



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro de Tecnologia e Ciências
Instituto de Física

Marcos Vinicius Colaço Gonçalves

**Aplicação da técnica de difração de raios X usando luz
síncrotron para caracterização de esmalte dentário
humano fluorótico e de controle**

Rio de Janeiro

2010

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

Marcos Vinicius Colaço Gonçalves

**Aplicação da técnica de difração de raios X usando luz síncrotron
para caracterização de esmalte dentário humano fluorótico e de
controle**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Física, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada / Física Médica.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Regina Cely Barroso Rodrigues

Rio de Janeiro

2010

Marcos Vinicius Colaço Gonçalves

**Aplicação da técnica de difração de raios X usando luz síncrotron
para caracterização de esmalte dentário humano fluorótico e de
controle**

Dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós Graduação em Física, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de Concentração: Física da Matéria Condensada / Física Médica.

Aprovada em: _____

Banca Examinadora:

Prof^a. Dr^a. Regina Cely Barroso Rodrigues (Orientadora)
Instituto de Física - UERJ

Prof. Dr. Pedro Von Ranke Perlingeiro
Instituto de Física - UERJ

Prof. Dr. Roosevelt Droppa Jr.
Instituto de Física - UFABC

Rio de Janeiro

2010

Dedico este trabalho às duas mulheres mais importantes da minha vida: MARCIA e DANIELE, que de formas diferentes, mas com muito carinho e amor contribuem de forma incomensurável na minha vida.

AGRADECIMENTOS

À minha família sempre! Minha mãe professora de saúde frágil, mas muito dedicada às crianças, às obrigações profissionais e familiares; ao meu pai, melhor motorista que conheço que nunca entendeu muito bem porque física (acho que nem eu!); ao Gustavo que saiu do computador todas as vezes que precisei usar.

À pessoa que menos gosta de acordar cedo que conheço, Dani, já agradeceria de qualquer forma pelo companheirismo, amizade e carinho de 7 anos. Além disso, teve paciência e participou de forma ativa me ajudando na organização do trabalho, já que meu fraco é organização. Menina, te amo!

Agradeço às minhas tias, em ordem alfabética, para evitar ciúmes: aos cafés e conversas da tarde com a tia Miriam; mesmo eu distante por causa do tempo, a minha madrinha (tia Nalva), quem sei que posso contar a todo o momento e tia Suely que me ajudou no início da caminhada na graduação. No patamar de tia apesar de eu chamar de dona Rita, que permite as hospedagens e sei que gosta muito de mim, o melhor genro que ela poderia arrumar. Também ao Paulo e Genilda, que com muita hospitalidade e carinho, concedem hospedagem quando a mente precisa de um frescor, eu fujo para longe (Bom Jesus – RJ).

Agradeço à Regina pelo tempo investido, pela amizade, paciência (e precisa mesmo!), por algumas "chamadas" de atenção e pela confiança no desenvolvimento do trabalho, apesar de às vezes ficar enrolado no desenvolvimento do mesmo. Por mostrar os pontos bons e chatos de fazer ciências.

Ao Roosevelt, que na época das minhas medidas no LNLS, era o físico da linha XRD1. Sem ele seria medir tantas amostras. Participou de forma ativa nas medições e não arrancou minha cabeça quando quase queimei o detector da linha

Agradeço aos amigos desde sempre que estão próximos: Anderson "Paracambi", Maricá (Bruno), Presto (Daniel). E também aos amigos de sempre que estão um pouco distantes: Vanessa, Edivaldo, Mariana. Os novos amigos feitos a partir do mestrado que sei que vou levar: Paulo, Ângelo (vários cafés); Marcelo que apesar de chato é gente boa; Rafael "Mexicano" (não me esquecendo da Paty) que viraram amigo do dia-a-dia. Os novos amigos de laboratório: Fanny e Christiano pelos bate papos de almoço.

Não dá para esquecer os agradecimentos ao pessoal da secretaria: Rogério, Isabel e Laurimar que cobravam os documentos (senão eu teria perdido a

matrículas, congressos, etc.) Agradeço aos bons papos de almoço e café com os professores: Tito, Mota, Victor Lemes (cão infiel) e Soares (o menos assíduo).

Agradecer a todos que não foram citados, mas que contribuíram mesmo que de forma singela, seja em um café, em um bate papo informal que distrai a mente, preparando para voltar ao trabalho.

*"Viva como se fosse morrer amanhã.
Aprenda como se fosse viver para
sempre."*

Mahatma Ghandi

*"A vantagem de ter péssima
memória é divertir-se muitas vezes
com as mesmas coisas boas como
se fosse a primeira vez."*

Friedrich Nietzsche

RESUMO

Com a introdução do flúor como o principal agente anticariogênico e, talvez, um aumento do flúor na nossa cadeia alimentar, a fluorose dentária tornou-se um problema mundial. Os mecanismos que conduzem à formação do esmalte fluorótico são desconhecidos, mas devem envolver modificações nas reações físico-químicas básicas de desmineralização e remineralização do esmalte dentário. O aumento da quantidade de flúor no cristal apatita resulta no aumento dos parâmetros de rede. O objetivo deste trabalho é caracterizar o esmalte dentário humano saudável e fluorótico usando difração de raios X com luz síncrotron. Todos os perfis de espalhamento foram medidos na linha de difração de raios X (XRD1) do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, Campinas. Os experimentos foram realizados usando amostras em pó e em lâminas polidas. As amostras em pó foram analisadas a fim de obter a caracterização do esmalte dentário saudável. As lâminas foram analisadas em áreas do esmalte específicas identificadas como fluoróticas. Todos os perfis foram comparados com amostras de esmalte de controle e também com a literatura. A evidente similaridade entre os perfis de difração mostraram a analogia entre as estruturas do esmalte dentário e a hidroxiapatita padrão. Fica evidente que os perfis de difração do esmalte dentário das amostras em lâmina são diferentes daqueles obtidos para o esmalte em pó. As diferenças encontradas incluem variação na cristalinidade e orientação preferencial. Os valores encontrados para as distâncias interplanares para o esmalte de controle e fluorótico das amostras em lâmina não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Isto pode ser explicado pelo fato que a hidroxiapatita e a fluorapatita formam cristais com a mesma estrutura hexagonal, mesmo grupo de simetria e têm parâmetros de rede muito próximos, os quais a habilidade do sistema não foi suficiente para resolver. Finalmente, este trabalho mostra que a difração de raios X usando radiação síncrotron é uma técnica poderosa para o estudo da cristalografia e microestrutura do esmalte dentário e, ainda, pode ser igualmente aplicada no estudo de outros tecidos biológicos duros e de biomateriais sintéticos.

ABSTRACT

With the introduction of fluoride as the main anticaries agent used in preventive dentistry, and perhaps an increase in fluoride in our food chain, dental fluorosis has become an increasing world-wide problem. The mechanisms that conduct the formation of fluorotic enamel are unknown, but should involve modifications in the basic physical-chemistry reactions of demineralisation and remineralisation of the enamel of the teeth. The increase of the amount of fluoride inside of the apatite will result in gradual increase of the lattice parameters. The aim of this work is to characterize the healthy and fluorotic enamel in human tooth using technique Synchrotron X-ray diffraction. All the scattering profile measurements were carried out at the X-ray diffraction beamline (XRD1) at the National Synchrotron Light Laboratory - LNLS, Campinas. X-ray diffraction experiments were performed both in powder samples and polished surfaces. The powder samples were analyzed to obtain the characterization of typical pattern healthy enamel. The polished surfaces were analyzed in specific areas that have been identified as fluorotic ones. X-ray diffraction data were obtained for all samples and these data were compared with the control samples and also with the literature data. The evident similarities of the diffraction patterns point out the analogy between the structures of the human enamel and standard hydroxyapatite (HAp). According to our analysis, it is clear that the X-ray diffractogram for powder enamel for enamel in the flat samples are different. The differences found include varied crystallinity and crystal preferred orientation. The values found for the interplanar distances for the control and fluorotic enamel in the flat samples revealed no significant statistical differences. It can be explained because of hydroxyapatite and fluoapatite have the same hexagonal structures and lattice parameters too close, which the ability of the system cannot resolve. Finally, we have shown through this work that synchrotron X-ray diffraction is a powerful technique in the study of the crystallography and microstructure of dental enamel and it could be equally successful in the study of other biological hard tissues and in the study of synthetic biomaterials.

ÍNDICE

1	Introdução	1
2	Fundamentação Teórica	6
2.1	Interação da Radiação com a matéria.....	6
2.1.1	Efeito fotoelétrico.....	6
2.1.2	Efeito Compton.....	7
2.1.3	Espalhamento coerente.....	9
2.2	Geometria de Cristais.....	13
2.2.1	Rede Cristalina.....	13
2.2.2	Sistemas cristalinos.....	15
2.2.3	Índices de Miller	18
2.2.4	As Equações de Laue e a Rede Recíproca.....	19
2.3	Difração de Raios X.....	22
2.3.1	Breve História.....	22
2.3.2	Lei de Bragg	24
2.4	Intensidade do feixe difratado	26
2.4.1	Espalhamento por um elétron	26
2.4.2	Fator de Espalhamento Atômico e Fator de Estrutura	30
2.4.3	Intensidade do Pico: Teoria cinemática de cristais ideais.	32
2.4.4	Largura do Pico de Difração.....	35
2.5	Luz Síncrotron	40
2.5.1	Características gerais.....	40
2.5.2	Produção da Luz Síncrotron.....	41
2.6	Estrutura dentária.....	45
2.6.1	Características	45
2.6.2	Fluorose	48
3	Metodologia	53

3.1	Linha XRD1	53
3.1.1	Características da linha	53
3.1.2	Componentes Ópticos: Espelho e Monocromador	53
3.1.3	Fendas	55
3.2	Sistema de Detecção	56
3.3	Amostras	57
3.3.1	Obtenção das amostras para o pó	57
3.3.2	Preparação das amostras em pó	57
3.3.3	Obtenção das amostras para lâmina.....	57
3.3.4	Preparação das lâminas.....	58
5	Resultados e discussão	59
5.1	Amostras em pó	59
5.2	Amostras em lâminas.....	66
5.2.1	Esmalte de controle.....	66
5.2.2	Esmalte Fluorótico.....	72
6	Conclusão	78
7	Referências bibliográficas	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Espalhamento Compton.....	7
Figura 2: Modelos de vetor campo elétrico e e vetor propagação k para o espalhamento de raio-X para radiação polarizada (a) e não-polarizada (b) (CESAREO, 1992).....	10
Figura 3: Diferença de caminhos no espalhamento.	12
Figura 4: Rede de pontos.....	14
Figura 5: Célula unitária.	15
Figura 6: Células unitárias dos arranjos cristalinos de Bravais.	17
Figura 7: Plano designado pelo índice de Miller.....	18
Figura 8: Índices de Miller pra planos de uma rede qualquer.....	19
Figura 9: Representação da difração por uma rede unidimensional e bidimensional.	20
Figura 10: Representação da diferença entre o feixe incidente e o feixe difratado...	20
Figura 11: Efeito da diferença de caminho na fase de uma onda	23
Figura 12: Feixes difratados numa rede bidimensional.	24
Figura 13: Espalhamento de uma onda por um elétron (ZACHARIASEN, 1967).....	26
Figura 14: Difração em um cristal ideal.....	33
Figura 15: Geometria de espalhamento.	36
Figura 16: Modelo de Scherrer para o calculo do tamanho da partícula.	38
Figura 17: Esquema da estrutura de um dente. Fonte: http://www.soscorpo.com.br/anatomia/dente_raiz.gif	46
Figura 18: Paciente de Venâncio Aires (RS). Fluorose severa. Foto gentilmente cedida pela Cirurgiã-Dentista Claudia Schmidt.	49
Figura 19: Representação esquemática simplificada da linha XRD1 com seus 2 difratômetros (Manual D12A-XRD1. Circulação interna).	54
Figura 20: (a) Fotografia de uma seção de um dente humano terceiro molar (b) Imagem do dente a partir de uma lupa estereoscópica (c) Fotografia feita a partir de um microscópio de polarização utilizando filtro vermelho. As setas indicam as áreas fluoróticas.....	58
Figura 21: Perfis de difração das amostras de esmalte em pó e da HAp padrão (ICSD CIF 99358).....	60

Figura 22: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte dentário em pó. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.	61
Figura 23: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte em pó.	64
Figura 24: Perfis de difração das amostras de esmalte controle em lâminas e da HAp padrão (ICSD CIF 99358).....	67
Figura 25: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte controle em lâmina. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.	68
Figura 26: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte de controle nas amostras em lâmina.....	70
Figura 27: Perfis de difração de esmaltes fluoróticos das amostras em lâminas e da FAp (ICSD CIF 99363).	72
Figura 28: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte fluorótico. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.....	73
Figura 29: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte fluorótico nas amostras em lâmina.	74
Figura 30: Estruturas cristalinas idealizadas da HAP (a) e FAP (b), vistas ao longo do eixo c.	76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Sistemas cristalinos e suas características.	16
Tabela 2: Sistemas cristalinos e as distâncias interplanares correspondentes.	22
Tabela 3: Valores de <i>momentum transferido</i> para cada uma das reflexões do esmalte em pó.	62
Tabela 4: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte em pó.	63
Tabela 5: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras em pó. O tamanho médio do cristalito (\bar{t}) para cada reflexão e o desvio padrão associado também são apresentados.	65
Tabela 6: Valores de <i>momentum transferido</i> para cada uma das reflexões do esmalte controle.	68
Tabela 7: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte controle nas amostras em lâmina.	69
Tabela 8: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito do esmalte de controle para as amostras em lâmina.	71
Tabela 9: Valores de <i>momentum transferido</i> para cada uma das reflexões das amostras fluoróticas em lâmina.	73
Tabela 10: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte fluorótico nas amostras em lâmina.	74
Tabela 11: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras de esmalte fluorótico das amostras em lâmina.	75

1 INTRODUÇÃO

"O que sabemos é uma gota; o que ignoramos é um oceano."

Isaac Newton

O objetivo da pesquisa biomédica com diferentes naturezas de radiação é contribuir para o entendimento da física básica e bioquímica dos sistemas biológicos, o diagnóstico de doenças, o desenvolvimento de técnicas terapêuticas. As limitações dos métodos de imagem clínicos nascem principalmente da insuficiente resolução espacial e do contraste obtido na imagem. Os problemas da radioterapia estão restritos à dose absorvida no tumor e à pequena diferença em resposta entre o tecido saudável e o canceroso. O uso potencial das técnicas de espectrometria de raios X usando radiação síncrotron é fornecer novas soluções para esses problemas.

Na difração de raios X ou espalhamento coerente a baixos ângulos (LAXS – *Low Angle X-Ray Scattering*), o fóton espalhado muda sua direção de incidência mantendo a mesma energia. Materiais amorfos, tais como o tecido humano, apresentam um perfil de difração que é função do *momentum transferido* e depende da estrutura molecular, significando que cada perfil de difração é uma assinatura única de uma estrutura molecular específica. Isto é consequência da interferência construtiva dos fótons e está relacionado às forças intermoleculares e interatômicas dentro do material (HARDING *et al*, 1987; KOSANETZKY *et al*, 1987; LECLAIR, 1998; SPELLER, 1999; BARROSO *et al*, 2001; JOHNS & WISMAYER, 2004; THEODORAKOU & FARQUHARSON, 2008).

Nas últimas décadas, muitos autores têm realizado medidas de perfis de espalhamento de amostras biológicas diversas. Muitos desses estudos se concentravam no câncer de mama porque a detecção de pequenas lesões é difícil com a mamografia convencional devido ao fato que as propriedades de atenuação entre tecidos de mama saudável e doente são muito similares (JOHNS & YAFFE, 1987; EVANS *et al*, 1991; KIDANE *et al*, 1999; LEWIS *et al*, 2000; POLETTI *et al*, 2002; RYAN & FARQUHARSON, 2004; CASTRO *et al*, 2004; CASTRO *et al*, 2005; LECLAIR *et al*, 2006); RYAN & FARQUHARSON, 2007; CONCEIÇÃO *et al*, 2010). Outros autores têm usado o espalhamento coerente de raios X na caracterização de outros tecidos moles (CASTRO *et al*, 2005; MEEK & BOOTE, 2009;

THEODORAKOU & FARQUHARSON, 2009; BRADLEY *et al*, 2010) e sangue (ELSCHEMEY *et al*, 1999; DESOUKY *et al*, 2001; ELSCHEMEY *et al*, 2003; PINTO *et al*, 2009; DESOUKY *et al*, 2009; ELSCHEMEY *et al*, 2010). Os perfis de espalhamento encontrados para esses tecidos apresentam dois picos largos na região de baixo *momentum* transferido, que são característicos da estrutura molecular dos materiais.

A natureza cristalina de tecidos duros mineralizados do corpo humano também tem sido investigada usando difração de raios X, tais como: tecido ósseo (WESTMORE *et al*, 1996; FARQUHARSON *et al*, 1997; ALLDAY & FARQUHARSON, 2001; HUSSEIN *et al*, 2004; CONNOR *et al*, 2006; BATCHELAR *et al*, 2006; BARROSO *et al*, 2007; LIMA *et al*, 2007, STOCK *et al*, 2008), cálculos renais (Sutor *et al*, 1968; DAWSON *et al*, 1996; BATCHELAR *et al*, 2002; DAVIDSON *et al*, 2005; DAVIDSON *et al*, 2006; BHATT & PAUL, 2008) e dentes (YOUNG *et al*, 1980; HIROTA *et al*, 1982; WILSON *et al*, 1999; RODRIGUEZ-LORENZO *et al*, 2003; CHAKRABORTY *et al*, 2006; AL-JAWAD *et al*, 2007; MOREIRA *et al*, 2007; XUE *et al*, 2008, YAGI *et al*, 2009)

Durante os últimos anos diversos laboratórios de luz síncrotron desenvolveram linhas de luz dedicadas às aplicações médicas (TAKEDA *et al*, 1998, ARFELLI *et al*, 2000, AKSIROV *et al*, 2001, THOMLINSON *et al*, 2004, LEWIS, 2005, ABRAMI *et al*, 2005). Essas linhas fazem uso não somente das excelentes características da fonte (alto fluxo de fótons sob uma faixa de energia até 50 keV ou maior, o feixe possui uma alta colimação natural e um alto grau de coerência no espaço e tempo), mas também do fato que a alta intensidade da radiação síncrotron RS permite selecionar e ajustar feixes de fótons monocromáticos com uma largura (*bandwidth*) de energia muito estreita. Estas características em combinação com a ótica sofisticada fazem as fontes de radiação síncrotron (RS) apropriadas para aplicações médicas (THOMLINSON, 1992, LEWIS, 1997, BARROSO *et al*, 2000, BARROSO *et al*, 2001, THOMLINSON, 2002, SUORTTI & THOMLINSON, 2003, MARGARITONDO *et al*, 2004, THOMLINSON *et al*, 2005).

A disponibilidade de uma fonte intensa e altamente colimada de radiação síncrotron no Brasil é oferecida pelo Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS) em Campinas, SP. A utilização dessa fonte torna possível o estudo das propriedades de espalhamento de diferentes materiais dentro da área biomédica. A potencial utilização do LNLS para aplicação biomédica da técnica de difração de

raios X foi estudada por BARROSO *et al* (2000). Os perfis de espalhamento obtidos por nosso grupo mostraram que se obteve sucesso na proposta de caracterização das amostras biológicas estudadas (BARROSO *et al*, 2001; CASTRO *et al*, 2004; CASTRO *et al*, 2005a; CASTRO *et al*, 2005b; BARROSO *et al*, 2007; LIMA *et al*, 2007; PINTO *et al*, 2008; PINTO *et al*, 2009). O objetivo deste trabalho é a aplicação da técnica de difração de raios X usando RS para caracterização do esmalte dentário humano. Além de esmalte de controle, esmaltes que sofrem com a fluorose também serão estudados.

Dentes, como outros biomateriais, são essencialmente compostos orgânicos/inorgânicos com propriedades de resistência aos danos e força. O dente é dividido basicamente em três partes: esmalte dentina e polpa. O esmalte dentário é o mais mineralizada e mais duro tecido biológico. É composto de aproximadamente 96% de mineral, 3% de água e 1% de matéria orgânica por peso. O constituinte principal da parte mineral é a hidroxiapatita (HAp) que tem a forma $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. Esse elevado conteúdo mineral garante que o dente seja o mais duro material do corpo humano. O esmalte é a estrutura externa que envolve a coroa dentária. É quase totalmente mineralizada com cristaltos de HAp altamente organizados, tornando-se mecanicamente rígido e altamente resistente ao desgaste (LOW *et al*, 2008). Apatitas biológicas são modificadas pela presença de outros íons minerais tais como: Hidróxido (OH^-), Fluoreto (F^-), e Cloreto (Cl^-) que influenciam a reatividade e estabilidade das bioapatitas naturais, incluindo mudanças nas suas microestruturas (LEGEROS *et al*, 1967; YOUNG *et al*, 1974). O flúor interfere no processo de maturação, reagindo com a estrutura do esmalte, e precipitando-se com outros minerais, formando assim a fluorapatita (FAp), mais estável e mais resistente à corrosão ácida que a HAp. Esse é princípio do uso de aplicação tópica ou sistêmica de flúor para prevenção e diminuição do risco à cárie dentária. Porém, quando em excesso durante a fase formativa do esmalte, particularmente durante a fase de maturação, o flúor leva à fluorose, uma condição caracterizada por defeitos estéticos e funcionais nos dentes (NELSON *et al*, 1984).

A fluorose é um distúrbio no desenvolvimento dentário causado pela presença excessiva e/ou crônica de fluoreto durante seu período formativo. Os fluoretos têm sido largamente utilizados em odontologia como agente de controle da cárie dentária desde a década de 40, nos Estados Unidos, e desde a década de 50, no Brasil. As múltiplas fontes de ingestão de água, o uso de formulações infantis fluoretadas e

tabletes com fluoreto somam-se, trazendo um aumento da prevalência de fluorose em todo o mundo. As divergências na identificação de uma faixa etária de maior risco à fluorose devem-se as dificuldades de estudos bem controlados em populações, limitações no monitoramento das fases de secreção e maturação do esmalte humano, diferenças nos períodos de tempo em que os dentes estão se formando e às muitas variáveis individuais que interferem na manifestação clínica da fluorose. (VIEIRA *et al*, 2003; ROBINSON *et al*, 2004; IJIMA *et al*, 2005; CHEN *et al*, 2006; YAMAZAKI *et al*, 2007; TANIMOTO *et al*, 2008).

A fluorose é caracterizada microscopicamente como uma hipomineralização subsuperficial do esmalte causada por uma exposição crônica a altos níveis de flúor durante o desenvolvimento do dente. O flúor aumenta a taxa de precipitação dos cristais, formando fluorapatita ao invés de HAp (AOBA 1997; AOBA & FEJERSKOV 2002). Alguns autores (FEJERSKOV *et al*, 1977; SATO *et al*, 1996) tem mostrado que a aceleração da mineralização do esmalte causa uma mineralização na parte externa do esmalte, retendo as proteínas no esmalte e lesionando a subsuperfície hipomineralizada que, microscopicamente se assemelham as lesões brancas de cáries. Ainda é desconhecido o mecanismo de fluorose no esmalte. É bem estabelecido que a retenção de proteínas cause problemas no crescimento dos cristais, alterando a cristalinidade do esmalte (YANAGISAWA *et al* 1989; AOBA & FEJERSKOV 2002). Recentes estudos também têm revelado significativo aumento da prevalência de fluorose no dente. O aumento coincidiu com a disponibilidade difundida de flúor, tal como pastas fluoretadas, suplementos as base de flúor e aplicações com flúor em consultórios dentários (AL-JAWADA *et al*, 2007). Além disso, existem outros fatores de risco para fluorose tais como adição de flúor na água e fórmulas infantis. O flúor induz mudanças moleculares ou estruturais no esmalte caracterizado por aparecimento alterado do dente que varia de linhas brancas boas a descaroçar ou manchar de esmalte (WRIGHT *et al*, 1996).

Neste trabalho, as análises por difração de raios X foram realizadas na linha de D12A-XRD1 do Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, através da aprovação das propostas número: 7150 e 8167, para as quais foram concedidos um total de 10 turnos de 24 horas. As amostras estudadas foram divididas em dois grupos: amostras em pó e em lâmina. O primeiro grupo consistia de esmalte dentário humano pulverizado obtido a partir de cinco dentes terceiro molares considerados como de controle que foram coletados na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo. O

segundo grupo consistia de sete terceiro molares não erupcionados com a patologia fluorose diagnosticada, sem lesões causadas por cáries, coletados na cidade de Venâncio Aires, Rio Grande do Sul. Para cada amostra fluorótica foi coletada uma amostra correspondente para ser usada como controle. Todas as amostras utilizadas foram obtidas através da colaboração com a Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.

No próximo capítulo, serão discutidos sucintamente alguns conceitos físicos e uma breve descrição da anatomia dentária. No capítulo 3 será apresentada a metodologia utilizada para obtenção dos perfis de difração e da obtenção e construção das amostras. Além disso, as características da instrumentação utilização. Os resultados obtidos são apresentados e discutidos no capítulo 4. As conclusões estão no capítulo 5.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

"Se queres prever o futuro, estuda o passado."

Confúcio

Neste capítulo apresentam-se, de maneira sucinta, os conceitos físicos necessários para o desenvolvimento do presente trabalho. Será feita breve discussão das interações da radiação com a matéria. Três efeitos são importantes quando um feixe monoenergético de fótons na faixa de energia de 10 a 500 keV é atenuado na matéria: espalhamento elástico (Rayleigh) e inelástico (Compton) e efeito fotoelétrico. O espalhamento é o ponto de interesse deste trabalho por isso, o efeito fotoelétrico será discutido mais resumidamente que os outros efeitos. Também será discutida a produção da luz síncrotron e as vantagens em utilizá-la para caracterização de materiais.

2.1 Interação da Radiação com a matéria

2.1.1 Efeito fotoelétrico

Quando há incidência de radiação sobre algum tipo de qualquer material, essa radiação interage de diversas maneiras com os átomos constituintes. Como se sabe a natureza da radiação eletromagnética é dual de forma que ocorrem efeitos que são decorrentes da natureza corpuscular e da natureza ondulatória.

Os fenômenos efeito Compton e efeito fotoelétrico são característicos da interação corpuscular da radiação com a matéria. O efeito fotoelétrico foi observado pela primeira vez em 1887 por Heinrich Hertz, onde ele notou que uma faísca saltaria mais facilmente entre duas esferas eletricamente carregadas quando uma das superfícies estivesse iluminada. Os físicos alemães, Wilhelm Hallwachs e Philipp Lenard, no período 1886-1900, verificaram que quando uma luz monocromática incide em um catodo, não haverá emissão de elétrons a menos que a frequência da luz seja maior um valor limiar. Albert Einstein descreveu o efeito fotoelétrico seguindo a idéia de quantização da luz, ou seja, a luz era formada por partículas denominadas fótons, proposta por Max Planck. Dessa forma Einstein mostrou que a

energia com que o elétron é ejetado ($E_{\text{máx}}$) é a diferença entre a energia do fóton incidente ($h\nu$), onde ν é a frequência do feixe e a energia de ligação do elétron orbital (δ).

$$E_{\text{máx}} = h\nu - \delta \quad (1)$$

O efeito fotoelétrico é predominante para raios X de baixa energia e para elementos de elevado número atômico Z , uma vez a probabilidade de interação é proporcional a Z^n (com n entre 4 e 5, dependendo da região de interação) (Knoll, 2000). Pela descrição detalhada desse fenômeno apresentada em 1905, Einstein ganhou o Prêmio Nobel em Física, em 1921.

