Å [25]. A cela unitária está representada na FIG. 9.

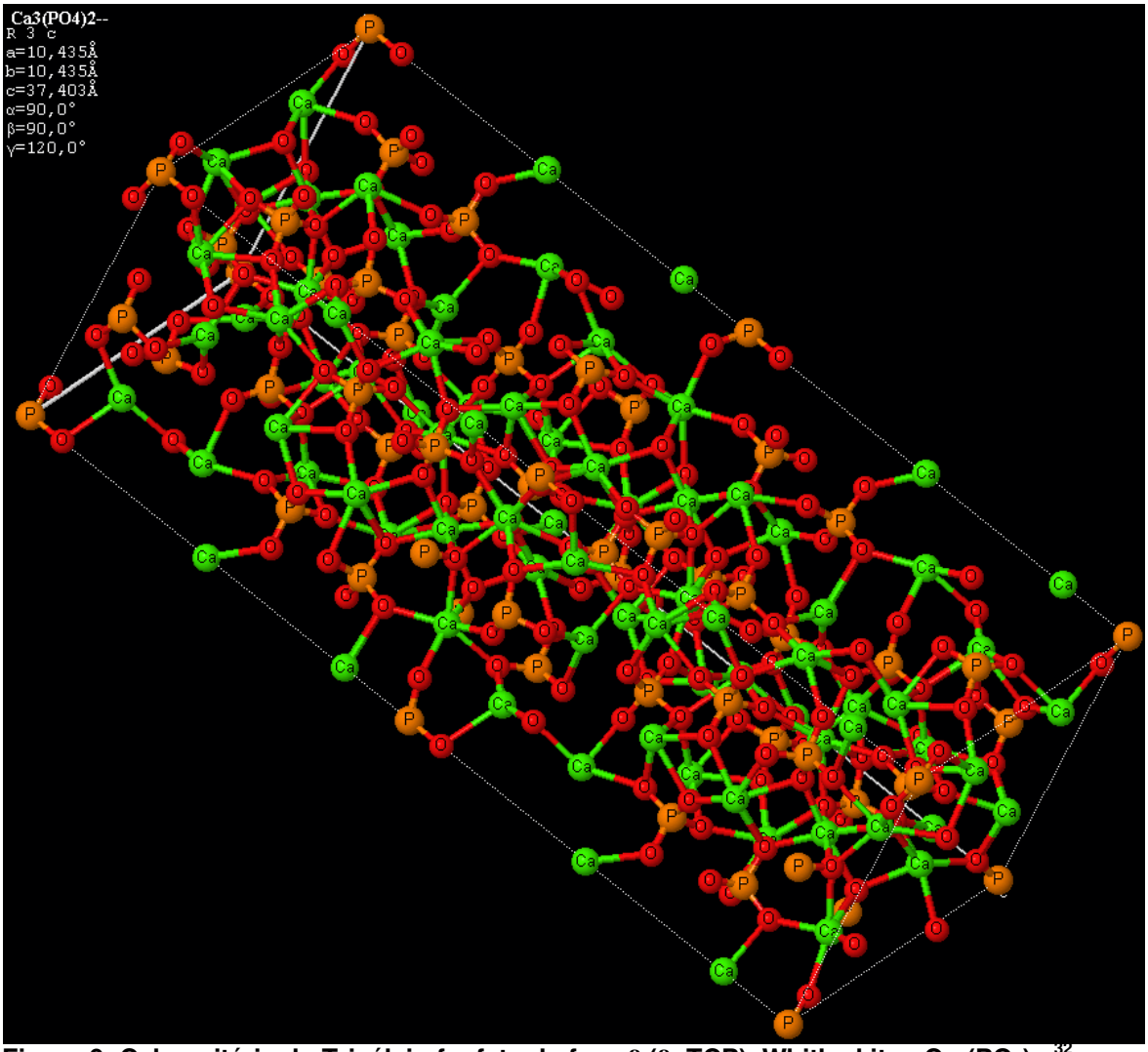

Figura 9: Cela unitária do Tricálcio fosfato da fase β (β -TCP), Whitlockite - $Ca_3(PO_4)_2$ [32].

3.3. Cárie dental

A cárie dentária é, sem dúvida, a doença mais prevalente da cavidade oral. Trata-se de um processo invasivo, multifatorial e patológico que ocasiona a perda de mineral dos tecidos duros dentais (esmalte, dentina e cemento), dependente da presença de biofilme e carboidratos fermentáveis[33]. A produção de ácidos pela microbiota cariogênica ocasiona a perda de cálcio e fosfato dos tecidos mineralizados, o que leva à destruição dos mesmos[34]. Durante a dissolução da estrutura mineral dos tecidos, ocorre a formação de outros fosfatos de cálcio[35]. Na FIG. 10 está representado o esquema de eventos químicos na cárie, onde meios ácidos (H^+) produzidos pela bactéria oral causam dissoluções parciais do

esmalte ou dentina e seus diferentes tipos de fosfatos de cálcio precipitados dependendo do pH e presença de diferentes íons em seus microambientes[23].

Atualmente sabe-se que existem três fatores responsáveis pelo desenvolvimento da cárie: 1) a existência da placa bacteriana; 2) um substrato onde as bactérias encontram seus nutrientes; 3) um hospedeiro susceptível, que seria o esmalte dental[36]. Estes fatores precisam agir concomitantemente para que a cárie se desenvolva, pois a ausência de qualquer um destes comprometerá o desenvolvimento da cárie dental.

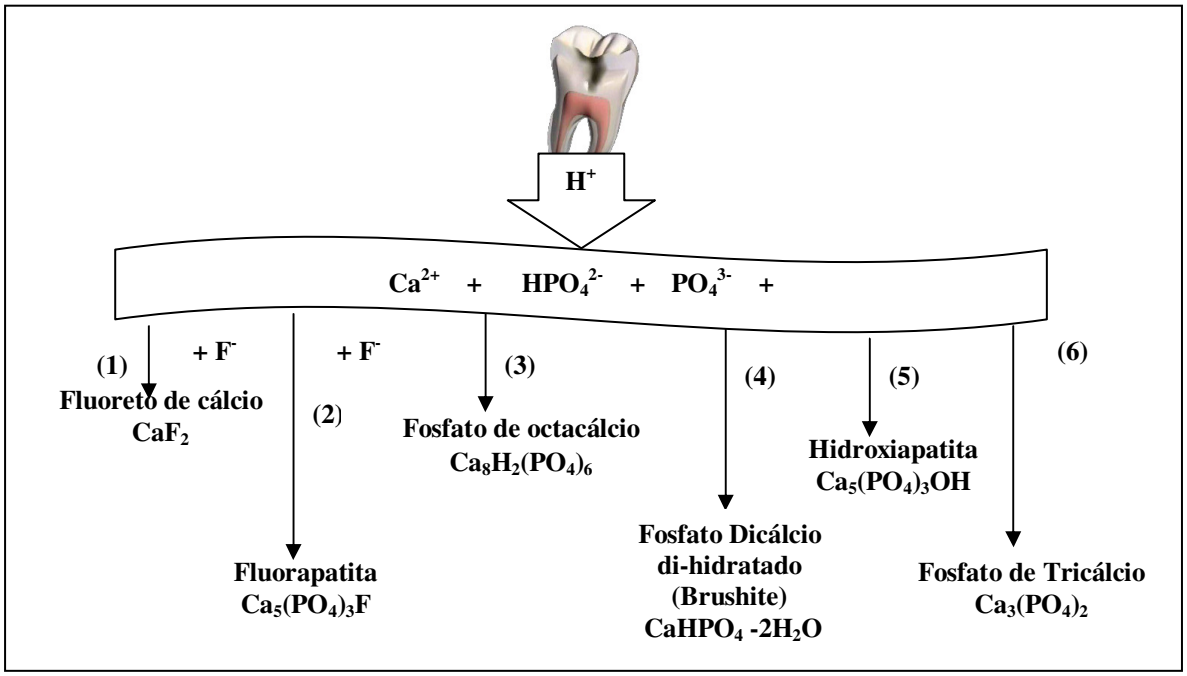

Figura 10: Esquema representativo dos eventos químicos na cárie. Na presença do flúor pode haver formação de CaF_2 (1) ou $Ca_5(PO_4)_3F$ (2). Pode ocorrer formação de $Ca_8H_2(PO_4)_6$ (3), $CaHPO_4.2H_2O$ (4), $Ca_5(PO_4)_3(OH)_2$(5) por perda de CO_3^{2-} ou formação de $Ca_3(PO_4)_2$(6)[23,37].

Os subprodutos (Ca^{2+}, HPO_4^{2-}, PO_4^{3-}) provenientes da dissolução do esmalte através do ácido da cárie dental podem formar, além da hidroxiapatita, mais três fosfatos de cálcio: fosfato de dicálcio dihidratado [$CaHPO_4.2H_2O$], fosfato de octacálcio penta hidratado [$Ca_8H_2(PO_4)_6.5H_2O$] e fosfatos de tricálcio na fase β [$(Ca,Mg)_3(PO_4)_2$-β]. Na presença de flúor pode ocorrer a formação de fluorapatita [$Ca_{10}(PO_4)_6F_2$] ou fluoreto de cálcio [CaF_2][37].

As mudanças químicas associadas com o processo da cárie incluem: (a) diminuição da densidade mineral; (b) diminuição da relação Ca/P; (c) diminuição

da concentração de Mg; (d) diminuição da concentração de carbonato; (e) aumento de HPO_4^{2-}; e (f) aumento na concentração de F [23].

Algumas mudanças nas propriedades cristalográficas no esmalte são também observadas com as mudanças químicas visualizadas. As mudanças cristalográficas incluem: (a) aumento do eixo-a na região da cárie em comparação com outras regiões no esmalte; (b) presença de maiores cristais de apatita. A incorporação de HPO_4^{2-} pode causar expansão no eixo-a, cristais volumosos podem estar relacionados com o decréscimo de carbonato CO_3^{2-} [23].

3.4. *Laser* na prevenção da cárie.

A utilização da irradiação *laser* em Odontologia tem sido intensamente pesquisada desde a década de 60, quando evidenciaram uma maior resistência do esmalte aos ácidos por meio da irradiação com *laser* de rubi, com comprimento de onda de 693 nm[38,39]. Desde então, a constante busca por parâmetros e comprimentos de onda adequados às diversas aplicações clínicas possibilitou o melhor entendimento da interação da irradiação *laser* com os tecidos dentais duros, e hoje o *laser* se tornou uma ferramenta coadjuvante poderosa para a maioria das intervenções odontológicas, promovendo tratamentos menos invasivos, menos dolorosos, menos cruentos e com maior assepsia[40].

As interações *laser* com os tecidos podem ser classificadas em três categorias principais: 1) interação com os minerais, 2) interação com a proteína e 3) interação com a água. No caso da prevenção da cárie, a interação *laser* será necessária para alterar a parte mineral para um estado menos solúvel. O coeficiente de absorção é uma medida do grau de absorção que ocorre em um determinado tecido com relação a um comprimento de onda específico[6]. Durante a absorção, a intensidade de uma onda eletromagnética incidente é atenuada ao passar por um meio. A absorbância média é definida como a razão da intensidade absorvida e a incidente. A absorção é devido a uma conversão parcial da luz em energia térmica ou que provoca determinadas vibrações das moléculas do material absorvente[41]. Para a indução de mudanças químicas no esmalte, idealmente a irradiação *laser* deverá ser altamente absorvida, de forma

que uma grande quantidade de calor possa ser gerada, porém restrita a pequena profundidade no tecido para não induzir injúrias aos tecidos moles adjacentes ou à polpa[42]. Assim, a alta absorção pelos componentes essenciais do esmalte, isto é, água e hidroxiapatita, é o grande motivo de escolha dos *lasers* de alta intensidade para prevenção da cárie. Na FIG. 11 temos a representação dos comprimentos de ondas (μm) de determinados *lasers* e o coeficiente de absorção (cm^{-1}) de alguns tecidos biológicos, da água e da hidroxiapatita. Os *lasers* de érbio e CO_2 são os que melhor interagem com os componentes estruturais do esmalte.

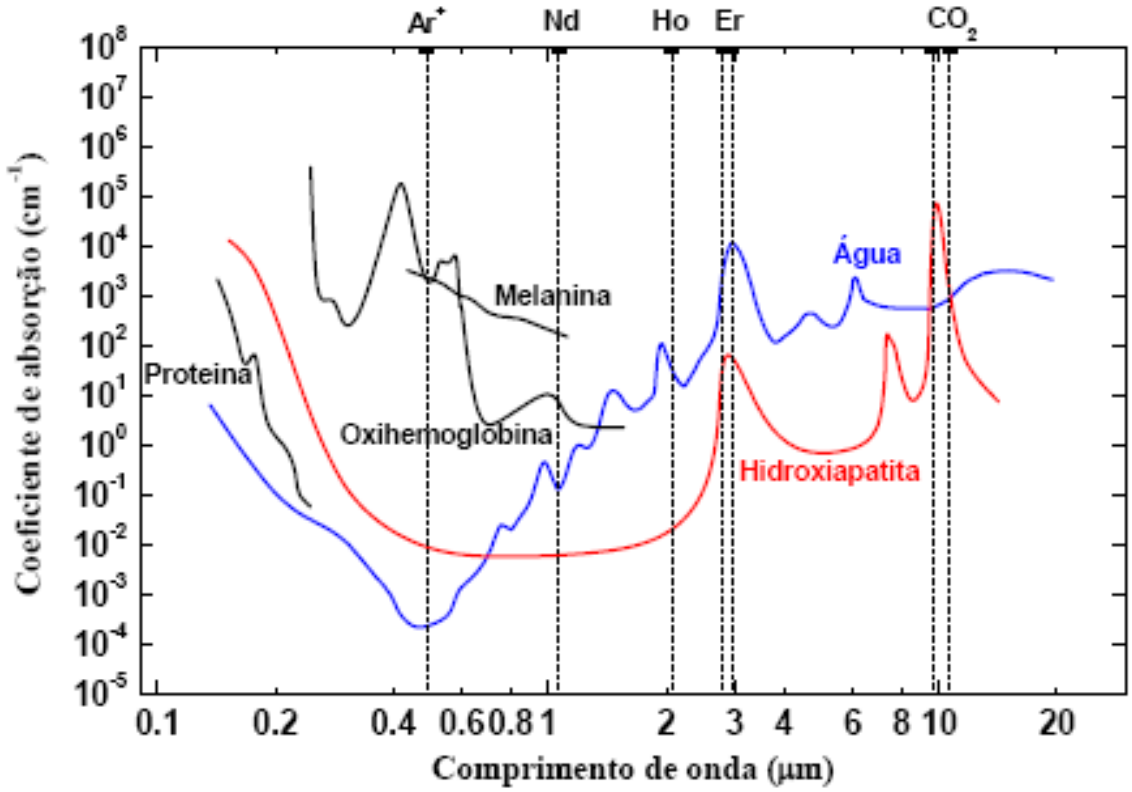

Figura 11: Principais *lasers* utilizados em Odontologia e sua interação com os principais componentes dos tecidos biológicos, dentre eles a água e a Hidroxiapatita[43].

As irradiações dos *lasers* Er:YAG e Er,Cr:YSGG são fortemente absorvidos pela água e especificamente o Er,Cr:YSGG é absorvido pelo grupo OH^- da hidroxiapatita da parte mineral do dente. Esta energia absorvida é convertida em calor e estes fluxos de calor são emanados como fenômeno da radiação térmica para dentro ou para fora do tecido. A energia absorvida pela água pode provocar o efeito de ablação, efeito este que ocorre quando as gotículas de água que

absorvem esta energia e aumentam a pressão local e se dá o início da ablação, o que provoca a vaporização destas moléculas de água, com o aumento da pressão é provocada micro explosões que levam consigo partes do material irradiado[15,16,17,41,42]. Na FIG. 12 temos imagens do efeito ablativo com relação ao tempo de ação do pulso *laser*. Na FIG. 13 temos a representação dos tipos de ações do *laser* de alta potência com relação à energia do seu feixe.

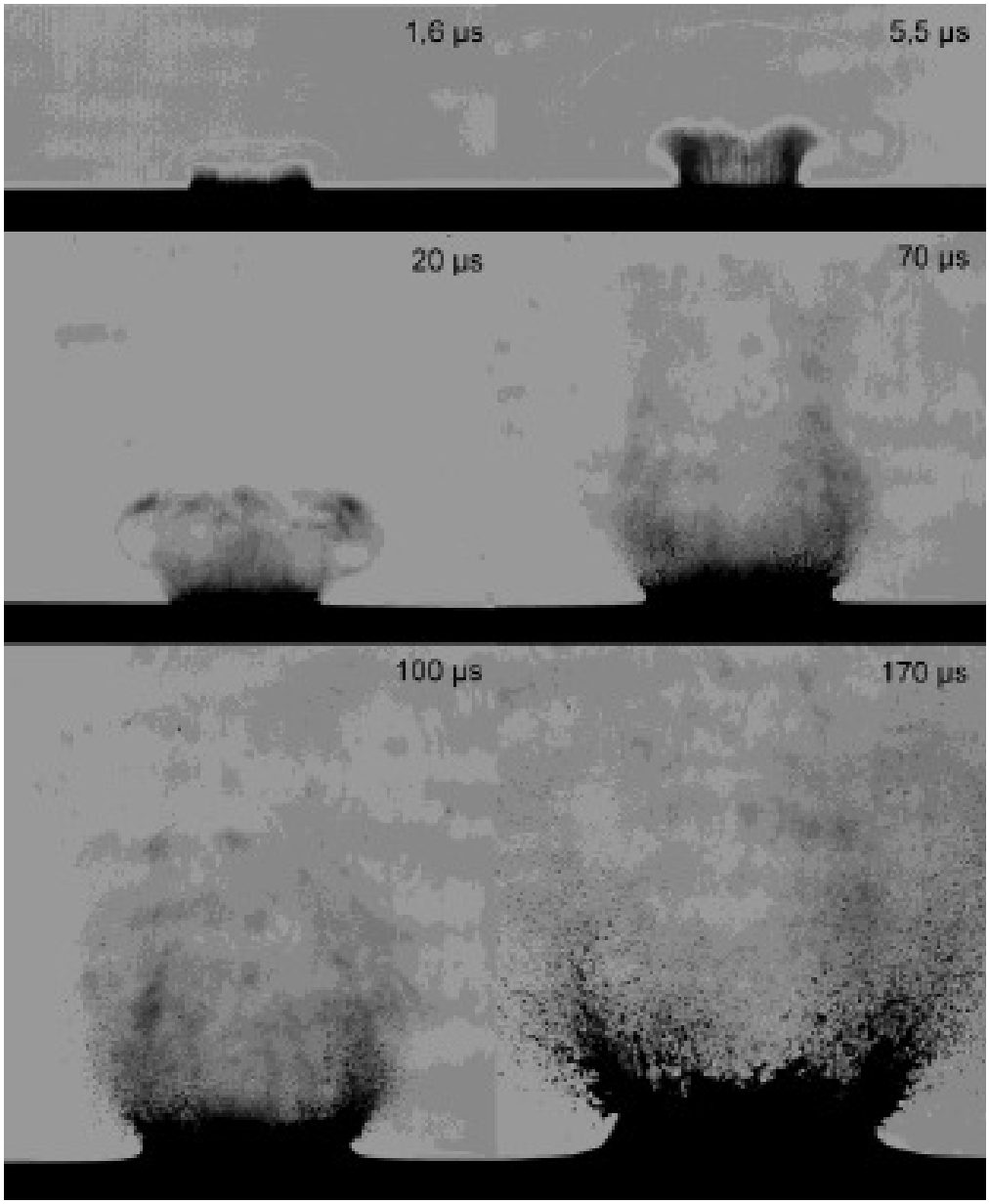

Figura 12: Fotografias de ablação da água por pulsos do *laser* Er: YAG em uma exposição de densidade de energia de 32 J/cm^2 . A projeção de uma nuvem de gotícula é devido a uma fase de explosão da água seguida por um movimento de recuo que induz a expulsão de uma grande massa de material[44].

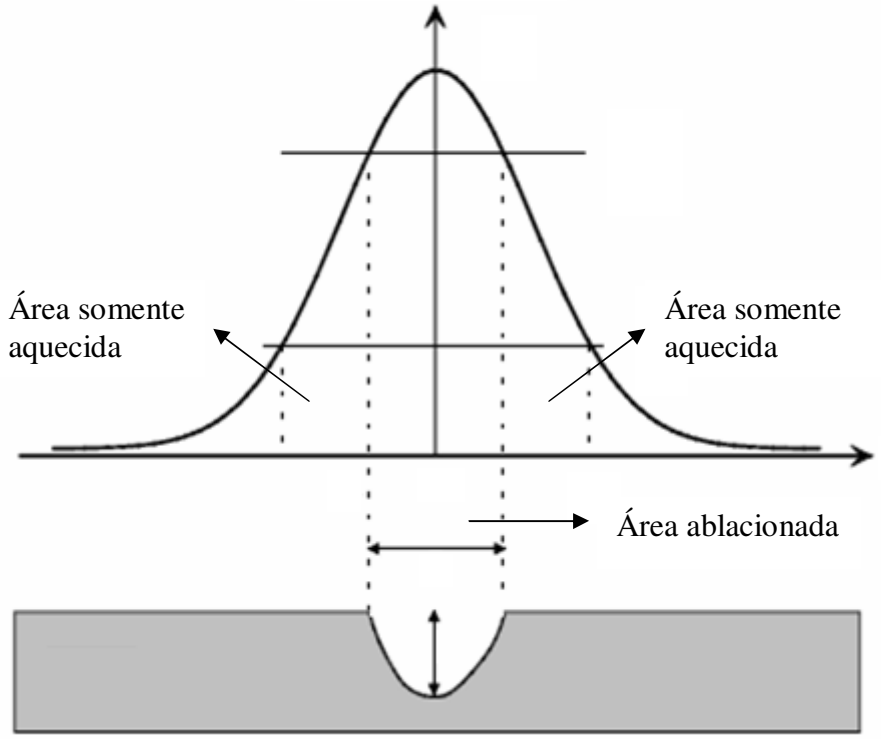

Figura 13: A energia de um pulso *laser* de alta potência ocasiona a ablação em sua área central e na circunvizinhança provoca o aquecimento do material irradiado.

Os *lasers* de érbio (Er:YAG – 2,94 μm e Er,Cr:YSGG – 2,79 μm) também têm sido investigados para fins preventivos[43,45,46,47,48,49]. Apesar de que os mesmos sejam empregados para preparos cavitários pelo mecanismo de ablação. Usando valores de irradiação muito próxima ou abaixo do limiar de ablação do tecido, o *laser* provoca mudanças físicas e químicas na estrutura do esmalte sem que seja expelida grande parte do material sob influencia da ação *laser*, a fim de que o esmalte apresente maior resistência à demineralização. Em estudos de limiar de ablação do esmalte dental, encontraram-se limiares de ablação de 2,8–18 J/cm^2 para o *laser* de Er:YSGG[19,22,40,70,71].

3.5. Efeitos térmicos em apatitas sintéticas e naturais.

Com relação ao comportamento do esmalte, dentina e osso à ação térmica, encontra-se em perfis de termogravimetria de perdas de diferentes componentes estruturais: H_20 adsorvida ou superficial até 100 °C; perda parcial de matriz orgânica até 200 °C; perda de HPO_4^{2-} até 400 °C; perda de CO_3^{2-} entre 400 °C e

950 ℃[23]. Outros autores encontraram que há perda de matriz orgânica e seu desaparecimento total até 350 ℃ e o material começa a se decompor a partir de 700 ℃, por causa da diminuição do carbonato a partir desta temperatura[50].

A HAP é estável até a temperatura de 500 ℃, apresentando perda de 30% em peso de sua massa até este patamar. Aquecendo-a até 600 ℃ ocasiona uma apatita pobremente cristalizada, a 800 ℃ há a formação de β-TCP, se aquecido a seco ou com vapor de água[23]. Vários estudos encontraram formações de β -TCP e β -TCP a partir da HAP acima da temperatura de 700 ℃ e aparecimento de TTCP a partir de 900 ℃ [51,52,53,54,55].

Mudanças de parâmetros de rede cristalina são observadas tanto nas apatitas biológicas e sintéticas aquecidas a diferentes temperaturas. No caso do esmalte, os parâmetros de rede cristalina mudam, principalmente nas dimensões do eixo-a, devido à perda dos componentes HPO_4^{2-} e CO_3^{2-} e mudanças com relação aos tipos de substituições CO_3^{2-} ,com predominância de substituição tipo B abaixo de 800 ℃ e tipo A acima deste patamar. Onde há decréscimo do eixo-a entre 200 ℃ e 400 ℃ devido à presença de HPO_4^{2-} que reage com o CO_3^{2-} e causando perda de H_2O. Enquanto que a diminuição do eixo-a entre 400 ℃ e 600 ℃ por dois fatores: perda de CO_3^{2-} (tipo B) e mudança de substituição tipo B por tipo A do CO_3^{2-} a altas temperaturas[23].

Nas apatitas sintéticas pode-se ver a perda de massa da água superficial até 120 ℃, acompanhada da água intersticial ou adsorvida entre 400 ℃ e 500 ℃. Esta perda é acompanhada por decréscimo do eixo-a. A 600 ℃ a diminuição do eixo-a é atribuída à perda de água e íons HPO_4^{2-}. Por volta de 550 ℃ começa a liberação de CO_2 no ar e cessa por volta de 900 ℃ a 1000 ℃. Estudos de mudanças térmicas envolvendo o carbonato são complicados. Pode-se dividir em grupos principais: estudos de perda de CO_2; realocação de íons CO_3^{2-} na estrutura; formação de CO_2 retido na estrutura e formação de hidrogênio e monóxido de carbono a partir de acetato retido[25].

A perda de CO_2 acontece entre 700 ℃ e 800 ℃ pela descarboxilação do íon CO_3^2. A realocação de CO_3^{2-} entre 500 ℃ e 800 ℃, foi estudada por IR nas bandas de CO_3^{2-} em 1545, 1450 e 880 cm^{-1}, e foi visto uma maior proeminência destas bandas, que estão relacionadas à incorporação de CO_3^{2-} nos íons OH^-. As áreas das bandas relacionadas à incorporação de íons CO_3^2 nos sítios de fosfatos chegam à zero por volta de 1000 ℃. As mudanças relacionadas a incorporações

de carbonato nos sítios de OH começam a diminuir em torno de 100 °C com mínimo em 300 °C, em seguida sobem a um máximo em torno de 700 °C e zeram em 1100 °C. Os mecanismos propostos por estas evoluções térmicas são que os íons CO_3^{2-} em ambos os sítios começam a se decompor em CO_2 em 200 °C ou abaixo; o CO_2 então difunde para fora do cristal por seus eixos, mas próximo de 400 °C a taxa de produção de CO_2 acumula-se provavelmente nas vacâncias dos sítios do PO_4^{3-}, e começa a formar CO_3^{2-} nos eixos da estrutura cristalográfica, finalmente a 1100 °C todo o carbono é eliminado. Os íons CO_3^{2-} podem se formar nos eixos da estrutura através da reação $CO_2 + 2OH^- \rightarrow CO_3^{2-} + H_2O$. O comportamento da banda de CO_2 no esmalte é similar ao da apatita sintética[25].

3.6. Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

A espectroscopia estuda a interação da radiação eletromagnética com a matéria, sendo um dos seus principais objetivos o estudo dos níveis de energia de átomos ou moléculas. Normalmente, as transições eletrônicas são situadas na região do ultravioleta ou visível, as vibracionais na região do infravermelho e as rotacionais na região de microondas e, em casos particulares, também na região do infravermelho longínquo[56].

A condição para que ocorra absorção da radiação infravermelha é que haja variação do momento de dipolo elétrico da molécula como conseqüência de seu movimento vibracional ou rotacional (o momento de dipolo é determinado pela magnitude da diferença de carga e a distância entre dois centros de carga). Somente nessas circunstâncias, o campo elétrico alternante da radiação incidente interage com a molécula, originando os espectros. De outra forma, pode-se dizer que o espectro de absorção no infravermelho tem origem quando a radiação eletromagnética incidente tem uma componente com freqüência correspondente a uma transição entre dois níveis vibracionais[57].

A vibração dos átomos no interior de uma molécula apresenta energia coerente com a região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho (100 a 10000 cm^{-1}). Os átomos em uma molécula nunca estão imóveis. Se, em um sistema, há N átomos livres para se movimentarem nas três dimensões, o sistema terá 3N graus de liberdade. Se, no entanto, esses átomos

estiverem ligados entre si, formando uma molécula, continuarão ainda existindo 3N graus de liberdade, sendo três graus para a translação do centro de massa da molécula e, para uma molécula não linear, três graus para a rotação da mesma em torno dos três eixos, restando, assim 3N-6 graus de liberdade para as vibrações. Para moléculas lineares, como não há rotação em torno do eixo internuclear, restam 3n-5 graus de liberdade para as vibrações[57].

Esses graus de liberdade correspondem aos diferentes modos normais de vibração de uma molécula. Um modo normal de vibração é aquele em que cada núcleo realiza uma oscilação harmônica simples em torno de sua posição de equilíbrio, todos os núcleos se movem com a mesma freqüência e em fase e o centro de gravidade da molécula permanece inalterado[57].

As posições relativas dos átomos em uma molécula não estão fixadas exatamente; variam continuamente como conseqüência de inúmeros tipos de vibrações e rotações em torno das ligações da molécula[57]. As vibrações moleculares podem ser classificadas em deformação axial (ou estiramento) e deformação angular e podem ser simétricas ou assimétricas. As vibrações angulares podem ainda ser classificadas como no plano ou fora do plano. Os diferentes tipos de vibrações são apresentados na FIG.14.

Uma vibração de estiramento envolve uma variação contínua na distância interatômica ao longo do eixo da ligação entre dois átomos. As vibrações de deformação angular são caracterizadas pela variação do ângulo entre duas ligações e são de quatro tipos: tesoura (designada pelo termo em inglês: scissoring ou bending), balanço (rocking), sacudida (wagging) e torção (twisting).

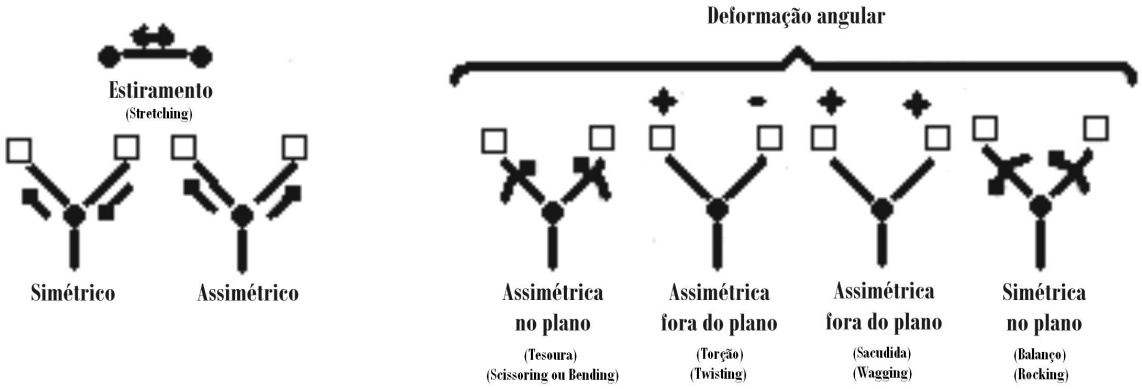

Figura 14: Modos de vibração[56].

A região do espectro eletromagnético correspondente ao infravermelho se estende de aproximadamente 12.800 a 10 cm^{-1}, mas o segmento mais freqüentemente utilizado está situado entre 4000 a 670 cm^{-1}, conhecido como infravermelho médio o intervalo entre 4000 a 200 cm^{-1}. A região de mais baixa freqüência (200 a 10 cm^{-1}) é conhecida como infravermelho longínquo e a região de mais alta freqüência (4000 a 12.800 cm^{-1}) como infravermelho próximo. A intensidade de uma banda de absorção é proporcional a concentração do componente que causou esta banda.

Em geral, uma escala linear de número de onda é preferida em espectroscopia na região do infravermelho por causa da proporcionalidade direta entre essa grandeza e energia e freqüência. A freqüência da radiação absorvida é, por sua vez, a freqüência da vibração molecular realmente responsável pelo processo de absorção. Embora uma escala em termos de cm^{-1} seja frequentemente chamada de escala de freqüência, é preciso ter em mente que essa terminologia não é estritamente correta, porque o número de onda é apenas proporcional à freqüência[57].

Aplicando a transformada de Fourier sobre o sinal do interferograma resulta em um espectro idêntico ao da convencional (dispersiva) de espectroscopia infravermelha. Porém com as vantagens de que o FTIR apresenta uma potência da radiação que chega ao detector maior, melhores precisão e exatidão em termos de comprimento de onda e o aumento de varreduras em um menor tempo porque todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente e é possível obter o espectro de uma só vez[56].

3.7. Difratometria de Raios-X (DRX).

Este é um dos métodos mais usados para a identificação de fases cristalinas de sólidos. O difratograma padrão de uma rede cristalina é característico da substância estudada e a posição das linhas de difração é independente da presença de outras fases na amostra. A técnica não é destrutiva e apenas pequenas quantidades da amostra em pó são suficientes para a identificação da fase cristalina presente.

O raios-X é um tipo de radiação eletromagnética e, sendo muito energética, caracteriza-se por um comprimento de onda muito menor que o da luz, podendo atingir a ordem de grandeza das dimensões atômicas. Os raios-X ao atingirem um material podem ser espalhados elasticamente, sem perda de energia pelos elétrons de um átomo (dispersão ou espalhamento coerente). O fóton de raios-X após a colisão co o elétron muda sua trajetória, mantendo, porém, a mesma fase e energia do fóton incidente. Sob o ponto de vista da física ondulatória, pode-se dizer que a onda eletromagnética é instantaneamente absorvida pelo elétron e reemitida; cada elétron atua, portanto, como centro de emissão de raios-X[58].

