



Universidade Estadual de Maringá

Pós-Graduação em Física

ALAINE GOMES

ESTUDO DA ADIÇÃO DE ARGILAS BRANCAS A HIDROXIAPATITA DE ORIGEM BOVINA PARA OBTENÇÃO DE BIOCERÂMICAS DE ALTA RESISTÊNCIA MECÂNICA

MARINGÁ
2019



Universidade Estadual de Maringá

Pós-Graduação em Física

ALAÍNE GOMES

**ESTUDO DA ADIÇÃO DE ARGILAS BRANCAS A HIDROXIAPATITA DE ORIGEM
BOVINA PARA OBTENÇÃO DE BIOCERÂMICAS DE ALTA RESISTÊNCIA
MECÂNICA**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Orientador(a): Valdirlei Fernandes Freitas
Coorientador(a): Taiana G. M. Bonadio

MARINGÁ
2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
(Biblioteca Central - UEM, Maringá - PR, Brasil)

G633e Gomes, Alaíne
Estudo da adição de argilas brancas a hidroxiapatita de origem bovina para obtenção de biocerâmicas de alta resistência mecânica / Alaíne Gomes. -- Maringá, PR, 2019.
95 f.: il. color., figs., tabs.

Orientador: Prof. Dr. Valdirlei Fernandes Freitas.
Coorientadora: Profa. Dra. Taiana Gabriela Moretti Bonadio.
Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Física, Programa de Pós-Graduação em Física, 2019.

1. Cerâmica - Alta resistência. 2. bioatividade. 3. Biomateriais. I. Freitas, Valdirlei Fernandes, orient. II. Bonadio, Taiana Gabriela Moretti, coorient. III. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. IV. Título.

CDD 23.ed. 530

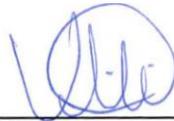
ALAÍNE GOMES

ESTUDO DA ADIÇÃO DE ARGILAS BRANCAS À HIDROXIAPATITA DE ORIGEM BOVINA PARA OBTENÇÃO DE BIOCERÂMICAS DE ALTA RESISTÊNCIA MECÂNICA

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre.

Aprovado em: Maringá, 27 de fevereiro de 2019.

BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Valdirlei Fernandes Freitas

Universidade Estadual de Maringá



Profa. Dra. Taiana Gabriela Moretti Bonadio

Universidade Estadual do Centro-Oeste - Guarapuava



Prof. Dr. Ricardo Yoshimitsu Miyahara
Universidade Estadual do Centro-Oeste - Guarapuava



Prof. Dr. Luiz Fernando Cótica
Universidade Estadual de Maringá - UEM

Dedico este trabalho aos meus pais Julio Cesar Gomes e Luce Mare Holaniscz, cada vitória minha é mérito de vocês. E a Cecilia Fóss Gomes, você é a nossa esperança no futuro, criança.

"Transmita o que aprendeu. Força, mestria. Mas fraqueza, insensatez, fracasso também. Sim, fracasso acima de tudo. O maior professor, o fracasso é. Luke, nós somos o que eles crescem além. Esse é o verdadeiro fardo de todos os mestres." **Mestre Yoda**

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Prof. Dr. Valdirlei Fernandes Freitas pela orientação, paciência e compreensão. Obrigada por me incentivar e me cobrar nos momentos certos. A minha co-orientadora Prof. Dr. Taiana Gabriela Moretti Bonadio por todo conhecimento que me passou, obrigada por acreditar no meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Wilson Ricardo Weinand por me acolher em seu laboratório e me auxiliar em muitos passos dessa pesquisa. Aos demais Professores do programa por todos ensinamentos passados, principalmente aos professores do Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais (GDDM).

Aos colegas de Pós-Graduação, obrigada pelos cafés, conversas e grupos de estudos. Obrigada por tornar essa fase muito mais agradável e divertida. A todos os membros do GDDM pelo auxílio na pesquisa.

Ao Eduardo Azzolini Volnistem pela ajuda, pelas horas de MEV e conhecimento compartilhado.

Ao Daniel de Matos Silva pelo apoio no manuseio dos equipamentos do laboratório.

A Jaciele Rosso pelas conversas que me faziam enxergar as luzes no fim dos túneis, caminhadas, exercícios e amizade.

A Adriane Nascimento pela amizade, pela ajuda e por estar sempre por perto torcendo por mim.

Ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP/UEM), pelo suporte nas análises de microscopia.

A Capes, CNPq, Fundação Araucária, FINEP e UEM pelo apoio financeiro.

Aos meus pais, Julio Cesar Gomes e Luce Mare Holanisch Gomes por todos os sacrifícios que fizeram para me dar suporte na minha carreira acadêmica. Por todas as palavras de apoios, mensagens e ligações, por serem meu lar, meu ponto de apoio e meu lugarzinho seguro no mundo. Obrigada por acreditarem em mim e em todos os meus sonhos. A toda minha família, por entender a minha ausência e me incentivar a a voar mais alto sempre.

Aos meus amigos de graduação Bárbara Almeida Silvério, Gabriela (Gabi)

Chomen e Diego Henrique Witchemichen. Obrigada por sempre torcer por mim, por me ajudar e estar presente mesmo a 300 km de distância. A todos os amigos que Maringá me deu, obrigada por tornar minha mudança mais fácil e divertida. Um agradecimento especial ao Pedro Nunes por estar ao meu lado e por toda reciprocidade em nosso relacionamento.

RESUMO

As biocerâmicas apresentam bons resultados, quando utilizadas como materiais para reconstrução óssea, sendo a hidroxiapatita uma das mais utilizadas. Porém, a mesma possui propriedades mecânicas inferiores à de ossos, que suportam cargas elevadas naturais do corpo humano. Para utilizar esse material, como substituído ou reparo ósseo se faz necessário a utilização de outros materiais como fase de reforço ou fundente. No presente trabalho, pretendeu-se obter um material bioativo que possuísse elevadas propriedades mecânicas, com amostras produzidas por moagem seguida de sinterização convencional. As propriedades físicas foram analisadas por testes mecânicos de compressão e flexão, enquanto a bioatividade foi avaliada *in vitro* em imersão de SBF (fluido corporal simulado). Ao misturar a hidroxiapatita com o caulim e o feldspato, e variando a proporção entre eles, foi possível observar um aumento na sua resistência mecânica, sem perder a bioatividade da hidroxiapatita. Em algumas concentrações do composto foi observado a dissolução da hidroxiapatita nos testes *in vitro* em SBF, onde a amostra liberou cálcio e fósforo para o meio e sua estrutura ficou mais porosa. Como esses componentes possuem baixo custo de comercialização, é possível chegar num produto comercial de próteses ósseas para implantes com um valor mais acessível.

Palavras-chave: Biocerâmicas, Hidroxiapatita, Caulim, Feldspato, bioatividade;

ABSTRACT

The bioceramics have been showing good results when used as materials for bone reconstruction. Among the bioceramics, hydroxyapatite is one of the most used. However, it has lower mechanical properties than bones that support natural high loads of the human body. To use this material as a replacement or bone repair, it becomes necessary to use other materials such as reinforcement phase or flux. In this work, the aim was obtaining a bioactive material that have high mechanical properties with samples produced by ball milling followed by conventional sintering. The physical properties were analysed by mechanical tests of compression and flexion, and the bioactivity was evaluated *in vitro* in immersion of SBF (simulated body fluid). When mixing the hydroxyapatite with kaolin and feldspar, and varying the proportion between them, there is an increase on its mechanical resistance, without losing the bioactivity of the hydroxyapatite. In some concentrations of the compound the dissolution of the hydroxyapatite was observed in the *in vitro* tests, where the sample released calcium and phosphorus to the medium and its structure became more porous. Since these components have a low marketing cost, the intended is to enable the production of bone prostheses for implants with a more affordable price.

Keywords: bioceramics, hydroxyapatite, kaolin, feldspar.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Estrutura da Hidroxiapatita, demonstração do Tipo A e B [23].	9
Figura 2 - Estrutura cristalina do Feldspato Ortoclásio, Feldspato de Potássio [32].	12
Figura 3 - Estrutura cristalina do Caulim [39]	14
Figura 4 - Esquematização dos estágios da sinterização por fase líquida envolvendo mistura de pós [51]	18
Figura 5 – Representação esquemática da lei de Bragg. Figura produzida pela autora.	21
Figura 6 - Esquema do tubo de raios X [60]	22
Figura 7 - diagrama esquemático de um difratômetro de raios - X [60]	23
Figura 8 - Difratoograma da Hidroxiapatita caracterizado utilizando as fichas JCPDS [62]	24
Figura 9 - Representação esquemática de um Microscópio Eletrônico de Varredura [66]	26
Figura 10 - Ensaio de flexão de 3 pontos em uma barra retangular submetida a uma força P. Figura produzida pela autora.	29
Figura 11 - Curva da deformação no regime elástico linear, utilizando a equação de Hooke para determinar o coeficiente angular do gráfico [70]	30
Figura 12 - Moinho da Acb Labor de baixa energia utilizado.	32
Figura 13 - Aparato experimental para imersão e impregnação das amostras com água para medidas de densidade a esquerda e balança com o acessório Specific Gravity Measurement Kit utilizado para medir o empuxo a direita.	34
Figura 14 - Difratoograma da amostra 100 % Hidroxiapatita feito com fonte de Cu após os processos de calcinação a 800°C por 4h e a 900°C por 2h e moagem, identificação de fase utilizando a ficha 00-009-0432 do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).	38
Figura 15 - Análise Termogravimétrica, com as curvas de perda de massa em preto e diferencial térmica em azul, no intervalo de 20 a 1200°C com taxa de aquecimento de 5°C/min das amostras. a) 50% de Caulim + 50% de Feldspato, b) 60% Hidroxiapatita + 20% de Caulim + 20 % de Feldspato, c) 70% Hidroxiapatita + 15% de Caulim + 15 % de Feldspato, d) 80% Hidroxiapatita + 10% de Caulim + 10 % de Feldspato , e) 90% Hidroxiapatita + 05% de Caulim + 05 % de Feldspato e f) 100% hidroxiapatita.	40
Figura 16 - Difratoograma de raios X dos compostos na forma de pastilha sinterizada a 1150°C. Realizados com tubo de Cu. Identificação de fase utilizando as fichas do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards). Sendo * = hidroxiapatita; ♦ = β-TCP; ε = anortita; o = óxido de silício.	42

Figura 17 - Difratoograma de Raio X da amostra 90% HA antes e depois da sinterização, caracterização de fase utilizando as fichas do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards). Sendo * = hidroxiapatita; \blacklozenge = β -TCP; ε = anortita; o = óxido de silício.	43
Figura 18 - Contração linear (diametral) e Contração Volumétrica das amostras cilíndricas durante o processo de sinterização.....	45
Figura 19 - Densidade, porosidade e absorção de água para amostras prensadas a 450 MPa e sinterizadas a 1150°C por 4 horas em atmosfera livre.....	46
Figura 20 - Micrografia da fratura da amostra 70% de hidroxiapatita que mostra as rachaduras internas da amostra	48
Figura 21 - Difratoogramas da amostra 100 % HA imersa por 7, 14 e 21 dias em SBF, feito com tubo de Cu. Identificação de fases utilizando a ficha do banco de dados JCPDS.....	50
Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra 100%HA com a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; d) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF.	51
Figura 23 - Imagens obtidas por MEV do composto 90% de Hidroxiapatita; a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fósforo em SBF.....	53
Figura 24 - difratograma da amostra 90%HA com 0 e 21 dias em imersão em SBF. Diminuição do pico (211) da hidroxiapatita em relação ao pito (021) do β -TCP comprovando a dissolução da hidroxiapatita da superfície durante o teste in vitro.....	54
Figura 25 - Micrografia da amostra 90%HA com 14 dias de imersão em SBF 1,5. a) superfície da amostra que destaca o padrão craquelado do crescimento da apatita; b) fratura da amostra que destaca a camada de apatita que cresceu na superfície.....	55
Figura 26 - Imagens obtidas por MEV do composto 80% de Hidroxiapatita; a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de	

imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e regiões selecionadas para análise por EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra onde não apresenta crescimento de apatita após 60 dias em imersão; h) EDS da superfície da amostra na região de crescimento de apatita após 60 dias em imersão.57

Figura 27 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra 80%HA com 60 dias de imersão em SBF. a) a interseção do crescimento de apatita na superfície da amostra, mostrando a apatita ocupando os poros formados pela dissolução da hidroxiapatita. b) Fratura da amostra que mostra a formação de apatita no interior dos poros.59

Figura 28 - Imagens obtidas por MEV do composto de 70% de Hidroxiapatita. a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em SBF. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fosforo em SBF.....61

Figura 29 - Imagens obtidas por MEV do composto de 60% de Hidroxiapatita. a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em SBF. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fosforo em SBF.....63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação dos biomateriais existente de acordo com suas vantagens, desvantagens e aplicações. [12]	6
Tabela 3 - Fator de correção h/d para ensaios de resistência a compressão	29
Tabela 4 - Concentração dos compostos obtidos à base de hidroxiapatita, caulim e feldspato	32
Tabela 5 - Reagentes utilizados na produção do Fluido Corpóreo Simulado na concentração padrão e na 1,5x (SBF1,5x), escalados pela ordem.....	37
Tabela 6 - Relação da Resistência à Compressão e Módulo de elasticidade das amostra e ossos descritos no livro J. B. Biomaterials Principles and applications de Park, J.B. [80]	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Absorção de água
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
Al	Alumínio
ASTM	American Society for Testing and Materials
Ca	Cálcio
Cl	Cloro
CL	Contração linear
CV	Contração volumétrica
DA	Densidade aparente
DRX	Difração de Raios X
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Derivada termogravimétrica
EDS	Espectroscopia de raios X por dispersão de energia
H	Hidrogênio
HA	Hidroxiapatita
ICTAC	Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria
ISO	<i>International Organization for Standardizations</i>
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
K	Potássio
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
Na	Sódio
NBR	Normas Brasileira
O	Oxigênio
P	Fósforo
PA	Porosidade aparente
PVDF	Fluoreto de Polivinilideno
S	Silício
SBF	Simulated body fluid (Fluído corporal simulado)
TA	Análise Termogravimétrica
TCP	Fosfato tricálcico

SUMÁRIO

Agradecimentos	i
Resumo	iii
Abstract	iv
1. <i>INTRODUÇÃO</i>	1
1.1 OBJETIVOS	2
2. <i>FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</i>	4
2.1. BIOMATERIAIS.....	4
3. <i>TÉCNICAS EXPERIMENTAIS</i>	17
3.1. SINTERIZAÇÃO.....	17
3.2. ANÁLISES TÉRMICAS	19
3.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)	20
3.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	24
3.5. TÉCNICAS PARA MEDIR AS PROPRIEDADES FÍSICAS (CONTRAÇÃO LINEAR E VOLUMÉTRICA, DENSIDADE, POROSIDADE E ABSORÇÃO DE ÁGUA)	27
3.6. TESTE MECÂNICO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO E FLEXÃO	28
4. <i>PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL</i>	31
4.1. OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA BOVINA.....	31
4.2. PRODUÇÃO E SINTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS.....	31
4.3. ANÁLISE TÉRMICA	33
4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA.....	33
4.5. DIFRAÇÃO DE RAIOS X.....	35
4.6. MEV e EDS	35
4.7. TESTES DE RESISTÊNCIA MECÂNICA.....	35
4.8. TESTES DE BIOATIVIDADE	36
5. <i>RESULTADOS E DISCUSSÕES</i>	38

5.1.	CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA DE ORIGEM BOVINA.....	38
5.2.	<i>ANÁLISE TÉRMICA</i>	39
5.3.	CARACTERIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA.....	41
5.4.	PROPRIEDADES FÍSICAS DOS CORPOS DE PROVAS.....	46
5.5.	TESTES DE BIOATIVIDADE	49
6.	<i>CONCLUSÃO</i>	64
6.1	<i>PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS</i>	65
	<i>REFERÊNCIAS</i>	67

1. INTRODUÇÃO

O aumento da expectativa de vida da população está ligado com o aparecimento de doenças ósseas que atingem principalmente pessoas da terceira idade, tais como osteoporose, perda de massa óssea, surgimento de tumores ósseos e perda de dentes. Com isso, o mercado mundial de materiais para uso ortopédico vem crescendo nas últimas décadas [1]. Em particular, a idade média da população brasileira apresenta uma tendência acelerada de aumento [2]. Porém, problemas de perda de estrutura óssea não são decorrentes exclusivamente da idade, jovens também podem ser atingidos por eles, seja em virtude de doenças ou acidentes.

A perda de um órgão ou uma parte do corpo não causa apenas transtornos físicos, podem causar também transtornos sociais e psicológicos. Para garantir a qualidade de vida das pessoas acometidas por doenças ósseas e/ou traumas surgiu a necessidade de um enfoque maior na pesquisa de materiais que possam ser utilizados como substitutos de tecidos ósseos [3].

Biomateriais cerâmicos, como hidroxiapatita, fosfato de cálcio, alumina e zircônia, possuem um grande potencial para serem utilizados na reposição dos chamados tecidos duros (ossos e dentes), pois possuem estabilidade química, baixa ou nula toxicidade e boa biocompatibilidade [3]. Porém dependendo do esforço mecânico a que são submetidos, alguns biomateriais podem ser mais apropriados que outros, devido às diferenças em suas propriedades mecânicas [4]. Em estudos prévios, realizados por Miyahara, Gouvêa e Toffoli (2007), foi demonstrado que o caulim e o feldspato podem ser promissores candidatos para melhorar a resistência mecânica da hidroxiapatita [5]. Esses estudos apontaram para o desenvolvimento de

implantes biocerâmicos completamente inovadores, produzidos com matérias-primas que podem ser encontradas no território nacional.

Grande parte das próteses utilizadas no Brasil são importada. Com isso, o valor final desses produtos é elevado, se tornando, muitas vezes, inacessível para grande parte da população. Todavia, espera-se que com a metodologia proposta neste projeto seja possível o desenvolvimento científico e tecnológico desses produtos em nosso país. Por consequência, o estado do Paraná poderá se tornar um centro de referência na produção do material para bioimplantes. Além disso, com a produção nacional, as próteses poderão se tornar mais acessíveis para a população, aumentando assim, a qualidade de vida dos brasileiros, além de gerar lucros para o estado e para o país.

1.1 OBJETIVOS

Produzir materiais cerâmicos utilizando hidroxiapatita e argilas como o caulim e feldspato, para obtenção de material bioativo de alta resistência mecânica.

Os objetivos específicos são:

- Obter hidroxiapatita proveniente de ossos bovinos;
- Produzir compostos de hidroxiapatita, caulim e feldspato via mistura em moinho de bolas;
- Sinterizar os corpos cerâmicos obtendo a fase líquida;
- Avaliar propriedades físicas e mecânicas das amostras sinterizadas;
- Realizar testes de bioatividade *in vitro* nos compostos utilizando fluido corporal simulado (SBF)

- Caracterizar a superfícies das amostras após os testes de bioatividade por difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura e espectroscopia de raios X por dispersão de energia.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. BIOMATERIAIS

Atualmente, existem várias alternativas para recuperar tecidos ou órgãos humanos que sofrem algum tipo de trauma, devido aos avanços nas áreas de engenharia dos materiais e na medicina. Durante séculos, a única alternativa viável para traumas em membros do corpo humano, era a amputação, que diminuía a qualidade de vida do paciente, porém garantia sua sobrevivência [6] [7]. Assim, com a popularização de procedimentos cirúrgicos, a partir da segunda metade do século XX, os biomateriais passaram a ser utilizados para substituir tecidos vivos. Contudo, só em 1982, na Conferência do Instituto de Desenvolvimento de Consenso em Saúde que o termo biomaterial foi introduzido na medicina. Biomateriais foram definidos como qualquer substância ou combinação de substâncias (excluindo os fármacos) de origem natural ou sintética, que possam ser usados para tratar, aumentar ou substituir parte ou total de tecidos ou órgãos do corpo humano, de forma transitória ou permanente [8] [9].

Para ser considerado um biomaterial seguro para utilização *in vivo*, ele deve apresentar as seguintes características:

- Biocompatibilidade, o material não pode apresentar nenhuma resposta inflamatória, local ou sistêmica, no organismo.
- O material deve atender as características físico químicas necessárias para cumprir a função desejada, ou seja, ser biofuncional [10].

Hench e Wilson (1993) classificaram os biomateriais de acordo com o seu comportamento fisiológico, sendo eles, biotoleráveis ou bioinertes, aqueles que se mantem isolado do hospedeiro, por meio da produção de um tecido fibroso, liberando

ou não componentes (como íons ou compostos químicos, por exemplo), mas sem causar reações adversas para o organismo. Exemplos de materiais biotoleráveis são os metais (ligas de titânio), polímeros sintéticos (PVDF) e algumas cerâmicas (BTNN) [11].

Os materiais bioativos, a base de fosfato de cálcio, promovem ligações de natureza química entre eles e o tecido ósseo, processo chamado também de osseointegração, que ocorre devido a sua similaridade química com a parte mineral óssea. Outra classificação é dada pela (re)absorção do material, que após certo período de tempo em contato com os tecidos hospedeiros, acaba sendo degradado, solubilizado ou fagocitado pelo organismo. Esses são chamados de materiais reabsorvíveis e alguns exemplos são o fosfato tricálcico (TCP) polímeros como o PLA (poli ácido láctico).