2.1.2 Efeito Compton

Muitos experimentos foram realizados seguindo as idéias de Einstein e Planck. Um deles foi o efeito Compton proposto por A. H. Compton em 1923 quando estudava o espalhamento de raios X em materiais. Em seus experimentos ele mostrou que a luz espalhada tinha uma frequência mais baixa do que a incidente, indicando com isto uma perda de energia no processo de espalhamento. Este fenômeno, representado esquematicamente pela figura 1, não pôde ser explicado usando a luz como um fenômeno ondulatório. Compton explicou este fenômeno ao estudar a colisão de elétrons com fótons, aplicando as leis de conservação de energia e momento. (YOUNG & FREEDMAN, 2007)

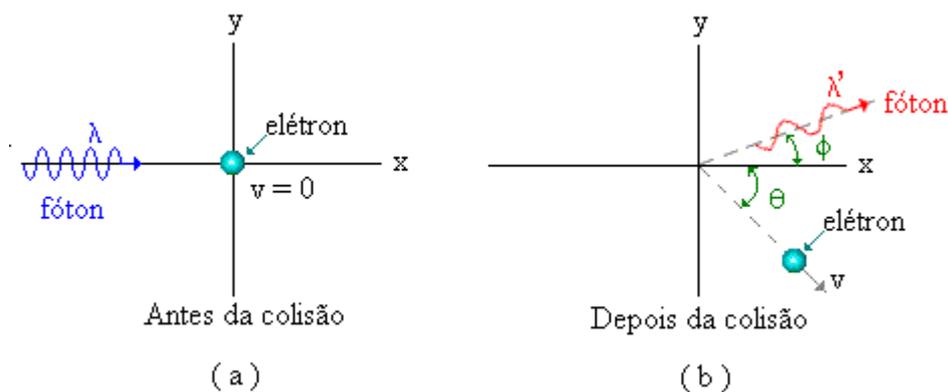


Figura 1: Espalhamento Compton.

Para analisar o efeito Compton esquematicamente representado pela figura 1, é necessário levar em conta que o efeito é relativístico já que o fóton é uma partícula relativística e viaja na velocidade da luz. Então devemos usar as equações da relatividade para a variação da massa, da energia e do momento linear (YOUNG & FREEDMAN, 2007). A massa m de uma dada partícula é dada por:

$$m = \frac{m_0}{\sqrt{1 - v^2/c^2}}$$

sendo a massa de repouso, c a velocidade da luz.

As energias totais, antes e depois, do choque são conservadas dadas respectivamente por

$$\varepsilon_{\text{ANTES}} = hc/\lambda + m_0c^2$$

$$\varepsilon_{\text{DEPOIS}} = hc/\lambda' + m_0c^2.$$

Igualamos as duas expressões elevamos ao quadrado e reescrevemos a expressão como

$$h^2c^2 \left(\frac{1}{\lambda} - \frac{1}{\lambda'} \right)^2 + 2hc^3m_0 \left(\frac{1}{\lambda} - \frac{1}{\lambda'} \right) + m_0^2c^4 = m^2c^4 \quad (2)$$

Neste processo também ocorre conservação de momento. A seguir mostramos as expressões de conservação de momento no eixo x e y :

$$\frac{h}{\lambda} = \frac{h}{\lambda'} \cos \phi + mv \cos \theta \quad (3)$$

$$0 = \frac{h}{\lambda'} \sin \phi + mv \sin \theta \quad (4)$$

Elevando ambas as expressões ao quadrado, somando-as chegamos a seguinte expressão

$$h^2 \left(\frac{1}{\lambda} - \frac{\cos \phi}{\lambda'} \right)^2 + \frac{h^2}{\lambda'^2} \sin^2 \phi = m^2 v^2 \cos^2 \theta + m^2 v^2 \sin^2 \theta = m^2 v^2 \quad (5)$$

Com algumas manipulações algébricas em (2) e (5) chegamos a uma expressão (6) que mostra a variação do comprimento de onda em termo do ângulo de espalhamento do fóton.

$$\lambda' = \lambda + \left(\frac{h}{m_0 c} \right) (1 - \cos \phi) \quad (6)$$

A partir da equação anterior calcula-se a variação da energia do fóton dada por:

$$E' = \frac{E}{1 - \frac{E}{m_0 c^2} (1 - \cos \theta)} \quad (7)$$

Estes efeitos citados são efeitos que podem ocorrer no decorrer do experimento, contudo tem-se interesse neste estudo ao espalhamento coerente, que é uma das interações da radiação com a matéria descrita com a pela natureza ondulatória.

2.1.3 Espalhamento coerente

Pode-se considerar o espalhamento como elástico se não há variação na energia da radiação espalhada ou se essa variação é muito pequena em comparação com a energia da radiação incidente (ROY *et al*, 1993). A discussão a seguir considerará apenas o espalhamento elástico por elétrons atômicos para fótons da ordem de keV: *espalhamento Rayleigh* (se ocorrer espalhamento devido aos elétrons atômicos)

É conveniente considerar inicialmente o processo de espalhamento da radiação eletromagnética por um elétron em repouso, livre de qualquer campo externo e, durante o espalhamento, sujeito apenas ao campo da radiação. Os raios

X e γ são radiações eletromagnéticas e como tais têm vetores campo elétrico associados a elas (CESAREO *et al*, 1992), podendo ser caracterizados pela energia $h\nu$, vetor de onda \vec{k} e vetor polarização \vec{e} . Os vetores de polarização e de propagação são normais entre si (Figura 2). Se um feixe de fótons tem uma orientação \vec{e} resultante, então o feixe é dito ser *polarizado*. Se a orientação puder ser descrita como uma superposição linear dos vetores \vec{e} , o feixe é dito ser *linearmente polarizado*.

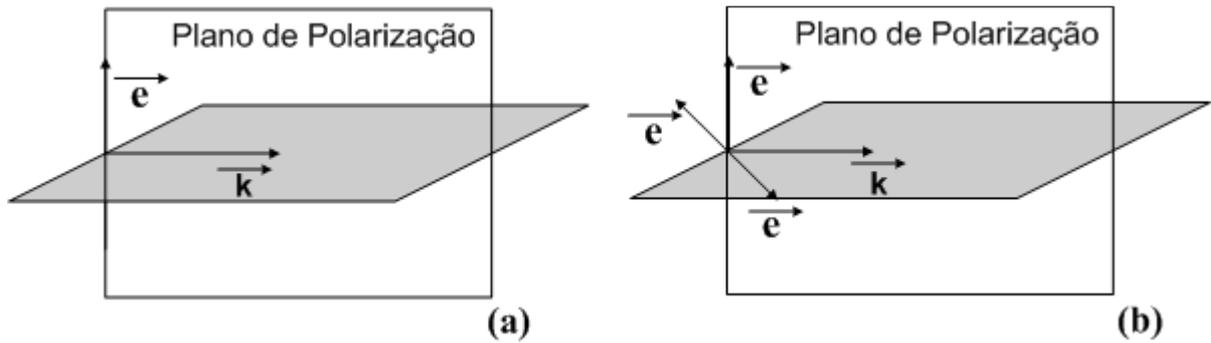


Figura 2: Modelos de vetor campo elétrico \vec{e} e vetor propagação \vec{k} para o espalhamento de raio-X para radiação polarizada (a) e não-polarizada (b) (CESAREO, 1992).

Na mecânica quântica, o *espalhamento elástico* é dado em termos de uma *amplitude de espalhamento* A e de uma seção de choque de espalhamento elástico diferencial, de modo que:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{elástico}} = |A|^2 \quad (8)$$

A primeira aproximação a considerar é o caso do espalhamento elástico de fótons por um elétron livre, o chamado *espalhamento Thomson*. É mais fácil visualizar a geometria de espalhamento como função do ângulo de espalhamento θ que é definido pelo ângulo entre os vetores propagação dos fótons incidente \vec{k} e espalhado \vec{k}' : $\cos \theta = \vec{k} \cdot \vec{k}'$. Como os vetores de propagação e de campo elétrico são perpendiculares entre si então pode-se também escrever: $\cos \theta = \vec{e} \cdot \vec{e}'$.

As amplitudes A^{Th} para o *espalhamento Thomson* são (ROY *et al*, 1993)

$$A_{\parallel}^{\text{Th}} = -r_0 \cos \theta \quad A_{\perp}^{\text{Th}} = -r_0 \quad (9)$$

A seção de choque de espalhamento para um feixe de raios X polarizado (\mathbf{e} e \mathbf{e}' estão em planos perpendiculares) é:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Th } \perp} = r_0^2 \quad (10)$$

Se o plano de espalhamento coincide com o plano da polarização, a seção de choque torna-se:

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Th } \parallel} = r_0^2 \cos^2 \theta \quad (11)$$

Se o feixe de raios X é não polarizado, existe igual probabilidade de qualquer orientação incidente \vec{e} e a seção de choque de espalhamento é a metade da soma de (10) e (11):

$$\left(\frac{d\sigma}{d\Omega}\right)_{\text{Th}} = \frac{1}{2} r_0^2 (1 + \cos^2 \theta) \quad (12)$$

Para o caso do espalhamento elástico, quando um feixe de fótons interage com o átomo, pode ocorrer interferência entre os fótons espalhados pelos diferentes elementos de volume d^3r . Na Figura 3 pode-se observar que a diferença de caminhos percorrida pela radiação para atingir os pontos x_0 e x_1 , tem como consequência uma diferença de fase entre os fótons espalhados dada por: $\vec{k} \cdot \vec{r}$, onde: $|\vec{r}| = x_1 - x_0$ e $\vec{k} = \vec{k}' - \vec{k}_0$ é o momentum transferido para o elétron.

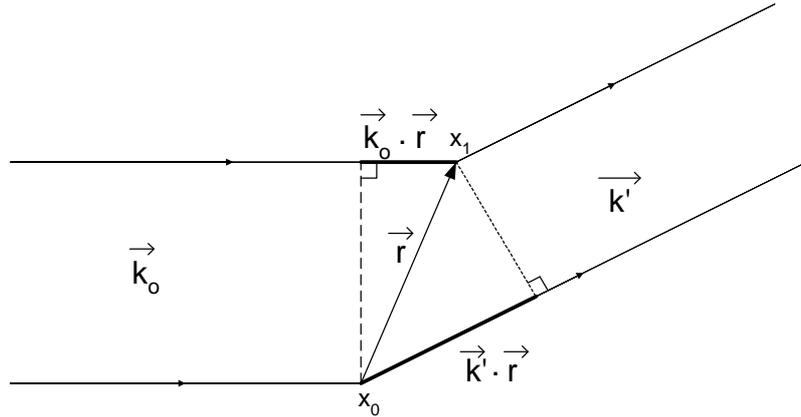


Figura 3: Diferença de caminhos no espalhamento.

Ao tratar um elétron atômico é necessário introduzir-se o conceito quântico de densidade de probabilidade de se encontrar o elétron, dada por:

$$\rho(\vec{r}) = \int_{\text{volume do átomo}} \Psi^*(\vec{r})\Psi(\vec{r})d^3\vec{r} \quad (13)$$

Considerando que cada parte da nuvem eletrônica interage com o fóton como se fosse um elétron livre, a seção de choque Rayleigh será a seção de choque Thomson multiplicada pelo termo de interferência:

$$\frac{d\sigma}{d\Omega} = \frac{1}{2} r_0^2 (1 + \cos^2 \theta) \left[\sum_Z \int_{\text{volume do átomo}} \Psi^*(\vec{r})\Psi(\vec{r})d^3\vec{r} \right] \quad (14)$$

onde o termo entre colchetes é o *fator de interferência* dentro de um único átomo, o chamado *fator de forma*, $F(x)$, do átomo. $F(x)$ é a transformada de Fourier da densidade de carga $\rho(\vec{r})$:

$$F(q) = \int_{\text{volume do átomo}} \rho(\vec{r}) e^{i\vec{k} \cdot \vec{r}} d^3\vec{r} \quad (15)$$

onde q é o argumento do vetor momentum transferido, de modo que $|\vec{k}| = 4\pi q$ e q é a variável definida por:

$$q = \frac{\left(\sin \frac{1}{2} \theta\right)}{\lambda} \quad (16)$$

onde θ é o ângulo de espalhamento e λ é o comprimento de onda da radiação incidente.

Assim, as amplitudes do espalhamento elástico de fótons por elétrons ligados, chamado de *espalhamento Rayleigh*, podem ser obtidas multiplicando-se as amplitudes de Thomson dadas pela equação (9) por $F(x)$:

$$A_{\parallel}^{FF} = -r_0 F(x) \cos \theta \quad A_{\perp}^{FF} = r_0 F(x) \quad (17)$$

Para espalhamento elástico, as amplitudes para espalhamento de diferentes partículas podem ser adicionadas coerentemente, de forma que (17) pode ser interpretada como a modificação da amplitude Thomson para descrever o espalhamento elástico do fóton por cada elemento de volume.

Em cristalografia, geralmente usa-se o conceito de intensidade de radiação em lugar da seção de choque, tal conceito será discutido mais a frente.

2.2 Geometria de Cristais

2.2.1 Rede Cristalina

Antes de discutir propriamente a difração de Raios X é interessante analisar o material de interesse desta técnica.

Um *cristal* pode ser definido como um sólido composto de átomos arranjados em um padrão, que se repete periodicamente em três dimensões. Nem todos os sólidos são *cristalinos* (definidos como cristais), ou seja, não possuem um arranjo regular dos átomos em seu interior. (CULITY, 2001)

A estrutura regular de átomos, em cristais, se arruma dentro de uma estrutura espacial denominada *rede*. A figura 4 mostra uma representação de uma rede de pontos.

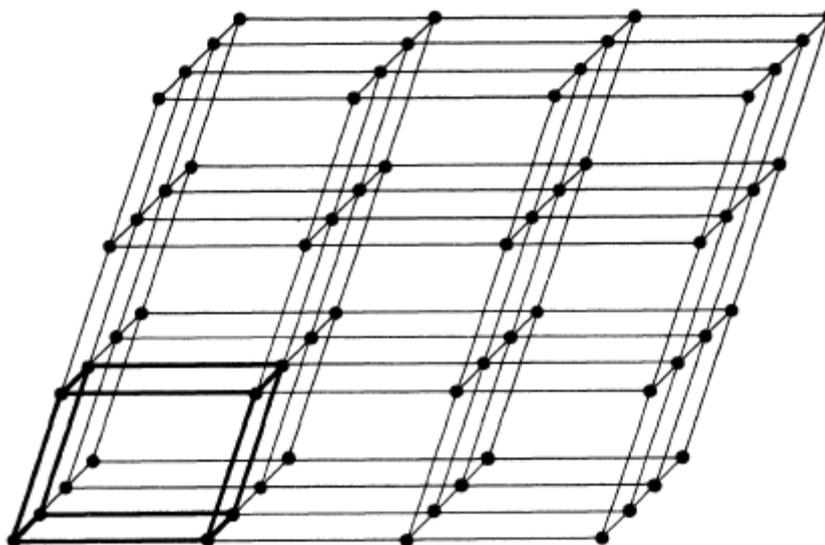


Figura 4: Rede de pontos

Na definição de uma rede imaginemos o espaço dividido em três conjuntos de planos formados por esses pontos, em que cada conjunto os planos são paralelos e igualmente espaçados. Esta divisão espacial forma um conjunto de células que possuem mesma forma, mesmo tamanho e mesma orientação com relação às vizinhas. Uma importante propriedade com relação ao conjunto de pontos é que cada ponto dessa rede possui uma vizinhança idêntica, ou seja, se a rede for olhada de um determinado ponto, a estrutura vista deve ser a mesma se olhada em outro ponto na mesma direção.

Se todas as células formadas forem idênticas podemos descrever todo cristal com relação a uma delas que é denominada como *célula unitária*. A forma e tamanho desta célula podem ser representados por três vetores \vec{a} , \vec{b} e \vec{c} . Esses vetores são conhecidos como eixos cristalográficos da célula (figura 5). A forma mais usual de representação da célula é utilizar os comprimentos dos eixos (a , b , c) e o ângulo entre eles (α , β , γ). Estes comprimentos e ângulos são chamados de *parâmetros de rede*. (CULITY, 2001)

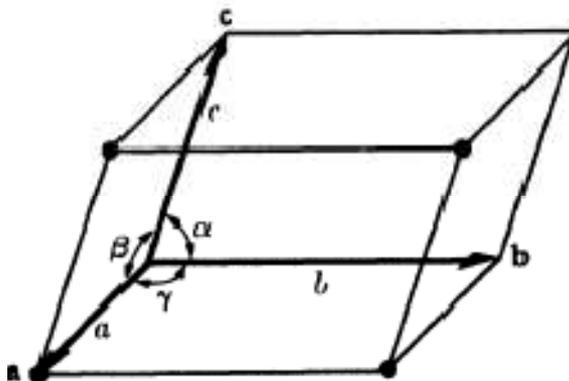


Figura 5: Célula unitária.

Não somente a célula unitária é representada pelos vetores \vec{a} , \vec{b} e \vec{c} . Qualquer ponto da rede pode ser representado por vetores $P\vec{a}$, $Q\vec{b}$ e $R\vec{c}$, onde P , Q e R são números inteiros, uma vez que esta célula se repete periodicamente.

2.2.2 Sistemas cristalinos

Através da definição de célula unitária é possível formas cristais de diferentes formas, dependendo de como se arrumam os planos. Consideremos um sistema em que os ângulos $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$ e os eixos $a = b = c$, esse sistema é conhecido como cúbico. São ao todo sete sistemas cristalinos em que todos os cristais podem ser classificados. Essas classificações são apresentadas na tabela 1.

Tabela 1: Sistemas cristalinos e suas características.

SISTEMA	PARÂMETROS DE REDE
Cúbico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Tetragonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\beta=\gamma=90^\circ$
Romboédrico	$a=b=c$ $\alpha=\beta=\gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a=b \neq c$ $\alpha=\beta=90^\circ; \gamma=120^\circ$
Monoclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha=\gamma=90^\circ \neq \beta$
Triclínico	$a \neq b \neq c$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$

O físico francês Auguste Bravais, especialista em cristalografia, em 1848 mostrou que existem na verdade 14 possibilidades de redes que ficaram conhecidas em sua homenagem como *redes de Bravais*.

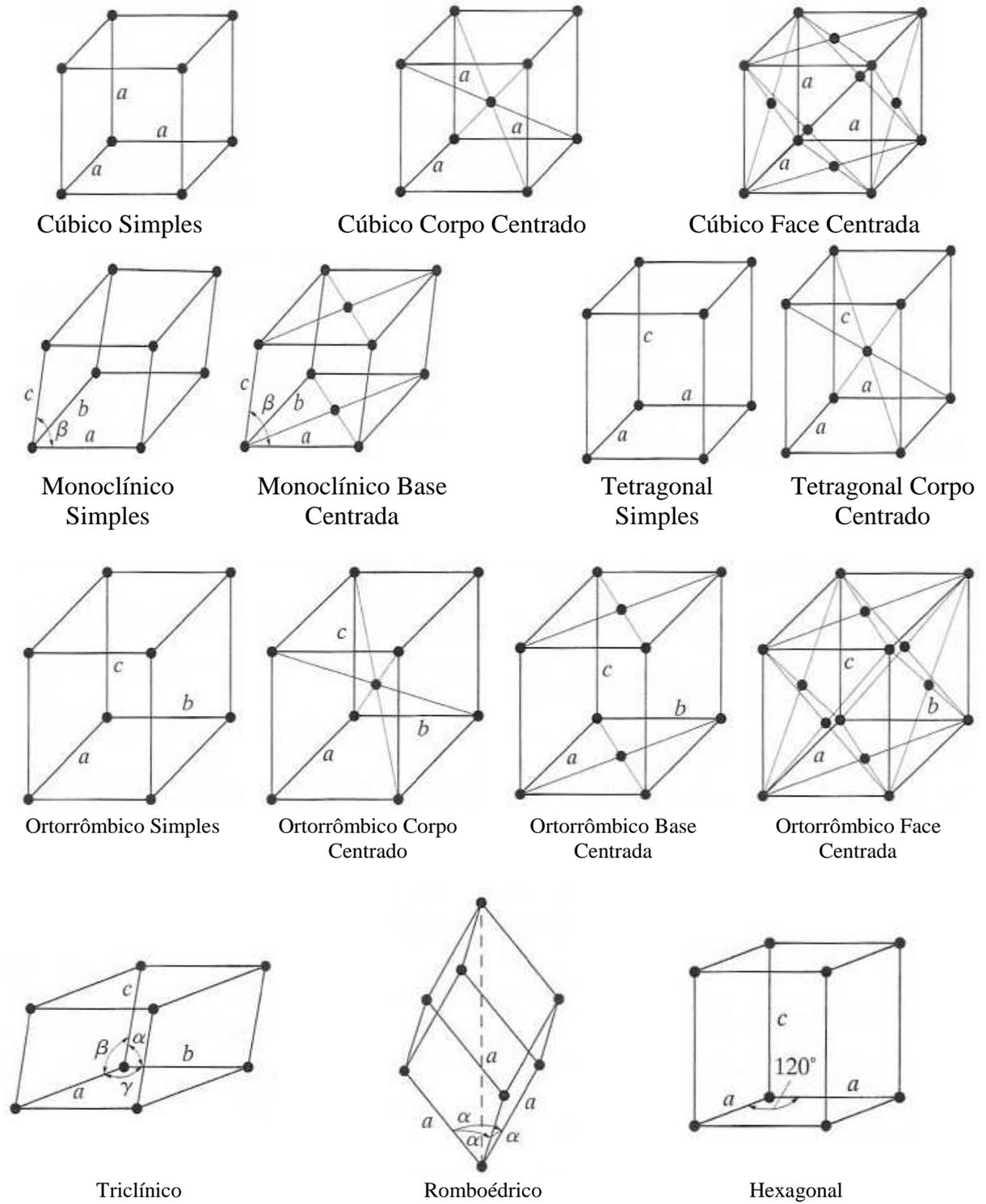


Figura 6: Células unitárias dos arranjos cristalinos de Bravais.

2.2.3 Índices de Miller

A posição de qualquer ponto dentro da célula unitária pode ser representada através dos vetores $x\vec{a}$, $y\vec{b}$ e $z\vec{c}$, onde x , y e z são números fracionários. Os *índices de Miller* são os recíprocos dos valores fracionários onde o eixo é interceptado. Esse simbolismo é para é utilizado para indicar a orientação do plano de forma simples. A figura 7 mostra como determinar os índices de Miller de um plano em uma dada célula. Para determinar o índice verifica-se o ponto onde o plano toca em cada eixo e divide-se pelo tamanho do respectivo eixo. Assim os valores são $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ e 1. A seguir calcula-se o recíproco de cada valor que são 2, $\frac{4}{3}$ e 1. Queremos encontrar valores inteiros que representem esse plano, então devemos multiplicar todos por 3 de forma que fiquemos com os três menores valores inteiros que representem este plano, sendo esses 6, 4, 3, representados por (643). Se for negativo algum desses valores utiliza-se um traço em cima do número negativo para representar este índice.

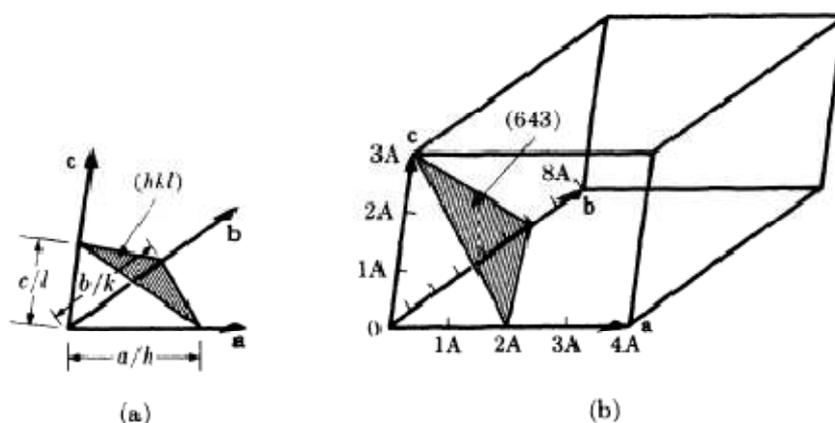


Figura 7: Plano designado pelo índice de Miller.

A figura 8 mostra os índices de Miller para diferentes planos de uma célula qualquer.

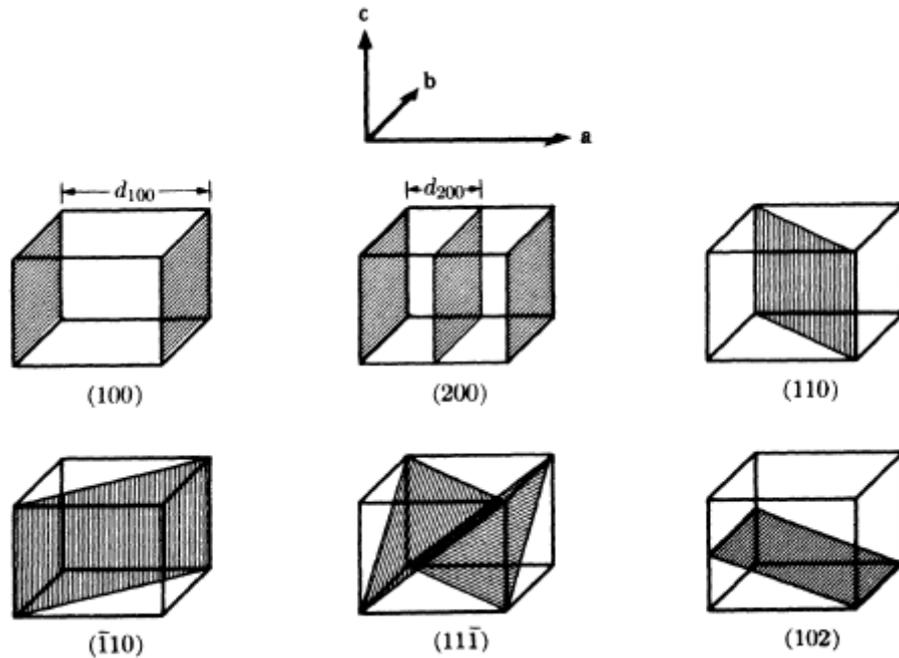


Figura 8: Índices de Miller pra planos de uma rede qualquer

2.2.4 As Equações de Laue e a Rede Recíproca

Quando se fala em difração é necessário entender quais condições são necessárias para que o fenômeno ocorra. Seja uma linha periódica de átomos espaçados de uma distância a , um feixe incidente de raios X dado pelo vetor unitário \vec{S}_0 e um feixe de raios X espalhados pela linha de átomos na direção do vetor unitário \vec{S} (figura 9). A difração ocorre quando a diferença de caminhos dos feixes difratados em diferentes pontos da rede seja igual a um número inteiro do comprimento de onda. (CULITY, 2001)

$$\vec{a} \cdot \vec{S} - \vec{a} \cdot \vec{S}_0 = \vec{a} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) = n\lambda \quad (18)$$

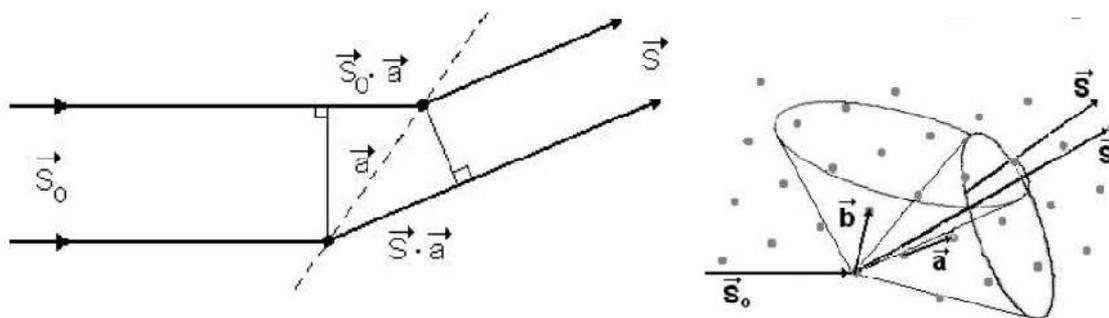


Figura 9: Representação da difração por uma rede unidimensional e bidimensional.

