



Universidade Estadual de Maringá  
Centro de Ciências Exatas  
Departamento de Física

---

Dissertação de Mestrado

**Influência do tratamento térmico na sinterização,  
cristalização e na bioatividade de vidros de  
Cálcio-Sódio-Borato**

Mestranda: Mariana Sversut Gibin

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato

---

Maringá  
Agosto, 2021



Universidade Estadual de Maringá  
Centro de Ciências Exatas  
Departamento de Física

---

Dissertação de Mestrado

**Influência do tratamento térmico na sinterização,  
cristalização e na bioatividade de vidros de  
Cálcio-Sódio-Borato**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Física  
da Universidade Estadual de Maringá,  
como requisito parcial para a obtenção  
do título de mestre em Física.

Mestranda: Mariana Sversut Gibin

Orientadora: Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato

---

Maringá  
Agosto, 2021

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

G446i

Gibin, Mariana Sversut

Influência do tratamento térmico na sinterização, cristalização e na bioatividade de vidros de Cálcio-Sódio-Borato / Mariana Sversut Gibin. -- Maringá, PR, 2021.  
ix, 117 f.: il. color., tabs.

Orientadora: Profa. Dra. Francielle Sato.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Exatas, Departamento de Física, Programa de Pós-Graduação em Física, 2021.

1. Vidros . 2. Vitrocerâmicas. 3. Tratamento térmico. 4. Bioatividade. I. Sato, Francielle, orient. II. Universidade Estadual de Maringá. Centro de Ciências Exatas. Departamento de Física. Programa de Pós-Graduação em Física. III. Título.

CDD 23.ed. 536.51

---

Mariana Sversut Gibin

**Influência do tratamento térmico na sinterização,  
cristalização e na bioatividade de vidros de  
Cálcio-Sódio-Borato**

Dissertação de mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Física  
da Universidade Estadual de Maringá,  
como requisito parcial para a obtenção  
do título de mestre em Física.

Aprovada em: 30 de Agosto de 2021.

BANCA EXAMINADORA:

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato  
Universidade Estadual de Maringá

---

Prof. Dr. Robson Ferrari Muniz  
Universidade Estadual de Maringá - Câmpus de Goioerê

---

Prof. Dr. Alysson Steimacher  
Universidade Federal do Maranhão - Câmpus de Imperatriz

---

Dedico este trabalho, com muito carinho e amor, aos meus pais Mara e Osmar (*“in memoriam”*).

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à Deus pela vida e por permitir que pessoas incríveis cruzassem o meu caminho.

Agradeço à minha orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato pela orientação e por partilhar comigo parte de todo o seu conhecimento ao longo destes anos.

Também, sou grata a todos os professores que contribuíram para o meu crescimento: Prof. Dr. Antonio Medina Neto, Prof. Dr. Wilson Ricardo Weinand, Prof. Dr. Robson Ferrari Muniz, Prof. Dr. Vitor Santaella Zanutto e demais integrantes do DFI e PFI, os quais tenho imensa admiração e respeito. Especialmente, agradeço à Mônica pela atenção e disposição em auxiliar nos serviços prestados pela secretária.

De forma especial, agradeço ao meu pai Osmar “*in memoriam*” e à minha mãe Mara, a quem eu devo tudo que sou. Obrigada por me educar e apoiar meus estudos. Agradeço ainda à minha mãe e ao Vitor, meu irmão, pela convivência, suporte e paciência todos os dias. Ainda, sou imensamente grata ao Thiago, meu namorado, por todo amor, companheirismo, conselhos e compreensão nos momentos de ausência. Amo vocês!

Gratidão à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) por incentivar e conceder suporte financeiro à pesquisa por meio das bolsas, ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), à Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP), responsáveis pelo financiamento e infraestrutura disponível para a realização deste trabalho.

Por fim, mas não menos importante, agradeço ao grupo LEOF, à prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Franciana Pedrochi e ao prof. Dr. Alysson Steimacher da Universidade Federal do Maranhão (UFMA) pela colaboração e disponibilização das amostras. Agradeço ao doutorando Eduardo pelo auxílio com as micrografias. Também, ao grupo GEOPT e GEFF pelo acolhimento, conversas e ensinamentos dentro e fora do laboratório. Em especial, à Lidiane, Raquel, Adriane e Monique!

De igual modo, sou grata à parceria do Eduardo, Gustavo e Vinícius durante a graduação e disciplinas do mestrado. Á Bianca e a Andréia, amigas que sempre me apoiam.

Obrigada à todos que estiveram presente, contribuindo de forma direta ou indireta, não somente na minha formação acadêmica, mas também, na minha formação pessoal.