Normalmente, biomateriais utilizados na reposição de tecidos moles são diferentes dos utilizados para tecidos duros. Para cada aplicação se busca materiais com propriedades físicas e químicas diferentes, por exemplo, em alguns casos materiais que possuem alta resistência mecânica são considerados vantajosos, enquanto em outras aplicações essa característica é uma desvantagem. A tabela 1 exemplifica a diversidade das aplicações dos biomateriais.

Tabela 1 - Classificação dos biomateriais existente de acordo com suas vantagens, desvantagens e aplicações. [12]

Biomateriais	Vantagens	Desvantagens	Aplicações
Polímeros Polietileno PTFE Poliéster Poliuretano PMMA Silicone	Elasticidade, fácil fabricação, baixa densidade	Baixa resistência mecânica, degradação dependente do tempo	Suturas, artérias, veias, maxilofacial (nariz, orelha, maxilar, mandíbula, dente); Cimento, tendão artificial; oftalmologia.
Metais e ligas Aço inoxidável Liga de titânio Liga de cobalto-cromo	Alta força de tensão, alta resistência a desgaste, energia de deformação alta.	Baixa biocompatibilidade, corrosão em meio fisiológico, perda de propriedades mecânicas com tecidos conectivos moles, alta densidade.	Fixação ortopédica (parafusos, pinos, placas, fios, hastes); implantes dentários.
Cerâmicas e vidros Alumina Zircônia Carbono Fosfatos de cálcio Porcelana Vidros bioativos	Boa biocompatibilidade, resistência à corrosão, inércia, alta resistência à compressão	Baixa força de tensão, baixa resistência mecânica, baixa elasticidade, alta densidade	Ossos, juntas, dentes, válvulas, tendões, vasos sanguíneos e traqueias artificiais
Compósitos Fibras de carbono-resina termofixa Fibras de carbono-termoplásticos Carbono-carbono Fosfato de cálcio-colágeno	Boa biocompatibilidade, inércia, resistência à corrosão, alta força de tensão	Material de fabricação incompatível	Válvula cardíaca artificial (carbono ou grafite pirolítico), implantes de juntas de joelho (fibra de carbono reforçada com polietileno de alta densidade)

A primeira abordagem adotada no desenvolvimento e aplicação dos biomateriais, há dois séculos, era baseada em tentativa e erro, mas recentemente os estudos se tornaram sistemáticos com objetivos bem específicos. No início do uso dos biomateriais de forma mais sistematizada, nas proximidades da década de 50, buscavam-se os materiais bioinertes. Com o passar do tempo, a meta se tornou a bioatividade dos biomateriais e, mais recentemente, o objetivo tem sido a regeneração do tecido de fato [13].

2.2. BIOCERÂMICAS

A difusão do uso de materiais cerâmicos, com propriedades que possibilitam a sua classificação como biocerâmicas, ocorreu no início da década de 70. A primeira biocerâmica com amplo estudo neste período foi a alumina densa ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$) [12], que possui comportamento bioinerte. Este material, devido a sua elevada resistência mecânica, é utilizado até hoje em próteses ortopédicas para substituição parcial ou total de ossos que são submetidos a elevados esforços, na realização de sua atividade funcional. Como por exemplo, a substituição da cabeça do fêmur ou de implantes dentários [14]. As biocerâmicas podem ser utilizadas, tanto isoladas, quanto em compósitos com outros tipos de materiais, por exemplo revestimento de próteses metálicas ou na associação com polímeros [10].

Uma propriedade muito interessante das biocerâmicas é a porosidade. Os poros ajudam no crescimento de tecido vivo no interior da prótese, fazendo que a ligação entre o tecido vivo e o implante seja intensificada. Porém eles também influenciam nas propriedades mecânicas, como a resistência, o módulo de elasticidade, a resistência à oxidação, a resistência ao desgaste, entre outras [15].

2.3. HIDROXIAPATITA (HA)

Dentre os biomateriais cerâmicos, tem-se em destaque as cerâmicas de fosfato de cálcio, devido a sua biocompatibilidade a qual tem origem em sua composição química semelhante ao osso animal e habilidade em interagir com o tecido vivo. Além disso, não apresenta toxicidade aguda ou crônica [16] [17].

A cerâmica de fosfato de cálcio mais utilizada na área médica e odontológica é a hidroxiapatita (HA), de fórmula química $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ e razão Ca/P de 1,67. O termo apatita define os minerais cristalinos com a composição genérica de $\text{M}_{10}(\text{ZO}_4)_6\text{X}_2$, sendo: M um Ca, Sr, Ba, Cd, Pb, etc, Z representa P, V, As, S, Si, CO_3 , etc e X é F, Cl, OH, O, Br etc. Ou seja, apatita é a definição de uma estrutura e não uma composição [18] [19] [20]. A hidroxiapatita sintética, pura na estequiometria difere da hidroxiapatita biológica na composição e nas propriedades físicas. A HA pura e estequiométrica por sua vez não é encontrada em sistemas biológicos, enquanto a HA biológica é descrita como deficiente de cálcio, não estequiométrica, com impurezas ou contendo carbonatos [21].

A figura 1 ilustra a célula unitária da estrutura cristalina da hidroxiapatita, que possui sistema hexagonal e pertence ao grupo espacial $P6_3/m$. As dimensões da célula cristalina são de $a = b = 9,423 \text{ \AA}$ e $c = 6,881 \text{ \AA}$. A célula unitária contém seis grupos de PO_4 e dois grupos de OH [22]. Os carbonatos (CO_3^{2-}) são uma substituição elementar muito abundante no mineral ósseo, cerca de 2,8-8% da massa dos ossos, com tal quantidade variando de acordo com a idade do indivíduo. De acordo com a posição desse ânion na rede cristalina, há formação de diferentes apatitas. O tipo A ocorre quando (CO_3^{2-}) ocupa os sítios de OH⁻, o tipo B é quando CO_3^{2-} ocupa o sítio do PO_4^{3-} , o tipo AB é quando os dois sítios originais são ocupados pelo carbonato. A hidroxiapatita óssea considerada uma mistura do tipo B e do tipo AB. Mesmo que a quantidade de íons de carbonato seja baixa, eles desempenham um importante papel nas reações biológicas associadas ao metabolismo ósseo, como por exemplo, aumento da solubilidade em ambiente ácidos, diminuição da cristalinidade e retardo no crescimento de cristais, e excelentes efeitos em tratamentos clínicos no reparo de defeitos ósseos [23].

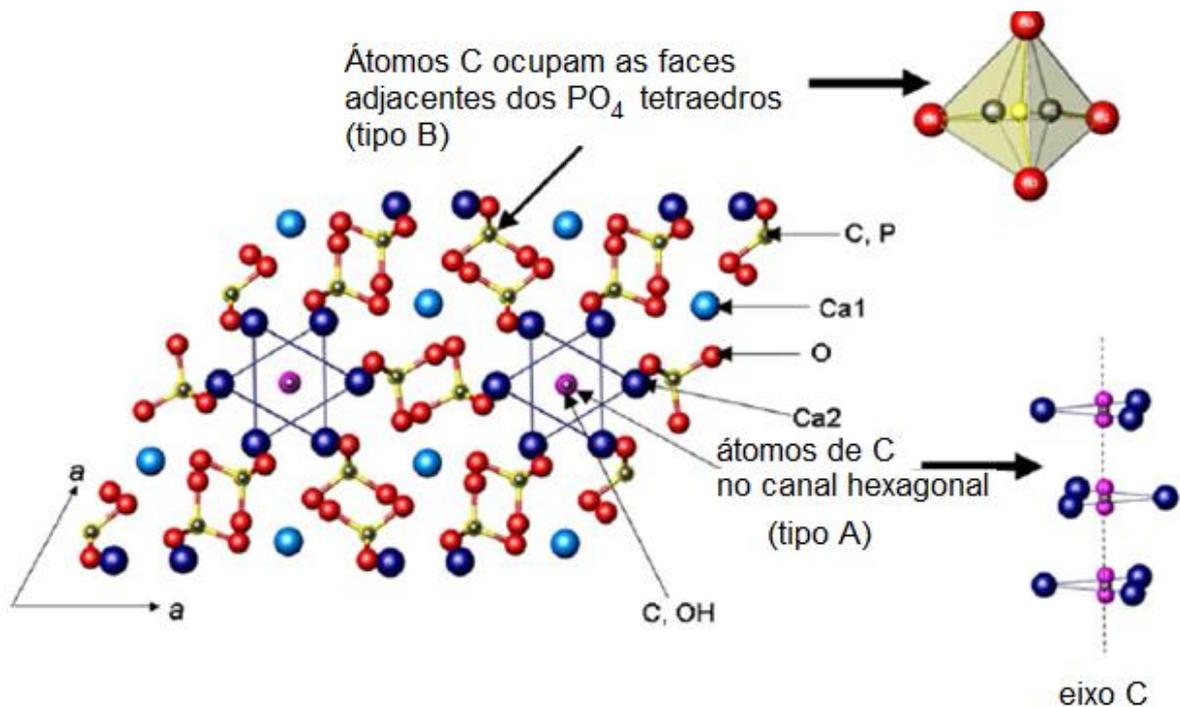


Figura 1 - Estrutura da Hidroxiapatita, demonstração do Tipo A e B [23].

A HA sintética apresenta excelente biocompatibilidade que é devido a sua similaridade química, biológica e cristalográfica com a parte inorgânica do tecido ósseo. A HA começou a ser produzida sinteticamente nos anos 70 e vêm sendo usada clinicamente desde os anos 80 [24].

Segundo Vidigal e Goisman (2003), a superfície porosa da HA parece fornecer um substrato adicional à proliferação do tecido ósseo. A hidroxiapatita permite a junção, proliferação, migração e características fenotípicas de células ósseas, o que resulta em formação de novo osso, em contato direto a superfície do biomaterial [25].

Um grande número de técnicas vem sendo desenvolvidas para sua síntese, em consequência do aumento de aplicações da HA. Um dos métodos mais utilizado é a técnica de precipitação, que envolve reações via úmida entre precursores de cálcio e fósforo com controle de temperatura e pH da solução. O pó precipitado é calcinado em 400 - 600°C ou até mesmo a temperaturas mais elevadas, a fim de obter uma

estrutura de hidroxiapatita estequiométrica. Porém, essa dentre outras técnicas, possuem custo de produção elevado e de alta complexidade. Um método que pode ser destacado por sua facilidade é a calcinação de ossos bovinos “*in natura*” [17], como trataremos a seguir.

2.4. HA BOVINA

A hidroxiapatita proveniente de ossos bovinos pode ser empregada na produção de enxertos ósseos, devido a seu baixo custo e suas propriedades físico-químicas. O Brasil é um país que abate uma grande quantia de gado anualmente, para consumo da carne e os ossos acabam sendo usados na produção de fertilizantes, rações animais, cola, sabão, gelatina e outros [26]. Todavia, a sua utilização de ossos bovinos para a produção de próteses ortopédicas acarreta um aumento substancial no valor comercial do mesmo, já que a hidroxiapatita sintética chega a ser comercializada a R\$ 170,00 o grama [27]. A HA tem a mesma estrutura inorgânica do tecido ósseo, que se permite fazer o caminho inverso e retirar toda a parte orgânica do osso, para obter a hidroxiapatita pura. A matéria orgânica pode ser retirada com tratamentos térmicos a temperaturas de aproximadamente 800°C [5].

Apesar da HA ter bons resultados como um material biocompatível e bioativo, ela possui propriedades mecânicas de resistência a compressão, módulo de elasticidade e resistência a flexão, inferiores à de ossos, principalmente aqueles que suportam cargas elevadas, naturais do corpo humano/animal. Esse fato se torna um obstáculo para aplicações mais amplas na indústria de ortopedia, odontologia e traumatologia, na qual os implantes muitas vezes precisam suportar cargas elevadas. Para solucionar o problema da resistência da HA, existem várias alternativas, as mais

usuais são: o recobrimento de superfícies metálicas com HA, garantindo a bioatividade da superfície externa da prótese, porém não muito satisfatório a médio e longo prazo, ou a adição de fase de reforço ou fundente para a HA, visando aumentar a resistência mecânica e manter a prótese bioativa. Esta última será empregada nesse trabalho [28] [29].

2.5. FELDSPATO

O nome feldspato vem do alemão, significa *feld* = campo + *spath* = pedra, por constituir cerca de 60% da crosta terrestre. Pertence ao grupo de minerais de aluminossilicato de potássio, sódio e cálcio do tipo AB_4O_8 ($A=Ca, Na, K$ e $B=Al, Si$) [30] [31]. Os mais comuns são: o ortoclásio ($K_2O.Al_2O_3.6SiO_2$), feldspato de potássio e a albita ($Na_2O.Al_2O_3.6SiO_2$), feldspato de sódio. A figura 2 mostra a estrutura cristalina do feldspato, ela é caracterizada pela substituição de um a cada quatro Si^{4+} por Al^{3+} causando um desequilíbrio na célula unitária que é compensado por íons de potássio. [30] Os cristais de feldspato são relativamente raros, sendo encontrados em cavidades miarolíticas e em massas de pegmatitos. Na maior parte das rochas os feldspatos não apresentam fase cristalina e possuem grãos em formatos irregulares. A baixa cristalinidade do feldspato é devido a interferência dos minerais, presentes no interior das rochas, durante sua formação [32].

Devido a composição química, o feldspato é quase tão duro quanto quartzo e é usado em vidros e em cerâmica, uma vez que o teor de alumínio melhora a estabilidade química e física, enquanto o seu teor de sais iônicos, álcalis, oferece função de fundente [26]. A fusão do feldspato é em torno de $1100^{\circ}C$, faz com que as

partículas dos outros componentes do composto sejam soldadas, garantindo uma maior resistência mecânica ao material.

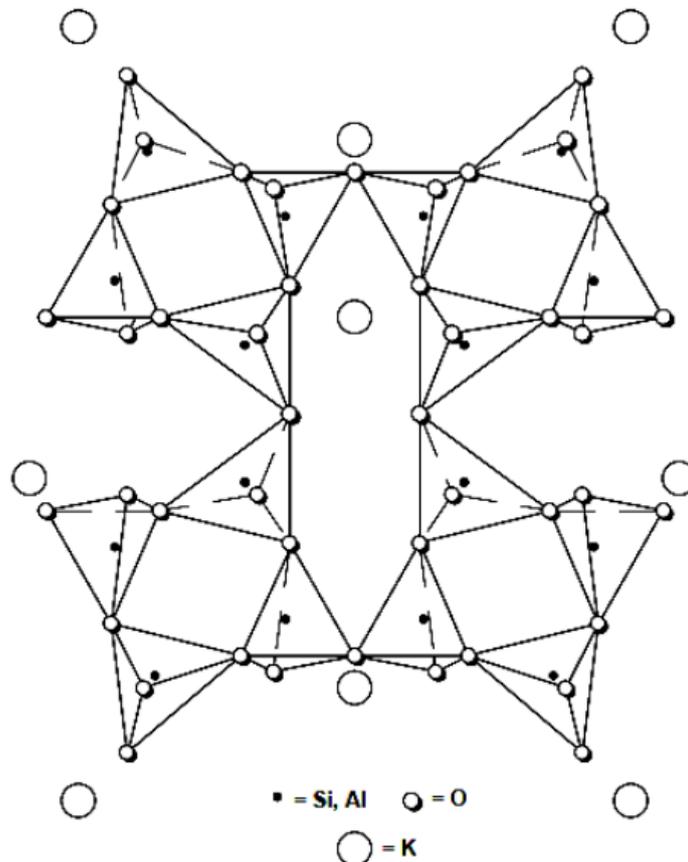


Figura 2 - Estrutura cristalina do Feldspato Ortoclásio, Feldspato de Potássio [32].

Os diferentes tipos de feldspatos possuem composições químicas e estruturas semelhantes. No entanto, a sua coloração varia com a composição, podem ser incolor, branco, ou apresentar qualquer cor se impuro. Em geral o ortoclásio têm uma coloração avermelhada que varia de um rosa pálido a vermelho-tijolo, enquanto que a albita e anortita típicos formam rochas de cores brancas a cinza escura. Os

feldspatos podem variar de transparentes a quase opacos, dependendo de sua dureza molar [30] [33].

A reserva de Feldspato no Brasil é da ordem de 316 milhões de toneladas, distribuída entre os estados do Paraná (28,3%), Minas Gerais (13,3%), Paraíba (10,4%), Rio Grande do Norte (10,2%), Rio de Janeiro (10,2%), Bahia (8,9%), São Paulo (8,2%), Santa Catarina (6,2%) e Tocantins (4,3%). A produção mundial em 2013 atingiu aproximadamente 22,96 milhões de toneladas, tendo como seus maiores produtores: Turquia (30,5%), Itália (20,5%), China (9,1%), Tailândia (4,8%), França (2,8%), Irã (2,8%), Japão (2,6%), Espanha (2,6%), e Índia (2,3%). A produção brasileira responde por aproximadamente de 1,2% do total mundial [34].

A produção bruta de feldspato proveniente de lavras, mineração direta, regulares pelo Departamento Nacional de Produção Mineral (DNPM) em 2013 foi de 320.048 t. O estado do Paraná foi responsável por 54,8% da produção bruta, seguido por Santa Catarina (15,7 %), Paraíba (11,5%), Rio Grande do Norte (6,2%), Minas Gerais (6,1%), Bahia (5,0%), São Paulo (0,5%) e Pernambuco (0,2%). A produção beneficiada, ou seja separação magnética para remove-lo de outros minerais, totalizou 294.357 t, assim distribuída: Paraná (60,6%), Minas Gerais (34,3%), Rio Grande do Norte (4,3%), São Paulo (0,5%), e Paraíba (0,3%) [35] [36].

2.6. CAULIM

O termo caulim deriva da palavra chinesa *Kauling* (colina alta) e se refere a uma colina de Jauchau Fu, ao norte da China, onde o material foi obtido pela primeira vez. No Reino Unido essa argila é conhecida como “*china clay*”. O Caulim é um dos

seis minerais mais abundante do topo da crosta terrestre, encontrados a uma profundidade de até 10 metros [37].

O Caulim é um material formado por um grupo de silicatos hidratados de alumínio, como a caulinita e haloisita. Porém, o caulim contém outras substâncias sobre a forma de impureza. A fórmula química dos minerais do grupo da caulinita é $Al_2O_3 \cdot mSiO_2 \cdot nH_2O$, onde m varia de 1 a 3 e n de 2 a 4.

O Caulim tem uma razão de 1:1 com camadas de SiO_2 com simetria estrutural de tetraédrica e camadas de Al_2O_3 com simetria octaédrica, essas camadas criam planos que são ocupados da seguinte forma: O – Si – O/OH – Al – OH que estão apresentados na figura 3. O caulim segue uma simetria triclinica, com grupo espacial P1 e seus parâmetros de rede são $a = 5,15 \text{ \AA}$, $b = 8,95 \text{ \AA}$ e $c = 7,40 \text{ \AA}$ com ângulos $\alpha = 91,68^\circ$, $\beta = 104,87^\circ$ e $\gamma = 89,9^\circ$, a célula unitária do caulim é eletricamente neutra e estável [38] [39].

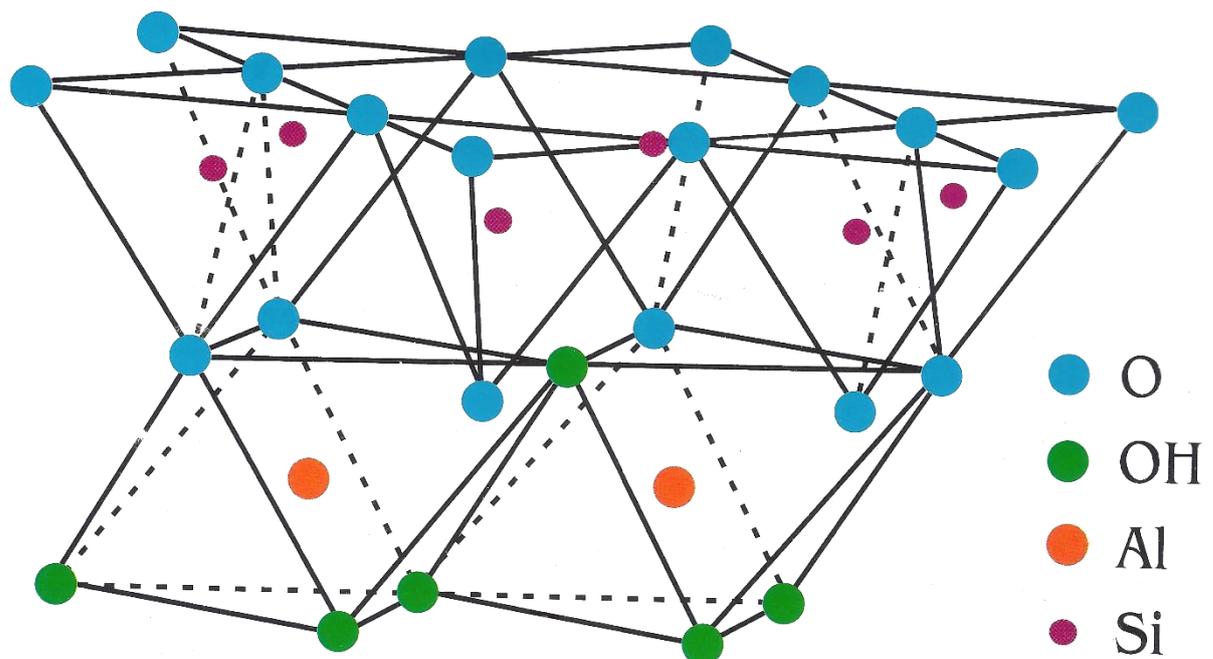


Figura 3 - Estrutura cristalina do Caulim [39]

O Caulim também é classificado pela forma como é obtido: a) caulins residuais, quando são encontrados no local em que se formaram, extraídos em lavras, as impurezas contabilizam cerca de 40 – 50% em volume do material, consistindo de areia, quartzo, palhetas de mica, grãos de feldspato e etc; b) caulins sedimentares, resultantes da deposição e purificação de caulins primários e residuais ou argilas caulínicas por meio de correntes de água doce e matéria orgânica. Esse tipo de caulim tem uma porcentagem menor de impurezas [26].