Como para representar uma rede precisamos de três vetores de rede \vec{a} , \vec{b} e \vec{c} , dessa forma faz-se necessário o cumprimento de três equações, que são conhecidas como as três equações de Laue:

$$\begin{aligned}\vec{a} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) &= h\lambda \\ \vec{b} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) &= k\lambda \\ \vec{c} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) &= l\lambda\end{aligned}\quad (19)$$

Naturalmente verifica-se que o comprimento das equações de Laue induz à introdução de um vetor que seja proporcional a diferença entre o feixe incidente e o feixe difratado (Figura 10).

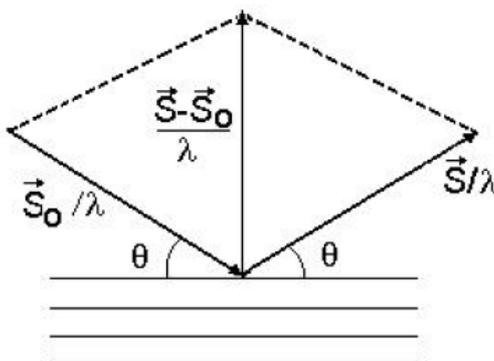


Figura 10: Representação da diferença entre o feixe incidente e o feixe difratado

Esse vetor é representado pelos índices h, k, l e por vetores que são recíprocos dos vetores de rede, sendo assim:

$$\vec{H}_{hkl} = h\vec{b}_1 + k\vec{b}_2 + l\vec{b}_3 = \frac{(\vec{S} - \vec{S}_0)}{\lambda} \quad (20)$$

Para que a notação usual não confunda, façamos $\vec{a} = \vec{a}_1$, $\vec{b} = \vec{a}_2$ e $\vec{c} = \vec{a}_3$. O vetor \vec{H}_{hkl} é construído de forma que $|\vec{H}_{hkl}| = d_{hkl}^{-2}$, onde d_{hkl} é a distância interplanar entre os planos em uma determinada direção hkl. Os vetores que formam \vec{H}_{hkl} são dados por:

$$\begin{aligned} \vec{b}_1 &= \frac{\vec{a}_2 \times \vec{a}_3}{\vec{a}_1(\vec{a}_2 \times \vec{a}_3)} \\ \vec{b}_2 &= \frac{\vec{a}_3 \times \vec{a}_1}{\vec{a}_2(\vec{a}_3 \times \vec{a}_1)} \\ \vec{b}_3 &= \frac{\vec{a}_1 \times \vec{a}_2}{\vec{a}_3(\vec{a}_1 \times \vec{a}_2)} \end{aligned} \quad (21)$$

Através dos conceitos geométricos de cada rede podemos calcular as distâncias interplanar para cada sistema cristalino em termos dos parâmetros de rede, índices de Miller e os ângulos entre os eixos. (CULITY, 2001)

Tabela 2: Sistemas cristalinos e as distâncias interplanares correspondentes.

SISTEMA	DISTÂNCIA INTERPLANAR
Cúbico	$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2}}$
Tetragonal	$d_{hkl} = \frac{a}{\sqrt{h^2 + k^2 + l^2(a^2/c^2)}}$
Ortorrômbico	$\frac{1}{d^2_{hkl}} = \frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2}{b^2} + \frac{l^2}{c^2}$
Hexagonal	$\frac{1}{d^2_{hkl}} = \frac{4}{3} \left(\frac{h^2 + hk + k^2}{a^2} \right) + \frac{l^2}{c^2}$
Monoclínico	$\frac{1}{d^2_{hkl}} = \frac{1}{\sin^2 \beta} \left(\frac{h^2}{a^2} + \frac{k^2 \sin^2 \beta}{b^2} + \frac{l^2}{c^2} - \frac{2hl \cos \beta}{ac} \right)$

2.3 Difração de Raios X

2.3.1 Breve História

Antes do conhecimento sobre estrutura de cristais já eram feitos estudos sobre propriedades químicas e físicas dos materiais, contudo em relação à estrutura interna não se tinha muito conhecimento. Já existiam estudos indicando que raios X eram ondas eletromagnéticas com comprimento de onda entre 1Å a 2Å. Entretanto o fenômeno de difração era conhecido com luz visível. (CULITY, 2001)

Do prévio conhecimento da difração de luz visível o físico alemão Von Laue resolveu esse problema em 1912. Ele propôs que se cristais são compostos de átomos regularmente espaçados e raios X são ondas eletromagnéticas com comprimento de onda da ordem do espaçamento atômico. Muitos experimentos iniciais com sucesso mostraram que cristais difratam raios X, pois além do feixe primário formavam-se marcas na placa fotográfica. Estes experimentos provaram que ao mesmo tempo a natureza ondulatória dos raios X e a periodicidade dos átomos dentro do cristal. Esta descoberta foi de muita importância para o desenvolvimento de muitas áreas científicas.

Dois físicos ingleses, W. H. Bragg e seu filho W. L. Bragg se interessaram pelos trabalhos desenvolvidos anteriormente. Ainda em 1912 o filho conseguiu, com sucesso, analisar os experimentos de Laue e descrever com uma expressão mais simples que a utilizada por Von Laue. Anos mais tarde ele conseguiu resolver as estruturas de NaCl, KCl, KBr e KI. Todos tem estruturas do NaCl, que foi o primeiro a ser resolvido.

O fenômeno de difração é devido basicamente à relação entre fases de duas ou mais ondas. Estar *completamente em fase* quer dizer que num determinado instante, na mesma posição ao longo de uma direção de propagação a frente de onda AA' mostrada na figura 11 tem mesma magnitude e direção do campo elétrico. Agora se supõe que uma das ondas percorre um caminho diferente. (CULITY, 2001)

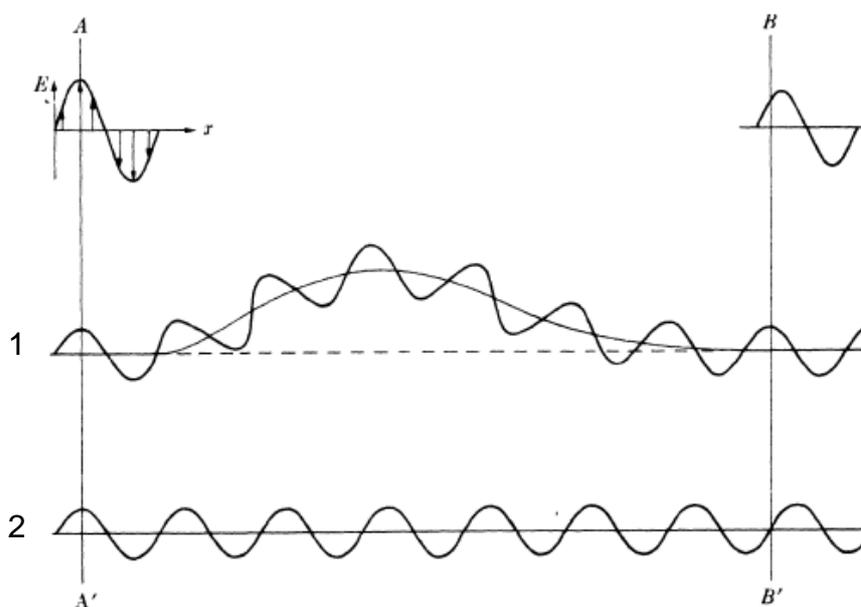


Figura 11: Efeito da diferença de caminho na fase de uma onda

Agora se percebe que após percorrer diferentes caminhos as frentes de onda não estão completamente em fase, ou seja, estão *fora de fase*. Pode-se analisar a figura e verificar que a onda mais acima pode ser construída através da soma de das amplitudes dos raios 1 e 2. Assim concluímos que diferença de caminho causa diferença de fase nas ondas, que por sua vez causa diferença na amplitude. (CULITY, 2001)

2.3.2 Lei de Bragg

Para desenvolver a idéia de Bragg precisamos lembrar duas relações geométricas da óptica. A primeira é que o feixe incidente, a direção normal ao plano de incidência e o feixe difratado são sempre coplanares. O ângulo entre o feixe difratado e o feixe transmitido é sempre 2θ . A difração em geral ocorre quando o comprimento de onda é da mesma ordem da distância entre os pontos espalhadores da radiação (Figura 12).

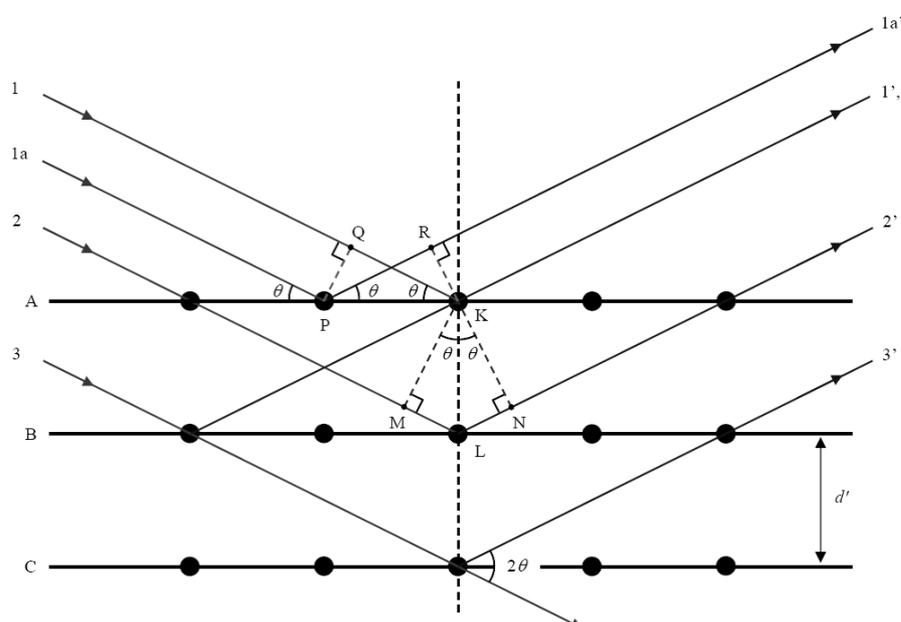


Figura 12: Feixes difratados numa rede bidimensional.

A diferença de caminho entre os raios incidentes 1 e 1a e os raios espalhados 1' e 1a' é dada por:

Isto significa que se os raios incidentes em um plano cristalino estão em fase, os raios espalhados também estão em fase. A diferença de caminho entre os raios incidentes 1 e 2 e os raios espalhados 1' e 2' é dada por:

Para que a diferença de fase entre estes raios seja nula a diferença de caminho dada anteriormente deve ser igual a um múltiplo inteiro de comprimentos de onda:

$$n\lambda = 2d' \sin \theta \quad (22)$$

A equação é conhecida por lei de Bragg. A lei de Bragg pode ser escrita como:

$$\lambda = 2 \frac{d'}{n} \sin \theta \quad (23)$$

Podemos considerar a difração de qualquer ordem como a difração de primeira ordem de um conjunto de planos espaçados de $1/n$ do espaçamento original. Fazendo $d = d'/n$ podemos escrever a lei de Bragg como:

$$\lambda = 2d \sin \theta \quad (24)$$

Como já foi visto existem planos dentro de um cristal com distâncias interplanares distintas. Dessa forma existem diferentes valores de θ onde ocorrem a difração, assim podemos escrever a lei de Bragg como:

$$\lambda = 2d_{hkl} \sin \theta \quad (25)$$

onde hkl são os índices de Miller do plano em que ocorreu a difração.

2.4 Intensidade do feixe difratado

2.4.1 Espalhamento por um elétron

O desenvolvimento para entendimento da formação do pico de difração de raios X é necessário a introdução de um problema clássico desenvolvido por J. J. Thomson.

Seja um elétron de carga e e a massa m mantido na origem por uma força restauradora. Sob esse elétron incide-se um feixe de raios X monocromático que pode ser representado por uma onda plana que descreve o campo elétrico

$$\vec{E} = \vec{E}_0 e^{i\omega_0 t - 2\pi \vec{S}_0 \cdot \vec{r}} \quad (26)$$

onde \vec{E}_0 é o campo elétrico da onda incidente; \vec{S}_0 o vetor de onda incidente; $\omega_0 = 2\pi \nu_0$, sendo ν_0 é a frequência (ZACHARIASEN, 1967).

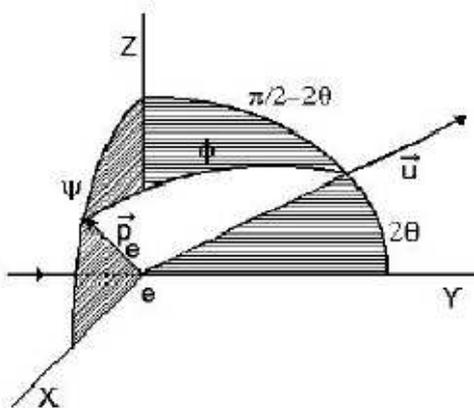


Figura 13: Espalhamento de uma onda por um elétron (ZACHARIASEN, 1967)

Assume-se que a frequência natural do elétron é pequena comparada com a frequência do campo elétrico incidente de raios X. A força atuante no elétron é dada por

$$\vec{F} = -e\vec{E}_0 e^{i\omega_0 t} \quad (27)$$

Utilizamos a segunda lei de Newton para descrever o movimento do elétron

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = -eE_0 e^{i\omega_0 t} \quad (28)$$

onde x é o deslocamento médio do elétron. A solução da equação diferencial é dada por:

$$\vec{x} = \frac{e}{m\omega_0^2} \vec{E}_0 e^{i\omega_0 t} \quad (29)$$

De acordo com a teoria eletromagnética, um oscilador ou dipolo oscilante produz um campo eletromagnético. Da definição temos o momento do dipolo expresso da seguinte maneira (ZACHARIASEN, 1967)

$$-e\vec{x} = \vec{p}_e e^{i\omega_0 t} \quad (30)$$

ou seja,

$$\vec{p}_e = -\frac{e^2}{m\omega_0^2} \vec{E}_0 \quad (31)$$

Deste modo, os campos magnéticos e elétricos produzidos por este dipolo, para grandes distâncias, e quando comparado com o comprimento de onda, são dados por:

$$e^{i\omega t} \vec{H}_e = \vec{u} \times \vec{p}_e \frac{\omega_0^2}{c^2 R} e^{i\omega_0 t - 2\pi i \vec{S} \cdot \vec{R}} \quad (32)$$

$$e^{i\omega t} \vec{E}_e = (\vec{u} \times \vec{p}_e) \times \vec{u} \frac{\omega_0^2}{c^2 R} e^{i\omega_0 t - 2\pi i \vec{S} \cdot \vec{R}} \quad (33)$$

onde $\vec{R} = R\vec{u}$ é a distância entre o vetor dipolo e o ponto de observação, e $\vec{S} = \frac{1}{\lambda} \vec{u}$. Estas equações representam ondas esféricas originadas pelo dipolo. A intensidade média no ponto de observação \vec{R} é dada por (EISBERG, 1961)

$$I_e = \frac{1}{8\pi} |\vec{E}_e|^2 \quad (34)$$

enquanto a intensidade da onda incidente é:

$$I_0 = \frac{1}{8\pi} |\vec{E}_0|^2 \quad (35)$$

Substituindo o vetor de onda incidente e espalhado pelo elétron nas expressões da intensidade, chegamos à seguinte expressão:

$$\left| (\vec{u} \times \vec{p}_e) \times \vec{u} \frac{\omega^2}{c^2 R} e^{i\omega_0 t - 2\pi \vec{s} \cdot \vec{R}} \right|^2 = \left| |\vec{u}| |\vec{p}_e| \sin \phi \frac{\omega^2}{c^2 R} e^{i\omega_0 t - 2\pi \vec{s} \cdot \vec{R}} \right|^2 = |\vec{p}_e|^2 \sin^2 \phi \left(\frac{\omega_0^2}{c^2 R} \right)^2 \quad (36)$$

Da expressão de \vec{p}_e , temos que

$$I_e = \left(\frac{e^2}{mc^2 R} \sin \phi \right)^2 I_0 \quad (37)$$

Se a onda é não polarizada o ângulo ϕ torna-se indeterminado e o termo $\sin^2 \phi$ deve ser trocado pelo seu valor médio; ou seja,

$$\overline{\sin^2 \phi} = 1 - \overline{\cos^2 \phi} = 1 - \overline{\cos^2 \psi} \cos^2 \left(\frac{\pi}{2} - 2\theta \right) = 1 - \frac{1}{2} (1 - \cos^2 (2\theta)) = \frac{1 + \cos^2 (2\theta)}{2}$$

onde 2θ é o ângulo de espalhamento, ou seja, o ângulo entre a direção do feixe incidente e a direção do feixe espalhado. Portanto, a intensidade de espalhamento fica reduzida à seguinte expressão

$$I_e = I_0 \left(\frac{e^2}{mc^2 R} \sin \phi \right)^2 \frac{1 + \cos^2 (2\theta)}{2} \quad (38)$$

Onde $\frac{1 + \cos^2(2\theta)}{2}$ é o fator de polarização da onda espalhada por um elétron. Esta expressão nos mostra que a intensidade de espalhamento por um único elétron é independente da frequência de raios X.

2.4.2 Fator de Espalhamento Atômico e Fator de Estrutura

Podemos chamar de Fator de Espalhamento Atômico a razão entre as amplitudes de espalhamento por um único átomo E_a e pelo elétron isolado E_e :

$$f = \frac{E_a}{E_e} \quad (39)$$

Quando os elétrons espalham em fase o valor máximo de f é o número atômico Z , que corresponde ao número de elétrons do átomo.

A quantidade de carga que contém num dado elemento de volume dV do átomo é

$$dq = \rho(\vec{r})dV \quad (40)$$

Assim, a razão entre a amplitude da onda espalhada por este elemento de volume, dE_a , e a amplitude da onda espalhada por um elétron na mesma direção é a mesma entre as suas cargas

$$df = \frac{dq}{e} = \frac{\rho(\vec{r})dV}{e} \quad (41)$$

Somando sobre toda contribuição de diferentes elementos de volume, é preciso levar em consideração a diferença de caminho em cada ponto do átomo:

$$df = \frac{\rho(\vec{r})}{e} e^{2\pi(\vec{S}-\vec{S}_0)\cdot\vec{r}} dV \quad (42)$$

onde a exponencial representa a relação de fase entre as diferentes partes do átomo. Para calcular o f total basta integrar sobre todo o volume

$$dV = (2\pi r \sin\varphi)(r d\varphi) dr = 2\pi r^2 \sin\varphi d\varphi dr$$

O módulo da diferença entre o feixe incidente e o feixe difratado é dada por

$$|\vec{S}-\vec{S}_0|=2 \operatorname{sen}\theta$$

e o produto escalar da diferença entre os feixes e o vetor que vai da origem a distribuição de cargas é

$$(\vec{S}-\vec{S}_0) \cdot \vec{r} = |\vec{S}-\vec{S}_0| r \cos\varphi = 2 r \operatorname{sen}\theta \cos\varphi$$

Com esse termo conseguimos escrever o fator de espalhamento como

$$f = \frac{1}{e} \int_0^{\infty} \int_0^{\pi} \rho(r) e^{ikr \cos\varphi} 2\pi r^2 \operatorname{sen}\varphi d\varphi dr \quad (43)$$

A integral envolvendo φ é conhecida e dada por

$$\int_0^{\pi} e^{ikr \cos\varphi} \operatorname{sen}\varphi d\varphi = \frac{1}{ikr} [e^{ikr \cos\varphi}]_0^{\pi} = \frac{2}{kr} \frac{e^{ikr} - e^{-ikr}}{2i} = \frac{2 \operatorname{sen}kr}{kr}$$

Logo ficamos com a expressão para o cálculo do fator de espalhamento

$$f = \frac{4\pi}{e} \int_0^{\infty} r^2 \rho(r) \frac{\operatorname{sen}kr}{kr} dr \quad (44)$$

Esta é a expressão utilizada quando a distribuição de carga é esfericamente simétrica e a energia dos raios X não é próxima a que está associada à borda de absorção do átomo.

Quando é analisada a difração de raios X para uma célula unitária devem-se levar em consideração as contribuições de cada um dos átomos que a formam, ou seja, o fator de espalhamento atômico. Faz-se necessário a introdução de um termo que leve em consideração a diferença de fase de uma onda espalhada por um átomo numa posição A e por um átomo numa posição B, para uma reflexão hkl . Seja $\vec{R}_n = u_n \vec{a} + v_n \vec{b} + w_n \vec{c}$ o vetor que localiza os átomos na rede, então:

$$F_{hkl} = \sum_1^N f_n e^{2\pi i(hu_n + kv_n + lw_n)} \quad (45)$$

Dentro da expressão de F_{hkl} , f_n é o fator de espalhamento atômico; a exponencial o termo de diferença de fase; h , k e l ; os índices de Miller; e por fim u_n, v_n, w_n , o coeficientes que multiplicam os vetores da rede.

2.4.3 Intensidade do Pico: Teoria cinemática de cristais ideais.

O conceito de Fator de estrutura é importante, pois é a partir dele que determinamos a intensidade esperada de um determinado pico de difração. Suponha que o feixe de raios X monocromático incidente tenha um comprimento de onda λ e a forma de uma onda plana na origem do cristal (Figura 14). Esta onda atinge o átomo, tocando no final do vetor \vec{R}_m^n , que se desloca de x_1 , tal que o valor do campo elétrico neste ponto é:

$$E_{inc} = E_0 e^{2\pi i \left(\frac{c}{\lambda} t - \frac{1}{\lambda} x_1 \right)} \quad (46)$$

onde E_0 é a amplitude do campo elétrico do feixe incidente

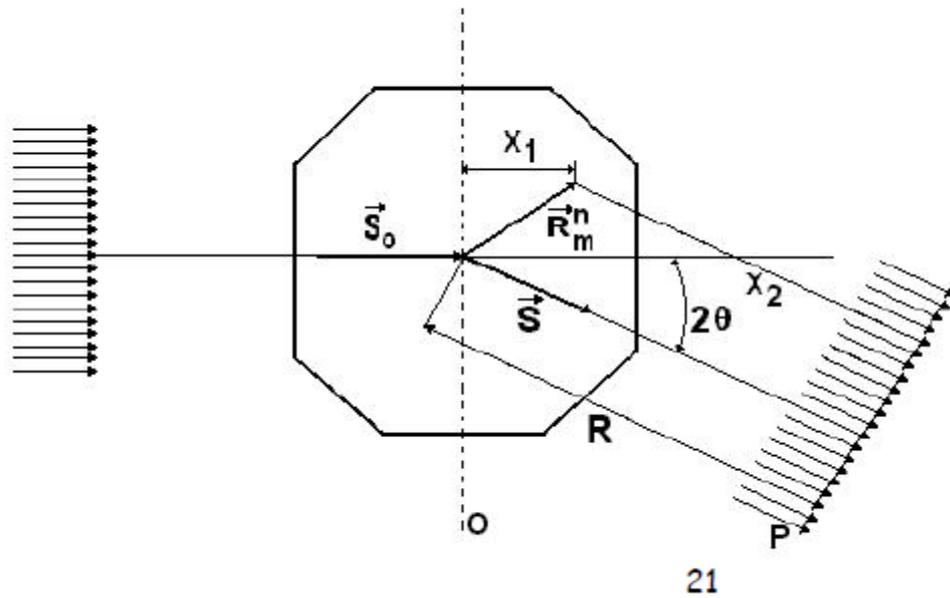


Figura 14: Difração em um cristal ideal

O átomo espalha o campo incidente na direção do vetor \vec{S} , de tal modo que o seu valor, quando atinge o ponto P, a uma distância x_2 do átomo que está sendo considerado é dado por:

$$E_{\text{inc}} = f_n e^2 \frac{E_0}{mc^2 R} e^{2\pi i \left(\frac{c}{\lambda} t - \frac{1}{\lambda} (x_1 + x_2) \right)} \quad (47)$$

onde x_1 , x_2 e $x_1 + x_2$ podem ser obtidos geometricamente

$$\begin{aligned} x_1 &= \vec{R}_m^n \cdot \vec{S}_0 \\ x_2 &= |\vec{R}| - \vec{R}_m^n \cdot \vec{S} \\ x_1 + x_2 &= |\vec{R}| - \vec{R}_m^n \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) \end{aligned} \quad (48)$$

Com isso encontra-se a expressão do campo no ponto P, que é o campo espalhado por cada átomo:

$$E_P = f_n e^2 \frac{E_0}{mc^2 R} e^{2\pi i \left(\frac{c}{\lambda} t - \frac{1}{\lambda} \left(|\vec{R}| - \vec{R}_m^n \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0) \right) \right)} \quad (49)$$

devemos fazer a soma sobre todos os átomos n e então adicioná-los a todas as contribuições da célula no cristal pela soma sobre m_1 , m_2 e m_3 da seguinte forma:

$$E_P = e^2 \frac{E_0}{mc^2 R} \sum_n \sum_{m_1} \sum_{m_2} \sum_{m_3} e^{2\pi i \left(\frac{c}{\lambda} t - \frac{1}{\lambda} (|\vec{R}| - \vec{R}_m^n \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)) \right)} \quad (50)$$

Do somatório em n temos o Fator de Estrutura definido anteriormente dessa forma ficamos com a expressão do campo elétrico:

$$E_P = e^2 \frac{E_0}{mc^2 R} F e^{\frac{2\pi i (ct - R)}{\lambda}} \times \sum_{m_1} e^{\frac{2\pi i}{\lambda} m_1 \vec{a} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} \sum_{m_2} e^{\frac{2\pi i}{\lambda} m_2 \vec{b} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} \sum_{m_3} e^{\frac{2\pi i}{\lambda} m_3 \vec{c} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} \quad (51)$$

Com o modelo de cristal em que $M = M_1 + M_2 + M_3$, e cada uma das somas pode ser escrito como uma série geométrica da seguinte forma

$$\sum_{m=0}^{M-1} ar^m = a + ar + ar^2 + \dots + ar^{M-1} = \frac{ar^M - a}{r - 1}$$

dessa forma o campo elétrico fica

$$E_P = e^2 \frac{E_0}{mc^2 R} F e^{\frac{2\pi i (ct - R)}{\lambda}} \times \frac{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} M_1 \vec{a} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1}{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} \vec{a} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1} \times \frac{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} M_2 \vec{b} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1}{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} \vec{b} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1} \times \frac{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} M_3 \vec{c} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1}{e^{\frac{2\pi i}{\lambda} \vec{c} \cdot (\vec{S} - \vec{S}_0)} - 1} \quad (52)$$

Como a intensidade no ponto P é proporcional ao quadrado da amplitude do campo elétrico

$$I_P = \frac{c}{8\pi} |E_P|^2 \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \right) = \frac{c}{8\pi} E_P \cdot E_P^* \left(\frac{1 + \cos^2 2\theta}{2} \right) \quad (53)$$

e usando a notação

$$\left(\frac{e^{iMx}-1}{e^{ix}-1}\right)\left(\frac{e^{-iMx}-1}{e^{-ix}-1}\right) = \frac{\text{sen}^2 Mx/2}{\text{sen}^2 x/2}$$

Assim temos que

$$I_P = I_e |F|^2 \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot M_1 \vec{a}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot \vec{a}} \times \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot M_1 \vec{b}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot \vec{b}} \times \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot M_1 \vec{c}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} (\vec{S} - \vec{S}_0) \cdot \vec{c}} \quad (54)$$

onde I_e é a intensidade espalhada por um elétron (seção 2.3.1.); F o fator de estrutura para um determinada reflexão. A função $\text{sen}^2 Mx/\text{sen}^2 x$ é zero para todos os pontos exceto para $x = n\pi$, onde n é qualquer inteiro inclusive zero. O valor máximo da função é M^2 , assim:

$$I_P = I_e |F|^2 M_1^2 \cdot M_2^2 \cdot M_3^2 \quad (55)$$

No modelo em que o número de células unitárias é dado por $M = M_1 \cdot M_2 \cdot M_3$, então

$$I_P = I_e |F|^2 M^2 \quad (56)$$

Podemos, então, notar que a intensidade que atinge o ponto P é proporcional ao quadrado do número total de células unitárias no cristal, e ao quadrado da magnitude do fator de estrutura.