Neste trabalho é apresentada a caracterização de vidros e vitrocerâmicas bioativas produzidas a partir de vidros com composição nominal (% em peso)  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 5\text{CaF}_2 - 19\text{Na}_2\text{O} - 14\text{CaO} - 2\text{P}_2\text{O}_5$  obtidos via *melt-quenching*. Este vidro foi pulverizado até um tamanho de partícula  $< 45 \mu\text{m}$  e compactado em discos a 55 MPa. Tratamento térmico de 120 minutos foi realizado em 8 pontos do termograma, entre as temperaturas de transição vítrea e fusão. Cada disco tratado foi avaliado quanto às fases cristalinas, índices de cristalinidade, vibrações moleculares e microestrutura. Os materiais tratados a partir da transição vítrea até o início da cristalização apresentaram caráter amorfo. As temperaturas acima do pico de cristalização exibiram picos de difração no DRX referente às fases cristalinas  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ ,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$ ,  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  confirmadas via espectroscopias Raman e FTIR, apresentando estabilidade na proporção de suas fases cristalinas e aparecimento de grãos com diferentes morfologias. Três temperaturas foram selecionadas, com base no termograma, para o teste de citotoxicidade *in vitro*. Todas as amostras mostraram boa viabilidade celular, com destaque para a tratada termicamente após o primeiro pico de cristalização. Os testes de bioatividade *in vitro* evidenciaram o potencial bioativo das vitrocerâmicas, aumentando o tempo de dissolução e também, a taxa de troca iônica quando utilizado temperaturas mais elevadas. Houve formação de camada apatítica para as três temperaturas. Logo, os vidros e vitrocerâmicas deste trabalho apresentam-se promissores na utilização em enxertos e até mesmo implantes. Além disso, é possível a combinação com outros materiais, que podem formar compósitos bioativos.

**Palavras chave:** Vidros; Vitrocerâmicas; Tratamento Térmico; Bioatividade.

This work presents a characterization of bioactive glasses and glass-ceramics produced from glasses with the nominal composition (weight%)  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 5\text{CaF}_2 - 19\text{Na}_2\text{O} - 14\text{CaO} - 2\text{P}_2\text{O}_5$  obtained by melt-quenching. The glasses was sprayed until particle size  $< 45 \mu\text{m}$  and compacted into discs at 55 MPa. Heat treatment of 120 minutes was performed at 8 thermogram's points, between glass transition and melting temperatures. Each treated disc was evaluated for crystalline phases, crystallinity index, molecular vibrations and microstructure. The materials treated from glass transition to beginning of crystallization showed amorphous feature. Samples treated above crystallization peak showed diffraction peaks in XRD referring to  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ ,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$ ,  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  and  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  crystalline phases, confirmed by Raman and FTIR spectroscopy, showing stability in proportion of their crystalline phases and appearance of grains with different morphologies. Three temperatures were selected, based on the thermogram, for the *in vitro* cytotoxicity test. All samples showed good cell viability, especially the one heat treated after first crystallization peak. The *in vitro* bioactivity tests exposed the bioactive potential of glass-ceramics, increasing the dissolution time and also the ion exchange rate when using higher temperatures. There was formation of apatitic layer for the three temperatures. Therefore, the glasses and glass ceramics in this work are promising for the use in grafts and even implants. Furthermore, the combining with other materials is possible, which may form bioactive composites.

**Keywords:** Glasses; Glass-ceramics; Heat treatment; Bioactivity.

## LISTA DE FIGURAS

1.1	Efeito da temperatura na entalpia durante o processo de resfriamento de um vidro . . . . .	6
1.2	Conectividade das ligações de Si na presença de cátions modificadores de rede . . . . .	7
1.3	Junção de dois anéis boroxol via unidade de $\text{BO}_3$ isolado . . . . .	9
1.4	Unidades superestruturais presentes nos vidros de borato . . . . .	10
1.5	Efeito da temperatura na taxa de nucleação e crescimento de cristais em vidros . . . . .	12
1.6	Processo de formação da vitrocerâmica . . . . .	13
1.7	Classificação dos biomateriais quanto à interação tecido-implante . . . . .	16
1.8	Esquema da formação de camada apatítica sobre a superfície de vidros silicatos quando em imersão em SBF . . . . .	20
1.9	Mecanismo de formação de camada de HCA em vitrocerâmica após imersão em SBF . . . . .	21
2.1	Vidro final obtido após recozimento em $450\text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 horas. . . . .	24
2.2	Peças após processo de tratamento térmico . . . . .	25
3.1	Termograma do vidro . . . . .	32
3.2	Difratogramas de raios X para a amostra controle, T490 e T560 . . . . .	34
3.3	Difratograma de raios X da amostra T615 . . . . .	36
3.4	Difratograma de raios X da amostra T625 . . . . .	37
3.5	Difratograma de raios X da amostra T630 . . . . .	38