Sua principal aplicação é na indústria do papel como estabilizante e para adicionar carga, mas é amplamente utilizado como matéria prima para cerâmicas, tintas, borrachas, plásticos, remédios, fibras de vidro, catalisadores, fertilizantes e outros [40].

As reservas mundiais de caulim são amplas, porém, apenas 4 países detêm cerca de 95% do montante total, estimado de aproximadamente 14,2 bilhões de toneladas. A distribuição mundial se dá por: Estados Unidos (53,0%), Brasil (28,0%), Ucrânia (7,0%) e Índia (7,0%). As reservas brasileiras de caulim atingiram, em 2000, um total em torno de 4,0 bilhões de toneladas. Os Estados que possuem maior quantidade são Amazonas (63,4%), Pará (18,9%) e Amapá (8,9%) [35] [36].

2.7. COMPOSTO HA, CAULIM E FELDSPATO.

O composto de HA, Caulim e Felspato vem a muito tempo sendo usado na produção de cerâmicas conhecidas como porcelana de ossos. A porcelana de ossos era um produto especificamente inglês até o século XIX, com uma proporção de 50% HA, 25% de Felspato e 25% de Caulim. Após século XIX, passou a ser produzida na Suécia, a partir de 1960 a produção passou a ser difundida pelo mundo. Os principais

atrativos da porcelana de ossos são translucidez, refletividade, qualidade do vidro e decoração, além de elevada resistência mecânica. Este conjunto de propriedades faz com que o custo seja mais elevado que a louça de mesa comum [41].

A porcelana de ossos apresenta uma maior tensão de ruptura à flexão e à laminação, além de maior tenacidade, quando comparadas as outras cerâmicas. O caulim é responsável por conferir a maior plasticidade dentro do material, embora a cinza de ossos (HA) também possa atuar positivamente, dentro de certo intervalo de composições, sobre a plasticidade [42]. A presença do feldspato está associada com a capacidade de diminuir a temperatura de formação da fase líquida durante o processo de sinterização [43]. Esse líquido tende a preencher os poros e se comportar como uma cola com os demais componentes, aumentando assim as propriedades mecânicas do composto [30] [44]. A hidroxiapatita é responsável por manter o material bioativo permitindo a ligação do osso com a prótese, quando colocado *in vivo*.

2.8. TESTES DE BIOATIVIDADES *IN VITRO*

O requisito essencial para um material ser bioativo, ou seja, para que tenha a capacidade de se ligar ao osso vivo é a capacidade de formação de apatita em sua superfície quando implantado *in vivo*. Essa propriedade pode ser avaliada e reproduzida *in vitro*, utilizando uma solução com pH e concentração iônica semelhante ao plasma sanguíneo humano, um fluido corpóreo simulado (*simulated body fluid* – SBF). Para isso, é necessário manter a amostra do biomaterial que se deseja testar submersa em SBF, mantendo condições fisiológicas (temperatura em 36,5°C e pH ~7,40) [45].

3. TÉCNICAS EXPERIMENTAIS

3.1. SINTERIZAÇÃO

Pode-se definir a sinterização como o aquecimento de um material cerâmico, previamente conformado sob pressão, sem atingir seu ponto de fusão. E tem como objetivo unir as partículas do pó, aumentando a densidade do corpo por meio da redução de porosidade [46]. O processo de sinterização pode ser classificado pela presença, ou não, de uma fase líquida [47]. A fase líquida é gerada por um componente do material que possui uma temperatura de fusão inferior aos demais, com a função de aproximar as partículas, permitindo um rearranjo na matriz e uma estrutura mais densa [48].

A sinterização sem fase líquida, ou por fase sólida, decorre do transporte do material de forma diferente, seja por fluxo viscoso no caso dos vidros, difusão atômica para os cristais ou por transporte de vapor. Em ambos os processos de sinterização ocorre o aumento da área de contato entre as partículas e um empacotamento melhor da matéria, proporcionando um material mais denso e rígido [46] [49].

A sinterização via fase líquida possui três estágios bem definidos: rearranjo das partículas, solução-reprecipitação e coalescência ou estado sólido. Esses estágios estão representados na figura 4 [50].

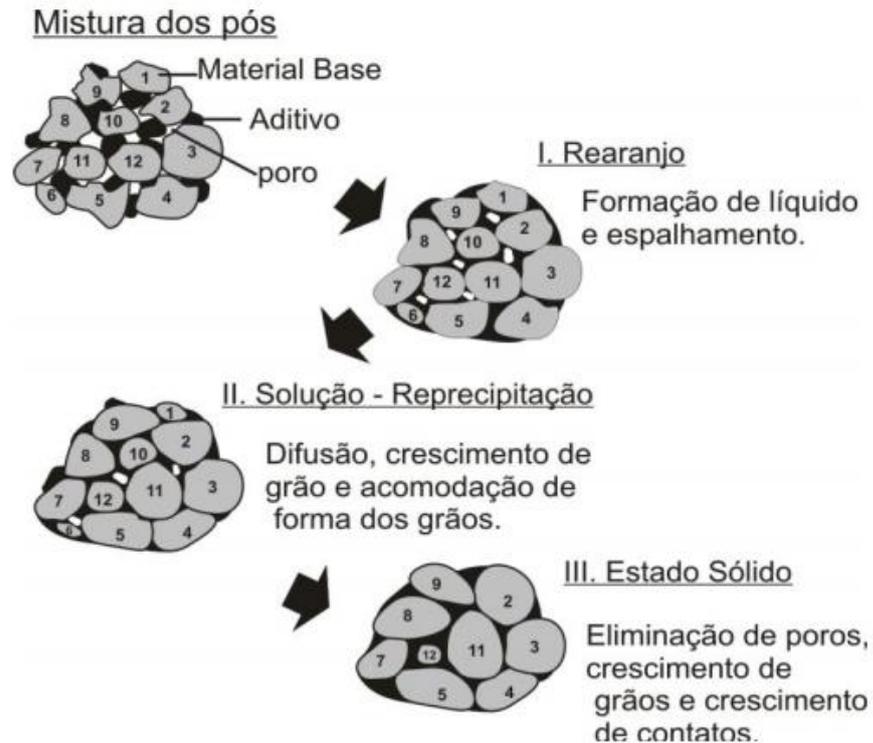


Figura 4 - Esquematização dos estágios da sinterização por fase líquida envolvendo mistura de pós [51]

No primeiro estágio, o líquido forma um fluxo viscoso dentro do sólido, permitindo que as partículas deslizem maximizando o seu empacotamento das partículas. A densificação por rearranjo é proporcional à quantidade de líquido que a fase possui e a solubilidade do sólido nesse líquido. O líquido transpõe a região de contato sólido-sólido dissolvendo-os e os ligando, se o material apresenta baixa solubilidade ou baixa fração volumétrica de líquido haverá a formação de pescoço durante o aquecimento, o que diminui a densificação por rearranjo [52].

No segundo estágio, é o estágio intermediário onde, devido ao tempo e aumento da temperatura, há uma alta solubilidade nos pontos de contato das partículas. O gradiente do potencial químico entre as pequenas e grandes partículas, e as forças capilares aumentam a força de solubilidade nesse estágio, fazendo com que haja um aumento na dissolução das partículas menores. Após a parte sólida dissolvida saturar a solução, ocorre a precipitação e acomodação dos grãos [53] [50].

O último estágio é o mecanismo de coalescência ou estado sólido, que é caracterizado pela união de grãos de diferentes tamanhos, aumentando a sua região de contorno e eliminando a porosidade do sólido [52].

3.2. ANALISES TÉRMICAS

Análise térmica é definida pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC) como um grupo de técnicas que medem as propriedades físicas de uma amostra em função da temperatura. Porém, para uma medida térmica ser considerada termoanalítica ela deve obedecer aos seguintes critérios:

- A medida tem que ser feita sob um programa controlado de temperatura;
- A medida deve ser expressa (direta ou indiretamente) em função da temperatura;
- Uma propriedade física tem que ser medida [54].

Dentre as técnicas as mais comuns são a Análise Termogravimétrica (TA), que acompanha a variação da massa na amostra em função da temperatura. A Termogravimetria Derivada (DTG) que é a derivada da variação da massa em relação ao tempo (dm/dt). Análise Térmica Diferencial (DTA) que mede a diferença de temperatura da amostra e um material de referência, o qual é termicamente inerte, enquanto ambos são aquecidos. A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) é semelhante a DTA, porém em vez de medir a diferença de temperatura, essa técnica mede a variação da entalpia entre a amostra e o material de referência [55] [56] [54].

3.3. DIFRAÇÃO DE RAIOS X (DRX)

Por se tratar de uma técnica não destrutiva, a difração de raios X é extensamente empregada em indústrias e laboratórios científicos, quando se faz necessário obter informações sobre a estrutura do material. A técnica é capaz de determinar as fases cristalinas do material e fornecer dados referentes ao tamanho, simetria e orientação dos cristais [57].

A difração de raios X consiste em incidir um feixe de raios X monocromático, ou seja, único comprimento de onda em um material e analisar o padrão de interferência construtiva das ondas espalhadas. Esse padrão de interferência é baseado no princípio de que os cristais são formados por átomos ordenados periodicamente em três dimensões. A interferência construtiva, segundo a lei de Bragg para cristais, só ocorre quando o comprimento de onda do feixe de raios X for proporcional que à distância do espaçamento entre os átomos da rede [58].

Utilizando os princípios da lei de Bragg é possível quantificar toda a estrutura cristalina de um material. A figura 5, que exemplifica essa lei, mostra um feixe monocromático de raios X, com comprimento de onda λ , incidindo com um ângulo θ em um conjunto de planos cristalinos com espaçamento d . Para se obter interferência construtiva dos feixes difratados, é necessário que a diferença entre os caminhos percorridos seja um múltiplo inteiro de λ . O feixe difratado pelo segundo plano de átomos, ilustrado na figura 5, percorre uma distância ($PO+OQ$) a mais que o feixe difratado pelo primeiro plano. Portanto, a condição para que haja interferência construtiva é:

$$PO + OQ = n\lambda = 2d \sin \theta \quad (1)$$

onde $n = 1, 2, 3, \dots$;

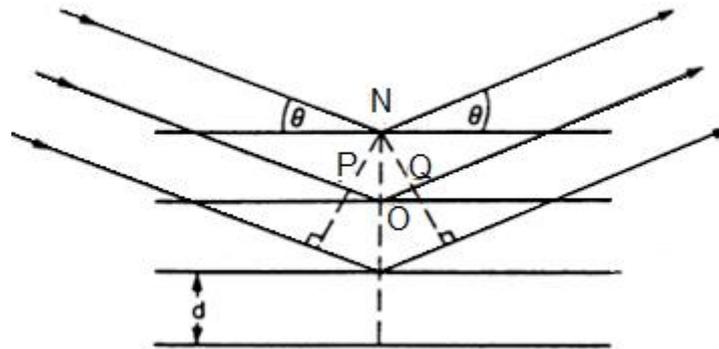


Figura 5 – Representação esquemática da lei de Bragg. Figura produzida pela autora

A figura 6 apresenta o esquema geral de um tubo de raios X. O feixe de raio X é emitido quando elétrons emitidos por um filamento aquecido pela passagem de corrente elétrica são acelerados por uma diferença de potencial e atingem um alvo metálico, contido dentro de uma cápsula à vácuo. Várias matérias podem ser empregadas como alvo, sendo os mais usuais ânodos de Cu, Cr, Fe e Mo. [59]

O espectro de radiação gerado a partir do tubo de raio X não é monocromático, pois apresenta tanto o espectro contínuo, quanto o característico, que contém o comprimento de onda característico do metal do alvo. Para se obter um feixe monocromático é necessário a utilização de fendas e filtros, cujas bandas de absorção de radiação permitam apenas a passagem do espectro característico, ou de monocromadores. O monocromador pode ser situado no caminho do feixe de raio X entre a amostra e o detector ou entre o tubo e a amostra, o mesmo permite apenas a passagem da radiação de comprimento de onda de interesse. A vantagem de se utilizar um monocromador após a amostra é a remoção de radiações provenientes de espalhamentos não coerentes, resultantes da interação do raio X com a amostra [60] [61].

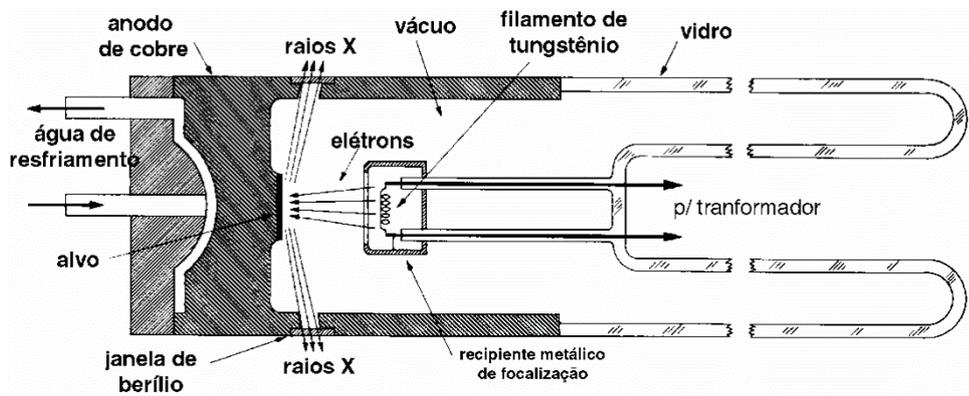


Figura 6 - Esquema do tubo de raios X [60]

A figura 7 apresenta uma esquematização do funcionamento de um difratômetro de raios X. O feixe de raios X é emitido pelo tubo de raios X, gerado pela fonte S, passa pelo colimador A e incide na amostra C, que está sobre o suporte H. A amostra está sobre movimento de rotação em torno do eixo O, respeitando a geometria de Bragg-Brentano. O feixe difratado passa pelos colimadores B e F e incide no detector G, o qual está posicionado no suporte E. Os suportes H e E tem seu arranjo geométrico $\theta + 2\theta$, com goniômetros acoplados em cada suporte, fazendo com que E se mova com velocidade angular de 2θ /passo sobre o eixo O, enquanto H rotaciona a amostra com metade dessa velocidade angular, θ /passo. O raio do círculo do goniômetro é fixo, apresentando a mesma distância entre a fonte de raio X e amostra, e a amostra com a fenda de recepção.

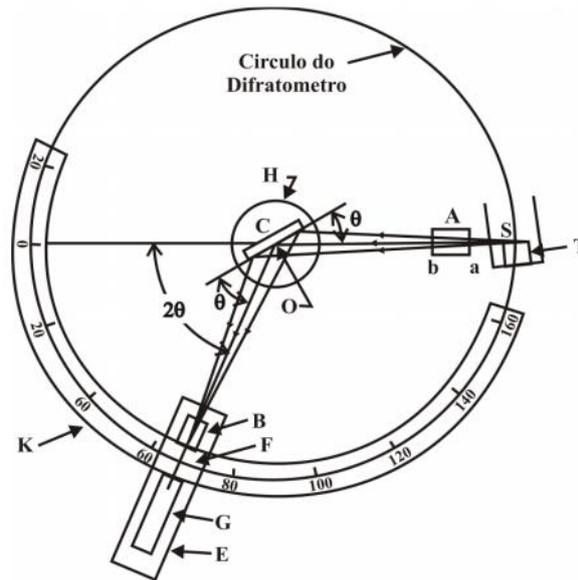


Figura 7 - diagrama esquemático de um difratômetro de raios - X [60]

Para identificar os difratogramas obtidos no difratômetro são utilizados programas computacionais, que analisam gráficos de intensidade em função do ângulo de difração. As amostras são identificadas comparando o padrão de difração obtido com padrões catalogados, como o arquivo JCPDS - Joint Committee on Powder Diffraction Standards. Na figura 8, está presente o difratograma da Hidroxiapatita natural, obtida por Babak Pourmollaabbassi [62].

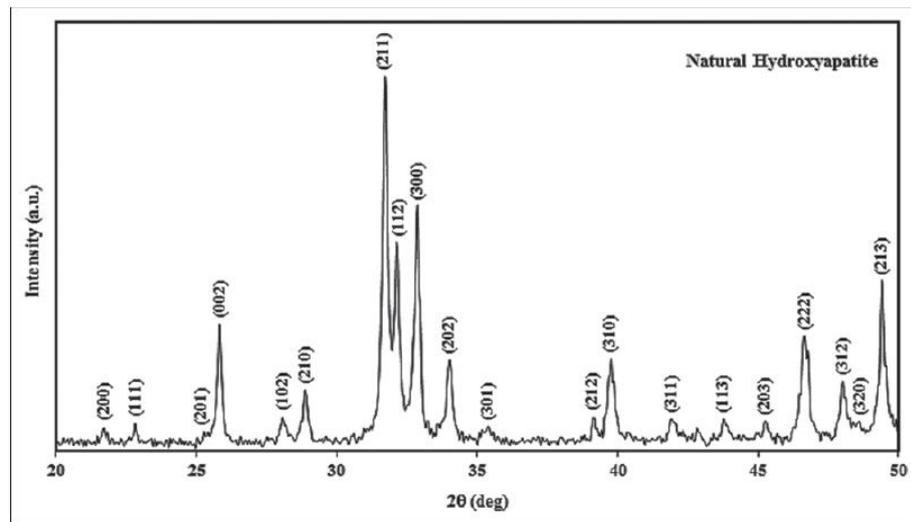


Figura 8 - Difratoograma da Hidroxiapatita caracterizado utilizando as fichas JCPDS [62]

3.4. MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA (MEV)

A palavra microscópio tem etimologia grega e significa "pequeno" e "observar". A microscopia tem como objetivo tornar visível a olho nu aquilo que está fora do campo da visão humana. A forma mais antiga de se ampliar detalhes de objetos, para observar aquilo que até então não eram visíveis é a lupa. Seguindo os instrumentos que utilizam lentes ópticas, são chamados de microscópio óptico, que funciona com um conjunto de lentes para observar um objeto iluminado com luz visível ou ultravioleta. Porém, por conta do comprimento de onda da luz visível, o máximo de ampliação que se consegue com esse equipamento é de 2 mil vezes. Para aumentar a capacidade de resolução de um microscópio passou a se utilizar radiação com comprimento de onda menor que o da luz e lentes magnéticas, caracterizando um novo equipamento o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) [63].

A figura 9 representa um esquema de funcionamento de um MEV. Este microscópio utiliza um feixe de elétrons no lugar de fótons utilizados em um

microscópio óptico convencional, o que permite superar a resolução relacionado com a fonte de luz branca. Um feixe de elétrons é gerado, no canhão de elétrons, por efeitos termiônicos no filamento de tungstênio, que utilizando a fonte de alta tensão acelera os elétrons em direção a amostra. Antes de chegar à amostra, o feixe atravessa uma série de lentes eletromagnéticas, cada conjunto responsável por um processo. Primeiro ele passa pelas bobinas de alinhamento, responsáveis pelo controle da posição do feixe na coluna no plano x, y e também por sua inclinação. As lentes condensadoras vão diminuir o tamanho do feixe de elétrons para o diâmetro de dezena de nanômetros, condição necessária para se ter uma boa resolução. Passando em seguida pelas bobinas que são responsáveis pela correção do astigmatismo que é causado pelas lentes colimadoras. Para possibilitar que o feixe faça a varredura na amostra, há um conjunto de bobinas responsáveis por comandar sistematicamente a posição do feixe no plano x, y da amostra em forma de uma varredura completa. Por último, lentes objetivas para focalização do feixe sobre a superfície da amostra [64].

Ao interagir com a amostra, o feixe gera diversos sinais, como por exemplo elétrons secundários, elétrons retroespalhados, elétrons Auger, raios X característicos, e etc. Esses sinais apresentam informações características sobre amostra, e conseqüentemente é necessário um detector diferente para cada um deles. Por exemplo, elétrons secundários são de baixa energia, precisam de um detector que os atraia por meio de uma diferença de potencial. Por serem de baixa energia, eles apresentam informações sobre a topografia da amostra. Elétrons retroespalhados possuem alta energia e são provenientes das colisões elásticas entre os elétrons do feixe a superfície da amostra. A imagem gerada por esses elétrons fornece, além de

informações topográficas, um contraste em função do número atômico dos elementos presentes na amostra, dando assim, informações especiais sobre a composição [65].