2.4.4 Largura do Pico de Difração

Sabe-se, através de estudos experimentais que os cristais não possuem as distâncias interplanares de uma mesma reflexão idênticas. Pode-se afirmar que a seguinte relação é verdadeira

$$(\vec{S} - \vec{S}_0) = \lambda \vec{\sigma}_{hkl} \quad (57)$$

Quando essa equação é violada rapidamente a intensidade do feixe chega zero. Para estimar a largura onde esse pico ainda tem intensidade considerável. Assim levamos em consideração a difração em torno da condição anterior expressa por

$$(\vec{S}' - \vec{S}_0) = (\vec{S} - \vec{S}_0) + \Delta\vec{S} = \lambda\vec{\sigma}_{hkl} + \Delta\vec{S} \quad (58)$$

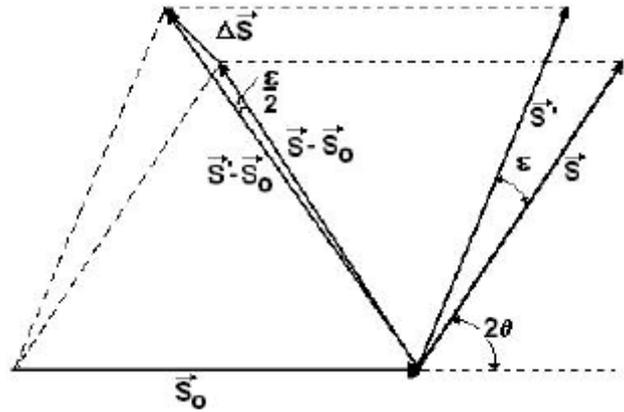


Figura 15: Geometria de espalhamento.

Substituindo a nova condição de espalhamento na expressão de intensidade do pico calculada na seção anterior obtemos a seguinte relação para os senos:

$$\text{sen}^2\left(\frac{\pi}{\lambda}(\vec{S}' - \vec{S}_0) \cdot M_1\vec{a}\right) = \text{sen}^2\left(\frac{\pi}{\lambda}(\lambda\vec{\sigma} - \Delta\vec{S}) \cdot M_1\vec{a}\right) = \text{sen}^2\left(\pi M_1 h + \frac{\pi}{\lambda}\Delta\vec{S} \cdot M_1\vec{a}\right)$$

E de forma análoga para \vec{b} e \vec{c} . Utilizando a relação

$$\text{sen}(A+B) = \text{sen} A \cos B + \text{sen} B \cos A$$

e considerando que $\cos \pi M_1 h = \pm 1$ e $\text{sen} \pi M_1 h = 0$, desde que M e h são números inteiros, chegamos a seguinte relação para a intensidade I_p

$$I_p = I_e F^2 \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot M_1\vec{a}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot \vec{a}} \times \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot M_1\vec{b}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot \vec{b}} \times \frac{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot M_1\vec{c}}{\text{sen}^2 \frac{\pi}{\lambda} \Delta\vec{S} \cdot \vec{c}} \quad (59)$$

Pode-se usar a seguinte aproximação

$$\frac{\sin^2 \frac{1}{2} Mx}{\sin^2 \frac{1}{2} x} \cong M^2 e^{-\frac{M^2 x^2}{4\pi}} \quad (60)$$

onde

$$x = \frac{2\pi}{\lambda} \Delta \vec{S} \cdot \vec{a}$$

Com essa expressão deduzimos o valor máximo da expressão, quando ε muito pequeno:

$$\begin{aligned} |\Delta \vec{S} \cdot \vec{a}| &= |\Delta \vec{S}| |\vec{a}| \cos 0^\circ = \left[|\vec{S}' - \vec{S}_0| - |\vec{S} - \vec{S}_0| \right] a = \\ &= \left[2 \sin \left(\frac{2\theta + \varepsilon}{2} \right) - \sin \theta \right] a = \left[2 \sin \theta \cos \frac{\varepsilon}{2} + 2 \sin \frac{\varepsilon}{2} \cos \theta - 2 \sin \theta \right] a = \varepsilon a \cos \theta \end{aligned}$$

Dessa forma podemos escrever a intensidade como

$$I_P \cong I_e F^2 M^2 e^{-\frac{1}{4\pi} \left(\frac{4\pi^2}{\lambda^2} \varepsilon^2 \cos^2 \theta \right) (M_1^2 a^2 + M_2^2 b^2 + M_3^2 c^2)} \cong I_e F^2 M^2 e^{-\frac{\pi}{\lambda^2} \varepsilon^2 D^2 \cos^2 \theta} \quad (61)$$

Onde $D = (M_1^2 a^2 + M_2^2 b^2 + M_3^2 c^2)^{1/2}$ é o valor médio da dimensão da diagonal no cristal.

Verifica-se que a intensidade tem seu máximo em $\varepsilon = 0$, ou seja,

$$(I_P)_{\text{máximo}} = (I_P)_{\varepsilon=0} = I_e F^2 M^2 \quad (62)$$

Deste desenvolvimento tiramos um importante dado que é o valor do tamanho do cristalito. Da figura 16, temos que a largura a meia altura (B) do pico é a metade da diferença dos dois ângulos extremos, logo:

$$B = \frac{1}{2} (2\theta_1 - 2\theta_2) = (\theta_1 - \theta_2) \quad (63)$$

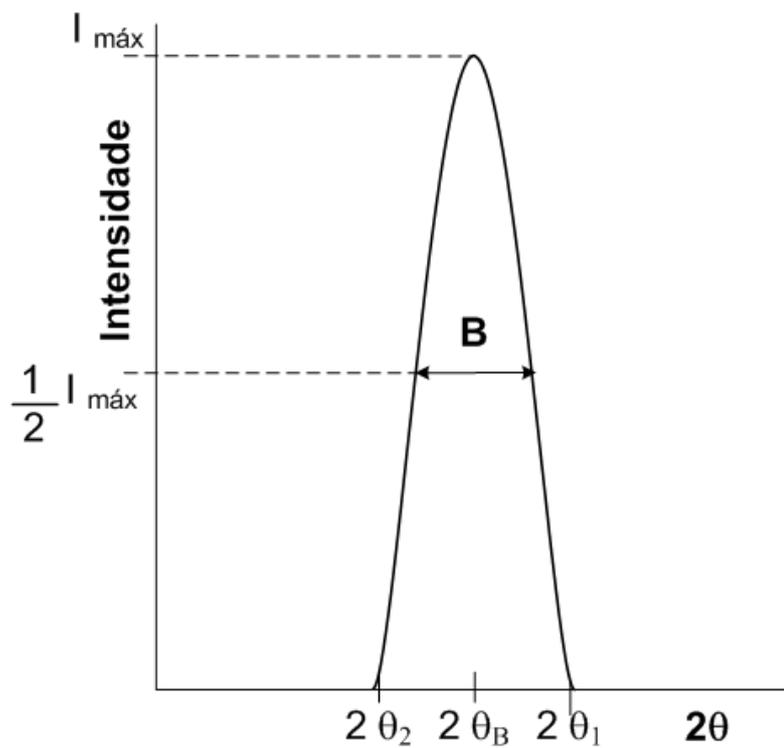


Figura 16: Modelo de Scherrer para o cálculo do tamanho da partícula.

Aplicando a equação de Bragg (equação 24) para esses dois ângulos, chegaremos ao seguinte sistema de equações:

Somando (64) com (65), temos:

Utilizando algumas relações geométricas, teremos:

— —

Por aproximação, temos que $\theta_1 + \theta_2 = \theta_B$, e como $\frac{\theta_1 - \theta_2}{2}$ é bastante pequeno, podemos escrever:

$$\text{sen}\left(\frac{\theta_1 - \theta_2}{2}\right) \approx \frac{\theta_1 - \theta_2}{2}$$

Com isso, temos a relação:

$$2t \frac{\theta_1 - \theta_2}{2} \cos \theta_B = \lambda \quad (68)$$

Como $B = \theta_1 - \theta_2$, a equação de Scherrer se resume a seguinte equação:

$$t = \frac{\lambda}{B \cos \theta_B} \quad (69)$$

A forma mais precisa da equação é descrita como

$$t = \frac{K \lambda}{B \cos \theta_B} \quad (70)$$

onde K é uma constante que dependerá da forma do ponto quando o feixe toca a esfera de Ewald (KITTEL, 2005); esta forma está relacionado com a morfologia do cristal. Um exemplo é quando o ponto é esférico; nesse caso o valor de K será igual a um. Na derivação da equação de Scherrer original foi levado em consideração de que o perfil do pico de difração era uma Gaussiana e que os cristais eram cúbicos, pequenos e de tamanho uniforme. No entanto, Stokes e Wilson desenvolveram um tratamento mais geral para o tamanho do cristalito que é independente da distribuição da forma do cristalito e de sua simetria. Sua derivação leva a uma dimensão efetiva do cristalito t, que leva a uma equação igual àquela encontrada por Scherrer, e o valor de $K=0,89$. O valor de K pode variar entre 0,89 e 1,39, e quando consideramos este K igual a 1 (um), o erro no valor do tamanho é da ordem de $\pm 10\%$ (AZÁROFF, 1958).

A teoria da difração prediz que os picos de difração de um perfil de difração em pó serão muito estreitos para um material cristalino consistindo de cristalitos

suficientemente grandes e livres de tensões (MARKOVIC *et al*, 2004). Portanto, o alargamento dos picos de difração (largura de pico) é correlacionado inversamente com o tamanho e a perfeição do cristal. O termo “cristalinidade” é comumente usado para representar o tamanho do cristalito e a perfeição da rede. O recíproco do valor B é correlacionado ao tamanho/perfeição do cristal.

2.5 Luz Síncrotron

2.5.1 Características gerais

Sempre que uma carga elétrica é acelerada, ela emite radiação eletromagnética. Uma partícula que é acelerada de forma harmônica gera um campo elétrico senoidal em função do tempo, e este oscila de acordo com a frequência do seu movimento. Se a velocidade da partícula for bem inferior à da luz, essa emissão tem o seu valor máximo para ângulos perpendiculares à direção de aceleração. Por outro lado, nas proximidades da velocidade da luz ocorrem mudanças interessantes na emissão de radiação, relacionadas com as frequências emitidas e a forma (direção) de como a partícula emite. Alterações mais profundas ocorrem a velocidades relativísticas no movimento circular em que o espectro de emissão de radiação torna-se quase-contínuo, apresentando uma infinidade de harmônicos da frequência fundamental de oscilação. Esta radiação é conhecida como luz síncrotron (MARGARITONDO, 1995).

A radiação ou luz síncrotron é produzida por aceleradores anulares nos quais circula uma corrente pulsada de elétrons de alta energia ($E \gg mc^2$) com velocidade praticamente igual à velocidade da luz. A radiação síncrotron é produzida pelo movimento circular destes elétrons em velocidades relativísticas nas tangentes às curvaturas de sua trajetória.

O processo de produção é iniciado por um canhão de elétrons de um acelerador linear. Os aceleradores lineares são aceleradores de partículas carregadas, como elétrons, prótons ou íons pesados. As partículas carregadas entram em um tubo onde existem campos elétricos alternados. Estas partículas são aceleradas primeiramente por um campo elétrico e entram em um tubo de corrente ou drift tube onde são protegidas do campo elétrico e o atravessam com velocidade

constante até a próxima abertura. Neste ponto as partículas são novamente aceleradas e a cada abertura entre os tubos “drifts” as partículas recebem mais e mais energia. Esse processo é capaz de acelerar as partículas carregadas com energias muito grandes.

O feixe de elétrons gerado pelo acelerador linear é injetado em um anel de armazenamento, onde há três dispositivos básicos: os dipolos magnéticos, formados por ímãs dipolares que produzem um campo magnético homogêneo no sentido vertical que são responsáveis pela deflexão do feixe e conseqüente produção de luz síncrotron; os quadripolos ou sextupolos que estão situados nos trechos retos do anel e servem para focalizar os elétrons e reduzir as aberrações cromáticas; e a cavidade de rádio frequência que está situada em um ou mais dos trechos retos e é responsável por acelerar os elétrons injetados a baixa energia até a energia final e por fornecer aos elétrons, em cada passagem pelo interior da mesma, a energia perdida em cada volta devido à radiação produzida nas partes curvas de suas trajetórias para aumentar o tempo de vida do feixe (MARGARITONDO, 1995).

A utilização de luz síncrotron pressupõe o uso de monocromadores de modo a selecionar a região desejada do espectro eletromagnético. Os feixes de raios X que se podem obter em uma máquina de luz síncrotron são extremamente intensos, colimados e dotados de um elevado grau de coerência longitudinal. Além disso, com a utilização de cristais monocromadores, é possível obter feixes praticamente monocromáticos com energia selecionável dentro de um amplo espectro de energia. O feixe é, por sua natureza, laminar com altura de alguns milímetros e com largura de algumas dezenas de centímetros no plano do objeto, o que o torna ideal para sistemas de imagem. As características geométricas do feixe podem também ser modificadas mediante o uso de cristais assimétricos ou de outras óticas, de modo a adaptar-se a exigências específicas (ARFELLI *et al*, 2000).

2.5.2 Produção da Luz Síncrotron

Uma onda eletromagnética é uma perturbação que se propaga espacialmente (no vácuo), associada aos campos elétrico e magnético, oscilantes no tempo. A energia transportada pela onda é a energia armazenada nesses campos. A

densidade de energia (energia por unidade de volume) da onda eletromagnética pode ser determinada da seguinte forma (JACKSON, 1999):

$$\rho = \frac{1}{2} \epsilon_0 E^2 + \frac{1}{2\mu_0} B^2 \quad (71)$$

onde E e B representam os módulos dos campos elétrico e magnético, respectivamente. Para uma melhor simplificação na notação, será utilizado o sistema c.g.s (gaussiano) em que faz-se a substituição $\epsilon_0 = \frac{1}{4\pi} = \frac{1}{\mu_0}$. Substituindo $c = \frac{1}{\sqrt{\mu_0 \epsilon_0}}$ (velocidade da luz no vácuo) na equação (71), pode-se escrever a energia em função do campo elétrico, já que $B = E/c$:

$$\rho = \epsilon_0 E^2 \quad (72)$$

A intensidade da onda eletromagnética (I), isto é, a potência dissipada por unidade de área (J/m^2) é calculada multiplicando-se a densidade energética pela sua velocidade c :

$$I = \rho c = \epsilon_0 E^2 c \quad (73)$$

Considerando uma partícula carregada (um elétron, por exemplo) que se move aceleradamente, pode-se mostrar que o campo elétrico tem uma dependência angular em relação à direção da aceleração a , sendo diretamente proporcional ao módulo deste vetor:

$$E = \frac{e a \sin \theta}{c^2 r} \quad (74)$$

onde e é a carga do elétron e r o raio da esfera. Substituindo o módulo do campo elétrico na equação (73), pode-se calcular a energia dissipada por unidade de tempo (ou potência) multiplicando a intensidade pela área superficial de uma esfera

$$P = \frac{e^2 a^2 \sin^2 \theta}{c^3} \quad (75)$$

A equação (75) revela um padrão de emissão dipolar ou globular pela dependência com o quadrado do seno. Essa dependência angular pode ser eliminada por simples considerações geométricas. O sistema de coordenadas esféricas admite a seguinte relação fundamental: $x^2 + y^2 + z^2 = r^2$, que relaciona o raio da esfera com suas coordenadas cartesianas. O fato de o elétron estar no centro do sistema de coordenadas implica na igualdade dos valores quadráticos médios em cada direção, isto é: $\langle x^2 \rangle = \langle y^2 \rangle = \langle z^2 \rangle$; daí decorre que $\langle x^2 \rangle = \frac{1}{3} \langle x^2 + y^2 + z^2 \rangle = \frac{1}{3} \langle r^2 \rangle = \frac{1}{3} r^2$. Fazendo-se uso da identidade trigonométrica fundamental, pode-se substituir a média do quadrado dos senos conforme apresentado abaixo:

$$\langle \sin^2 \theta \rangle = \langle 1 - \cos^2 \theta \rangle = 1 - \frac{\langle x^2 \rangle}{r^2} \quad \langle \sin^2 \theta \rangle = \frac{2}{3} \quad (76)$$

Substituindo este resultado na equação (75) chega-se finalmente à *fórmula de Larmor*, que nos fornece a potência dissipada por uma carga acelerada a velocidades bem inferiores à velocidade da luz (JACKSON, 1999):

$$P = \frac{2 e^2}{3 c^3} a^2 \quad (77)$$

A fórmula de Larmor mostra que a energia liberada por uma carga acelerada depende unicamente de agentes externos (força), sendo muito pequena em relação à energia que pode ser concedida pelos aceleradores lineares. Isso pode ser constatado substituindo na equação (77) para obter a potência em função da energia cinética da partícula (E_c) e do comprimento do acelerador (d):

$$P = \frac{2 e^2 c}{3 d^2} \left(\frac{E_c}{mc^2} \right)^2 \quad (78)$$

Pela equação (78) fica claro que a potência dissipada só será considerável quando a partícula for acelerada a uma energia próxima à sua energia de repouso (mc^2), o que não é tão simples de se conseguir devido aos efeitos relativísticos.

A situação é bem diferente quando se considera o movimento circular uniforme de uma partícula carregada, pois a perda em energia por revolução começa a não ser desprezível em relação ao ganho energético que pode ser conseguido pela aceleração por campos de radiofrequência. Substituindo na equação (77) a expressão da aceleração centrípeta $a_c = v^2/r = p^2/m^2r$, obtém-se a potência dissipada a baixas velocidades ($< 0,1c$):

$$P = \frac{8 e^2 c}{3 r^2} \left(\frac{E_c}{mc^2} \right)^2 \quad (79)$$

Novamente as perdas energéticas não são consideráveis em relação ao ganho que pode ser obtido por re-aceleração na faixa de microondas, e podem ser minimizadas aumentando-se o raio orbital. Por outro lado, se a partícula carregada for acelerada de modo que sua energia seja bem superior à sua energia de repouso, a energia cinética será dada por $E = c p$, e a potência dissipada será considerável, crescendo com a quarta potência da energia:

$$P = \frac{8 e^2 c}{3 r^2} \left(\frac{E_c}{mc^2} \right)^4 \quad (80)$$

Este resultado foi obtido em 1898 por Liénard (um ano depois da dedução da fórmula de Larmor) e constitui um marco na história da luz síncrotron por representar a primeira previsão teórica de sua emissão.

A radiação dissipada a cada volta completada por um feixe de partículas carregadas a velocidades próximas da velocidade da luz pode ser determinada considerando, agora, o momento linear relativístico ($\gamma m v$) da seguinte forma:

$$P = \frac{2 e^2 c}{3 r^2} \gamma^4 \beta^4 \quad (81)$$

Onde $\beta = v/c$. A energia perdida a cada volta pode ser calculada multiplicando-se a potência pelo período ($2\pi r/c\beta$):

$$\Delta E = \frac{4\pi}{3} e^2 \beta^3 \gamma^4 \quad (82)$$

Caso a energia dos elétrons circulantes seja bem elevada ($\beta \rightarrow 1$), a perda energética pode ser calculada em função da energia do feixe circulante, já que $\gamma = E/mc^2$. Substituindo o valor do raio clássico do elétron $e^2/mc^2 = 2,82 \cdot 10^{-15} \text{ m}$, chega-se à equação que relaciona a perda energética por volta, em função do raio da trajetória e da energia da partícula carregada (Jackson, 1999).

$$\Delta E = 88,5 \frac{[E(\text{GeV})]}{r(\text{metros})} \quad (83)$$

Nos primeiros síncrotrons de elétrons ($r = 1 \text{ m}$ e $E = 0,3 \text{ GeV}$) havia uma perda média de aproximadamente 1 keV por volta – valor este pequeno mas não desprezível, se comparado ao ganho que podia ser conseguido através de reaceleração por radiofrequência. Em energias maiores as perdas tornavam-se consideráveis, explicando o porquê dos primeiros anéis de armazenamento operarem com baixas correntes de feixe para experiências de colisões de partículas, o que determinava um subaproveitamento da luz síncrotron. Com o aumento da demanda pelo uso científico da luz síncrotron, foram desenvolvidas fontes exclusivas e projetadas para se obter uma maior intensidade.

2.6 Estrutura dentária

2.6.1 Características

O dente pode ser dividido em algumas partes distintas, como mostrado na figura 17. O dente possui resistência a um conjunto de processos físicos e químicos. Dentre os efeitos incluem-se forças de compressão ($\sim 700 \text{ N}$), atrito e o mais

importante que é o ataque químico devido a alimentos ácidos ou a produto de metabolismo bacteriano (JONES,2001).

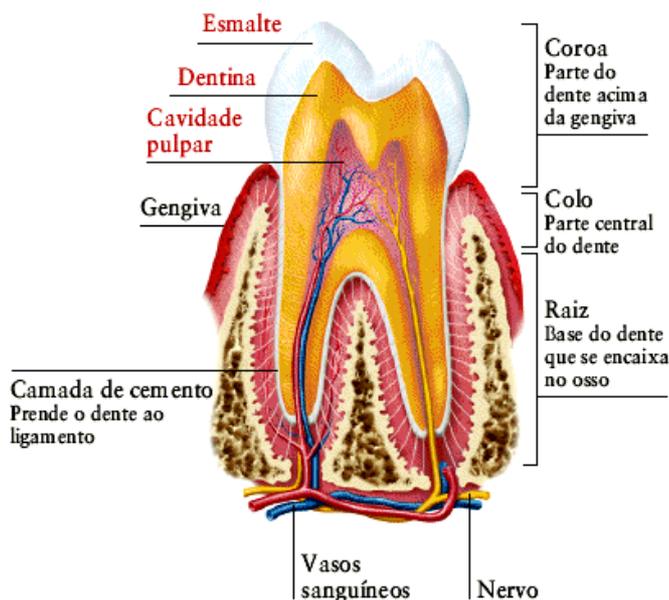


Figura 17: Esquema da estrutura de um dente. Fonte: http://www.soscorpo.com.br/anatomia/dente_raiz.gif.

A parte mais externa do dente é uma rígida camada denominada esmalte, que possui uma espessura de aproximadamente 2mm. No final do processo de maturação o esmalte possui uma estrutura cristalina que contém 95% de material inorgânico, cujo principal constituinte é o mineral HAp ($\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$). O restante do esmalte é formado por aproximadamente 3% de água e 2% de matéria orgânica incluindo proteínas e lipídios. (DEAKINS & VOLKER, 1941)

Os cristalitos (conjunto de células unitárias) possuem tamanho médio de suas dimensões em 30nm de espessura, 60nm de largura e alguns microns de comprimento, embora o tamanho possa variar com a profundidade. (JONES, 2001)

O processo de formação da matriz do esmalte e calcificação pode ser dividido em alguns estágios, em geral conhecido como *amelogênese*. O primeiro estágio consiste na secreção da matriz, onde a matriz sofre mineralização de imediato com cerca de 65% de água, 20% de material orgânico (amelogenina e enamelina) e 15% de material inorgânico (cristais de HAp). Os cristais depositados nessa matriz são placas de HAp finas e alongadas. Num segundo momento ocorre a maturação da matriz, que consiste no crescimento dos cristais minerais e perda de proteína e

água. A maturação inicia-se no centro de crescimento praticamente ao mesmo tempo em que o esmalte atingiu sua espessura máxima. Nesse estágio há remoção do material protéico onde se retira toda a amelogenina restando apenas a enamelinina e parte da água também é perdida tornando o esmalte mineralizado, contudo ainda bastante poroso. Na última fase ocorre adição de mais minerais à matriz e perda da porosidade, após a erupção, quando o dente está na cavidade bucal, o esmalte continua incorporando minerais obtidos da saliva, permitindo o crescimento dos cristais e conseqüentemente perda da porosidade. (JONES, 2001).