3.6	Difratograma de raios X da amostra T715 . . . . .	39
3.7	Difratograma de raios X da amostra T785 . . . . .	40
3.8	Difratogramas das amostras T625 e T785 e índice de cristalinidade em função da temperatura de tratamento térmico . . . . .	41
3.9	Comparativo entre os difratogramas das amostras em todas as temperatu- ras de tratamento térmico . . . . .	43
3.10	Difratograma de raios X da amostra T810 . . . . .	45
3.11	Espectros Raman para o vidro, T490 e T560 . . . . .	47
3.12	Comparativo entre os espectros Raman das amostras T560 e T615 . . . . .	50
3.13	Espectro Raman da amostra T615 . . . . .	52
3.14	Espectros Raman para as seguintes amostras T615, T625, T630, T715 e T785 . . . . .	53
3.15	Espectros Raman para as amostras T625, T785 e T810 . . . . .	54
3.16	Espectros FTIR para vidro, T490 e T560 . . . . .	56
3.17	Comparativo dos espectros FTIR para T560 e T615 . . . . .	57
3.18	Espectros FTIR para as amostras T615, T625, T630, T715 e T785 . . . . .	59
3.19	Espectros FTIR para as amostras T625, T785 e T810 . . . . .	60
3.20	Micrografias obtidas via MEV sendo a) pó de vidro e b) amostra compac- tada e sem tratamento térmico. . . . .	61
3.21	Micrografias obtidas via MEV da amostra T490 . . . . .	62
3.22	Micrografias obtidas via MEV da amostra T560 . . . . .	63
3.23	Micrografias obtidas via MEV da amostra T615 . . . . .	64
3.24	Micrografias obtidas via MEV da amostra T625 . . . . .	65
3.25	Micrografias obtidas via MEV da amostra T630 . . . . .	66
3.26	Micrografias obtidas via MEV da amostra T715 . . . . .	66
3.27	Micrografias obtidas via MEV da amostra T785 . . . . .	67
4.1	Viabilidade celular das amostras T560, T625 e T715 . . . . .	70
4.2	Variação do pH da solução de imersão em diferentes tempos de imersão para as amostras T560, T625, T715 e BV2 . . . . .	72
4.3	Variação da massa das amostras T560, T625 e T715 nos diferentes tempos de imersão . . . . .	73

4.4	Concentração dos íons de Fósforo (P) e Cálcio (Ca) na solução pós-imersão em cada período de imersão, sendo o tempo zero a solução sem nenhuma amostra imersa. . . . .	74
4.5	Fotos das amostras T560 antes e após imersão em SBF . . . . .	75
4.6	Fotos das amostras T625 antes e após imersão em SBF . . . . .	76
4.7	Fotos das amostras T715 antes e após imersão em SBF . . . . .	76
4.8	Espectros de FTIR-ATR da amostra T560 pós-imersão . . . . .	79
4.9	Espectros de FTIR-ATR da amostra T625 pós-imersão . . . . .	79
4.10	Espectros de FTIR-ATR da amostra T715 pós-imersão . . . . .	80
4.11	Micrografias obtidas via Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies das amostras T560, T625 e T715 pós-imersão em SBF . . . . .	83
4.12	Micrografia da superfície da amostra T560 após 0,25 dias de imersão em SBF	84
4.13	Micrografia da superfície da amostra T625 após 7 dias de imersão em SBF	85
4.14	Micrografia da superfície da amostra T715 após 14 dias de imersão em SBF	86
4.15	Semiquantificação obtida via Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) na superfície das amostras T560, T625 e T715 antes e após 14 dias de imersão em SBF . . . . .	87
A.1	Esquema de um analisador térmico diferencial . . . . .	91
A.2	Representação do funcionamento de um DSC . . . . .	92
A.3	Representação de termograma obtido em um equipamento de DSC . . . . .	93
A.4	Esquema da difração dos feixes de raios X em uma rede cristalina . . . . .	96
A.5	Esquema experimental de um difratômetro de raio X na geometria $\theta - \theta$ . . . . .	97
A.6	Representação de difratogramas de sólidos cristalinos e amorfo . . . . .	98
A.7	Modos vibracionais das moléculas . . . . .	100
A.8	Esquema de um espectrômetro no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) . . . . .	101
A.9	Esquema da reflexão interna total múltipla em um cristal do acessório de reflectância total atenuada (ATR) . . . . .	102
A.10	Tipos de espalhamento Raman . . . . .	103
A.11	Representação de um espectro com espalhamentos Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes . . . . .	104
A.12	Esquema do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) . . . . .	106

A.13 Esquema do funcionamento de um espectrômetro de emissão atômica com  
plasma induzido por micro-ondas (MP-AES) . . . . . 108