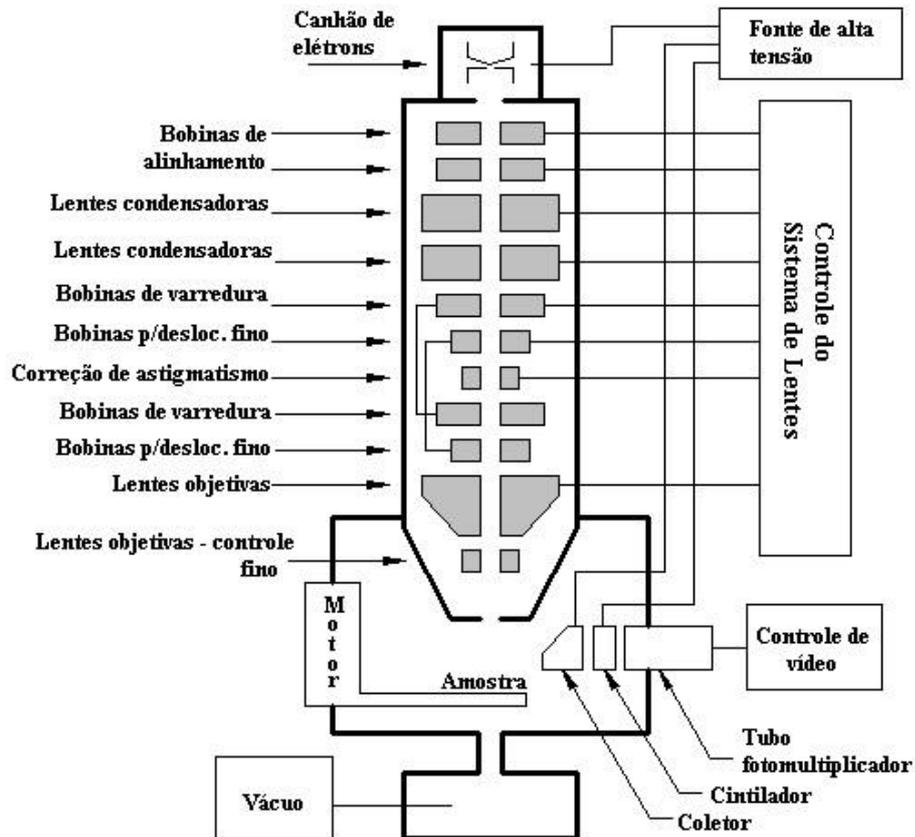


Figura 9 - Representação esquemática de um Microscópio Eletrônico de Varredura [66]

Os sinais de raios X característicos permite analisar qualitativa e semi quantitativamente a composição da amostra. Essa técnica é chamada de espectroscopia de raios X por dispersão de energia (EDS), e possibilita a identificação dos elementos químicos presentes e a determinação da proporção entre eles [57] [64].

3.5. TÉCNICAS PARA MEDIR AS PROPRIENDEADES FÍSICAS (CONTRAÇÃO LINEAR E VOLUMÉTRICA, DENSIDADE, POROSIDADE E ABSORÇÃO DE ÁGUA)

A variação dimensional é um parâmetro extremamente importante para a produção de amostras em larga escala, pois é necessário prever o quanto a amostra irá contrair para que ela possua o tamanho desejado. Por esse motivo foi avaliada a contração linear (CL) e volumétrica (CV) das pastilhas. A contração linear foi obtida por comparação entre as dimensões da amostra a verde (D_1) (antes da sinterização) e as dimensões após a sinterização (D_2), equação 2. Para a contração volumétrica foi utilizado o volume das amostras (TIPO 1), antes (V_1) e após da sinterização (V_2), equação 3.

$$CL(\%) = \left(\frac{D_1 - D_2}{D_1} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$CV(\%) = \left(\frac{V_1 - V_2}{V_1} \right) \times 100 \quad (3)$$

Os corpos de prova foram submetidos ao princípio de Arquimedes seguindo a norma NBR 15270 3:2005 ABNT, para quantificar a porosidade aparente (PA), a absorção de água (AA) e a densidade aparente (DA). Para isso foi necessário determinadas as massas das amostras nas seguintes condições: Massa seca (M_s), Massa úmida (M_u), e a massa imersa (M_i) sob ação do empuxo da água, além de medir a temperatura da água para utilizar a tabela de correção a densidade da água $\rho_{\text{água}}$ em função da temperatura [29].

$$PA(\%) = \left(\frac{M_u - M_s}{M_u - M_i} \right) \times 100 \quad (4)$$

$$AA(\%) = \left(\frac{M_u - M_s}{M_s} \right) \times 100 \quad (5)$$

$$DA(\text{g/cm}^3) = \left(\frac{M_S}{M_U - M_I} \right) \times \rho_{\text{água}} \quad (6)$$

3.6. TESTE MECÂNICO DE RESISTÊNCIA À COMPRESSÃO E FLEXÃO

A Resistência mecânica é a propriedade que vai indicar o quanto um dado material pode resistir à ação de determinados tipos de esforços, como a tração, flexão e a compressão, que são as: resistência à tração, resistência a flexão e módulo elástico e resistência à compressão por exemplo. A resistência mecânica relaciona-se às forças internas de atração existentes entre as partículas que compõem o material [67].

Estudar as propriedades mecânicas do material garante uma eficácia maior na produção de novas próteses ósseas. Uma vez que a característica do material deve ser adequada à carga que a prótese irá receber, para que não ocorra problemas futuros. Nesse trabalho foi estudada resistência à compressão, que é um ensaio destrutivo em que a amostra é deformada pela aplicação de uma carga padrão de compressão ao longo da direção axial da amostra [65]. A resistência à compressão é calculada através da equação 7

$$R_c = \frac{4F}{\pi \times D^2} \times \sigma \quad (7)$$

sendo,

F a força máxima que o material resiste,

D o diâmetro dos corpos-de-prova

R_c a pressão exercida sobre a amostra ou a resistência mecânica à compressão.

σ o fator de correção com relação a razão entre a altura e o diâmetro da amostra (h/d), apresentados na tabela 2 [68].

Tabela 2 - Fator de correção h/d para ensaios de resistência a compressão

Relação h/d	2,00	1,75	1,50	1,00
Fator de correção	1,00	0,98	0,96	0,87

A resistência a flexão de 3 pontas, figura 10, consiste em apoiar o corpo-de-prova e aplicar uma força P de forma a produzir uma deflexão até sua ruptura. Com esse ensaio é possível obter informações sobre o módulo de elasticidade ou módulo de Young (E) e a tensão de ruptura ou tensão de flexão do material (T_F) [69].

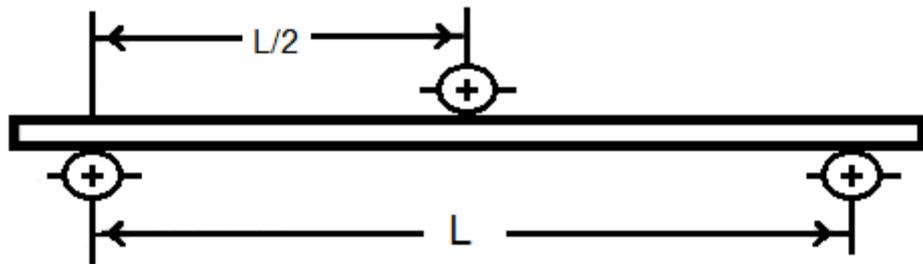


Figura 10 - Ensaio de flexão de 3 pontos em uma barra retangular submetida a uma força P . Figura produzida pela autora.

Para materiais cristalinos, a tensão e a deformação do corpo de prova (ϵ) quando submetido a essa tensão são proporcionais, obedecendo a lei de Hooke, na forma da equação 8

$$T_F = E \cdot \epsilon \quad (8)$$

O módulo elástico pode ser determinado por meio do coeficiente angular do gráfico da força aplicada pela deformação da amostra, como mostra a figura 11 [70].

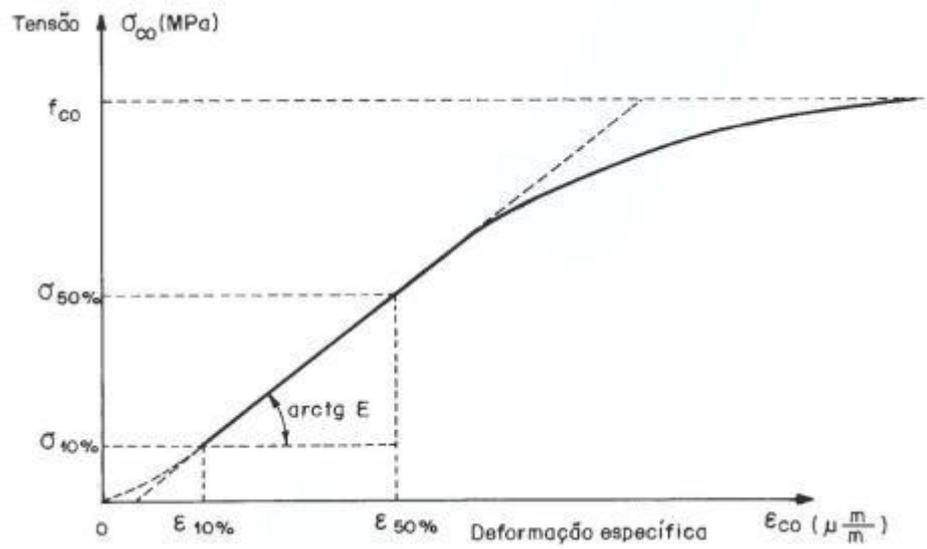


Figura 11 - Curva da deformação no regime elástico linear, utilizando a equação de Hooke para determinar o coeficiente angular do gráfico [70]

4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1. OBTENÇÃO DE HIDROXIAPATITA BOVINA

Para obtenção da HA bovina, os ossos bovinos foram fervidos e depois lavados com uma escova para a remoção de parte da matéria orgânica, como tecidos musculares, cartilagens e gorduras. Após lavagem, os ossos foram secos em temperatura ambiente e calcinados a 800°C por 2 horas e tratados termicamente a 900°C por 4 horas, obtendo apenas a fase mineral óssea. O material foi colocado em moinho de bolas de baixa energia por 24 horas via úmida, com água destilada, e depois seco em estufa a 100°C e desaglomerado em almofariz de porcelana, e por último peneirado em granulometria de 100# ABNT.

4.2. PRODUÇÃO E SINTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Um dos objetivos desse trabalho foi a obtenção de materiais mais resistentes e a hidroxiapatita pura, porém que mantenham as propriedades bioativas. Dessa maneira, foram testadas diferentes proporções (em massa) entre os precursores de acordo com a Tabela 4. Na síntese dos compósitos, optou-se por manter as mesmas proporções de caulim e feldspato (1:1) e variar a quantidade de hidroxiapatita, de 10 em 10%, iniciando em 60% de HA.

Após pesados nas proporções presentes na tabela 3, os compostos foram misturados em moinho de baixa energia da Acb Labor, Figura 12, por 24 horas, via úmida, na razão 1:1:1 em massa de bolas, pó e água destilada. Optou-se por realizar a moagem em um moinho de baixa energia, pois é o método mais utilizado na indústria atualmente, tendo em mente que o intuito do trabalho é um material com processos de produção de baixa complexibilidade. Após a moagem, o material foi seco em estufa

por 24 horas, desaglomerado em almofariz de porcelana e peneirado a uma granulometria de 100#.

Tabela 3 - Concentração dos compostos obtidos à base de hidroxiapatita, caulim e feldspato

N	Amostras	Hidroxiapatita %	Feldspato %	Caulim %
1	60%HA	60	20	20
2	70%HA	70	15	15
3	80%HA	80	10	10
4	90%HA	90	5	5
5	100%HA	100	0	0



Figura 12 - Moinho da Acb Labor de baixa energia utilizado.

Foram produzidos três tipos de corpos de prova para estudos durante esse trabalho: pastilhas cilíndricas de 6 mm de diâmetro e 2 mm de espessura, prensadas a uma pressão de 145 Mpa em prensa uniaxial, cilindros de 10 mm de diâmetro e 10 mm de altura e barras de 4x3x30mm (altura x largura x comprimento) ambos conformados na prensa uniaxial e prensados na prensa isostática a 450 Mpa. Os corpos de prova foram sinterizados a 1150°C por um período de 4 horas, com taxa de aquecimento de 5°C/min. As pastilhas foram utilizadas para os testes *in vitro* de

bioatividade, enquanto as demais para os testes de resistência mecânica, as cilíndricas para o de compressão, densidade, porosidade e contração linear e volumétrica, e as barras para o de deformação elástica.

4.3. ANÁLISE TÉRMICA

O equipamento utilizado para as análises térmicas foi um SDT Q600 da TA Instruments localizado no Centro Institucional Multidisciplinar de Pesquisa Científica e Tecnológica (CIMPE) pertencente ao Grupo de Física Aplicada do departamento de Física da Universidade Estadual do Centro-Oeste (UNICENTRO). Nesse equipamento é possível medir curva de DSC simultaneamente com a de DTA. As medidas foram realizadas nas amostras descritas na tabela 3, na forma de pó e antes da sinterização. Foram utilizados cadinhos de alumina e elas foram aquecidas de 20° até 1200°C a uma taxa de 10°C/min, a um fluxo de 100 mL/min de gás nitrogênio. Para material de referência foi utilizado um cadinho de alumina vazio.

4.4. CARACTERIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

A variação dimensional foi obtida por comparação entre a medida do diâmetro e a altura das amostras cilíndrica, prensadas a 450Mpa, antes da sinterização e após a sinterização. As medidas foram realizadas com um paquímetro digital Jomarca (Guarulhos, Brasil) com precisão de $\pm 0,05$ mm. O valor da variação dimensional corresponde ao valor médio de duas medidas realizadas em 5 amostras.

Para medir a densidade, porosidade a absorção de água das amostras foi utilizado o princípio de Arquimedes, com a técnica de imersão com líquido. As

pastilhas foram secas por 12 h em um forno mufla a 100 °C e sua massa foi medida utilizando a balança digital Shimadzu AUW220D, com a utilização do acessório Specific Gravity Measurement Kit, da figura 13. Utilizando o aparato a esquerda as amostras foram mantidas em vácuo de 10^{-1} a 10^{-2} Torr por 2 horas, em seguida foi adicionado água dentro do dissecador para inundar as amostras e retirada as mesmas do vácuo. Ao colocar as amostras em baixa pressão o ar de dentro dos poros superficiais é retirado e então preenchido com água, quando a amostra é apenas deixada em imersão, sob o líquido à pressão atmosférica, a pressão interna do ar nos poros pode dificultar o preenchimento dos mesmos pelo líquido. As amostras permanecem na água por 30 min para o sistema ficar homogêneo, após esse período foi realizada as medidas das massas das amostras impregnadas com água e das massas sob o empuxo. O teste foi realizado em 5 amostras para cada concentração [71].



Figura 13 - Aparato experimental para imersão e impregnação das amostras com água para medidas de densidade a esquerda e balança com o acessório Specific Gravity Measurement Kit utilizado para medir o empuxo a direita.

4.5. DIFRAÇÃO DE RAIOS X

Os difratogramas de raios X presentes nesse trabalho foram obtidos utilizando um difratômetro Shimadzu (XDR-7000), com radiação Cu K α ($\lambda = 1,54439 \text{ \AA}$) presente nas instalações do Grupo de Desenvolvimento de Dispositivos Multifuncionais (GDDM) da Universidade Estadual de Maringá. Medidas foram realizadas à temperatura ambiente, com tempo fixo de parada de 10s e passo de $0,02^\circ$ no intervalo 2θ de 20 a 70° .

4.6. MEV e EDS

A análise das pastilhas, para avaliar se o material é bioativo ou não pelo crescimento de apatita na superfície da amostra, foi feita utilizando o microscópio eletrônico de varredura FEI (QUANTA - 250) localizado no Complexo de Apoio à Pesquisa da Universidade Estadual de Maringá (COMCAP-UEM). As amostras foram fraturadas, para avaliar além da superfície, a sessão transversal da amostra e quantificar a espessura da camada de apatita.

4.7. TESTES DE RESISTÊNCIA MECÂNICA

As medidas de resistência à compressão foram realizadas seguindo as normas da ASTM C773 – 88 de 2011 e a ABNT NBR 5739 de 2015, para os testes de flexão foram utilizadas as normas da ASTM C1161-13 de 2014 e a ISO 6872 de 1995 para cerâmica odontológica. O equipamento utilizado foi a máquina de ensaios universal Shimadzu AGS-X 100 kN à velocidade de 3 mm/min, pertencente ao Grupo de Física Aplicada em Materiais (GFAMA) da UNICENTRO. As condições de contorno das

amostras foram com dimensões de 10 mm de diâmetro por 10 mm de altura para os cilindros utilizados no ensaio de compressão e de 3 mm de altura, 4 mm de largura e 30 mm de comprimento para as hastes utilizadas nos ensaios de flexão.

4.8. TESTES DE BIOATIVIDADE

Os testes de bioatividade *in vitro* utilizando SBF foram realizados seguindo o protocolo proposto por Kokubo e Takadama em 2006 [32]. Além do SBF convencional, nesse esse trabalho, os reagentes foram utilizados em concentração 1,5x em relação à receita original, para a obtenção de resultados mais rápidos. Antes da síntese do SBF todo material utilizado (vidraria) foi lavado com água e sabão, em seguida enxaguado com água destilada, solução de hipoclorito de sódio (1 – 2 %), água destilada, ácido clorídrico a 1 mol e água milli-Q, respectivamente.

A preparação do fluido consiste basicamente de três etapas: Primeiramente, os reagentes da tabela 4 foram dissolvidos em água milli-Q do 1 ao 8, respectivamente, mantendo-se a temperatura entre $36,5 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ com o auxílio de um banho térmico com agitador magnético. Em seguida, utilizou-se os reagentes 9 e 10 para ajustar o pH da solução em 7,4 (pH do sangue) na temperatura exata de $36,5^{\circ}\text{C}$. Por fim, o SBF foi filtrado em uma membrana com poros de $0,2\ \mu\text{m}$ e armazenado em recipiente de plástico a uma temperatura entre $5 - 10^{\circ}\text{C}$ por até 30 dias.

Antes do teste de bioatividade, as amostras foram lavadas em ultrassom, por 10 minutos com acetona, 10 minutos com água destilada e mais 10 minutos em álcool etílico e secas em estufa a 60°C por no mínimo 12 horas.

Os testes *in vitro* foram realizados em tubos falcon de plástico contendo a amostra imersa em 30 ml de SBF. Durante o teste, os tubos ficaram imersos em banho

térmico, para manutenção da temperatura em 36,5 °C, as amostras ficaram em imersão por 21 e 60 dias em SBF padrão e 14 dias em SBF 1,5x.

Tabela 4 - Reagentes utilizados na produção do Fluido Corpóreo Simulado na concentração padrão e na 1,5x (SBF1,5x), escalados pela ordem de utilização

Ordem	Reagente	Massa /Vol.– SBF	Massa/Vol. – SBF 1,5
1	NaCl	8,035 g	12,0525 g
2	NaHCO ₃	0,355 g	0,5325 g
3	KCl	0,255 g	0,3825 g
4	K ₂ HPO ₄ ×3H ₂ O	0,231 g	0,3465 g
5	MgCl ₂ ×6H ₂ O	0,311 g	0,4665 g
6	1,0Mol – HCl	39 ml	58,5 ml
7	CaCl ₂ ×2H ₂ O	0,387 g	0,5805 g
8	Na ₂ SO ₄	0,072 g	0,1080 g
9	Tris	6,118 g	9,1770 g
10	1,0Mol – HCl	0 – 5 ml	0 – 7,5 ml

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. CARACTERIZAÇÃO DA HIDROXIAPATITA DE ORIGEM BOVINA

O difratograma de raio X, presente na figura 14, corresponde a Hidroxiapatita obtida pela limpeza, calcinação a 800°C por 2h e tratamento térmico a 900°C por 4h dos ossos bovinos, o fato de aparecerem somente picos de HA comprova que esse método para obtenção de HA monofásica é eficiente. A formula química dessa HA é $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$, com estrutura de simetria Hexagonal do grupo espacial $P6_3/m$.

A vantagem de se utilizar ossos bovinos para obtenção de hidroxiapatita é que se obtém uma única fase de fosfato de cálcio, comparado com os ossos de peixes em que geralmente se obtém uma cerâmica bifásica, além de ser menos trabalhoso o processo de limpeza e obtenção dos ossos [72].

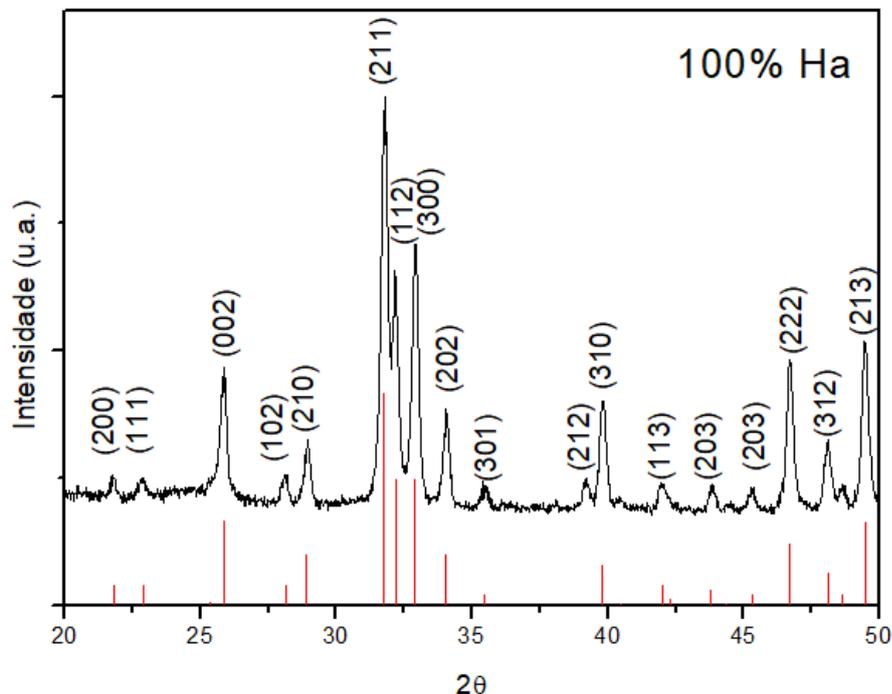


Figura 14 - Difratograma da amostra 100 % Hidroxiapatita feito com fonte de Cu após os processos de calcinação a 800°C por 4h e a 900°C por 2h e moagem, identificação de fase utilizando a ficha 00-009-0432 do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards).