Se os átomos que geram este espalhamento estiverem arranjados de maneira sistemática, como em uma estrutura cristalina, apresentando entre eles distâncias próximas ao do comprimento de onda da radiação incidente, pode-se verificar que as relações de fase entre os espalhamentos tornam-se periódicas e que efeitos de difração dos raios-X podem ser observados em vários ângulos[58].

Quando uma substância cristalina é submetida a um feixe de raios-X incidindo segundo um determinado ângulo, os diferentes planos ou camadas de átomos ou íons dos cristais refletem parte da radiação, sendo o ângulo de reflexão igual ao ângulo de incidência. Para que as ondas refletidas pelos diferentes planos cristalinos estejam em fase, isto é, para que seja máxima a intensidade da radiação refletida, é necessário que se verifique certa relação entre o comprimento de onda da radiação, a distância entre os planos dos cristais ou à *distância interplanar* e o ângulo de incidência, relação esta que é dada pela lei de Bragg. Assim, submetendo uma amostra cristalina a raios X de um determinado comprimento de onda e traçando um difratograma com a intensidade da radiação difratada em função do ângulo de incidência, obtém-se, através dos máximos de difração, um conjunto de distâncias entre planos cristalinos, que é característico da substância cristalina que lhe deu origem. O difratograma de raios X fornece o ângulo entre os raios de incidência (θ) e o difratado na amostra (2θ) versus a intensidade relativa. Através da equação de Bragg,

$$2d \operatorname{sen}\theta = n\lambda$$

onde λ é o comprimento de onda da radiação utilizada, é possível determinar o espaçamento d(Å) entre os planos atômicos da rede cristalina[59].

Para a geometria θ-2θ, esquema na FIG.15, o goniômetro acoplado aos acessórios de recepção do feixe difratado, move-se (H) com velocidade angular

(2θ/passo) sobre o eixo P e rotaciona a amostra (P) com metade desta velocidade angular (θ/passo). O raio do círculo do goniômetro é fixo, apresentando iguais distâncias do tubo gerador de raios-X à amostra e da amostra à fenda de recepção "D" (LP=PD). O plano do círculo focal contém os raios incidente e difratado, isto é, a fonte, amostra e a fenda de recepção.

A partir da fonte, os raios-X atravessam a fenda Soller ou colimadores paralelos (G), a fenda de divergência (B) e irradiam a superfície da amostra (C). Os raios difratados em determinado ângulo 2θ convergem para a fenda de recepção (D). Antes ou depois da fenda de recepção pode ser colocado um segundo conjunto de colimadores (E) e uma fenda de espalhamento (F). Um monocromador do feio pode ser colocado após a fenda de recepção, na posição da fenda de espalhamento.

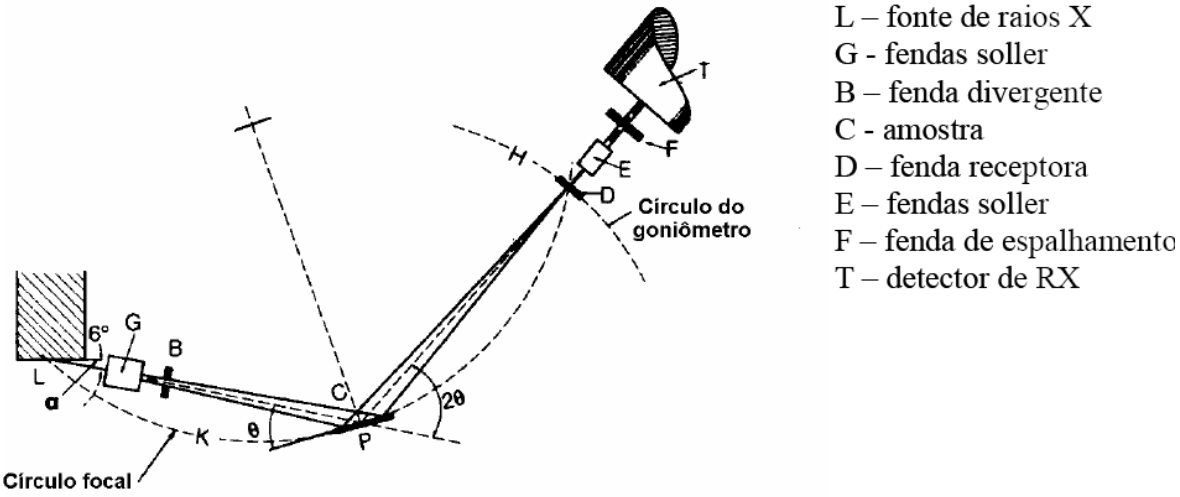

Figura 15: Geometria Bragg-Brentano de um difratômetro raios-X, mostrando as diferentes fendas[58].

A principal aplicação da difração de raios-X refere-se à identificação de compostos cristalinos. Os planos de difração e suas respectivas distâncias interplanares, bem como as densidades de átomos (elétrons) ao longo de cada plano cristalino, são características específicas e únicas de cada substância cristalina, da mesma forma que o padrão de difração por ela gerado (equivalente a uma impressão digital do material).

3.8. Método de Rietveld.

Pelo método é possível fazer o refinamento dos difratogramas de raios-X para a cela unitária da estrutura cristalina, análise de microestrutura, análise quantitativa de fases e determinação de possível orientação preferencial da amostra. O método surgiu como uma alternativa para o refinamento de estrutura cristalina a partir de dados de difração em policristais. A estrutura cristalina é refinada, de forma a fazer com que o difratograma calculado com base na estrutura cristalina proposta, se aproxime “o melhor possível” do difratograma observado.

O padrão calculado ao se ajustar ao padrão observado fornece dados dos parâmetros estruturais do material e parâmetros do perfil de difração. O termo refinamento pelo método de Rietveld refere-se ao processo de ajuste do modelo de parâmetros utilizados no cálculo de um padrão de difração, que seja o mais próximo do observado. O refinamento é conduzido pela minimização da soma das diferenças entre as intensidades calculadas e observadas, para cada passo angular do padrão de difração[60].

Os parâmetros, específicos de cada fase, que variam durante o refinamento são[60]:

a) estruturais: posições atômicas, parâmetros da cela unitária, fatores de ocupação, fator de escala, parâmetros de vibração térmica (isotrópicos e anisotrópicos) e parâmetro térmico isotrópico total.

b) não estruturais: parâmetros da largura à meia altura (U, V, W), assimetria, 2θ zero, orientação preferencial e coeficientes da radiação de fundo.

O método de Rietveld é aplicado ao intervalo angular total do padrão de difração, aumentando a precisão dos resultados obtidos. O problema de sobreposição de picos é minimizado, permitindo o máximo de extração de informações do padrão de difração.

A qualidade do ajuste entre o padrão de difração observado e calculado é medida por um conjunto de fatores de discordância (R). Estes fatores são referências no refinamento para se tomar a decisão se o processo apresenta ou não um grau satisfatório para ser concluído. Dentre os fatores R, os mais

utilizados são o R_p , R_{wp} e R_{exp}, onde R_p é o fator de discordância do padrão de difração, R_{wp} o fator de discordância ponderado desse padrão e R_{exp} o fator de discordância ponderado esperado para o referido padrão, sendo este último um indicador da qualidade do padrão de difração observado. As relações que os representam são dadas na TAB.6, onde y_i(observado) e y_i(calculado) são as intensidades observadas e calculadas no ponto i, w_i é o peso atribuído a esse ponto, N é o número de pontos experimentais e P é o número de parâmetros a serem refinados[61].

Tabela 6: Equações relacionadas aos fatores R_p, R_{wp} e R_{exp}[61].

R- padrão	$R_p = \frac{\sum \lvert y_i(obs) - y_i(calc) \rvert}{\sum y_i(obs)}$
R - padrão ponderado	$R_{wp} = \left\{ \frac{\sum w_i (y_i(obs) - y_i(cal))^2}{\sum w_i (y_i(obs))^2} \right\}$
R - esperado	$R_{\exp} = \left\{ \frac{(N-P)}{\sum_{i=1}^{n} w_i y_i^2} \right\}^{1/2}$
P - Tamanho dos cristalitos (Å)	$P = \frac{18000 K \lambda}{\pi X}$ $X = \Delta d / d^2$

A relação R_{wp}/R_{exp} é chamada de fator χ que é uma medida relacionada à eficácia do refinamento e o χ^2 a função distribuição para uma adequação dos mínimos quadrados que se encaixam no modelo com P parâmetros corretamente refinados para os N pontos dos dados do difratograma analisado, sendo ela a probabilidade da soma dos quadrados residuais, o valor esperado da soma será reduzido a 1 para cada parâmetro refinado. O valor de χ^2 estará o mais próximo do valor 1 para quanto mais eficaz for o refinamento pelo método de Rietveld[61].

Para os cálculos do tamanho dos cristalitos, o método de Rietveld utiliza a equação P mostrada na TAB.6. Sendo K a constante de Scherrer e X a Lorentziana da largura do pico. Se os dados são suficientes, é possível obter uma indicação da média da forma do pico, considerando a dependência das direções dos valores do tamanho do cristalito por cada reflexão. A função perfil para o

tamanho dos cristalitos é estritamente Lorentziana longe do pico, mas mesmo assim, a Lorentziana é utilizada para este efeito na gama de reflexões do difratograma. Pois o tamanho dos cristalitos contribuem somente com o componente Lorentziano. A grosso modo a resolução da constante $\Delta d/d^2$ é particularmente útil no estudo de transição de fase, bem como análise de tamanho de cristalitos. No caso dos efeitos no tamanho, a excelente resolução ao londo do espaço *d* permite a fácil descrição do tamanho dos cristalitos[61].

O método de Rietveld pode ser aplicado na análise quantitativa de fases, ajuste de parâmetros de cela unitária e estudos estruturais como: determinação de tamanho de cristalitos, distribuição de cátions, incorporação de átomos e formação de vacâncias, posições atômicas e posições de ocupação[61].

4. MATERIAL E MÉTODOS.

4.1.Produção de amostras de hidroxiapatita sintética nanoestruturada.

Para a produção da HAP sintética nanoestruturada usou-se o procedimento de precipitação química de soluções aprimorada pelo Prof.Dr. Mário Ernesto Giroldo Valério do laboratório de preparação e caracterização de materiais – LPCM do departamento de Física da Universidade Federal de Sergipe - UFS;

A produção do material é feita a partir da reação química a seguir:

$$10Ca(NO_3) + 6(NH_4)_2HPO_4 + 8NH_4OH \rightarrow Ca_{10}(PO_4)(OH)_2 + 20NH_4NO_3 + 6H_2O$$

Procede-se gotejando o reagente $Ca(NO_3)$ lentamente (1,5 mL/min.) com uma bureta em um becker contendo o $(NH_4)_2HPO_4$. A solução de NH_4OH é utilizada no controle de pH utilizando-se uma bureta, mantendo-se o pH em torno de 10,4. Foram usados 100 ml de cada reagente na reação acima.

Após a produção, as amostras passaram por um tempo de maturação, ficando em repouso em Becker por 4 dias e posteriormente o líquido foi filtrado. O material foi então coletado em forma de gel, o qual foi aquecido em mufla a diferentes temperaturas de calcinação (200 °C, 600 °C, 800 °C e 1000 °C) com rampa de 10°C/min, mantendo-se por 1h na temperatura visada para haver a cristalização final do material biocerâmico hidroxiapatita (FIG.16).

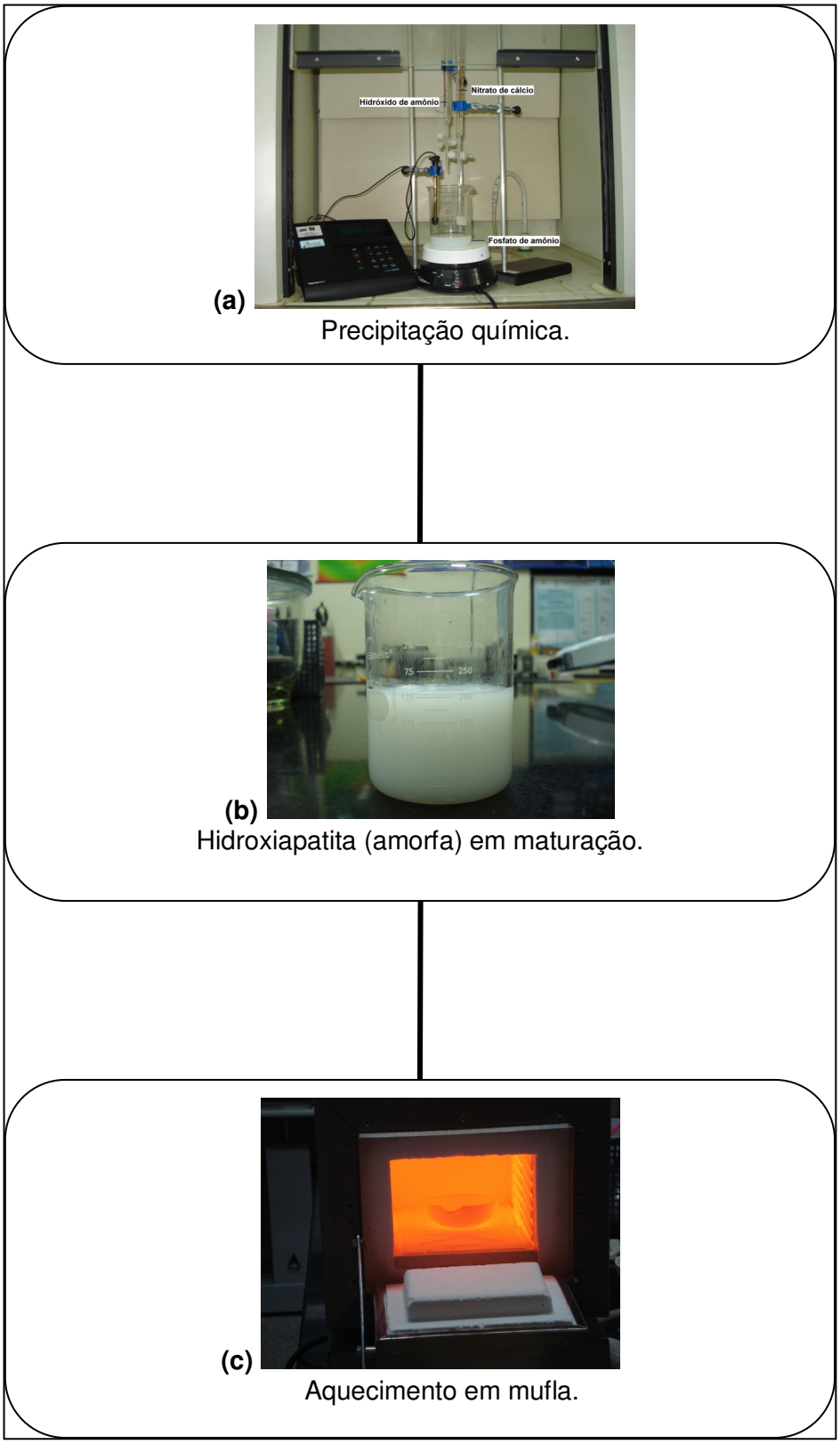

Figura 16: Organograma ilustrativo dos procedimentos de produção da hidroxiapatita sintética. (a) precipitação química das soluções para produção da hidroxiapatita, (b) hidroxiapatita em maturação durante 4 dias e (c) Aquecimento em mufla para cristalização da hidroxiapatita.

4.2. Preparação de amostras de esmalte natural.

As amostras de esmalte natural foram obtidas de dentes incisivos bovinos, por meio de corte sagital da superfície vestibular, depois a parte interna do corte onde apresentava indícios de dentina foi lixada para que restasse apenas o esmalte. Subsequentemente, o esmalte foi triturado em almofariz até a forma de pó (FIG.17). Amostras do esmalte sofreram ação térmica através de uma mufla em diferentes temperaturas (200 °C, 600 °C, 800 °C e 1000 °C).

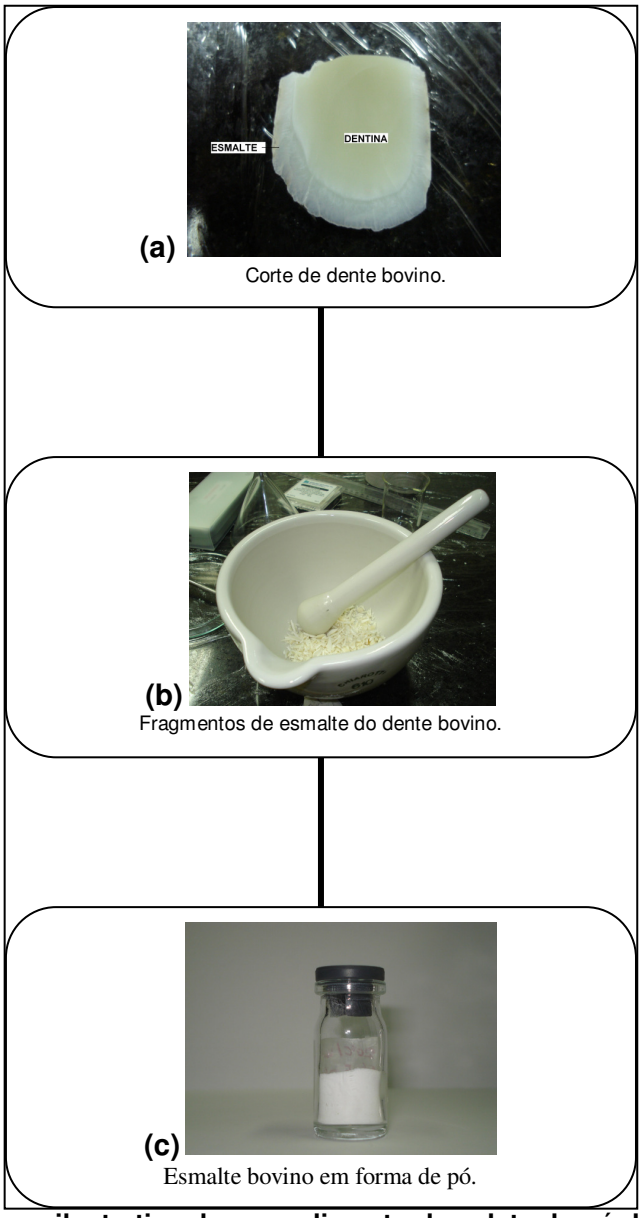

Figura 17: Organograma ilustrativo do procedimento de coleta do pó do esmalte bovino. (a) corte sagital de dente bovino, (b) Fragmentos de esmalte bovino para serem triturados e (c) esmalte bovino em forma de pó após trituração.

4.3. Irradiação *laser* Er,Cr:YSGG.

Para a irradiação *laser,* foram confeccionadas pastilhas do pó prensado da HAP e do esmalte, contendo 0,4 g da amostra em 1 gota de Nujol. As pastilhas foram obtidas em prensa mecânica com uma pressão de 2 toneladas/cm^2 durante 5 min (FIG.18).

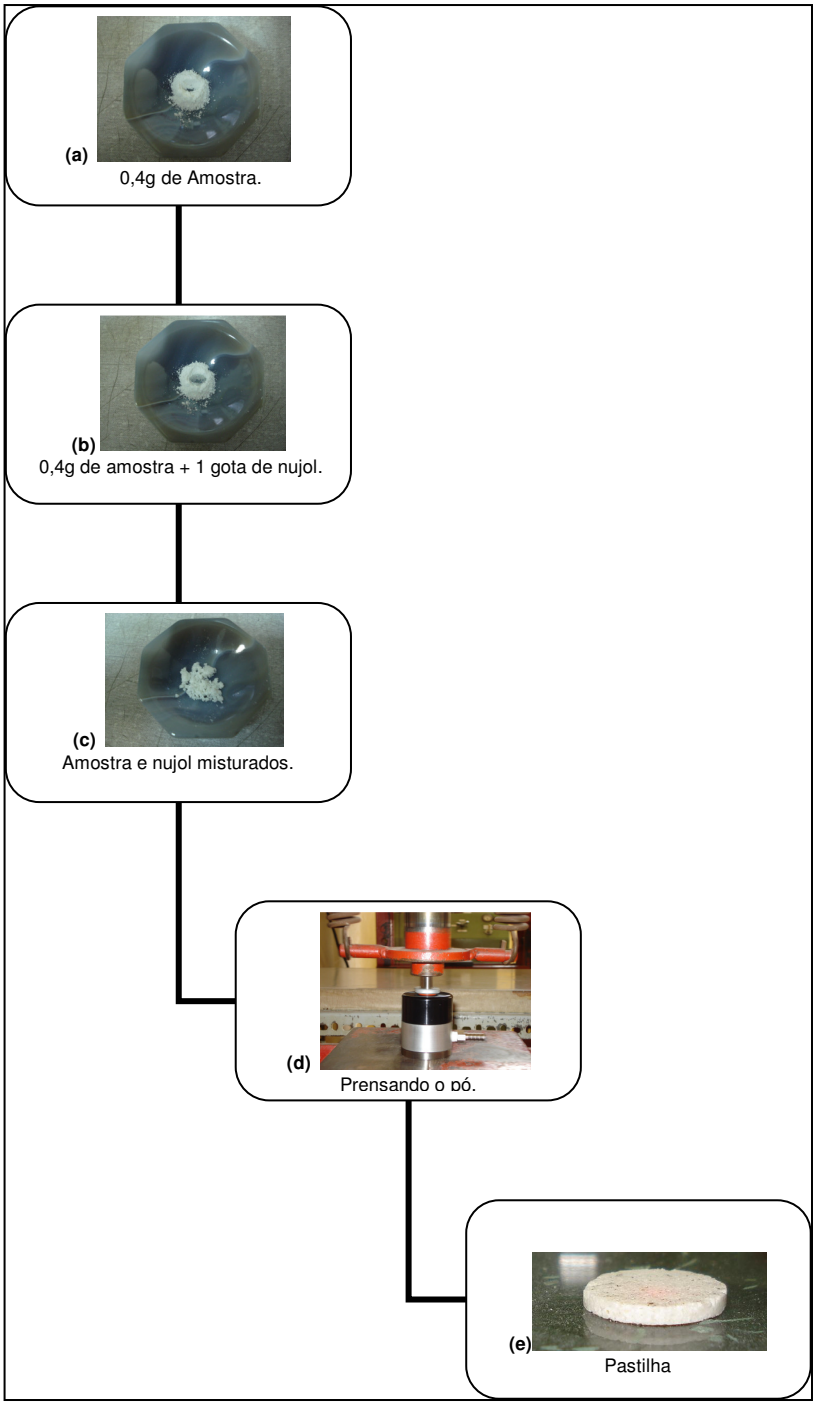

Figura 18: Organograma ilustrativo dos procedimentos para obtenção de pastilhas do pó de esmalte e hidroxiapatita para irradiação a *laser*. (a) 0,4 de amostra de esmalte ou HAP, (b) 0,4g de amostra + 1 gota de nujol, (c) amostra e nujol misturados, (d) prensagem da mistura de amostra e nujol e (e) pastilha finalizada.

A seguir as pastilhas foram irradiadas com o *laser* de Er,Cr:YSGG (Érbio, Cromo: Ítrio, Escândio, Gálio e Granada) , modelo Waterlase, (Biolase-USA) (FIG.19), do Laboratório de Biofotônica do Centro de Lasers e Aplicações - IPEN, com comprimento de onda de 2,78 μm, largura temporal de 140-200 μs, diâmetro da fibra de 600 ¹m e com taxa de repetição de 20 Hz. Usamos para a irradiação a ponta G-6mm com as características especificadas na TAB.9, cuja indicação clínica é para preparação de cavidades, remoção de cárie, preparar rugosidades em tecidos duros, plastia de esmalte e preparação do dente para obtenção de acesso ao canal radicular. Foi considerado o diâmetro útil do feixe de 0,06 cm e área útil de 0,0283 cm^2 para o cálculo das densidades de energia.

As amostras foram irradiadas com densidades de energia de 7,53 ± 0,15 J/cm^2, 10,95 ± 0,25 J/cm^2 e 13,74 ± 0,27 J/cm^2 para o esmalte, referentes as potência de 1.0 W, 1.5 W e 2.0 W, respectivamente, mostradas no visor do equipamento, e de 5,79 ± 0,16 J/cm^2, 7,65 ± 0,14 J/cm^2, 10,55 ± 0,12 J/cm^2 e 13,84 ± 0,26 J/cm^2 para a HAP sintética, referentes às potências de 0.75 W, 1.0 W, 1.50 W e 2.0 W, respectivamente, mostradas no visor do equipamento. As energias médias por pulso das irradiações laser foram de 21,3 ± 0,42 mJ, 30,96 ± 0,70 mJ e 38,84 ± 0,77 mJ para o esmalte, referentes as potência de 1.0 W, 1.5 W e 2.0 W, respectivamente, mostradas no visor do equipamento, e de 16,36 ± 0,45 mJ, 21,64 ± 0,38 mJ, 29,84 ± 0,32 mJ e 39,12 ± 0,73 mJ para a HAP sintética, referentes às potências de 0.75 W, 1.0 W, 1.50 W e 2.0 W, respectivamente, mostradas no visor do equipamento. Foram mensurados 5 vezes a energia por pulso com o equipamento Power/energy meter Fieldmaster (fabricante Coherent - USA).

As amostras foram irradiadas manualmente sobre uma placa de Petri onde foi coletado o material resultante das ablações provocadas pelo *laser* e que eram depositados na placa (FIG. 20). Na TAB. 7 e TAB. 8 estão representadas potências, energia média por pulso e densidade de energia nas irradiações laser nas amostras de esmalte e hidroxiapatita sintética, respectivamente.

Tabela 7: Valores de potência, energia média por pulso e densidade de energia nas irradiações laser nas amostras de esmalte.

Visor do equipamento (W)	$E_{média/pulso}$ (mJ)	Densidade de energia (J/cm^2)
1,00	21,30 ± 0,42	7,53 ± 0,15
1,50	30,96 ± 0,70	10,95 ± 0,25
2,00	38,84 ± 0,77	13,74 ± 0,27

Tabela 8: Valores de potência, energia média por pulso e densidade de energia nas irradiações laser nas amostras de hidroxiapatita sintética.

Visor do equipamento (W)	$E_{média/pulso}$ (mJ)	Densidade de energia (J/cm^2)
0,75	16,36 ± 0,45	5,79 ± 0,16
1,00	21,64 ± 0,38	7,65 ± 0,14
1,50	29,84 ± 0,32	10,55 ± 0,12
2,00	39,12 ± 0,73	13,84 ± 0,26

Figura 19: Equipamento *laser* de Er,Cr:YSGG (USA).

Tabela 9: Especificações técnicas da ponta G-6mm.

Ponta G-6mm

Diâmetro (µm)	Fator de potência[3]	Comprimento (mm)	Indicações de uso do fabricante
600	1,00	6	Esmalte Dentina Tecidos moles

[3] Fator de potência: potência real emitida pela ponta = potência exibida no painel do laser multiplicado pelo fator de potência.

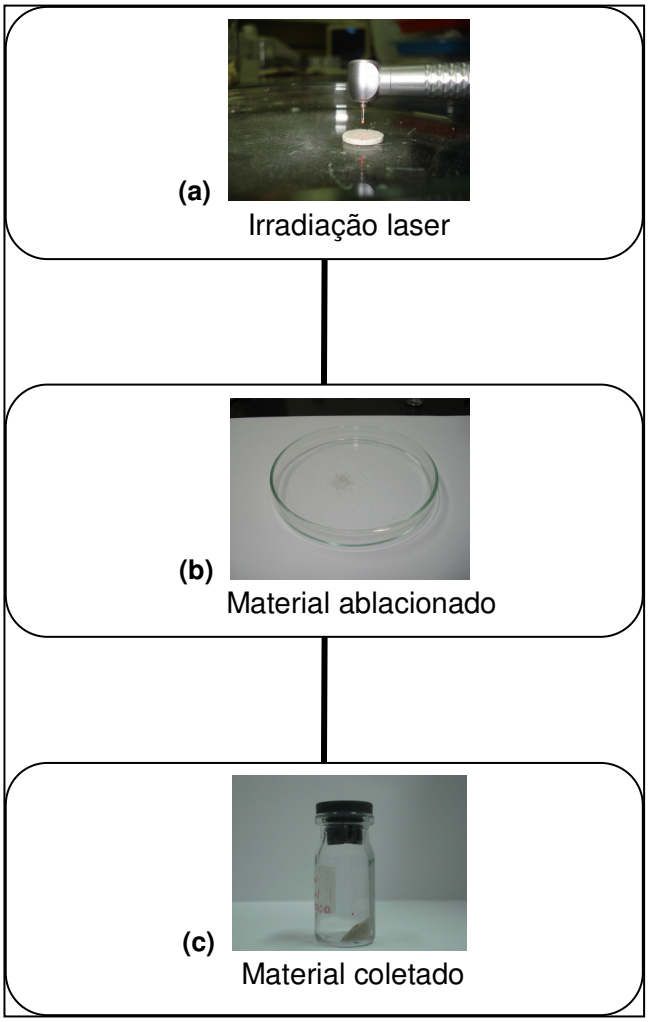

Figura 20: Organograma ilustrativo do esquema de irradiação *laser* nas pastilhas das amostras de esmalte e hidroxiapatita sintética. (a) Irradiação laser manual, (b) Deposição de material ablacionado sob a placa de petri e (c) pó coletado do material ablacionado.

4.5. Termografia no infravermelho.

As análises de temperatura de superfície foram realizadas utilizando-se uma câmera termográfica (ThermaCam FLIR SC3000 Systems, Boston, USA) (FIG.21), do Laboratório de Biofotônica do IPEN/CNEN-SP, processo CEPID-FAPESP 98/14270-8. A câmera termográfica capta imagens no infravermelho e geram diferentes tons de cinza ou de cores correspondentes a diferentes valores de temperatura, em cada pixel da imagem, como as imagens de um filme contínuo. Estas imagens demonstram o padrão de dissipação de calor e variação de temperatura entre os tecidos dentais. Esta câmera é dotada de um detector do

tipo *Quantum Well Infrared Photodetector* (QWIP) refrigerado a 70 K, capaz de registrar temperaturas na faixa de - 20 ^{o}C a 2000 ^{o}C, com variação de ±0,01^{o} C, tempo de resposta de 0,02 s e com taxa de aquisição variável de 60 a 900 Hz. No momento da análise a umidade relativa ambiente estava em torno de 36% e a temperatura ambiente em torno de 21,4 ºC. As análises foram feitas em amostras de esmalte sólido, usando a lente com distância focal de 0,1 m e posicionadas a 10 cm de forma que uma imagem nítida e visualizada no software da própria câmera - Thermacam (ThermaCam Research 2001, Boston, MA, EUA).

Figura 21 : Câmera termográfica ThermaCam FLIR SC3000 Systems.

4.6. Difração de Raios-X (DRX)

As amostras dos pós aquecidos por forno e ablacionados por irradiação laser de HAP sintética e esmalte foram submetidas à análise de DRX no Laboratório de Luz Síncroton (LNLS) na linha D12A-XRD1 (FIG.22). A energia foi a emissora de Raios-X Kα do Cu com λ = 0,1541 nm, onde foi feita a varredura de 20° a 60°, com passo 0.02°, mantendo-se a energia constante para cada ponto coletado. As amostras foram peneiradas e colocadas em capilar com diâmetro de 5 mm, ajustando o capilar no equipamento para que se gira em volta do seu próprio eixo. Cada medida durava em torno de 7 horas para obtenção do difratograma total de cada amostra nos parâmetros estabelecidos.

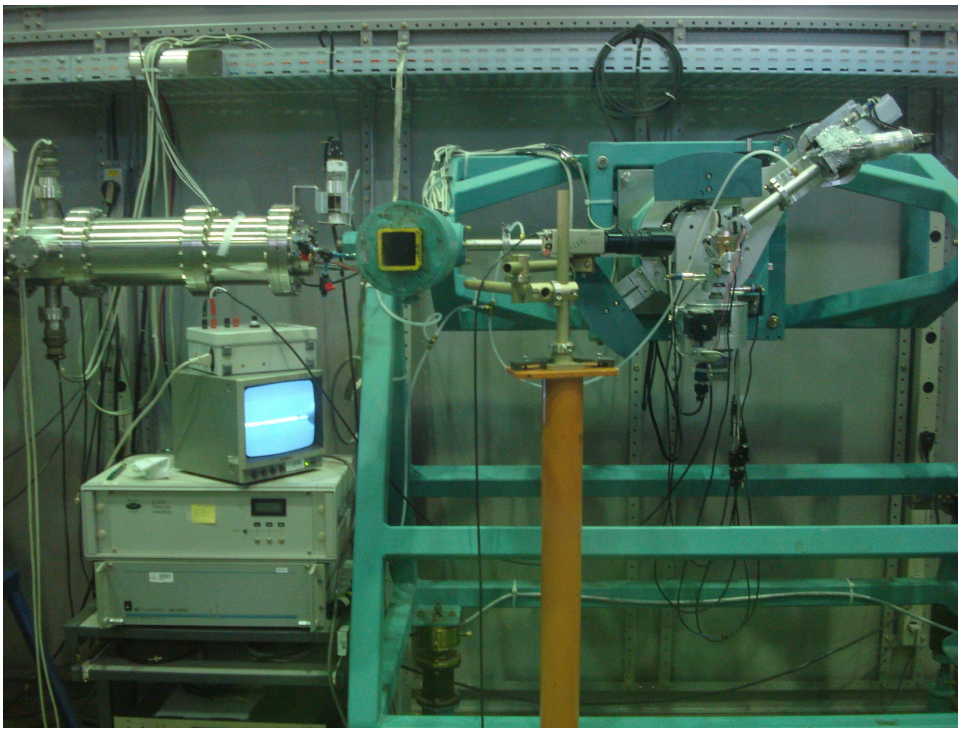

Figura 22: Linha de luz D12A-XRD1 do Laboratório de Luz Síncroton.