Os prismas do esmalte são longos e finos, estendendo-se da junção entre dentina e esmalte até a superfície do dente. Os cristais de apatita que compõe os primas tendem a se alinhar na direção do comprimento – comprimento é definido como a direção do eixo \vec{c} da célula unitária, que é o menor parâmetro – e encontram-se paralelos a direção do prisma. Existem mudanças que ocorrem nos limites do prisma, tal que o eixo \vec{c} tende a se orientar perpendicular aos limites do prisma e a superfície do dente. Na cúspide (extremidade de contato do dente) e nas bordas incisais, os prismas do esmalte são arranjados de forma irregular.

A parte inorgânica do esmalte formada basicamente pelos cristais de HAp. A família mineral das apatitas ($A_{10}(BO_4)_6X_2$) é cristalizada em estrutura hexagonal, onde é usualmente Ca^{2+} ou Pb^{2+} , B é P^{5+} ou As^{5+} e X é F^- , Cl^- ou $(OH)^-$. A HAp mineral, encontrada em tecidos biológicos é a apatita basicamente formada por $A = Ca^{+2}$ e $X = (OH)^-$ em sua grande maioria, podendo ser $X = F^-$ e Cl^- em menor quantidade. (WHITE *et al*, 2005). Trabalhos que utilizaram difração de raios X mostraram que o esmalte dentário possui estrutura hexagonal e parâmetros de rede $a=b=9,441(2)\text{Å}$ e $c=6.878(1)\text{Å}$. (YOUNG & MACKIE, 1980; WILSON *et al*, ELLIOT & DOWKER, 1999)

O esmalte serve de proteção para uma parte mais interna, que é a camada seguinte denominada dentina. A dentina é um tecido conjuntivo avascular, mineralizado, especializado que forma o corpo do dente, suportando e compensando a fragilidade do esmalte. Seu processo de formação da dentina precede e é essencial ao esmalte. Na dentina são os odontoblastos (proteínas que formam fibras colágenas e substância amorfa) que atuam no processo de mineralização da dentina. No final do processo da mineralização a dentina possui cerca de 70% de parte mineral (basicamente HAp), 21% de parte orgânica (92% de colágeno) e o restante de água.

2.6.2 Fluorose

O processo de formação do esmalte dentário é denominado de amelogênese, e compreende duas fases bem distintas: (i) secreção, na qual células presentes no tecido epitelial que reveste os dentes, os ameloblastos, secretam uma matriz altamente protéica e hidratada e (ii) maturação, na qual há um grande influxo de íons minerais, principalmente cálcio e fósforo (SATO *et al*, 1996), que vão se depositar majoritariamente na forma de cristais de HAp (SMITH, 1998). O crescimento desses cristais em largura ocorre concomitantemente à perda de água e proteínas (SMITH, 1998).

O flúor interfere no processo de maturação (AOBA, 1997), reagindo com a estrutura do esmalte, e precipitando-se com outros minerais, formando assim a FAp mais estável e mais resistente à corrosão ácida que a HAp (AOBA & FEJERSKOV 2002; AOBA, 1997). Esse é princípio do uso de aplicação tópica ou sistêmica de flúor para prevenção e diminuição do risco à cárie dentária. Porém, quando em excesso durante a fase formativa do esmalte, particularmente durante a fase de maturação, o flúor leva à fluorose, uma condição caracterizada por defeitos estéticos e funcionais nos dentes (FEJERSKOV *et al*, 1994).

A fluorose dentária varia desde defeitos leves até perda quase total do esmalte, com necessidade de reposição protética dessa estrutura para evitar a perda total do elemento dental. Um exemplo de fluorose está ilustrado na figura 18. Há dois índices de fluorose amplamente utilizados, o mais antigo, de Dean (1934), que caracteriza fluorose em três estágios, fluorose leve, moderada e severa, ainda hoje mais utilizado em levantamentos epidemiológicos (por exemplo, no Brasil, entre 1991 e 1997 houve um aumento de 80% dos casos de fluorose leve em crianças de uma comunidade sem acesso à fluoretação da água (PEREIRA, *et al*, 2000)). O outro índice é o Thylstrup & Fejerskov (1978), que caracteriza fluorose com uma escala crescente de 0 a 9 (da forma mais branda à mais severa) e que tem base nas características histopatológicas do esmalte afetado e a correlação dessas características com o aspecto clínico. Esse índice classifica desde a forma mais branda, em que finas estrias de periquemáceas acentuadas se tornam mais visíveis do que no esmalte controle até quase a perda total do esmalte externo resultando em alteração da forma anatômica da superfície do dente. Fejerskov *et al* (1977) foram os autores que caracterizaram os defeitos fluoróticos com microscopia de

polarização, e mostraram que, a partir do grau leve de fluorose, encontra-se um defeito no esmalte de hipomineralização subsuperficial, enquanto que a camada externa do esmalte (cerca de 100 µm) está íntegra (FEJERSKOV *et al*, 1977). Essa caracterização microscópica em dentes com fluorose grave mostra que as manchas do esmalte com fluorose não são defeitos hipoplásicos verdadeiros, mas defeitos produzidos secundariamente à erupção dental.



Figura 18: Paciente de Venâncio Aires (RS). Fluorose severa. Foto gentilmente cedida pela Cirurgiã-Dentista Claudia Schmidt.

Suga (1989), em trabalho sobre mineralização em esmalte de humanos e de macacos, demonstrou que nem sempre a hipomineralização está acompanhada por hipoplasia, e sim, pode estar associada a um distúrbio no processo de degradação da matriz orgânica do esmalte. Inclusive as pigmentações presentes nos dentes com fluorose não são causadas diretamente pelo excesso de flúor, e sim, são pigmentações exógenas provenientes da cavidade bucal que se incorporam ao esmalte fluorótico após sua camada superficial ser removida por abrasão através das forças mastigatórias, expondo, assim, a subsuperfície hipomineralizada e mais porosa (FEJERSKOV *et al*, 1994). Isto ocorre porque o esmalte com fluorose possui uma superfície normalmente mineralizada que está sobre uma camada hipomineralizada, o que torna o esmalte altamente friável e mais susceptível à abrasão pelas forças mastigatórias (THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1979). Há também a incorporação de minerais através dos poros deste esmalte fluorótico

hipomineralizado (FEJERSKOV *et al*, 1991). Os poros aparecem devido ao crescimento incompleto dos cristais, evitando, assim, uma justaposição mais íntima dos cristais (ROBINSON *et al*, 2004).

O mecanismo que leva à formação do esmalte fluorótico não é conhecido, mas possivelmente envolva modificações na reação físico-química básica de des - e remineralização do esmalte dentário, que é a mesma reação de formação da HAp do esmalte na fase de maturação (obviamente). Yanagisawa *et al* (1989) sugeriram que a região hipomineralizada do esmalte fluorótico sofre modificações semelhantes à cárie em relação à dissolução do cristal, e que a superfície mineralizada do esmalte fluorótico é formada ou modificada pela remineralização. Íons flúor livres favorecem a reação no sentido da formação de HAp (MEYER & EANES, 1978; VARUGHESE & MORENO, 1979; AMJAD *et al*, 1981), enquanto prótons (ácidos em geral) induzem que essa reação ocorra no sentido inverso, o da dissolução da HAp (SIMMER & FINCHAM, 1995), conforme a reação abaixo (GERLACH & LINE, 2005):



Apesar de este aspecto básico ser conhecido, detalhes de como o flúor interfere na mineralização do esmalte ainda são controversos (AOBA & FEJERSKOV, 2002). É provável que o conhecimento do mecanismo que leva à fluorose possa elucidar também aspectos ainda não conhecidos da prevenção da perda mineral pelo flúor nos desafios cariogênicos (FEJERSKOV *et al*, 1994).

Segundo revisão recente de Aoba & Fejerskov (2002), entre as principais hipóteses propostas para explicar a fluorose dentária estão (i) alteração na conformação e agregação de proteínas da matriz do esmalte, (ii) ligação do fluoreto a proteínas e proteases da matriz do esmalte, (iii) alterações da interação proteína-cristal, (iv) alterações do processamento ou tempo de funcionamento das proteases *in situ* e (v) alterações das atividades proteolíticas sensíveis aos níveis de cálcio.

Estudos mostram que o flúor retém uma maior quantidade de proteínas no esmalte em formação (DENBESTEN 1986; DENBESTEN *et al*, 1989), seja por um atraso na remoção da proteína degradada (DENBESTEN 1986), seja por uma diminuição da expressão gênica da protease responsável pela proteólise dessas proteínas (DENBESTEN *et al*, 1989). Estudos indicam que o flúor retém amelogenina no esmalte maduro, e que isso provavelmente ocorre devido à

diminuição da expressão gênica da MMP-20 pelo flúor (ZHANG *et al* 2006). Outro dado, é que o aumento do flúor promove a fluoretação dos cristais, o que por sua vez pode aumentar a associação proteína-cristal, retardando a remoção das proteínas residentes na superfície dos cristais (AOBA & FEJERSKOV, 2002). Esta retenção das proteínas talvez cause a diminuição do número de modulações cíclicas dos ameloblastos pós-secretórios de ratos tratados com 100 ppm de flúor (SMITH *et al*, 1993; PERGOLIZZI *et al*, 1995), o que pode ser um mecanismo de compensação das células para tentar eliminar o excesso de proteínas retido no esmalte da fase de maturação. Sato *et al* (1996) ressaltaram que uma das funções dos ameloblastos secretórios é regular a quantidade de cálcio, e, sabendo-se que o flúor acelera a mineralização do esmalte nos estágios iniciais da amelogênese, isso poderia causar efeitos adversos nos eventos subseqüentes do desenvolvimento do esmalte. Por exemplo, segundo os autores, o esmalte mais externo é o que tem uma mineralização mais lenta para remover a matéria orgânica remanescente no esmalte interno, assim uma aceleração no influxo de cálcio e na secreção de proteínas que inibem a proliferação e crescimento dos cristais pelo flúor, com uma mineralização precoce do esmalte externo, pode reter as proteínas no esmalte fluorótico.

Apesar de haver vários estudos mostrando que há retenção das proteínas no esmalte fluorótico (DENBESTEN, 1986; DENBESTEN *et al*, 1989; SMITH *et al*, 1993, ZHANG *et al* 2006), a maioria dos estudos usou esmalte de ratos na fase inicial de maturação. Os resultados são divergentes nos dois únicos estudos que caracterizam a quantidade de proteínas no esmalte fluorótico e controle de humanos (ambos totalmente formados, em dentes extraídos e que estiveram na boca). Eastoe & Fejerskov (1984) mostraram quantidade de proteína similar no esmalte controle e esmalte fluorótico (grau de 4-6), porém com uma maior proporção de amelogeninas no esmalte fluorótico. Já trabalho de Wright *et al* (1996) demonstrou que o esmalte fluorótico apresentou quantidade de proteínas maior do que o esmalte normal (0,27% e 0,11%, respectivamente, embora seja questionável a significância estatística desta diferença), mas que não havia proteínas do esmalte “imaturas” (amelogeninas) no esmalte fluorótico estudado. Estes dois únicos trabalhos existentes caracterizando as proteínas do esmalte formado fluorótico foram realizados com dentes já erupcionados que possivelmente haviam incorporado proteínas da saliva nos defeitos porosos do esmalte fluorótico, como discutido pelos próprios autores de um dos trabalhos (WRIGHT *et al*, 1996). No trabalho de Eastoe

& Fejerskov (1984), os autores removeram a camada superficial do esmalte para evitar que a adsorção pós-eruptiva de proteínas exógenas da saliva no esmalte hipomineralizado influenciasse as análises. Assim, não se sabe se o esmalte fluorótico formado e sem contato com a cavidade bucal realmente apresenta retenção de proteínas, o que é uma questão essencial para compreender a fluorose dentária.

Essa questão se torna ainda mais relevante pela demonstração de que o flúor não inibe diretamente as proteases do esmalte (YANAGISAWA *et al*, 1989; AOBA *et al*, 1996; GERLACH *et al*, 2000), como originalmente proposto a partir das evidências de retenção de proteínas do esmalte pós-secretório no modelo de fluorose em ratos (DENBESTEN, 1986) .

Acreditamos que as dificuldades em caracterizar o esmalte fluorótico descritas acima sejam decorrentes do grande desafio técnico inerente ao estudo do esmalte dentário, que é o tecido mais mineralizado do organismo, com a menor quantidade de proteínas e com características morfológicas peculiares que precisam ser analisadas juntamente ao aspecto mineral e orgânico para que se possa ter uma idéia mais completa do defeito fluorótico. Nesse sentido, tem-se, nos últimos anos, aprimorar novas técnicas para manipulação de proteínas no esmalte (Porto *et al* 2006), além de associar às análises de proteínas métodos físicos que permitam verificar a densidade do esmalte.

3 METODOLOGIA

3.1 Linha XRD1

3.1.1 Características da linha

A linha D12A-XRD1 (figura 1) é comumente utilizada para o estudo de estruturas policristalinas, com a técnica de difração de pó de alta resolução em temperatura ambiente, e de estruturas monocristalinas por difração múltipla de feixes. A linha oferece também recursos para a realização de medidas por difração por incidência rasante, difração anômala, medidas de tensões residuais por DRX e montagem de experimentos em configurações especiais. A linha é equipada: um difratômetro Huber de 3 círculos (θ , 2θ , φ), e um difratômetro cujos eixos θ e 2θ localizam-se dentro de uma câmara em que se pode fazer vácuo. O primeiro pode ainda trabalhar com um círculo a mais (ângulo χ) com o qual se pode variar a polarização do feixe incidente em relação à amostra. O segundo tem preso ao seu eixo 2θ uma mesa rotativa que permite a instalação de acessórios tais como detectores, fendas, caminhos de vácuo, mesas transladoras, etc. A figura 19 mostra o diagrama esquemático da linha XRD1 e alguns dos seus principais componentes.

Essencialmente a óptica da linha é composta de um espelho para a faixa de raios X que permite focalização vertical do feixe e um monocromador de dois cristais de Si com focalização sagital na direção horizontal. Sendo uma linha destinada a experimentos de difração de raios X de alta resolução, operando na faixa espectral entre 3 keV e 15 keV, ela permite a realização de experimentos nas modalidades que incluem: difração de pó, difração em incidência rasante (GID), difração múltipla, topografia, tomografia e até mesmo espectroscopia de raios x em vácuo. Soma-se a isso a opção de experimentos de difração de pó em altas temperaturas.

3.1.2 Componentes Ópticos: Espelho e Monocromador

O espelho que compõe o sistema fica posicionado a aproximadamente 5,5m da fonte de luz síncrotron. Ele está montado em uma câmara desenvolvida no próprio laboratório e opera a uma pressão de aproximadamente 10^{-9} mbar separado

por 2 janelas de Be de 125 μm entre o front-end e o monocromador. O espelho é de vidro ULE (Ultra-Low Expansion) recoberto com Rh, que é usado para filtrar fótons de alta energia e focalizar/colimar o feixe. O ângulo de incidência entre o feixe e o espelho é de 4,0mrad, o qual determina a energia de corte dos fótons (~ 14 keV).

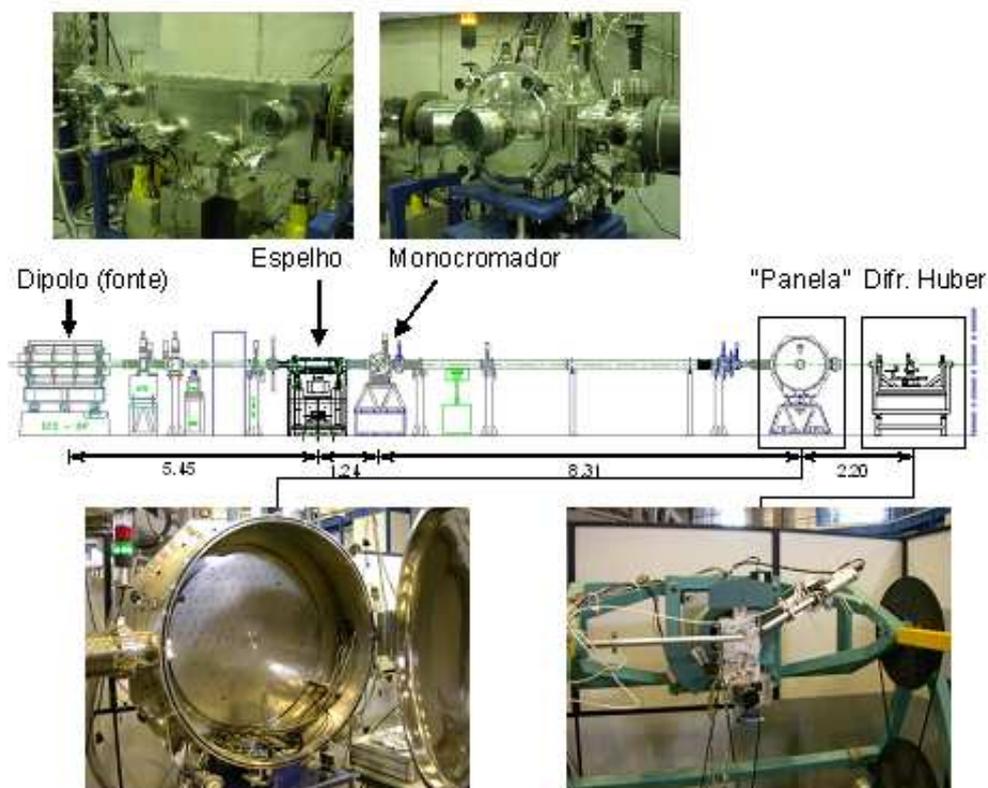


Figura 19: Representação esquemática simplificada da linha XRD1 com seus 2 difratômetros (Manual D12A-XRD1. Circulação interna).

Três motores independentes (Parker), com um *encoder* Heidenhain, permitem o ajuste das posições do espelho (altura, vertical e horizontal). Um motor Phytron, com um *encoder* tipo potenciômetro é utilizado para curvar o espelho. As posições dos motores são lidas por uma placa LOCON de 12 bits e a comunicação com o PC é feita através de uma interface serial (*drivers* e *encoder* Heidenhain) e o sistema LoCo (placa conversora AD/DA mod. LOCON 12). Um software produzido no próprio laboratório, chamado SPEGULO e rodando em ambiente Windows 98, controla o movimento do espelho.

O monocromador da linha XRD1 é do tipo “duplo cristal”, onde são utilizadas duas lâminas de Si monocristalino cortadas na direção $\langle 111 \rangle$. A primeira lâmina é um cristal plano de 10mm x 10mm suportado por uma base de cobre refrigerada a

água. A segunda lâmina, chamada de cristal sagital, por sua forma de flecha (triangular), está posicionada paralelamente à primeira e pode ser curvada de modo a focalizar horizontalmente o feixe de luz. (Figuras 20a e 20b).

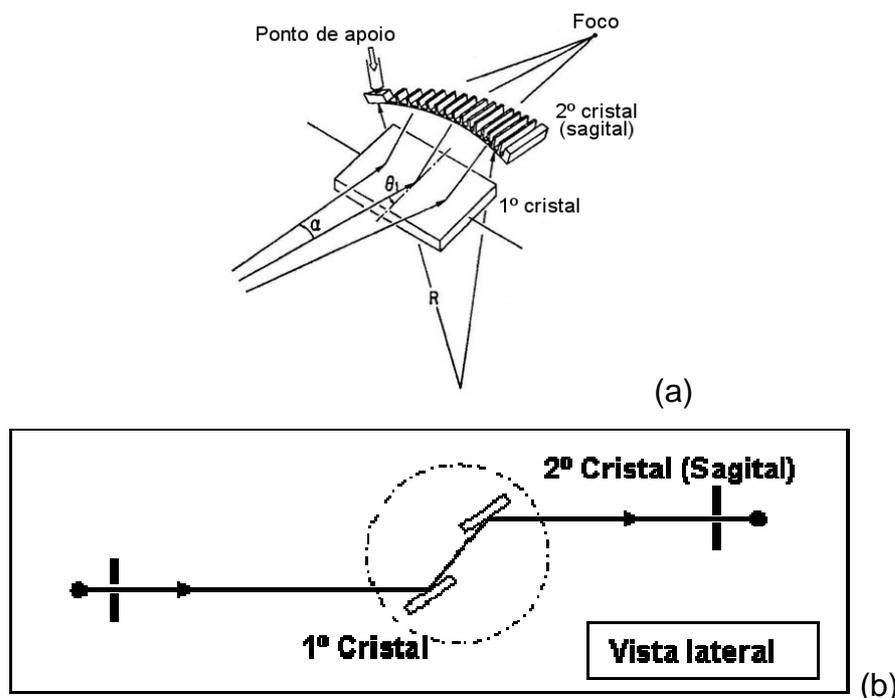


Figura 20: (a) Disposição dos cristais do monocromador e (b) desenho esquemático do monocromador visto lateralmente.

3.1.3 Fendas

Existem dois conjuntos de fendas horizontais e verticais independentes instalados na linha. Essas fendas são formadas por lâminas de tântalo, as quais podem ser movimentadas independentemente com motores de passo.

O primeiro conjunto, instalado antes do espelho, é chamado de "FENDAS BRANCAS" porque limitam a passagem do feixe branco (isto é, não monocromatizado) que, partindo do dipolo, incide no espelho. A movimentação dessas fendas é feita através de um programa desenvolvido no próprio laboratório, rodando em ambiente Windows 98. Normalmente, elas estão ajustadas de forma a bloquear apenas uma pequena porção menor que 10% da intensidade do feixe das bordas verticais, o que faz com que possíveis efeitos de espalhamento pelas bordas

do espelho sejam eliminados. O ajuste horizontal, por sua vez, comumente é feito de modo a se deixar uma abertura máxima.

O segundo conjunto, denominado “FENDAS MONOCROMÁTICAS”, está localizado após o monocromador (dentro da cabana experimental), sendo utilizado para determinar o tamanho do feixe na posição da amostra. A movimentação dessas fendas também é feita através de um programa específico.

Existe ainda um terceiro conjunto de fendas que ficam mais próximas da amostra, entre a “panela” e a mesa do difratômetro Huber. Elas são manuais e servem para definir com maior precisão o tamanho do feixe sobre a amostra, bem como limitar os fótons espalhados pelo ar em torno do feixe. Essas fendas são ajustadas por meio de parafusos micrométricos localizados no corpo do conjunto. A abertura/fechamento é feita girando-se esses parafusos no sentido anti-horário/horário. A quantificação do movimento dessas fendas é dada pelas escalas de cada parafuso e das superfícies horizontal e vertical do corpo do conjunto de fendas. Nestas últimas, a posição das lâminas é dada por cursores. A escala dos parafusos, no entanto, indicam o valor, em milímetros, do movimento simétrico das lâminas.

3.2 Sistema de Detecção

O sistema de detecção contava com uma câmara de ionização antes do difratômetro e um detector cintilador rápido NaI(Tl) (10^6 contagens/segundo) com analisador multicanal e *software* instalados no computador principal. A câmara de ionização foi usada para corrigir os dados experimentais em função das variações na corrente do feixe e deslocamentos orbitais. A incerteza estatística dos dados ($\sqrt{1/\text{contagem}}$) foi menor do que 3 % para as intensidades espalhadas medidas. As incertezas associadas ao argumento do momentum transferido foram calculadas usando a expressão:

$$\Delta q = \frac{1}{12,398} \left\{ \left[\left(\frac{E}{2} \right) \cos \left(\frac{\theta}{2} \right) \Delta \theta \right]^2 + \left[\text{sen} \left(\frac{\theta}{2} \right) \Delta E \right]^2 \right\}^{\frac{1}{2}} \quad (82)$$

3.3 Amostras

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (protocolo número 2003.1.1329.58.2). Os pacientes foram informados de forma verbal sobre a proposta da pesquisa e assinaram um termo de consentimento e um termo de doação do dente.

3.3.1 Obtenção das amostras para o pó

Cinco dentes terceiro molares considerados saudáveis foram utilizados para o preparo das amostras em pó. Os dentes foram coletados na cidade de Ribeirão Preto, São Paulo, identificados e armazenados para que posteriormente as amostras fossem preparadas para a realização das medidas de difração.

3.3.2 Preparação das amostras em pó

Os pós a partir das amostras de dentes saudáveis foram obtidos utilizando um pilão e um motor com broca para pulverização do esmalte dentário. Com a utilização de uma lupa estereoscópica foi feita a separação de esmalte, dentina e dentina circumpulpar, que foram devidamente identificadas. As amostras foram conservadas a temperatura ambiente até que fossem levadas para realização das medidas. As cinco amostras em pó construídas foram identificadas como P1, P2, P3, P4 e P5.

3.3.3 Obtenção das amostras para lâmina

As amostras foram obtidas na cidade de Venâncio Aires, Rio grande do Sul, Brasil. A amostragem é composta por sete terceiro molares não erupcionados com a patologia fluorose diagnosticada, sem lesões causadas por cáries. Para cada amostra fluorótica foi coletada uma amostra correspondente para ser usada como controle. Os dentes coletados foram armazenados a -20°C até a preparação das lâminas.

3.3.4 Preparação das lâminas

Para preparar as lâminas a partir do dente coletados, uma peça da coroa do dente foi previamente fixada em tampão 4% de paraformaldeído por 48 horas, desidratado em crescentes graduações alcoólicas, incorporada em resina glicol metacrilato (Technovit® 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Germany). Após este procedimento foi cortada com disco de diamante de alta precisão (150 μ m) em uma máquina seccionadora (EXAKT, Germany). Estas secções foram lixadas até a espessura de 80 μ m. Cada seção dentária foi depositada sobre uma lamínula de vidro.

As regiões onde seriam feitas as medidas nas lâminas foram previamente marcadas com ajuda de uma lupa estereoscópica e com um microscópio de polarização como mostrado na figura 21.