## LISTA DE TABELAS

2.1	Composição da matriz vítrea estudada . . . . .	23
2.2	Reagentes utilizados na produção de SBF . . . . .	28
A.1	Relações entre os parâmetros de rede para os 7 sistemas cristalinos e figuras apresentando as 14 possíveis configurações espaciais das células unitárias .	94

<b>Resumo</b>	<b>II</b>
<b>Abstract</b>	<b>III</b>
<b>Introdução e Objetivos</b>	<b>2</b>
<b>1 Desenvolvimento Teórico</b>	<b>4</b>
1.1 Vidros . . . . .	4
1.1.1 Vidros Borato . . . . .	8
1.2 Vitrocerâmicas . . . . .	10
1.3 Biomateriais . . . . .	13
1.3.1 Vidros e vitrocerâmicas bioativas . . . . .	16
1.3.2 Mecanismo de formação da camada . . . . .	19
<b>2 Procedimentos Experimentais</b>	<b>23</b>
2.1 Preparação do vidro e vitrocerâmicas . . . . .	23
2.2 Parâmetros Experimentais . . . . .	25
2.2.1 Análise térmica . . . . .	25
2.2.2 Difratomia de raios-X (DRX) . . . . .	26
2.2.3 Espectroscopia Raman . . . . .	26
2.2.4 Espectroscopia no Infravermelho . . . . .	26
2.2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) . . . . .	27
2.3 Avaliação de bioatividade ( <i>in vitro</i> ) . . . . .	27

2.3.1	Imersão em Fluido Corporal Simulado (SBF) . . . . .	27
2.3.2	Teste de citotoxicidade . . . . .	29
<b>3</b>	<b>Resultados e Discussão - Parte I</b>	<b>31</b>
3.1	Caracterização térmica . . . . .	31
3.2	Avaliação dos difratogramas dos vidros e vitrocerâmicas . . . . .	34
3.3	Avaliação espectroscópica dos vidros e vitrocerâmicas . . . . .	46
3.3.1	Espectroscopia Raman . . . . .	47
3.3.2	Espectroscopia no Infravermelho . . . . .	56
3.4	Avaliação microscópica dos vidros e vitrocerâmicas . . . . .	61
<b>4</b>	<b>Resultados e Discussão - Parte II</b>	<b>69</b>
4.1	Teste de citotoxicidade . . . . .	69
4.2	Teste de bioatividade . . . . .	71
4.2.1	Avaliação do pH, perda de massa e concentração iônica . . . . .	71
4.2.2	FTIR-ATR . . . . .	78
4.2.3	MEV e EDS . . . . .	82
	<b>Conclusões</b>	<b>88</b>
	<b>Perspectivas Futuras</b>	<b>89</b>
<b>A</b>	<b>Apêndice - Técnicas Experimentais</b>	<b>90</b>
A.1	Análise térmica . . . . .	90
A.2	Difratometria de raios X (DRX) . . . . .	93
A.3	Espectroscopia no infravermelho . . . . .	98
A.4	Espectroscopia Raman . . . . .	102
A.5	Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) . . . . .	104
A.6	Espectroscopia de Emissão Atômica com Plasma Induzido por Micro-Ondas (MP-AES) . . . . .	107
	<b>Referências Bibliográficas</b>	<b>109</b>

## INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Os biomateriais têm sido extremamente estudados nos últimos anos. Isso em virtude da incessante busca por materiais que apresentem características específicas para substituição e/ou reposição parcial ou total de regiões de um indivíduo devido alguma intercorrência médica, patológica ou traumática. Os biomateriais foram responsáveis por abrir caminhos para a medicina regenerativa. Para isso, eles devem possuir propriedades similares à área lesada. Dentre esses materiais, encontram-se os vidros e vitrocerâmicas, chamados de bioativos, por possuírem a capacidade de interagir com o tecido vivo sem ocasionar uma resposta inflamatória [1].

Larry Hench foi responsável por desenvolver o primeiro *Bioglass*<sup>®</sup> capaz de se ligar quimicamente ao tecido ósseo vivo e estimular a osteogênese<sup>1</sup> em razão da liberação de íons biologicamente ativos. O desenvolvimento deste material abriu portas para o conceito de bioatividade, ampliando a investigação na área dos biomateriais, a fim de evitar a utilização de materiais inertes, como o Titânio, Alumina e Zircônia. Materiais estes que, apesar de apresentarem alta resistência mecânica, quando implantados podem ser reconhecidos como agentes estranhos, gerando fibrose tecidual e até mesmo rejeição pelo organismo [1, 2]. Portanto, novos materiais estão sendo desenvolvidos ao longo dos anos, contendo alterações nas propriedades químicas e físicas, modificando o potencial biológico e ampliando a gama de materiais e, desse modo, especificando melhor as regiões para aplicação do material, na qual cada material apresenta um melhor desempenho [1].

