

CENTRO FEDERAL DE EDUCAÇÃO TECNOLÓGICA DE MINAS GERAIS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS
CURSO DE ENGENHARIA DE MATERIAIS

ARISTÓTELES ASPIN MANSÔR PASSOS

CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITO HIDROXIAPATITA-VIDRO BIOATIVO

BELO HORIZONTE

2014

ARISTÓTELES ASPIN MANSÔR PASSOS

CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITO HIDROXIAPATITA-VIDRO BIOATIVO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado no Curso de Graduação em Engenharia de Materiais do Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Orientador: Hermes de Souza Costa

BELO HORIZONTE

2014

ARISTÓTELES ASPIN MANSÔR PASSOS

CARACTERIZAÇÃO DE COMPÓSITO HIDROXIAPATITA-VIDRO BIOATIVO

Trabalho de Conclusão de Curso submetido à Comissão Examinadora designada pelo Colegiado do Curso de Graduação em Engenharia de Materiais, como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Materiais.

Aprovado em 25 de agosto de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Hermes de Souza Costa - Orientador

Prof. Dr. Ezequiel de Souza Costa Júnior

Prof. Dr. Paulo Renato Perdigão de Paiva

AGRADECIMENTOS

O desafio de escolher as palavras para este agradecimento é quase tão difícil quanto escrever esse trabalho de conclusão de curso. Primeiramente, gostaria de agradecer aos meus pais, José Irene e Vilma, que sempre primaram por minha educação, estando presentes, mesmo que em memória, em todos os momentos. Não posso deixar de agradecer também aos meus irmãos, Bruno e Leandro, pelos momentos juntos, crescimento e aprendizado proporcionado. Também gostaria de agradecer a Vanda pelo carinho e dedicação com a família ao longo dos anos. Na faculdade, agradeço pelo apoio e incentivo dado pelos colegas e especialmente, ao meu orientador Prof. Dr. Hermes de Souza Costa, pelos ensinamentos, orientação, paciência e dedicação que sempre demonstrou durante todo o processo de execução deste trabalho. No trabalho, agradeço aos colegas Lauro, Janaína e Maria da Conceição, pelo incentivo e presença marcante em minha vida. Finalmente, gostaria de agradecer à Thamirys, que em pouco tempo, trouxe leveza à minha vida, estando ao meu lado incondicionalmente, mesmo nos momentos difíceis. Obrigado gatinha, te amo!

*“Não sou nada.
Nunca serei nada.
Não posso querer ser nada.
À parte isso, tenho em mim
todos os sonhos do mundo...”*

Álvaro de Campos.

RESUMO

O trabalho apresenta a caracterização de um novo compósito à base de hidroxiapatita e vidro bioativo com composição de 58% (p/p) de SiO_2 , 33% (p/p) de CaO e 9% (p/p) de P_2O_5 (p/p). O material foi dividido em duas amostras, sem tratamento térmico (STT) e com tratamento térmico (CTT), se diferenciando apenas pelo fato desta última ter passado por tratamento térmico a 900°C . As amostras, bem como a hidroxiapatita utilizada como matéria prima, foram caracterizadas por meio de ensaios microscopia eletrônica de varredura (MEV), energia dispersiva por raios X (EDX) e difração de raios X (DRX). As micrografias da hidroxiapatita revelaram a presença de aglomerados de grânulos dispersos. O ensaio EDX detectou a presença dos elementos que caracterizam a hidroxiapatita. Enquanto que o difratograma apresentou picos de cristalinidade característicos para a substância. Nas amostras, as micrografias revelaram a presença de aglomerados sobre a superfície do material produzindo em determinadas regiões um relevo característico. O ensaio EDX detectou a presença dos elementos esperados no material compósito e relacionados às fases hidroxiapatita e vidro bioativo. O difratograma da amostra STT apresentou picos de cristalinidade relacionados basicamente à fase hidroxiapatita constituinte do material compósito e uma região amorfa do difratograma relacionada ao vidro bioativo. Na amostra CTT, o difratograma apresentou um acréscimo da região amorfa quando comparado com os difratogramas das amostras hidroxiapatita e STT, em concordância com a expectativa de não provocar um aumento da cristalinidade devido ao patamar de temperatura adotado no processo. A partir dos resultados tem-se um ponto de partida para a obtenção de um material que futuramente possa ser empregado na engenharia de tecidos.

Palavras-chave: Fratura óssea. Materiais compósitos. Hidroxiapatita. Vidro bioativo (BaG).

ABSTRACT

This paper presents the characterization of a new composite based on hydroxyapatite and bioactive glass composition with 58% (w / w) SiO₂, 33% (w / w) of CaO and 9% (w / w) P₂O₅ (p / p). The material was divided into two samples, without heat treatment STT and with heat treatment CTT, differing only in the fact that the latter has suffered heat treatment at 900°C. Samples, as well as hydroxyapatite used as raw material, were characterized by testing electron microscopy (SEM), energy dispersive x-ray (EDX) and x-ray diffraction (XRD). The micrographs of the hydroxyapatite revealed the presence of clusters and granules dispersed. The EDX test detected the presence of elements that characterize the hydroxyapatite. While the diffractogram showed peaks of crystallinity characteristic for this substance. In the samples, the micrographs revealed the presence of clusters on the surface of the material in certain regions producing a distinctive relief. The EDX test detected the presence of the expected composite materials and related phases hydroxyapatite and bioactive glass elements. The STT diffractogram sample showed peaks of crystallinity related primarily to the constituent phase of hydroxyapatite composite material and an amorphous region related to bioactive glass. In the sample CTT, the diffractogram showed an increase of amorphous region when compared with the XRD patterns of hydroxyapatite and STT samples, in agreement with the expectation of not causing an increase in crystallinity due to the high temperature adopted in the process. From the results it has been a starting point for obtaining a material which can be used in the future engineering tissue.

Keywords: Bone fracture. Composite materials. Hydroxyapatite. Bioactive glass (BaG).

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	III
LISTA DE TABELAS	V
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVO	2
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
3.1 Tecido ósseo	3
3.1.1 <i>Tecido ósseo</i>	3
3.1.2 <i>Histogênese óssea</i>	6
3.1.3 <i>Cicatrização óssea</i>	7
3.2 Biomateriais	9
3.2.1 <i>Biomateriais</i>	9
3.2.2 <i>Fosfatos de Cálcio</i>	10
3.2.3 <i>Hidroxiapatita</i>	11
3.3 Vidros bioativos	14
3.3.1 <i>Bioatividade</i>	14
3.3.2 <i>Biovidros</i>	14
3.4 Biomateriais Compósitos	18
3.4.1 <i>Compósito hidroxiapatita-vidro bioativo</i>	18
3.5 Métodos de Caracterização	19
3.5.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i>	20
3.5.2 <i>Detector de energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX)</i>	21
3.5.3 <i>Difração de raios X</i>	22
4. METODOLOGIA	24
4.1 Síntese do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo	25
4.2 Dessecagem do material	27

4.3 Tratamento térmico.....	27
4.4 Caracterização do material compósito e da matéria-prima hidroxiapatita	28
4.4.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX)</i>	28
4.4.2 <i>Difração de raios X</i>	29
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	30
5.1 Caracterização do pó de hidroxiapatita.....	30
5.2 Caracterização do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo: amostra sem tratamento térmico (STT)	32
5.3 Caracterização do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo: amostra sem tratamento térmico (STT)	36
6. CONCLUSÃO	40
7. REFERÊNCIAS	41

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo de matriz, canalículos e lamelas.	4
Figura 2 - Osteócito envolto pela matriz óssea.....	5
Figura 3 - Corte de osso indicando três osteoclastos (setas) digerindo a matriz óssea	5
Figura 4 - Modelo de ossificação intramembranosa.....	7
Figura 5 - Etapas do reparo de lesão óssea.	9
Figura 6 - Classificação dos materiais utilizados na engenharia de tecidos.....	10
Figura 7 - Estrutura do cristal de hidroxiapatita.	12
Figura 8 - Composições de vidros bioativos em relação a seus elementos mais importantes..	15
Figura 9 - Índice de bioatividade conforme composição em peso de vidros bioativos.....	16
Figura 10 - Rede MOn formada por policondensação.	18
Figura 11 - Componentes básicos do MEV.....	21
Figura 12 - Esquema de uma ampola de raios X.....	22
Figura 13 – Fluxograma das etapas do procedimento experimental	24
Figura 14 - Etapas do procedimento de síntese do material compósito	26
Figura 15 – Fluxograma das etapas do procedimento de síntese do material compósito.....	26
Figura 16 - Rampa de aquecimento da amostra CTT.....	27
Figura 17- Porta amostra	28
Figura 18 - Micrografias de microscopia de varredura do pó de hidroxiapatita em aumentos de 100, 500, 1000 e 2000 vezes	30

Figura 19 - Micrografia de microscopia de varredura e dimensionamento do grânulo de hidroxiapatita.....	31
Figura 20 - Difratoograma da hidroxiapatita utilizada como matéria prima do material compósito.	32
Figura 21 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes	33
Figura 22 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumento de 30 vezes.	34
Figura 23 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumento de 100 vezes	34
Figura 24 - Difratoograma da amostra STT	36
Figura 25 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra CTT em aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes	37
Figura 26 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra CTT em aumento de 100 vezes.....	37
Figura 27 - Difratoograma da amostra CTT.....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Propriedades mecânicas do osso cortical	3
Tabela 2 - Fases do fosfato de cálcio e a razão Ca/P.....	11
Tabela 3 - Propriedades mecânicas da hidroxiapatita sinterizada	13
Tabela 4 - Propriedades mecânicas de alguns tecidos duros	13
Tabela 5 - Propriedades mecânicas de vidros bioativos comerciais e de ossos.	16
Tabela 6 - Índice de bioatividade (IB) de diferentes biomateriais.	19
Tabela 7 - Resultados da análise de EDX da hidroxiapatita utilizada como matéria prima do material compósito	31
Tabela 8 - Resultados da análise de EDX da Amostra STT	35
Tabela 9 - Resultados da análise de EDX da Amostra CTT	38

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida humana, bem como a busca constante por melhores condições para desfrutá-la, tem promovido uma série de pesquisas no intuito de se obter alternativas para traumas e patologias que acarretem na perda de funcionalidade do tecido ósseo. Embora o tecido ósseo seja dinâmico e exiba a capacidade regenerativa, essa é limitada dependendo da extensão da lesão, não ocorrendo espontaneamente. Nesse aspecto, a área de biomateriais tem sido fundamental na engenharia de tecidos à medida que permite a fabricação de materiais para preenchimento que atuem como matriz e forneçam o suporte para a reparação do tecido lesionado.

A similaridade química da hidroxiapatita com a composição inorgânica da fase inorgânica do osso permite crescimento ósseo favorecendo a osteocondução, por sua vez, seu baixo índice de bioatividade e sua baixa velocidade de degradação hidrolítica ou enzimática apresentam-se como limitantes em sua aplicação como enxerto ósseo. Diferentemente da hidroxiapatita, os vidros bioativos possuem elevado índice de bioatividade, apresentando a osteoindução, a qual permite a colonização de sua superfície por células mesenquimais. Entretanto, apesar da bioatividade exibida pelos vidros bioativos, esses materiais apresentam baixa resistência mecânica e baixa tenacidade à fratura restringindo o uso por requisitos estruturais do implante (GUSTALDI, 2010).

Nesse contexto, esse trabalho propõe a obtenção de um material, no âmbito dos materiais compósitos, com características osteocondutoras e osteocondutivas, a partir da combinação de hidroxiapatita dispersa em vidro bioativo, para a intensificação das propriedades desses materiais e consequente aplicação na engenharia de tecidos como enxerto ósseo.

2. OBJETIVO

O trabalho tem o objetivo de demonstrar a síntese de material compósito de hidroxiapatita e vidro bioativo, o qual exiba morfologia e composição química que permita a sua utilização na engenharia de tecidos, podendo atuar no processo de reparação óssea. O estudo irá abordar as características e propriedades de cada fase, as técnicas de caracterização utilizadas na análise e a influência do tratamento térmico no material. Como objetivos secundários, temos:

- Descrever a síntese do material compósito.
- Analisar a morfologia da hidroxiapatita utilizada como matéria prima e do material compósito obtido por meio da técnica de microscopia eletrônica de varredura (MEV).
- Analisar quimicamente hidroxiapatita utilizada como matéria prima e o material compósito obtido por meio da técnica de detecção de energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX).
- Analisar as estruturas cristalinas e amorfas da hidroxiapatita e do material compósito por meio da técnica de difração de raios X (DRX).
- Analisar a influência do tratamento térmico no material.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Tecido ósseo

3.1.1 Tecido ósseo

O tecido ósseo representa, de modo geral, o principal constituinte do esqueleto dos vertebrados, proporcionando além de sustentação, a proteção de órgãos integrantes de sistemas vitais à manutenção do funcionamento e homeostase do organismo vivo. Alguns ossos alojam a medula vermelha, parte integrante do sistema hematocitopoiético. Os ossos apresentam também a inserção da musculatura esquelética, atuando na transmissão do movimento e atuam como depósito de cálcio, fosfato e outros íons, armazenando-os ou liberando-os de forma controlada (JUNQUEIRA, 2008). As propriedades mecânicas do osso cortical estão apresentadas na Tabela 1.