4.7. Método de Rietveld.

O método de Rietveld foi utilizado para confirmar as fases cristalográficas que poderiam estar presentes nas amostras através de análise prévia das posições dos picos nos difratogramas de raios-X de cada amostra, utilizando o software GSAS. O método de Rietveld de difratogramas de raios-X tem como função geral a determinação da estrutura cristalina de materiais, fazendo uso de dados da difração de raios-X ou nêutrons. Através dos resultados do método de Rietveld, além da comprovação das fases presentes nas amostras e suas proporções, obtivemos os tamanhos do eixo-a, eixo-c, volume da cela unitária, tamanho dos cristalitos e taxas de ocupação dos átomos de cálcio e fósforo na estrutura cristalográfica. Foram testados no método de Rietveld, os padrões de hidroxiapatita (PDF 09-0432), fosfato de octacálcio (PDF 26-1056), tricálcio fosfato da fase β (PDF 09-0169), fosfato de tetracálcio (PDF 25-1137), tricálcio fosfato da fase α (PDF 09-0348), óxido de cálcio (PDF 07-5785), carbonato de cálcio (PDF 01-5194), dicálcio fosfato (PDF 03-1046) e Dicálcio fosfato dihidratado (PDF 01-6132). Para análise dos dados instrumentais dos nossos experimentos, foi feito o difratograma do padrão de Silício (Standard Reference Material SRM-640c NIST)[62].

4.8. Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Para esta análise, foram confeccionadas 3 pastilhas de cada amostra. Desta maneira, 5 mg de cada amostra foram prensados com 100 mg de KBr em prensa mecânica com força de 4 ton por 10 min. (FIG. 24). As amostras assim obtidas, foram submetidas à análise por FTIR (espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier) modelo ThermoNicolet 6700 (USA) (FIG. 23), do Centro de Lasers e Aplicações do IPEN, fazendo-se a varredura no modo transmissão no intervalo 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1}, resolução de 6 cm^{-1} e 100 scans por medida. Os espectros foram analisados por meio dos cálculos das áreas de 3 espectros coletados de 3 pastilhas diferentes da mesma amostra e subseqüente cálculo da média das áreas para cada banda, nas respectivas bandas de carbonatos, fosfatos, hidroxilas e água nas amostras, nas várias condições, representadas na TAB.10.

Os cálculos foram feitos através de um script desenvolvido em software matemático, sendo que foi usada a área da banda de $PO_4^{3-}(\nu_3)$ (886 a 1360 cm^{-1}) como referência. O algoritmo executa primeiramente um stretch line na banda usada como referência $PO_4^{3-}(\nu_3)$ (886 a 1360 cm^{-1}) e calcula a área desta banda, por conseguinte executa o mesmo procedimento para cada área de banda a ser estudada. Por ultimo o software matemático divide a área de cada banda pela área da banda referência, ocasionando assim uma normalização automática da variação da área de cada banda a ser estudada com relação à banda de referência. O software matemático salva num arquivo no formato ANSCI o valor da banda normalizada e o intervalo da banda.

Figura 23: Equipamento para coleta de medida de espectroscopia de absorção no infravermelho modelo ThermoNicolet 6700 (USA).

Tabela 10: Bandas de absorção no infravermelho analisadas.

Composto	Tipo de vibração	Frequência de vibração (cm^{-1})	Intervalo das bandas (cm^{-1} a cm^{-1})
PO_4^{3-}	deformação angular simétrica no plano (ν_2)	~471	445 a 486
PO_4^{3-}	deformação angular assimétrica no plano (ν_4)	~561	486 a 589
PO_4^{3-}	deformação angular assimétrica no plano (ν_4)	~602	589 a 628
OH estrutural	libracional	~635	623 a 640
CO_3^{2-}	deformação angular assimétrica fora do plano (ν_2)	~873	801 a 886
PO_4^{3-}	estiramento assimétrico (ν_3)	~1028 e ~1088	886 a 1360
CO_3^{2-}	estiramento assimétrico (ν_3)	~1415	1395 a 1432
CO_3^{2-}	estiramento assimétrico (ν_3)	~1460	1432 a 1537
CO_3^{2-}	deformação angular assimétrica no plano (ν_4)	~1540	1537 a 1555
CO_3^{2-}	deformação angular assimétrica no plano (ν_4)	~1560	1555 a 1565
H_2O adsorvida	deformação angular assimétrica fora do plano (ν_2)	~1638	1600 a 1720
H_2O adsorvida	estiramento simétrico	~3448	3012 a 3686
OH estrutural	estiramento	~3569	3012 a 3686

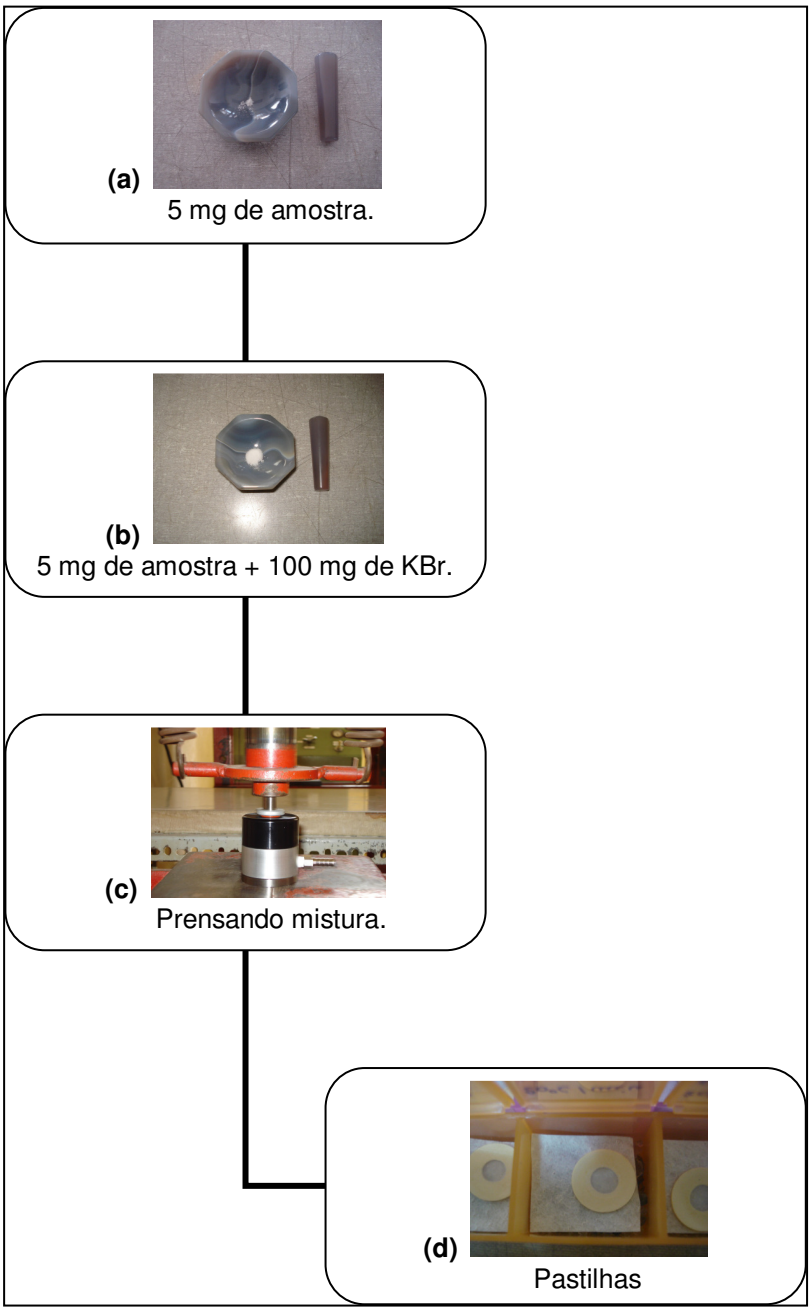

Figura 24: Organograma ilustrativo com procedimentos de preparação de pastilhas das amostras de esmalte e HAP aquecidas e irradiadas a *laser* para coleta de espectros de absorção pelo modo de transmissão em FTIR. (a) 5 mg de amostra de esmalte ou hidroxiapatita sintética aquecida ou irradiada, (b) 5 mg de amostra + 100 mg de KBr, (c) Prensagem de mistura de amostra + KBr e (d) pastilhas finalizadas.

5. RESULTADOS.

5.1. Resultados da Termografia no infravermelho.

Foram irradiadas amostras de esmalte dental com as densidades de energia usadas nos experimentos e com a câmera termográfica (ThermaCam FLIR SC3000 Systems, Boston, USA), estimamos os patamares de aquecimento na superfície do material. Onde encontramos ~300 °C para a densidade de energia de 5,79 J/cm^2, ~350 °C para as densidades de 7,65 e 7,53 J/cm^2, ~500 °C para a densidade de 10,95 e 10,55 J/cm^2 e ~600 °C para as densidades de 13,74 e 13,84 J/cm^2.

5.2. Resultados de Difratometria de Raios-X e Método de Rietveld.

5.2.1. Esmalte aquecido e irradiado a laser.

Nas amostras de esmalte que sofreram aquecimento por meio de forno, não foram observadas, nas temperaturas de 200 °C e 600 °C, qualquer alteração de fase cristalográfica, sendo validada a presença de 100% de Hidroxiapatita correspondente ao padrão PDF 09-0432 (FIG. 25 e FIG. 26). Pelo método de Rietveld foi comprovada a presença de 100% da HAP nestas amostras, sendo que os resultados estão apresentados na TAB. 11 para as amostras de esmalte aquecidas a 200°C, 600°C e 800°C em comparação com o esmalte natural (FIG. 27). Nas amostras aquecidas a 800°C (FIG. 28), além da HAP foram também encontradas as fases do fosfato de octacálcio (OCP) de código PDF 26-1056 e o tricálcio fosfato da fase β (β-TCP) de código PDF 09-0169, com proporções de 4,40% e 1,53%, respectivamente. Na TAB. 12 encontram-se os resultados do método de Rietveld da estrutura cristalográfica da HAP para as amostras de esmalte aquecidas e a amostra de esmalte natural. Na FIG. 29 temos a representação gráfica do resultado do método de Rietveld para a amostra de

esmalte aquecida a 200 ℃, onde o gráfico do ajuste entre o difratograma observado e o calculado e a diferença entre eles evidencia a fidedignidade dos resultados obtidos pelo método. Na FIG. 30 temos a representação gráfica do resultado do método de Rietveld para amostra de esmalte aquecida a 800 ℃.

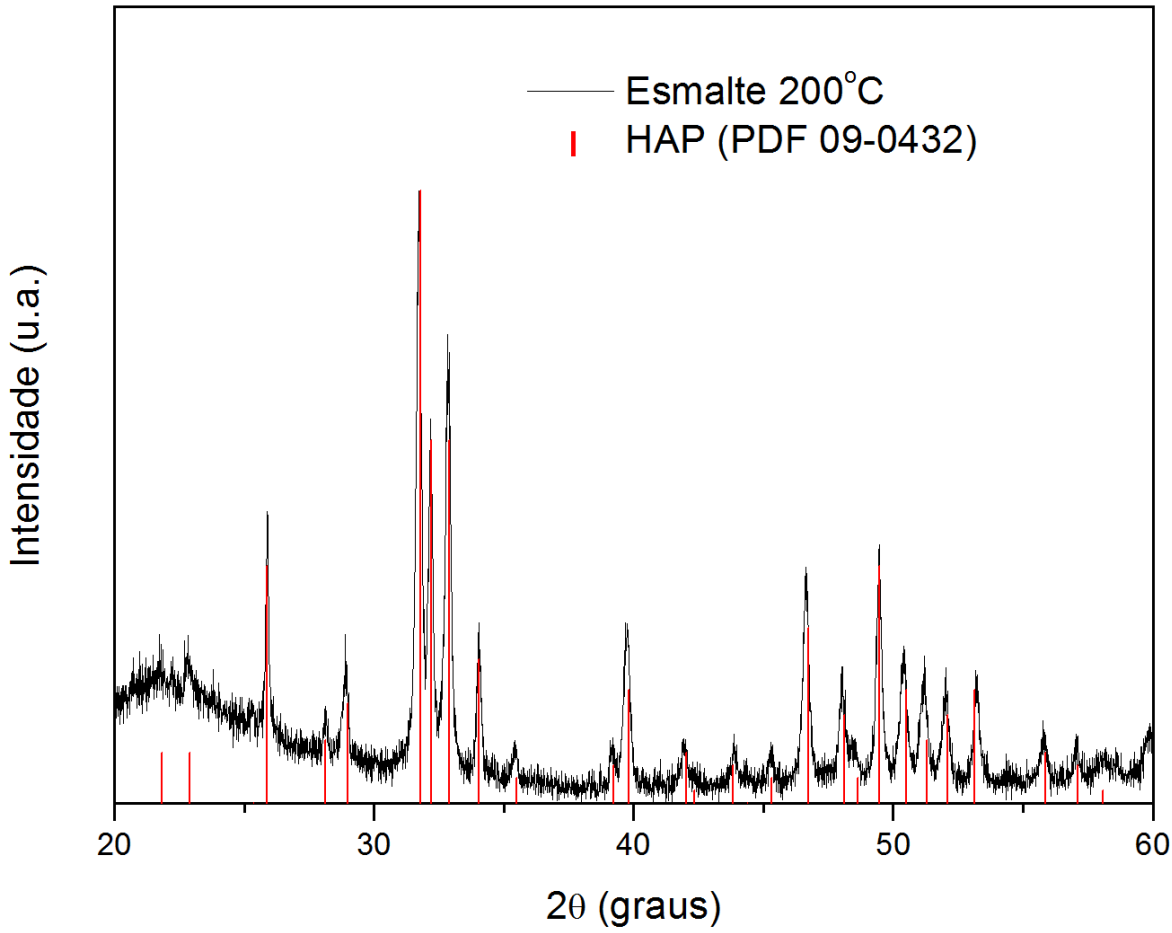

Figura 25 : Difratograma da amostra de esmalte aquecida à temperatura de 200℃.

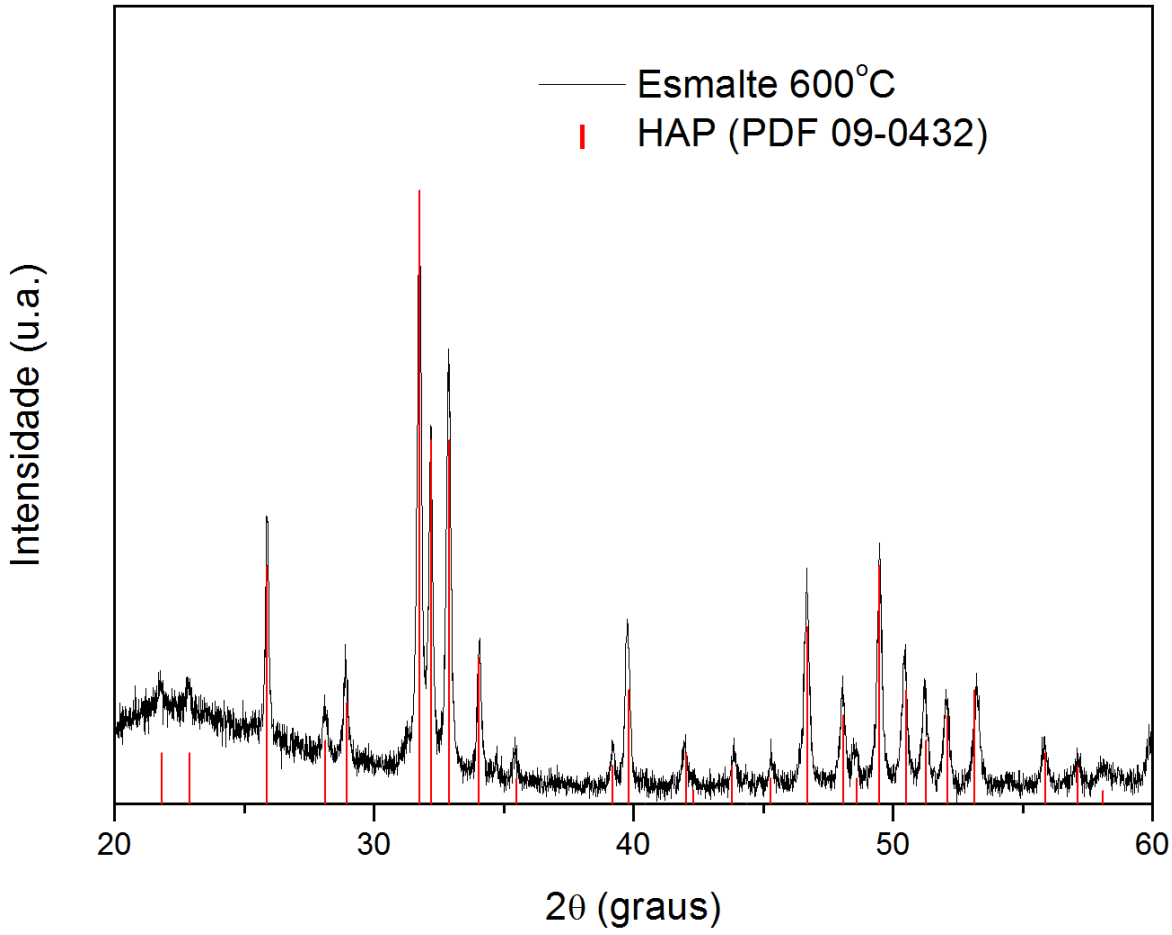

Figura 26 : Difratograma da amostra de esmalte aquecida à temperatura de 600°C.

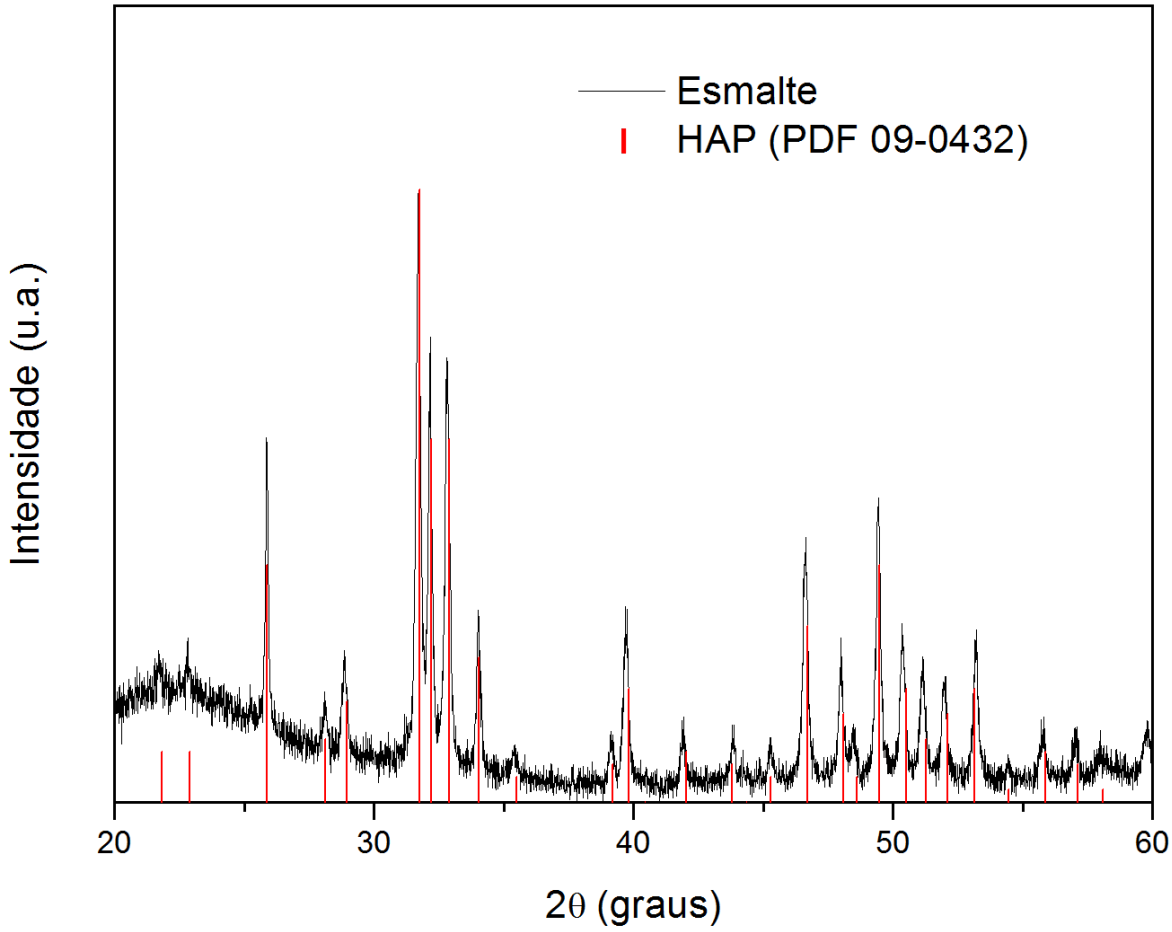

Figura 27: Difratograma da amostra de esmalte natural.

Tabela 11: Resultados do método de Rietveld para as amostras de esmalte sob ação térmica em forno.

	Esmalte	Esmalte 200°C	Esmalte 600°C	Esmalte 800°C
Fases cristalográficas				
HAP $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	100%	100%	100%	94,07%
OCP $Ca_8H_2(PO_4)_6$	-	-	-	4,40%
$^{-}$-TCP $Ca_3(PO_4)_2$	-	-	-	1,53%
R_P (%)	8,21	7,65	7,47	8,95
R_{WP} (%)	10,31	9,77	9,47	11,53
χ^2	1,34	1,15	1,26	1,52

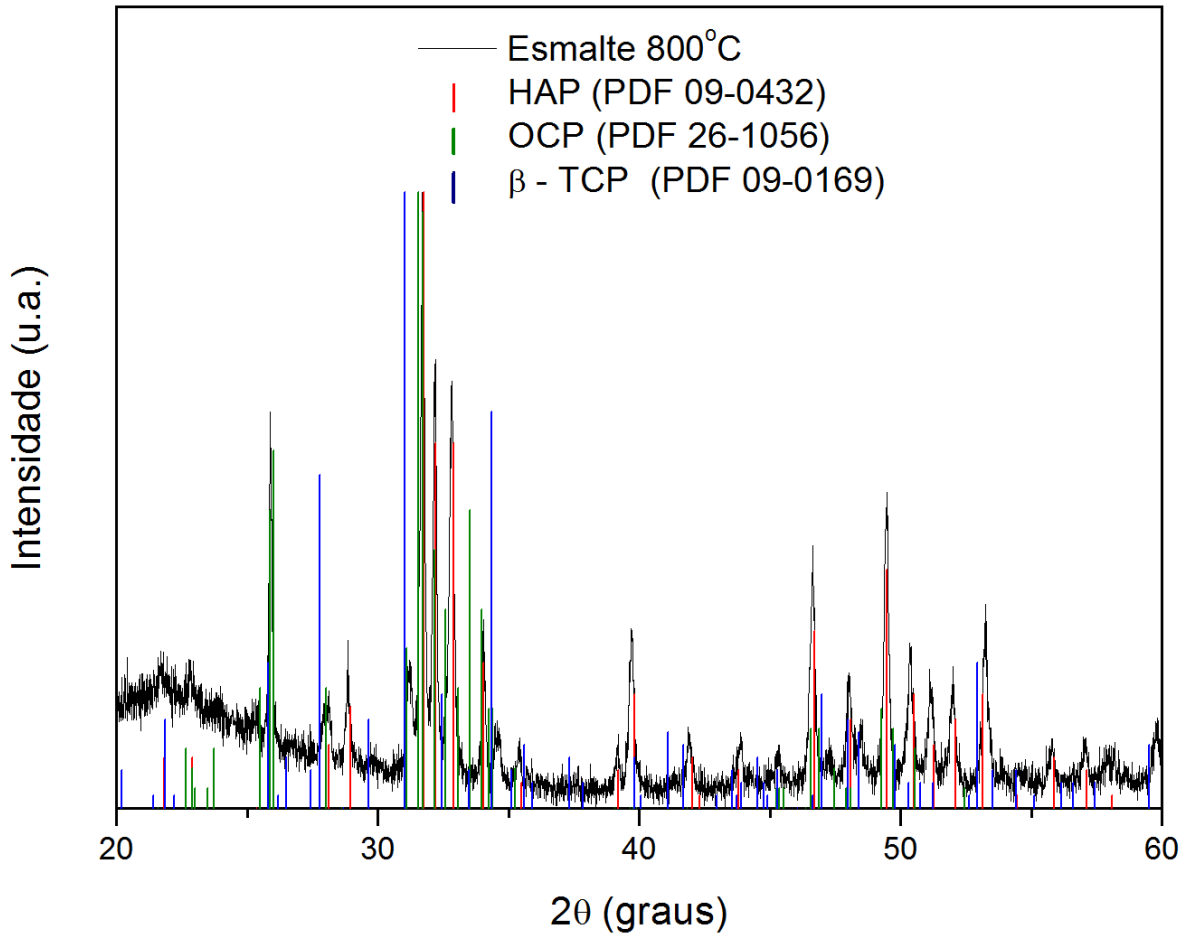

Figura 28: Difratograma da amostra de esmalte aquecida à temperatura de 800 °C.

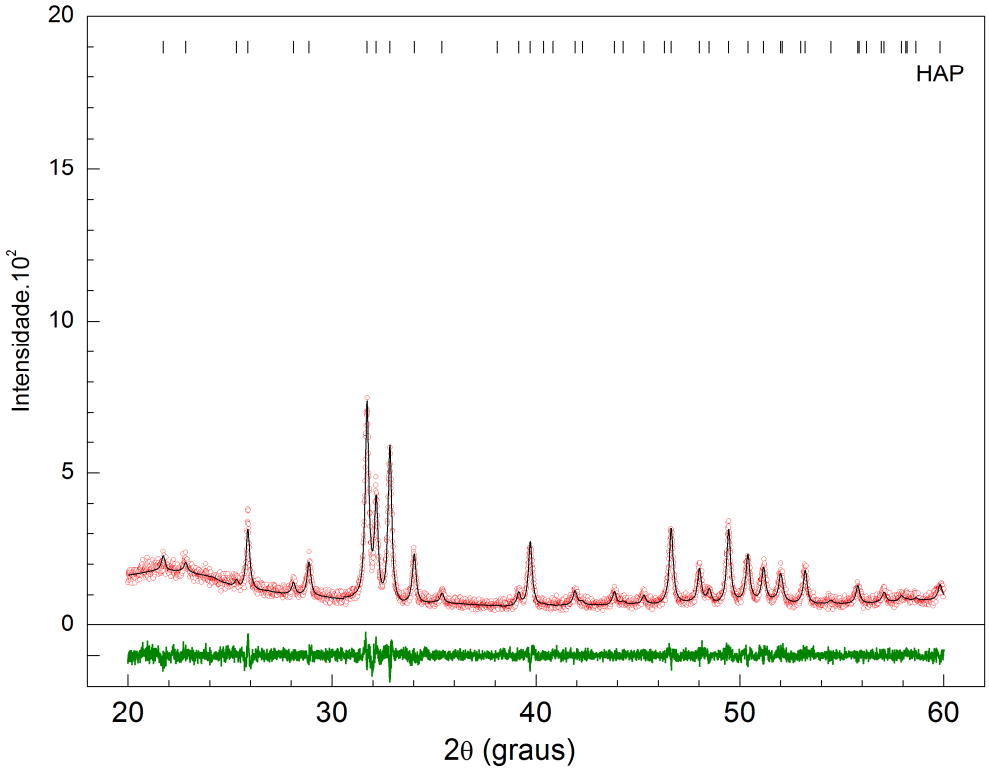

Figura 29: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de esmalte aquecida a 200 ℃, diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões do padrão usado no método de Rietveld que influenciam no difratograma da amostra.

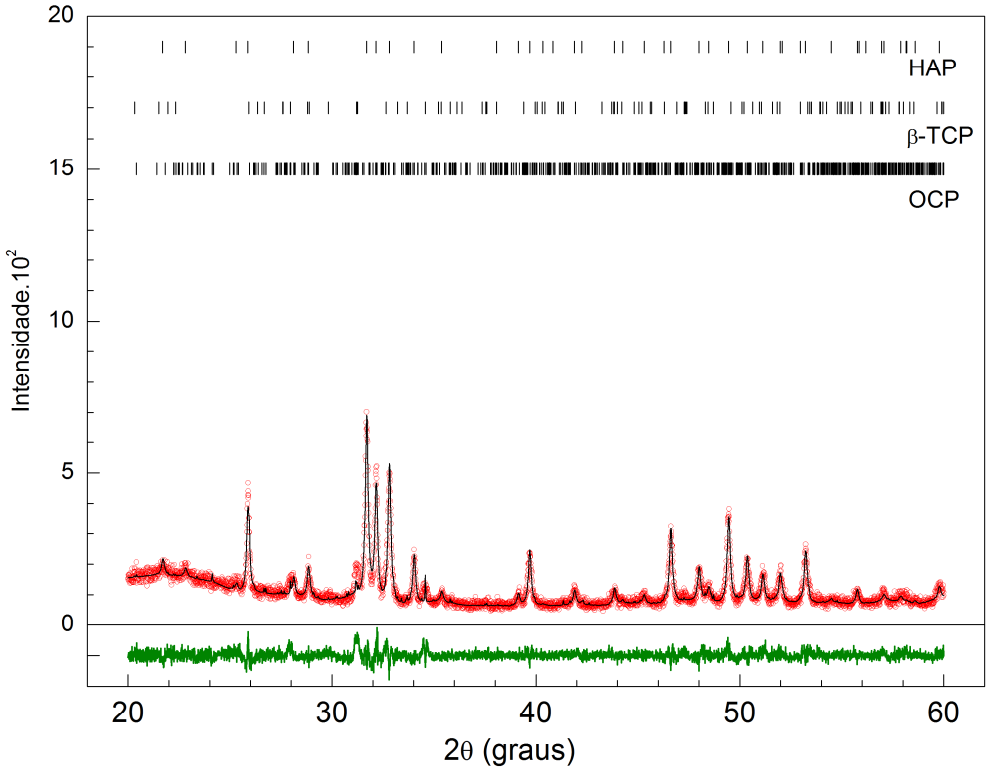

Figura 30: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de esmalte aquecida a 800 ℃, diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões dos padrões usados no método de Rietveld que influenciam no difratograma da amostra.

Tabela 12: Resultados da HAP natural presente no esmalte sob ação térmica em forno obtido pelo método de Rietveld.

	Esmalte	Esmalte 200°C	Esmalte 600°C	Esmalte 800°C
		Parâmetros de rede		
a=b	9,4547±0,0007Å	9,441±0,003Å	9,436±0,001Å	9,4453±0,0009Å
C	6,8911±0,0005Å	6,882±0,002Å	6,883±0,001Å	6,8786±0,0006Å
		Volume da cela		
V ($Å^3$)	533,4±0,1 $Å^3$	531,3±0,4 $Å^3$	530,7±0,2 $Å^3$	531,4±0,1 $Å^3$
		Taxa de ocupação		
Ca1	0,9670	0,9572	0,9805	0,9390
Ca2	0,9061	0,9302	0,9698	0,9503
P	0,8929	0,9159	0,9434	0,9143
		Relação Ca/P		
Ca/P	1,7367	1,7123	1,721	1,7241
		Tamanho de cristalitos		
(nm)	29,2±0,4	21,8±0,3	26,4±0,3	29,5±0,4

Nas amostras de esmalte irradiadas com as densidades de energia de 7,53 ± 0,15 J/cm^2 e 13,74 ± 0,27 J/cm^2, não se observou nenhuma alteração de fase cristalográfica sendo validada a presença de 100% de hidroxiapatita correspondendo ao padrão PDF 09-0432 (FIG. 31 e FIG. 32). Na FIG. 33 temos a representação gráfica do resultado do método de Rietveld para a amostra de esmalte irradiada a 7,53 J/cm^2. Na TAB. 13 estão os resultados do método de Rietveld para todas as amostras de esmalte irradiadas. Na TAB. 14 encontram-se os resultados de alguns parâmetros cristalográficos da HAP para as amostras de esmalte irradiadas comparando-se com a amostra de esmalte natural.

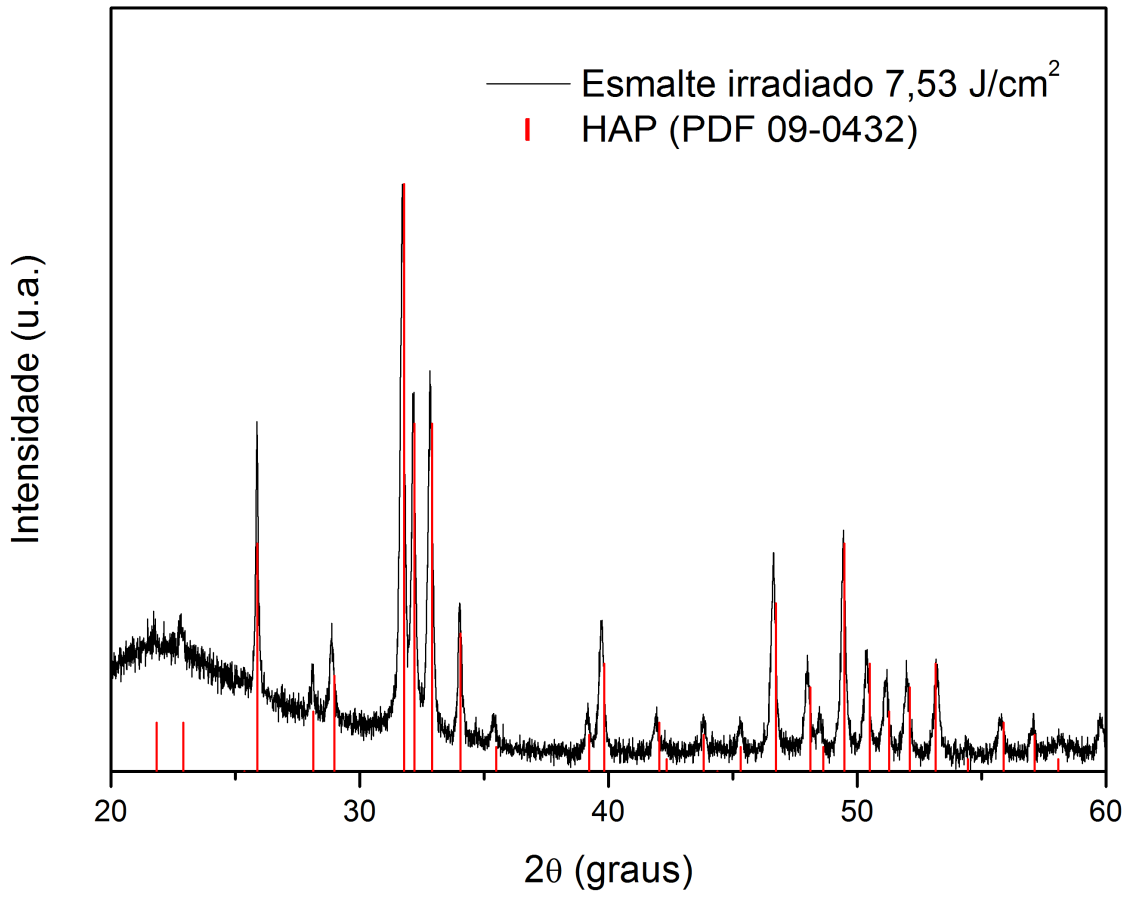

Figura 31: Difratograma da amostra de esmalte irradiado com densidade de energia de 7,53 J/cm^2.