5.2. ANÁLISE TÉRMICA.

Na figura 15 de a) a f) estão apresentadas as curvas de termogravimetria (TG) e da análise térmica diferencial (DTA) para cada concentração do composto estudado nesse trabalho. Além das amostras com as variadas concentrações de hidroxiapatita, também foi analisada a amostra de 50% de Caulim + 50% de Feldspato (a), para compreender melhor o comportamento dessas argilas sob variação de temperatura e observar o ponto de fusão do feldspato, que tem função de fundente no composto. Em a) em torno de 550°C, marcado com a flecha azul, ocorre a transformação da caulinita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) em metacaulinita ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$), que é uma reação endotérmica e que ocorre em conjunto com a reorganização átomos de alumínio na estrutura do caulim ao perder as hidroxilas fortemente ligadas. Em ~990 °C ocorre a formação da fase líquida ao se atingir a temperatura eutética do Feldspato [73].

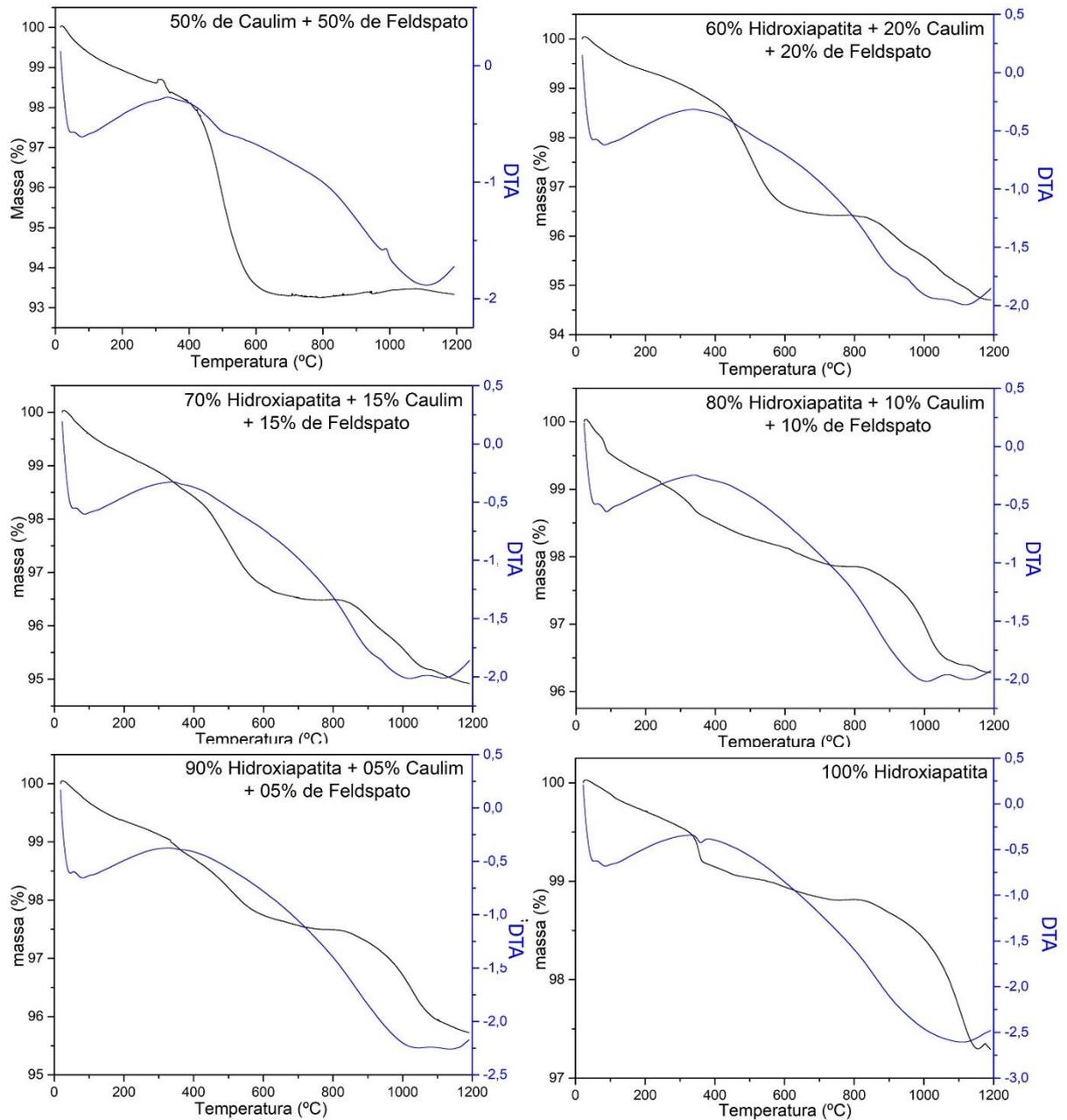


Figura 15 - Análise Termogravimétrica, com as curvas de perda de massa em preto e diferencial térmica em azul, no intervalo de 20 a 1200°C com taxa de aquecimento de 5°C/min das amostras. a) 50% de Caulim + 50% de Feldspato, b) 60% Hidroxiapatita + 20% de Caulim + 20% de Feldspato, c) 70% Hidroxiapatita + 15% de Caulim + 15% de Feldspato, d) 80% Hidroxiapatita + 10% de Caulim + 10% de Feldspato, e) 90% Hidroxiapatita + 05% de Caulim + 05% de Feldspato e f) 100% hidroxiapatita.

De a) a f) é perceptível o primeiro estágio de aquecimento, até aproximadamente 300 °C que é a perda de água na forma de vapor, que para essas concentrações a perda de água está entre 1 e 2%. O segundo estágio, de 400 a 800

°C, ocorre dois processos importantes, de 400° a 520 °C a queda acentuada da massa em todas as amostras devido a desidroxilação do caulim. E de 520 até 800 °C ocorre a reorganização dos átomos de alumínio provenientes do caulim e à perda de íons carbonatos e hidroxilas da hidroxiapatita [73]. O ponto de eutético do feldspato, ou seja, a temperatura que há a formação da fase líquida, muda de acordo com a composição do material. A amostra que contém o ponto na temperatura mais alta é a de 90% de hidroxiapatita (e) que é em torno de 1090°C. Por esse motivo temperatura escolhida para a sinterização das amostras foram 1150°C, para ter a fase líquida decorrente da fusão do feldspato. Nesta temperatura o material tem perda de aproximadamente 5% de massa para as amostras de 60 e 70% de hidroxiapatita, ~4% para as amostras de 80 e 90% de hidroxiapatita e 2,5% para a amostra de 100% de hidroxiapatita.

5.3. CARACTERIZAÇÃO DOS CORPOS DE PROVA

Na figura 16 estão apresentados os difratogramas de raios X das amostras em pastilhas, sinterizadas a 1150 °C por 4 horas em atmosfera livre. Ao mudar a proporção dos precursores na amostra, muda-se também as fases cristalinas que se consegue identificar no raio X. Utilizando-se difratogramas de banco de dados do programa JCPDS foram identificadas as fases cristalinas nas amostras de 90% de HA e de 80% de HA. Elas possuem um padrão de difração que foi indexado com picos referente a hidroxiapatita (ficha JPCDS 00-009-0432), fosfato de tricálcico (β -TCP) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (ficha JPCDS 00-009-0169), anortita $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$ (JPCDS 00-003-0505) e óxido de silício SiO (ficha 00-030-1127). Porém nas concentrações 60 e 70% a hidroxiapatita desaparece e só permanecem as demais fases.

Nas amostras com 90 e 80% de hidroxiapatita são possíveis observar as duas fases de fosfato de cálcio. Ao conter as duas fases de apatita (HA e β -TCP) a amostra tendem a ser mais reativas, quando imersas em meio fisiológicos, pois assim se assemelha mais com a hidroxiapatita mineral encontrada no osso humano [74] .

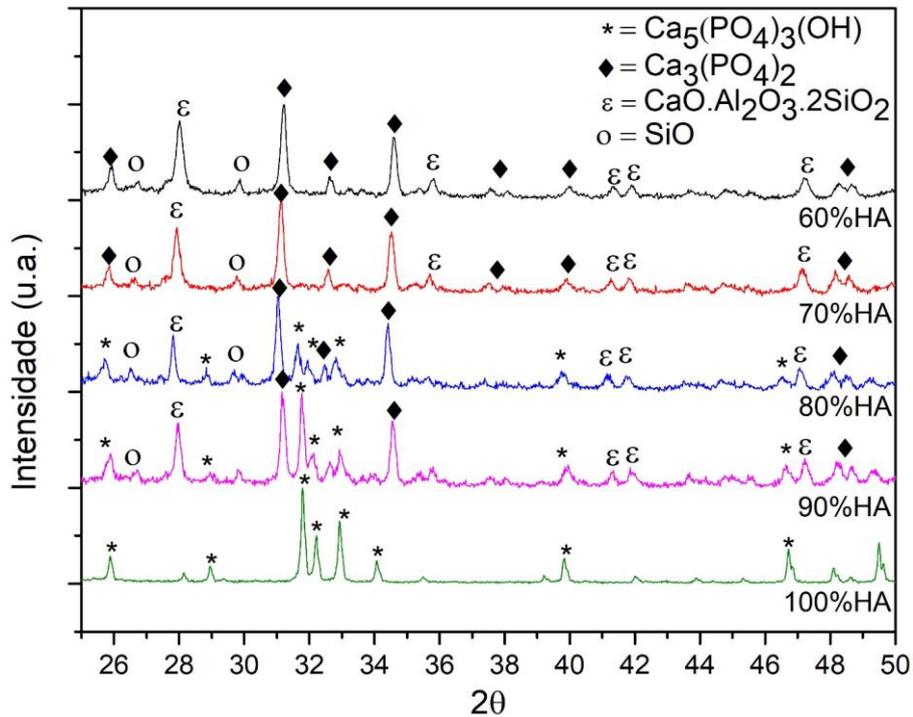
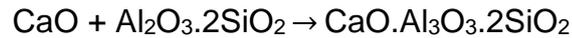


Figura 16 - Difratoograma de raios X dos compostos na forma de pastilha sinterizada a 1150°C. Realizados com tubo de Cu. Identificação de fase utilizando as fichas do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards). Sendo * = hidroxiapatita; ♦ = β -TCP; ε = anortita; o = óxido de silício.

É conhecido da literatura [41] [75] [76] que a hidroxiapatita se decompõe, em altas temperaturas de sinterização, formando óxido de cálcio (CaO) e o β -TCP, seguindo a reação:



O óxido de cálcio liberada reage com o metacaulinita (caulim desidratado) $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{SiO}_2$, formando a anortita. Essa reação é descrita como:



A Anortita possui estrutura de simetria triclnica do grupo espacial $C-1$, e o β -TCP simetria romboédrica e grupo espacial $R-3c$. O Óxido de Silício é devido ao silício presente no feldspato, que fo utilizado como fase de reforço ou fase líquida.

A decomposição em diferentes fases da hidroxiapatita ocorre no processo de sinterização, a figura 17 apresenta o difratogramas da amostra de 90%HA antes e após a sinterização. A amostra a verde não apresenta a fase β -TCP e a fase da anortita.

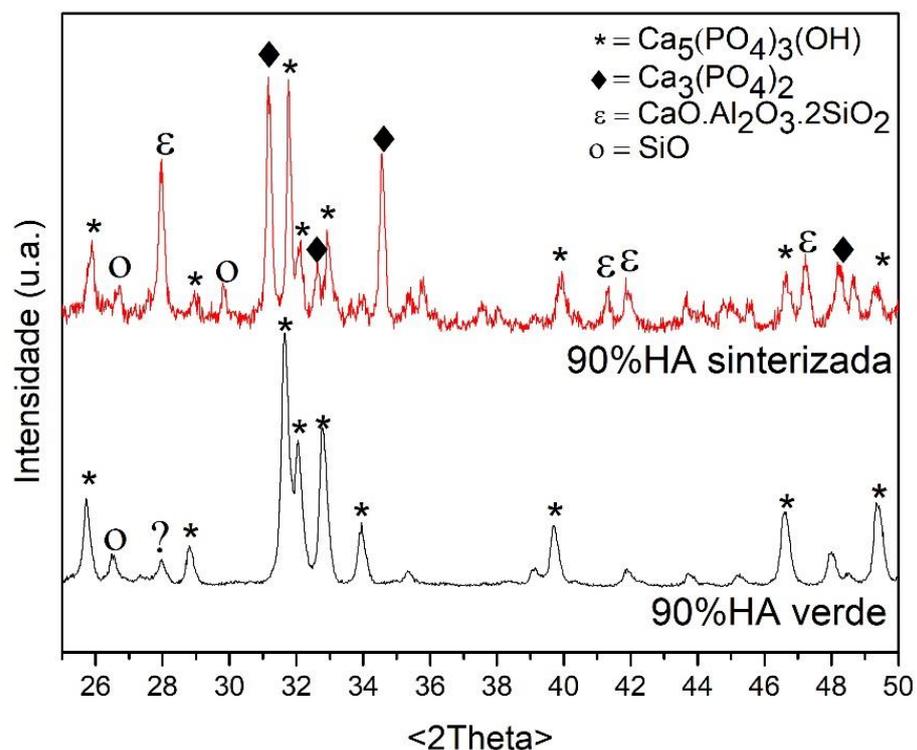


Figura 17 - Difratoograma de Raio X da amostra 90% HA antes e depois da sinterização, caracterização de fase utilizando as fichas do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards). Sendo * = hidroxiapatita; ◆ = β -TCP; ε = anortita; o = óxido de silício.

A Hidroxiapatita é a fase mais estável termodinamicamente dos fosfatos de cálcio em temperatura até 1200°C. A presença do caulim e do feldspato diminui a

temperatura de decomposição da HA alterando as fases encontradas na amostra. Esse processo pode afetar diretamente o desempenho final do composto, alterando suas propriedades físicas e químicas. Por outro lado, sinterizar a amostras em temperaturas menores, ou por tempo de processamento menor, não garante uma boa densificação do composto e influência negativamente nas propriedades mecânicas [77] [78] [79].

A sinterização com fase líquida influencia diretamente em algumas propriedades físicas e mecânicas da amostra. A variação dimensional, porosidade e densidade são propriedade que dependem da proporção entre fundente e os outros componentes que a amostra contenha. Na figura 18 está o gráfico que mostra a contração linear e volumétrica após a sinterização das amostras. Para os extremos analisados, a contração linear passa de 3,98% na hidroxiapatita pura para 8,7% na concentração de 80% de hidroxiapatita. Já contração volumétrica passa de ~12,5% para ~25% para essas concentrações. Essa variação dimensional proporcional à quantidade feldspato na composição da amostra é consequência da fase líquida preencher os poros e torna-la mais densa. Esse comportamento é comprovado com os testes de imersão em líquido, empuxo, baseado na teoria de Arquimedes, como resultados apresentados na figura 19.

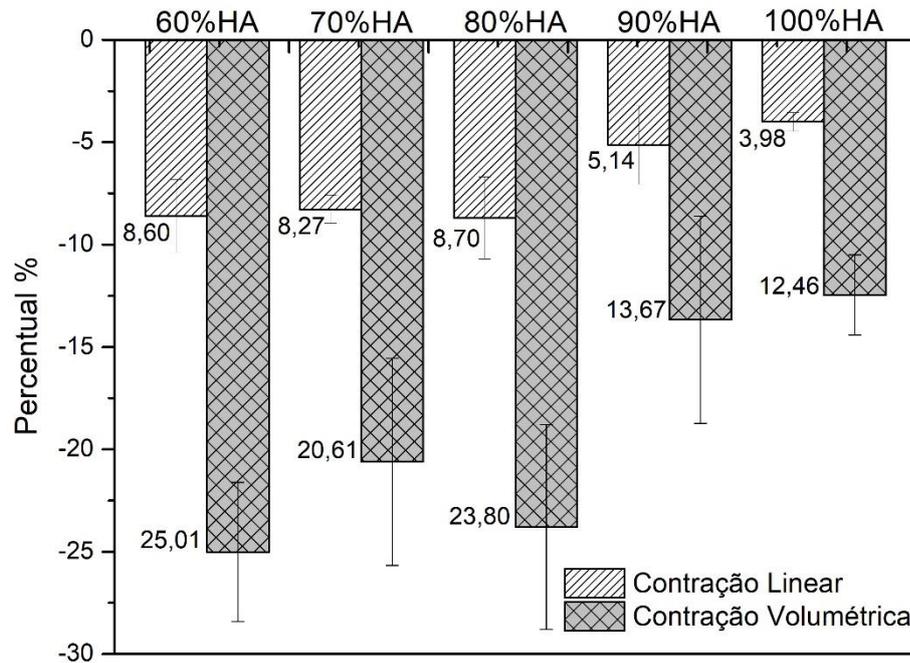


Figura 18 - Contração linear (diametral) e Contração Volumétrica das amostras cilíndricas durante o processo de sinterização

A densidade da hidroxiapatita pura obtida neste trabalho foi $2,05 \text{ g/cm}^3$ e a densidade teórica da hidroxiapatita sintética densa é de $3,156 \text{ g/cm}^3$. [80] Ao adicionar o caulim e feldspato na composição da amostra ocasionou um aumento da densidade. Esse aumento foi de 5,6% para a concentração de 90% de HA, 14,6% para 80% de HA e 19,9 e 20% para as concentrações de 70 e 60% de HA, respectivamente, mostrando que a sinterização por fase líquida é eficiente para aumentar a densidade do composto. A porosidade também diminui com o aumento da concentração de argila no composto, em relação a hidroxiapatita. Os compostos de 60 e 70% de HA possuem porosidade igual a 2,3 e 3,3%, já a absorção de água é 0,96 e 1,4%, respectivamente. A amostra de 80% HA tem 20,8% de poros aparentes e 9,1% de absorção de água. As amostras de 90 e 100%, por sua vez, possuem 28,1 e 35,2% de poros e 13,5 e 22,9% de absorção de água, respectivamente.

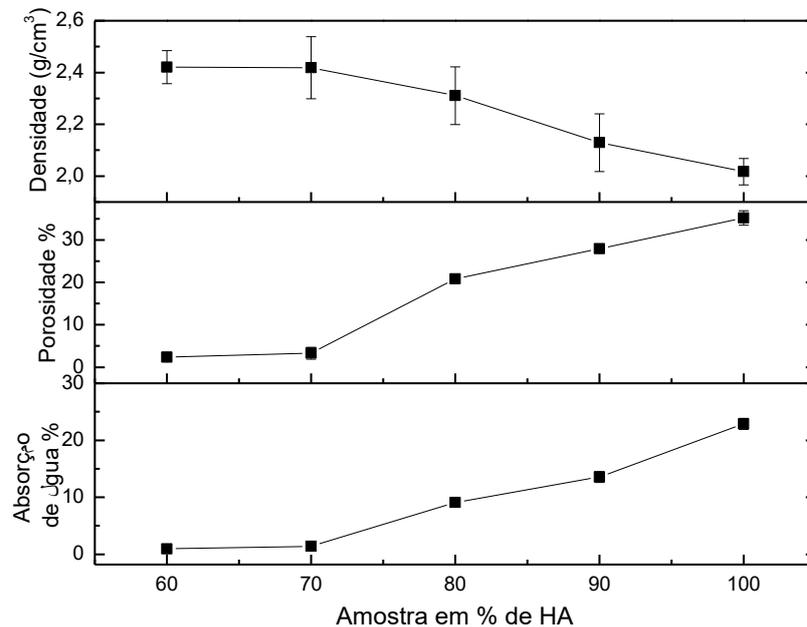


Figura 19 - Densidade, porosidade e absorção de água para amostras prensadas a 450 MPa e sinterizadas a 1150°C por 4 horas em atmosfera livre

5.4. PROPRIEDADES FÍSICAS DOS CORPOS DE PROVAS

Na tabela 5 está apresentada a influência da adição de caulim e feldspato na resistência mecânica à compressão e no módulo de elasticidade da hidroxiapatita. A hidroxiapatita não possui propriedades mecânicas o suficiente para ser utilizada pura em próteses que requerem muito esforço, na tabela 6 é ilustrado para comparação a resistência mecânica de alguns ossos. A sinterização com fase líquida aumenta as propriedades mecânicas, tornando o composto mais adequado para substituir esses tipos de ossos. Os compostos 60% e 80% de HA se mostraram os mais resistentes podendo ser utilizados em próteses para substituir ossos do braço, como o humeros, radius e ulna. Porém para ser utilizados em próteses de fêmur ou tíbia é necessário aumentar ainda mais essa propriedade. Estudos da pressão de compactação das peças e variação da temperatura, buscando uma temperatura ideal para cada

concentração podem tornar viável tais propriedades. Estes estudos estão previstos como perspectivas deste trabalho.