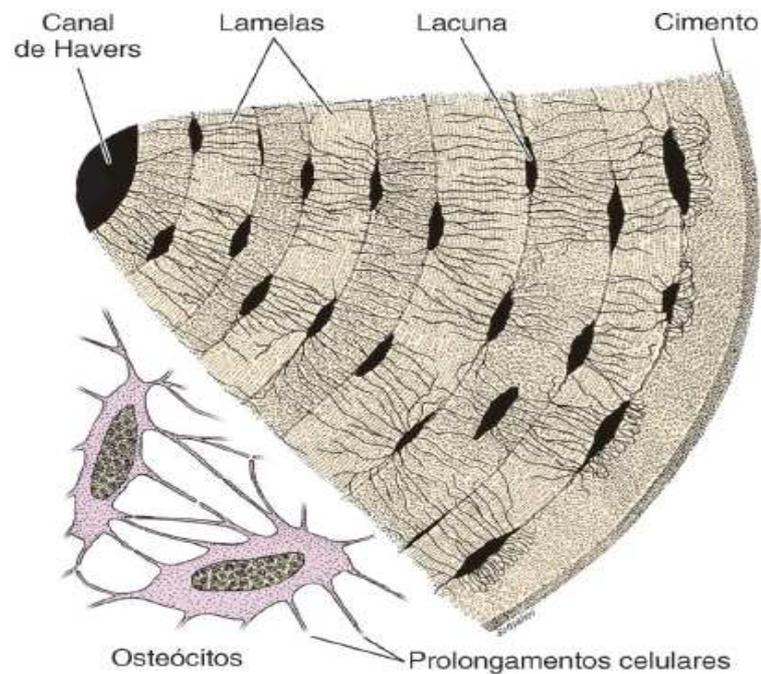
Tabela 1 - Propriedades mecânicas do osso cortical.

PROPRIEDADES MECÂNICAS	LONGITUDINAL (L)	TRANSVERSAL (T)
Lim. Res. à compressão (MPa)	70-280	53
Lim. Res. à tração (MPa)	70-160	50-53
Módulo de Young (GPa)	11-21	5-13
Microdureza (kg/mm ²)	30-60	-
Tenacidade à fratura (MPa.m ^{1/2})	2-5	8

Fonte: FERNANDES, 2011.

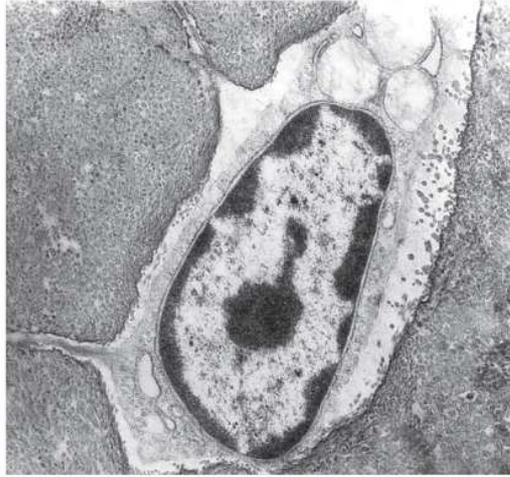
O tecido ósseo é um tipo especializado de tecido conjuntivo, o qual surge a partir da calcificação da matriz extracelular, também conhecida como matriz óssea (Figura 1). Dentre as células presentes no tecido ósseo encontram-se os osteócitos (Figura 2), estes restritos às cavidades ou lacunas devido ao processo de mineralização, osteoblastos, responsáveis por secretar a matriz óssea e osteoclastos que reabsorvem a matriz óssea atuando no processo de remodelagem óssea (Figura 3). A matriz óssea limita a difusão de substâncias de maneira que a nutrição dos osteócitos depende da existência de canalículos na matriz, os quais permitiram o transporte de moléculas a partir dos capilares sanguíneos. Os ossos são recobertos internamente e externamente por camadas de tecido contendo células osteogênicas, respectivamente, o endóstio e perióstio (JUNQUEIRA, 2008).

Figura 1 - Esquema representativo de matriz, canalículos e lamelas.



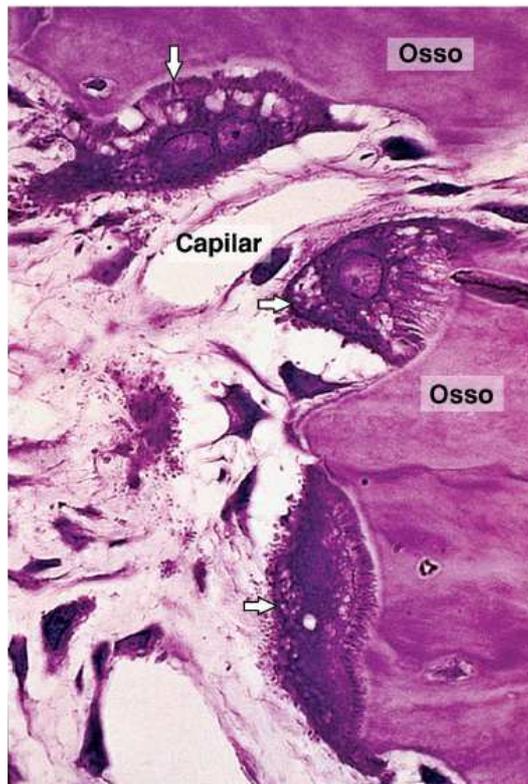
Fonte: JUNQUEIRA, 2008.

Figura 2 - Osteócito envolto pela matriz óssea.



Fonte: JUNQUEIRA, 2008.

Figura 3 - Corte de osso indicando três osteoclastos (setas) digerindo a matriz óssea. Notam-se compartimentos claros, nos quais ocorrem a acidificação por meio de uma bomba de prótons com liberação de íons (H^+), promovendo a dissolução dos minerais e consequente reabsorção da matriz óssea.



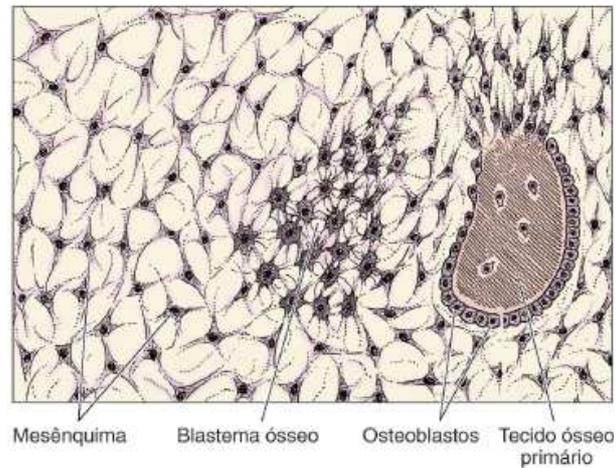
Fonte: JUNQUEIRA, 2008.

A matriz óssea subdivide em uma porção orgânica composta basicamente por fibrilas colágenas do tipo I e pequena quantidade de proteoglicanos e glicoproteínas, responsáveis por conferir resistência a esforços de distensão e uma porção inorgânica composta basicamente de cristais de fosfato de cálcio na forma de hidroxiapatita – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, responsável por conferir resistência a esforços de compressão. A matriz óssea é secretada pelos osteoblastos, estes situados nas camadas mais externas da matriz. O material recém-formado, também denominado osteóide, é composto principalmente por fibrilas colágenas do tipo I (matriz não mineralizada), sendo rapidamente convertido em tecido ósseo duro pela deposição de cristais de fosfato de cálcio. Nesse aspecto, os osteoblastos podem ser aprisionados pela matriz dura, passando ser denominados como osteócitos, os quais apesar de perderem a capacidade de se dividirem, continuam a secretar matriz em pequenas quantidades (ALBERTS *et al.*, 2004)

3.1.2 Histogênese óssea

A histogênese óssea pode ocorrer a partir de dois processos básicos, a ossificação intramembranosa e a ossificação endocondral. A ossificação intramembranosa ocorre internamente a membrana conjuntiva, sendo observada nos ossos frontal, parietal e de partes do occipital, do temporal e das maxilas e mandíbulas, além de estar envolvida na formação dos ossos curtos e crescimento em espessura dos ossos longos. O processo inicia-se pela diferenciação de células mesenquimatosas, as quais sintetizam o osteóide, o qual posteriormente se mineraliza (Figura 4). Os centros ósseos crescem radialmente substituindo a membrana conjuntiva pré-existente, sendo que a parte que não sofre o processo de ossificação dá origem ao perióstio e endóstio (GUYTON & HALL, 2006).

Figura 4 - Modelo de ossificação intramembranosa. As células do mesênquima se tornam arredondadas e por diferenciação dão origem aos osteoblastos que produzem o tecido ósseo primário.



Fonte: JUNQUEIRA, 2008.

A ossificação endocondral ocorre a partir de um molde de cartilagem hialina, sendo o tipo de ossificação dos ossos curtos e longos. A ossificação endocondral apresenta duas etapas principais. Na primeira etapa, observa-se a modificação da cartilagem hialina, apresentando etapas subsequentes de hipertrofia dos condrócitos, redução da matriz cartilaginosa, mineralização e morte dos condrócitos por apoptose. Na segunda etapa, as cavidades antes ocupadas por condrócitos passam por um processo de capilarização, sendo invadidas por células osteogênicas provenientes do tecido conjuntivo adjacente. As células osteogênicas diferenciam-se em osteoblastos responsáveis por depositarem a matriz óssea sobre a cartilagem (GUYTON & HALL, 2006).

3.1.3 Cicatrização óssea

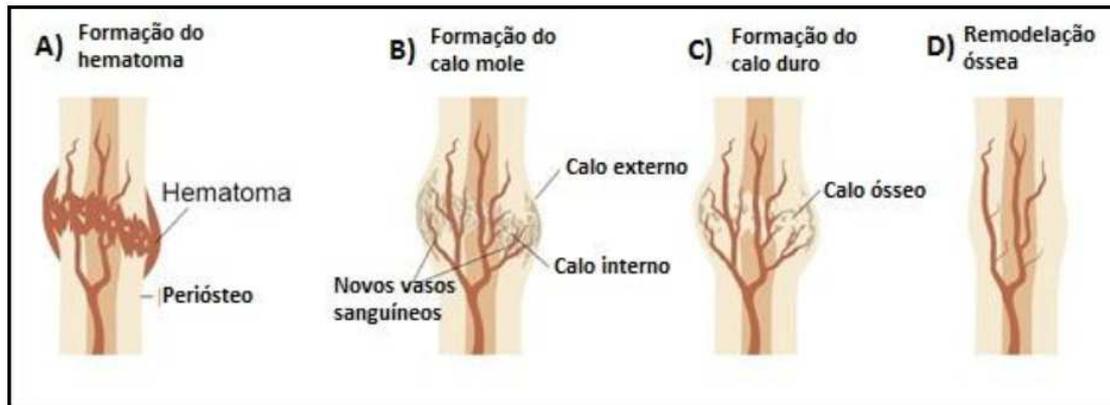
O tecido ósseo, não obstante toda a sua rigidez e aparente inércia, é um tecido dinâmico que está submetido a constante processo de remodelação, no qual os osteoblastos depositam a nova matriz óssea enquanto os osteoclastos reabsorvem a matriz óssea antiga. Os esforços mecânicos do tipo compressão tendem a aumentar a atividade osteoclástica, decompondo a matriz. Em contrapartida, os esforços mecânicos do tipo tração promovem o crescimento por atividade osteoblástica. Além disso, a consolidação de fraturas requer suprimento sanguíneo e a vascularização. Assim, se o suprimento de O_2 for pequeno há a

tendência de formação de cartilagem em vez de osso. Caso haja elevado suprimento de O₂, não há a formação de cartilagem tampouco de osso (RATNER, 2004).

O osso apresenta a capacidade para reparação e regeneração quando acometido por lesão e/ou tratamento cirúrgico. Entende-se como lesão qualquer evento que acarrete no surgimento de descontinuidade no tecido ósseo em nível macroscópico, sendo que tanto o processo de reparo quanto o processo de regeneração envolvem complexa mediação através de fatores de crescimento, da matriz extracelular e linhagens celulares. O processo de reparação consiste na retomada da continuidade dos tecidos lesados, sem que haja aumento significativo do volume ósseo. Por sua vez, a regeneração envolve a diferenciação de novas células e consequente, aumento do volume ósseo (AL-AQL *et al.*, 2008).

O processo de reparo apresenta as etapas descritas a seguir (Figura 5). Após o trauma, observa-se a formação de hematoma. A lesão inicia uma resposta inflamatória que faz com que o hematoma coagule formando o modelo para a formação do calo ósseo. A resposta inflamatória leva à mobilização de células-tronco mesênquimais e subsequente, diferenciação das mesmas em condrócitos e em osteoblastos. A consolidação da fratura ocorre a partir de ossificação intramembranosa e endocondral. Observa-se, inicialmente, a formação do calo cartilaginoso, que posteriormente, sofre processos de mineralização e reabsorção, sendo finalmente substituído pelo osso propriamente dito. Apesar do calo rígido ser uma estrutura que apresente certo grau de estabilidade, ele não restaura as propriedades biomecânicas do osso. Para tal, o processo de cicatrização da fratura passa pelo processo de reabsorção óssea secundária para remodelar o calo rígido em uma estrutura de osso lamelar com cavidade central medular. Ou seja, para restaurar a estrutura anatômica bem como a capacidade de suportar as solicitações mecânicas quando em serviço (SANTOS, 2011).