Apesar de uma grande porção dos vidros e vitrocerâmicas bioativas pesquisados e patenteados ao longo dos anos serem formados por uma matriz vítrea de silicato, assim

---

<sup>1</sup>Osteogênese é o processo de formação óssea por meio de células capazes de formar a matriz orgânica do tecido ósseo, chamada de osteoblastos [1].

como o *Bioglass*<sup>®</sup>, estes materiais podem apresentar reduzida taxa de solubilidade e de reabsorção [2, 3], uma vez que sua liberação iônica é controlada pela matriz formadora do material, a qual é responsável por gerar uma camada de sílica-gel superficialmente, reduzindo a interação entre tecido hospedeiro e material. Portanto, os vidros e vitrocerâmicas com base borato têm sido alvo de estudos recentes justamente por não gerarem camadas superficiais da própria matriz vítrea, desenvolvendo altas taxas de dissolução, demonstrando bom potencial não só na regeneração de tecidos duros, mas principalmente na reparação de tecidos moles [2, 4].

Na reparação de tecidos moles, como enxertos e até mesmo reconstruções maxilofaciais, a configuração do material em formato de pó ou pó compactado tem caráter importante pela facilidade de manipulação, além de aumentar a área de contato com o tecido, incentivando a liberação iônica, responsável pela união química e física entre o material e a região implantada. Entretanto, esta dissolução precisa ser balanceada a fim de não ocasionar uma saturação iônica e impedir o desenvolvimento celular. Portanto, para o desenvolvimento de um biomaterial é necessário contrabalancear suas propriedades. Dentre as diversas alternativas encontradas na literatura para equilibrar tais características, duas específicas podem ser destacadas: geração de compósitos e formação de vitrocerâmicas. A primeira consiste em combinar o vidro com um segundo material, os quais possuem características e propriedades diferentes com o intuito de unificar ou desenvolver características melhores que seus precursores. A segunda alternativa foi a adotada na presente dissertação, que corresponde a tratar o vidro termicamente com a intenção de obter uma vitrocerâmica [1, 5].

Com isso, a primeira parte da presente dissertação tem como principal objetivo, avaliar as propriedades estruturais, vibracionais e microestruturais de discos obtidos pelo vidro com composição nominal (% em peso)  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 5\text{CaF}_2 - 19\text{Na}_2\text{O} - 14\text{CaO} - 2\text{P}_2\text{O}_5$ , pulverizado, compactado e tratado termicamente em diferentes temperaturas, embasadas no resultado de análise térmica. Para isto, as técnicas de difratometria de raios X, espectroscopias Raman e FTIR, e também, a microscopia eletrônica de varredura serão utilizadas. A segunda parte do presente trabalho consiste em avaliar a viabilidade celular de alguns dos materiais, bem como, o potencial bioativo dos mesmos por meio de testes *in vitro* utilizando fluido corporal simulado (SBF).

# CAPÍTULO 1

## DESENVOLVIMENTO TEÓRICO

Neste capítulo, uma breve fundamentação teórica acerca dos vidros, vitrocerâmicas e biomateriais é apresentada.

### 1.1 Vidros

Há cerca de 40 milhões de anos atrás, os primeiros vidros naturais estavam sendo formados como consequência do rápido arrefecimento das erupções vulcânicas, como é o caso da obsidiana<sup>2</sup>. Por ser resistente a longo prazo, principalmente contra a desvitrificação<sup>3</sup>, corrosões aquosa e química, os materiais vítreos atraíram a atenção das antigas civilizações [6,9].

Por meio de experimentos, observações e testes, os primeiros vidros começaram a ser produzidos por egípcios, fenícios e romanos. Quando a matéria-prima do vidro era escolhida cuidadosamente, de forma a minimizar as impurezas, vidros translúcidos eram obtidos, ampliando o interesse tecnológico e científico das populações posteriores, bem como, estendendo a gama de aplicações. Atualmente, os materiais vítreos são encontrados em objetos decorativos, utensílios domésticos, janelas e vitrais, revestimentos de edifícios, componentes eletrônicos, dentre outros [7,9].

Seu nome, *vidro* - do inglês: *glass*, deriva do latim “*glassies*” que remete ao gelo,

---

<sup>2</sup>Obsidiana é uma rocha amorfa formada quando uma lava de composição félsica (rica elementos leves, como por exemplo: silício, oxigênio, sódio, potássio e alumínio) resfria rapidamente [6,7].