Tabela 5 - Relação da Resistência à Compressão e Módulo de elasticidade das amostras e ossos. Os valores referentes aos ossos foram retirados do livro J. B. Biomaterials Principles and applications de Park, J.B. [81]

Tipo	Módulo de Elasticidade (GPa)	Resistência à compressão (MPa)
Femur	17,2	167
Tíbia	18,1	159
Perônio	18,6	123
Humerus	17,2	132
Radius	18,6	114
Ulna	18	117
60%HA	57,99 ± 5,42	131,99 ± 11,26
70%HA	20,39 ± 3,23	50,72 ± 26,11
80%HA	37,53 ± 6,56	139,89 ± 17,90
90%HA	31,87 ± 2,74	112,23 ± 39,42
100%HA	15,31 ± 0,70	64,78 ± 7,76

A amostra de 70% de hidroxiapatita apresentou a menor resistência mecânica à compressão e módulo de elasticidade menor, pois ao ser sinterizada a proporção entre fase líquida e fase sólida não se comportou bem nessa temperatura, visto que para cada proporção há uma temperatura ideal de sinterização. A amostra apresentou rugosidade na superfície, decorrente da fase líquida, bolsões de ar e rachaduras internas, conforme apresentado na figura 20. Estes mecanismos foram responsáveis por deixá-la mais frágil, em relação aos outros compostos. A microestrutura interna da amostra não interfere diretamente na porosidade da amostra, visto que os testes realizados nesse trabalho medem os poros abertos, que estão na superfície da amostra. Isso justifica o porquê a amostra de 70%HA tem alta densidade e baixa resistência a compressão.

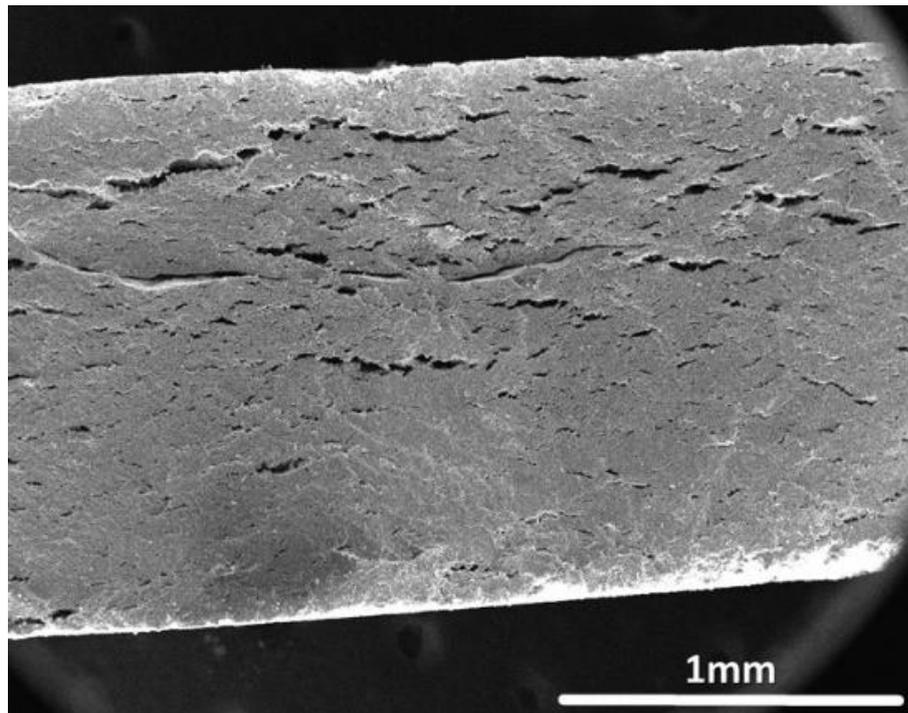


Figura 20 - Micrografia da fratura da amostra 70% de hidroxiapatita que mostra as rachaduras internas da amostra

Além do módulo de elasticidade, os testes de flexão informam sobre a tensão de ruptura, ou a tensão máxima ou ainda resistência à flexão que o material suporta. O composto de 60% de HA suportou $71,72 \pm 5,02$ MPa, sendo o mais resistente entre os compostos estudados nesse trabalho. A amostra de 70% apresentou $52,42 \pm 2,61$ MPa, valor bem superior ao encontrado na literatura apresenta resistência à flexão de $27,3 \pm 0,50$ para compostos de 70% de Hidroxiapatita e 30% de alumina (Al_2O_3). [82] Da mesma forma, os resultados da amostra de 80% ($57,82 \pm 2,6$ MPa), a de 90% ($29,29 \pm 1,55$ MPa) e a de 100% de hidroxiapatita ($24,68 \pm 1,61$ MPa) são promissores. Em suma, a adição de 10% de fase de reforço, as argilas utilizadas no composto, na hidroxiapatita dobrou sua resistência mecânica a compressão, módulo de elasticidade e também teve aumento significativamente a tensão de ruptura. Além disso, a amostra de 80% dobrou sua a tensão máxima suportada. Olhando para a literatura, Bragança et al [41] obtiveram resistência à flexão de $71 \pm 0,72$ MPa para

compostos de 50% de HA + 25% caulim + 25% feldspato sinterizado a 1280 °C e 51 ± 0.46 MPa para a temperatura de sinterização de 1200 °C. Esse resultado nos indica que é possível melhorar as propriedades físicas das amostras estudadas nesse trabalho com a variação de temperatura de sinterização.

5.5. TESTES DE BIOATIVIDADE

Nesse tópico serão discutidos os resultados dos testes de bioatividade in vitro, pela imersão da amostra em SBF. Para isso foram utilizadas as técnicas de difração de raios X, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de raios X em Energia Dispersiva (EDS). Para manter um padrão na análise da bioatividade por crescimento de apatita em testes in vitro, serão apresentadas as imagens de MEV de 0, 21 e 60 dias para SBF convencional, e 14 dias para SBF 1,5x apenas para as amostras que mostraram bioatividade nessa solução.

Amostra 100%

Na figura 21 são mostrados os difratogramas das pastilhas de 100% de Hidroxiapatita antes e após imersão em SBF com 21 dias de experimento. Foi utilizado a ficha 00-009-0432 do banco de dados JCPDS para identificar os picos referentes à hidroxiapatita. Aos 21 dias de imersão os resultados de DRX indicam crescimento de apatita. Devido a orientação preferencial da apatita na direção [001] o pico (002) tem um aumento de intensidade proporcional ao tempo de realização do experimento. Há a formação de um halo amorfo a partir de 27° até o ângulo de 35°, causando a sobreposição dos picos no range 2θ de 30 a 34° e a diminuição dos picos entre 28 e 29°. Esses fatos são indicativos do crescimento de apatita, pois a apatita além de

possuir direção preferencial, possui também baixa cristalinidade [45] [83]. Não foi necessário manter a amostra por 60 dias em SBF, visto que, em 21 dias já apresentava um crescimento de apatita uniforme por toda a superfície da amostra.

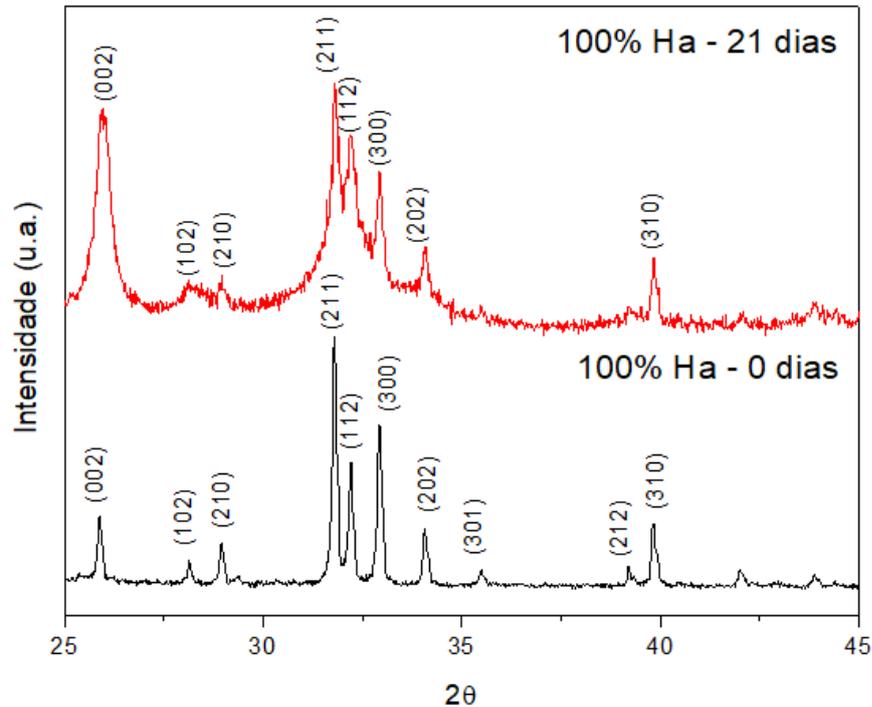


Figura 21 - Difratogramas da amostra 100 % HA imersa por 7, 14 e 21 dias em SBF, feito com tubo de Cu. Identificação de fases utilizando a ficha do banco de dados JCPDS

Na figura 22 são apresentadas as micrografias de superfície e da secção transversal de fratura da amostra 100%Ha com 0 e 21 dias em imersão em SBF. No item c) é possível observar a camada de apatita formada sobre a superfície da amostra, com estrutura craquelada típica da apatita que é depositada em imersão em SBF. Na imagem d) é visível essa camada na fratura da amostra. Essas características definem o comportamento da bioatividade conhecida da hidroxiapatita [84]. Em b) e d) é possível observar que a fratura é intergranular, ou seja, a fratura ocorre ao longo do contorno do grão, mostrando que o material é frágil [85].

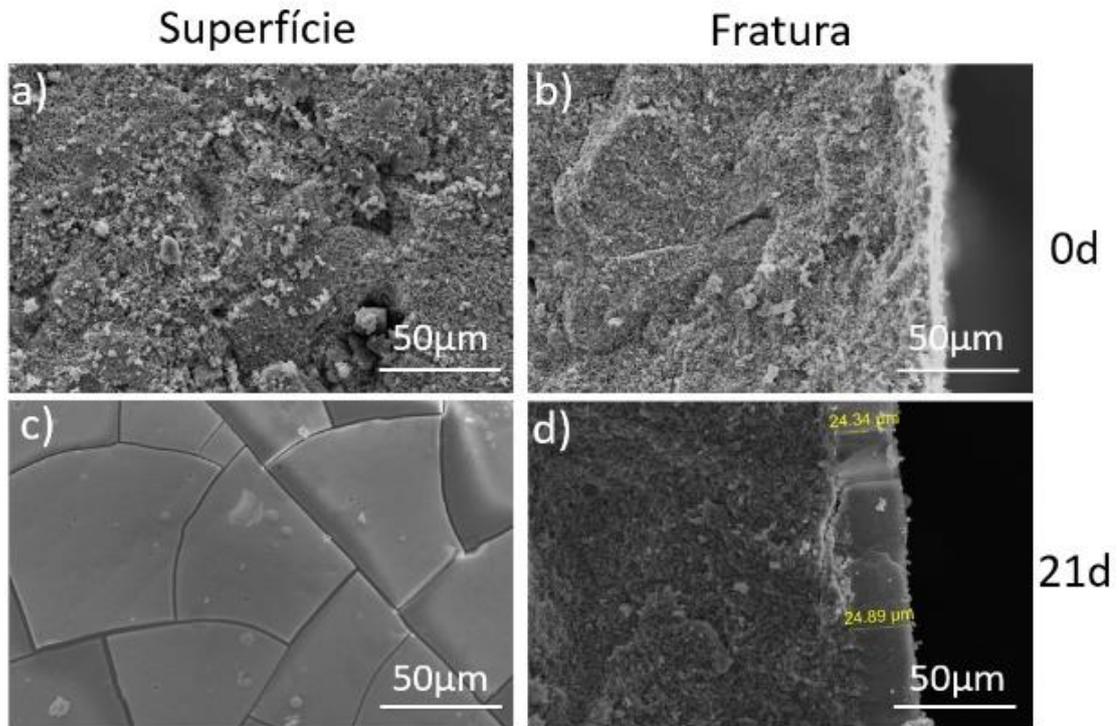


Figura 22 – Microscopia eletrônica de varredura da amostra 100%HA com a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; d) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF.

Amostra 90%

A figura 23 apresenta as micrografias da amostra de 90% de HA com 0, 21 e 60 dias de imersão em SBF. As imagens a) e b) mostram a superfície e a fratura da amostra antes da imersão no SBF, respectivamente. Em a) a morfologia da amostra apresenta grãos arredondados característicos da estrutura da hidroxiapatita [86] e em b) a fratura é transgranular devida a fase líquida na sinterização, mostrando que o material é mais resistente [85]. Em c) os grãos de HA vão diminuindo e a superfície se torna mais porosa, após a imersão de 21 dias em SBF. Em e) A superfície apresenta uma morfologia diferenciada, cuja análise por EDS (figura 23 g)) demonstra uma baixa concentração de cálcio e fosforo, ou seja, a amostra liberou os fosfatos de cálcio de sua composição durante a imersão em SBF. Em f) esse fenômeno é mais visível, ao se medir o EDS da fratura, de onde a amostra ainda apresenta a

composição inicial de 90% de Hidroxiapatita, na região 2, enquanto na superfície, região 3, silício e alumínio são predominantes.

A dissolução de Ca e P da amostra em SBF não é bem descrita na literatura, amostras com estruturas vítreas tem seus outros elementos dissolvidos e há a deposição de apatita na sua superfície. Porém, o fato da amostra não liberar alumínio ou silício durante o teste *in vitro* é uma vantagem, pois íons de Al liberados na corrente sanguínea podem aumentar a citotoxicidade do material *in vivo* [87] [88] [89].

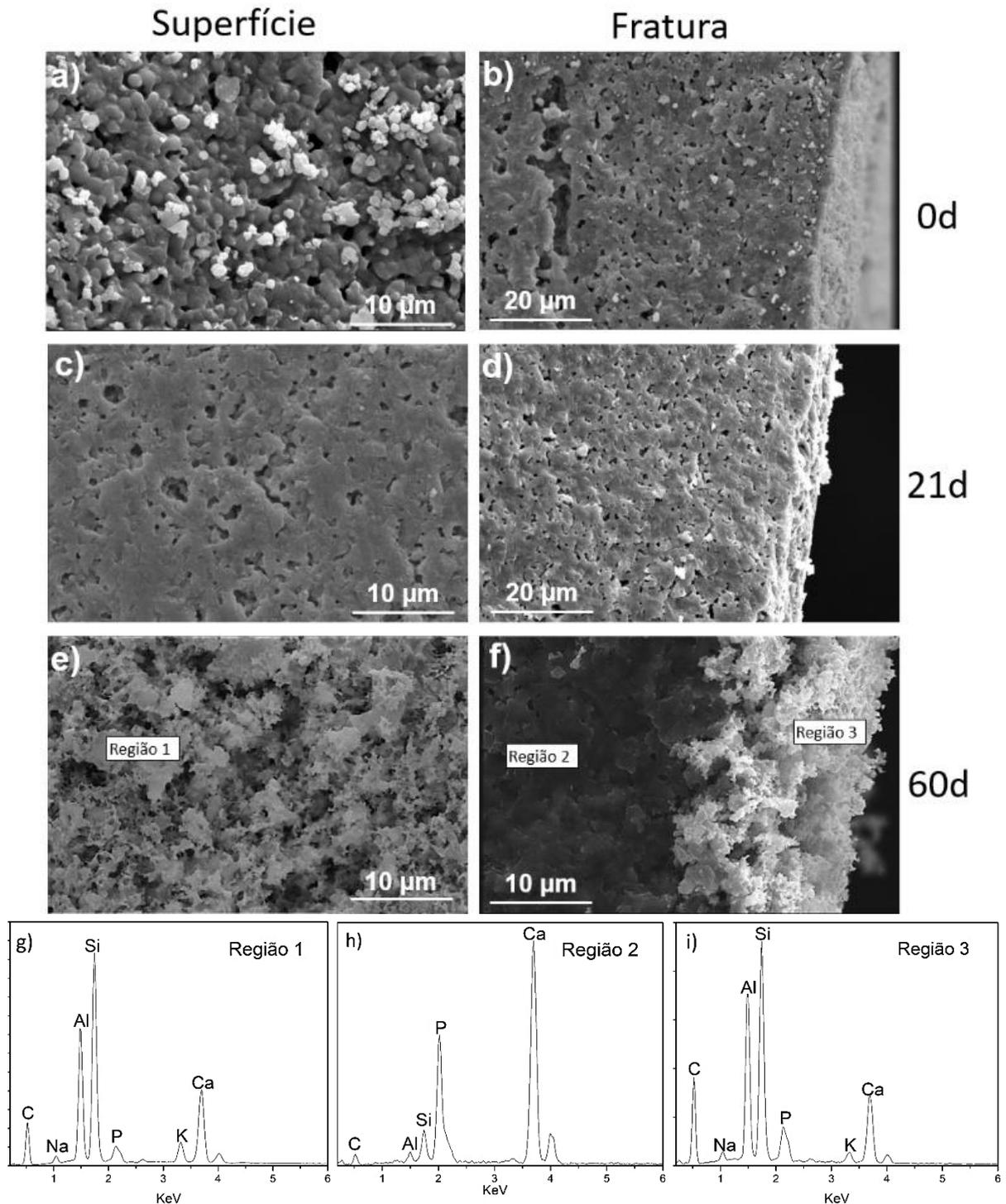


Figura 23 - Imagens obtidas por MEV do composto 90% de Hidroxiapatita; a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fósforo em SBF.

Os difratogramas de raios X presentes na imagem 24 são da pastilha de 90%HA antes e após 21 dias em imersão em SBF. A única diferença apresentada é a diminuição do pico (211) da fase da hidroxiapatita que pode ser explicada pela diminuição de hidroxiapatita na superfície da amostra durante o teste *in vitro*. Os demais picos não apresentam mudanças, pois o feixe de raios X tem uma profundidade de penetração na amostra ~30 μm e como em 21 dias a dissolução da hidroxiapatita é superficial a difração de raios X detecta a hidroxiapatita interna.

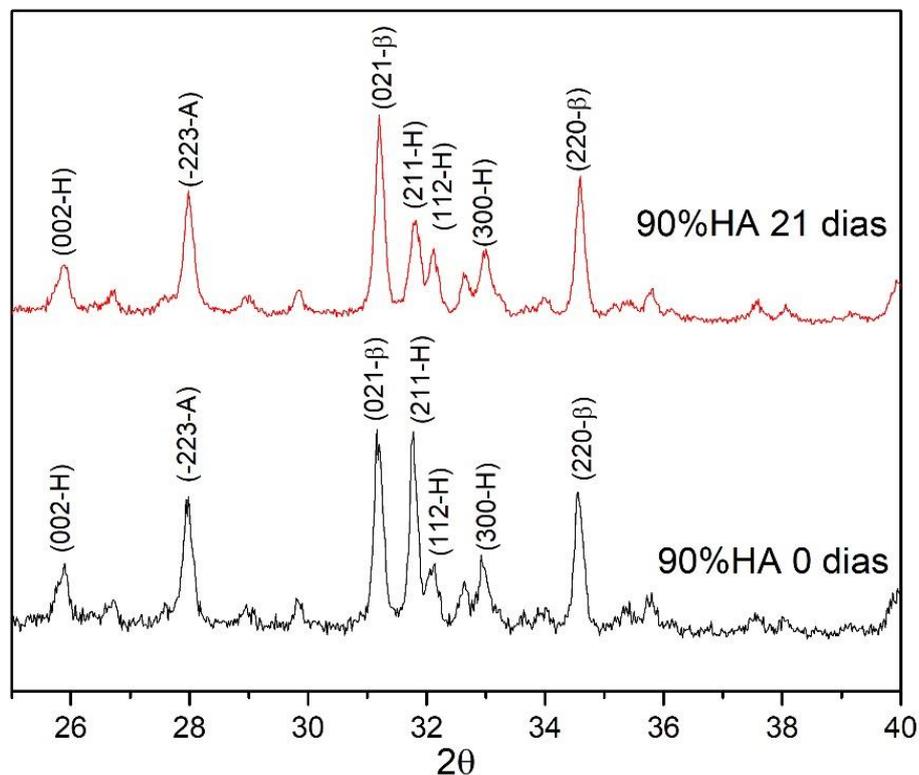


Figura 24 - difratograma da amostra 90%HA com 0 e 21 dias em imersão em SBF. Diminuição do pico (211) da hidroxiapatita em relação ao pico (021) do β -TCP comprovando a dissolução da hidroxiapatita da superfície durante o teste *in vitro*.

Alternativamente, estudos em SBF com concentração 1,5x maior em relação aos solventes que o SBF padrão é possível observar-se o crescimento de apatita na superfície da amostra. Acredita-se que o SBF mais concentrado acelera o processo de formação de apatita em materiais bioativos. Na figura 25 está presente a

micrografia da amostra 90%HA com 14 dias de imersão em SBF 1,5x, na superfície da amostra (a) é possível observar o mesmo padrão de apatita que na amostra 100%HA (figura 18 em (c)). Em (b) na (figura 25) mostra a fratura da amostra revela a camada de apatita que cresceu sobre a superfície do material, com aproximadamente 20 μm de espessura.