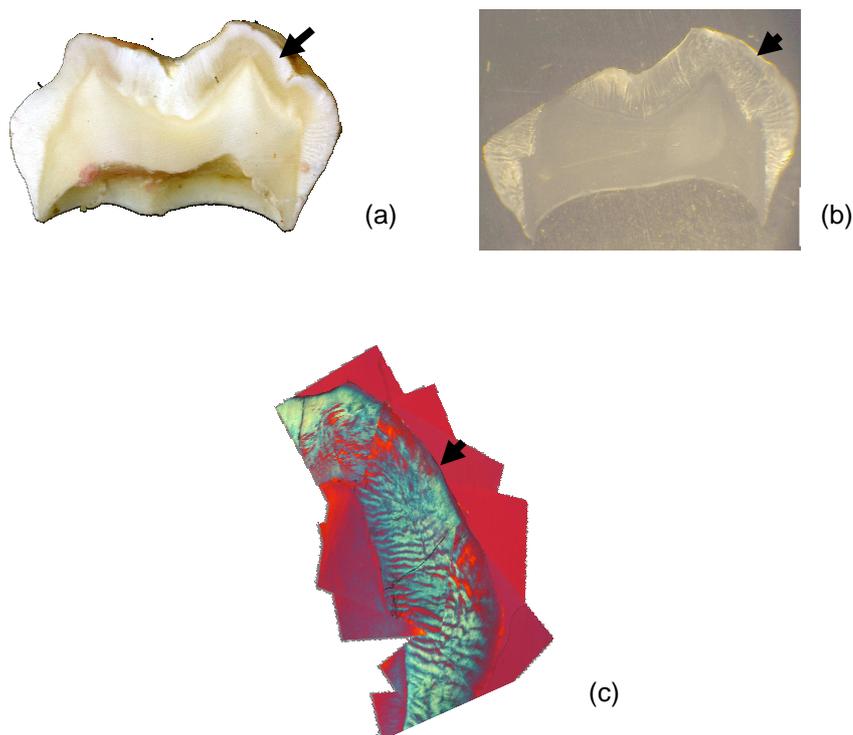


Figura 20: (a) Fotografia de uma seção de um dente humano terceiro molar (b) Imagem do dente a partir de uma lupa estereoscópica (c) Fotografia feita a partir de um microscópio de polarização utilizando filtro vermelho. As setas indicam as áreas fluoróticas.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

*Logo que, numa inovação, nos mostram
alguma coisa de antigo, ficamos sossegados.*

Friedrich Nietzsche

Neste capítulo serão apresentados os resultados obtidos das medidas com amostras de esmalte dentário em pó e amostras em lâminas, as quais foram divididas em esmalte de controle e fluoróticos. A identificação das fases cristalinas presentes foi realizada através da comparação com padrões de difração de raios X constantes na base de dados: *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD) elaborada pelo *Fachinformationszentrum Karlsruhe* (FIZ) na Alemanha e pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST) nos Estados Unidos. O acesso às bases ICSD é fornecido pelo site *www.portaldapesquisa.com.br* através de convênio com a CAPES. Os padrões utilizados têm código de identificação 99358 (hidroxiapatita) e 99363 (fluorapatita).

A realização de medidas em um padrão faz-se necessário antes das medidas das amostras do trabalho. A escolha desse padrão está relacionada às características da amostra e à configuração do equipamento que está sendo utilizado para a obtenção dos dados. Assim, se a amostra possuir alta cristalinidade (tamanho de cristalito grande) e os dados forem obtidos utilizando um difratômetro de raios X com fonte de luz síncrotron e cristal analisador, um padrão recomendado é a Al_2O_3 (Alumina). Com os resultados da análise do seu padrão de difração na linha XRD1 comparado ao catalogado pelo NIST corrigimos a energia do feixe e o alargamento dos picos.

Todos os difratogramas que serão apresentados neste capítulo apresentam o número de fótons medidos, utilizando-se o sistema experimental descrito no capítulo 3, em função da variável correspondente ao momentum transferido.

5.1 Amostras em pó

As medidas para o pó foram realizadas na geometria $\theta-2\theta$. De modo a minimizar os efeitos da orientação preferencial dos cristalitos, as medidas foram efetuadas com as amostras girando no plano de incidência do feixe. A abertura das fendas para este arranjo foi de 0,05mm de vertical e horizontal. O tempo de

contagem foi de 1,5 segundos, na média, para cada passo de $0,025^\circ$ em 2θ , varrendo uma região angular de 20° até 52° . A energia utilizada para as medidas foi 8keV. Os perfis de espalhamento correspondem a uma varredura em momentum transferido na região de $0,13 \text{ \AA}^{-1} < q < 0,29 \text{ \AA}^{-1}$. A região analisada corresponde à região onde se encontram a maior parte dos picos de Bragg do material.

A figura 20 mostra os perfis de difração obtidos para cada amostra analisada (P1, P2, P3, P4 e P5). Os perfis foram indexados pelo perfil padrão da hidroxiapatita em pó (ICSD CIF 99358). O perfil padrão da HAp também foi incluído na figura 21. A evidente similaridade entre os perfis de difração mostram a analogia entre as estruturas do esmalte dentário e a HAp padrão.

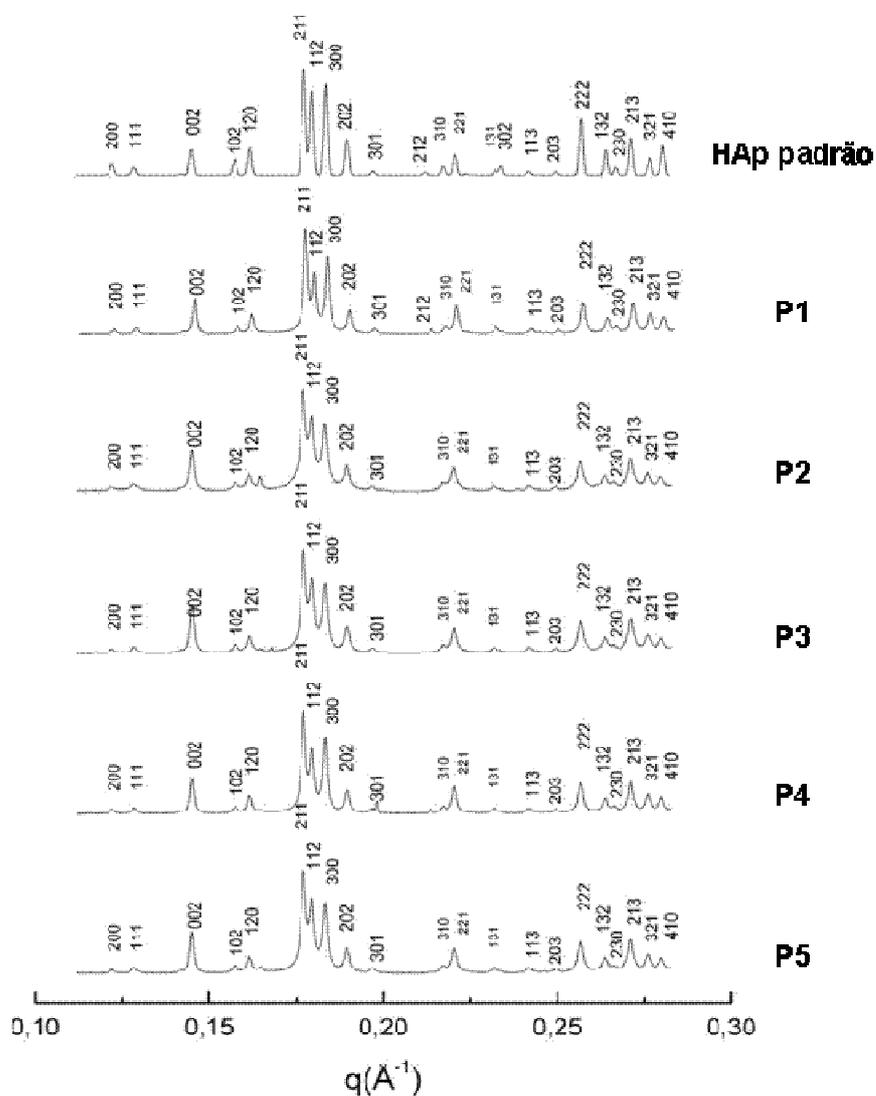


Figura 21: Perfis de difração das amostras de esmalte em pó e da HAp padrão (ICSD CIF 99358).

Os perfis de difração experimentais foram analisados usando um programa de ajuste de curvas Origin 8.0®, o qual ajustou funções pseudo-voigt para os picos de difração encontrados. Simultaneamente, o programa otimiza o background, alturas de pico, posições de pico e larguras a meia altura (FWHM) para os quatro picos mais intensos. A figura 22 apresenta uma área ampliada de um perfil típico mostrando as reflexões mais intensas (121), (112), (300) e (202).

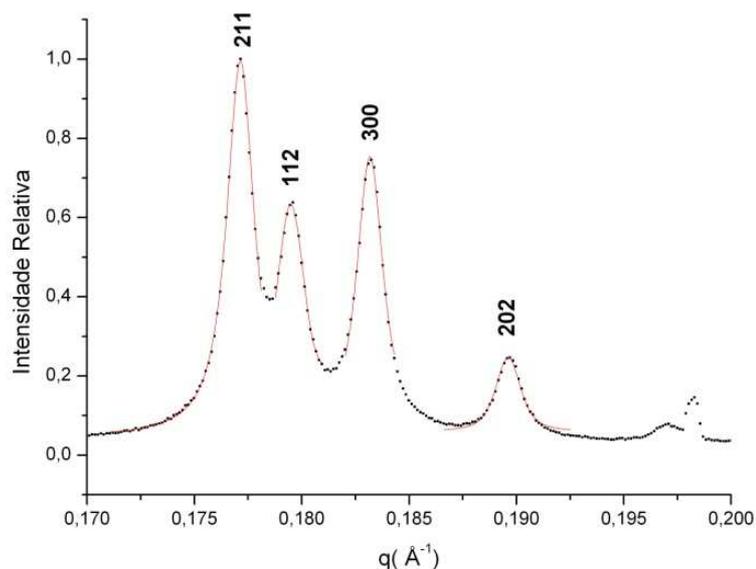


Figura 22: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte dentário em pó. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.

A tabela 3 apresenta os valores ajustados encontrados para o argumento do momentum transferido para cada reflexão analisada. Comparando os valores médios encontrados para a posição dos picos de difração do esmalte dentário com a posição esperada para a HAp, observa-se uma pequena diminuição nos valores do *momentum* transferido. O deslocamento dos picos pode estar relacionado a substituições atômicas que ocorrem na célula cristalina alterando os parâmetros de rede.

Tabela 3: Valores de *momentum transferido* para cada uma das reflexões do esmalte em pó.

Amostras	q (Å ⁻¹)			
	(211)	(112)	(300)	(202)
HAp	0,1776	0,1799	0,1838	0,1901
P1	0,1768	0,1792	0,1829	0,1893
P2	0,1768	0,1792	0,1828	0,1893
P3	0,1768	0,1791	0,1827	0,1892
P4	0,1768	0,1792	0,1829	0,1894
P5	0,1769	0,1791	0,1828	0,1893
Média	0,1768	0,1792	0,1829	0,1893
Desvio Padrão	0,00004	0,00005	0,00008	0,00007

BACHMANN & ZECELL (2005) encontraram os seguintes valores para o *momentum transferido* para o esmalte natural: 0,1772 (211), 0,1796 (112), 0,1835 (300) e 0,1897 (202). Em todo intervalo de varredura de 2θ , foi observado um deslocamento da posição dos picos experimentais, que são menores que os encontrados por BACHMANN & ZECELL (2005). O erro experimental calculado entre os valores experimentais e teóricos foi menor que 0,33%. Pode-se verificar que os valores experimentais estão em bom acordo com a literatura.

A tabela 4 mostra as distâncias interplanares d_{hkl} calculadas para cada reflexão estudada. A partir dos valores encontrados para os parâmetros de rede publicados por WILSON *et al* (1999), foram calculadas as distâncias interplanares referentes a cada reflexão estudada: 2,8226 (211), 2,7818 (112), 2,7296 (300) e 2,6340 (202). O erro percentual entre os valores experimentais e os calculados foi de no máximo 0,32% na reflexão (300).

Tabela 4: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte em pó.

Amostras	d_{hkl} (Å)			
	(211)	(112)	(300)	(202)
HAp	2,8153	2,7793	2,7203	2,6302
P1	2,8281	2,7902	2,7337	2,6413
P2	2,8281	2,7902	2,7352	2,6413
P3	2,8281	2,7917	2,7367	2,6427
P4	2,8281	2,7902	2,7337	2,6399
P5	2,8265	2,7917	2,7352	2,6413
Média	2,8277	2,7908	2,7349	2,6413
Desvio Padrão	0,0007	0,0009	0,0013	0,0010

A figura 23 mostra como as intensidades relativas dos picos variam para cada amostra de esmalte em pó analisada. As intensidades relativas foram determinadas como as alturas dos picos de difração em relação ao pico mais intenso (reflexão 211) normalizadas para intensidade igual a 100. Pode-se observar um aumento na intensidade relativa das reflexões (112) e (300) em relação à HAp. Alterações na intensidade relativa dos picos são decorrentes de substituições atômicas que alteram o fator de espalhamento ou de orientações preferenciais.

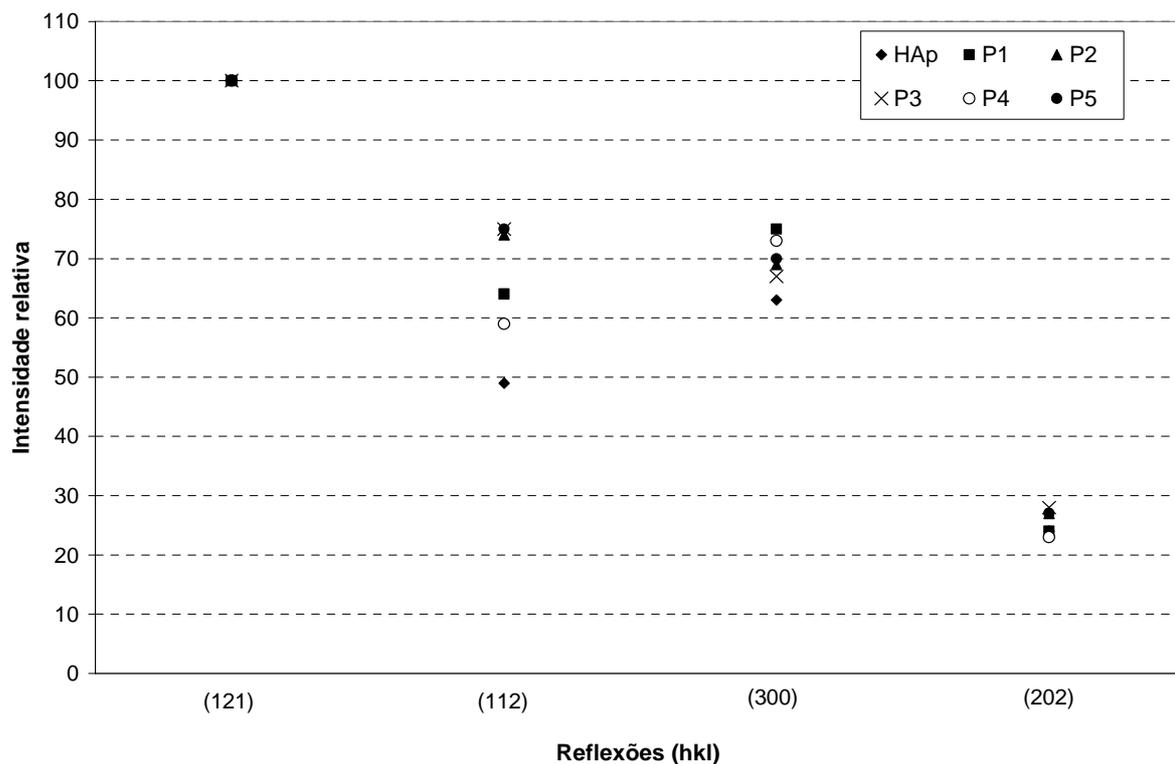


Figura 23: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte em pó.

O alargamento dos picos (B) foi medido à meia altura dos picos de difração deconvoluídos para todas as amostras analisadas. O tamanho dos cristalitos (t) foi determinado usando a equação de Scherrer (eq. 70). O tamanho dos cristalitos e os valores de $1/B$ calculados para as reflexões (121), (112), (300) e (202) estão listados na tabela 5. O tamanho médio dos cristalitos dos cristalitos do esmalte dentário é cerca de 30nm de espessura (JONES, 2001). Os valores médios encontrados listados na tabela 5 estão em concordância com o esperado considerando o desvio padrão das medidas.

Tabela 5: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras em pó. O tamanho médio do cristalito (\bar{t}) para cada reflexão e o desvio padrão associado também são apresentados.

Amotras	Reflexão	$1/B$ ($2\theta^{-1}$)	t (nm)	\bar{t} (nm)	σ_t
P1	(211)	3,8	31,7	29,9	3,2
P2		3,4	27,9		
P3		3,2	26,7		
P4		4,2	34,6		
P5		3,4	28,5		
P1	(112)	3,9	32,5	30,8	3,7
P2		3,5	28,8		
P3		3,3	27,1		
P4		4,4	36,5		
P5		3,5	29,3		
P1	(300)	3,9	32,5	30,0	3,5
P2		3,4	28,4		
P3		3,1	26,1		
P4		4,1	34,6		
P5		3,4	28,5		
P1	(202)	4,0	33,7	32,6	2,7
P2		3,6	30,0		
P3		3,7	31,1		
P4		4,4	36,8		
P5		3,8	31,6		

Os resultados obtidos para o tamanho de cristalito para cada reflexão analisada foram comparados utilizando o teste *t-Student*. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os valores encontrados ($p > 0,05$), com um grau de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$). A largura a meia altura (B) contém contribuições do tamanho dos cristalitos e de microtensões que são as deformações nos cristalitos da amostra causadas por distorções na rede cristalina. Logo, não se verificaram distorções significativas para as amostras de esmalte em pó.

5.2 Amostras em lâminas.

As medidas para as lâminas foram realizadas em uma geometria com θ fixo em 1° e o detector varrendo a região angular de 24° a 52° . A amostra permaneceu fixa. Efeitos de orientação preferencial são esperados devido ao esquema experimental. A abertura das fendas que melhor se ajustou foi de 0,03mm horizontal e 0,04mm vertical. O tempo de contagem foi de 8 segundos, em média, para cada passo de $0,04^\circ$ em 2θ . A energia utilizada para as medidas foi 8keV. Dessa forma, a região analisada corresponde à mesma região de momentum transferido das amostras em pó.

5.2.1 Esmalte de controle

A figura 24 mostra o perfil de amostras em lâminas, que foram comparadas com o perfil da HAp já utilizado. O perfil padrão da HAp também foi incluído na figura 24. Os perfis de difração experimentais foram analisados usando, da mesma forma que para o pó, o programa Origin 8.0[®]. Apesar dos picos mais estreitos a mesma curva de ajuste foi utilizada (*pseudo-voigt*) A figura 25 apresenta uma área ampliada de um perfil típico mostrando as reflexões mais intensas (121), (112), (300) e (202).

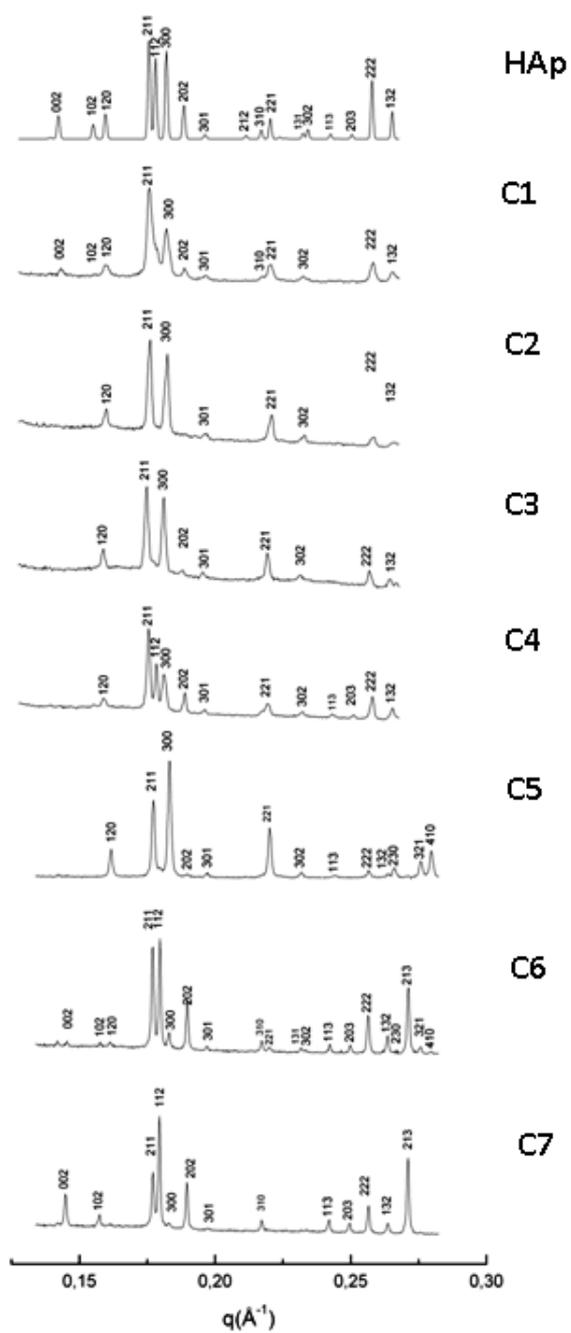


Figura 24: Perfis de difração das amostras de esmalte controle em lâminas e da HAp padrão (ICSD CIF 99358).

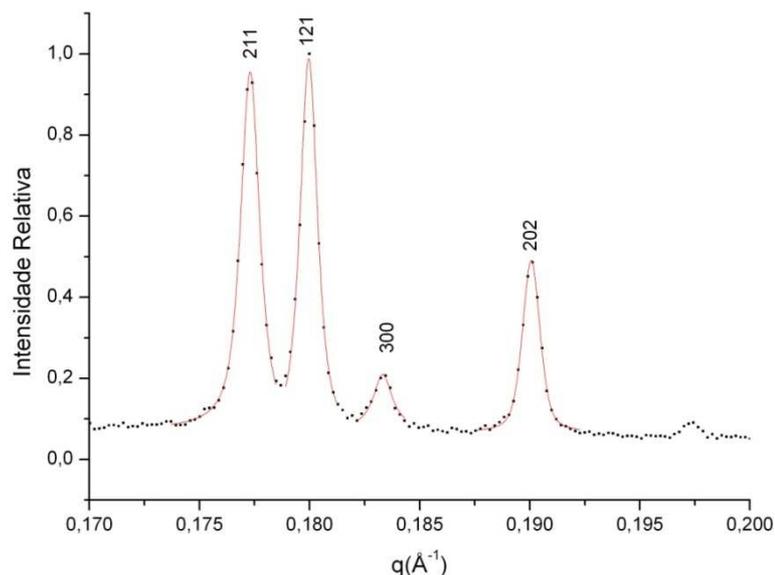


Figura 25: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte controle em lâmina. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.

A tabela 6 apresenta os valores ajustados encontrados para o argumento do momentum transferido para cada reflexão analisada. Em algumas amostras, certas reflexões são de baixa intensidade e não puderam ser observadas.

Tabela 6: Valores de *momentum transferido* para cada uma das reflexões do esmalte controle.

Amostras	q (\AA^{-1})			
	(211)	(112)	(300)	(202)
HAp	0,1776	0,1799	0,1838	0,1901
C1	0,1779	-	0,1839	0,1904
C2	0,1779	-	0,1841	-
C3	0,1768	-	0,1829	0,1895
C4	0,1775	0,1803	0,1830	0,1904
C5	0,1772	-	0,1832	-
C6	0,1770	0,1797	0,1831	0,1897
C7	0,1771	0,1798	0,1832	0,1899
Média	0,1773	0,1799	0,1833	0,1900
Desvio Padrão	0,00045	0,00033	0,00046	0,00042

As distâncias interplanares d_{hkl} calculadas para cada reflexão estudada nas amostras em lâmina de esmalte de controle são listadas na tabela 7. As distâncias interplanares para as reflexões do esmalte nas amostras em lâmina são menores que as distâncias para o esmalte em pó. Somente para a reflexão (300) não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre os valores médios encontrados para as amostras em pó e em lâmina ($p=0,08$), com um grau de confiança de 95% ($\alpha=0,05$). O aumento do desvio padrão das medidas nas tabelas 6 e 7 em comparação com os valores encontrados para as amostras em pó (tabela 4) deve-se às reflexões não observadas nos perfis de difração das amostras em lâmina.

Tabela 7: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte controle nas amostras em lâmina.

Amostras	d_{hkl} (Å)			
	(211)	(112)	(300)	(202)
HAp	2,8153	2,7793	2,7203	2,6302
C1	2,8106	-	2,7189	2,6261
C2	2,8106	-	2,7159	-
C3	2,8281	-	2,7337	2,6385
C4	2,8169	2,7732	2,7322	2,6261
C5	2,8217	-	2,7293	-
C6	2,8249	2,7824	2,7307	2,6357
C7	2,8233	2,7809	2,7293	2,6330
Média	2,8194	2,7788	2,7271	2,6319
Desvio Padrão	0,0069	0,0050	0,0069	0,0057

As intensidades relativas obtidas através dos perfis de difração para cada reflexão estudada estão mostradas na figura 26.

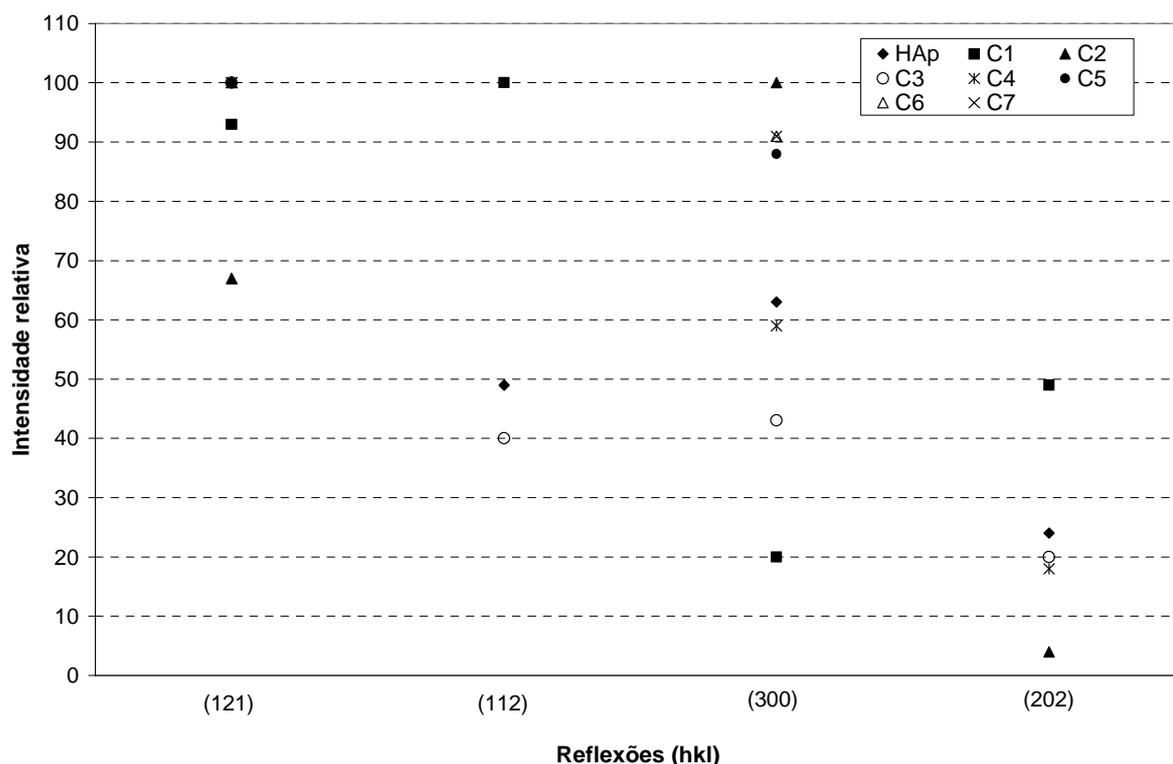


Figura 26: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte de controle nas amostras em lâmina.