Figura 5 - Etapas do reparo de lesão óssea.



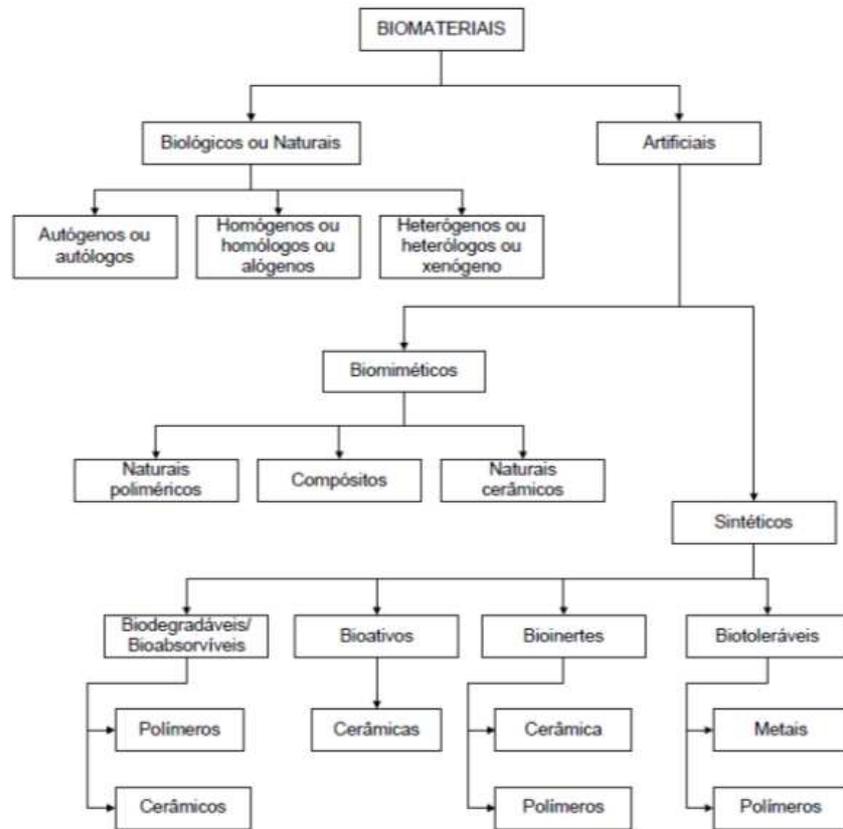
Fonte: SANTOS, 2011.

3.2 Biomateriais

3.2.1 Biomateriais

Os materiais podem ser classificados, de maneira geral, como cerâmicos, metálicos e poliméricos. Na engenharia de tecidos, os materiais, comumente denominados de biomateriais, podem ser classificados de acordo com a origem, reação biológica e aplicação a que se destinam (Figura 6). A origem do biomaterial pode ser natural ou artificial, sendo classificados como materiais autógenos aqueles cuja origem advém de áreas doadoras do próprio indivíduo, homogêneos aqueles cuja origem advém de indivíduos da mesma espécie, heterogêneos aqueles cuja origem advém de indivíduos de espécies diferentes ou materiais sintéticos que são aqueles de origem artificial. No tocante à reação biológica, um biomaterial pode ser classificado como tolerado, caracterizado pela presença de tecido conjuntivo fibroso envolvendo o implante, inerte é caracterizado pela formação física de contato, bioativo é caracterizado pela uma interação físico-química entre o implante e o tecido ou reabsorvível que é caracterizado pela dissolução progressiva (absorção) do material. Quanto à aplicação, um biomaterial pode destinar-se a substituição de tecidos moles, tecidos duros ou tecidos relacionados ao sistema cardiovascular (FERNANDES, 2011).

Figura 6 - Classificação dos materiais utilizados na engenharia de tecidos.



Fonte: CAMILO, 2006.

3.2.2 Fosfatos de Cálcio

As cerâmicas a base de fosfato são as mais utilizadas na reconstituição e regeneração óssea devido a semelhança apresentada com a fase mineral dos ossos e dentes. Esses materiais são classificados de acordo com a razão molar Ca/P, a qual pode variar entre 0,5 e 2,0 (Tabela 2), sendo a hidroxiapatita o de maior interesse biológico. A solubilidade dos fosfatos é influenciada por essa razão molar de forma inversa, isto é, quanto maior essa razão menor a solubilidade do fosfato e menor é a capacidade dele se degradar (GUASTALDI, 2010).

Tabela 2 - Fases do fosfato de cálcio e a razão Ca/P.

Fosfato de cálcio	Fórmula química	Ca/P
Fosfato tetracálcico (TeCP)	$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$	2,0
Hidroxiapatita (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67
Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$	1,5
Fosfato tricálcico (α , α' , β , γ) (TCP)	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Fosfato octacálcico (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP)	CaHPO_4	1,0
Pirofosfato de cálcio (CPP)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	1,0
Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD)	$\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0
Fosfato heptacálcico (HCP)	$\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$	0,7
Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP)	$\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$	0,67
Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5
Metafosfato de cálcio (α , β , γ) (CMP)	$\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$	0,5

Fonte: GUASTALDI, 2010.

3.2.3 Hidroxiapatita

A porção inorgânica do tecido ósseo é composta basicamente por fosfato de cálcio, os quais se arranjam numa estrutura cristalina a hidroxiapatita – $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$. O termo apatita refere-se a estrutura do composto que, cristalograficamente, é hexagonal. A estabilidade da apatita é conferida pela rede de grupos PO_4^- (CAMILO, 2006). Cabe salientar que o termo apatita designa uma família de compostos com estrutura similar e não necessariamente idênticos, com composição $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$, como exemplo (KOOPS, 2010):

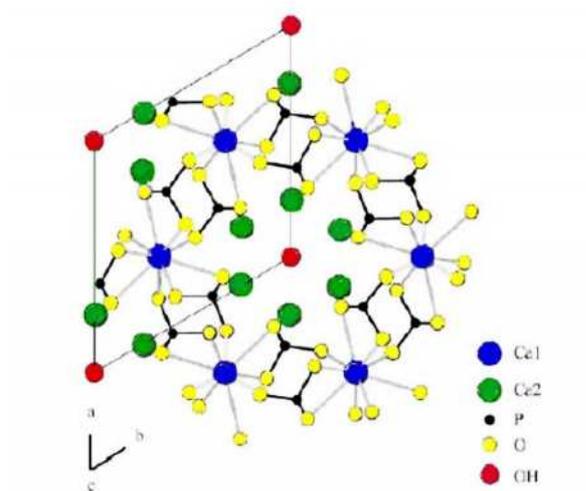
M = Ca, Sr, Ba, Cd e Pb

Z = P, V, As, S, Si, Ge e CO₃

X = F, Cl, OH, O, Br e CO₃

A hidroxiapatita é um fosfato de cálcio hidratado principal componente de ossos e dentes de vertebrados. A hidroxiapatita apresenta composição, estequiometria e cristalografia definidas. A célula unitária consiste em grupos de cálcio, fosfato e hidroxila empacotados juntos em arranjo estrutural conforme mostrado na Figura 7. A estequiometria da hidroxiapatita é de 39,9% em peso de cálcio, 18,5% de fosfato e 3,38% de hidroxila. (FERNANDES, 2011).

Figura 7 - Estrutura do cristal de hidroxiapatita.



Fonte: FERNANDES, 2011.

A hidroxiapatita é uma cerâmica amplamente utilizada como material para reconstrução óssea à medida que exibe excelente compatibilidade com tecido ósseo e osteocondutividade. Além disso, é considerada material bioativo por permitir a osteointegração, promovendo a interação direta com o osso, que é acompanhada pela formação de tecido fibroso. Tal fato deve-se a similaridade química da hidroxiapatita com as

fases minerais do tecido ósseo, permitindo a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e outras células ósseas (TEIXEIRA *et al.*, 2000).

A hidroxiapatita é solúvel em soluções ácidas, em contrapartida é insolúvel em soluções alcalinas. Cabe salientar que a taxa de solubilidade depende de fatores, tais como forma, porosidade e cristalinidade. Diante de tal fato, é possível obter hidroxiapatitas variando de praticamente absorvível até não absorvível através de diferentes métodos de obtenção. A estrutura molecular da hidroxiapatita permite interações do tipo dipolo, permitindo a adsorção de água, proteínas e colágeno, conseqüentemente, induzindo a reparação tecidual. As propriedades mecânicas da hidroxiapatita (Tabela 3) estão ligadas às descontinuidades do material (como exemplo, poros e defeitos), influenciando na aplicabilidade do material na engenharia de tecidos (Tabela 4) (KOOPS, 2010).

Tabela 3 - Propriedades mecânicas da hidroxiapatita sinterizada.

Temperatura de Sinterização	Resistência à Compressão / MPa	Resistência à Flexão / MPa	Resistência à Torção / MPa	Módulo de Elasticidade / GPa
1150°C	308 ± 46	61 ± 8	50 ± 7	44,3 ± 3,5
1200°C	415 ± 46	104 ± 11	62 ± 5	80,0 ± 6,4
1250°C	465 ± 58	106 ± 10	75 ± 4	85,1 ± 6,1
1300°C	509 ± 57	113 ± 12	76 ± 5	87,8 ± 6,0

Fonte: KOOPS, 2010.

Tabela 4 - Propriedades mecânicas de alguns tecidos duros.

Material	Resistência à Compressão / MPa	Resistência à Flexão / MPa	Módulo de Elasticidade / GPa
Osso Cortical	88,3 – 163,8	88,9 – 113,8	3,88 – 11,7
Dentina	295	51,7	18,2
Esmalte Dentário	384	10,3	82,4

Fonte: KOOPS, 2010.

3.3 Vidros bioativos

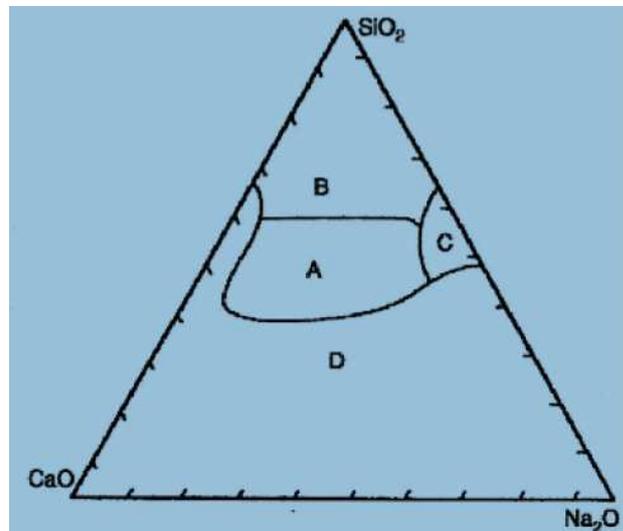
3.3.1 Bioatividade

O conceito de bioatividade refere-se à capacidade que um material exibe de provocar resposta biológica específica em sua interface com o tecido adjacente, permitindo forte ligação com o mesmo. Cabe salientar que o tempo, mecanismo e espessura da ligação, irão variar de acordo com o material e suas características intrínsecas (DAGUANO, 2011). Como maneira de distinguir os materiais bioativos, Hench e Wilson propuseram duas classes de bioatividade, materiais osteoindutores e osteocondutores. Os implantes osteoindutores provocam uma resposta biológica a qual resulta na estimulação da diferenciação de células em osteoblastos. Por sua vez, implantes osteocondutores provocam apenas respostas de superfície, esta caracterizada pela aderência, crescimento e proliferação de células ósseas pela superfície do material (HENCH & WILSON, 1993).

3.3.2 Biovidros

O desenvolvimento dos vidros bioativos se deu a partir de Hench, em 1969. Desde então, diversas formas foram empregadas na engenharia de tecidos, com aplicações variando entre preenchimento de cavidades ósseas, espaçadores intervertebrais, tratamentos odontológicos, dentre outras. Os vidros bioativos tiveram início através do *Bioglass*® 45S5 composto de 45%(p/p) de SiO₂; 6%(p/p) de P₂O₅; 24,5%(p/p) de CaO e 24,5%(p/p) de Na₂O, sendo considerado o modelo padrão dos biovidros. O *Bioglass*® 45S5 possui elevada capacidade de estimulação óssea, entretanto, a baixa resistência mecânica levou a busca por novas composições no intuito de se obter melhores propriedades mecânicas (DAGUANO, 2011) (Figura 8).

Figura 8 - Composições de vidros bioativos em relação a seus elementos mais importantes.



Fonte: CAMILO, 2006.