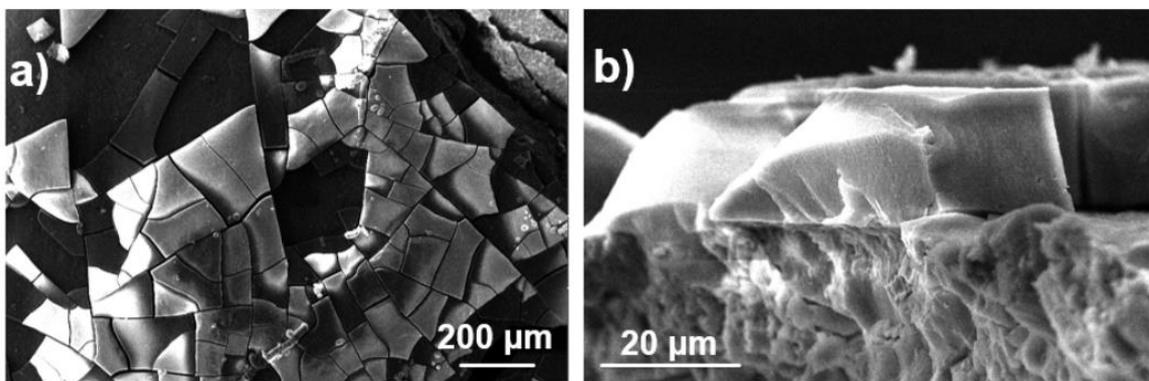


Figura 25 - Micrografia da amostra 90%HA com 14 dias de imersão em SBF 1,5. a) superfície da amostra que destaca o padrão craquelado do crescimento da apatita; b) fratura da amostra que destaca a camada de apatita que cresceu na superfície

Amostra 80%

Ao contrário da amostra 90%HA, a amostra 80%HA apresenta crescimento de apatita em SBF padrão, com 60 dias de imersão, como é apresentado na figura 26. As imagens a) e b) mostram a superfície e a fratura da amostra antes da imersão no SBF. Em a) a morfologia da amostra apresenta grãos arredondados característicos da estrutura da hidroxiapatita e em b) a fratura é predominantemente transgranular devida a fase líquida na sinterização, o que justifica o aumento no módulo de elasticidade apresentado na tabela 3, comparando com a relação a amostra de 100%HA [85]. A amostra também tem sua hidroxiapatita diluída da superfície, após a imersão em SBF por 21 dias. Em e) é possível observar o crescimento de apatita na superfície da amostra, após 60 dias de imersão em SBF. Porém também é perceptível,

no EDS presente em g), que onde não há crescimento de apatita ocorre a dissolução do cálcio e fósforo. Em h) a análise por EDS feita sobre a camada de apatita mostra que esta é rica em fósforo e cálcio, como esperado. Em f) a fratura da amostra permite observar a espessura da camada de apatita formada durante a imersão, aproximadamente 15 μm .

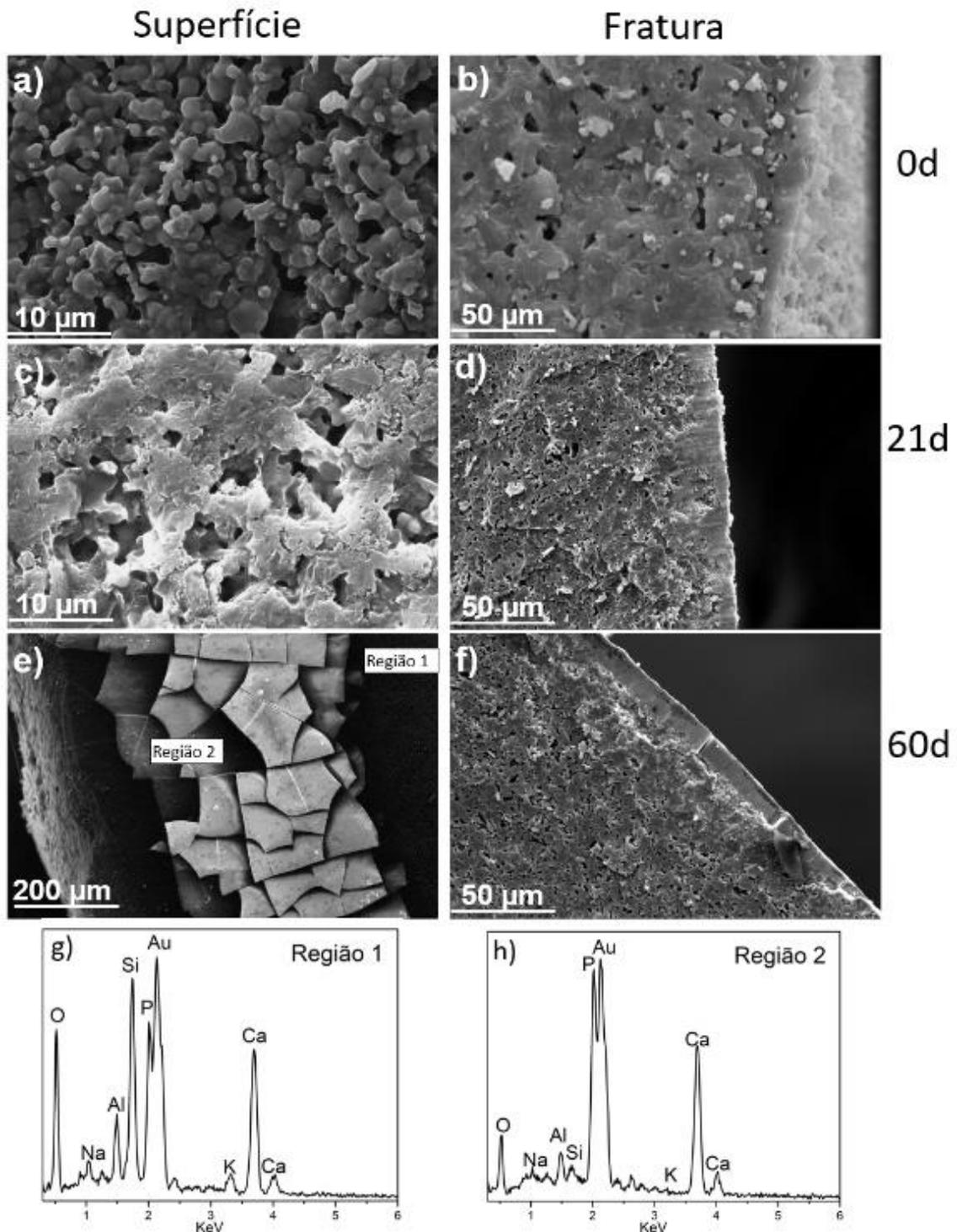


Figura 26 - Imagens obtidas por MEV do composto 80% de Hidroxiapatita; a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em sbf. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e regiões selecionadas para análise por EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra onde não apresenta crescimento de apatita após 60 dias em imersão; h) EDS da superfície da amostra na região de crescimento de apatita após 60 dias em imersão.

Para analisar melhor a interface entre o crescimento da apatita e a superfície da amostra foi feito imagens de MEV mais detalhadas dessa região, apresentadas na figura 27. Como houve a dissolução da hidroxiapatita durante o período de imersão em SBF, a amostra ficou com sua superfície mais porosa como é observado em a) (figura 27) a apatita se forma dentro dos poros. Em b) é possível observar que, mesmo onde não houve formação de uma camada de apatita na superfície da amostra, os poros estão preenchidos pela fase inicial do crescimento de apatita. Essas imagens mostram o potencial desse material de servir como um scaffold, que pode auxiliar a formação de osso dentro do biomaterial e a irrigação com vasos sanguíneos quando implantado *in vivo*.

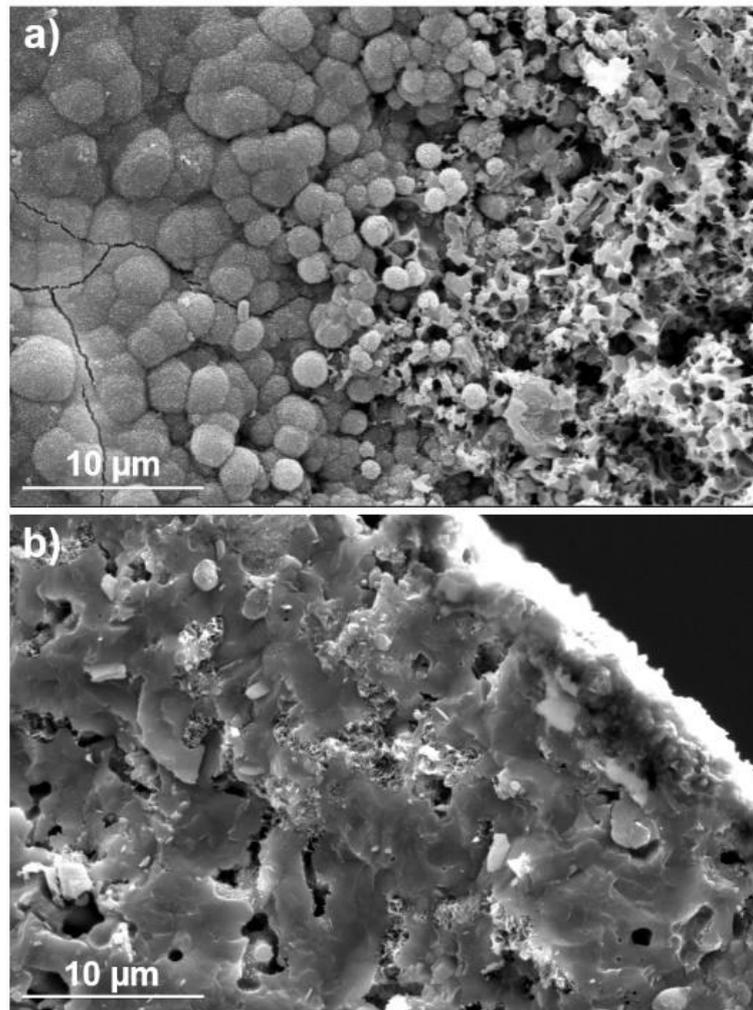


Figura 27 - Microscopia eletrônica de varredura da amostra 80%HA com 60 dias de imersão em SBF. a) a interseção do crescimento de apatita na superfície da amostra, mostrando a apatita ocupando os poros formados pela dissolução da hidroxiapatita. b) Fratura da amostra que mostra a formação de apatita no interior dos poros.

Amostra 70%

Os resultados do teste de bioatividade *in vitro* para a amostra 70%HA estão presentes na figura 28. Em a) a superfície e em b) a fratura da amostra antes da imersão em SBF, onde é possível observar a fase líquida na superfície e a estrutura interna na fratura da amostra. Em c) e d), com 21 dias de imersão, é possível observar a mudança na estrutura devido a perda de hidroxiapatita da superfície durante o experimento. Em e) e f) após 60 dias de imersão a superfície está mais porosa, com

pouca quantidade de cálcio e quase nenhuma de fósforo, conforme análise de EDS da região presente em g). O EDS da região 2 em f) mostra a proporção inicial do composto, a qual o cálcio e o fósforo são componentes predominante, na borda da amostra (região 3) há uma diminuição significativa das quantidades desses elementos, e o silício passa a predominar. Em SBF 1,5 essa concentração de composto não apresentou formação de apatita.

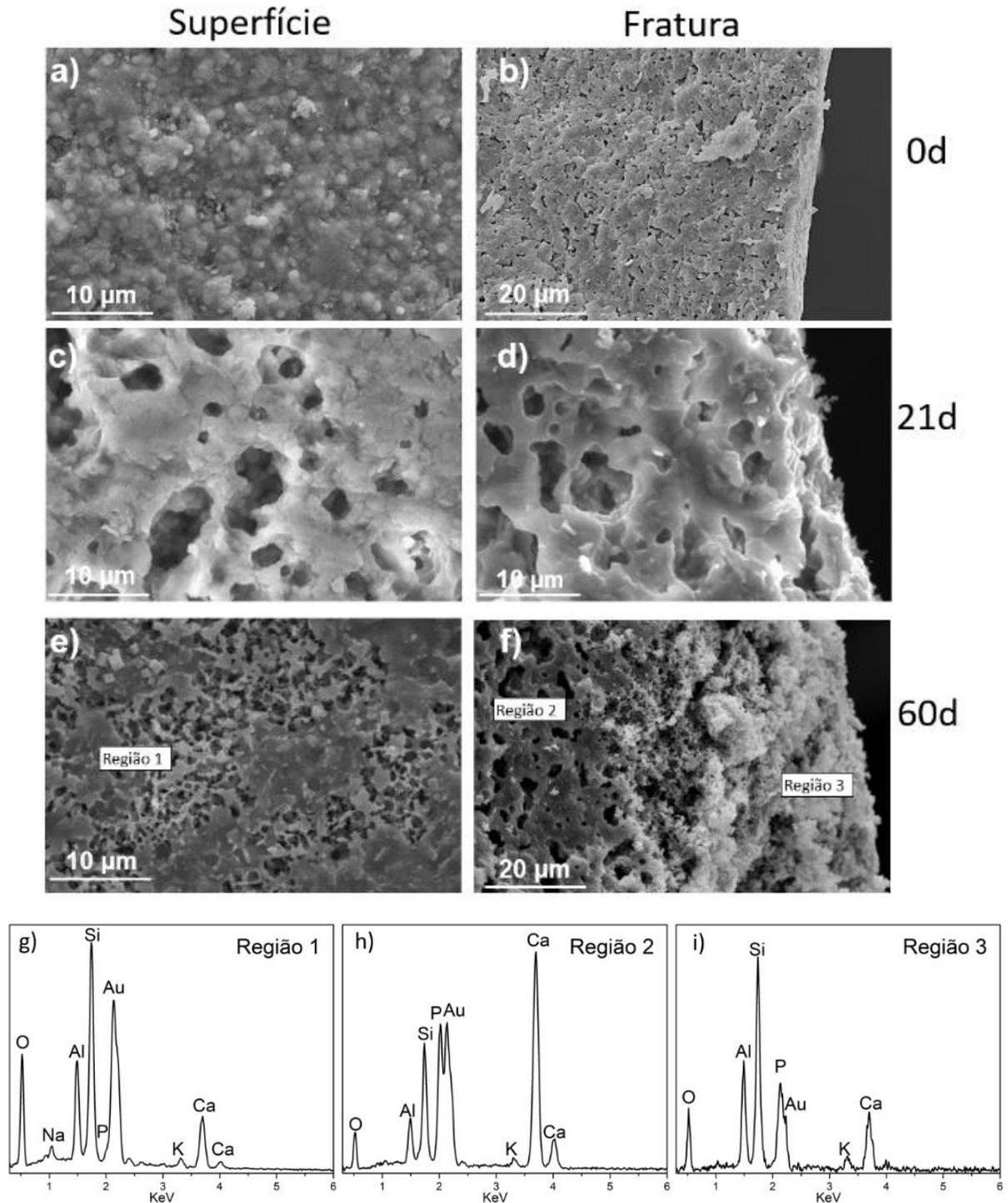


Figura 28 - Imagens obtidas por MEV do composto de 70% de Hidroxiapatita. a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em SBF. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fósforo em SBF

Amostra 60

O composto de 60%HA apresentou os melhores resultados nos testes de resistência mecânica, porém as análises não foram positivas nos testes de bioatividade. Não foi detectado crescimento de apatita nessa amostra, mesmo em 60 dias de imersão em SBF padrão e imersão de 14 dias em SBF 1,5x, ou seja mais concentrado. As micrografias da imagem 29 mostram a amostra em 0 dias de imersão, em a) e b), a amostra tem superfície densa e fratura preferencialmente transgranular, fatos que comprovam os resultados obtidos de sua alta densidade, baixa porosidade e alto módulo elástico [85]. Em c) é possível ver uma mudança na superfície, a amostra passa a ser mais porosa, em d) é possível ver a camada que perdeu a hidroxiapatita durante a imersão. Em 60 dias a análise por EDS, e) e g) mostram uma diminuição na quantidade de cálcio e não detecta o fósforo na superfície da amostra, podendo afirmar que durante a imersão em SBF ocorreu a dissolução da fase do fosfato tricálcico. Em h) a análise em EDS mostra a proporção do composto ainda com hidroxiapatita e em i) o EDS feito da borda da amostra, onde quase não se observa cálcio e fósforo no gráfico. A amostra de 60%HA imersa em SBF por 60 dias perdeu, aproximadamente, 5% de sua massa, e foi a única que teve uma perda significativa de massa durante o experimento.

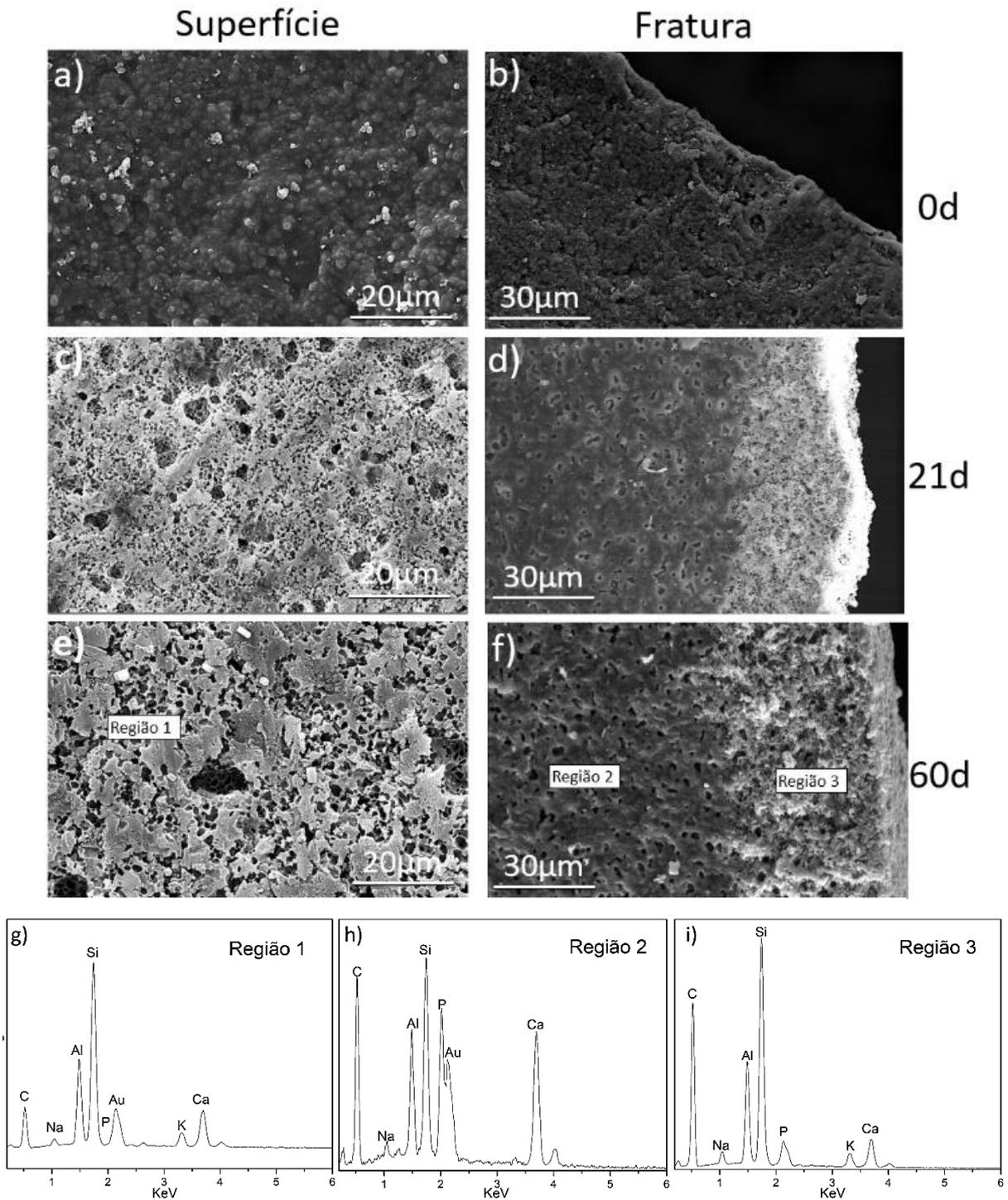


Figura 29 - Imagens obtidas por MEV do composto de 60% de Hidroxiapatita. a) Superfície da amostra sem imersão em SBF; b) fratura da amostra sem imersão em SBF. c) superfície da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) fratura da amostra com 21 dias de imersão em SBF; e) Superfície da amostra com 60 dias de imersão em SBF e região selecionada para fazer EDS; f) Fratura da amostra de 60 dias de imersão em SBF; g) EDS da superfície da amostra após 60 dias em imersão; h) EDS da fratura da amostra após 60 dias em imersão, da região 2 mais interna; i) EDS da fratura da amostra de 60 dias em imersão da região 3, onde ressalta a perda de cálcio e fósforo em SBF.

6. CONCLUSÃO

Com base nas análises realizadas durante esse trabalho podemos concluir que foram atingidos os objetivos inicialmente propostos de produzir uma cerâmica a base de hidroxiapatita utilizando caulim e feldspato como fases adicionais de reforço sem perder a bioatividade do material.