O tamanho dos cristalitos e os valores de $1/B$ foram também calculados para as reflexões (121), (112), (300) e (202) e estão listados na tabela 8. Os valores das larguras dos picos B não puderam ser avaliados nas reflexões de baixa intensidade. Os valores de cristalinidade ($1/B$) encontrados estão coerentes com NELSON et al (1984) que obtiveram os perfis de difração do esmalte dentário bovino (amostras em lâminas) e encontraram a cristalinidade média igual a $4,0 (2\theta)^{-1}$ para as reflexões (102) e (210).

Fica evidente que os perfis de difração do esmalte dentário das amostras em lâmina são diferentes daqueles obtidos para o esmalte em pó. As diferenças encontradas incluem variação na cristalinidade e orientação preferencial. O aumento na cristalinidade é reconhecido pela diminuição da largura do pico. A orientação preferencial está relacionada diretamente com o posicionamento da amostra no equipamento e as condições de preparação da amostras.

Tabela 8: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito do esmalte de controle para as amostras em lâmina.

Amostras	Reflexão	$1\lambda B (2\theta^{-1})$	t(nm)	\bar{t} (nm)	σ_t
C1	(211)	3,3	25,6	38,4	7,0
C2		5,0	39,2		
C3		5,1	39,8		
C4		5,9	46,6		
C5		5,8	44,7		
C6		4,4	33,6		
C7		5,1	39,2		
C1	(112)	-	-	58,2	8,6
C2		-	-		
C3		5,6	-		
C4		8,7	68,0		
C5		6,7	51,7		
C6		-	-		
C7		7,2	55,0		
C1	(300)	3,3	25,9	47,2	26,7
C2		5,3	41,4		
C3		13,4	105,4		
C4		5,2	40,4		
C5		6,4	49,2		
C6		4,4	33,5		
C7		4,5	34,8		
C1	(202)	4,9	38,2	46,6	15,9
C2		-	-		
C3		-	-		
C4		8,7	67,8		
C5		6,4	49,0		
C6		-	-		
C7		4,1	31,5		

Na tabela 8 foi possível observar que o tamanho médio dos cristalitos apresenta resultados maiores do que para as amostras de esmalte em pó, o que é uma consequência da maior quantidade de defeitos existentes na rede do material provocada pelo processo de pulverização.

5.2.2 Esmalte Fluorótico

A figura 27 mostra o perfil do esmalte fluorótico das amostras em lâminas que foram indexados usando o perfil da fluorapatita (FAp) (ICSD CIF 99363). Os perfis de difração experimentais foram analisados da mesma forma que as amostras em pó e de controle. A figura 28 apresenta uma área ampliada de um perfil típico mostrando as reflexões mais intensas (121), (112), (300) e (202).

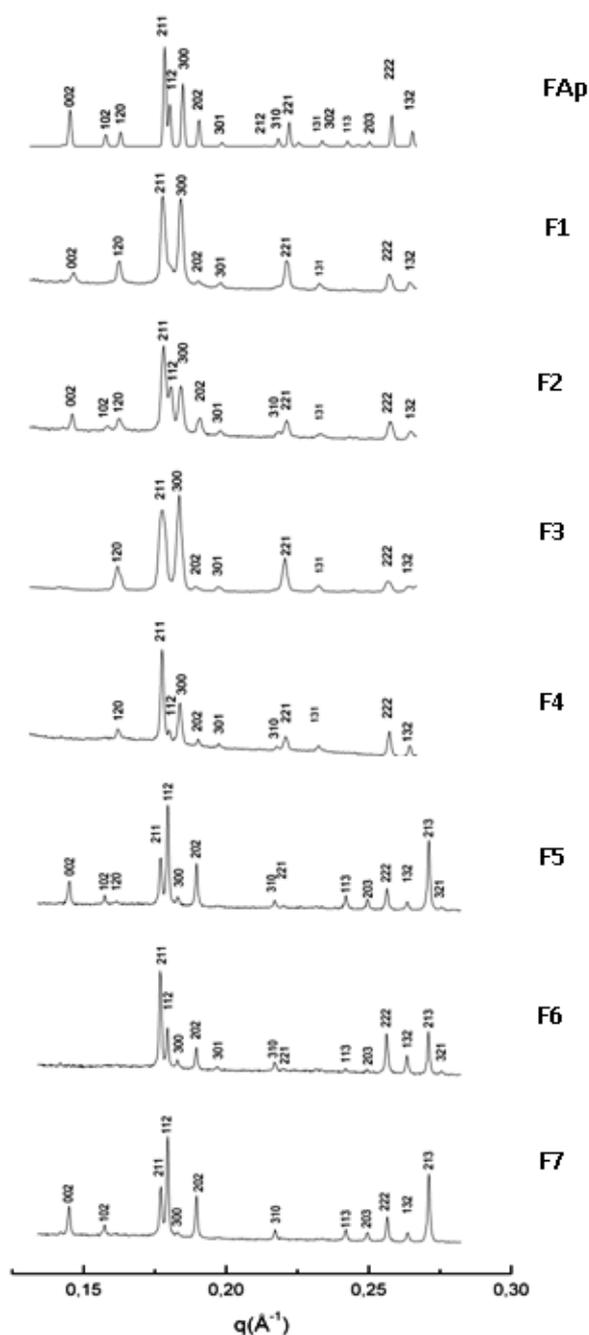


Figura 27: Perfis de difração de esmaltes fluoróticos das amostras em lâminas e da FAp (ICSD CIF 99363).

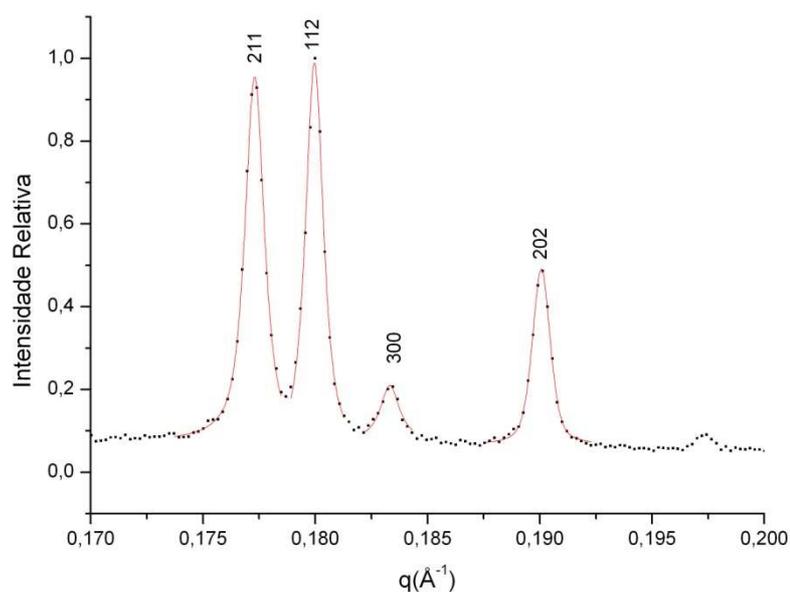


Figura 28: Quatro reflexões mais intensas observadas em um típico perfil de difração para amostras de esmalte fluorótico. Dados medidos (pontos) e ajuste calculado (linha sólida) são mostrados.

Os dados extraídos do ajuste das lâminas fluoróticas estão apresentados na tabela 9 juntamente com valores de *momentum* transferido da FAp. As distâncias interplanares correspondentes a cada reflexão estão mostradas na tabela 10.

Tabela 9: Valores de *momentum transferido* para cada uma das reflexões das amostras fluoróticas em lâmina.

Amostras	$q \text{ (}\text{\AA}^{-1}\text{)}$			
	(211)	(112)	(300)	(202)
FAp	0,1784	0,1803	0,1848	0,1905
F1	0,1779	-	0,1841	0,1905
F2	0,1780	0,1806	0,1841	0,1908
F3	0,1777	-	0,1835	-
F4	0,1775	0,1801	0,1838	0,1902
F5	0,1771	0,1795	0,1831	0,1896
F6	0,1769	0,1794	0,1829	0,1895
F7	0,1770	0,1795	0,1831	0,1896
Média	0,1774	0,1798	0,1835	0,1900
Desvio Padrão	0,00045	0,00052	0,00050	0,00051

Tabela 10: Valores de distâncias interplanares calculadas para cada uma das reflexões do esmalte fluorótico nas amostras em lâmina.

Amostras	d_{hkl} (Å)			
	(211)	(112)	(300)	(202)
FAp	2,8027	2,7732	2,7056	2,6247
F1	2,8106		2,7159	2,6247
F2	2,8090	2,7685	2,7159	2,6205
F3	2,8137		2,7248	
F4	2,8169	2,7762	2,7203	2,6288
F5	2,8233	2,7855	2,7307	2,6371
F6	2,8265	2,7871	2,7337	2,6385
F7	2,8249	2,7855	2,7307	2,6371
Média	2,8178	2,7806	2,7246	2,6311
Desvio Padrão	0,0071	0,0080	0,0074	0,0076

Os valores encontrados para d_{hkl} para o esmalte de controle (tabela 7) e fluorótico (tabela 10) das amostras em lâmina não apresentam diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,26$), com um grau de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$). As intensidades das reflexões mais intensas estão mostradas na figura 29.

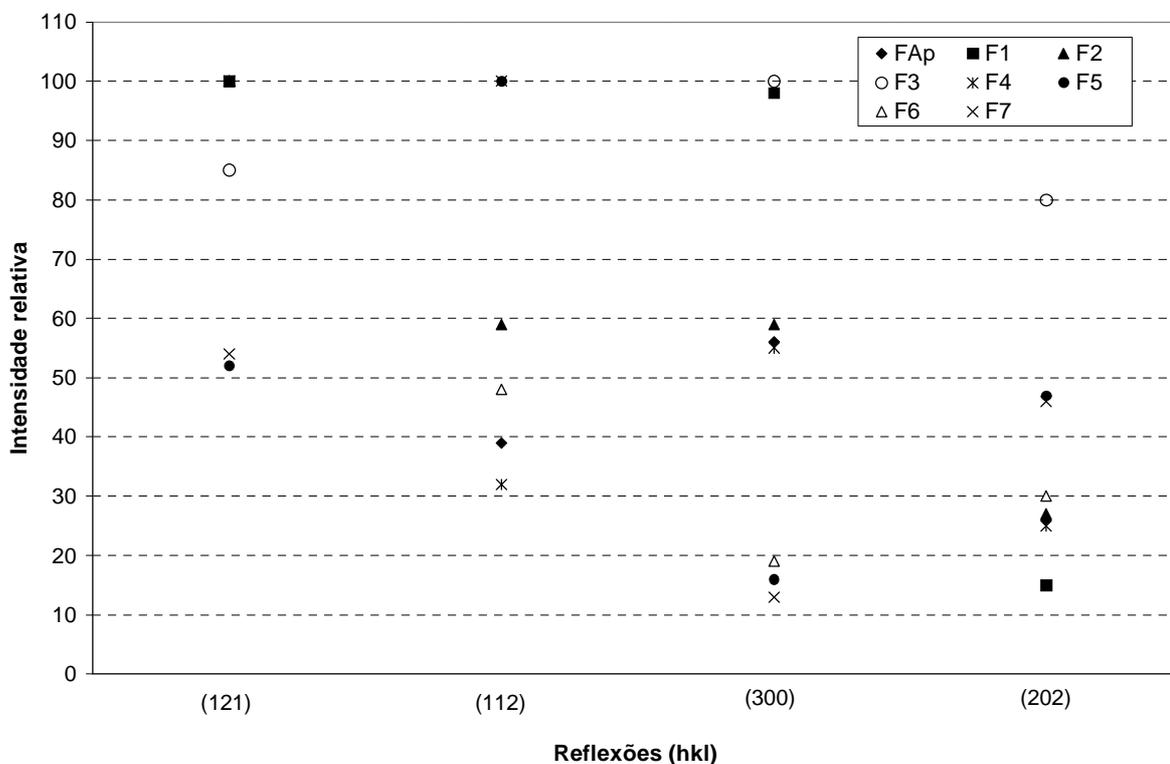


Figura 29: Intensidades relativas obtidas a partir do perfil de difração do esmalte fluorótico nas amostras em lâmina.

O alargamento dos picos (B) e o tamanho dos cristalitos (t) foram determinados utilizando a mesma metodologia aplicada para as amostras em pó e de controle. O tamanho dos cristalitos e os valores de 1/B calculados para as reflexões (121), (112), (300) e (202) estão listados na tabela 11. A cristalinidade e tamanho de cristalito do esmalte fluorótico estão coerentes com os valores encontrados para o esmalte de controle.

Tabela 11: Valores de cristalinidade e tamanho de cristalito para as amostras de esmalte fluorótico das amostras em lâmina.

Amostras	Reflexão	$1/B$ ($2\theta^{-1}$)	t(nm)	\bar{t} (nm)	σ_t
F1	(211)	4,1	32,3	38,7	8,7
F2		4,2	32,7		
F3		3,2	25,2		
F4		6,2	48,7		
F5		5,4	41,9		
F6		6,0	46,4		
F7		5,6	43,3		
F1	(112)	-	-	60,6	23,5
F2		4,9	38,4		
F3		-	-		
F4		12,8	100,4		
F5		6,8	52,1		
F6		7,8	59,7		
F7		6,8	52,3		
F1	(300)	4,5	35,2	41,8	7,1
F2		4,7	36,8		
F3		4,1	32,0		
F4		6,0	47,0		
F5		5,6	43,3		
F6		6,6	50,3		
F7		6,2	47,9		
F1	(202)	5,4	41,9	57,5	25,9
F2		4,8	37,4		
F3		-	-		
F4		13,9	108,5		
F5		6,5	49,4		
F6		7,4	56,7		
F7		6,7	51,0		

A hidroxiapatita (HAp) e a fluorapatita (FAP) formam cristais com a mesma estrutura hexagonal e mesmo grupo de simetria ($P6_3/m$). HAp apresenta parâmetros de rede $a=b=0,9422\text{nm}$, $c=0,6880\text{nm}$ (JONES, 2001). Na FAp, os íons de flúor estão localizados ao longo do eixo c ($a=b=0,9367\text{nm}$, $c=0,6884\text{nm}$). As figuras 30a e 30b mostram, respectivamente as estruturas cristalinas da HAp e FAp reconstruídas usando o programa PowderCell e os parâmetros dados pelas fichas cristalográficas ICSD 99358 (hidroxiapatita) e 99363 (fluorapatita).

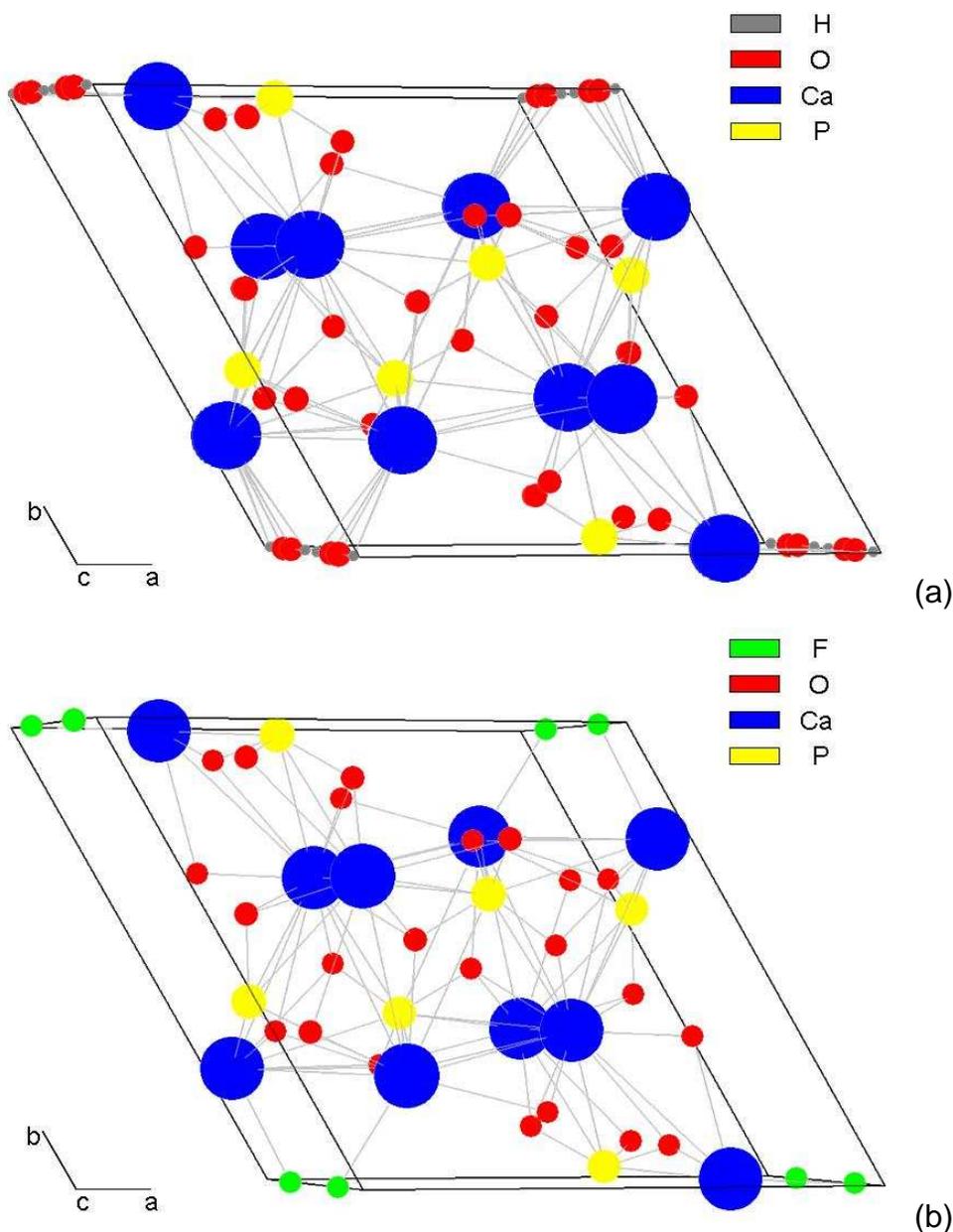


Figura 30: Estruturas cristalinas idealizadas da HAP (a) e FAP (b), vistas ao longo do eixo c .

A habilidade do sistema em resolver os picos no espaço do *momentum* transferido depende da resolução angular do difratômetro e da resolução em energia do detector. Neste trabalho, as incertezas associadas ao *momentum* transferido são menores que $0,0008\text{\AA}^{-1}$. Nas amostras em lâmina, as posições dos picos dos esmaltes de controle e fluorótico não foram significativamente diferentes levando-se em conta a sobreposição e alargamento dos picos devido aos efeitos gerados pela orientação preferencial.

Os resultados apresentados foram publicados em ALMEIDA *et al* (2009a e 2009b) e BARROSO *et al* (2010).

6 CONCLUSÃO

"O sucesso é uma consequência e não um objetivo."

Gustave Flaubert

Neste trabalho a técnica de difração de raios X usando radiação síncrotron foi utilizada para caracterização do esmalte dentário humano. Perfis de difração de esmalte saudável em pó e em lâminas (esmalte de controle e fluorótico) foram obtidos na linha de difração de raios X do LNLS.

A evidente similaridade entre os perfis de difração mostraram a analogia entre as estruturas do esmalte dentário e a HAp padrão. Comparando os valores médios encontrados para a posição dos picos de difração do esmalte dentário com a posição esperada para a HAp, observa-se uma pequena diminuição nos valores do *momentum* transferido. O deslocamento dos picos pode estar relacionado a substituições atômicas que ocorrem na célula cristalina alterando os parâmetros de rede. Este resultado é esperado visto que, no final do processo de maturação, o esmalte possui 95% de material inorgânico, cujo principal constituinte é a HAp.

O tamanho médio dos cristalitos para o esmalte de controle nas amostras em lâmina é maior do que para as amostras de esmalte em pó, o que é uma consequência da maior quantidade de defeitos existentes na rede do material provocada pelo processo de pulverização. Fica evidente que os perfis de difração do esmalte dentário das amostras em lâmina são diferentes daqueles obtidos para o esmalte em pó. As diferenças encontradas incluem variação na cristalinidade e orientação preferencial. A orientação preferencial está relacionada diretamente com o posicionamento da amostra no equipamento e as condições de preparação da amostras.

A forma dos perfis de difração depende: (a) da contribuição espectral da fonte de raios X; (b) dos parâmetros geométricos do arranjo experimental e (c) das características microestruturais do material (tamanho de cristalito e efeitos de microtensões). A influência dos dois primeiros fatores no alargamento dos picos de difração pode ser minimizada através da utilização de geradores de raios X altamente estabilizados ou pelo uso da radiação síncrotron e pela adoção de goniômetros de alta precisão. Portanto, neste trabalho, os efeitos instrumentais

foram minimizados e o alargamento passa a ser predominantemente função das características microestruturais do material.

Os valores encontrados para as distâncias interplanares para o esmalte de controle e fluorótico das amostras em lâmina não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Isto pode ser explicado pelo fato que a hidroxiapatita e a fluorapatita formam cristais com a mesma estrutura hexagonal, mesmo grupo de simetria e têm parâmetros de rede muito próximos, os quais a habilidade do sistema não foi suficiente para resolver. Nas amostras em lâmina, as posições dos picos dos esmaltes de controle e fluorótico não foram significativamente diferentes levando-se em conta a sobreposição e alargamento dos picos devido aos efeitos gerados pela orientação preferencial. Além disso, a concentração de fluorapatita nos esmaltes fluoróticos pode estar abaixo do limite de detecção do sistema.

Finalmente, este trabalho mostra que a difração de raios X usando radiação síncrotron é uma técnica poderosa para o estudo da cristalografia e microestrutura do esmalte dentário e, ainda, pode ser igualmente aplicada no estudo de outros tecidos biológicos duros e de biomateriais sintéticos.

As perspectivas serão apresentadas como propostas de continuidade a alguns estudos ainda não finalizados que serão citados a seguir:

1. É sabido que as regiões do dente natural têm composição e estrutura próprias. Essas diferentes regiões dos dentes podem ser facilmente analisadas usando difração de raios X. Portanto, a caracterização da dentina e dentina circumpulpar é objetivo de um próximo trabalho.
2. A técnica de difração de raios X em amostras policristalinas pode ser usada para identificar as fases cristalinas das nanopartículas. É objeto de trabalho futuro confirmar teoricamente a estrutura e extrair informações cristalográficas, através do refinamento de Rietveld, das diferentes regiões do dente humano usando amostras em pó.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAMI, A.; ARFELLI, F.; BARROSO, R. C.; BERGAMASCHI, A.; BILLE, F.; BREGANTE, P.; BRIZZI, F.; CASARIN, K.; CASTELLI, E.; CHENDA, V.; DALLA PALMA L.; DREOSSI, D.; FAVA, C.; LONGO, R.; MANCINI, L.; MENK, R. H.; MONTANARI, F.; OLIVOB, A.; PANI, S.; PILLONA, A.; QUAI, E.; KAISER, S.; R.; RIGON, L.; ROKVIC, T.; TONUTTI, M.; TROMBA, G.; VASCOTTO, A.; VENANZI, C.; ZANCONATI, F.; ZANETTIC, A.; ZANINI, F. Medical applications of synchrotron radiation at the SYRMEP beamline of ELETTRA, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 548, p. 221-227, 2005.

AKSIROV, A. M.; GERASIMOV, V. S.; KONDRATYEV, V. I.; KORNEEV, V. N.; KULIPANOV, G. N.; LANINA, N. F.; LETYAGIN, V. P.; MEZENTSEV, N. A.; SERGIENKO, P. M.; TOLOCHKO, B. P.; TROUNOVA, V. A.; VAZINA, A. A. Biological and medical application of SR from the storage rings of VEPP-3 and "Siberia-2". The origin of specific changes of small-angle X-ray diffraction pattern of hair and their correlation with the elemental content. *Nuclear Instruments & Methods in Physics Research Section A - Accelerations Spectromreters Detector and Associated Equipament*, v. 470, p. 380-387, 2001.

ALLDAY, A. W., FARQUHARSON, M. J. Minimum detectable limits of measuring bone mineral density using on energy dispersive X- ray diffraction system. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 61, p. 589-592, 2001.

ALMEIDA, A.P.G. ; COLAÇO, M.V. ; PORTO, I.M. ; BRAZ, D. ; GERLACH, R.F. ; DROPPA JR, R. ; OLIVEIRA, L.F. ; BARROSO, R.C. . Characterization of human fluorotic enamel by X-ray diffraction. Activity Report (Laboratório Nacional de Luz Síncrotron), v. CD, p. 1-2, 2009a.

ALMEIDA, A.P.G. ; BRAZ, D. ; COLAÇO, M.V. ; BARROSO, R.C. ; PORTO, I.M. ; GERLACH, R.F. ; DROPPA JR, R. . Analysis of synchrotron X-ray diffraction patterns from fluorotic enamel samples. In: International Nuclear Atlantic Conference INAC 2009, 2009, Rio de Janeiro. Proceedings of INAC 2009, 2009b. v. DVD.

AMJAD, Z.; NANCOLLAS, G. H. The crystallization of fluorapatita: A constant composition study. *Journal of Colloid and Interface Science*, v. 82, p. 394-400, 1981.

AOBA, T. The effect of fluoride on apatite structure and growth. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. v. 8, p. 136-153, 1997.

AOBA, T.; FERJERSOV, O. Dental fluorosis: Chemistry and biology. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*. v.13, p. 155-170, 2002.

AOBA, T.; MORENO, E. C.; TANABE, T.; FUKAE, M. Effects of fluoride on matrix proteins and their properties in rat secretory enamel. *Journal of Dental Research*, v. 69(6), p. 1248-1255, 1990.

ARFELLI, F.; BONVICINI, V.; BRAVIN, A.; CANTATORE, G.; CASTELLI, E.; DALLA, L.; PALMA, M. D.; MICHIEL, M. D.; FABRIZIOLI, M.; LONGO, R.; MENK, R. H.; OLIVO, A.; PANI, S.; PONTONI, D.; POROPAT, P.; PREST, M.; RASHEVSKY, A.; RATTI, M.; RIGON, L.; TROMBA, G.; VACCHI, A.; VALLAZZA,

E.; ZANCONATI, F. Mammography with Synchrotron Radiation: Phase-Detection Techniques, *Radiology*, v. 215, p. 286-293, 2000.

AZÁROFF, L. V.; BUERGER, M. J. The powder method in X-ray crystallography. U.S.A. New York. McGraw- Hill Book Company, 1958.

BATCHELAR, D. L.; CHUN, S. S.; WOLLIN, T. A.; TAN, J. K.; BEIKO, D. T.; CUNNINGHAM, I. A. Predicting urinary stone composition using x-ray coherent scatter: a novel technique with potential clinical applications. *Journal Of Urology*, v. 168, p. 260-265, 2002.