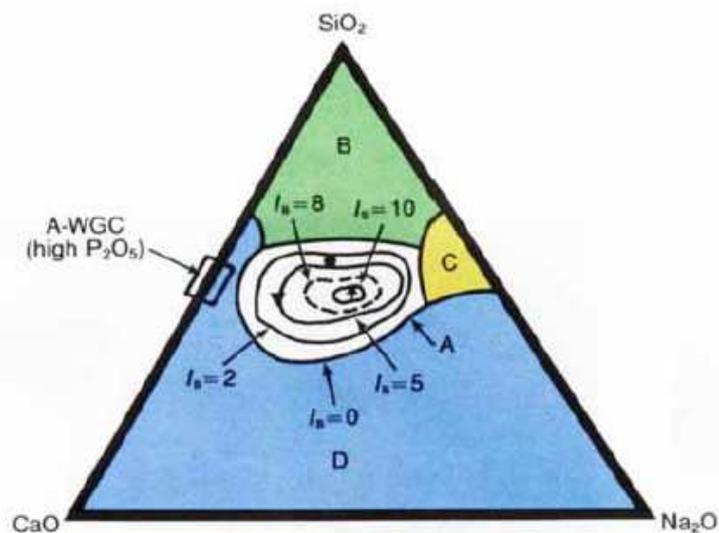
A bioatividade comum, aos vidros bioativos é tempo dependente da cinética de modificação da superfície. A superfície forma uma hidroxiapatita carbonatada biologicamente ativa que proporciona a interface de ligação com os tecidos. A fase de hidroxiapatita carbonatada é quimicamente e estruturalmente equivalente à fase mineral do tecido ósseo capaz de proporcionar o desenvolvimento de uma interface aderente que resiste a forças mecânicas consideráveis. Em muitos casos, a resistência interfacial de adesão é equivalente ou maior do que a força coesiva do material implantado ou do substrato tissular (Tabela 5). Em alguns casos é observada a ruptura mecânica no implante ou na medula óssea, mas não na interface. Cabe salientar que há uma forte dependência composicional do material e a bioatividade (HENCH, 1991) (Figura 9).

Tabela 5 - Propriedades mecânicas de vidros bioativos comerciais e de ossos.

Material	Dureza Vickers (HV)	Resistência à compressão (MPa)	Módulo de ruptura - σ_f (MPa)	Módulo elástico - E (GPa)	Tenacidade à fratura - K_{Ic} (MPa.m ^{1/2})
Bioglass [®] 45S5	458	–	40 – 60	30 – 35	–
Ceravital [®]	–	500	–	100 – 150	–
A-W Cerabone [®]	680	1080	215	218	2,0
Bioverit [®] I e II	500 – 800	450 – 500	90 – 180	70 – 88	1,2 – 2,1
Bioverit [®] III	–	–	60 – 90	45	0,6
HA sinterizada	600	500 – 1000	115 – 200	80 – 110	1,0
β -TCP sinterizado	–	460 – 687	140 – 154	33 – 90	–
Ossos cortical	–	88 – 164	50 – 150	7 – 30	2 – 12
Ossos esponjoso	–	33	10 – 20	0,05 – 0,5	–

Fonte: CAMILO, 2006.

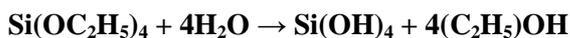
Figura 9 - Índice de bioatividade conforme composição em peso de vidros bioativos. A região A é denominada como limite de bioatividade. Os materiais da região B comportam-se como quase inertes com o surgimento de cápsula fibrosa ao redor do implante. Na região C estão materiais reabsorvíveis. Por sua vez, materiais com composição dentro da região D, não foram testados como implantes.



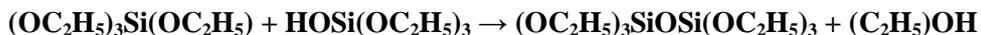
Fonte: HENCH, 1991

Dentre as técnicas utilizadas na obtenção dos vidros bioativos, tem-se o processo sol-gel. O processo sol-gel requer a combinação de precursores de alcóxidos metálicos $[M(OR)_n]$ e água, onde M é o elemento inorgânico formador de rede e R é tipicamente um grupo alquila. Os parâmetros de reação que influenciam a química do processo sol-gel são o pH da solução, a razão entre os moles de silício e água, os catalisadores, os solventes e a temperatura da reação (COSTA, 2010).

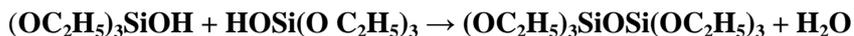
A obtenção destes vidros pelo método sol-gel segue a transformação da suspensão coloidal por meio da hidrólise e condensação controlada de precursores alcóxidos metálicos. A primeira reação é de troca de grupos do TEOS por íons de hidrogênio da solução por hidrólise. Essa etapa pode ocorrer com a troca parcial ou total dos grupos O-R, dependendo do teor de água disponível.



Na etapa subsequente, há a condensação de duas moléculas M-OH, levando à formação de ligações M-O-M por meio de dois mecanismos distintos: alcoxilação ou oxilação. O M representa o íon metálico da reação, nesse caso, o silício. Na alcoxilação, o M-OH recém formado reage com o precursor eliminando um álcool.

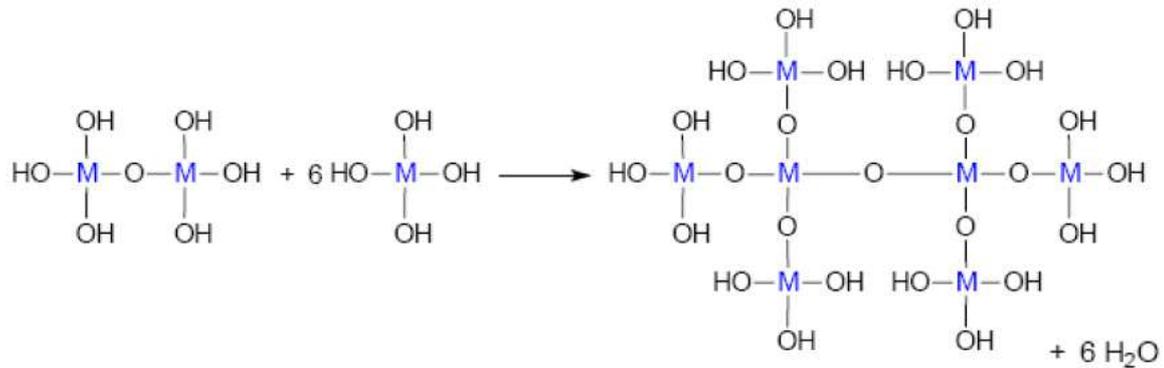


Enquanto que na oxilação duas moléculas M-OH reagem eliminando água.



A formação de uma rede MO_n pode ser conseguida em vários estágios de condensação formando uma rede tridimensional de forma que a água e o álcool permaneçam nos poros destas estruturas conforme a Figura 10 (MENEZES, 2007).

Figura 10 - Rede MOn formada por policondensação.



Fonte: MENEZES, 2007

3.4 Biomateriais Compósitos

Os materiais compósitos originam-se da combinação de dois ou mais materiais com o objetivo de se obter um novo material com propriedades particulares. Normalmente, essa combinação de materiais resulta em um material com propriedades superiores às matérias primas utilizadas possibilitando novas aplicações. No âmbito dos biomateriais, os materiais compósitos possuem dois requisitos básicos, o primeiro é que seus constituintes sejam biocompatíveis e o segundo é que a interface das fases deve ser estável no meio corporal em que será empregado. Os principais problemas relacionados ao emprego de biomateriais compósitos devem-se ao fato de que a utilização de dois ou mais materiais implica na maior possibilidade de resposta imune adversa nos tecidos (KOOPS, 2010).

3.4.1 Compósito hidroxiapatita-vidro bioativo

Os fosfatos de cálcio, especialmente a hidroxiapatita, estão entre os biomateriais mais empregados na substituição óssea. A similaridade química da hidroxiapatita com a composição inorgânica da fase inorgânica do osso permite crescimento ósseo favorecendo a osteocondução, por sua vez, seu baixo índice de bioatividade e sua baixa velocidade de degradação apresentam-se como limitantes em sua aplicação como enxerto ósseo. Diferentemente da hidroxiapatita, os vidros bioativos possuem elevado índice de bioatividade, apresentando a osteoindução, a qual permite a colonização de sua superfície por células

mesenquimais. Entretanto, apesar da bioatividade exibida pelos vidros bioativos, esses materiais apresentam baixa resistência mecânica e baixa tenacidade à fratura restringindo o uso por requisitos estruturais do implante (SILVA *et al*, 2010) (Tabela 6).

Tabela 6 - Índice de bioatividade (IB) de diferentes biomateriais.

Biomaterial	lb	Classe de Bioatividade	Ligação com o Osso	Ligação com Tecido Mole
Vidro bioativo (45S5)	12,5	A	Sim	Sim
Vidro Bioativo (52S4)	10,5	A	Sim	Sim
Cerâmica Bioativa (AW)	6,0	B	Sim	Não
Hidroxiapatita (HA)	3,1	B	Sim	Não

Fonte: SILVA *et al*, 2010.

A adição de pequenas quantidades de biovidros à hidroxiapatita, como aditivo de sinterização, atua como reforço mecânico, uma vez que a sinterização ocorre em presença de fase líquida, acarretando em maior densificação, proporcionando um aumento da dureza e tenacidade (SILVA *et al*, 2011) (SILVA, 2002). A adição de biovidros à hidroxiapatita permite a obtenção de compósitos potencialmente reabsorvíveis, com propriedades osteocondutivas e osteoindutivas, sendo possível o desenvolvimento de compósitos hidroxiapatita-biovidro os quais apresentem propriedades de interesse de ambos os materiais originando biomateriais adequados para enxerto ósseo (SILVA *et al*, 2010).

3.5 Métodos de Caracterização

A composição química, a estrutura superficial e interna do material são características importantes a serem determinadas na área de biomateriais. O tamanho dos poros, descontinuidades, rugosidade e quantidade de íons na superfície são cruciais para a implantação de sucesso. A análise desses parâmetros requer várias técnicas de caracterização disponíveis que gerem dados qualitativos e quantitativos, visando garantir a uniformidade do material. A caracterização microestrutural do material envolve a determinação da estrutura cristalina, composição química, forma e distribuição das fases. A determinação da estrutura cristalina basicamente envolve a utilização de técnicas de difração, tais como difração de raios X, elétrons ou nêutrons. Por sua vez, na determinação da composição química das fases, as

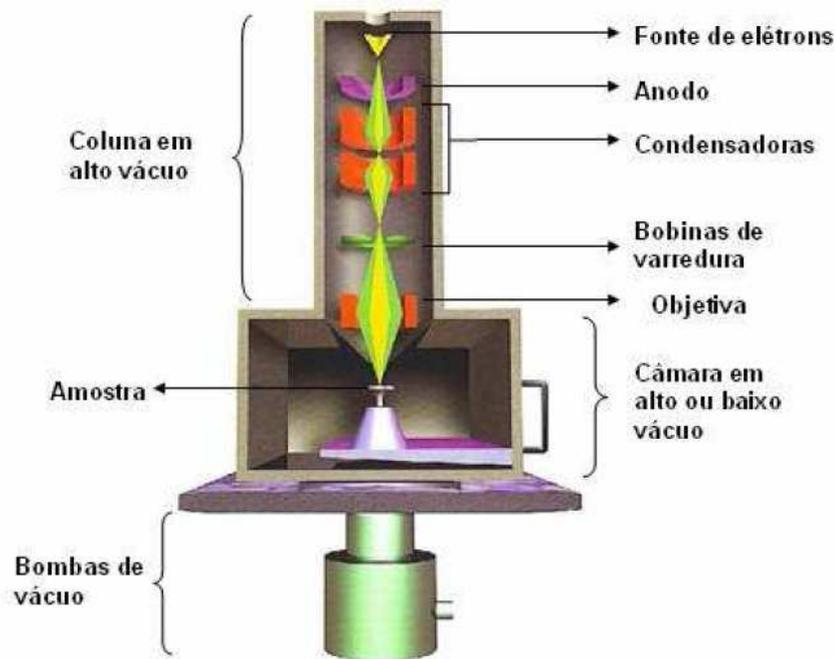
técnicas mais utilizadas são as análises de raios X por comprimentos de onda ou por dispersão de energia. Enquanto, a morfologia, distribuição das fases e possíveis defeitos são características estudadas com auxílio de microscopia óptica (MO), eletrônica de varredura (MEV) e eletrônica de transmissão (MET).

3.5.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As principais vantagens do uso da microscopia eletrônica de varredura referem-se à capacidade de obtenção de imagens de superfícies, polidas ou rugosas, com grande profundidade de campo e resolução, fácil interpretação (imagem tridimensional), possibilidade de manipulação e microanálise com auxílio de dispositivos apropriados. O intervalo de aumento situa-se entre 10 a 150.000 vezes, resolução a qual se situa entre a microscopia óptica e a microscopia eletrônica de varredura. A partir dos sinais captados podem-se obter várias informações a respeito da amostra analisada, tais como a orientação cristalográfica, diferenciação de elementos, potencial elétrico e campos magnéticos localizados (MANNHEIMER, 2002).