<sup>3</sup>Desvitrificação é o processo em que o material deixa seu estado vítreo transformando-se em cristal de forma não controlada [8].

justamente em virtude da sua capacidade de permitir a passagem de luz. A isotropia<sup>4</sup> das propriedades físicas de vidros faz com que eles assemelhem-se a líquidos microscopicamente, isto porque, o posicionamento dos átomos parece como de um líquido, sem periodicidade estrutural e com ausência de simetria. Porém, o vidro comporta-se como sólido, por sua rigidez mecânica quando em temperatura ambiente [7, 9, 10]. Inclusive, os materiais vítreos são comumente denominados de líquidos super-resfriados ou sólidos não-cristalinos [10].

Os vidros distinguem-se dos materiais ditos sólidos cristalinos por diversos fatores. Primeiramente, os sólidos cristalinos são materiais com arranjo atômico extremamente ordenado e com simetria de longo alcance, o que não é encontrado nos vidros. Além disso, a uma temperatura específica, o sólido cristalino de fase única deixa rapidamente o estado sólido transformando-se em líquido. Este fato não é observado nos sólidos não-cristalinos que, ao serem aquecidos, convertem seu estado físico para o líquido, de forma tênue, com alta viscosidade, sem uma temperatura fixa para que a conversão de estado aconteça [7, 10].

O comportamento da transformação do vidro pode ser apresentado em diagramas de entalpia ou volume em função da temperatura, como mostrado na figura 1.1. Estando um material vítreo em sua forma líquida, com temperaturas acima do seu ponto de fusão ( $T_m$ ), à medida que o líquido resfria, podem ocorrer rearranjos atômicos estruturais descontínuos formando redes periódicas de longo alcance, conseqüentemente a entalpia sofre uma queda abrupta, transformando o material em um cristal. Entretanto, se este líquido puder ser resfriado de forma veloz, sem cristalização, ao passo que a temperatura decai, a viscosidade do fluido aumenta, impedindo o rearranjo atômico e gerando um decaimento contínuo na entalpia, formando materiais amorfos [7].

Exatamente no ponto de fusão, o material possui quantidade infinitesimal de cristais no fundente em equilíbrio termodinâmico com o líquido, conseqüentemente, ambas as fases possuem a mesma energia livre de Gibbs. Portanto, a formação do material final dependerá de como ocorreu o processo de resfriamento. Ainda, o intervalo de temperatura situado entre o líquido super-resfriado e o sólido, é conhecido como transição vítrea, e o início dessa transição é chamada de  $T_g$ . É neste intervalo que o vidro apresenta uma relaxação estrutural, mas mantém-se amorfo, ou seja, ocorre apenas uma acomodação

---

<sup>4</sup>Isotropia é uma característica dos materiais e/ou substâncias que possuem as mesmas propriedades físicas independente da direção analisada [10].

atômica graças à alta viscosidade [10]. Segundo James E. Shelby, qualquer material que apresente este fenômeno de transição vítrea é um vidro [7].

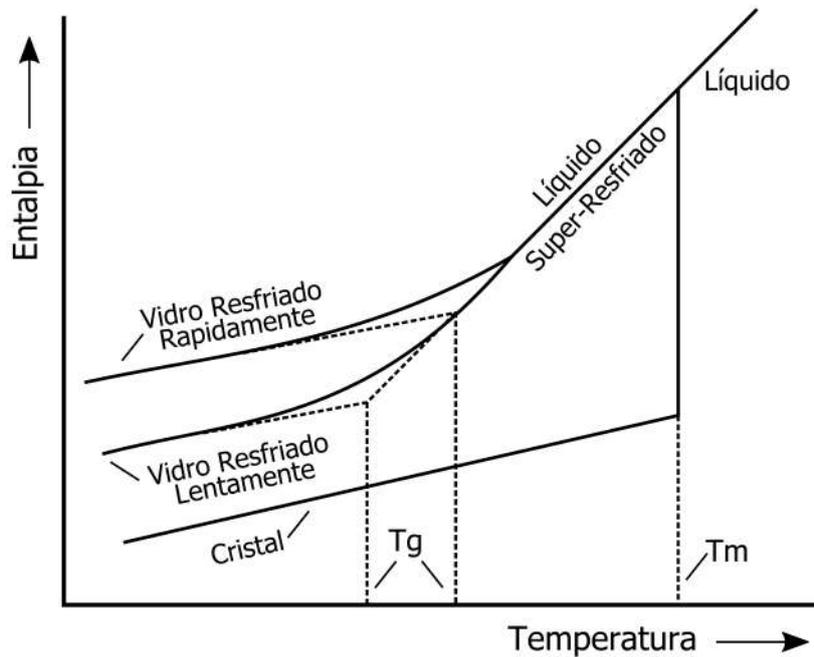


Figura 1.1: Efeito da temperatura na entalpia durante o processo de resfriamento de um vidro. Adaptado da referência [7].