BATCHELAR, D. L.; DAVIDSON, M. T. M.; DABROWSKI, W.; CUNNINGHAM, I. A. Bone-composition imaging using coherent-scatter computed tomography: Assessing bone health beyond bone mineral density. *Medical Physics*, v. 33, p. 904-915, 2006.

BARROSO, R.C.; LOPES, R.T.;GONÇALVES, O. D.; JESUS, E. F. O. Anglo-dispersive diffraction with synchrotron radiation at Laboratório Nacional de Luz Síncotron (Brazil): potential for use in biomedical imaging. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 53, p. 717-724, 2000.

BARROSO, R. C.; LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O.; OLIVEIRA, L. F.; ANJOS, M. J. Measurements of differential cross section for X- ray diffraction in amorphous materials using synchrotron radiation. *Penetrating Radiation Systems and Applications II*, v. 4142, p. 101-107, 2000.

BARROSO, R. C.; LOPES, R.T.; JESUS, E. F. O.; OLIVEIRA L. F. X-ray diffraction microtomography using synchrotron radiation. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v.471, p.75–79, 2001.

BARROSO, R. C.; BRAZ, D.; ANJOS, M. J., LOPES, R. T.; CASTRO, C. R. F. Scattered radiation from radiographic intensifying screen: a Monte Carlo simulation. *Penetrating Radiation Systems and Applications III*, v. 4508, p.188-192, 2001.

BARROSO, R. C.; ANJOS, M. J., LOPES, R. T.; JESUS, E. F. O; SIMABUCO, S. M.; BRAZ, D.; CASTRO, C. R. F. Matrix characterization using synchrotron radiation X-ray diffraction. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 61, p. 739–741, 2001.

BARROSO, R. C.; OLIVEIRA, L. F.; CASTRO, C. R. F.; LIMA, J. C.; BRAZ, D.; LOPES, R. T. DROPPA, R.; TROMBA, G.; MANCINI, L.; ZANINI, F.; RIGONE, L.; DREOSSI, D. Quantitative evaluation of bone-mineral density loss using X-ray coherent scattering. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 579, p. 318–321, 2007.

BARROSO, R.C. ; PORTO, I.M. ; COLAÇO, M.V. ; GERLACH, R.F. ; DROPPA JR, R. ; BRAZ, D. . Analysis of synchrotron x-ray diffraction patterns from fluorotic enamel samples. In: XX Reunião Anual de Usuário do LNLs, 2010, Campinas. Book of Abstracts da XX RAU, 2010. v. 1. p. 1.

BHATT, P. A.; PAUL, P. Analysis of urinary stone constituents using powder X-ray diffraction and FT- IR. *Journal of Chemical Sciences*, v. 120, p. 267-273, 2008.

BRADLEY, D. A.; FARQUHARSON, M. J.; GUNDOGDU, O.; AL-EBRAHEEM A., ISMAIL, E.C.; KAABAR, W.; BUNK, O.; PFEIFFER, F.; FALKENBERG, G.; BAILEY, M. Applications of condensed matter understanding to medical tissues and disease progression: elemental analysis and structural in egrity of tissues caffolds. *Radiation Physics and Chemistry*, v.79, p.162–175, 2010.

CASTRO, C. R. F.; BARROSO, R. C.; ANJOS, M. J.; LOPES, R. T.; BRAZ, D. Coherent scattering characteristics of normal and pathological breast human tissues. *Radiation Physics and Chemistry*, v.71, p.649–651, 2004.

CASTRO, C. R. F.; BARROSO, R. C.; OLIVEIRA, L. F.; LOPES, R. T. Coherent scattering X-ray imaging at the Brazilian National Synchrotron Laboratory: Preliminary breast images. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v.548, p.116–122, 2005.

CASTRO, C. R. F.; BARROSO, R. C.; LOPES, R. Scattering signatures for some human tissues using synchrotron radiation. *X-Ray Spectrometry*, v.34, p.477–480, 2005

CESAREO, R.; HANSON, A. L.; GIGANTE, G. E.; PEDRAZA, L. J.; MATHABOALLY, S. Q. G. Interaction of kev photons with matter and new applications. *Physics Reports*, v. 213, p. 117-178, 1992.

CHAKRABORTY, S.; BAG, S.; PAL, S.; MUKHERJEE, A. K. Structural and microstructural characterization of bioapatites and synthetic hydroxyapatite using X-ray powder diffraction and Fourier transform infrared techniques, *Journal Applied Crystallography*, v.39, p. 385–390, 2006.

CONNOR, D. M.; SAYERS, D.; SUMMER, D. R.; ZHONG, Z. Diffraction enhanced imaging of controlled defects within bone, including bone- metal gaps. *Physics in Medicine and Biology*, v. 51, p. 3283- 3300, 2006.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. *Elements of x-ray diffraction*. 3rd ed., U. S. A : Prentice Hall, 2001.

DAVIDSON, M. T. M.; BATCHELAR, D. L.; VELUPILLAI, S.; DENSTEDT, J. D.; CUNNINGHAM, I. A Laboratory coherent-scatter analysis of intact urinary stones with crystalline composition: a tomographic approach. *Physics in Medicine and Biology*, v. 50, p. 3907-3925, 2005.

DAVIDSON, M. T. M.; BATCHELAR, D. L.; VELUPILLAI, S.; DENSTEDT, J. D.; CUNNINGHAM, I. A Analysis of urinary stone components by x-ray coherent scatter: characterizing composition beyond laboratory x-ray diffractometry, *Physics In Medicine and Biology*, v. 50, p. 3773–3786, 2005.

DAVIDSON, M. T. M.; BATCHELAR, D. L.; CHEW, B. H.; DENSTEDT, J. D.; CUNNINGHAM, I. Establishing composition and structure of intact urinary calculi by X-Ray coherent scatter for clinical laboratory investigations, *Journal Of Urology*, v. 175, p. 2336-2340, 2006.

DAWSON, C.; HORROCKS, J. A.; WONG, R.; SPELLER, R. D.; HITFIELD, H. N. Low-angle x-ray scattering signatures of urinary calculi. *World Journal Of Urology*, v. 14, p. S43–S47, 1996.

DEAKINS, M.; VOLKER, I. F. Amount of organic matter in enamel from several types of human teeth. *Journal of Dental Research*, v. 20(2), p. 117–21, 1941.

DEAN, H. T. Classification of mottled enamel diagnosis. *Journal of the American Dental Association*, v. 21, p. 1421-1426, 1934.

DENBESTEN, P. K. Effects of fluoride on protein secretion and removal during enamel development in the rat. *Journal Of Dental Research*, v. 65 p.1272-1277, 1986.

DENBESTEN, P. K.; HEFFERNAN, L. M.; TREADWELL, B. V.; AWBREY, B. J. The presence and possible functions of the matrix metalloproteinase collagenase activator protein in developing enamel matrix. *Biochemical Journal*, v. 264, p. 917-920, 1989.

DESOUKY, O. S.; ELSHEMEY, W. M.; SELIM, N. S.; ASHOUR, A. H. Analysis of low-angle x-ray scattering peaks from lyophilized biological samples. *Physics in Medicine and Biology*, v. 46, p. 2099–2106, 2001.

DESOUKY, O. S.; ELSHEMEY, W. M.; SELIM, N. S.; ASHOUR, A. H. X-ray scattering signatures of β -thalassemia. *Nuclear Instruments & Methods In Physics Research Section A-Accelerators Spectrometers Detectors And Associated Equipment*, v. 607, p. 463-469, 2009.

MEYER, J. L.; EANES, E. D. A thermodynamic analysis of the amorphous to crystalline calcium phosphate transformation. *Calcified Tissue Research*, v. 25, p. 59-68, 1978.

ELSHEMEY, W. M.; ELSAYED, A. A.; EL-LAKKANI, A. Characteristics of low-angle X-ray scattering from some biological samples. *Physics in Medicine and Biology*, v.44 p.2907–2915, 1999.

ELSHEMEY, W. M.; DESOUKY, O. S.; MOHAMMED, S.; ELSAYED, A. A.; EL-HOUSEINI, M. E. Characterization of cirrhosis and hepatocellular carcinoma using low-angle x-ray scattering signatures of serum. *Physics in Medicine and Biology*, v. 48, p. N239–N246, 2003.

ELSHEMEY, W. M.; MOHAMMAD, I. A.; ELSAYED, A. A. Wide-angle X-ray scattering as a probe for insulin denaturation. *International Journal Of Biological Macromolecules*, v. 46, p. 471-477, 2010.

EASTOE, J. E. FEJERSKOV, O. Composition of enamel proteins from fluorosed teeth. In: Fearnhead RW, Suga S, editors. *Tooth Enamel IV*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, 326-330, 1984.

EVANS, S. H.; BRADLEY, D. A.; DANCE, D. R.; BATEMAN, J. E.; JONES, C. H. Measurement of small- angle photon scattering for breast tissue and tissue substitute materials. *Physics in Medicine and Biology*, v. 36, p. 7-18, 1991.

- FARQUHARSON, M.J.; LUGGAR, R.D.; SPELLER, R.D. Multivariate calibration for quantitative analysis of EDXRD spectra from bone phantom. *Applied Radiation and Isotopes*, v. 48, p. 1075-1082, 1997.
- FARQUHARSON, M.J.; SPELLER, R.D.; BRICKLEY, M. Measuring bone mineral density in archeological bone using energy dispersive low angle X-ray scattering techniques. *Journal of Archaeological Science*, v.24, p. 765-772, 1997.
- FEJERSKOV, O.; YANAGISAWA, T.; TOHDA, H.; LARSEN M. J.; JOSEPHSEN, K.; MOSHA, H. J. Post-eruptive changes in human dental fluorosis: a histological and ultrastructural study. *Proceedings of the Finnish Dental Society*, v. 87(4), p. 607-619, 1991.
- FEJERSKOV, O.; LARSEN, M. J.; RICHARDS, A.; BAELUM, V. Dental tissue effects of fluoride. *Advances Dental Research*, v. 8(1), p. 15-31, 1994.
- FEJERSKOV, O.; THYLSTRUP, A.; LARSEN, M. J.; Clinical and structural features and possible pathogenic mechanisms of dental fluorosis. *Scandinavian Journal Dental Research*, v. 85, p. 510-534, 1977;
- GERLACH, R. F.; SOUZA, A. P.; CURY, J. A., LINE, S. R. P. Fluoride effect on the activity of enamel matrix proteinases in vitro. *European Journal of Oral Sciences*, v. 108, p. 48-53, 2000.
- GERLACH, R. F.; LINE, S. R. P. Ameloblastos. In: CARVALHO, H. F.; COLARES-BUZATO, C. B. *Células: uma abordagem multidisciplinar*. Barueri: Editora Manole Ltda., p. 95-107, 2005.
- HARDING, G.; KOSANETZKY, J.; NEITZEL, U. X-ray diffraction computed tomography. *Medical Physics*, v. 14(4), p. 515-525, 1987.
- HIROTA, F. Prism arrangement in human cusp enamel deduced by X-ray diffraction. *Archives Oral Biology*, v. 27, p. 931-937, 1982.
- HUSSEIN, N. A.; SHUKRI, A.; TAJUDDIN, A. A.; CHONG, C. S. LAXS investigation of finger phantoms. *Radiation Physics and Chemistry*, v. 71, p. 1077–1086, 2004.
- JACKSON, J. D. *Classical Electrodynamics*. New York: John Wiley & Sons, 1999.
- AL-JAWAD, M.; STEUWER, A.; KILCOYNE, S. H.; SHOREA, R. C.; CYWINSKID, R.; WOOD, D. J. 2D mapping of texture and lattice parameters of dental enamel, *Biomaterials*, v. 28, p. 2908–2914, 2007.
- JONES, F. H. Teeth and bones: applications of surface sciences to dental materials and related materials. *Surface Science Reports*, v. 42, p. 75-205, 2001.
- JOHNS, P. C.; YAFFE, M. J. X-ray characterization of normal and neoplastic breast tissues. *Physics in Medicine and Biology*, v. 32, p. 675-695, 1987.
- JOHNS P. C.; WISMAYER, M. P. Measurement of coherent x-ray scatter form factors for amorphous materials using diffractometers. *Physics in Medicine and Biology*, v.49, p.5233–5250, 2004.

KIDANE, G.; SPELLER, R. D.; ROYLE, G. J. HANBY, A. M. X-ray scatter signatures for normal and neoplastic breast tissues. *Physics in Medicine and Biology*, v.44, p.1791-1802, 1999.

KNOLL, G. F.; *Radiation detection and measurement*. 2nd ed. U.S.A. New York. John Wiley & Sons, 2000.

KITTEL, C.; *Introduction to Solid State Physics*. 14th ed. U.S.A. New York. John Wiley & Sons, 2005.

KOSANETZKY, J.; KNOERR B.; HARDING, G.; NEITZEL, U. X-ray diffraction measurements of some plastic materials and body tissues, *Medical Physics*, v. 14, p. 526-532, 1987.

.LECLAIR R. J.; JOHNS P. C. A semianalytic model to investigate the potential applications of x-ray scatter imaging, *Medical Physics*, 25, p. 1008-1020, 1998.

LECLAIR, R. J.; BOILEAU, M. M.; WANG, Y. A semianalytic model to extract differential linear scattering coefficients of breast tissue from energy dispersive x-ray diffraction measurements. *Medical Physics*, v.33, p.959-967, 2006.

LEGEROS, R. Z.; TRAUTZ, O. T. LEGEROS, J. P.; KLEIN, E. Apatite Crystallites: Effects of carbonates on morphology. *Science*, v. 155, p. 1409-1411, 1967.

LEWIS, R. Medical Applications of Synchrotron Radiation X-Rays. *Physics in Medicine & Biology*. v. 42: (7), p. 1213-1243, 1997.

LEWIS, R. A.; ROGERS, K. D.; HALL, C. J.; TOWNS-ANDREWS, E.; SLAWSON, S.; EVANS A.; PINDER, S. E.; ELLIS, I. O.; BOGGIS, C. R. M.; HUFTON, A. P.; DANCE, D. R. Breast cancer diagnosis using scattered X-rays. *Journal of Synchrotron Radiation*, v. 7, p. 348-352, 2000.

LEWIS, R. A.; WILKINSON, S. J.; ROGERS, K. D.; HALL, C. J.; ROUND, A.; PINDER, S. E.; BOGGIS, C. R. M.; HUFTON, A. P.; Small angle diffraction imaging for disease diagnosis. *Nuclear Instruments & Methods In Physics Research Section A-Accelerators Spectrometers Detectors And Associated Equipment*, v. 548, p. 135-139, 2005.

LIMA, J.C.; BARROSO, R.C.; BRAZ, D.; DROPPA, R. J.; OLIVEIRA, L.F.; LOPES, R.T. Evaluation of bone mineral density loss using an X-ray powder diffractometer and synchrotron radiation at LNLS- Brazil. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 580, p. 469-472, 2007.

MARGARITONDO, G. A. Primer in synchrotron radiation: Everything you wanted to know about SEX (Synchrotron Emission of X-Rays) but were afraid to ask. *Journal of Synchrotron Radiation*, v. 2, p. 148-154, 1995.

MARGARITONDO, G.; MEULI, R.; HWU, Y.; JE, J. H. Synchrotron radiation in radiology: radiology techniques based on synchrotron sources. *European Radiology*, v.14, p. 1550-1560, 2004.

MARKOVIC, M.; FOWLER, B. O.; TUNG, M. S.; Preparation and comprehensive characterization of a calcium hydroxyapatite reference material. *Journal of Research of the National Institute of Standards and Technology*. V. 109, p. 553-568, 2004.

MEEK, K. M.; BOOTE, C. The use of X-ray scattering techniques to quantify the orientation and distribution of collagen in the corneal stroma. *Progress In Retinal And Eye Research*, v. 28(5), p.369-392, 2009.

MOREIRA, E. L.; ARAUJO, J. C.; MORAES, V. C. A.; MOREIRA, A. P. D. Análise por difração de raio-X de uma hidroxiapatita carbonatada usando o método de Rietveld. *Revista Matéria*, v. 11, n. 3, p. 494 – 502, 2007.

NELSON, D. G. A.; JONGGEBLOED, W. L.; ARENDS, J. Crystallographic structure of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: TEM and XRD considerations. *Journal Dental Research*, v. 63, p. 6-12, 1984.

PEREIRA, A. C.; CUNHA F. L. D.; MENEGHIM M. C., WERNER, C. W. Dental caries and fluorosis prevalence study in a nonfluoridated Brazilian community: trend analysis and toothpaste association. *Journal of Dentistry for Children*, v. 67(2), p. 132- 135, 183, 2000.

PERGOLIZZI, S.; SANTORO, A.; SANTORO, G.; TRIMARCHI, F.; ANASTASI, G.; Enamel fluorosis in rat's Incisor: S.E.M. and T.E.M. investigation. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol*, v. 38 (3-4) p. 95-104, 1995.

PINTO, N.G.V.; CARDOSO, E.R.; ALMEIDA, A.P.G.; BRAZ, D.; LOPES, R.T. Analysis of low-angle X-ray scattering profiles from irradiated blood samples. *International Journal Of Low Radiation*, v. 6, n. 4, p. 360-365, 2009.

PINTO, N. G. V.; FIGUEIRAS, R. A.; MENDONÇA, L.; BRAZ, D.; BARROSO R. C.; LOPES, R. T. Estudo de perfil de espalhamento usando difração de raios X de amostras de sangue irradiadas. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 30, p. 132-135, 2008.

POLETTI, M. E.; GONÇALVES, O. D.; MAZZARO, I. X-ray scattering from human breast tissues and breast-equivalent materials. *Physics in Medicine and Biology*. v. 47, p.47–63, 2002.

PORTO, I. M.; LINE; S. R. P.; LAURE, H. J.; GERLACH, R. F. Comparison of three methods for enamel protein extraction in different developmental phases of rat lower incisors. *European Journal Of Oral Sciences*, v. 114, p. 272-275, 2006.

ROBINSON. C.; CONNEL. S.; KIRKHAM. J.; BROOKES. S. J.; SHORE. R. C.; SMITH. A. M. The effect fluoride on the developing tooth. *Caries Resarch*, v. 38, p. 268-276, 2004.

SPELLER, R. Tissue Analysis Using X-Ray Scattering. *X-Ray Spectrometry*, v.28, p. 244–250, 1999.

STOCK, S. R.; DE CARLO, F.; ALMER, J. D.; High energy X-ray scattering tomography applied to bone. *Journal of Structural Biology*, v. 161, p. 144–150, 2008.

STOCK, S. R.; VIEIRA, A. E. M.; DELBEM, A. C. B.; CANNON, M. L.; XIAO, X.; DE CARLO, F. Synchrotron microcomputed tomography of the mature bovine dentinoenamel junction, *Journal of Structural Biology*, v. 161, 162-171, 2008.

ROBINSON, C.; CONNELL, S.; KIRKHAM, J.; BROOKES, S. J.; SHORE, R. C.; SMITH, A. M. The effect of fluoride on the developing tooth. *Caries Research*, v. 38, p. 268-276, 2004.

RODRIGUEZ-LORENZO, L. M.; HART, J. N.; GROSS, K. A. Structural and chemical analysis of well-crystallized hydroxyfluorapatites. *Journal of Physical Chemistry B*, v. 107, p. 8316-8320, 2003.

RYAN, E.; FARQUHARSON, M. J.; Angular dispersive x-ray scattering from breast tissue using synchrotron radiation. *Radiation Physics and Chemistry*, v.71, p.971–972, 2004

RYAN, E. A.; FARQUHARSON M. J.; FLINTON, D. M. The use of Compton scattering to differentiate between classifications of normal and diseased breast tissue. *Physics in Medicine and Biology*, v.50, p.3337–3348, 2005.

ROY, S. C.; PRATT, R. H.; KISSEL, L. Rayleigh scattering by energetic photons: Development of theory and current status. *Radiation Physic Chemistry*, v. 41, p. 725-738, 1993.

SATO, K.; HATTORI, M.; AOBA, T. Disturbed enamel mineralization in a rat incisor model. *Advances Dental Research*, v. 10(2) p. 216-224, 1996.

SIMMER, J. P.; FINCHAM, A. G. Molecular mechanisms of dental enamel formation. *Critical Reviews in Oral Biology And Medicine*. v. 6, p. 84-108, 1995.

SMITH. C. E. Cellular and chemical events during enamel maturation. *Critical Reviews Oral Biology & Medicine*, v. 9, p. 128-161, 1998.

SMITH, C. E.; NANCI, A.; DENBESTEN, P. K. Effects of chronic fluoride exposure on morphometric parameters defining the stages of amelogenesis and ameloblast modulation in rat incisors. *Anatomical Record*, v. 237, p. 243-258, 1993.

SUGA, S. Enamel hypomineralization viewed from the pattern of progressive mineralization of human and monkey developing enamel. *Advances in Dental Research*, v. 3(2), p. 188-198, 1989.

SUTOR, D. J.; SCHEIDT, S. Identification standards for human urinary calculus components, using crystallographic methods. *British Journal Urology International*. v. 40, p. 22–28, 1968.

SUORTTI, P.; THOMLINSON, W. Medical applications of synchrotron radiation. *Physics in Medicine and Biology*, v. 48, p. R1-R-35, 2003.

TAKEDA, T.; ITAI, Y.; HYODO, K.; ANDO, M.; AKATSUKA, T.; UYAMA, C. Medical applications with synchrotron radiation in Japan. *Journal of Synchrotron Radiation*. v. 5, p. 326-332, 1998.

Tanimoto K.; Le,T.; Zhu, L.; Chen, J.; Featherstone, J.D.B; Li, W.; DenBesten, P. Effects of fluoride on the interactions between amelogenin and apatite crystals. *Journal of Dental Research*, v. 87, p. 39-44, 2008.

THEODORAKOU, C.; FARQUHARSON, M. J. Human soft tissue analysis using x-ray or gamma-ray techniques. *Physics in Medicine and Biology*, v. 53, p.111–149, 2008.

THEODORAKOU, C.; FARQUHARSON, M. J. The classification of secondary colorectal liver cancer in human biopsy samples using angular dispersive X-ray diffraction and multivariate analysis. *Physics in Medicine and Biology*, v.54, p.4945–4957, 2009.

THOMLINSON, W. Applications of synchrotron radiation in the medical sciences. *Medical Physics*, v. 29(6), p. 1298-1298, 2002.

THOMLINSON, W.; FIEDLER, S.; BRAVIN, A.; KEYRILAINEN, J.; FERNANDEZ, M.; SUORTTI, P.; TENHUNEN, M.; VIRKKUNEN, P.; KARJALAINEN-LINDSBERG, M. L. Imaging lobular breast carcinoma: comparison of synchrotron radiation DEI-CT technique with clinical CT, mammography and histology. *Physics In Medicine And Biology*, v. 49, p.175-188, 2004.

THOMLINSON, W.; SUORTTI, P.; CHAPMAN, D. Recent advances in synchrotron radiation medical research. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research A*, v. 543, p. 288–296, 2005.

THYLSTRUP, A. A scanning electron microscopical study of normal and fluorotic enamel demineralized by EDTA. *Acta Odontologica Scandinavica*, v. 37(3), p. 127-135, 1979.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O.; A scanning electron microscopic and microradiographic study of pits in fluorosed human enamel. *Scandinavian Journal of Dental Research*, v. 87(2), p. 105-114, 1979.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O.; MOSHA, H. J. A polarized light and microradiographic study of enamel in human primary teeth from a high fluoride area. *Archives of Oral Biology*, v. 23, p. 373-380, 1978.

THYLSTRUP. A.; FEJERSKOV. O. Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histologic changes. *Community Dentistry And Oral Epidemiology*, v. 6, p. 315-328, 1978.

VARUGHESE. K.; MORENO. E. C.; ZAHRADNIK, R. T.; HAY, D. I. Effect of salivary macromolecules on crystal-growth kinetics of hidroxyapatite. *Journal Of Dental Research*, v. 58, p. 126-126, 1979.

VIEIRA, A.; HANCOCK, R.; LIMEBACK, H.; SCHWARTZ, M.; GRYNPAS, M. How does fluoride concentration in the tooth affect apatite crystal size? *Journal Of Dental Research*, v. 82, p. 909-913, 2003a.

VIEIRA, G. D. S.; NARESSI, S. C. M. Prevalence of caries, fluorosis, and gingival conditions in 6- to 12-year-old schoolchildren front rural public school in Sao Jose dos Campos, Brazil. *Journal Of Dental Research*, v. 82, p. B269-B269, 2003.

YAMAZAKI, H.; LITMAN, A.; MARGOLIS, H. C. Effect of fluoride on artificial caries lesion progression and repair in human enamel: regulation of mineral deposition and dissolution under in vivo-like conditions. *Archives of Oral Biology*, v. 52, p. 110-120, 2007.

YANAGISAWA, R. TAKAKUMA, S. FEJERSKOV, O. Ultrastructure and composition of enamel in human dental fluorosis. *Advances in Dental Research*, v. 3, p. 203-210, 1989.

YANAGISAWA, T.; TAKUMA, S.; TOHDA, H.; FEJERSKOV, O.; FEARNHEAD, R. W.; High resolution electron microscopy of enamel crystals in cases of human dental fluorosis. *Journal Of Electron Microscopy*, v. 38(6), p. 441-448, 1989.

YOUNG, R. A. Implications of atomics substitutions and other structural details in apatites. *Journal of Dental Research*, v. 53, p. 193-203, 1974.

YOUNG, R. A. e MACKIE, P.E. Crystallography of human tooth enamel: Initial structure refinement. *Materials Research Bulletin*, v. 15(1), p. 17–29, 1980.

YOUNG, H. D. e FREEDMAN R. A. Sears and Zemansky's University Physics: with Modern Physics. 12nd ed. Pearson, 2007.

WILSON, R. M.; ELLIOTT, J. C.; DOWKER, S. E. P. Rietveld refinement of the crystallographic structure of human dental enamel apatites. *American Mineralogist*, v. 84, p. 1406–1414, 1999.

WHITE, T.; FERRARIS, C.; KIM, J.; MADHAVI, S. Apatite – An adaptive framework structure. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry*, v. 57, p. 307-401, 2005.

WRIGHT, J. T.; CHEN, S. C.; HALL, K. I.; YAMAUCHI, M.; BAWDEN, J. W. Protein characterization of fluorosed human enamel. *Journal of Dental Research*, v. 75(12), p.1936-1941, 1996.

XUE, J.; ZHANG,L.; ZOU, L.; LIAO, Y.; LI, J.; XIAO, L.; LI, W. High-resolution X-ray microdiffraction analysis of natural teeth. *Journal of Synchrotron Radiation*, v. 15, p. 235–238, 2008.

ZACHARIASEN, W. H.; *Theory of X-Ray Diffraction in Crystals*. 1st ed. Dover Publications. New York – USA, 1967.

ZHANG, Y.; YAN, Q.; LI, W.; DENBESTEN, P.; Fluoride down-regulates the expression of matrix metalloproteinase-20 in human fetal tooth ameloblast-lineage cells in vitro. *European Journal of Oral Sciences*, v. 114(1) p. 105-110, 2006.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)