A microscopia eletrônica de varredura tem os mesmos princípios de funcionamento do microscópio ótico, exceto pela utilização de elétrons em vez de luz para produzir a imagem, bem como de lentes magnéticas em vez de lentes de vidro para focalizar o feixe. O princípio de funcionamento do MEV consiste na emissão de feixes de elétrons por um filamento capilar de tungstênio, mediante a aplicação de uma diferença de potencial que pode variar de 0,5 a 30 kV. Na coluna de alto vácuo, os elétrons gerados a partir do filamento de tungstênio são acelerados pela diferença de potencial entre catodo e anodo. O feixe gerado passa por lentes condensadoras e por uma lente objetiva que o focaliza sobre a amostra. Acima da lente objetiva, existem bobinas eletromagnéticas responsáveis pela varredura do feixe sobre a amostra. Após a incidência, são gerados vários sinais (elétrons secundários, retroespalhados, fótons, raios-X, etc.) que são captados e mapeados por um tubo de raios catódicos, dando origem à imagem (Figura 11) (MORA *et al*, 2010).

Figura 11 - Componentes básicos do MEV.



Fonte: MORA *et al.*, 2010.

3.5.2 Detector de energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX)

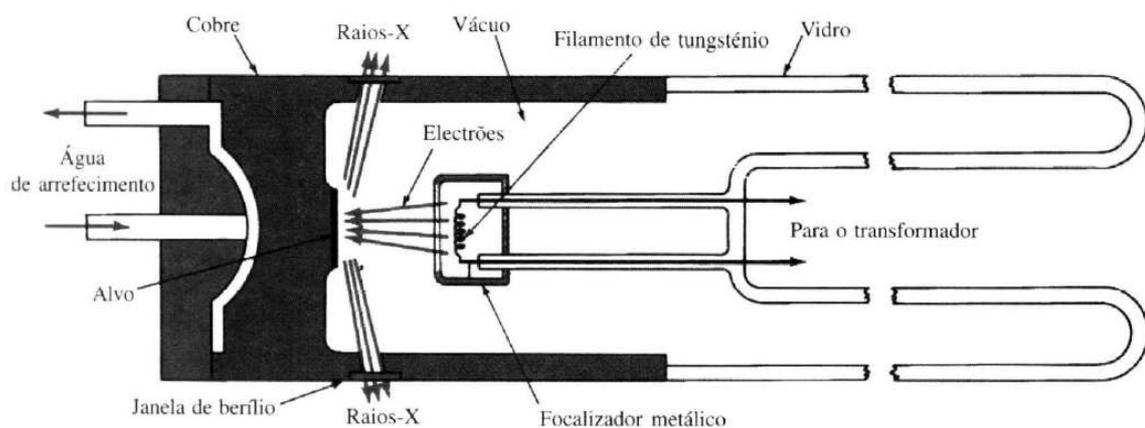
O detector de energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX) é um acessório que permite caracterizar os elementos sobre a superfície do material. Quando o feixe de elétrons incide sobre a amostra, os elétrons mais externos são excitados, mudando de níveis energéticos. Ao retornarem para sua posição inicial, os elétrons liberam a energia adquirida, a qual é emitida em comprimento de onda no espectro de raios X. O detector instalado na câmara de vácuo do MEV mede a energia associada a esse elétron e uma vez que os elétrons de um dado átomo possuem energias distintas, é possível caracterizar os elementos presentes na superfície do material. O diâmetro reduzido do feixe permite uma análise quase pontual, em amostras com tamanhos reduzidos ($< 5 \mu\text{m}$) (MALISKA, 2010).

3.5.3 Difração de raios X

O conhecimento sobre as estruturas cristalinas foi obtido principalmente por técnicas de difração de raios X, as quais permitem obter informações a respeito da natureza e parâmetros do reticulado dos cristais referentes ao material analisado. A difração de raios X tem como principais objetivos a identificação de constituintes microestruturais do material analisado (feita com auxílio de bancos de dados com informações de diversos compostos previamente estudados), determinação de diagramas de fases, grau de cristalinidade, estudos dos efeitos de deformações, entre outros, (PADILHA & FILHO, 1985).

Os raios X utilizados para difração são ondas eletromagnéticas com comprimentos de onda entre 0,05 e 0,25 nm. Os raios X são gerados por meio da aplicação de uma diferença de potencial da ordem de 35 kV entre um cátodo e um alvo metálico (ânodo) (Figura 12). Quando o filamento de tungstênio do cátodo é aquecido, os elétrons são liberados por efeito termoiônico, sendo acelerados através do vácuo pela diferença de potencial entre o cátodo e o ânodo. Os elétrons ao se chocarem com o alvo metálico (ânodo) emitem os raios X. Diversos materiais podem ser empregados como anodo, tendo como elementos mais comuns o Cu, Cr, Fe e Mo (MORA *et al*, 2010).

Figura 12 - Esquema de uma ampola de raios X.



Fonte: MORA *et al*, 2010.

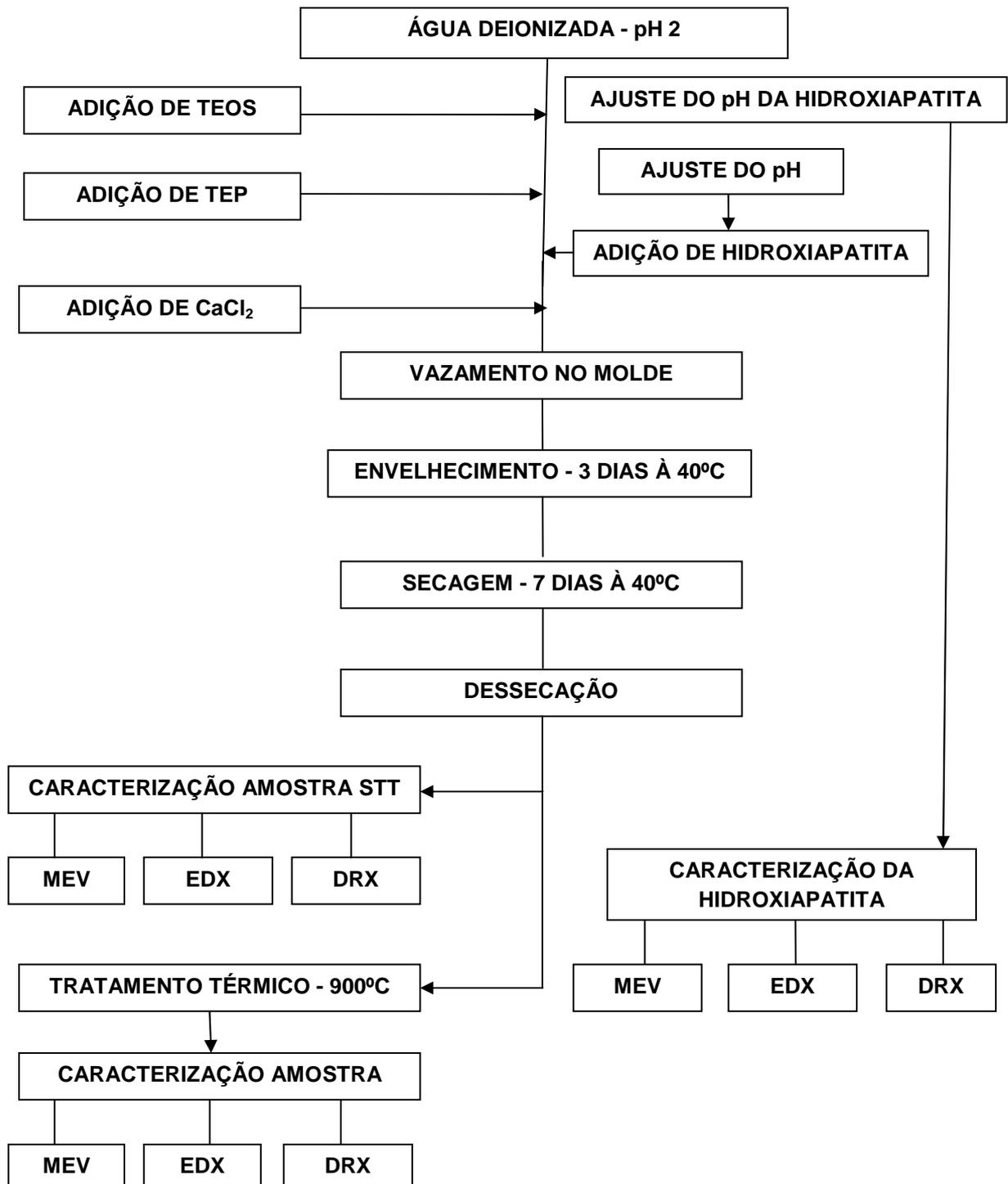
Os raios X correspondem a uma radiação eletromagnética com elevados valores de energia e pequenos comprimentos de onda, da ordem de grandeza do espaçamento atômico para sólidos. Sendo assim, ao incidirem em um sólido, uma porção deste feixe de raios X se espalha aleatoriamente em diversas direções em consequência dos elétrons correspondentes de cada átomo ou íon do material sólido (CALLISTER,1991).

Quando os átomos do sólido estão distribuídos de forma regular (material cristalino) e os raios X que incidem sobre ele com um dado ângulo apresentam comprimento de onda da mesma ordem de grandeza que o espaçamento entre os átomos do sólido, verifica-se que as relações de fases e os espalhamentos se tornam periódicas e os efeitos da radiação de raios X pode ser observado em vários ângulos. Diante de tal fato, se utilizam na maioria dos casos, amostras pulverizadas, onde cada partícula do pó corresponderá a um pequeno cristal. Esse procedimento permite garantir que pelo menos uma pequena porção das partículas esteja orientada de forma adequada abrangendo todos os conjuntos de planos cristalográficos que serão difratados. A partir disso, pode-se calcular a distância entre os planos cristalinos do sólido analisado (NUNES, 2008).

4. METODOLOGIA

A Figura 13 resume as etapas do procedimento experimental de síntese e caracterização empregadas nesse trabalho.

Figura 13 – Fluxograma das etapas do procedimento experimental.



4.1 Síntese do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo

A solução inicial para obtenção do material compósito de hidroxiapatita-vidro bioativo, com composição de 58% (p/p) de SiO_2 , 33% (p/p) de CaO e 9% (p/p) de P_2O_5 (p/p), foi sintetizada por meio da mistura de $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (tetraetil ortosilicato – TEOS), H_2O (deionizada), $(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{PO}_4$ (trietilfosfato – TEP), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (hidroxiapatita) e $\text{H}_2\text{O}.\text{CaCl}_2$ (cloreto de cálcio monohidratado). A razão molar de $\text{H}_2\text{O}/\text{TEOS}$ foi de 12:1, sendo que a proporção entre os reagentes foi de 40% (p/p) de TEOS; 2,31% (p/p) de TEP; 2,11% (p/p) de hidroxiapatita e de 14% (p/p) cloreto de cálcio monohidratado. O protocolo de síntese do material compósito contemplou as seguintes etapas:

- Adição de H_2O deionizada em béquer iniciando a agitação branda e com o ajuste do pH com uma solução de HCl 2N para o valor $2,0 \pm 0,1$;
- Adição do TEOS (tetraetilortosilicato, 98% Aldrich Chemical Company Inc.) na solução e manutenção da agitação por mais 45 minutos;
- Adição do TEP (trietilfosfato, Sigma Aldrich) na solução e manutenção da agitação por mais 30 minutos;
- Ajuste do pH da hidroxiapatita (JHS, a HA-91) em vidro de relógio com solução de HCl 2N para o valor $2,0 \pm 0,1$;
- Adição da hidroxiapatita e manutenção da agitação por 30 minutos;
- Adição do $\text{H}_2\text{O}.\text{CaCl}_2$ (Sigma-Aldrich) e manutenção da agitação por 1 hora;
- Adição do HF como catalisador da reação.

Em seguida, procede-se a vedação do béquer com filme plástico para o envelhecimento da solução em estufa por 3 dias à 40°C . Posteriormente, retira-se o filme plástico para a permanência do material em estufa por 7 dias à 40°C . As Figuras 14 e 15 ilustram e resumem as etapas do procedimento de síntese.

Figura 14 - Etapas do procedimento de síntese do material compósito.