- A hidroxiapatita bovina obtida pela calcinação a 800 °C e tratamento térmico a 900 °C é monofásica e bioativa. Possui densidade baixa, alta porosidade e não é resistente o suficiente para ser utilizada em ossos de carga elevada;

- A temperatura escolhida para sinterização das amostras se mostrou eficiente para se obter a fase líquida, devido ao feldspato, obtendo assim amostras mais densas, menos porosas e com maior resistência a compressão e flexão. O comportamento não é linear do aumento da resistência com o aumento de argila adicionada na hidroxiapatita, pois a amostra 70%HA apresenta excesso de fase líquida, que ocasiona poros maiores e bolsões de ar dentro dela. A fase líquida também abaixou a temperatura de decomposição da hidroxiapatita e se obteve a fase β -TCP nas amostras.

- A caracterização por difração de raios X, além de mostrar as duas fases e fosfato de cálcio, HA e β -TCP, é observado também a fase da anortita, que ocorre pela mistura de caulim com a decomposição da hidroxiapatita, e a fase do óxido de silício.

- As amostras 80%HA e 90%HA apresentaram respostas bioativas em teste *in vitro* com SBF, porém utilizar os resultados apenas desse experimento não garante a bioatividade *in vivo*, somente testes em cultura de célula *ou in vivo* poderão comprovar a bioatividade dessas amostras.

- A liberação de cálcio e fósforo em SBF pode ser uma vantagem para o material, pois o corpo hospedeiro obteria da prótese íons de cálcio e fósforo na sua corrente sanguínea, acelerando o processo de osteocondução. O aumento da porosidade na superfície da amostra, antes do crescimento da camada de apatita permite que a ligação entre o osso e a prótese seja mais forte, pois a formação de apatita começará nos poros da prótese.

- A amostra não liberou alumínio e silício para o meio, visto que o alumínio é tóxico para o corpo humano quando em contato direto com a corrente sanguínea em grandes quantidades

- A adição de 20% de fase de reforço (argilas utilizadas no composto) na hidroxiapatita mais que dobrou sua resistência mecânica a compressão, módulo de elasticidade e tensão de ruptura, mantendo sua bioatividade em SBF padrão.

- Os compostos 60%HA e 70%HA não apresentam crescimento de apatita, porém possuem excelentes propriedades mecânicas. Por isso se faz interessante aprofundar as análises desses compostos e encontrar uma situação na qual sejam bioativos ou bioarreativos.

6.1 PERSPECTIVAS DE TRABALHOS FUTUROS

- Os próximos passos desse trabalho são comprovar a bioatividade das amostras, utilizando sistemas vivos ou cultura de células.
- Estudar outras propriedades mecânicas, como resistência a tração, a deformação e dureza Vicker

- Aplicar técnicas de imersão em soluções preparatórias, antes da imersão em SBF das amostras de 60 e 70% de HA visando melhorar a resposta no experimento in vitro.

REFERÊNCIAS

1. SERVICES, U. S. D. O. H. A. H. **Global Health and Aging**. National Institute on Aging. [S.I.].
2. ESTATÍSTICA, I. B. D. G. E. IBGE. Disponível em: <www.ibge.gov.br>. Acesso em: jan 2019.
3. MEIRA, C. R. **Processamento de hidroxiapatita bovina associada com prototipagem rápida visando implantes ósseos**. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo. São Carlos. 2014.
4. PERERA, O. R. **Levantamento de seio maxilar com hidroxiapatita bovina e instalação simultânea de implante: Relato de caso clínico**. (Monografia Especialista em Implantodontia) Instituto Latino Americano de Pesquisa e Ensino Odontológico. Curitiba. 2015.
5. MIYAHARA, R. Y.; GOUVÊA, D.; TOFFOLI, S. M. Obtenção e caracterização de cinza de ossos bovinos visando à fabricação de porcelana de ossos - bone china. **Cerâmica**, n. 53, p. 234-239, 2007.
6. MORAES, P. C. **Biocompatibilidade e comportamento do cimento de fosfato de cálcio, reforçado com diferentes tipos de fibras, implantado no rádio de coelhos**. (Dissertação - Mestre em Ciências Agrárias) Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. Universidade Estadual Paulista. 2002.
7. RODRIGUES, L. B. Aplicações de biomateriais em ortopedia. **Estudos Tecnológicos em Engenharia**, v. 9, n. 2, p. 63-76, jul/dez 2013.

8. CARNEIRO, A. C. D. S. **Obtenção de Cerâmicas à base de tricálcio fosfatos utilizando óxidos de magnésio como aditivo.** (Dissertação - Mestre em Engenharia Mecânica) Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal. 2007.
9. HELMUS, M. N.; TWEDEN, K. Materials Selection. **Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering**, v. 1, n. Part A, p. 27-59, 1995.
- 10 WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials.** Amsterdam: Elsevier, 1987.
- 11 HENCH, L. L.; ANDERSON, O.; WILSON, J. **An Introduction to Bioceramics.** 1. ed. New York: World Scientific, 1993.
- 12 PARK, J. B. **Biomaterials: an introduction.** New York: Plenum Press, 1980.
- 13 PIRES, A. R.; BIERHALZ, C. K.; MORAES, A. M. Biomaterials: Types, Applications, and Market. **Química Nova**, 2015. 1 - 15.
- 14 KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, p. 518 - 522, 2000.
- 15 WILSON, J. **Anales de Química**, v. 93, n. 15, 1997.
- 16 ORÉFICE, R. L.; PEREIRA, M. M.; MANSUR, H. S. **Biomateriais: fundamentos e aplicações.** Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.
- 17 CHIBA, A. E. A. Effect of alumina addition on hydroxyapatite biocomposites fabricated by underwater-shock compaction. **Material Science And Engineering**, v. 350, n. 1-2, p. 179 - 183, jun 2003.

- 18 AOKI, H. **Science and medical application of hidroxyapatita**. Japão: [s.n.], . 1991.
- 19 LE GEROS, R. Z. **Calcium Phosphate in oral biology and Medicine**. Nova York: . [s.n.], 1991.
- 20 LE GEROS, R. Z.; LE GEROS, J. P. **Dence Hydroxyapatite in handbook of . bioactive ceramisc**. Nova Yotk: CRC Press, v. II, 1990.
- 21 ISHIDA, M. A.; VOLKMER, T. M.; SANTOS, L. A. **Modificação da condição de . precipitação de hidroxiapatita sintética**. III Congresso Latino Americano de Biomateriais e Órgãos Artificiais. Campinas. 2003.
- 22 KAY, M. I.; YOUNG, R. A.; POSNER, A. S. CRYSTAL STRUCTURE OF . HYDROXYAPATITE.. **Nature**, v. 12, n. 204, p. 1050-1052, dec 1964. ISSN PubMed PMID: 14243377.
- 23 MARKOVIC, S. et al. Synthetical bone-like and biological hydroxyapatites: A . comparative study of crystal structure and morphology. **Biomedical Materials**, n. 6, jun 2011. ISSN DOI: 10.1088/1748-6041/6/4/045005.
- 24 SCMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O.; MILAM, S. B. Reconstruction of bone using . calcium phosphate bone cements: a critical review. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 57, p. 1122-1126, set 1999. ISSN 9.
- 25 VIDIGAL, G. M. J.; GOISMAN, M. Osseointegração x biointegração: uma análise . critica. **Revista Brasileira de Odontologia** , v. 4, p. 54-56, 2003.
- 26 MIYAHARA, R. Y. **Desenvolvimento de porcelana de ossos a partir de matérias- . primas brasileiras**. (Tese de Doutorado em Engenharia de Materiais) Universidade de São Paulo. São Paulo. 2006.

- 27 SIGMA-ALDRICH. Comercialização Hidroxiapatita. **MERCK**, 2019. Disponível em:
. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/900195?lang=pt®ion=BR&cm_sp=Insite-_-prodRecCold_xviews-_-prodRecCold5-2>. Acesso em: 04
Fevereiro 2019.
- 28 JARCHO, M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. **Clinical
. orthopaedics and related research**, n. 157, p. 259 - 278, jun 1981.
- 29 JI, H.; PONTON, C. B.; MARQUIS, P. M. Microstructural characterization of
. hydroxyapatite coating on titanium. **Journal of Materials Science: Materials in
Medicine**, v. 3, n. 4, p. 283 - 287, jul 1992.
- 30 LIRA, H. L.; NEVES, G. A. Feldspatos: conceitos, estrutura cristalina,
. propriedades físicas, origem e ocorrências, aplicações, reservas e produção..
Revista Eletrônica de Materiais e Processos, Campina Grande, v. 8, n. 3, p.
110 - 117, 2013.
- 31 KUMMER, L. E. A. Reutilização dos Resíduos de Polimento de Porcelanato e
. Feldspato na Fabricação de Novo Produto Cerâmico. **Cerâmica Industrial**, v. 12,
mai 2007. ISSN 3.
- 32 CIULLO, P. A. **Industrial minerals and their uses: a handbook and formulary**.
. New Jersey: Noyes Publications, 1996.
- 33 CHATTERJEE, A.; CHITWADGI, S.; KULKARNI, M. Efeito da razão entre
. feldspato sódico e potássio no desenvolvimento de fases microestrutura de
porcelanatos queimados. **Cerâmica Industrial**, v. 5, set 2001. ISSN 6.

- 34 COELHO, J. M.; SUSLICK, S. B.; SOUZA, M. C. A. Uma abordagem sobre a . Indústria de Feldspato no Brasil. **Cerâmica Industrial**, v. 5, p. 1-2, jan 2000. ISSN 1.
- 35 SCHOBENHAUS, C. **Principais Depósitos Mineraiis do Brasil**. DNPM. . Brasilia, p. Parte 4. 1996. (v. 4).
- 36 DNPM. **Anuário Mineral Brasileiro**. Brasília. 1989 a 2000.
- 37 CARDOSO, S. R. F. E. A. Caracterização e propriedades cerâmicas de alguns . Caulins e argilas usadas em cerâmicas brancas no estado de São Paulo. **Cêramica Industrial**, São Paulo, v. 3, mai 1998. ISSN 3.
- 38 CICEL, B.; NOVAL, I.; HORVÁTH, I. **Mineralogy and crystallochemistry of . clays**. Bratislava: SAV, 1981.
- 39 VARGA, G. The structure of kaolinite and metakaolinite, v. 1, n. 59, 2007. ISSN . szám.
- 40 ARAUJO, J. C. et al. Caracterização da Microestrutura de Caulinitas pela Difração . de Raio X. **Matéria**, v. 11, p. 361-371, 2006. ISSN 3.
- 41 BRAGANÇA, S. R.; BERGAMANN, C. P. Produção de porcelana de ossos e . caracterização de suas propriedades técnicas. **Cerâmicas**, v. 52, p. 205-212, jun 2006.
- 42 RADO, P. Bone China. **Ceramics Monographs - A Handbook of ceramics**, . Verlag Schmidt GmbH Freiburg, 1981.
- 43 RADO, P. **An Introduction to the technology of pottery**. 2ª. ed. Oxford: . Pergamon, 1988.

- 44 GOUVÊA, D.; HIRAKATA, S.; KAHN, H. Efeito da modificação da composição química na sinterização e microestrutura de porcelanas de ossos bovinos. **Cerâmica**, n. 56, p. 393-398, 2010.
- 45 NING, C. Q.; ZHOU, Y. In vitro bioactivity of a biocomposite fabricated from HA and Ti powders by powder metallurgy method. **Biomaterials**, v. 23, p. 2909-2915, jul 2002. ISSN 14.
- 46 GUIMARÃES, A. C. **Sinterização e caracterização de biocerâmica feldspática para aplicação odontológica**. (Tese de Doutorado em Engenharia e Ciências dos Materiais) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. Centro de Ciências e tecnologia. Campos dos Goytacazes. 2017.
- 47 SILVA, A. G. P.; ALVES, C. J. A sinterização rápida: suas aplicações, análises e relação com as técnicas inovadoras de sinterização. **Cerâmica**, v. 44, p. 225-232, 1998.
- 48 PINHEIRO, C. A.; SILVA, A. G. P.; HOLANDA, J. N. F. **Análise microestrutural de porcelana tradicional**. São Pedro - SP. 2005.
- 49 SILVA, S. G. P.; ALVES, J. Teoria de sinterização por fase sólida; uma análise crítica de sua aplicação. **Cerâmica**, v. 44, p. 171-176, 1998.
- 50 MARCHI, J. **Sinterização via fase líquida de cerâmicas à base de carbetos de silício com aditivos óxidos utilizando planejamento de experimentos**. (Tese de Doutorado em Tecnologia Nuclear) Universidade de São Paulo, USP. São Paulo, p. 257. 2003.
- 51 GERMAN, R. M.; SURI, P.; PARK, S. J. 'Review: Liquid phase sintering. **Jornal Material Science**, n. 44, 2009.

- 52 GERMAN, R. M. **Liquid Phase Sintering**. New York: John Wiley & Sons, 1996.
- 53 BALESTRA, R. M. **Sinterização de SiC via fase líquida com os aditivos La₂O₃ e Al₂O₃ – microestrutura e propriedades mecânicas**. (Tese de doutorado em Engenharia de Materiais) Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de Lorena, p. 142. 2009.
- 54 IONOSHIRO, M.; GIOLITO, I. **Fundamentação da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. São Paulo: Giz Editorial, 2004.
- 55 HAINES, P. J. **Thermal Methods of Analysis: Principles, Application and Problems**. London: Acol, 1987.
- 56 CAVALHEIRO, E. T. G. **Introdução às técnicas termoanalíticas**. Curso Ministrado no 16º ENQA. Campos do Jordão. 2011.
- 57 GRIMISTONE, A. V. **O Microscópio Eletrônico em Biologia**. São Paulo: Pedagógica e Universidade Ltda da Universidade de São Paulo, 1980.
- 58 AZÁROFF, L. V. **Elements of X-Ray Crystollography**. [S.l.]: McGraw-Hill Book Company, 1998.
- 59 TEIXEIRA, C. E. **Sobre a teoria da difração de raios X em estruturas tridimensionais**. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas) Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte. 2014.
- 60 PADILHA, A. F. **Materiais de engenharia: microestrutura e propriedades**. São Paulo: Hemus Editora, 1997.

- 61 MASSA, W. **Crystal Structure Determination**. 4^o. ed. Berlin: Springer, 2004.
- 62 KARBASI, S.; HASHEMIBENI, B.; POUMOLLAABBASSI, B. Evaluate the growth and adhesion of osteoblast cells on nanocomposite scaffold of hydroxyapatite/titania coated with poly hydroxybutyrate. **Biomedical Research** , v. 5, n. 156, 2016.
- 63 KESRENBACHK, H. J. **Microscopia eletrônica transmissão e varredura**. São Paulo: ABM.
- 64 DEDAVID, B. A.; GOMES, C. I.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicas e semicondutores**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2007.
- 65 SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, E. S. R. **Principles of instrumental analysis**. 6^a. ed. [S.I.]: Belmont, 2002.
- 66 TEXEIRA, F. S. Departamento Física Aplicada. **Instituto de Física da USP**. Disponível em: <<http://fap.if.usp.br/~nandast/mev.html>>. Acesso em: 8 fevereiro 2019.
- 67 CALLISTER, W. D. J.; RETHWISCH, D. G. **Ciência e engenharia de materiais - Uma introdução**. [S.I.]: [s.n.], v. 8, 2012.
- 68 5739, A. N. **Concreto - Ensaio de compressão de corpos-de-prova cilíndricos**. ICS 91.100.30. [S.I.]. 2015.
- 69 FREDEL, M. C.; ORTEGA, P.; BASTOS., E. **Propriedades mecânicas: Ensaio Fundamentais**. [S.I.]: Universidade Federal de Santa Catarina, v. 1.

- 70 MORAES, C. A. P. **Determinação do módulo de elasticidade dinâmico em concreto via técnica de excitação por impulso.** (Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Tecnologia de Materiais). Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. 2012.
- 71 BONADIO, T. G. M. **Biocompósitos de pentóxido de nióbio, hidroxiapatita e β fosfato tricálcico: produção, caracterização e estudos in vivo com suporte ósseos denso e poroso.** (Dissertação de Mestrado em Física) Universidade Estadual de Maringá. Maringá. 2014.
- 72 WEINAND, W. R. **Hidroxiapatita natural obtida por calcinação de osso de peixe e a sua aplicação na produção de materiais compósitos cerâmicos biocompatíveis.** tese (Doutorado em Física) - Universidade Estadual de Maringá - UEM. Maringá. 2009.
- 73 CHINELATTO, A. L.; SOUZA, D. P. F. Porcelanas elétricas aluminosas: Parte I - Revisão da Literatura. **Cerâmica**, n. 50, p. 62-68, 2004.
- 74 RIBEIRO, C. **Processamento e caracterização de cerâmicas Pa base de hidroxiapatita e fosfato-tricálcico.** [S.I.]: IPEN, 2003.
- 75 HARABI , A. et al. A new and economic approach to fabricate resistant porous membrane supports using kaolin and CaCO_3 . **Jounal of the European Ceramic Society**, v. 34, n. 5, p. 1329-1340, 2014.
- 76 PANGDAENG, S. et al. Apatite formation on calcined kaolin–white Portland cement geopolymer. **Materials Science and Engineering C**, v. 51, p. 1-6, 2015.
- 77 BONAN, R. F. et al. Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita. **Cerâmica**, v. 60, p. 402-410, 2014.

- 78 SHEN, Z. et al. Dense Hydroxyapatite–Zirconia Ceramic Composites with High . Strength for Biological Applications. **Materials Science and Engineering**, v. 13, n. 3, fev 2001.
- 79 RAO, R. R.; KANNAN, T. S. Synthesis and sintering of hydroxyapatite-zirconia . composites. **Materials Science and Engineering C**, v. 20, p. 187-193, 2002.
- 80 GALDINO, G. S.; ZAVAGLIA, C. A. C. Caracterização físico-mecânica de . compósitos porosos de hidroxiapatitititânia confeccionados pelo método da esponja polimérica. **Cerâmica**, n. 58, p. 388-392, 2012.
- 81 PARK, J. B. **Biomaterials Principles and applications**. New York: Boca . Raton/CRC Press, 2003.
- 82 YOKOBORI, A. T.; AIZAWA, T.; YOKOBORI, T. “Fracture toughness of . hydroxyapatite/mica composite, packed hydroxyapatite, alumina ceramics, silicon nitride and –carbide. **Bio-medical Materials and Engineering**, Nordstrom, v. 8, p. 37-43, 1998.
- 83 GROSS, K. A. et al. In vitro canges of hydroxyapatite coatings. **Quintessence**, v. . 12, p. 589-597, 1997.
- 84 GIL, F. J. et al. Growth of bioactive surfaces on titanium and its alloys for . orthopedic and dental implants. **Materials Science Eng.**, v. 22, p. 53-60, 2002.
- 85 KRAFT, R. H.; MOLINARI, J. F. A statistical investigation of the effects of grain . boundary properties on transgranular fracture. **Acta Materialia**, v. 56, n. 17, p. 4739-4749, october 2008.

- 86 CAMARGO, N. H. A.; LIMA, S. A. D.; GEMELLI, E. Synthesis and Characterization of Hydroxyapatite/TiO₂n Nanocomposites for Bone Tissue Regeneration. **American Journal of Biomedical Engineering**, v. 2, n. 2, p. 41-47, 2012.
- 87 VAN DAM, J. W. et al. Assessing chronic toxicity of aluminium, gallium and molybdenum in tropical marine waters using a novel bioassay for larvae of the hermit crab *Coenobita variabilis*. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 165, p. 349-356, december 2018.
- 88 HAGHI-AMINJAN, H. et al. The role of minocycline in alleviating aluminum phosphide-induced cardiac hemodynamic and renal toxicity. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 64, p. 26-40, december 2018.
- 89 BAYLIAK, M. M. et al. Protective effects of alpha-ketoglutarate against aluminum toxicity in *Drosophila melanogaster*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 217, p. 41-53, 2019.
- 90 SCHMITZ, J. P.; HOLLINGER, J. O.; MILAM, S. B. Reconstruction of bone using calcium phosphate bone cements: A critical review. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 57, n. 9, p. 1122 - 1126, set 1999.
- 91 VIDIGAL, G. M. J.; GOISMAN, M. Osseointegração x biointegração: uma análise crítica. **Revista Brasileira Odontologia**, v. 4, p. 54-56.
- 92 GRIMSHAW, R. W. **The Chemistry and Physics of Clays and Allied Ceramic Materials**. 4^a. ed. [S.I.]: Ernest Benn Limited, 1971.
- 93 KREMENOVIC, A.; VULIC, P. Disordered Kalsilite KAlSiO₄. **Acta Crystallographica - Structural Chemistry**, n. Part 3, p. 256-259, march 2014. ISSN Section C 70.

- 94 CELLAI, D.; GESING, T. M.; CARPENTER, M. A. X-ray study of the trigonal →
. hexagonal phase transition in metamorphic kalsilite. **American Mineralogist**, v.
84, p. 1950-1955, 1999.
- 95 GATTA, G. D. et al. Phase stability, elastic behavior, and pressure-induced
. structural evolution of kalsilite: A ceramic material and high-T/high-P mineral.
American Mineralogist, v. 8-9, n. 96, p. 1363-1372, 2011.
- 96 KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. "How useful is SBF in predicting in vivo bone
. bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, p. 2907-2915, 2006.