Técnicas para produção de vidros foram desenvolvidas e aperfeiçoadas ao longo dos anos. Porém, a técnica de fusão e resfriamento (*melt-quenching*) continua sendo a mais utilizada. Esta técnica abrange desde a seleção de matérias-primas até o material vítreo final. Durante o processo, cálculos das proporções, pesagem e homogeneização dos precursores são realizados. Posteriormente, a mistura dos precursores é aquecida em alta temperatura atingindo o estado líquido. O fundente é então arrefecido rapidamente, vertendo-o em um molde cuja temperatura é controlada [7].

Os precursores do vidro devem ser escolhidos cautelosamente, isso porque cada um deles possui uma função específica na matriz vítrea. Os formadores de rede são responsáveis por conectar a rede como um todo, gerando uma estrutura fundamental em razão das ligações covalentes dos cátions com os oxigênios, sendo o  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$  os mais utilizados [7].

Já os modificadores exercem a função de modificar a rede, gerando perda de interconectividade por conta das ligações iônicas dos ânions com a estrutura vítrea, formando pontes de oxigênio ligados e não ligados. A figura 1.2 ilustra a ruptura de uma ponte

Si-O-Si por conta da adição de  $\text{Na}_2\text{O}$ . O oxigênio adicionado satura as ligações de sílica formando  $\text{Si-O}^-$  e as cargas negativas são compensadas com a presença das cargas positivas do sódio, neutralizando o balanço eletrônico. Geralmente, os ânions conectam-se apenas aos átomos de oxigênio ligados a um cátion formador ou estruturas que há excesso de cargas negativas.  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  são exemplos de cátions modificares de rede e a inserção de modificadores no material vítreo gera redução do ponto de fusão do material, bem como redução da sua viscosidade por conta da fragilização estrutural [7, 11].

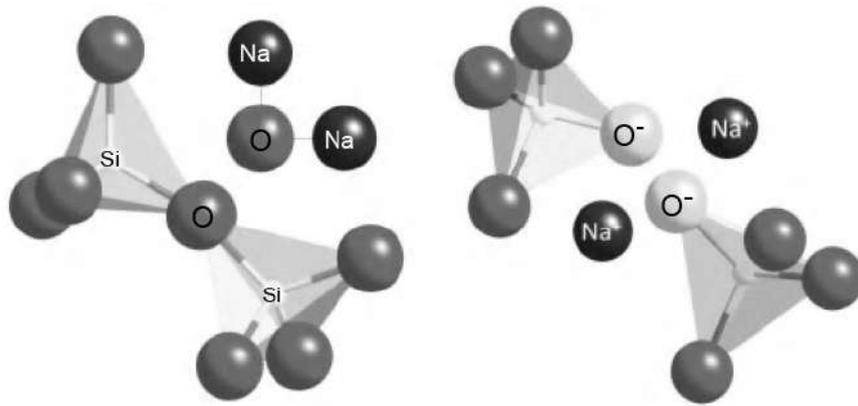


Figura 1.2: Cátions de Si conectados a íons de oxigênio gerando dois tetraedros interligados. Uma molécula de  $\text{Na}_2\text{O}$  é adicionada, interrompendo a ligação Si - O - Si e ocasionando íons de oxigênio não ligados. Adaptado da referência [9].

Por fim, os intermediários são aqueles que podem participar da rede tanto como formadores ou modificadores, como é o caso da alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), considerada modificador de rede em vidros silicatos, mas exercendo papel de formador de rede em vidros alumina-tos [7, 10].

A ideia de caracterizar os constituintes do vidro como formadores ou não formadores vítreos foi de Zachariasen, seu trabalho foi publicado em 1932 e estabeleceu conceitos e regras a respeito da formação de vidros de óxidos [11].

Quanto às ligações interatômicas dos formadores de rede, Zachariasen propôs que deveriam ser similares a dos sólidos cristalinos, pois ambos materiais possuem propriedades mecânicas semelhantes. Conseqüentemente, as estruturas poderiam ser parecidas e analisadas em termos de poliedros de coordenação<sup>5</sup> envolvidos por um número variado de íons de oxigênio, assim como acontece nos óxidos cristalinos. Desta maneira, os poliedros de oxigênio com geometrias triangular, tetraédrica ou octaédrica encontrados nos cristais,

<sup>5</sup>Os poliedros de coordenação podem ser definidos como um cátion central rodeado por ânions [7].

poderiam estar presentes também nos vidros, mas com as orientações relativas variáveis, já que os vidros não apresentam estrutura ordenada. Como é o caso do  $\text{SiO}_2$  vítreo, que possui estrutura formada por tetraedros de  $\text{SiO}_4$  unidos pelos vértices assim como na estrutura cristalina, mas variando a orientação mútua dos tetraedros consecutivos [11].