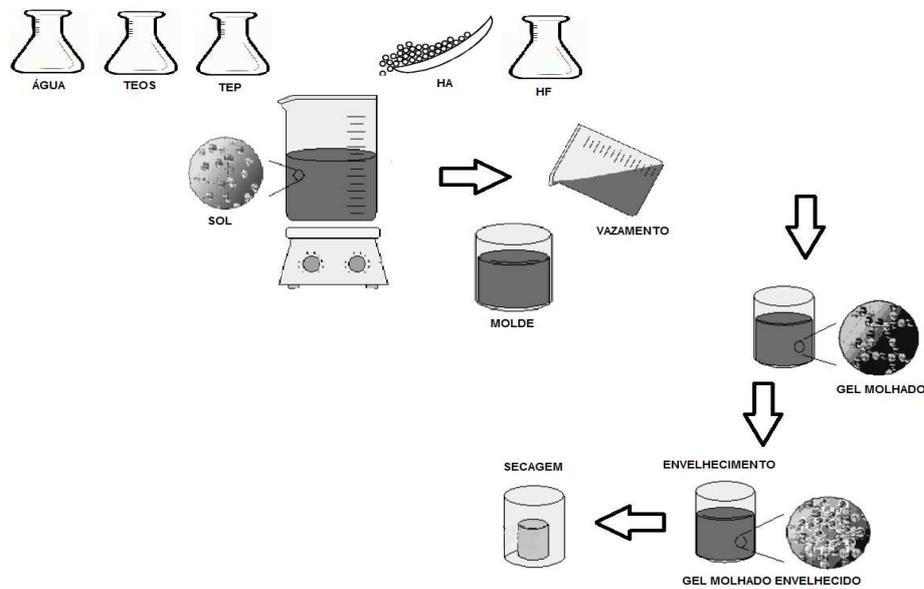
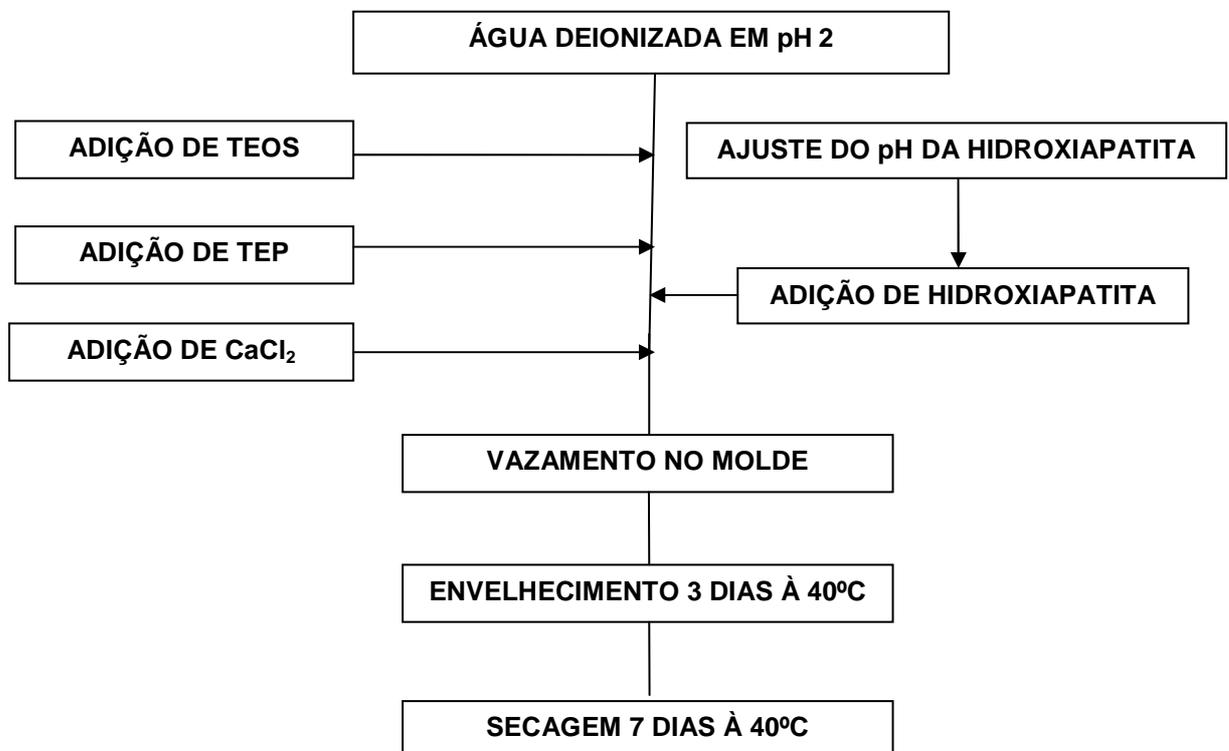


Figura 15 – Fluxograma das etapas do procedimento de síntese do material compósito.



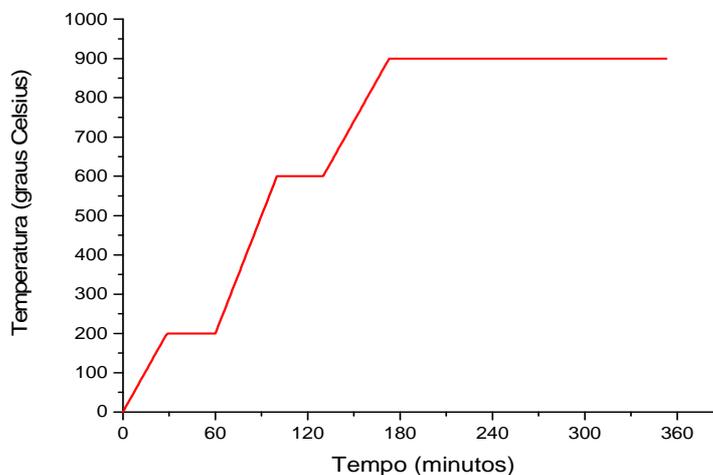
4.2 Dessecagem do material

O material foi dividido em duas amostras, uma sem tratamento algum (amostra sem tratamento térmico - STT) e uma a ser submetida a tratamento térmico (amostra com tratamento térmico - CTT). Ambas as amostras foram pesadas e submetidas a etapas sucessivas de dessecagem. O sistema de dessecagem foi composto por dessecador acoplado a bomba de vácuo e sílica gel como agente dessecante. O intervalo entre cada etapa de dessecação foi de 24 horas e após cada etapa, as amostras do material eram novamente pesadas verificando-se variação desprezível na massa. A etapa final de dessecagem incluiu a encubação do material em estufa por 24 horas a 100° C.

4.3 Tratamento térmico

A amostra CTT do material passou por tratamento térmico em forno do tipo mufla para a posterior comparação com a amostra STT. A taxa de aquecimento foi de $9\pm 2^{\circ}\text{C}$ por minuto, seguindo a rampa descrita na Figura 16, que estabelece três patameres definidos nas temperaturas de 200°C por 30 minutos, em 600°C por 30 minutos e em 900°C por 3 horas. O resfriamento das amostras até a temperatura ambiente foi realizado dentro do forno.

Figura 16 - Rampa de aquecimento da amostra CTT.

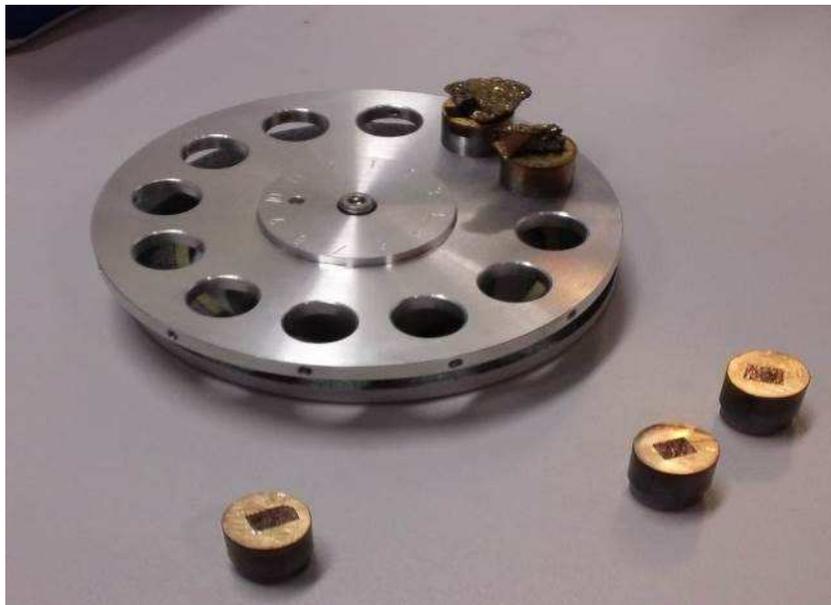


4.4 Caracterização do material compósito e da matéria-prima hidroxiapatita

4.4.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) e energia dispersiva por raios X (EDS ou EDX)

As amostras STT e CTT, bem como a amostra da hidroxiapatita utilizada como matéria prima, foram ensaiadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) por meio do equipamento Shimadzu SSX-550 do Laboratório de Caracterização e Microscopia do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG. A superfície das amostras foi metalizada com ouro utilizando o equipamento a Quick Coater Sanyu Eléctron. As amostras preparadas foram colocadas em um suporte tipo carretel de 12 posições (Figura 17) para serem varridas para a análise microestrutural. As imagens foram obtidas com aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes para as amostras do material compósito e de 100, 500, 1000 e 2000 vezes para a matéria-prima hidroxiapatita. Os ensaios foram conduzidos com tensão de aceleração de 10Kv.

Figura 17 - Porta amostra.



Para o ensaio de energia dispersiva por raios X (EDX) as amostras o equipamento utilizado para a realização deste ensaio foi o mesmo para realização do MEV, visto que esse dispunha do dispositivo de EDX acoplado.

4.4.2 Difração de raios X

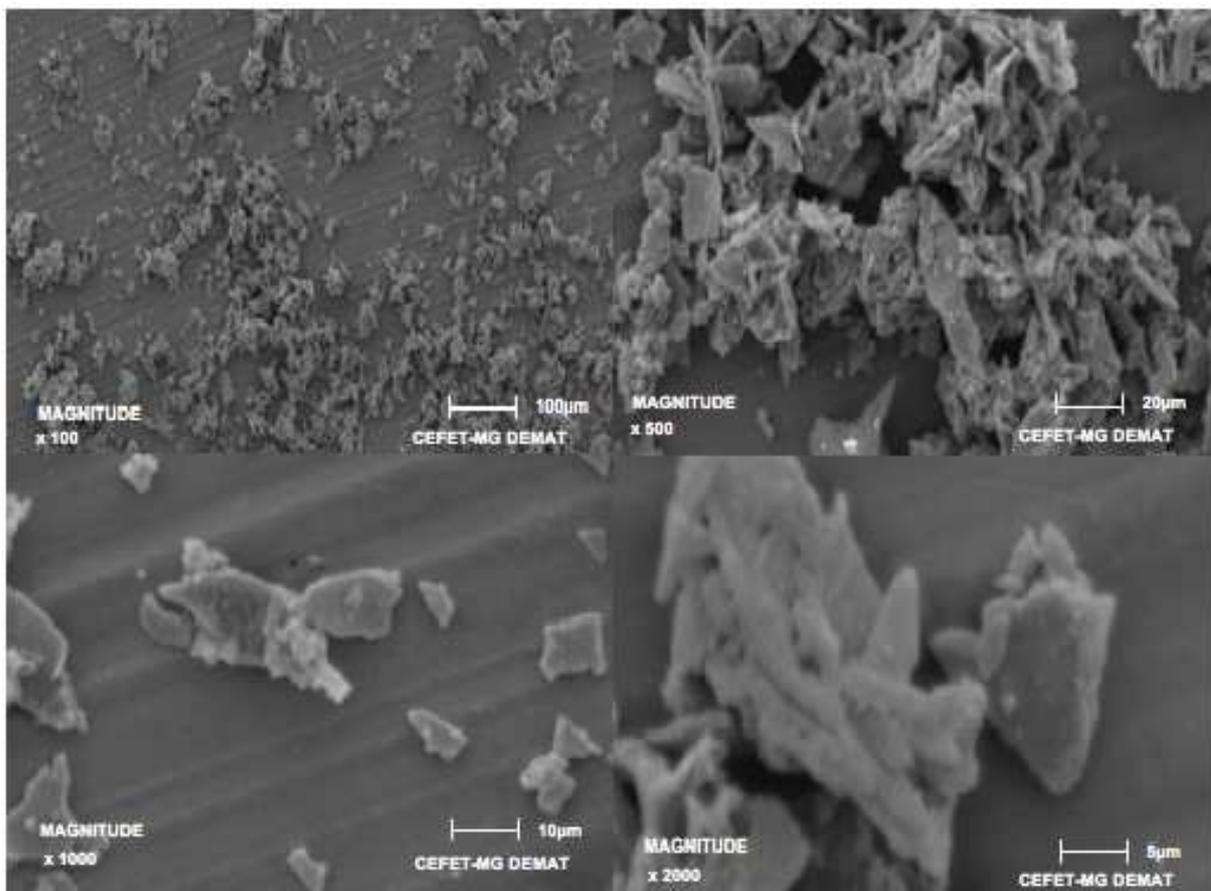
As amostras STT e CTT, bem como a amostra da hidroxiapatita utilizada como matéria prima, foram ensaiadas por difração de raios X (DRX) por meio do equipamento Shimadzu XRD 7000 do Laboratório de Caracterização e Microscopia do Departamento de Engenharia de Materiais do CEFET-MG. As amostras foram previamente moídas com o auxílio de almofariz e pistilo. O ensaio de DRX foi conduzido usando alvo metálico de cobre (anodo de Cu), operando com tensão de 40kV, corrente de 30mA e velocidade de 2 θ /min, variando de 10,00 a 80,00° com passo igual a 0,02°.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do pó de hidroxiapatita

A técnica de microscopia eletrônica de varredura permitiu a obtenção de imagens com aumentos de 100, 500, 1000 e 2000 vezes para o pó de hidroxiapatita utilizado como matéria prima (Figura 18).

Figura 18 - Micrografias de microscopia de varredura do pó de hidroxiapatita em aumentos de 100, 500, 1000 e 2000 vezes.



As micrografias revelaram a presença de aglomerados de grânulos de hidroxiapatita. A tendência de aglomeração deve-se ao fato das forças atrativas em partículas muito finas serem intensas. Os grânulos apresentaram dimensões irregulares com o formato de placas levemente agulhadas e com tamanho estimado entre 3,0 – 9,0µm (Figura 19).

Figura 19 - Micrografia de microscopia de varredura e dimensionamento do grânulo de hidroxiapatita.