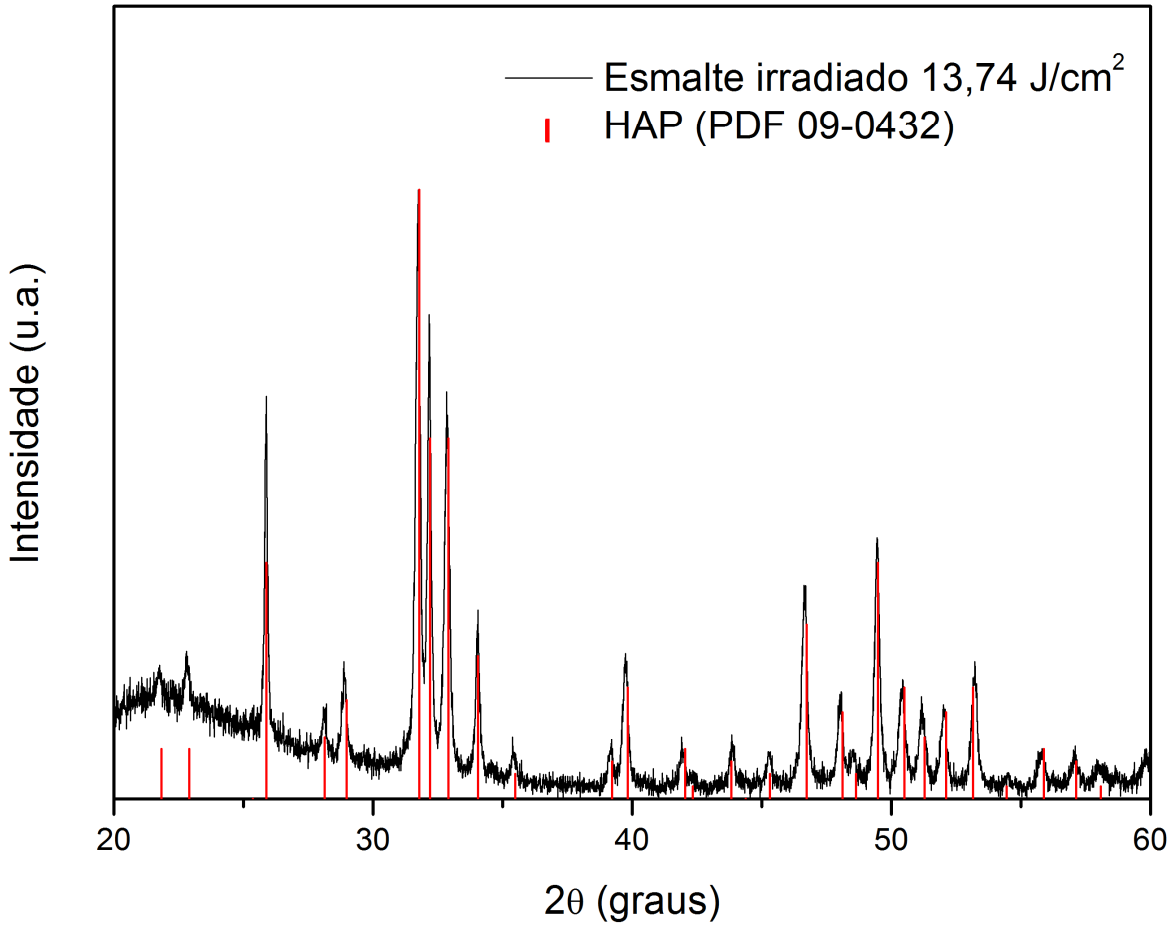

Figura 32: Difratograma da amostra de esmalte irradiado com densidade de energia de 13,74 J/cm^2.

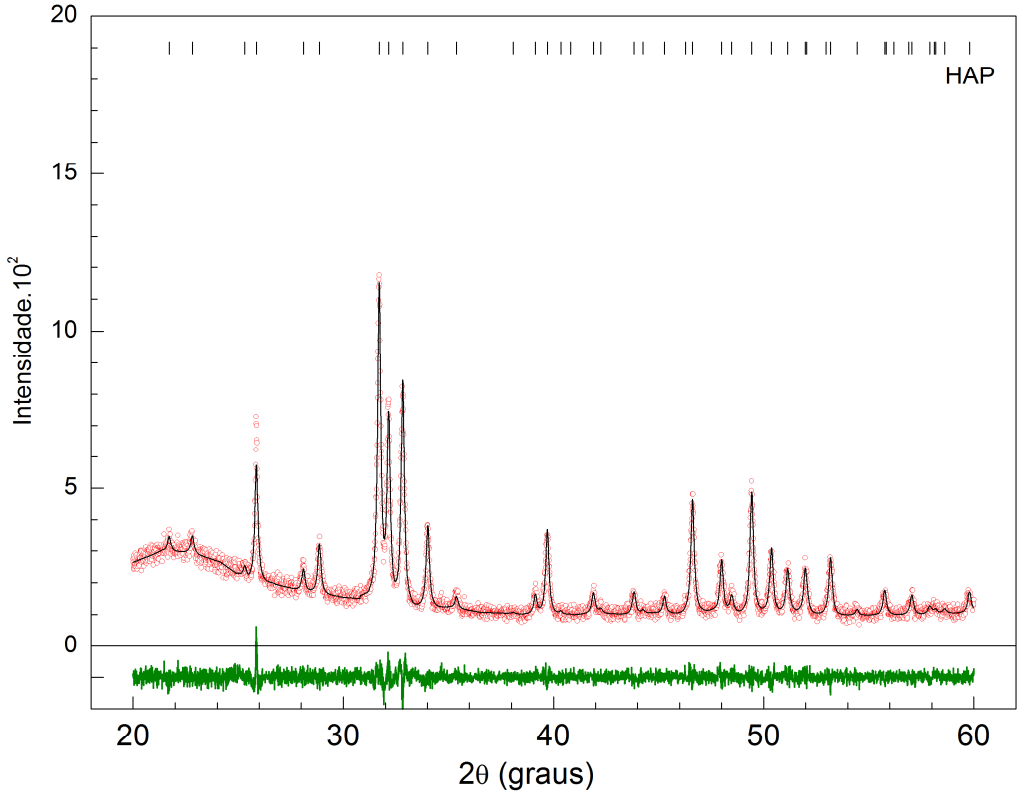

Figura 33: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de esmalte irradiada a 7,53 J/cm², diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões do padrão usado no método de Rietveld que influencia no difratograma da amostra.

Tabela 13: Resultados do método de Rietveld para as amostras de esmalte sob irradiação *laser*.

	Esmalte	Esmalte 7,53 J/cm²	Esmalte 13,74 J/cm²
Fase cristalográfica			
HAP $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	100%	100%	100%
R_P (%)	8,21	6,36	7,00
R_{WP} (%)	10,31	8,16	8,94
χ^2	1,34	1,19	1,33

Tabela 14: Resultados da HAP natural presente no esmalte sob irradiação *laser* obtido pelo método de Rietveld.

	Esmalte	Esmalte 7,53 J/cm^2	Esmalte 13,74 J/cm^2
Parâmetros de rede			
a=b	9,4547±0,0007Å	9,447±0,002Å	9,441±0,002Å
c	6,8911±0,0005Å	6,886±0,002Å	6,885±0,001Å
Volume da cela			
V (Å^3)	533,4±0,1 Å^3	532,2±0,4 Å^3	531,5±0,3 Å^3
Taxa de ocupação			
Ca1	0,9670	0,9869	0,9798
Ca2	0,9061	0,9528	0,9612
P	0,8929	0,9578	0,9592
Relação Ca/P			
Ca/P	1,7367	1,6817	1,6831
Tamanho de cristalitos			
(nm)	29,2±0,4	26,1±0,2	25,4±0,2

Na FIG. 34, FIG. 35, FIG. 36 e FIG. 37 são apresentados os valores do eixo-a, eixo-c, volume da cela unitária e tamanho dos cristalitos da HAP, respectivamente, encontrados através do método de Rietveld dos difratogramas de Raios-X das amostras de esmalte aquecidos e irradiados. Nas figuras, as medidas de densidade de energia do *laser* estão correlacionadas com as de temperaturas de superfície durante as irradiações.

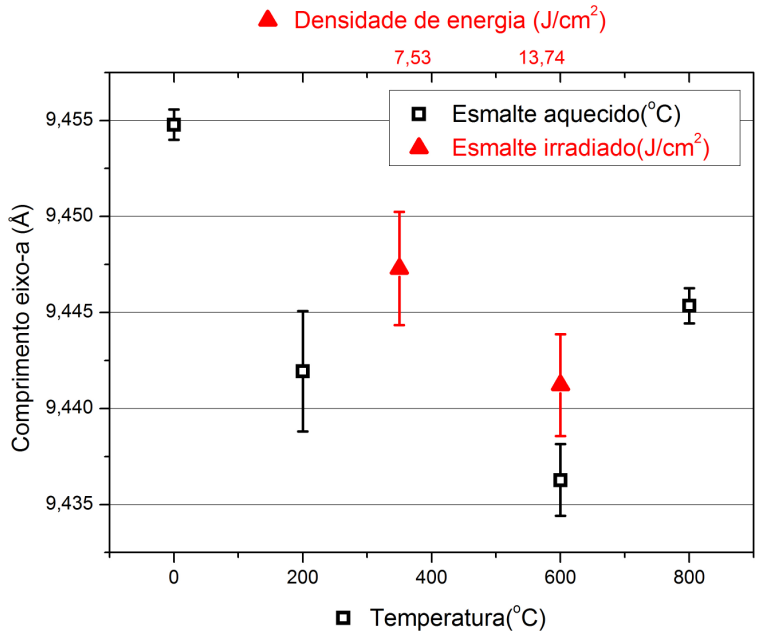

Figura 34: Variação do eixo-a para as amostras de esmalte aquecidas e irradiadas.

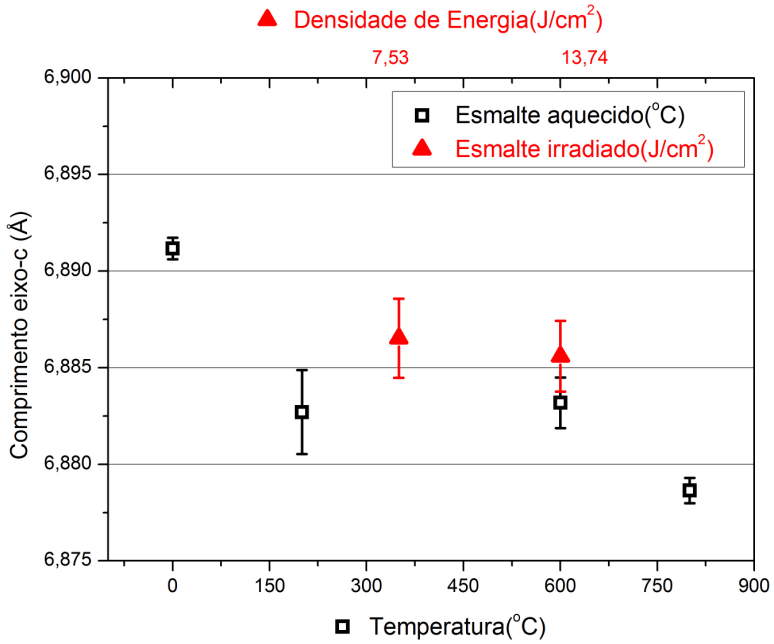

Figura 35: Variação do eixo-c para as amostras de esmalte aquecidas e irradiadas.

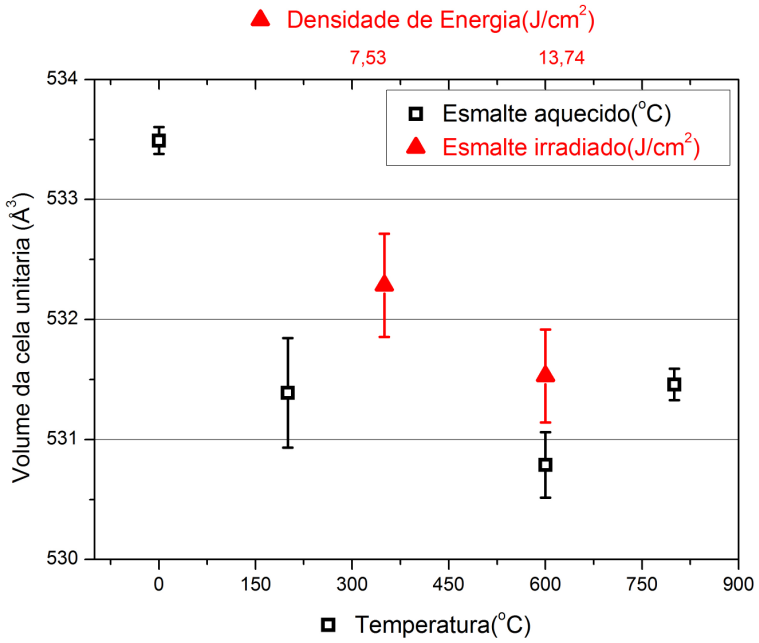

Figura 36: Variação do volume da cela unitária para as amostras de esmalte aquecidas e irradiadas.

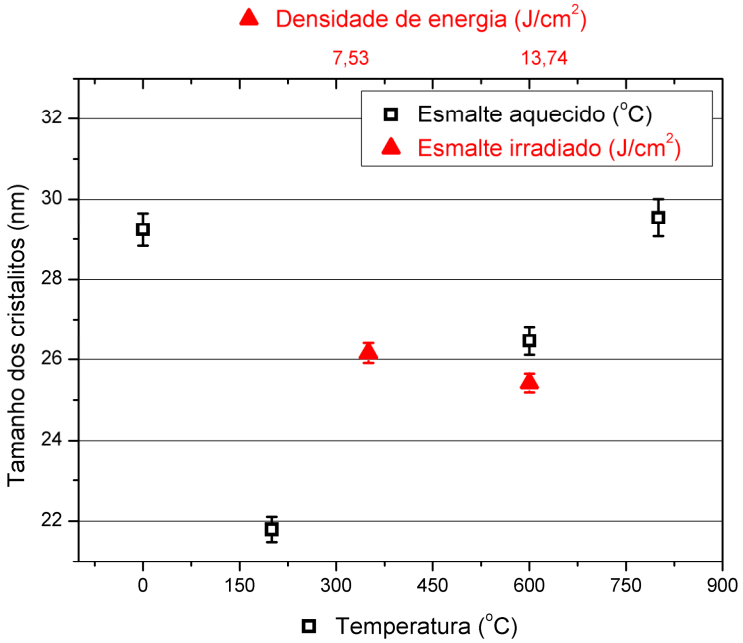

Figura 37: Variação do tamanho dos cristalitos para as amostras de esmalte aquecidas e irradiadas.

5.2.2. Hidroxiapatita sintética aquecida e irradiada a laser

Nas amostras de HAP sintéticas que sofreram aquecimento, observou-se, nas condições experimentais deste trabalho que até na temperatura de 800 ℃ não houve modificações de fase cristalográfica, visualizando-se a presença de

100% de hidroxiapatita correspondendo ao padrão PDF 09-0432 (FIG. 38, FIG. 39 e FIG. 40), validado pelo método de Rietveld. Os resultados deste método de Rietveld estão representados na TAB. 15 e os resultados da HAP para as amostras de HAP sintética aquecidas na TAB. 16. Na FIG. 41 temos a representação gráfica do resultado do método de Rietveld para a amostra de HAP aquecida a 200 °C e na FIG. 42 para a amostra de HAP aquecida a 800 °C.

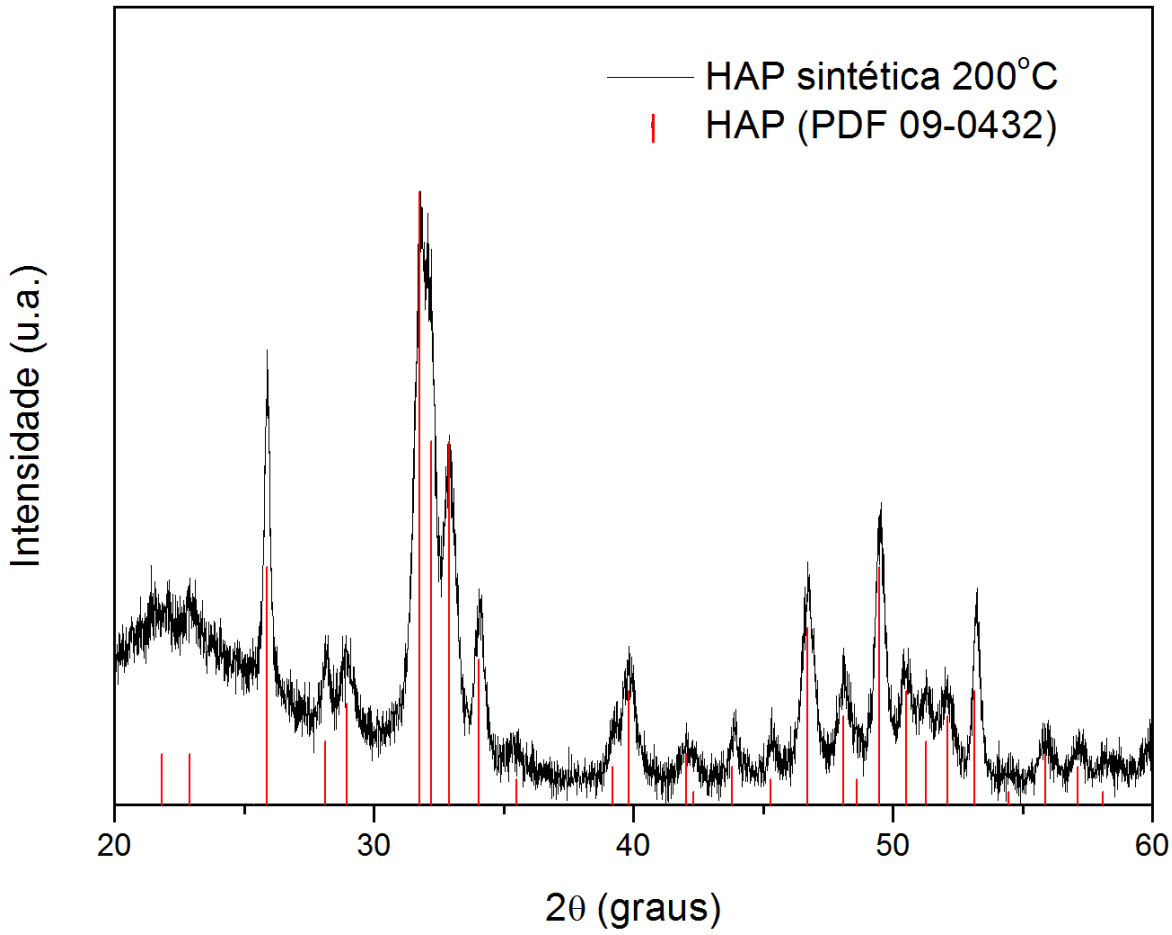

Figura 38: Difratograma da amostra de HAP sintética aquecida à temperatura de 200 °C.

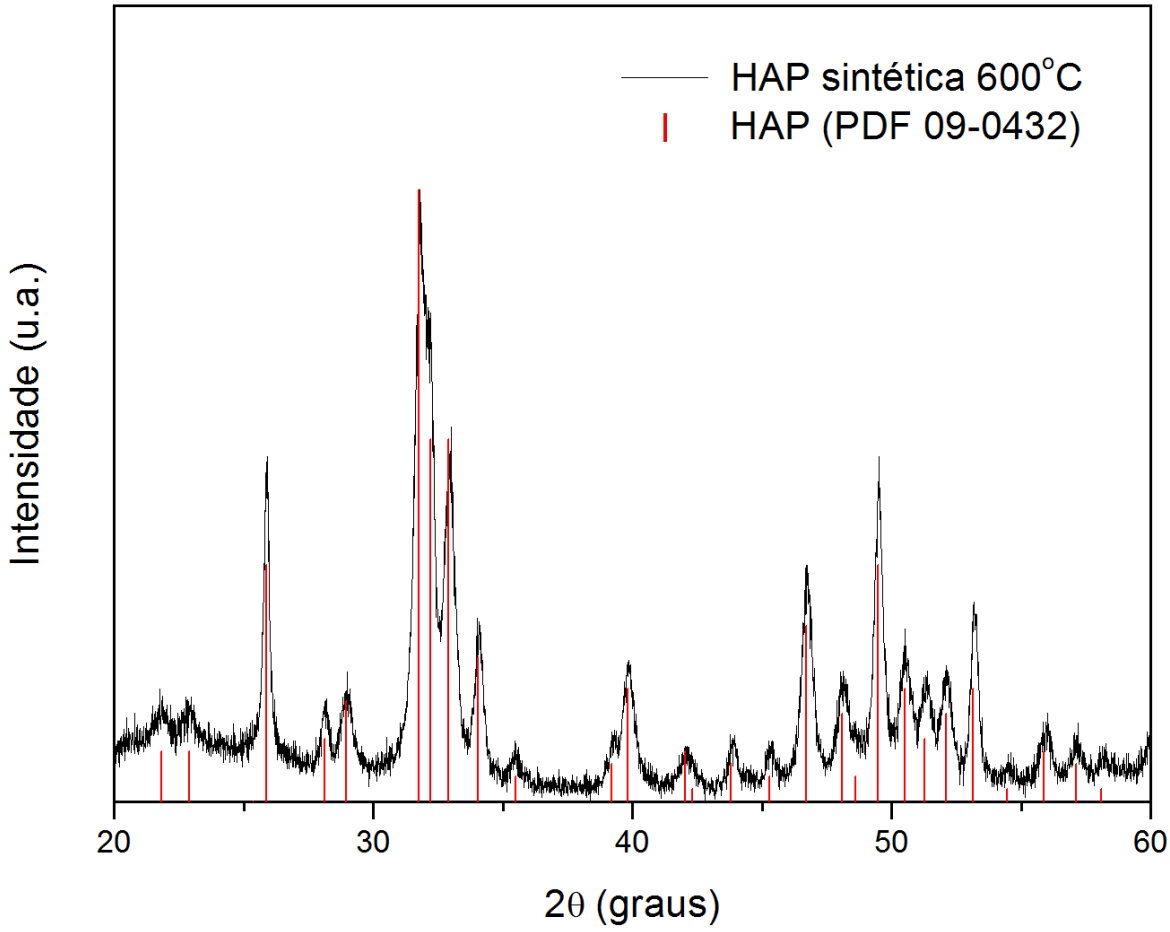

Figura 39: Difratograma da amostra de HAP sintética aquecida à temperatura de 600 °C.

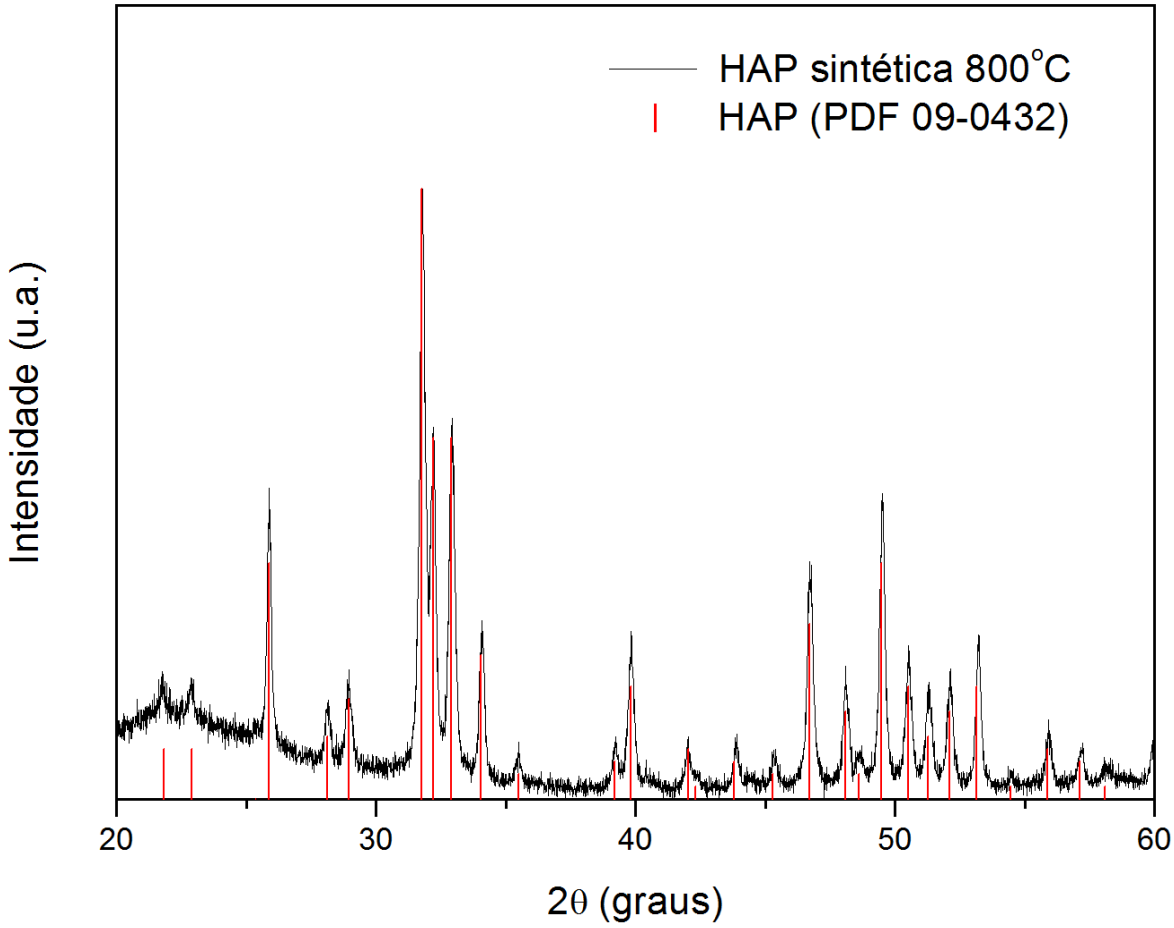

Figura 40: Difratograma da amostra de HAP sintética aquecida à temperatura de 800°C.

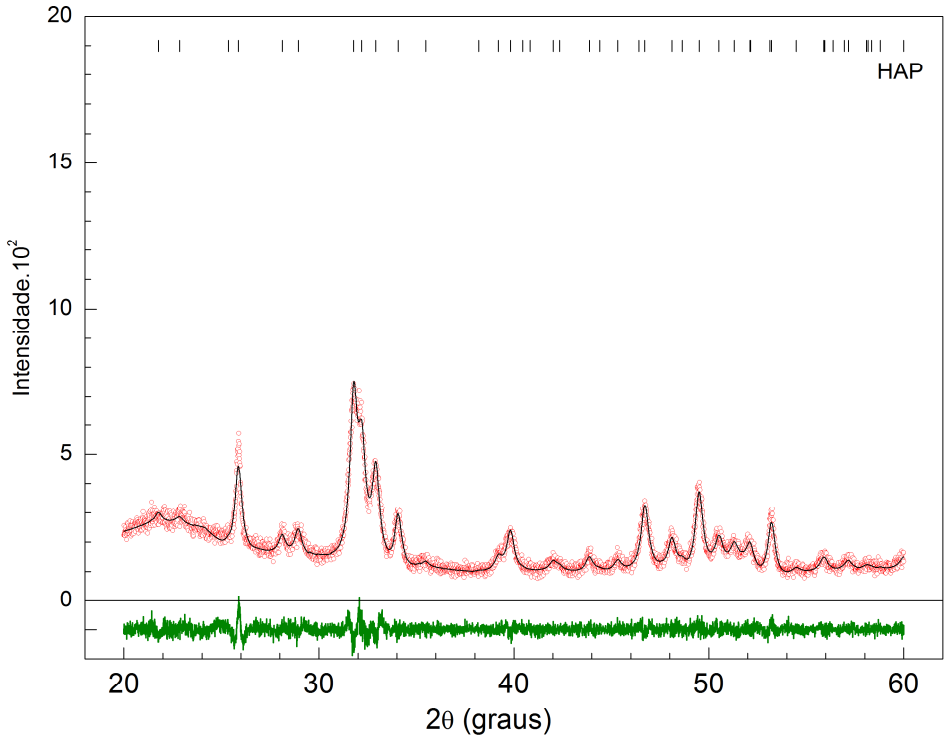

Figura 41: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de HAP aquecida a 200 ℃, diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões do padrão usado no método de Rietveld que influenciam no difratograma da amostra.

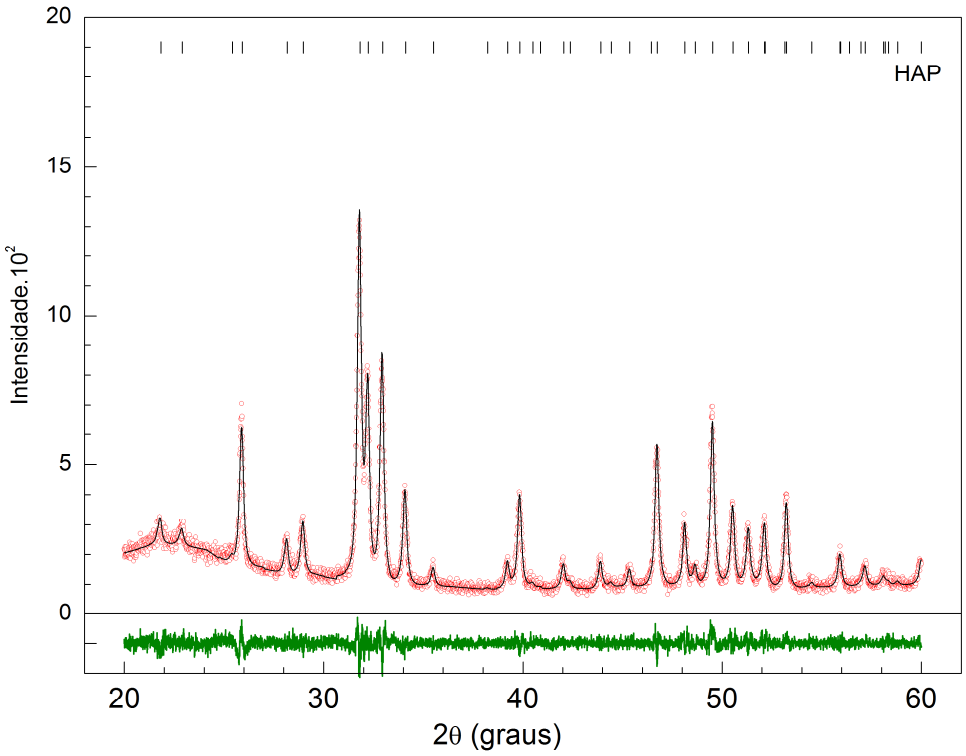

Figura 42: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de HAP aquecida a 800 ℃, diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões do padrão usado no método de Rietveld que influenciam no difratograma da amostra.

Tabela 15: Resultados do método de Rietveld para as amostras de HAP sintética sob ação térmica em forno.

	HAP 200°C	HAP 600°C	HAP 800°C
Fase cristalográfica			
HAP $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	100%	100%	100%
R_P (%)	6,46	8,17	6,65
R_{WP} (%)	8,17	10,40	8,42
χ^2	1,25	1,37	1,24

Tabela 16: Resultados da HAP sintética sob ação térmica em forno obtida pelo método de Rietveld.

	HAP 200°C	HAP 600°C	HAP 800°C
Parâmetros de rede			
a=b	9,415±0,008Å	9,426±0,001Å	9,4268±0,0005Å
c	6,880±0,005Å	6,893±0,0008Å	6,8877±0,0004Å
Volume da cela			
V ($Å^3$)	528,2±1,1 $Å^3$	530,4±0,1 $Å^3$	530,08±0,08 $Å^3$
Taxa de ocupação			
Ca1	0,9842	1,0000	0,9794
Ca2	0,9385	0,9541	0,9602
P	0,8755	0,8953	0,9185
Relação Ca/P			
Ca/P	1,8214	1,8103	1,7563
Tamanho de cristalitos			
(nm)	10,3±0,1	12,0±0,1	22,5±0,2

Nas amostras de HAP irradiadas, visualizou-se a presença de 100% de hidroxiapatita correspondente ao padrão PDF 09-0432 nas condições das

medidas para as amostras irradiadas a 7,65 ± 0,14 J/cm^2, 13,84 ± 0,26 J/cm^2 e a 5,79 ± 0,16 J/cm^2 (FIG.43, FIG.44 e FIG.45), segundo o método de Rietveld. Os resultados do método de Rietveld estão representados na TAB.17 e os resultados da HAP para as amostras de HAP sintética aquecidas na TAB.18. Na FIG.46 temos a representação gráfica do resultado do método de Rietveld para amostra de HAP irradiada a 5,79 J/cm^2 e na FIG.47 para a amostra de HAP irradiada a 7,65 J/cm^2.

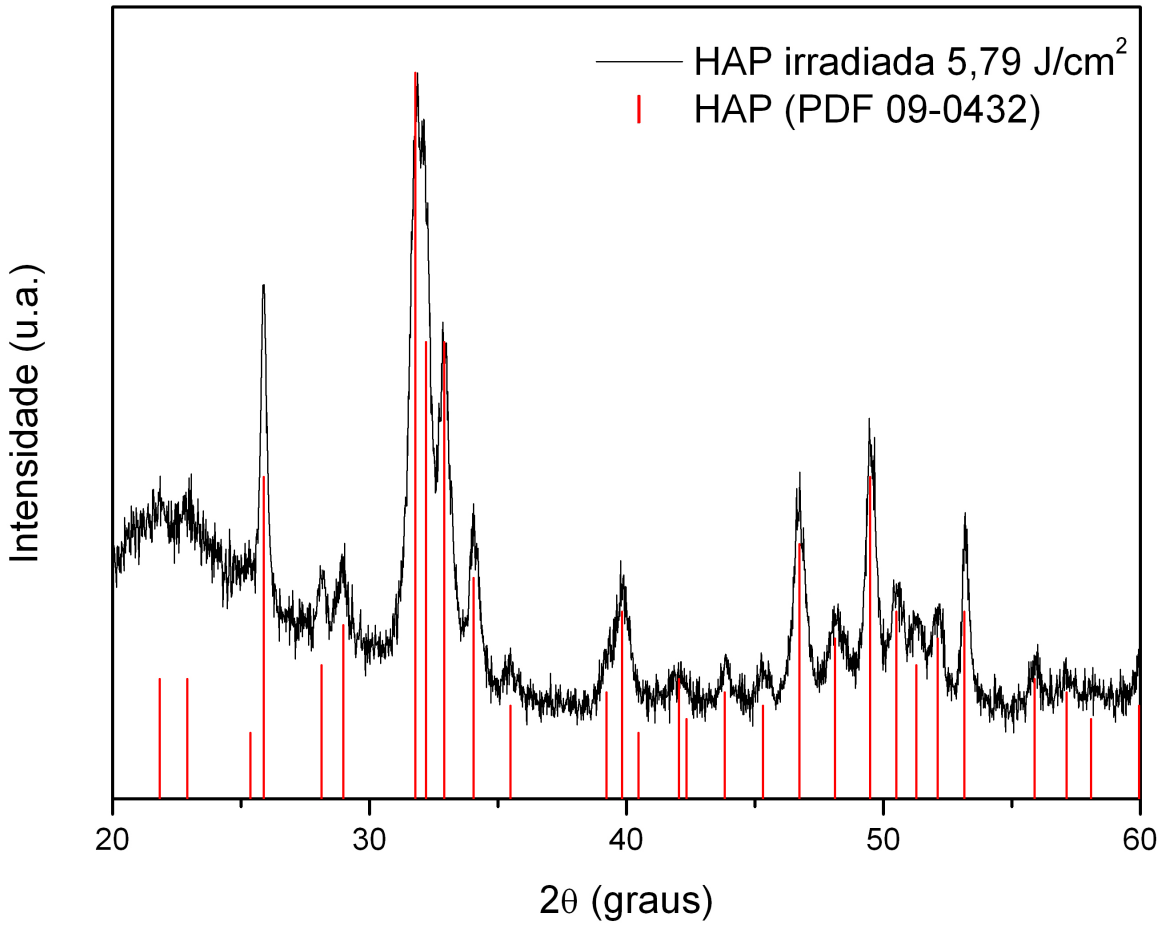

Figura 43: Difratograma da amostra de HAP sintética irradiada com densidade de energia de 5,79 J/cm^2.

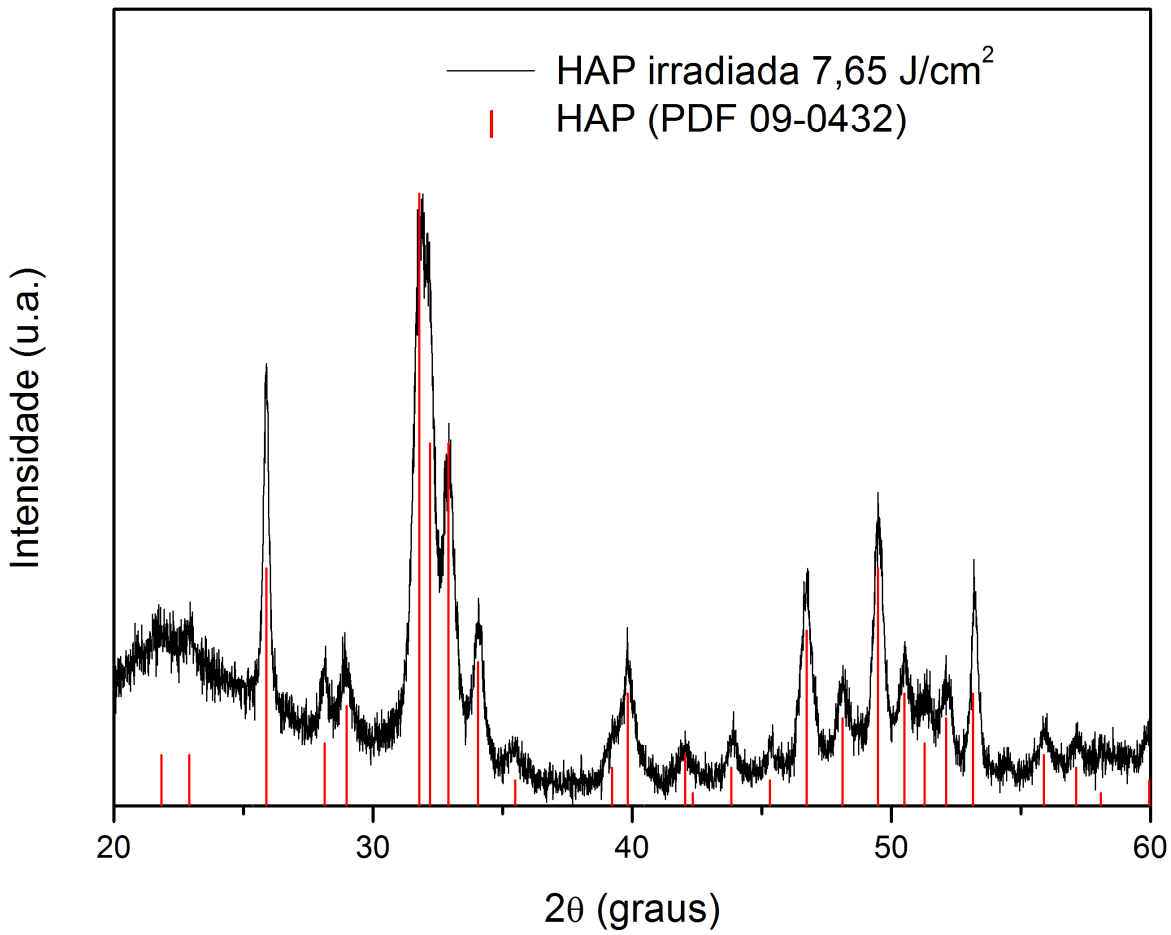

Figura 44 : Difratograma da amostra de HAP sintética irradiada com densidade de energia de 7,65 J/cm^2.

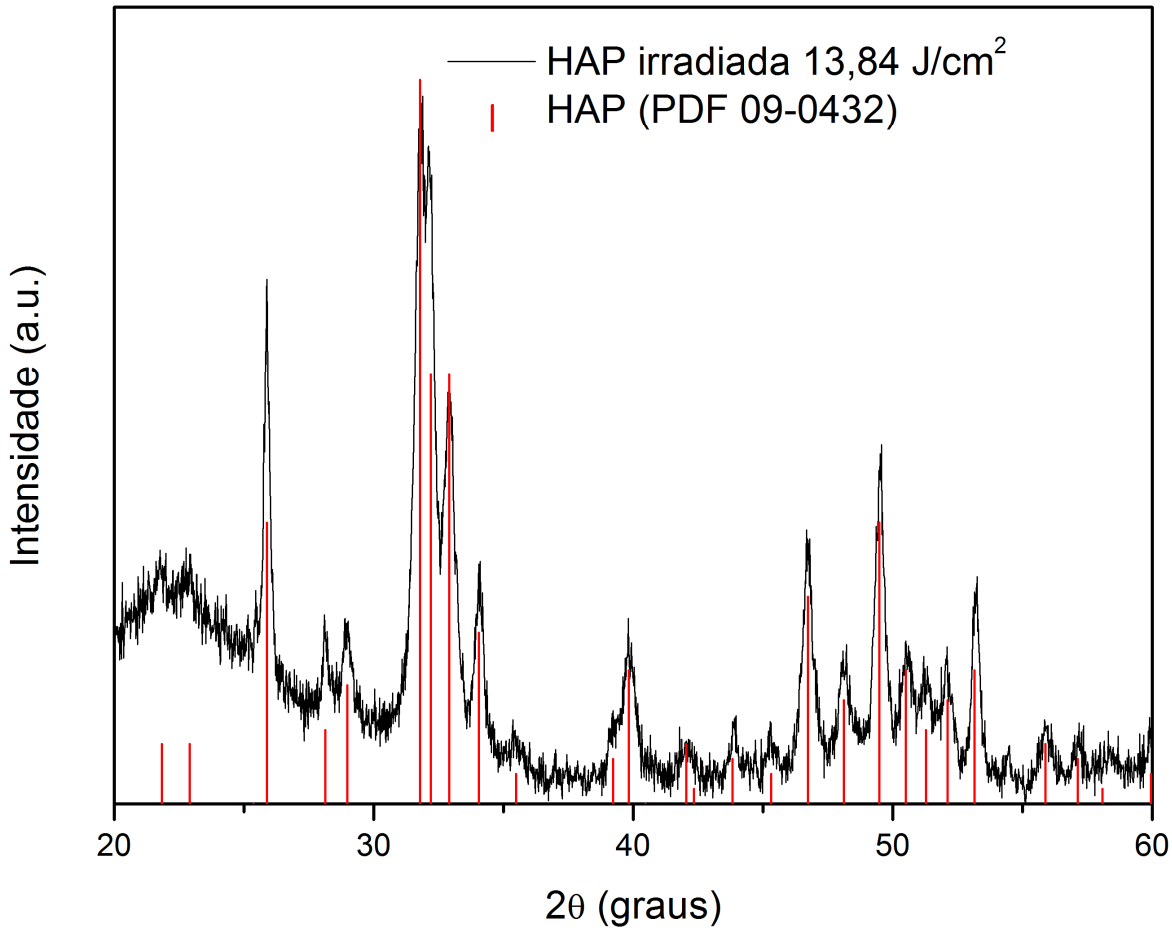

Figura 45 : Difratograma da amostra de HAP sintética irradiada com densidade de energia de 13,84 J/cm^2.

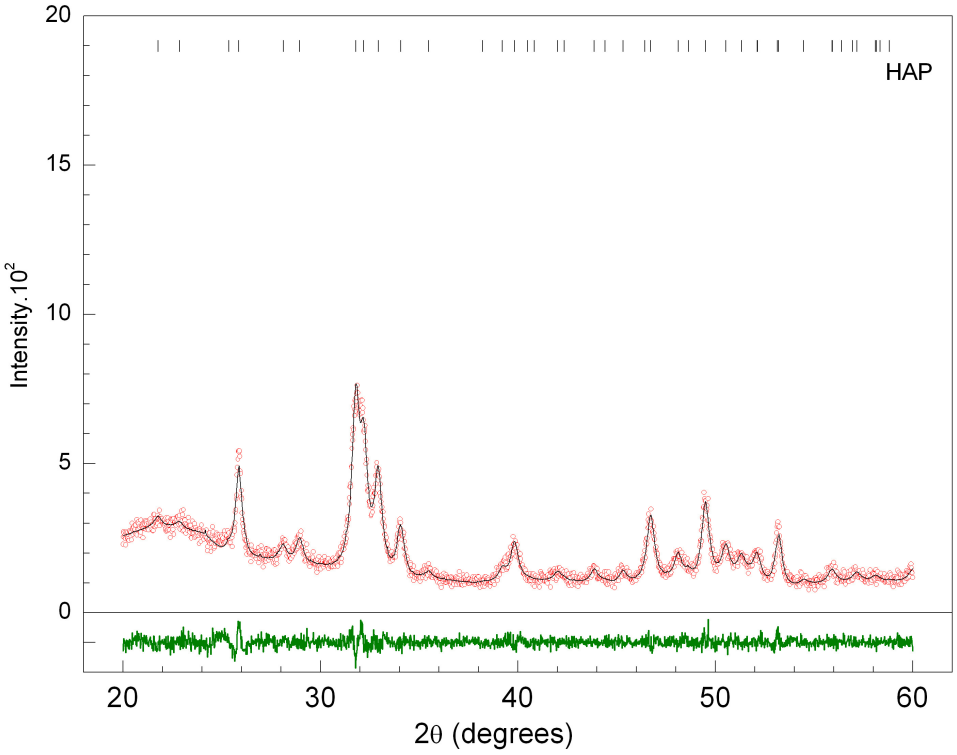

Figura 46: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de HAP irradiada a 5,79 J/cm², diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões dos padrões usados no método de Rietveld que influenciam no difratograma da amostra.

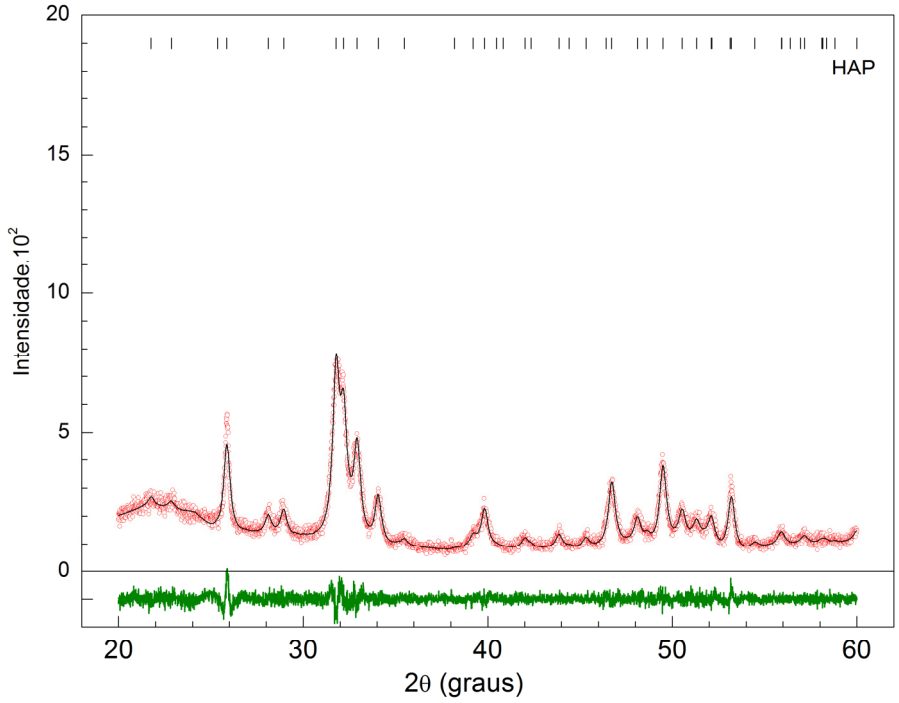

Figura 47: Gráfico do padrão observado(○) versus o calculado(-) na amostra de HAP irradiada a 7,65 J/cm², diferença(-) entre eles e a indexação(I) das reflexões do padrão usado no método de Rietveld que influencia no difratograma da amostra.

Tabela 17: Resultados do método de Rietveld para as amostras de HAP sintética sob irradiação *laser*.

	HAP 5,79 J/cm^2	HAP 7,65 J/cm^2	HAP 13,84 J/cm^2
Fases cristalográficas			
HAP $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	100%	100%	100%
R_P (%)	6,27	6,63	6,36
R_{WP} (%)	7,93	8,45	8,08
χ^2	1,23	1,24	1,23

Tabela 18: Resultados da HAP sintética sob irradiação *laser* obtidos pelo método de Rietveld.

HAP	HAP 5,79 J/cm^2	HAP 7,65 J/cm^2	HAP 13,84 J/cm^2
Parâmetros de rede			
a=b	9,416±0,003Å	9,413±0,007Å	9,416±0,009Å
c	6,883±0,002Å	6,881±0,004Å	6,882±0,006Å
Volume da cela			
V (Å^3)	528,6±0,1 Å^3	528,0±1,0 Å^3	528,5±1,3 Å^3
Taxa de ocupação			
Ca1	0,9780	1,0000	1,0000
Ca2	0,9718	0,9642	0,9712
P	0,9285	0,9383	0,9352
Relação Ca/P			
Ca/P	1,7459	1,7381	1,7513
Tamanho de cristalitos			
(nm)	10,2±0,2	10,6±0,1	11,2±0,2

Nas FIG. 48, FIG. 49, FIG. 50, FIG. 51 são representados os valores do eixo-a, eixo-c, volume da cela unitária e tamanho dos cristalitos da HAP,

respectivamente, encontrados através do método de Rietveld dos difratogramas de Raios-X das amostras de HAP sintéticas aquecidas e irradiadas.

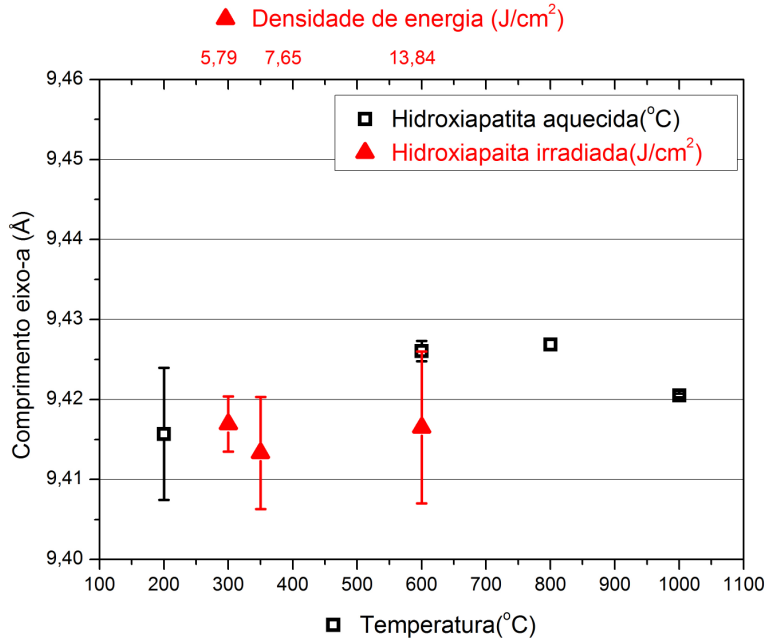

Figura 48: Variação do eixo-a para as amostras de HAP sintéticas aquecidas e irradiadas.

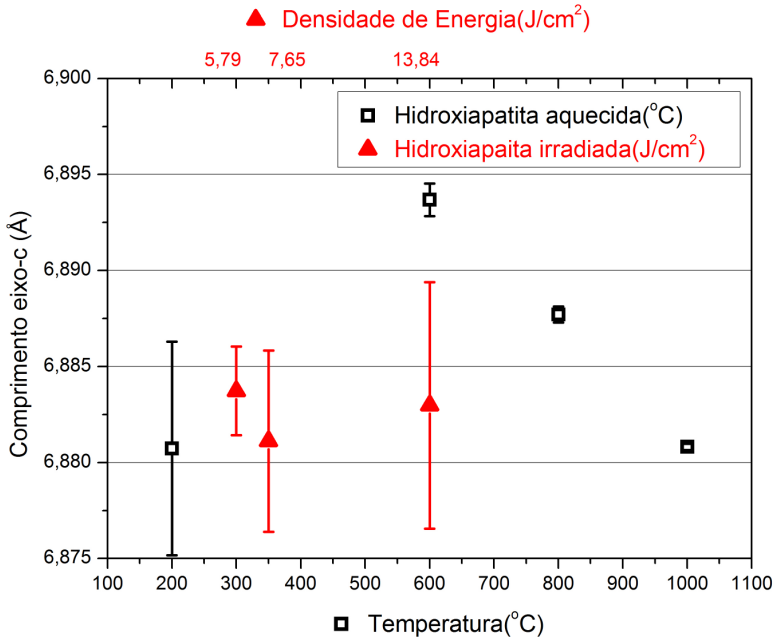

Figura 49: Variação do eixo-c para as amostras de HAP sintéticas aquecidas e irradiadas.

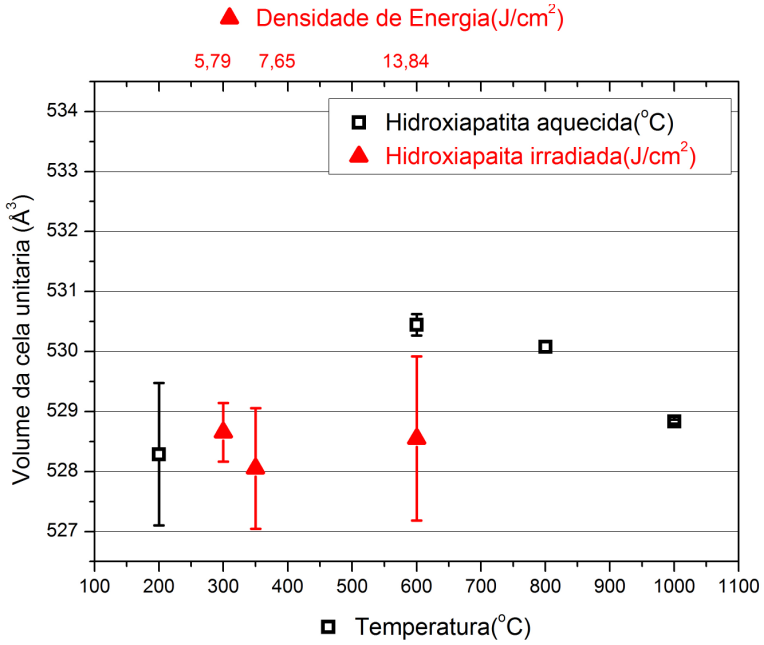

Figura 50: Variação do volume da cela unitária para as amostras de HAP sintéticas aquecidas e irradiadas.

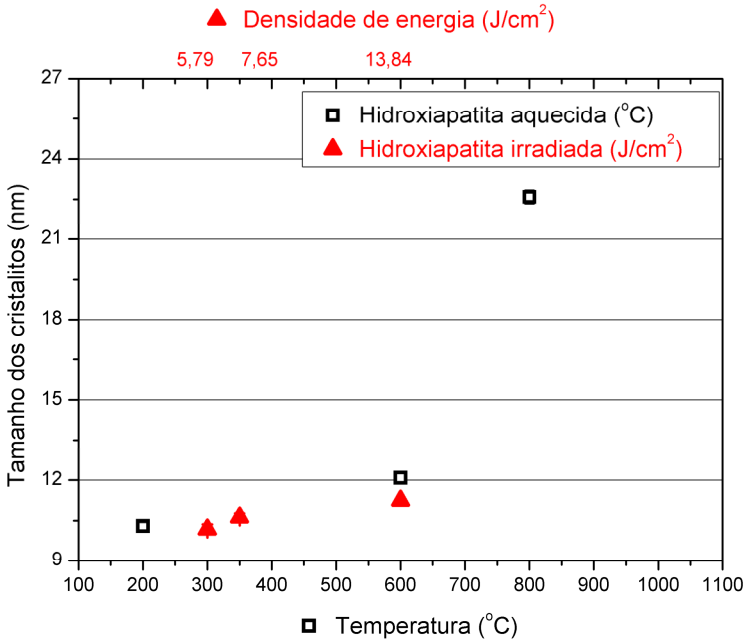

Figura 51: Variação do tamanho dos cristalitos para as amostras de HAP sintéticas aquecidas e irradiadas.

5.3. Resultados de Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).

5.3.1. Esmalte aquecido e irradiado a laser.

Foram estudadas as bandas correspondentes ao carbonato, fosfato, hidroxilas e água e avaliou-se possíveis mudanças na concentração dos mesmos através da variação das áreas das bandas. Um espectro típico de absorção no infravermelho de esmalte pode ser observado na FIG.52.

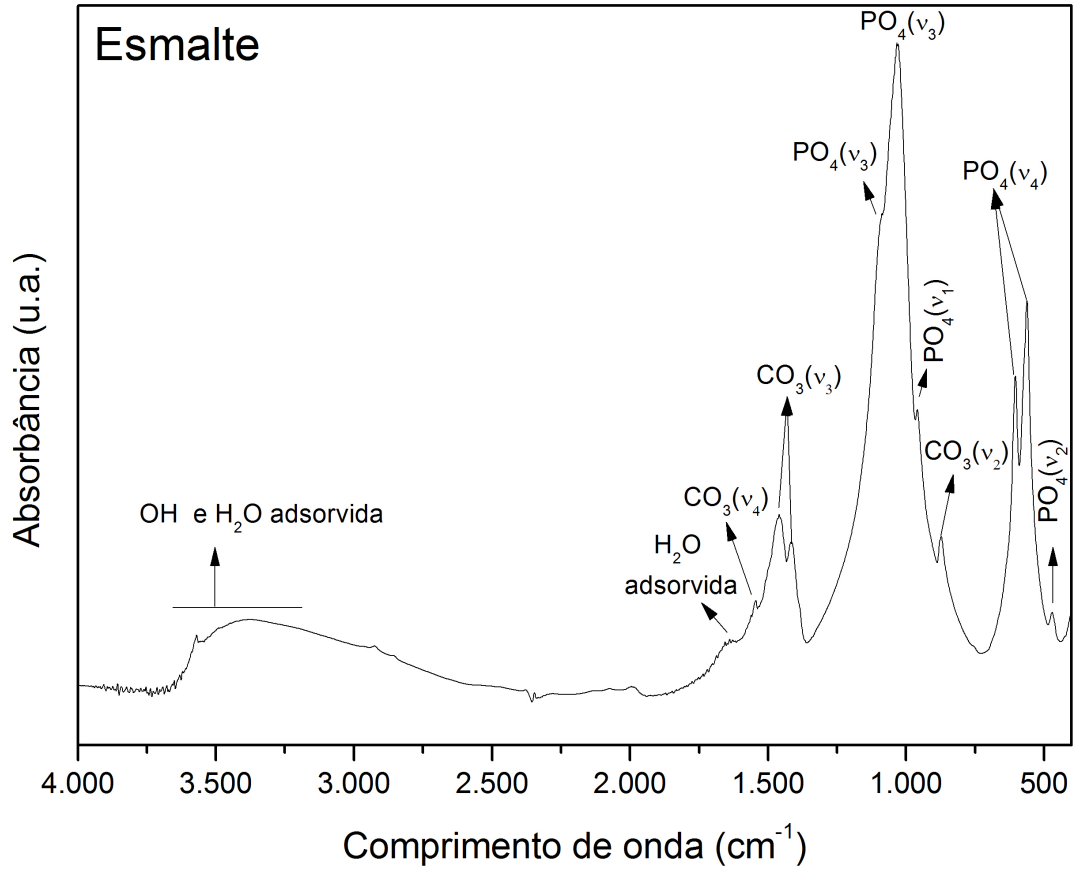

Figura 52: Espectro de absorção típico no infravermelho do esmalte dentário, com identificação das respectivas bandas.

5.3.1.1. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_2)$

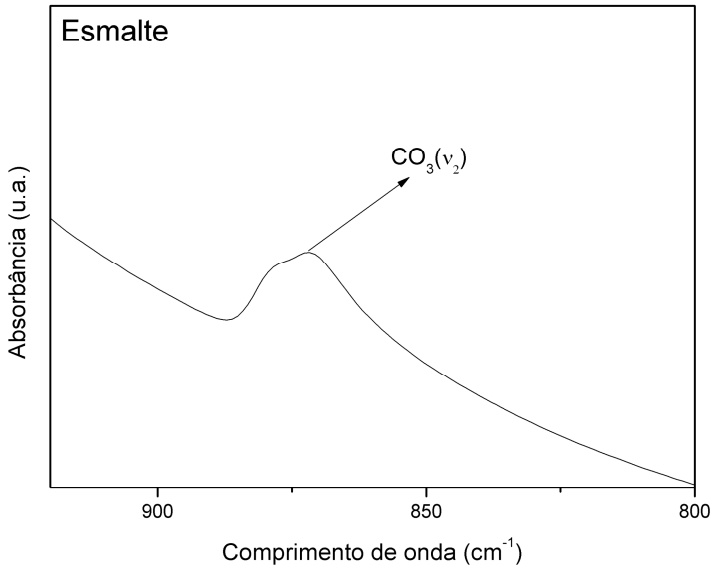

Figura 53: Banda do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_2)$ em ~875 cm^{-1}.

Nas amostras de esmalte aquecidas, observou-se que a área da banda do carbonato (ν_2) em ~875 cm^{-1} (FIG. 53) apresentou aumento em 200 ℃, seguido de decréscimo de área até 600 ℃. Em 800 ℃ houve um aumento e em 1000 ℃ sofre um forte declínio (FIG.54). Já nas amostras irradiados a laser à esta vibração do carbonato observou-se diminuição das áreas correspondentes em todas as amostras, com maior declínio na irradiação de densidade de energia de 7,65 J/cm^2 (FIG.54).

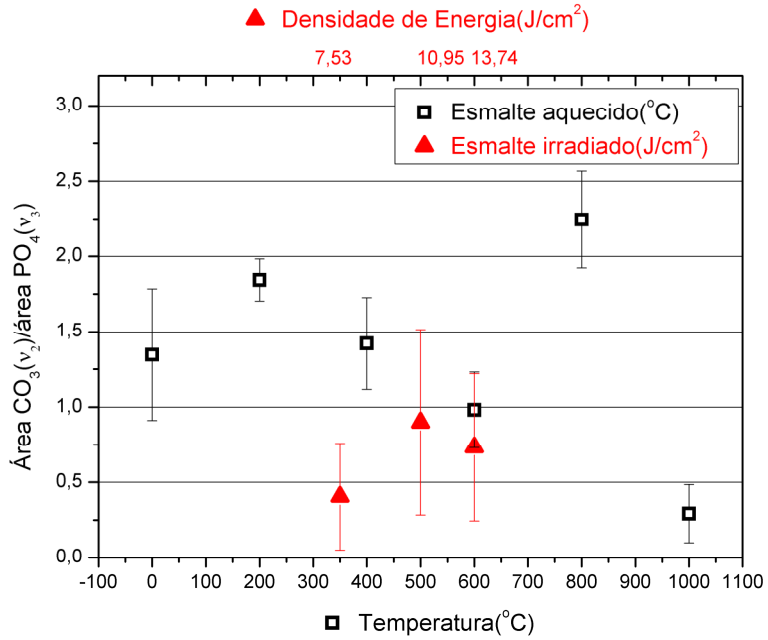

Figura 54: Variação das áreas da banda correspondente ao carbonato $CO_3^{2-}(\nu_2)$ em ~875 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.1.2. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_3)$

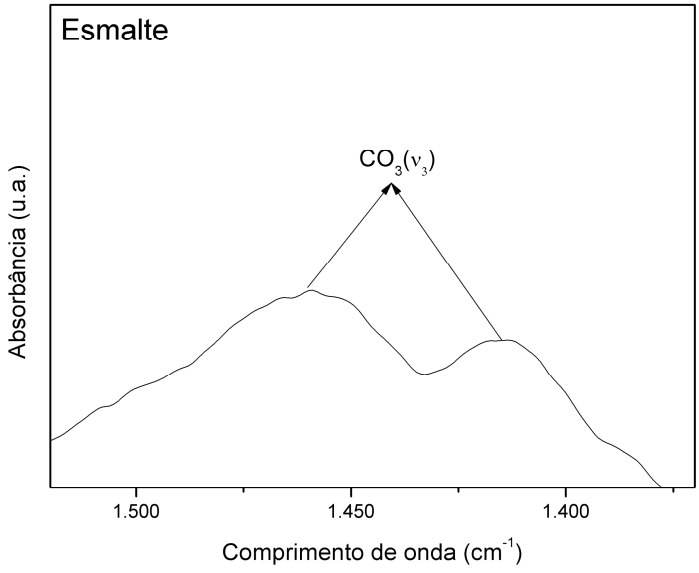

Figura 55: Bandas do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_3)$ em ~1415 cm^{-1} e ~1460 cm^{-1}.

Nas amostras de esmalte que sofreram aquecimento, observou-se que as áreas das bandas do carbonato (ν_3) em ~1415 cm^{-1} e ~1460 cm^{-1} (FIG. 55)

sofreram aumento até 400 ℃ e 600 ℃, com um aumento pronunciado a 800 ℃ na banda em ~1460 cm^{-1} e decréscimo a 1000 ℃ nas áreas de ambas as bandas. Nas amostras irradiadas vemos decréscimo destas bandas em todas as condições (FIG.56 e FIG.57).