A técnica de energia dispersiva por raios X permitiu avaliar a composição da hidroxiapatita utilizada como matéria prima do material compósito. Conforme esperado, na amostra de hidroxiapatita, a análise qualitativa do EDX revelou que os elementos P e Ca que caracterizam a hidroxiapatita estão presentes (Tabela 7).

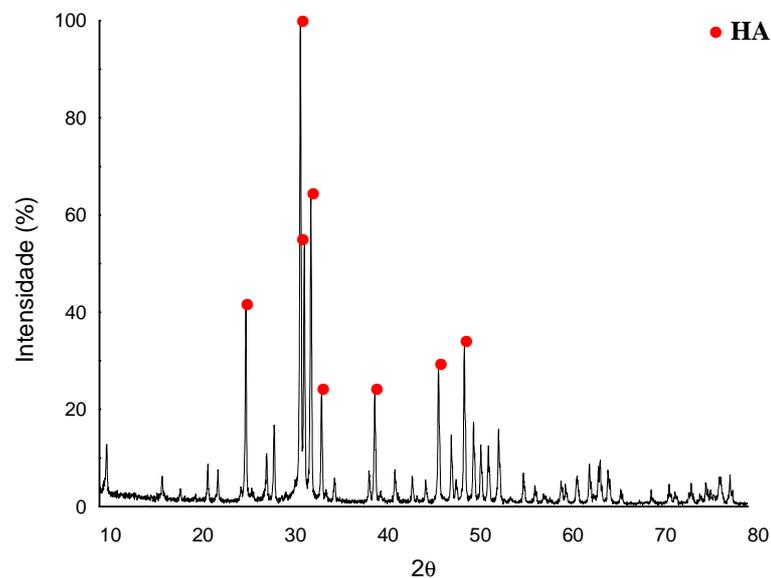
Tabela 7 - Resultados da análise de EDX da hidroxiapatita utilizada como matéria prima do material compósito.

Elemento	Porcentagem (%)
O	58,911
P	14,295
Ca	26,794

De acordo com os dados apresentados, foi possível obter quociente atômico dos elementos presentes na amostra. A razão entre os elementos Ca e P foi igual a 1,87, apresentando variação em relação ao esperado para a matéria-prima hidroxiapatita, cuja razão é de 1,67. Essa variação pode ser devido a presença de água adsorvida na amostra capaz de promover variação nos valores atômicos.

A técnica de difração de raios X permitiu avaliar as fases cristalinas e amorfas da matéria prima. Na amostra da hidroxiapatita, o difratograma apresentou picos de cristalinidade característicos para essa substância, tais como 2θ iguais respectivamente a $26,1^\circ$, $32,3^\circ$ e $34,4^\circ$, conforme descrito na literatura (KOOPS, 2010) (SILVA *et al*, 2011) (Figura 20). Os resultados do difratograma foram comparados com um difratograma padrão por meio do banco de dados JCPDS, ficha nº 09-0432.

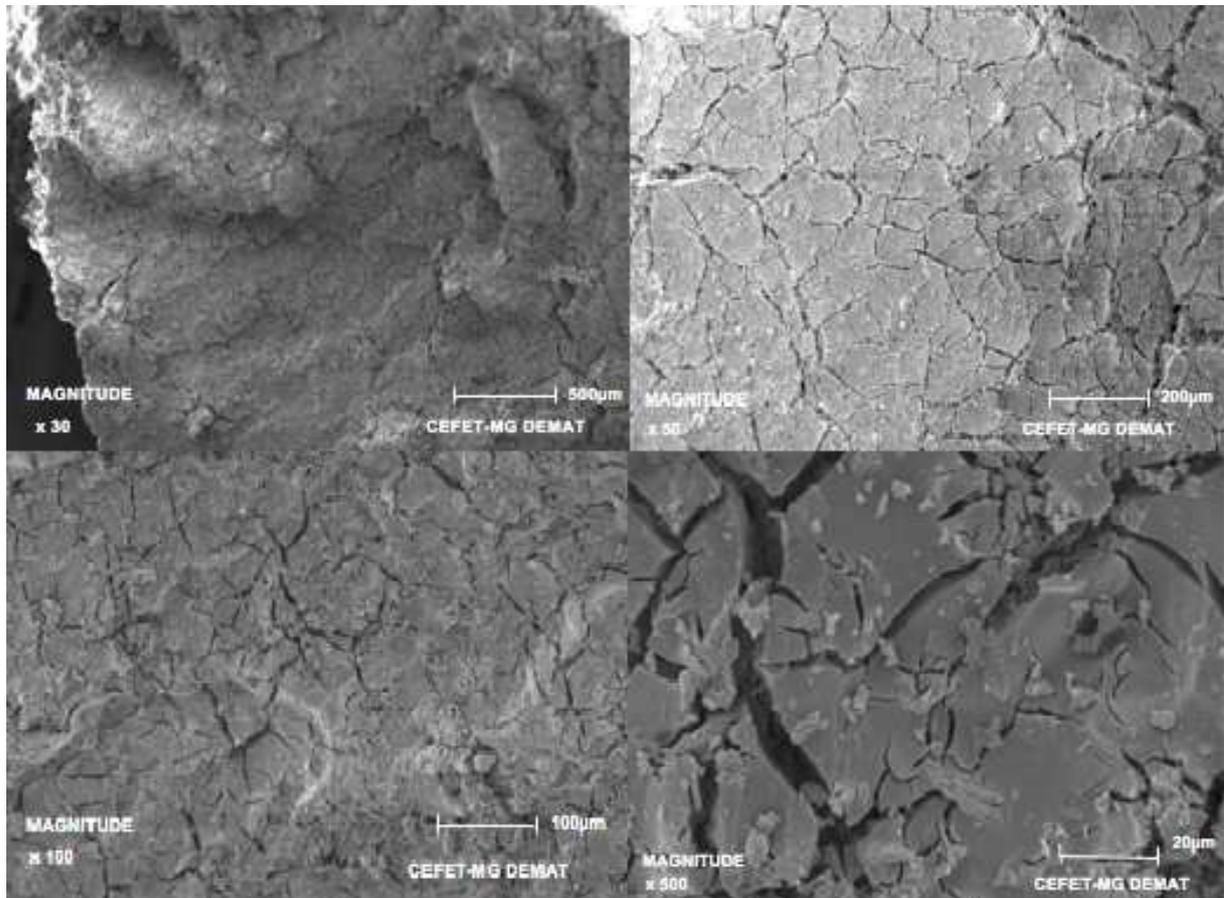
Figura 20 - Difratograma da hidroxiapatita utilizada como matéria prima do material compósito.



5.2 Caracterização do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo: amostra sem tratamento térmico (STT)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura permitiu a obtenção de imagens com aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes da amostra STT (Figura 21). As micrografias revelaram a presença de aglomerados sobre a superfície do material produzindo em determinadas regiões relevo característico. Em aumentos maiores, nota-se a superfície relativamente uniforme, sem variação significativa ao longo da extensão do material. Além disso, observa-se a presença de grânulos com dimensões variadas e formato levemente agulhado distribuídos sobre toda a superfície.

Figura 21 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes.



A superfície do material compósito da amostra STT apresentou trincas distribuídas sobre a superfície do material. As trincas exibem tamanhos e extensões variadas, acarretando em fratura de algumas regiões (Figura 22), bem como no destacamento de fragmentos superficiais (Figura 23). Essas discontinuidades do material devem ter sido ocasionadas por distorção e retração do material ocorridas durante o processo de secagem, de maneira não uniforme, o qual é crítico no processo e capaz de acarretar o surgimento de esforços desiguais sobre a superfície à medida que a secagem se processa devido a difusão de água do centro para a superfície. É importante destacar que na síntese dos compósitos a fase hidroxiapatita ficou misturada com a fase vidro bioativo, que é fase constituinte do sistema. Nesse sentido a dificuldade de secagem inerente aos produtos obtidos pelo processo sol-gel reflete a distribuição de trincas por toda a superfície. A adição de nova fase constituinte do material compósito de natureza polimérica poderia aliviar as tensões advindas do processo de secagem, reduzindo assim as fraturas superficiais do material.

Figura 22 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumento de 30 vezes. Nota-se a existência de trincas, bem como, em destaque, de uma região fraturada sobre a superfície do material.

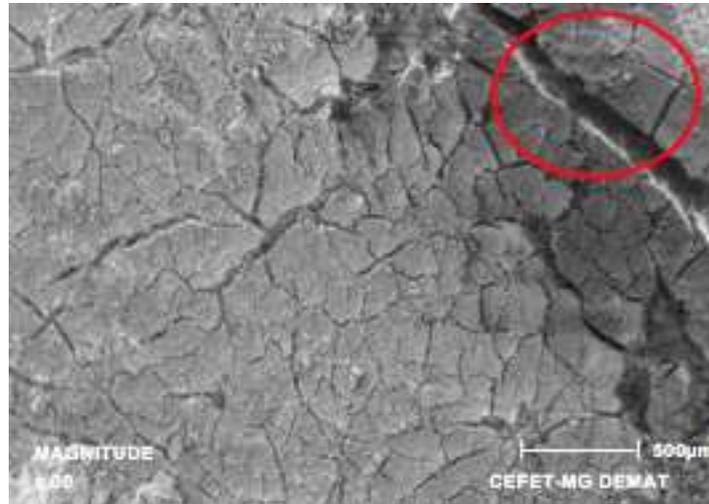
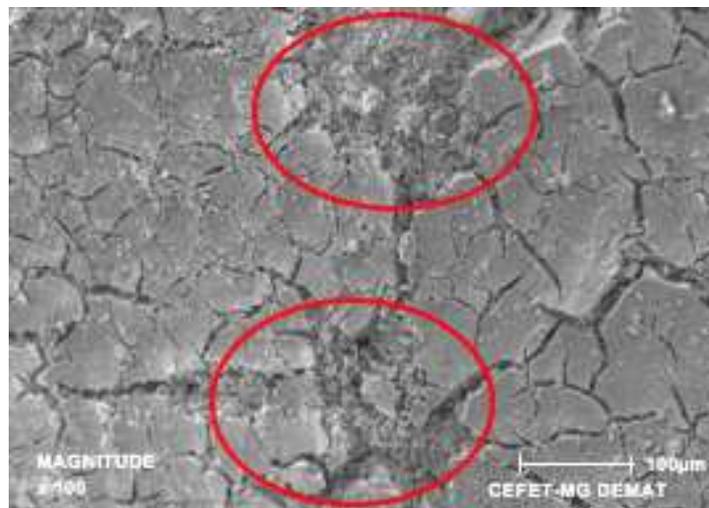


Figura 23 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra STT em aumento de 100 vezes. Nota-se a existência de duas regiões com desprendimento de fragmentos superficiais.



A técnica de energia dispersiva por raios X permitiu avaliar a composição da amostra STT. A sonda do equipamento avaliou três pontos do material, no intuito de verificar a composição em regiões distintas. Conforme o esperado, os elementos O, Si, P e Ca que caracterizam o material compósito se mostraram presentes (Tabela 8).

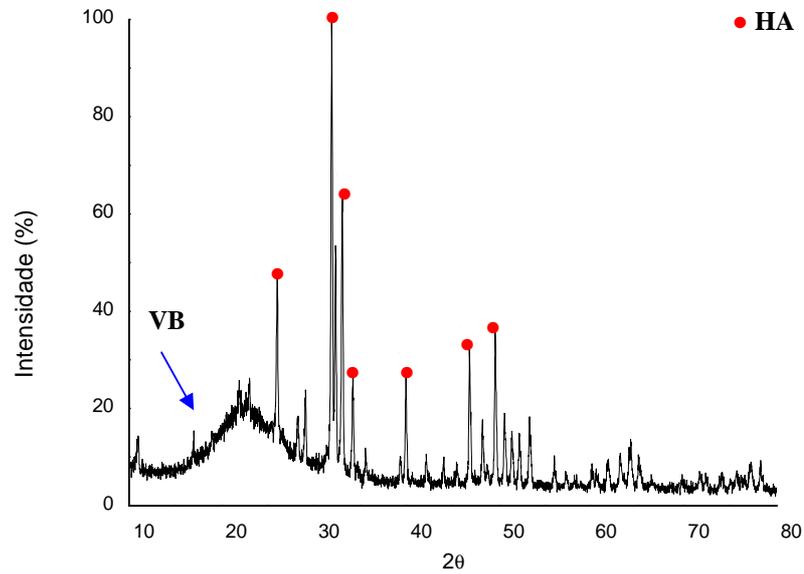
Tabela 08 - Resultados da análise de EDX da Amostra STT.

Porcentagem (%)				
Elemento	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Média
O	66,440	72,907	70,257	69,868
Si	20,532	21,996	22,499	21,673
P	5,531	-	3,341	2,957
Ca	7,497	5,096	3,903	5,499

A análise revelou uma variação de proporção em maior ou menor magnitude dependendo do elemento analisado em relação à proporção dos elementos de 27,111% de Si, 3,928% de P e 23,585% de Ca, esperada para o material compósito. Nos pontos 1 e 3 verificou-se uma proporção do elemento P em concordância com a proporção estequiométrica do material compósito. Por sua vez, o elemento Si manteve-se em proporções próximas ao esperado. A exceção se deu no caso do elemento Ca, o qual nos três pontos apresentou proporção aquém da esperada, sugerindo ter havido uma maior deposição de Si sobre a superfície do material, favorecendo, assim, o Si em relação aos demais elementos. Essa hipótese também pôde ser evidenciada no ponto 2, o qual não retornou a presença do elemento P.