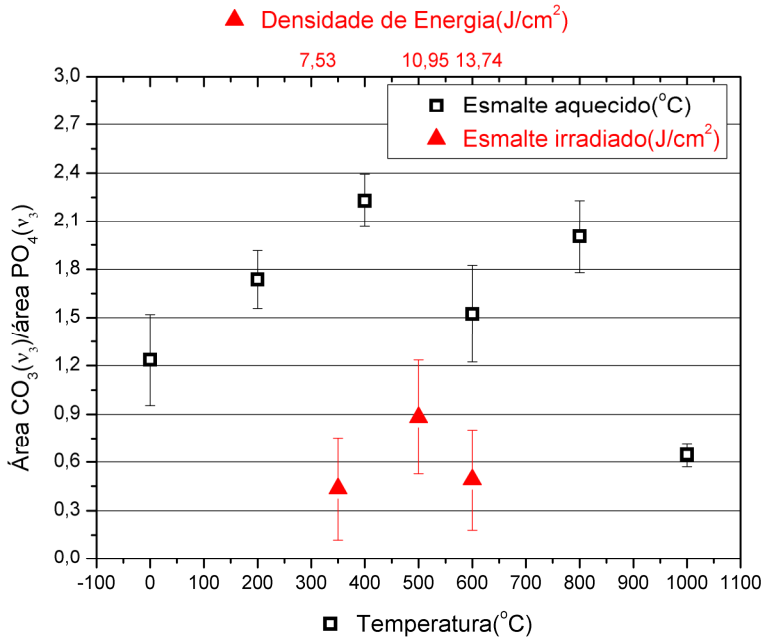

Figura 56: Variação das áreas da banda correspondente ao carbonato $CO_3^{2-}(\nu_3)$ em ~1415 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

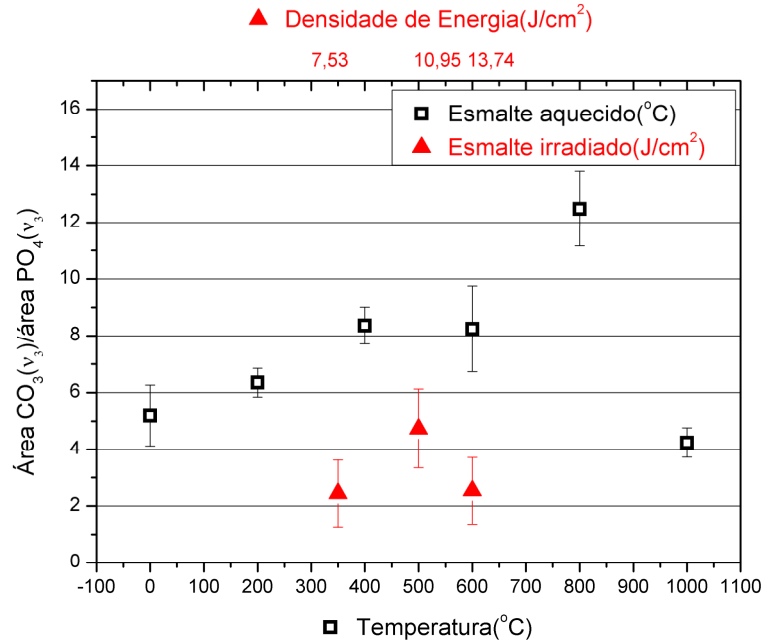

Figura 57: Variação das áreas da banda correspondente a do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_3)$ em ~1460 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.1.3. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_4)$

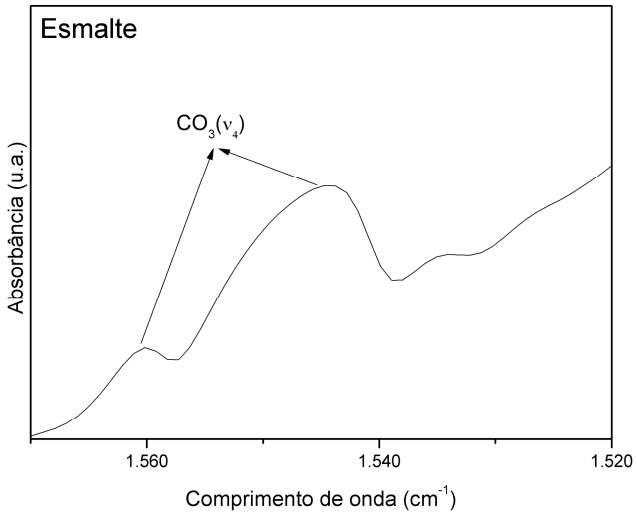

Figura 58: Banda do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_4)$ em ~1540 cm^{-1} e ~1560 cm^{-1}.

Nas áreas sob as bandas de carbonato ν_4 nas amostras de esmalte (FIG. 58), vemos uma estabilidade até aproximadamente a temperatura de 400 °C, onde a banda em ~1560 cm^{-1} sofre um aumento e acima desta temperatura a banda em ~1540 cm^{-1} sofre crescimento enquanto que a banda de ~1560 cm^{-1} desaparece. Nas amostras irradiadas a laser ambas similares às do esmalte aquecido a 200 °C (FIG.59 e FIG.60).

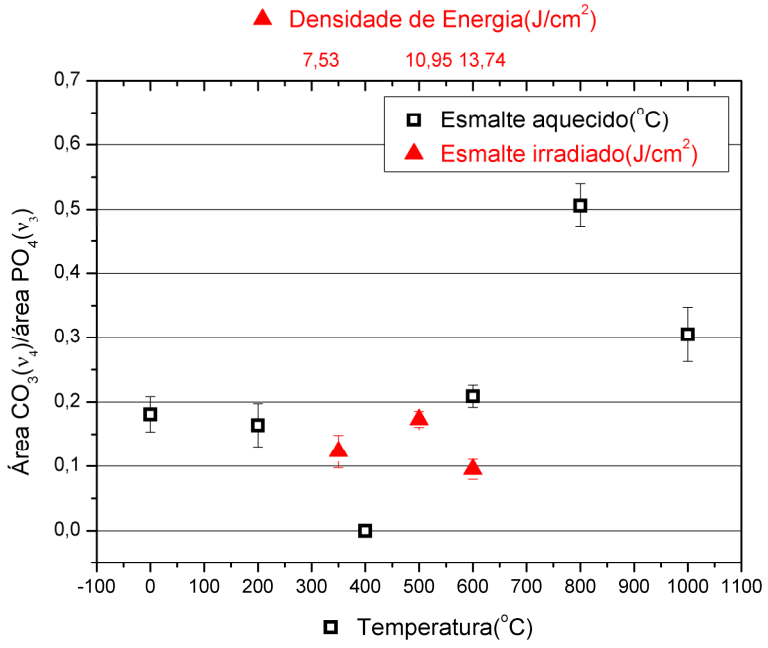

Figura 59: Variação das áreas da banda correspondente a do carbonato ν_4 em ~1540 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

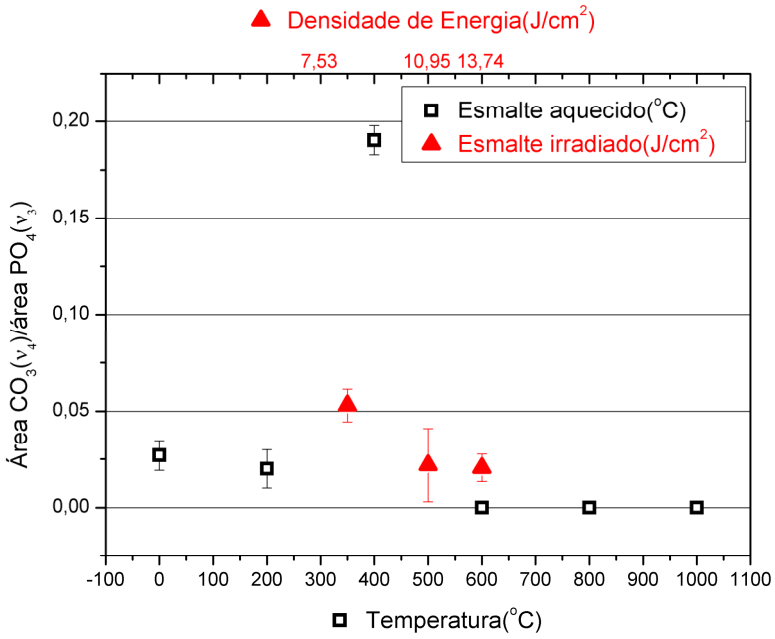

Figura 60: Variação da banda correspondente a do carbonato ν_4 em ~1560 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.1.4. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida.

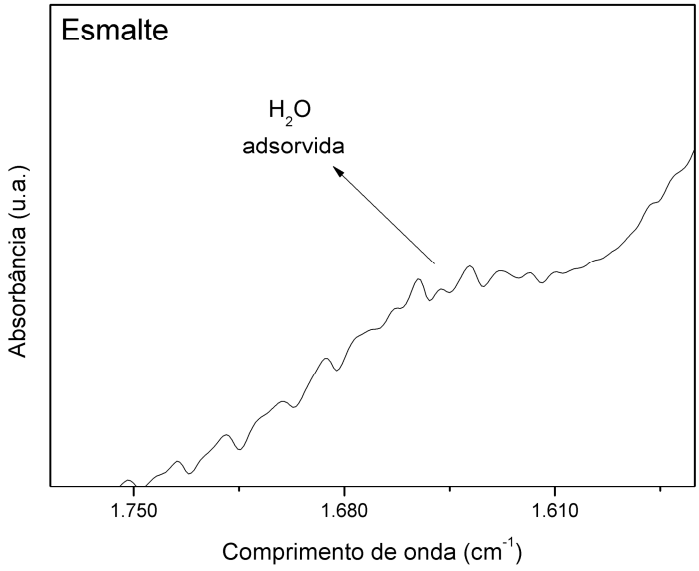

Figura 61: Banda de H_2O adsorvida em ~1640 cm^{-1}.

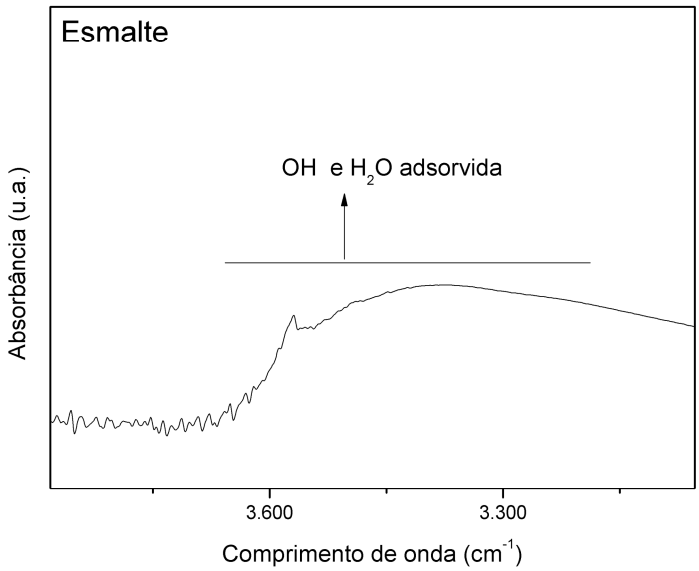

Figura 62: Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida em ~3448 cm^{-1}.

Nas bandas de OH e H_2O adsorvida (FIG.61 e FIG.62) vemos aumento da área da banda até 200 ℃ para ambas as bandas e acima desta temperatura diminuições sucessivas, havendo extinção da banda em ~1640 cm^{-1} a 800 ℃ e 1000 ℃. Nas amostras irradiadas a laser vemos diminuições destas bandas (FIG.63 e FIG.64).

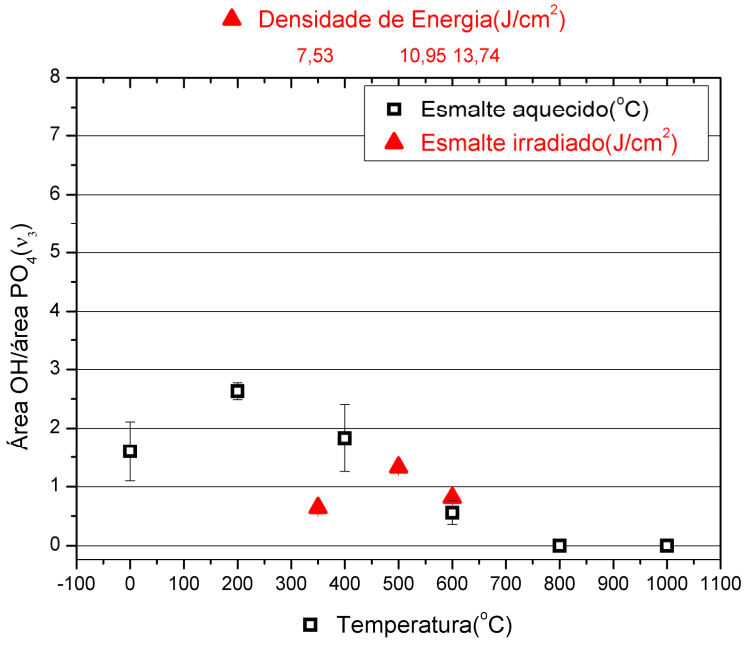

Figura 63: Variação da área da banda correspondente a H_2O adsorvida em ~1640 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

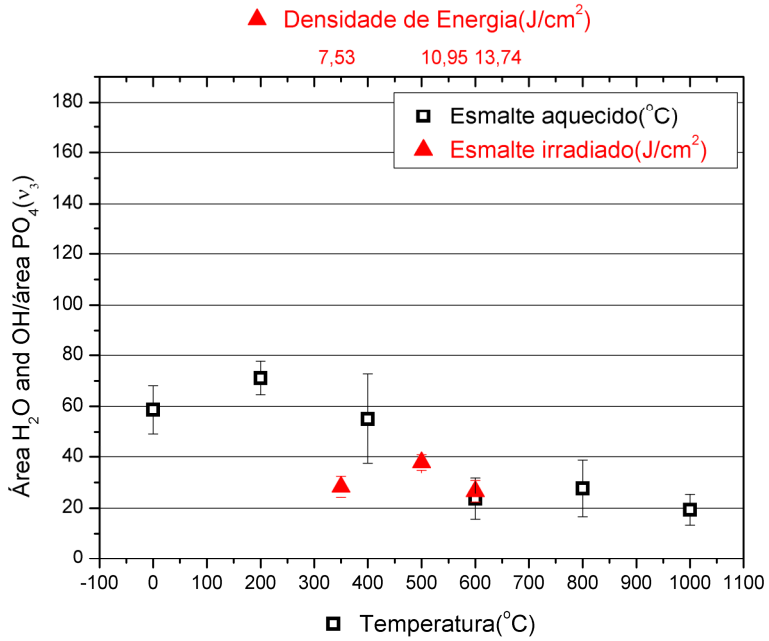

Figura 64: Variação da área da banda correspondente a H_2O adsorvida e OH estrutural em ~3570 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.1.5. Banda de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_2)$.

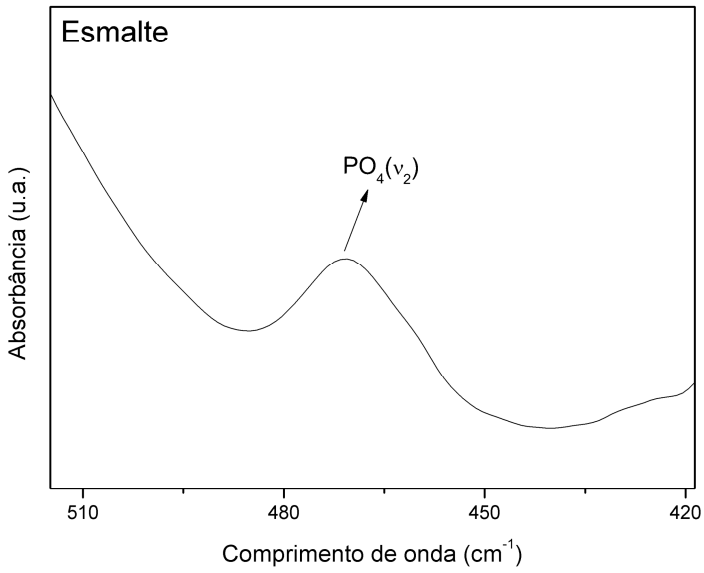

Figura 65: Banda de fosfato $PO_4^{3-}(\nu_2)$ em ~471 cm^{-1}.

Na área sob a banda de fosfato ν_2 (FIG.65) vimos um aumento até a temperatura de 800 ºC e quando começa a diminuir. Nas amostras irradiadas a laser vimos que houve diminuição desta banda (FIG.66).

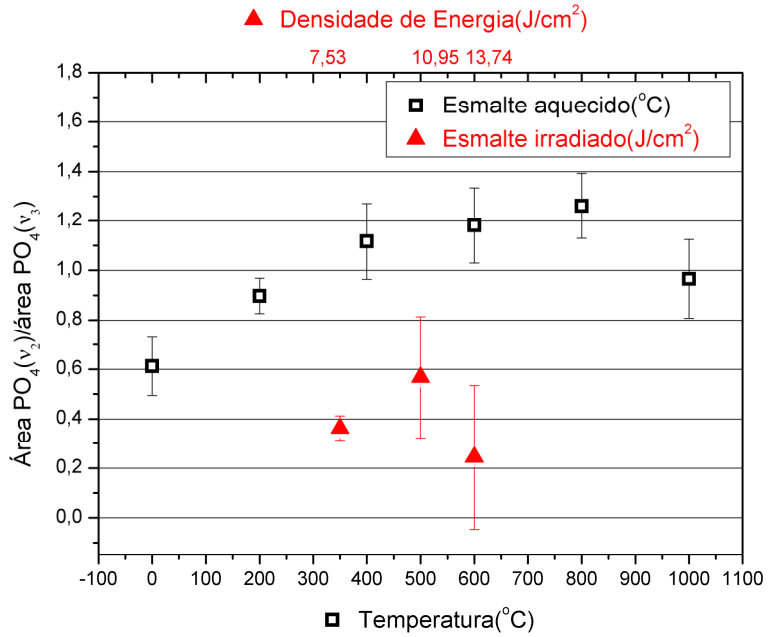

Figura 66: Variação da área da banda correspondente ao fosfato $PO_4^{3-}(\nu_2)$ em ~471 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.1.6. Bandas de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_4)$.

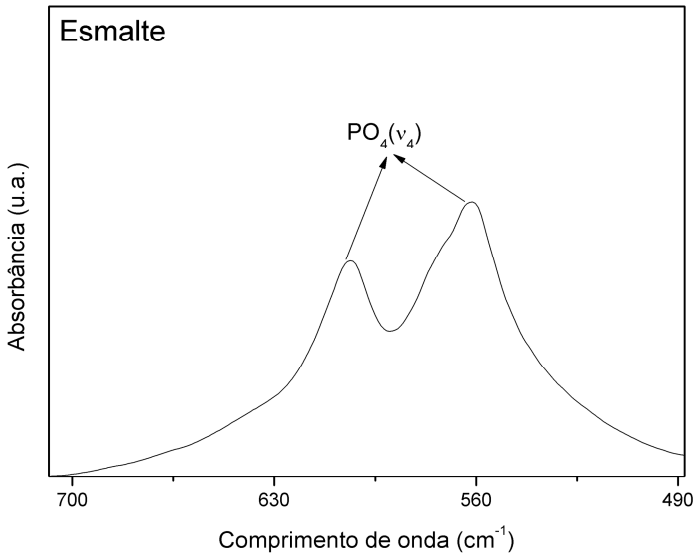

Figura 67: Bandas de fosfato $PO_4^{3-}(\nu_4)$ em ~561 cm^{-1} e ~602 cm^{-1}.

As áreas sob as bandas de $PO_4^{3-}(\nu_4)$ (FIG.67) sofrem poucas variações sob efeito da temperatura, porém sob efeito da irradiação *laser* apresentou decréscimos com relação à amostra padrão (FIG.68 e FIG.69).

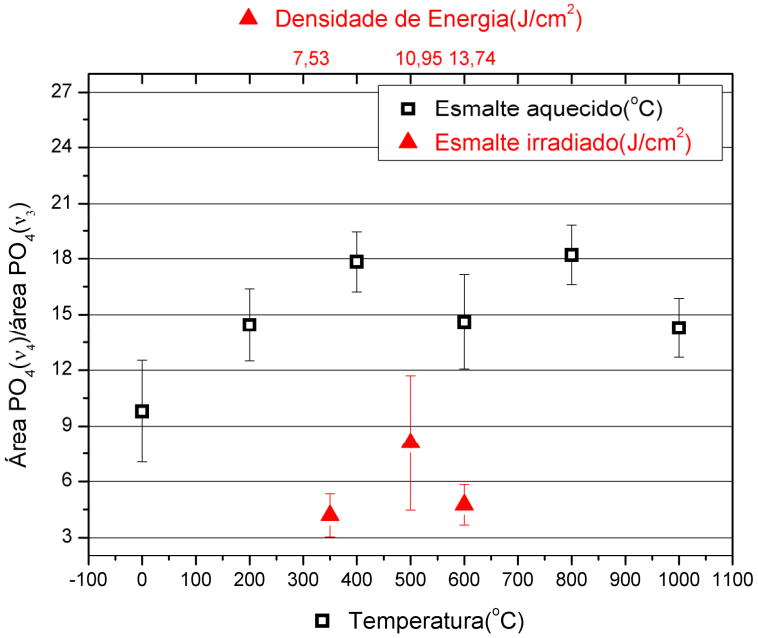

Figura 68: Variação da área da banda correspondente ao fosfato ν_4 em ~561 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

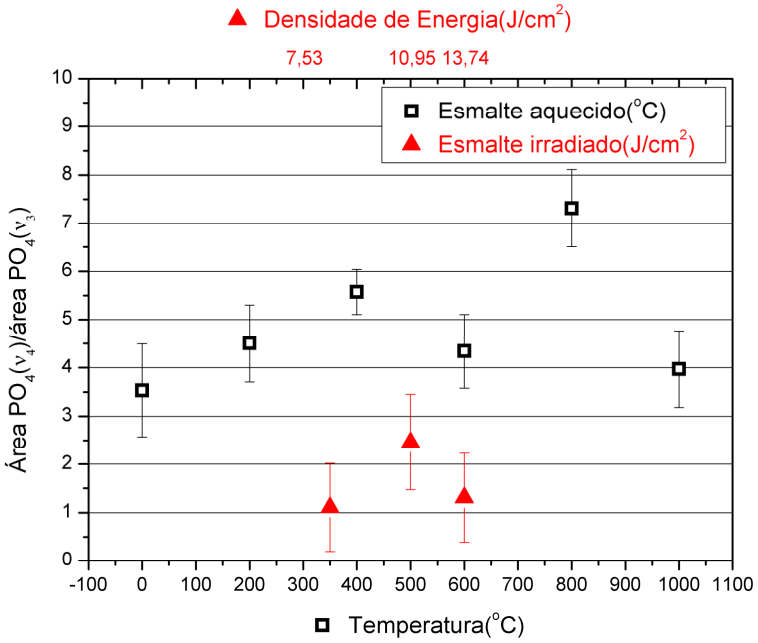

Figura 69: Variação da área da banda correspondente ao fosfato ν_4 em ~602 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2. Hidroxiapatita (HAP) sintética e irradiada a laser.

Na FIG.70 encontra-se representado o espectro típico de absorção no infravermelho, com as respectivas vibrações composicionais bandas das amostras de HAP sintética.

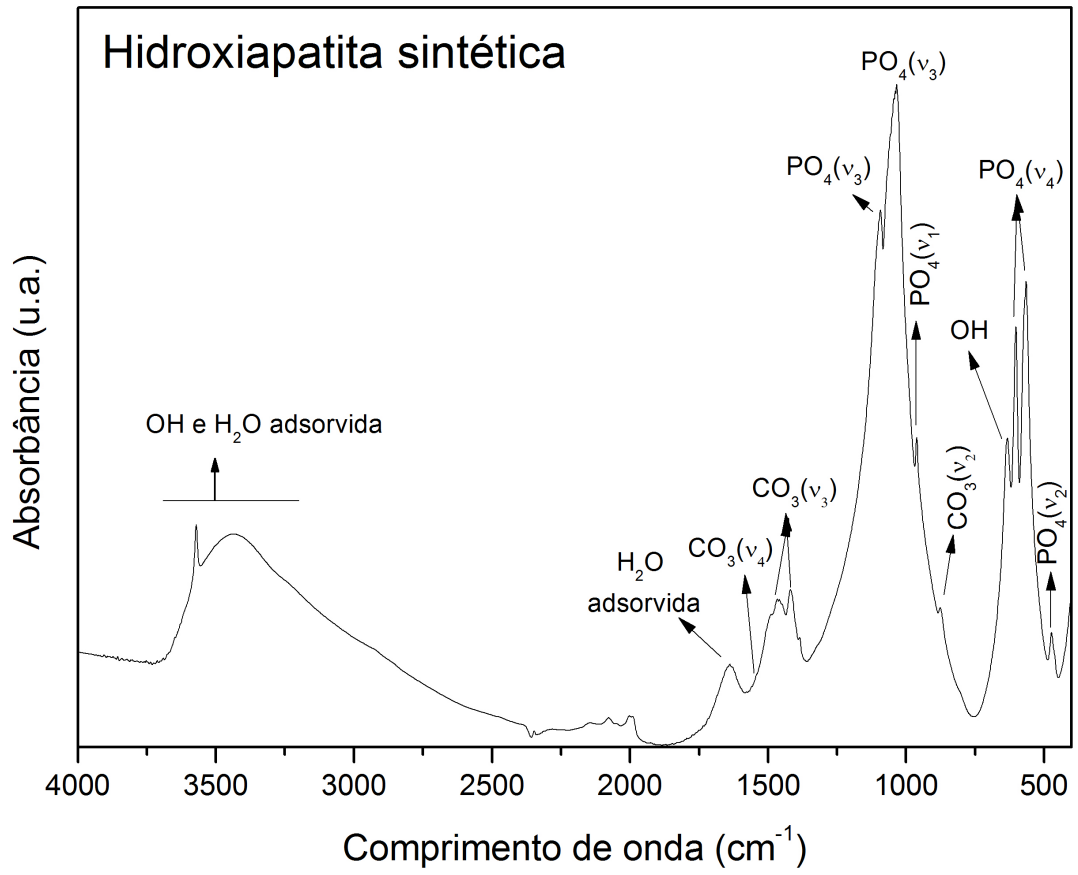

Figura 70: Espectro de absorção típico no infravermelho da hidroxiapatita sintética, com identificação das respectivas vibrações analisadas.

5.3.2.1. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_2)$

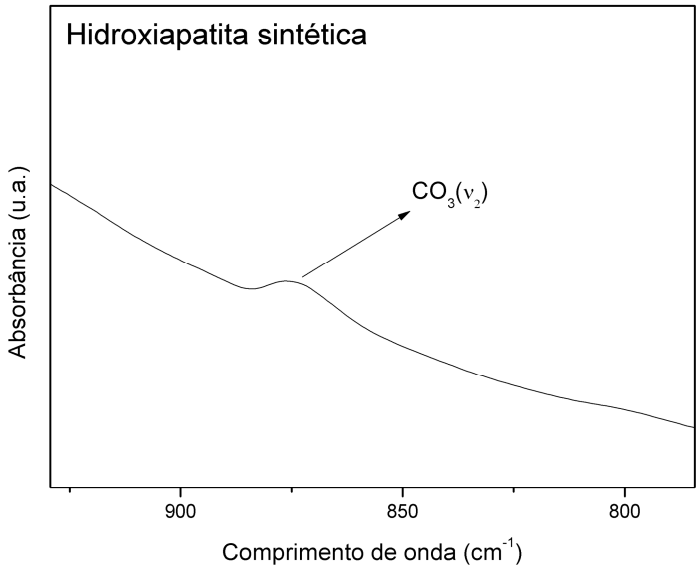

Figura 71: Banda do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_2)$ em ~875 cm^{-1}.

Nas amostras de HAP sintética (FIG.72), vimos nas amostras aquecidas diminuição da área sob a banda de carbonato ν_2 a partir da temperatura de 600 ℃, sendo ausente nas temperaturas a partir de 800 ℃. Para as amostras de HAP irradiadas a laser não foram observadas variações.

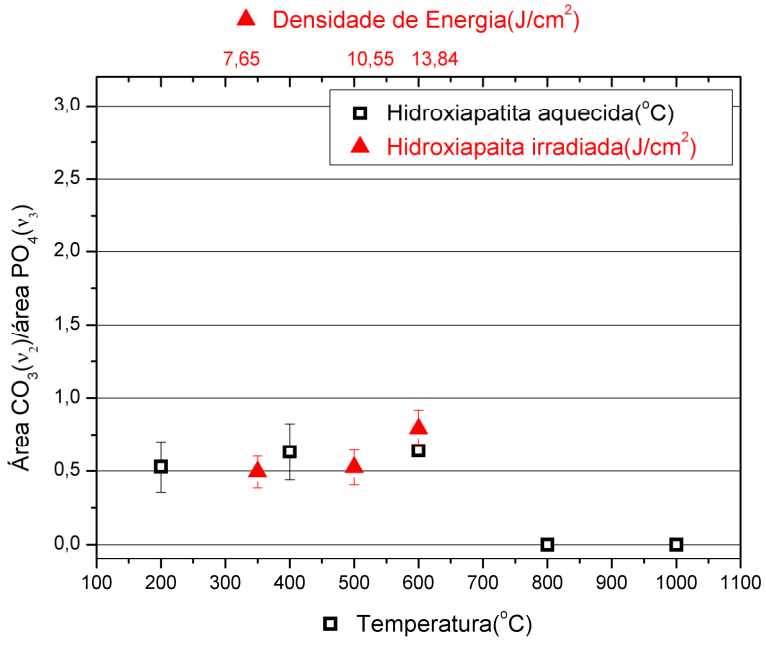

Figura 72: Variação da área da banda correspondente ao carbonato ν_2 em ~875 cm-1, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2.2. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_3)$

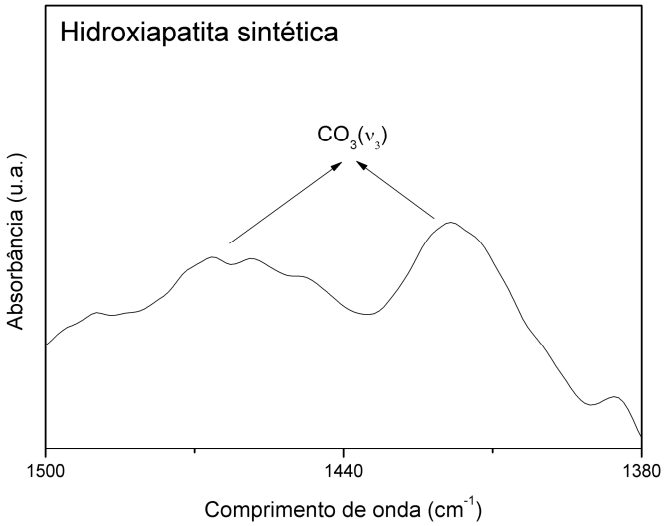

Figura 73: Bandas do carbonato $CO_3^{2-}(\nu_3)$ em ~1415 cm^{-1} e ~1460 cm^{-1}.

Na banda relativa ao carbonato ν_3 (FIG.73) vimos aumento até a temperatura de 400 ℃, com diminuição a partir desta temperatura, sendo que nas amostras irradiadas vimos que apresentou área destas bandas de acordo com a temperatura que o feixe alcançou na superfície a 400 ℃ e as amostras que foram aquecidas nestes patamares. Até a temperatura de 400 ℃ vimos um acréscimo da banda nas amostras aquecidas (FIG.74 e FIG.75).

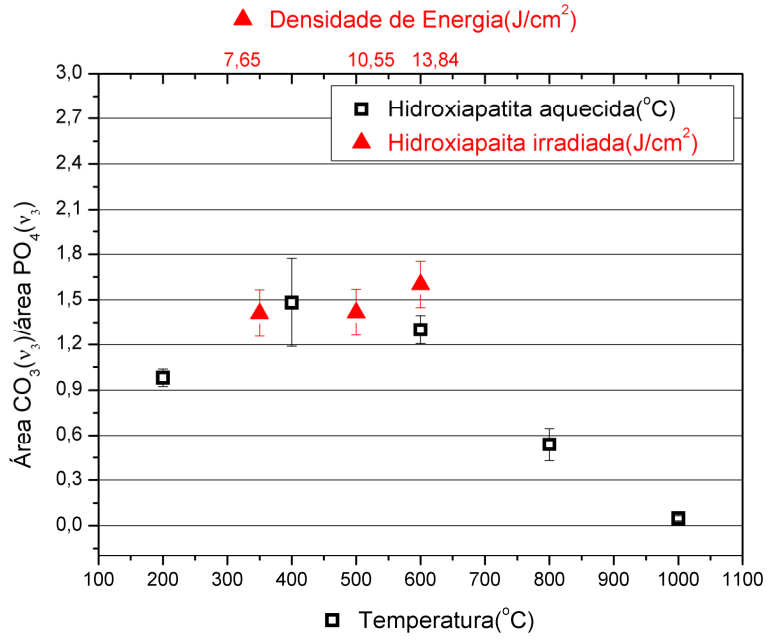

Figura 74 : Variação da área da banda correspondente a do carbonato ν_3 em ~1415 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

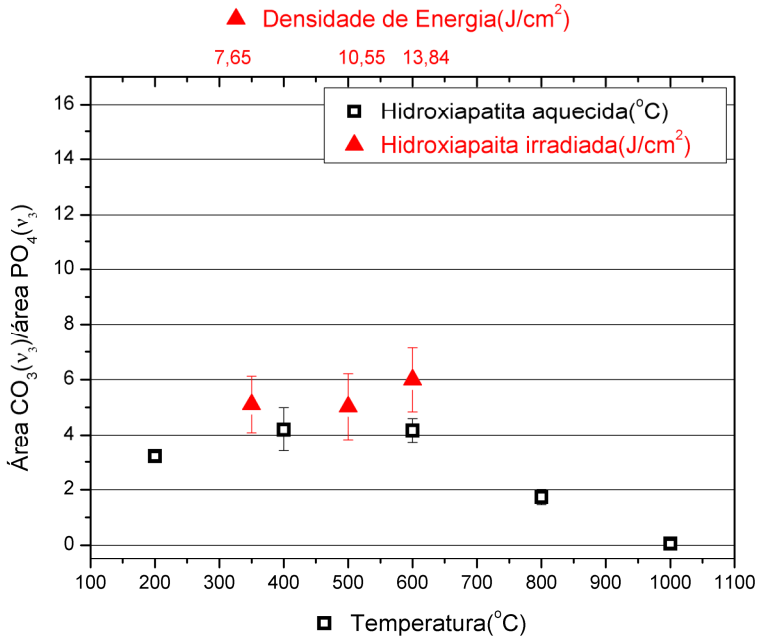

Figura 75 : Variação da área da banda correspondente a do carbonato ν_3 em ~1460 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2.3. Banda do carbonato - $CO_3^{2-}(\nu_4)$

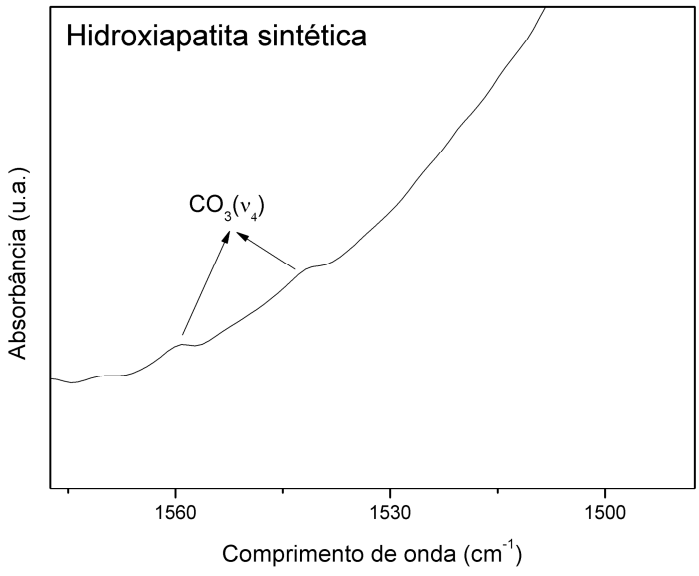

Figura 76 : Banda do carbonato $CO_3^{2-}(v_4)$ em ~1540 cm^{-1} e ~1560 cm^{-1}.

Não há variação relevante na área sob a banda de carbonato ν_4 (FIG.75), ocorrendo apenas na banda ~1540 cm^{-1} um acréscimo até a temperatura de 400 ℃ (FIG. 77 e FIG. 78).

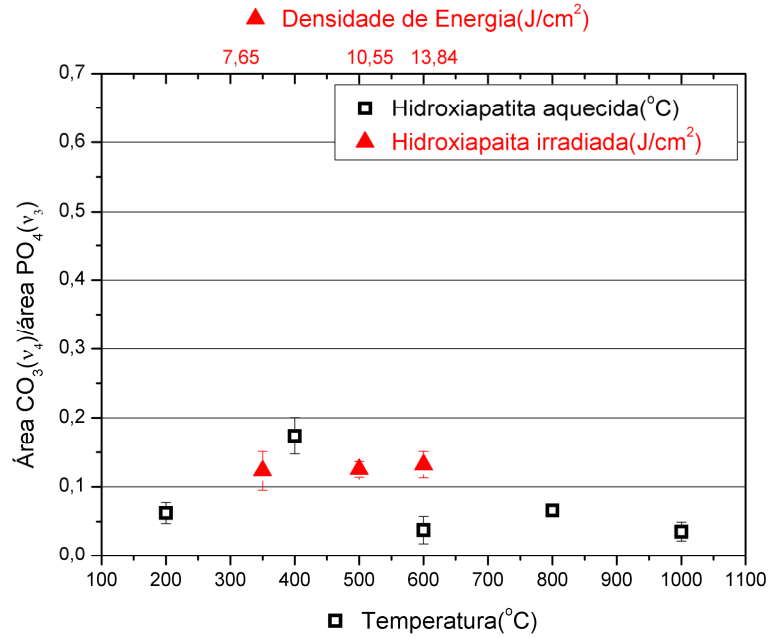

Figura 77: Variação da área da banda correspondente a do carbonato ν_4 em ~1540 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

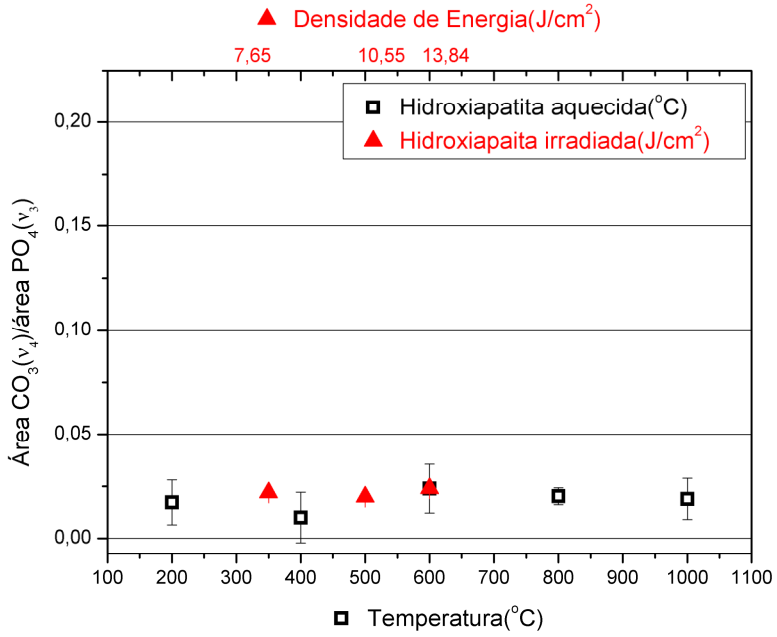

Figura 78: Variação da área da banda correspondente a do carbonato ν_4 em ~1560 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2.4. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida.

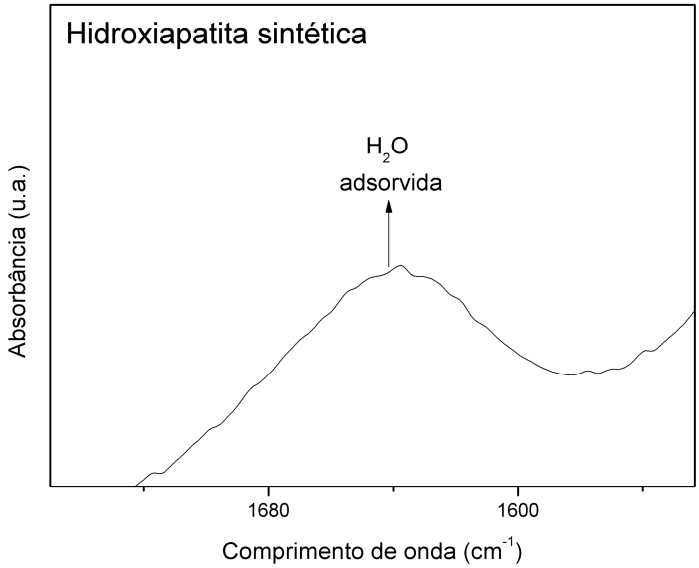

Figura 79: Bandas de H_2O adsorvida em ~1640 cm^{-1}.

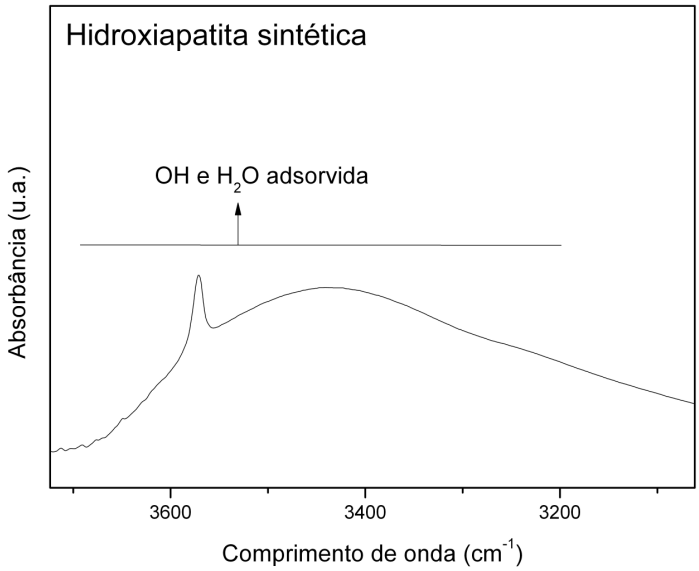

Figura 80: Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida em ~3448 cm^{-1}.

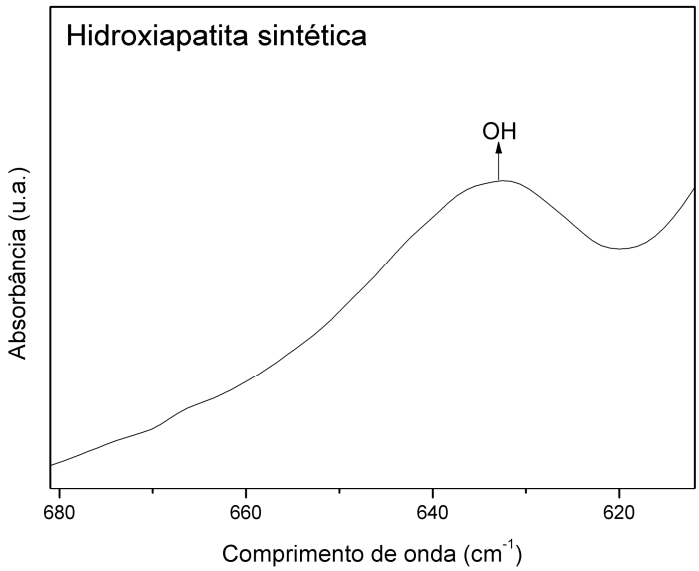

Figura 81: Bandas de OH ~635 cm^{-1}.

Nas bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida (FIG. 79, FIG. 80 e FIG. 81), sendo que a banda referente ao OH libracional em ~635 cm^{-1} (FIG. 84) apareceu exclusivamente nas amostras de HAP sintética a partir da temperatura de 400 °C. As bandas em ~3560 cm^{-1} e ~1640 cm^{-1} apresentaram comportamentos próximos entre si, onde ocorreu aumento da banda até a temperatura de 400 °C e também nas amostras irradiadas a *laser*, acima deste patamar de temperatura há a diminuição das áreas das bandas até quase extinção das mesmas. Com relação à banda em ~635 cm^{-1} há o aparecimento a 400 °C, seguido de declínio até 800 °C e uma área maior na temperatura de 1000 °C (FIG. 82, FIG. 83 e FIG. 84).

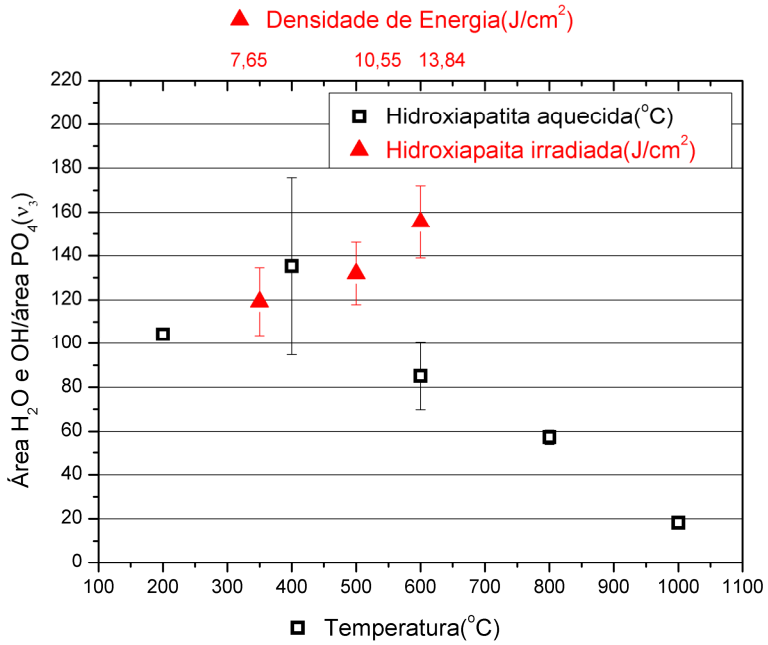

Figura 82: Variação da área da banda correspondente a H_2O adsorvida e OH estrutural em ~3570 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

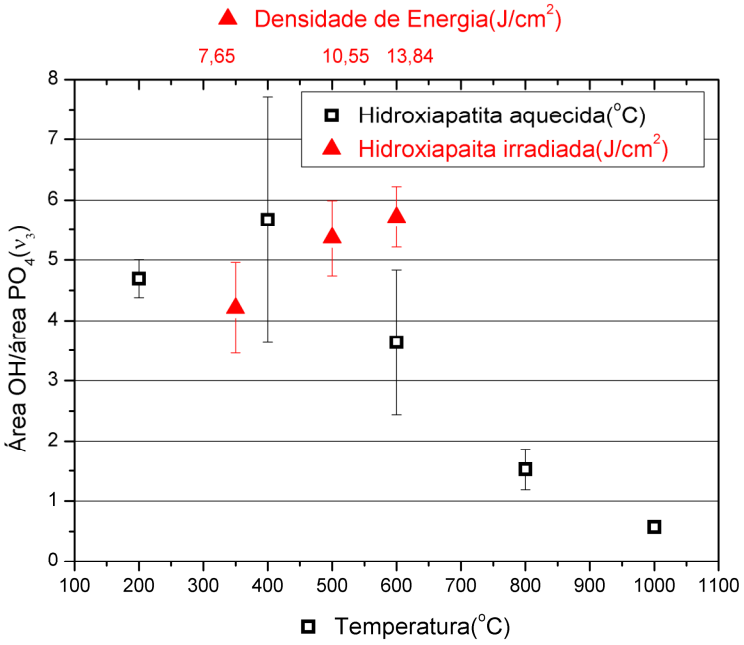

Figura 83: Variação da área da banda correspondente a H_2O adsorvida em ~1640 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

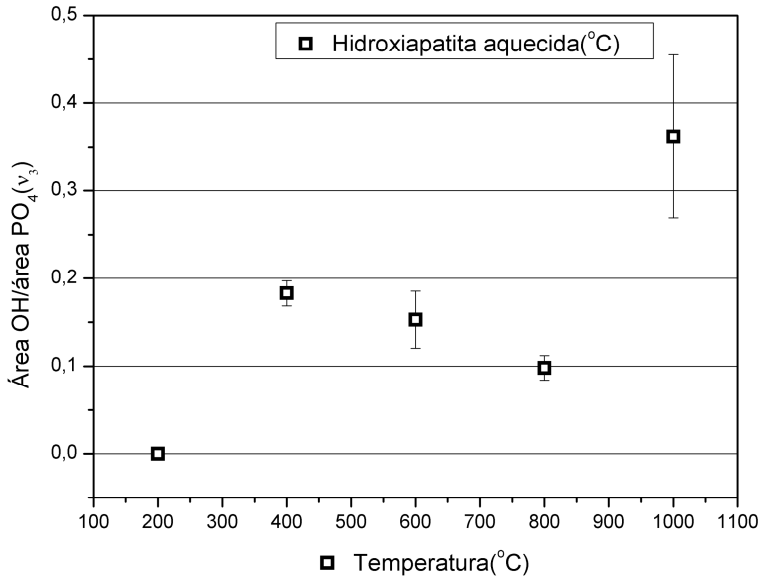

Figura 84: Variação da área da banda correspondente ao OH estrutural em ~635 cm^{-1}, em função da temperatura nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2.5. Banda de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_2)$.

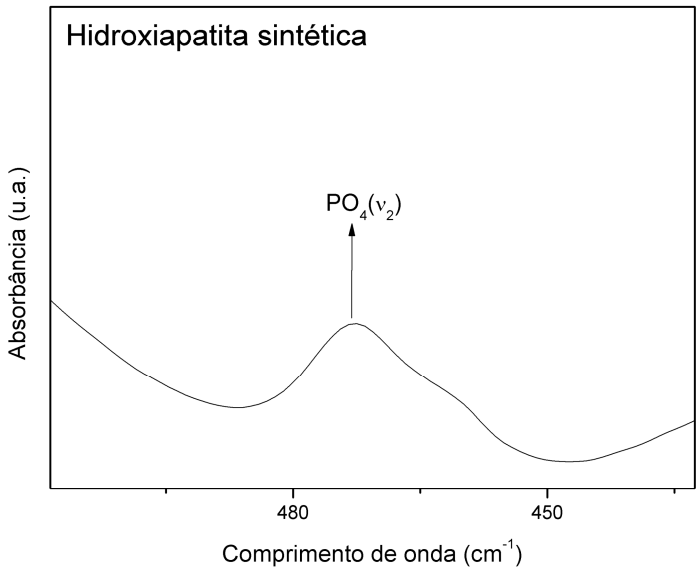

Figura 85 : Banda de fosfato $PO_4^{3-}(\nu_2)$ em ~471 cm^{-1}.

Na área da banda de fosfato ν_2 (FIG.85) houve decréscimo com relação às amostras aquecidas a partir de 800 ºC. Nas amostras irradiadas, vimos que há acréscimo desta banda sob a densidade de energia de 13,84 J/cm^2 (FIG.86).

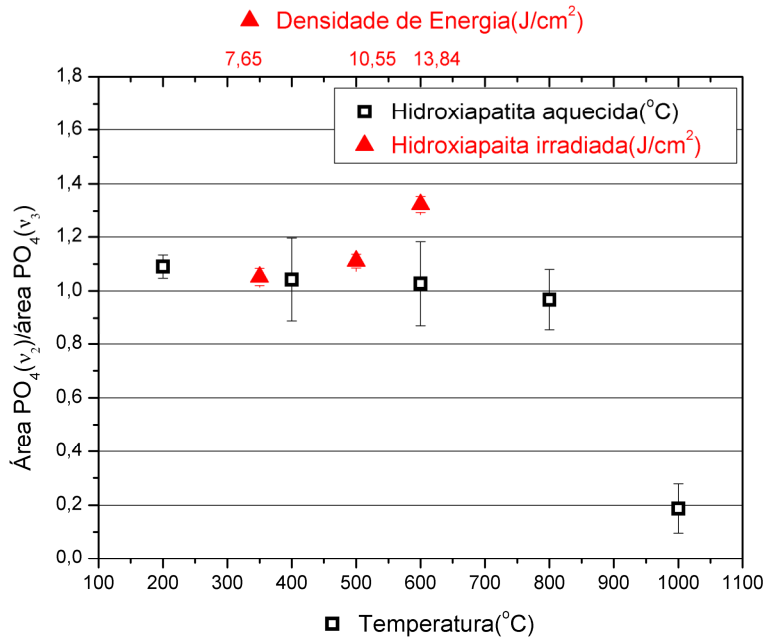

Figura 86: Variação da área da banda correspondente ao fosfato $PO_4^{3-}(\nu_2)$ em ~471 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

5.3.2.6. Bandas de fosfato - $PO_4^{3-}(\nu_4)$.

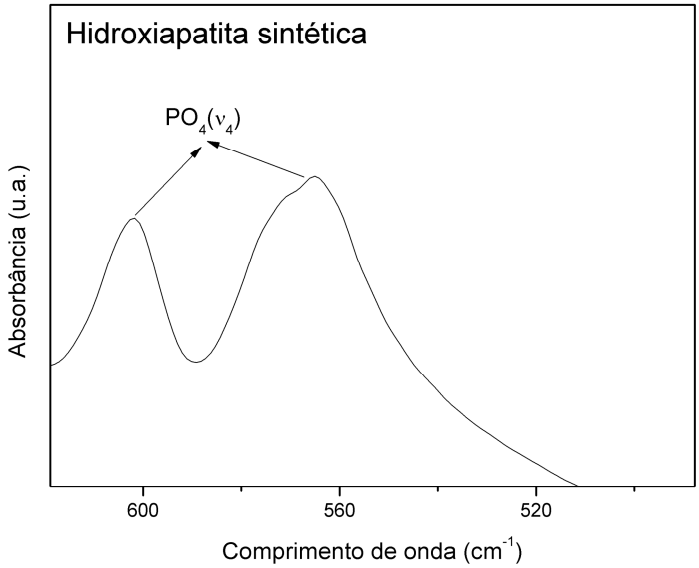

Figura 87: Bandas de fosfato $PO_4^{3-}(\nu_4)$ em ~561 cm^{-1} e ~602 cm^{-1}.

As áreas sob as bandas de fosfato ν_4 (FIG.87) observou-se que a banda sofre decréscimo sob influência da temperatura acima de 800 ℃, com relação às

irradiadas as amostras sofreram pequena diminuição e apresentaram valores de área da banda próximos da amostra aquecida a 400 ℃ (FIG.88 e FIG.89).

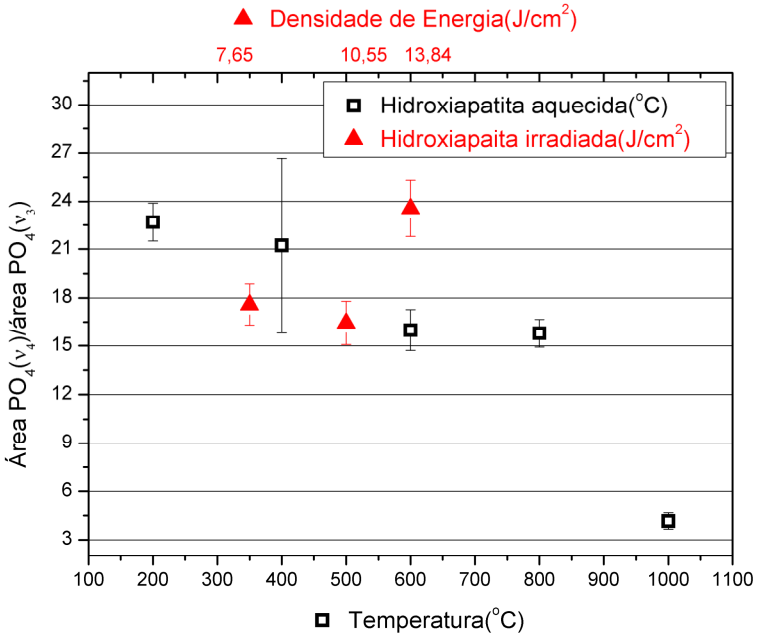

Figura 88: Variação da área da banda correspondente ao fosfato ν_4 em ~561 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

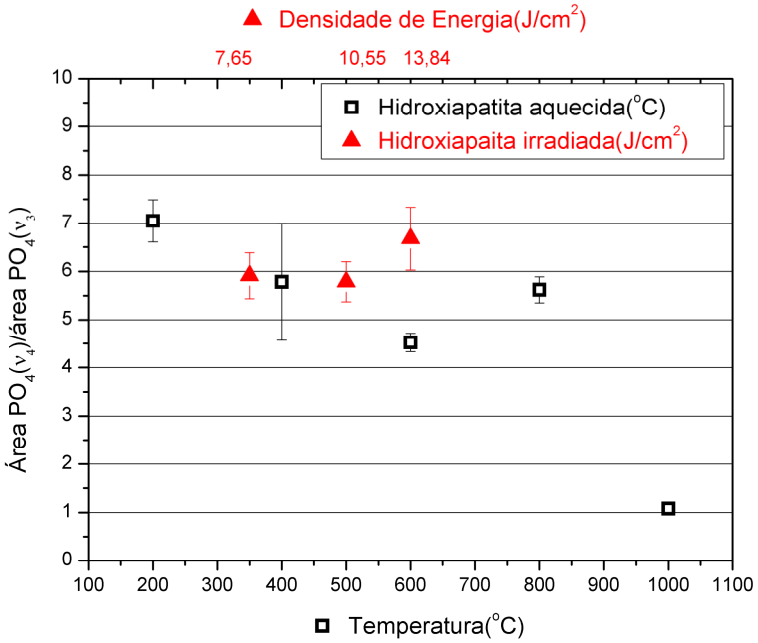

Figura 89: Variação da área da banda correspondente ao fosfato ν_4 em ~602 cm^{-1}, em função da temperatura e irradiação laser nas diferentes amostras deste estudo.

6. DISCUSSÃO

6.1. Difração de Raios-X e método de Rietveld.

A aplicação de *lasers* na Odontologia vem se difundindo rapidamente ao longo dos últimos anos em várias especialidades. No caso da cárie dental, os *lasers* de alta potência têm sido utilizados principalmente na remoção de tecido cariado, pela ação da ablação[4,5,6,17,42,63,64]. Tem-se estudado o uso de *lasers* para atuarem na prevenção da cárie por meio do uso da irradiação *laser* em parâmetros que provoquem alterações químicas e físicas, sem a necessidade de ablacionar o tecido, a fim de que este material apresente uma maior resistência à formação da lesão de cárie[38,43,45,65,66,67,68,69]. Para buscar estas mudanças no material pela ação térmica dos *lasers* e para que haja o mínimo ou nenhuma ablação, procurou-se irradiar ao materiais com densidades de energia próximas do limiar de ablação encontrado na literatura, que varia de 2,8–18 J/cm^2 [22,40,70,71], para larguras temporais de 250 a 400 μs.

Neste trabalho, procuramos avaliar as mudanças ocorridas por difração de Raios-X nas fases cristalográficas, onde já é conhecido que diferentes fases cristalográficas dos fosfatos de cálcio apresentam diferentes tempos de degradação, sendo a fase HAP a mais resistente em termos de degradação em meio biológico do que as outras fases. Estas fases podem ser verificadas por análise direta da comparação das posições dos padrões de picos de difratogramas coletados por Raios-X e pelo uso do método de Rietveld comprovando com exatidão não somente as fases presentes, mas todos os dados referentes à estrutura cristalográfica de cada amostra. Um dos parâmetros encontrados na literatura que define a fase do fosfato de cálcio é a relação Ca/P. Esta relação pode ser obtida através das taxas de ocupação dos átomos de cálcio e fósforo na estrutura cristalográfica do material.

No presente estudo, com relação ao aparecimento de novas fases cristalográficas no material submetido à irradiação *laser* e da ação térmica em forno, analisados pela difração de Raios-X e comprovados pelo método de Rietveld, observou-se que tanto o esmalte quanto as HAP sintéticas apresentam certa resistência à mudança de fase até o patamar de 800 °C, sendo-as

compostas apenas pela fase da HAP. Na literatura relata-se o comportamento da HAP sob efeito da temperatura, onde se encontrou que o material começa a se decompor a partir da temperatura de 700 °C, pela remoção de carbonato do sistema[50]. Em transformações de fases da HAP entre 25 °C e 500 °C o material apresenta difratogramas com os mesmos padrões de reflexão da HAP[72]. A HAP é estável até a temperatura de 600 °C, ocorrendo, depois desta temperatura desidroxilação até ~1200 °C e a formação de Fosfato de Tricálcio na fase β [β-TCP - $Ca_3(PO_4)_2$] e de Fosfato de Tetracálcio [TTCP - $Ca_4O(PO_4)_2$][73]. A temperatura ideal inicial de cristalização da HAP é em torno de 450 °C e, com aquecimento até 800 °C, o material não apresentou mudanças de fase cristalográfica[74]. Presencia-se o aparecimento da fase de Fosfato de Tricálcio na fase β (β-TCP – $Ca_3(PO_4)_2$) em aquecimento de duração de 1h às 10h a 800 °C, com variação de 10% a 20% desta fase no material[75]. Em nossa análise foram encontradas fases OCP e β-TCP no esmalte aquecido a 800 °C por 1h. Em temperaturas entre 600 °C e 1200 °C ocorre a desidroxilação da HAP. Segundo outros autores, há o aparecimento das fases β-TCP e TTCP a partir da temperatura de 800 °C.

Em nossos resultados vimos que houve a formação do OCP e β-TCP, a partir da decomposição da HAP pela liberação de carbonato e diminuição da presença de OH na estrutura.

Sob a ação *laser* observou-se que as amostras apresentaram apenas a fase de HAP. Estudo recente notificou, usando *laser* de Er,Cr;YSGG em esmalte a 2,8 J/cm^2, que foi encontrado 6 picos no difratograma de amostras irradiadas que não coincidiam com o padrão da HAP. Comparando as posições destes picos com padrões do banco de dados ICDD os autores observaram dois picos coincidiram com o padrão β-TCP (PDF 29-0359), três picos coincidiram com três picos do padrão β-TCP (PDF 09-0169) e alguns picos coincidiram com o do padrão TTCP (PDF 25-1137)[76]. Concluíram que o *laser* de Er,Cr:YSGG provocou o aparecimento de outra fase e que provavelmente seria a TTCP, correlacionando o encontro desta fase em trabalhos anteriores sob irradiação do *laser* de CO_2 [77] e do *laser* de Hólmio[78].

Todavia, mesmo tendo apenas esta fase presente nas amostras, a fase HAP pode apresentar variações dentro de sua estrutura, como por exemplo o montante

de carbonato, que pode provocar mudanças nas propriedades de resistência à degradação da HAP. Outro fator que pode influenciar na solubilidade do material é o tamanho dos seus cristalitos. Dentre as amostras que apresentaram comprovação de fase única da HAP, pelo método de Rietveld, pudemos encontrar diferenças estruturais desta fase que são de importância para entender os diferentes comportamentos em suas propriedades sem mesmo que o material mude para outra fase cristalográfica.

Com relação à variação do eixo-a da cela unitária da HAP no esmalte, vimos que a ação térmica até o patamar de 600 °C e as irradiações provocaram diminuição deste eixo e acima desta temperatura, um crescimento do eixo-a. Este efeito já foi relatado por outros autores e que ocorreu sob ação térmica até o patamar de 400 °C e o crescimento após esta temperatura[8]. Acredita-se que esta variação é provocada pela presença de HPO_4^{2-} que reage com o CO_3^{2-} na temperatura acima de 300 °C, o aumento do eixo-a acima de 400°C é devido a perda de CO_3^{2-} tipo B (CO_3^{2-} em PO_4^{3-}) e mudança da substituição do carbonato tipo B (CO_3^{2-} em PO_4^{3-}) pelo tipo A (CO_3^{2-} em OH^-) a altas temperaturas. Nas amostras de esmalte também vimos diminuição do eixo-c, porém em menor intensidade. Como o eixo-c na cela unitária apresenta um tamanho menor que o eixo-a e que é o mesmo tamanho do eixo-b, estes dois eixos (a e b) têm maior influencia no volume total da cela unitária. O eixo-c diminui com o aumento da temperatura, não ocorrendo reversão deste efeito. O reflexo da variação do volume da cela unitária do esmalte no eixo-a, eixo-b e eixo-c refletiu a ação conjunta destas dimensões no volume da cela unitária. Observou a diminuição do volume da cela unitária até o patamar de 600 °C e um pequeno crescimento acima desta temperatura, efeitos estes influenciados principalmente pelo eixo-a. O volume da cela unitária refletiu o comportamento no tamanho dos cristalitos, que apresentou a diminuição até a temperatura de 600°C e aumento subseqüente. Este comportamento também foi observado nas amostras de esmalte irradiados a laser.

Com relação à HAP sintética o eixo-a não apresentou efeito semelhante ao do esmalte, sofrendo crescimento com a temperatura até 600 °C e pequeno decréscimo acima de 600 °C. Apresentando o mesmo comportamento para o eixo-c, porém com uma variação de aumento e diminuição maior do que no eixo-a. As variações do eixo-a, eixo-b e eixo-c refletiram no comportamento do volume

da cela unitária, onde se observou variação do volume com o mesmo comportamento do eixo-a e eixo-b. Os tamanhos dos cristalitos da HAP sintéticas tiveram um pequeno crescimento até a temperatura de 600 °C e um crescimento grande a 800 °C. As diferenças nestes comportamentos entre o esmalte e a HAP sintética pode ser devido à diferença de H_2O adsorvida na composição, onde o esmalte apresenta muito pouca água na sua estrutura em comparação com a sintética que foi produzida em meio aquoso e além do fato de que o esmalte possui material orgânico que pode reagir e influenciar em diferentes interações da ação térmica e da irradiação do *laser*.

A relação Ca/P nas amostras de HAP sintética apresentaram o mesmo comportamento do esmalte com relação à ação térmica em forno e a ação *laser*, onde ambos provocaram diminuição da relação, formando um material com a relação ideal de Ca/P na estrutura mais próxima da teórica, ou seja, havendo 100% de ocupação dos sítios de Ca e P na estrutura por estes átomos.

Em estudos de análise de dependência nas propriedades de dissolução de minerais levemente solúveis, no caso a HAP, foi observado que são dependentes do tamanho dos cristalitos e no caso em que estes cristalitos estejam em escala nanométrica a dissolução do material não pode ser interpretada em termos de teorias convencionais desenvolvidas para estudos em grandes cristais. Os autores verificaram que a dissolução pode ser auto-inibida ou até suprimida devido à diminuição dos cristalitos nas condições de escalas nanométricas[79]. Em outro estudo, relatou-se que a HAP nanoestruturada com cristalito de tamanho de 20 nm é insensível à dissolução, onde uma camada de nanopartículas de HAP foi depositada sobre a superfície do esmalte, protegendo-o significativamente sob condições ácidas, o que foi considerado surpreendente pelos autores[80]. Eles ficaram surpresos que nanopartículas de HAP de 20 nm pudessem inibir a perda mineral da superfície do esmalte significativamente. Em nosso trabalho, encontramos tamanho de cristalitos em escala nanométricas nas amostras de esmalte e HAP sintética, onde o esmalte apresentou variação de 20 a 30 nm e a HAP sintética de 10 a 22 nm aproximadamente.

A relação Ca/P da HAP é importante para se avaliar a distribuição de cálcio e fósforos na estrutura, onde a relação ideal é ~1,67[81,82,83,84,85] e o padrão de referência NIST(National Institute of Standards and Technology) apresenta valor de relação molar Ca/P = 1,664 ± 0,005 [86]. Havendo alterações nesta relação tem-

se um material deficiente em cálcio ou mesmo em excesso, o que pode provocar diferentes comportamentos nas propriedades do material. Observou-se em nosso estudo que as nossas amostras, tanto biológicas quanto sintéticas, apresentaram um excesso de cálcio na estrutura, porém com a ação do aumento da temperatura em forno e também da irradiação *laser*, esta relação diminuiu, aproximando-se da relação ideal de 1,67. A relação a irradiação *laser* nas amostras de esmalte, apresentou o efeito de fazer com que o material chegasse muito próximo da relação ideal de ~1,67 na estrutura cristalográfica da HAP nas amostras. As amostras de esmalte irradiadas a 7,53 J/cm^2 e a 13,74 J/cm^2 apresentaram relação Ca/P de 1,6817 e 1,6831, respectivamente. Em estudo recente que avaliou a variação de Ca/P em esmalte sob irradiação do laser de Er,Cr:YSGG em superfície de dentes premolares com irradiações de 17,68 J/cm^2 e 35,36 J/cm^2 não encontraram variação da relação Ca/P[87]. Porém neste estudo foi usado o sistema de spray de água durante a irradiação, o que provoca um aumento do efeito ablativo, expelindo com maior eficácia o material que teve contato com o feixe *laser*, como também provoca a limpeza da superfície da área que sofreu influência do *laser*.