A técnica de difração de raios X permitiu avaliar as fases cristalinas e amorfas da amostra STT. O difratograma apresentou picos de cristalinidade relacionados basicamente à fase hidroxiapatita constituinte do material compósito, por sua vez o vidro bioativo está representado pela região amorfa do difratograma (Figura 24).

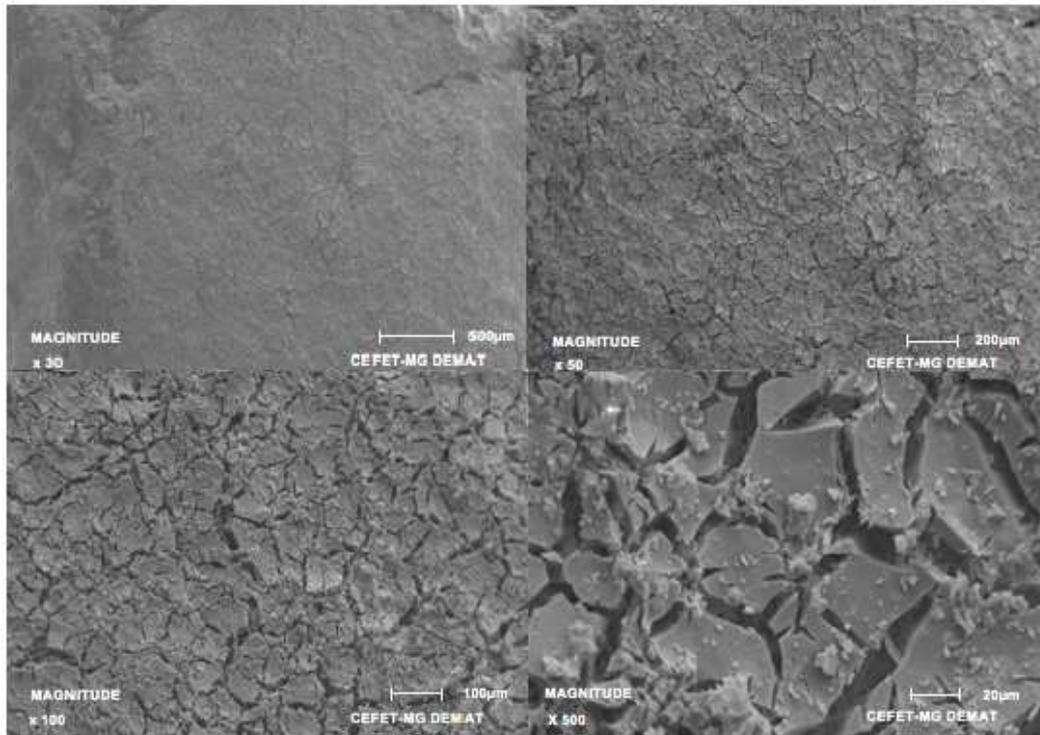
Figura 24 - Difratoograma da amostra STT.



5.3 Caracterização do compósito hidroxiapatita-vidro bioativo: amostra com tratamento térmico (CTT)

A técnica de microscopia eletrônica de varredura permitiu a obtenção de imagens com aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes da amostra CTT (Figura 25). As micrografias revelaram uma superfície em concordância com a amostra STT, apresentando a presença de aglomerados sobre toda a extensão do material.

Figura 25 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra CTT em aumentos de 30, 50, 100 e 500 vezes.



A superfície do material compósito da amostra CTT também apresentou trincas distribuídas sobre a superfície e em algumas regiões de fratura do material (Figura 26).

Figura 26 - Micrografias de microscopia de varredura da amostra CTT em aumento de 100 vezes.
Nota-se a existência de trincas, bem como, em destaque, de uma região fraturada sobre a superfície do material.



De acordo com os aspectos anteriormente comentados por meio das imagens de microscopia não foi possível notar diferenças significativas entre as superfícies da amostra STT e CTT, indicando que não houve a coalescência dos grãos, ou seja, não houve a sinterização da cerâmica. Provavelmente, relacionado à dificuldade de secagem da fase contínua caracterizada pelo vidro bioativo, dito que ocasionou trincas. Esse fato impede, que mesmo com o tratamento térmico possa ocorrer a densificação de toda a estrutura do material. Considerando que o objetivo não era aumentar a cristalinidade do material, uma vez que esta geralmente reduz a bioatividade dos materiais vitrocerâmicos, o tratamento térmico em patamares superiores foi descartado.

A técnica de energia dispersiva por raios X permitiu avaliar a composição da amostra CTT. O procedimento de análise foi o mesmo descrito para a amostra STT, no intuito de verificar a composição em regiões distintas do material. Conforme o esperado, os elementos O, Si, P e Ca que caracterizam o material compósito se mostraram presentes em todos os pontos (Tabela 9).

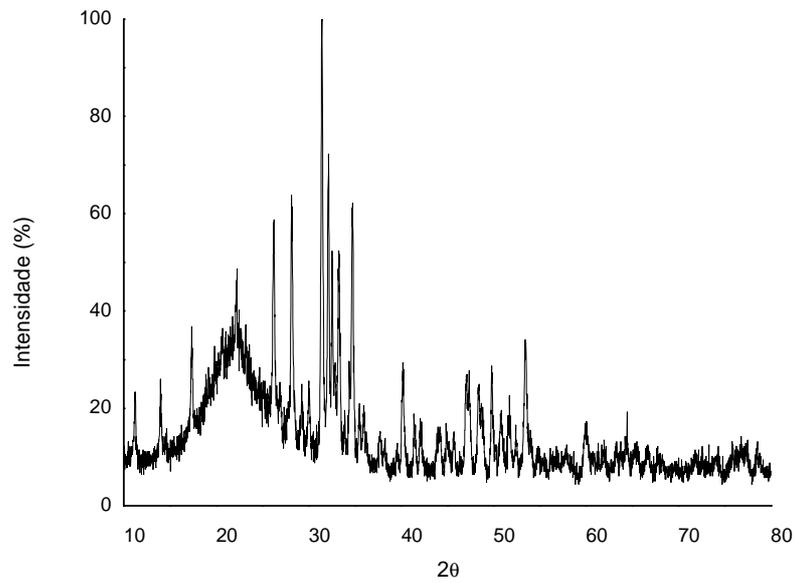
Tabela 9 - Resultados da análise de EDX da Amostra CTT.

Porcentagem (%)				
Elemento	Ponto 1	Ponto 2	Ponto 3	Média
O	66,814	68,673	69,004	68,164
Si	19,036	15,722	16,931	17,230
P	5,246	6,361	5,592	5,733
Ca	8,904	9,245	8,473	8,874

A análise da amostra CTT, assim como descrito para a amostra STT, revelou uma variação de proporção em relação à esperada para os elementos do material compósito. O elemento P foi o que apresentou proporção estequiométrica mais próxima. Por sua vez, o elemento Si manteve-se em proporção próxima a esperada no ponto 1, porém, se distanciando nos demais pontos. No caso da amostra CTT, a proporção do elemento Ca também esteve aquém da esperada em todos os pontos. Provavelmente, pelos motivos anteriormente relatados.

Na amostra CTT, o difratograma apresentou um acréscimo da região amorfa quando comparado com os difratogramas das amostras hidroxiapatita e STT (Figura 27), em concordância com a expectativa de não provocar um aumento da cristalinidade devido ao patamar de temperatura adotado no processo.

Figura 27 - Difratograma da amostra CTT.



6. CONCLUSÃO

O material compósito de hidroxiapatita-vidro bioativo, de acordo com as análises realizadas, apresentou características inerentes a cada uma de suas fases constituintes, tais como composição de elementos e cristalinidade. A partir dos resultados tem-se o ponto de partida para a obtenção de material que futuramente possa ser empregado na engenharia de tecidos como enxerto ósseo, aliando as propriedades osteocondutivas e/ou osteoindutivas de cada fase. Sugere-se para a realização de trabalhos futuros:

- Maior controle dos parâmetros homogeneização da misturas, incluindo a variação na ordem de adição das matérias primas TEP e hidroxiapatita, verificando as possíveis implicações na composição e proporções de elementos do material compósito.
- A adição de fase constituinte de natureza polimérica de maneira a aliviar as tensões advindas do processo de secagem, além de permitir a obtenção de superfície mais uniforme. Nesse aspecto, o poli (álcool vinílico) poderia ser empregado como essa nova fase polimérica.
- A realização de testes de biocompatibilidade em solução fluido corporal simulada para a avaliação de como o material se comporta em meio biológico.

7. REFERÊNCIAS

AL-AQL, Z. S.; ALAGL, A. S.; GRAVES, D. T.; GERSTENFELD, L. C.; EINHORN, T. A. Molecular mechanisms controlling bone formation during fracture healing and distraction. **Journal of Dental Research**, Washington, 2008.

ALBERTS, B.; JONHSON A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; KEITH, R.; WALTER, P.. **Biologia Molecular da Célula**. 5.ed. Porto Alegre: Artmed, 2010.

CALLISTER, W.D.JR. **Ciências e engenharia de materiais: uma introdução**. Rio de Janeiro: LTC, 2002.

CAMILO, C. C.; **Escafolds para implantes ósseos em alumina / hidroapatita / biovidro: análises mecânicas e *in vitro***. São Carlos: USP, 2006.

COSTA, H. S. **Síntese, caracterização e avaliação do comportamento degradativo de híbridos porosos de poli (álcool vinílico)/vidro bioativo**. Belo Horizonte: UFMG, 2010.

DAGUANO, J. K. M. F. Biovidros e vitrocerâmicos bioativos do sistema $3\text{Ca.P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-MgO}$ para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais, mecânicas e biológicas. São Paulo: USP, 2011.

FERNANDES, T. J.. **Sinterização de hidroxiapatita nanométrica com pvp: sinterização e adsorção de albumina bovina**. Rio de Janeiro: IME, 2011.

FERNANDES, J. S.. **Preparação e caracterização de blocos de fosfato de cálcio modificados quimicamente**. Belo Horizonte: CEFET-MG, 2013.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H.. Fosfatos de Cálcio: Importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. **Química Nova**. Araraquara, 2010.

GUYTON, A. C.; HALL, J. E.; **Tratado de fisiologia médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2006.

HENCH, L. L.; Bioceramics: From concept to clinic. Flórida: **Journal of the American Ceramic Society**, 1991.

HENCH, L. L.; WILSON, J. **Introduction to bioceramics**. Singapore: Word Cientific Publishing Co. 1993.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.. **Histologia básica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

KOOPS, F. A.. **Síntese de hidroxiapatita reforçada com alumina reforçada com alumina obtida através de aspersão de solução por chama**. Porto Alegre: UFRGS, 2010.

MALISKA, A. M.. **Microscopia eletrônica de varredura**. Florianópolis: UFSC, 2010.

MANNHEIMER, W. A.. **Microscopia dos materiais: Uma introdução**. Rio de Janeiro, 2002.

MENEZES, W. G.. **Síntese, Caracterização e Propriedades de Materiais Híbridos formados entre Polianilina e Óxidos de Vanádio obtidos pelo Processo Sol-Gel**. Curitiba: UFPR, 2007.

MORA, D. M., LUCAS, J. F. R., MARAN, M. A.. **Apostila de Materiais Elétricos**. Curitiba: UEPR-Onioeste, 2010.

NUNES, E. H. M. **Caracterização de ametistas naturais**. Belo Horizonte: UFMG, 2008.

PADILHA, A. F.; AMBROZIO FILHO, F. **Técnicas de análise microestrutural**. Rio de Janeiro: Hemus, 1985.

RATNER, B. D. et al. **Biomaterials Science: an introduction to materials in medicine**. 2. ed. San Diego: Elsevier Academic Press, 2004.

SANTOS, D. M. M. **Síntese e secagem de vidro bioativo / PVA e vidro bioativo / PVA / glutaraldeído**. Belo Horizonte: CEFET-MG, 2013.

SANTOS, K. S.. Princípios da cicatrização óssea. **Seminários Aplicados**. Goiânia: UFG, 2011.

SILVA, A. C., APARECIDA, A. H., BRAGA, F. J. C.. **Compósitos de hidroxiapatita óssea bovina dispersa em biovidro: desenvolvimento da matriz vítrea silicato-fosfato**. São Paulo: UNESP, 2010.

SILVA, C. L. A., PINTO, L. E. S. C., LOURO, L. H. L., LIMA, E. S., SILVA, M. H. P.. **Caracterização microestrutural do compósito hidroxiapatita bovina biovidro**. Rio de Janeiro: IME, 2011.

SILVA, P. L. N. B. **Revestimento em multicamada, obtidos por deposição por plasma de compósitos hidroxiapatita-vidro para biomateriais – caracterização mecânica e de superfície**. Lisboa: Universidade do Porto, 2002.

TEIXEIRA, R. G.; VIDAL, B. C.; SANTOS, E. P.. Reposicionamento cirúrgico de um segundo molar inferior direito impactado com cárie – relato de caso. Rio de Janeiro: **Jornal Brasileiro de Ortodontia Facial**, 2000.