6.2. Espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).

6.2.1. Bandas de carbonato (CO_3^{2-}).

A associação de carbonato em apatitas biológicas tem sido um assunto controverso ao longo do tempo. Há estudos no grupo do Elliot J.C. que demonstram que o carbonato tipo A incorporado à apatita causa expansão do eixo-a da cela unitária e contração do eixo-c. Estudos do grupo da LeGeroz R.Z., demonstram que o carbonato tipo B incorporado causa contração do eixo-a e expansão do eixo-c da cela unitária, como também decréscimo no tamanho do cristal, aumento da solubilidade, aumento da tensão do cristal e mudanças na morfologia do cristal[23]. A incorporação do carbonato tipo A que é a substituição de CO_3^{2-} em OH^- causa expansão do eixo-a por causa do tamanho maior do grupo CO_3^{2-} substituindo o tamanho menor do grupo OH^-. Por outro lado, a incorporação

do carbonato tipo B com substituição do CO_3^{2-} em PO_4^{3-} causa contração do eixo-a porque o grupo CO_3^{2-} é menor do que o grupo PO_4^{3-}.

Em nosso estudo, nas amostras de esmalte com relação à banda em ~875 cm^{-1} que é a banda de carbonato ν_2 e que está relacionada à substituição tipo B do carbonato. Evidenciou-se que ela sofre aumento em sua área até a temperatura de 200 °C e depois decresce. Há um pico no valor alto da área na temperatura de 800 °C, provavelmente devido a esta temperatura ser a faixa de carbonização do material que sofre grande liberação de CO_2 no ambiente. O comportamento da banda em ~875 cm^{-1} em relação à temperatura é visto com semelhança nas bandas de carbonato ν_3 em ~1415cm^{-1} e ~1460cm^{-1}, bandas estas que são correlacionadas com a substituição tipo B do carbonato. As bandas em ~1415cm^{-1} e ~1460cm^{-1} apresentaram elevação nos valores da área até a temperatura de 400 °C e depois decresceu. Comparando com os dados de variação do eixo-a da cela unitária, vimos que este tipo de substituição (tipo B) do carbonato provoca retração deste eixo na cela unitária do material no esmalte, o que provocou por conseqüência a diminuição do volume da cela e do tamanho dos cristalitos até os patamares da temperatura de 400 °C, onde obsevou-se o aumento destas bandas. O efeito inverso acontece a partir das temperaturas mais altas quais há diminuição destas e ocasionalmente o eixo-a, volume da cela e tamanho dos cristalitos sofre aumento acima de 600 °C. O eixo-c continua em decréscimo acima de 600 °C, o que não provoca diminuição no volume da cela unitária, mas que pode influenciar na morfologia dos cristais.

Com relação às amostras de esmalte irradiadas a laser, observamos o comportamento de diminuição da concentração do carbonato (~875 cm^{-1}, ~1415cm^{-1} e ~1460cm^{-1}) com relação às temperaturas atingidas, porém uma diminuição mais intensa, o que provocou também a diminuição do eixo-a na cela unitária, mas que não refletiu na mesma intensidade da perda. O que pode ter ocorrido é que o aquecimento provocado pela irradiação *laser* causou uma maior diminuição nos carbonatos, porém parte deles não eram carbonatos que estavam estritamente ligados a estrutura intrínseca do material, mas sim dos carbonatos agregados em excesso no material. Deste comportamento obtém-se um material com proporção mais próxima da ideal de Ca/P na estrutura, relação esta que foi evidenciada nas amostras de esmalte irradiadas a laser.

Para a HAP encontra-se uma tendência de aumento da banda em ~875 cm^{-1} com o aumento de temperatura de 80 °C a 800 °C[88]. Na HAP aquecida a 500 °C, 800 °C e 1000 °C houve intensidade maior desta banda na temperatura de 500 °C, ocasionada pela incorporação de CO_3^{2-} nos sítios de OH [89]. Há a presença mais proeminente desta banda nas temperaturas de 700 °C e 900 °C, e com o aumento da temperatura, o desaparecimento da mesma[90].

Em estudos de incorporação de CO_3^{2-} em apatitas sintéticas (tipo B) verificou-se que esta substituição causa decréscimo da cristalinidade, decréscimo do tamanho dos cristalitos, aumento da tensão do cristal e aumento da solubilidade. As diferenças no tamanho dos cristalitos e a solubilidade no esmalte, dentina e osso podem ser atribuídas à quantidade de carbonato na estrutura[8]. O efeito do aumento da irradiação *laser* absorvida reduz o carbonato e reduz o grau de dissolução do material quando o carbonato é removido[6]. Pequenas frações de CO_2 solúvel podem reagir quimicamente formando carbonato e ocasionar mudanças na composição química do material, o que foi observado na produção de HAP sintética em forno a temperaturas de 80 °C, 120 °C, 400 °C e 800°C [88]. Isto pode ser uma razão para a desordem estrutural do material, além do excesso de carbonato.

Em nosso estudo nas amostras de HAP sintéticas, as bandas em ~875 cm^{-1}, ~1415 cm^{-1} e ~1460cm^{-1}, apresentaram o mesmo comportamento que às amostras de esmalte, sendo que na HAP sintética observou-se que a banda em ~875 cm^{-1} apresentou menor área do que no esmalte e sofreu exclusão total acima da temperatura de 600 °C. Porém nas bandas em ~1415 cm^{-1} e ~1460 cm^{-1} observou-se o comportamento idêntico que nas bandas de esmalte aquecido, sofrendo acréscimo até 600 °C e decréscimo acima deste patamar, influenciando, assim, da mesma forma as variações nos eixos e volume da cela unitária e tamanha dos cristalitos. A diferença principal nestes parâmetros foi o crescimento do eixo-c na temperatura de 600 °C e seu declínio acima deste patamar, mas a 800 °C ainda apresentava tamanho maior que o inicial e voltando aos mesmos valores de início na temperatura de 1000 °C, entretanto não influenciando no volume da cela, pois como foi dito antes, os eixo-a e eixo-b têm maior relevância no volume da cela unitária, pois apresentam maior dimensão que o eixo-c.

Em nossas amostras de esmalte, a banda de carbonato ν_4 em ~1540 cm^{-1} e ~1560 cm^{-1} (estão relacionadas à substituição tipo A do carbonato). Observou-se

que não sofrem quase nenhuma variação até a temperatura de 400 °C. Acima de 400 °C as duas bandas apresentam comportamentos antagônicos, a em ~1540 cm^{-1} sofre aumento de área acima de 600 °C e a em ~1560 cm^{-1} sofre grande aumento a 400 °C e some acima disto. Observamos que a substituição tipo A do carbonato em nossas amostras abaixo de 500 °C é ínfima. Nas amostra de esmalte irradiadas encontramos o mesmo comportamento, onde observamos que não houve praticamente nenhuma alteração nas áreas destas bandas. A banda em ~1560 cm^{-1} é relatada também como sendo da parte orgânica e que acima de 350 °C a parte orgânica desaparece do material natural[50]. Como há exemplos de ausência destas bandas em osso bovino a temperaturas de 1100 °C e 1200 °C[91]. Em nossas amostras de esmalte vimos esta banda e ela desapareceu a temperaturas acima de 400 °C, portanto ela deve estar relacionada com a parte orgânica do esmalte. Enquanto que nas amostras de hidroxiapatita sintética ela tem valores muito próximos de zero, pois o material não apresenta parte orgânica.

O aumento da banda em ~1540 cm^{-1} acima de 600 °C e que é relacionada à incorporação de CO_3^{2-} em OH, explica a variação no aumento do eixo-a para temperaturas acima de 600 °C, pois a incorporação do CO_3^{2-} expande este eixo da cela unitária, ocasionando também o aumento do volume da cela unitária e aumento do tamanho dos cristalitos.

6.2.1. Bandas de OH estrutural e H_2O adsorvida

A água presente no esmalte, dentina e osso apresenta-se principalmente associada à matriz orgânica e com os cristais de apatita. O esmalte contem água aproximadamente 3% em peso ou 11% em volume, a dentina contem 10% em peso ou 21% em volume e o osso contem 15% em peso ou 28% em volume. Tanto a água associada à parte orgânica como à apatita tem importante significância na dissolução e remineralização das apatitas[8].

As principais bandas encontradas foram nas regiões de ~3448 cm^{-1} e ~1638 cm^{-1} para H_2O adsorvida e ~3569 cm^{-1} e 635 cm^{-1} para OH estrutural. Em nossas amostras de esmalte observou-se comportamentos semelhantes entre as bandas analisadas de H_2O e OH, na banda em ~3570 cm^{-1} (OH de estiramento e H_2O adsorvida) como também a banda em ~1640 cm^{-1} de H_2O adsorvida sofreram

aumento em suas áreas até 200 °C e declínio subseqüente, com exclusão da banda em ~1640 cm^{-1} a partir de 800 °C. Como a banda em ~1640 cm^{-1} tem presença exclusiva de H_2O adsorvida enquanto que a em ~3570 cm^{-1} tem a presença também de OH estrutural, podemos deduzir que ambas sofreram a perda da H_2O estrutural até a temperatura de 600 °C, sendo a área da banda em ~3570 cm^{-1} referente principalmente ao OH estrutural. Na literatura é relatado que a perda de água adsorvida na estrutura da HAP acontece pela perda de massa entre 100 °C e 500 °C e de 680 °C a 1080 °C, sendo a perda relacionada à desidroxilação do material[92]. A HAP tem dois tipos de água: a adsorvida e a estrutural. A adsorvida é reversível e apresenta instabilidade térmica entre 25 °C e 200 °C e com perda de massa sem nenhum efeito nos parâmetros de rede do material, enquanto que a estrutural é irreversível a perdas (desidroxilação) e ainda causa contração dimensional na estrutura do material[93]. A perda de carbonatos e hidroxilas em temperaturas a partir de 800 °C são fatores que causam as transformações de fases cristalográficas da HAP em outros fosfatos de cálcio[23,51,52,53,54,55], como visto em nosso estudo acima da temperatura de 800 °C.

Nas amostras de HAP sintética ambas as bandas em ~1640 cm^{-1} e em ~3570 cm^{-1} apresentaram comportamentos similares, com aumento até 400 °C e diminuição acima desta temperatura. Este decréscimo é decorrente da desidroxilação do material com o aumento do aquecimento. O aumento até 400 °C é explicado pelo processo de cristalização do material, pois a temperatura ideal de cristalização é em torno de 500 °C. O nosso material é produzido em meio aquoso e quando é levado ao forno para o processo de calcinação ele está na forma de gel, onde já há a fase formada da HAP, porém o material ainda não estão bem cristalizado.

Nas amostras de HAP sintética observou-se o aparecimento de uma banda em 635 cm^{-1} de OH estrutural que não é presente no esmalte, o que está de acordo com a literatura[93]. Em outro estudo quando a HAP foi aquecida em ambiente com argônio, não se evidenciou o aparecimento deste OH, porém quando foi aquecido a 900 °C com ar ambiente houve o aparecimento do pico de OH em ~635 cm^{-1} [94]. Esta banda em nossas amostras de HAP sintética só apareceram na temperatura de 400 °C, sofrendo decréscimo até 800 °C e um grande aumento em 1000 °C.

6.2.1. Bandas de Fosfato (PO_4^{3-}).

As bandas de fosfato em nossas amostras de esmalte apresentaram comportamento de pequeno aumento da área em ~471 cm^{-1}, em ~561 cm^{-1} e em ~602 cm^{-1} até a temperatura de 800 °C, ocorrendo subsequentemente um pequeno decréscimo até 1000 °C. Vimos que as bandas de fosfato apresentam grande resistência sob ação térmica. Nas amostras de esmalte irradiadas a *laser* houve diminuição nas áreas destas bandas em comparação às áreas observadas nas amostras de esmalte aquecidas.

Nas amostras de HAP sintética vimos o mesmo padrão de comportamento para a banda em ~471 cm^{-1}, em ~561 cm^{-1} e em ~602 cm^{-1} onde as áreas só foram apresentar diminuição na temperatura de 1000 °C. Nas amostras de HAP sintética irradiadas a laser não foram observadas variações relevantes destas bandas.

Em nossas análises das bandas de fosfato, observou-se que suas variações só ocorreram nas temperaturas onde ocorrem as transformações da HAP em outras fases cristalográficas de fosfato de cálcio. Portanto, as bandas de fosfato apresentam um comportamento estável na estrutura da HAP do esmalte ou sintética sob ação térmica de forno ou sob irradiação do *laser* usado neste estudo.

7. CONCLUSÕES.

- Foi possível obter hidroxiapatita sintética com tamanho médio de cristalitos de 10 a 22 nm. A difração de raios-X e o método de Rietveld mostraram que os cristalitos aumentaram de dimensão, sobretudo para T ≥ 800 °C.
- Foi identificada a formação de fases de OCP e de β-TCP geradas durante o aquecimento tanto por forno como por irradiação a laser da HAP sintética, assim como no esmalte dental.
- Houve diminuição do tamanho dos cristalitos e volume da cela unitária das amostras de esmalte irradiadas em relação ao controle.
- A relação Ca/P do esmalte aquecido diminui pouco em relação ao controle de valor 1,7367, entretanto este efeito é mais pronunciado para as amostras irradiadas a laser de valores de 1,6831 e 1,6817, cuja relação aproxima-se da ideal de $\sim$1,67. Também houve diminuição dos valores de Ca/P para a HAP aquecida.
- A análise por espectroscopia de absorção no infravermelho mostrou que na HAP sintética aquecida, houve diminuição do carbonato em temperaturas maiores do que 400 °C e esta concentração variou muito pouco para as amostras irradiadas.
- Como esperado houve diminuição da água adsorvida para as amostras de HAP sintética aquecida, também para T > 400 °C.
- O calor gerado pelo tratamento térmico em forno ou a densidade de energia das irradiações nas amostras afeta o tamanho dos cristalitos, o que segundo a literatura está correlacionado com o grau de dissolução do material, cuja diminuição é de interesse para aplicações odontológicas.

8. TRABALHOS FUTUROS

- Recobrimento de esmalte com HAP nanoestruturada e desenvolvimento de ciclagem de pH para verificação de perda mineral.
- Irradiação de HAP com laser de neodímio.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1 Keller, U., Hibst, R., Effects of Er:YAG laser in caries treatment: A clinical pilot study. Lasers Surg Med 20:32-38 (1997).

2 Kimura, Y., Wilder-Smith, P., Yonaga, K., Matsumoto, K., Treatment of dentine hypersensitivity by lasers: a review. J Clin Periondontol 27:715-721 (2000).

3 Kimura Y, Wilder-Smith P, Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review. Int Endod J 33:173-185 (2000).

4 Hibst R, Keller U. Experimntal studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances I. Lasers Surg Med 9:338-344 (1989).

5 Hibst R, Keller U. Experimental studies of the application of the Er:YAG laser on dental hard substances II. Lasers Surg. Med. 9:345-351 (1989).

6 Featherstone, J.D.B., Fried, D., Fundamental Interactions of Lasers with Dental Hard Tissues. Med. Laser Appl. 16:181-194 (2001).

7 Elliott, J.C., Bollet-Quivogne, F.R.G., Anderson, P. Dowker, S.E.P., Wilson, R.M. and Davis, G.R., Acid demineralization of apatites studied by scanning X-ray microradiography and microtomography. Mineralogical Magazine, 69(5):643-652 (2005).

8 LeGeros R.Z., “Calcium Phosphates in Enamel, Dentin and Bone”. In Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine. Monographs in Oral Science Editor. H.M. Myers, (1991).

9 Fleet, M. E., Liu, X. Y., Local structure of channel ions in carbonate apatite. Biomaterials (26) 7548–7554 (2005).

10 Zhang, Y., Zhou, J., Li, D. Xue, N. Xu, X. Li, J., Oriented nano-structured hydroxyapatite from the template,Chemical Physics Letters 376:493–497 (2003).

11 Nelson, D.G.A., Featherstone J.D.B.: Preparation, analysis, and characterization of carbonated apatites. Calcif Tissue Int 34: S69–S81 (1982)

12 Nelson, D.G.A., Featherstone , J.D.B., Duncan, J.F., Cutress, T.W.: Effect of carbonate and fluoride on the dissolution behaviour of synthetic apatites. Caries Res 17: 200–211 (1983).

13 Vallet-Regí, M., Ceramics for medical applications. J. Chem. Soc., Dalton Trans., 97-108 (2001).

14 Cheng, Z. H., Yasukawa, A., Kandori, K., e Ishikawa, T, FTIR Study on incorporation of CO2 into calcium hydroxyapatite. J.Chem. Soc., Faraday Trans., 94(10), 1501-1505 (1998).

15 Parker, S., Surgical lasers and hard dental tissue, British Dental Journal, 202 (8) APR 28 (2007).

16 Steiner, R., New laser technology and future applications. Medical Laser Application 21, 131-140 (2006).

17 Beltrano, J. J., Torrisi, L., Campagna, E., Rapisarda, E., Finocchiaro, I. and Olivi, G., Er,Cr:YSGG Pulsed laser applied to medical dentistry',Radiation Effects and Defects in Solids,163:4,331- 338 (2008).

18 Hossain, M., Nakamura, Y., Tamaki, Y. , Yamada, Y., Murakami, Y., Matsumoto, K., Atomic analysis and knoop hardness measurement of the cavity floor prepared by Er,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. Journal of Oral Rehabilitation, 30: 515-521 (2003).

19 Meister, A.C., Ioana, R.S., Franzen, R., Hering, P., Gutknecht, N., The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser radiation in dental enamel. Lasers Med Sci. 17:246-305 (2002).

20 Fried, D., Glena, R. E., Featherstone, J. D. B., Seka, W., Permanent and transient changes in the reflectance of CO2 laser irradiated dental hard tissues at 9.3, 9.6, 10.3 and 10.6 μm and at fluences of 1–20 J/cm2. Lasers in Surgery and Medicine. 20: 22–31 (1997).

21 Ten Cate, A.R. Histologia bucal: desenvolvimento, estrutura e função. Rio de Janeiro, S.P.: Guanabara Koogan, 2001.

22 Apel, C.; Meister, J.; Ioana, R.S.; Gutknecht, N. The ablation threshold of Er:YAG and Er:YSGG laser irradiation in dental enamel. Lasers Med. Sci, v. 17, p. 246-252, 2002.

23 LeGeros, R.Z., Calcium phosphates in oral biology and medicine. Monographs in Oral Science, Vol. 15, New York, NY1999

24 Brown, P. W., Hydroxyapatite and related materials. CRC Press, 1994.

25 Elliot, J. C., Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. (The London Hospital Medical College). Elsevier: Amsterdam. 1994. xii + 389 pp. ISBN 0-444-81582-1.

26 McGraw-Hill Encyclopedia of Science and Technology, 5th edition,

27 Tim White, Cristiano Ferraris, Jean Kim and Srinivasan Madhavi. Apatite – An Adaptive Framework Structure. Reviews in Mineralogy & Geochemistry, Vol. 57, pp. 307-401, 2005

28 Wilson, R.M.;Elliott, J.C.;Dowker, S.E.P., Rietveld refinement of the crystallographic structure of human dental enamel apatites. American Mineralogist, 84, 1406-1414 (1999).

29 Fleet, M.E.;Liu, X;King, P.L., Accommodation of the carbonate ion in apatite: An FTIR and X-ray structure study of crystals synthesized at 2-4 GPa. American Mineralogist, 89, 1422-1432 (2004).

30 Chow, L. C., Next generation calcium phosphate-based biomaterials. Dental Material Journal, 28(1): 1-10 (2009).

31 Mathew, M.;Brown, W.E.;Schroeder, L.W.;Dickens, B., Crystal structure of octacalcium bis(hydrogenphosphate) tetrakis(phosphate) pentahydrate, $Ca_8 (H P O_4)_2 (P O_4)_4 (H_2 O)_5$. Journal of Crystallographic and Spectroscopic Research, 18, 235-250 (1988).

32 Yashima, M.;Sakai, A.;Kamiyama, T.;Hoshikawa, A., Crystal structure analysis of beta-tricalcium phosphate $Ca_3 (P O_4)_2$ by neutron powder diffraction. Journal of Solid State Chemistry (2003) 175, 272-277.

33 Larsen, M.J.; Brun, C. A química da cárie dentária e o flúor – mecanismo de ação. In: Thylstrup, A.; Fejerskov, O. Cariologia Clínica, São Paulo, S.P.: Livraria Editora Santos, 1995, p. 231 - 252.

34 Cury, J.A. Uso do flúor e controle da cárie como doença. In: Baratieri, L.N. et al. Odontologia Restauradora – Fundamentos e Possibilidades. São Paulo, Editora Santos, 2001, p. 33 - 68.

35 Legeros RZ, Calcium phosphates in demineralization/Remineralization Processes. The Journal of Clinical Dentistry 10(2):65-73 (1999).

36 Newbrun, E. Cariology. Baltimore, Maryland: Williams & Wilkins, 1978.

37 Bachmann, L., Estrutura e composição do esmalte e da dentina tratados termicamente ou irradiados com lasers emissores no infravermelho. Tese de doutorado. Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, São Paulo – SP (2004).

38 Sognnaes, R.F.; Stern, R.H. Laser effect on resistance of human enamel to demineralization in vitro. J. S. Calif. Dent. Assoc., v. 33, p. 328-329, 1965.

39 Stern, R.H.; Sognnaes, R.F.; Goodman, F. Laser effect on in vitro enamel permeability and solubility. J. Am. Dent. Assoc., v. 73, n. 4, p; 838-43, 1966.

40 Da Ana, P. A., estudo in vitro da resistência à desmineralização e da retenção de flúor em esmalte dental irradiado com laser de Er,Cr: YSGG. Tese de doutorado. Instituto de pesquisas energéticas e nucleares, São Paulo – SP (2007).

41 Niemz, M. Tissue Interactions fundamentals and applications. 3Ed , Bmpbe, Springer, 2007

42 Featherstone, J.D.B.; Nelson, D.G.A. Laser effects on dental hard tissue. Adv. Dent. Res., v. 1, v. 21 – 26, 1987.

43 Ana, P.A.; Bachmann, L.; Zezell, D.M. Laser effects on enamel for caries prevention. Laser Phys., v. 16, n. 5, p. 865 – 875, 2006.

44 Alfred Vogel, and Vasan Venugopalan, Mechanisms of Pulsed Laser Ablation of Biological Tissues. Chem. Rev. 2003, 103, 577-644

45 Featherstone, J.D.B. Caries detection and prevention with laser energy.Dent. Clin. North Am., v. 44, p. 955-69, 2000.

46 Zezell, D.M.; Cecchini, S.C.; Eduardo, C.P.; Matsumoto, K.; de rossi, W.; Nogueira, G.E.; Berretta, JR.; Vieira junior, N.D.; Morato, S.P. Experimental studies of the applications of the holmium laser in dentistry. J. Clin. Laser Med. Surg., v. 13, n. 4, p. 283 – 9, 1995.

47 Apel, C.; Meister, J.; Schmitt, N.; Graber, H.G.; Gutknecht, N. Calcium solubility of dental enamel followiong sub-ablative Er:YAG andEr,Cr:YSGG laser irradiation in vitro. Lasers Surg. Med., v. 30, n. 5, p. 337-341,2002.

48 Fried, D.; Feathestone, J.D.B.; Visuri, S.R.; Seka, W.W.; Walsh, J.T. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation. In: WIgdor, H.A.; Featherstone, J.D.B.; White, J.M.; Neev, J. Lasers in Dentistry II. Bellinghan, WA. Proc. SPIE n. 2672, p. 73-77, 1996.

49 Zezell, Heloisa Gomes D. Boari, Patricia Aparecida Ana, Carlos de Paula Eduardo, Glen Lynn Powell. Nd:YAG laser in caries prevention: A clinical trial. Lasers in Surgery and Medicine, Volume 41, Issue 1, (2009), Pages: 31-35

50 Haberko, K., Bucko, M. M., Brzezinska-Miecznik, J., Kaberko, M., Mozgawa, W., Panz, T., Pyda, A., Zarebski, J., Natural hydroxyapatite-its behaviour during heat treatment. Journal of the European Ceramic Society. 26:537-542 (2006).

51 J. P. Lafon , E. Champion , D. Bernache-Assollant , R. Gibert,A. M. Danna. Thermal Decomposition OF Carbonated Calcium Phosphate Apatites. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 72 (2003) 1127.1134

52 G. Muralithran, S. Ramesh. The e€ects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite. Ceramics International 26 (2000) 221±230.

53 Qian Jun He, Zhi Liang Huang, Xiao Kun Chenga and Jun Yua. Thermal stability of porous A-type carbonated hydroxyapatite spheres. Materials Letters 62 (2008) 539–542.

54 T. I. Ivanova, O. V. Frank-Kamenetskaya, A. B. Kol'tsov, and V. L. Ugolkov. Crystal Structure of Calcium-Deficient Carbonated Hydroxyapatite. Thermal Decomposition. Journal of Solid State Chemistry 160, 340_349 (2001).

55 Z. Hatim , A. Michrafy, M. Elassfouri, F. Abida. Stoichiometry and particle morphology effects on the aptitude to compaction of apatitic structure powders. Powder Technology 190 (2009) 210–214.

56 Luz, E. R., Predição de propriedades de gasolinas usando espectroscopia FTIR e regressão por mínimos quadrados parciais. Dissertação de Mestrado. Departamento de química- PUC-Rio, Rio de janeiro – RJ (2003).

57 Skoog, D. A.; Leary, J. J, Principles of Instrumental Analysis 4. ed. New York: Saunders College Publishing, 1992.

58 Kahn, H., Apostila de Difração de Raios-X. Disciplina PMI-2201-Técnicas de caracterização de materiais. Engenharia de Minas. Escola Politécnica da USP (2007).

59 Pecharsky, V. K.,. Zavalij , P. Y., Fundamentals of powder diffraction and structural characterization of materials, Springer Science+Business Media, Inc., New York, NY, USA, 2005.

60 Fancio, E., Aplicação Do Método De Rietveld Para Análise Quantitativa De Fases Dos Polimorfos Da Zirônia Por Difração De Raios X. 1999. Dissertação de mestrado, Instituto De Pesquisas Energéticas E Nucleares, São Paulo.

61 Young,R.A.;The Rietveld Method;I.U.C.,Oxford University Press Inc.,New York;1995.

62 Standard Reference Material 640c – Silicon Powder. National Institute of standards e technology. 13 de setembro de 2000.

63 Peter Rechmann and Thomas Hennig, Lasers in Periodontology – Today and Tomorrow. Med. Laser Appl. 16: 223–230 (2001)

64 Donald J. Coluzzi, Lasers in dentistry—wonderful instruments or expensive toys?. International Congress Series 1248 (2003) 83– 90.

65 Oho, T.; Morioka, T. A possible mechanism of acquired acid resistance of human dental enamel by laser irradiation. Caries Res., v. 24, n. 2, p. 86-92, 1990.

66 Fowler, B.O.; Kuroda, S. Changes in heated and in laser-irradiated human tooth enamel and their probable effects on solubility. Calcif. Tissue Int., v. 38, p. 197-208, 1986.

67 Morioka, T.; Tagomori, S.; Oho, T. Acid resistance of lased human enamel with Er:YAG laser. J. Clin. Laser Med. Surg., v. 9, p. 215-217, 1991.

68 Cecchini, R.C.M.; Zezell, D.M.; Oliveira, E.; Freitas, P.M.; Eduardo, C.P. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: morphological and atomic spetrometric analysis. Lasers Surg. Med., v. 37, n. 5, p. 366 – 372. 2005.

69 Liu, J.F.; Liu, Y.; Stephen, H.C.Y. Optimal Er:YAG laser energy for preventing enamel demineralization. J. Dent., v. 31, n.1, p. 62-66, 2005.

70 Belikov, A.V.; Erofeev, A.V.; Shumilin V.V.; Tkachuk, A.M. Comparative study of the 3 μm laser action on different tooth tissue samples using free running Er-doped YAG, YSGG, YAP and YLF lasers. In: ALTSHULER, G.B.; HIBST, R. Dental Applications of Lasers. Bellinghan, WA: Proc. SPIE, v. 2080, p. 60 – 67, 1993.

71 Fried, D.; Feathestone, J.D.B.; Visuri, S.R.; Seka, W.W.; Walsh, J.T. The caries inhibition potential of Er:YAG and Er,Cr:YSGG laser irradiation. In: Wigdor, H.A.; Featherstone, J.D.B.; White, J.M.; Neev, J. Lasers in Dentistry II. Bellinghan, WA. Proc. SPIE n. 2672, p. 73-77, 1996.

72 Shih, W., Wang, J., Wang, M., Hon, M., A study on the phase transformation of the nanosized hydroxyapatite synthesized by hydrolysis using in situ high temperature X-ray diffraction. Materials Science and Engineering C. 26:1434-1438 (2006).

73 Pattanayak, D.K.,, Dash, R., Prasad, R.C., Rama Mohan, T.R., Synthesis and sintered properties evaluation of calcium phosphate ceramics. Materials Science and Engineering C. 27:684-690 (2007).

74 Petrov, O.E., Dyulgerova, E., Petrov, L., Popova, R., Characterization of calcium phosphate phase abtained during the preparation of sintered biphase Ca-P ceramics. Materials Letters. 48:162-167 (2001).

75 Z. Hatim , A. Michrafy, M. Elassfouri, F. Abida. Stoichiometry and particle morphology effects on the aptitude to compaction of apatitic structure powders. Powder Technology 190 (2009) 210–214.

76 L. Bachmann, K. Rosa, P.A. da Ana, D.M. Zezell, A.F. Craievich, 3 and G. Kellermann. Crystalline structure of human enamel irradiated with Er,Cr:YSGG laser. Laser Phys. Lett. 1–4 (2008)

77 D.G. Nelson, J.S. Wefel, W.L. Jongebloed, and J.D. Featherstone, Caries Res. 21, 411 (1987).

78 L. Bachmann, A.F. Craievich, and D.M. Zezell, Arch. Oral, Biol. 49, 923 (2004).

79 Ruikang Tang, Lijun Wang and George H. Nancoll, Size-effects in the dissolution of hydroxyapatite: an understanding of biological demineralization. J . Ma t e r . C h e m . , 2 0 0 4 , 1 4 , 2 3 4 1 – 2 3 4 6.

80 Yurong Cai and Ruikang Tang. Calcium phosphate nanoparticles in biomineralization and biomaterials. J. Mater. Chem., 2008, 18, 3775–3787.

81 Z. Hatim, A. Michrafy, M. Elassfouri, F. Abida, Stoichiometry and particle morphology effects on the aptitude to compaction of apatitic structure powders. Powder Technology 190 (2009) 210–214.

82 Takashi Tsuchida, Jun Kubo, Tetsuya Yoshioka, Shuji Sakuma, Tatsuya Takeguchi, Wataru Ueda, Reaction of ethanol over hydroxyapatite affected by Ca/P ratio of catalyst. Journal of Catalysis 259 (2008) 183–189.

83 Huinan Liu, Hilal Yazici, Celaletdin Ergun, Thomas J. Webster, Hakan Bermek, An in vitro evaluation of the Ca/P ratio for the cytocompatibility of nano-to-micron particulate calcium phosphates for bone regeneration. Acta Biomaterialia 4 (2008) 1472–1479.

84 Y.M. Park, S.C. Ryu, S.Y. Yoon, R. Stevens, H.C. Park, Preparation of whisker-shaped hydroxyapatite/ ¯ -tricalcium phosphate composite. Materials Chemistry and Physics 109 (2008) 440–447.

85 Sabina Beranic Klopcic, Janez Kovac, Tomaz Kosmac, Apatite-forming ability of alumina and zirconia ceramics in a supersaturated Ca/P solution. Biomolecular Engineering 24 (2007) 467–471

86 Standard Reference Material 2910 - Calcium Hydroxyapatite. National Institute of standards e technology. 01 de julho de 2003.

87 Asli Secilmis, Aslihan Usumez, Serdar Usumez, Gizem Berk. Evaluation of mineral content of enamel prepared by erbium, chromium:yttrium–scandium–gallium–garnet laser. Lasers Med Sci, march 2009.

88 Panda, R.N., Hsieh, M.F., Chung, R.J., T.S., FTIR, XRD, SEM and solid state NMR investigations of carbonate-containing hydroxyapatite nano-particles synthesized by hydroxide-gel technique. Journal of Physics and Chemistry of Solids. 64:193-199 (2003).

89 Manso-Silván, M., Langlet, M., Jimenez, C., Fernandez, M., Martinez-Duart, J.M., Calcium phosphate coatings prepared by aerosol-gel. Journal of the European Ceramic Society, 23:243-246 (2003).

90 Tas, A.C., Synthesis of biomimetic Ca-hydroxyapatite powders at 37^{o} C in synthetic body fluids. Biomaterials. 21:1429-1438 (2000).

91 Ooi, C.Y., M. Hamdi, Ramesh, S., Properties of hydroxyapatite produced by annealing of bovine bone. Ceramics International. 33:1171-1177 (2007).

92 Wang, T., Dorner-Reisel, A., Muller, E., Thermogravimetric and thermokinetic investigation of the dehydroxylation of a commercial hydroxyapatite powder. Journal of the European Ceramic Society 24 (4): 693-698, 2004.

93 Liao, C.J., Lin, Feng0Huei, Chen, K., Sun, J., Thermal decomposition and reconstitution of hydroxyapatite in air atmosphere. Biomaterials, 20: 1807-1813 (1999).

94 Gross, K.A., Gross, V., Berndt, C.C., Thermal Analysis of Amorphous Phases in Hydroxyapatite Coatings. J.Am.Ceram.Soc., 81(1):106-112 (1998).