Além disso, os poliedros de coordenação dos óxidos cristalinos podem ser interligados pelas faces, arestas ou vértices, sendo que a união por faces e arestas torna a estrutura menos estável em consequência da repulsão eletrostática dos cátions centrais. Desta maneira, na estrutura vítrea só há possibilidade de ligação pelos vértices, sendo esta uma das regras estabelecidas por Zachariasen relacionadas com a formação estrutural. As outras três são: i) cada ânion é ligado apenas a dois cátions; ii) o número de ânions vizinhos deve ser pequeno, em torno de 3 ou 4; iii) ao menos três vértices de cada poliedro devem ser compartilhados com outros poliedros [10, 11]. Ou seja, as regras estabelecidas pelo autor são válidas para óxidos do tipo  $\text{A}_2\text{O}_3$  quando os átomos de oxigênios formam triângulos ao redor do átomo A. Para  $\text{AO}_2$  e  $\text{A}_2\text{O}_5$  quando formam tetraedros e por fim, forma octaédrico com os óxidos do tipo  $\text{AO}_3$  e  $\text{A}_2\text{O}_7$ . Desta maneira, tais óxidos são agentes formadores de vidro, e dentre eles, encontra-se o óxido de boro ( $\text{B}_2\text{O}_3$ ) [10].

### 1.1.1 Vidros Borato

Apesar dos vidros não apresentarem um arranjo atômico de longo alcance, os formadores de redes são capazes de gerar estruturas fundamentais para o material. Essas estruturas precisam ser interligadas, e a compreensão dos mecanismos de formação é de grande importância para os estudos subsequentes, já que a adição de agentes modificadores na matriz acarreta em mudanças estruturais e variação do grau de polimerização [6].

No vidro  $\text{B}_2\text{O}_3$ , seguindo o modelo proposto por Zachariasen, o boro tende a conectar-se com 3 unidades de oxigênio, formando unidades de  $\text{BO}_3$ , as quais adotam uma coordenação triangular plana [7]. Os triângulos encontram-se dispostos de forma aleatória na matriz vítrea e podem formar pontes com seus vizinhos por meio dos oxigênios em comum, resultando em um sistema de anéis, conhecidos como anéis boroxol ( $\text{B}_3\text{O}_6$ ). Por sua vez, os anéis podem conectar-se uns aos outros por meio de unidades de oxigênio compartilhadas ou por meio de unidades de  $\text{BO}_3$  fora dos anéis, as quais são conhecidas como  $\text{BO}_3$  isolados [1, 10]. A figura 1.3 esquematiza a junção de dois anéis boroxol via  $\text{BO}_3$  isolado.

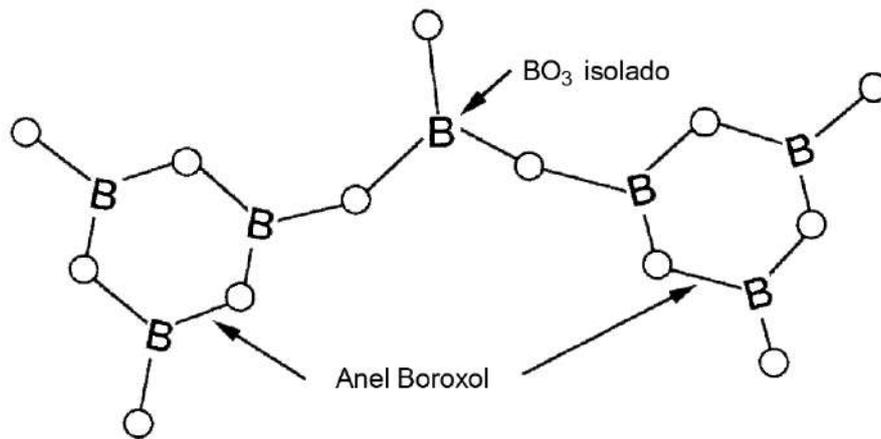


Figura 1.3: Junção de dois anéis boroxol via unidade de  $\text{BO}_3$  isolado. Adaptado da referência [7].

Os oxigênios conectam-se com o boro por meio de ligações covalentes e em um único plano, não formando estruturas piramidais como ocorre para o óxido bórico cristalino. Desta maneira, a estrutura tridimensional é formada por planos que unem-se por meio de forças intermoleculares fracas. Como consequência destas ligações fracas, a estrutura do vidro borato é facilmente interrompida, acarretando em uma diminuição do ponto de fusão do material [7].

As ligações covalentes são fortes o suficiente para que não haja rompimento quando um óxido modificador é adicionado, diferentemente do que acontece nos vidros de base silicato e fosfato. No entanto, nos vidros boratos, a estrutura trigonal  $\text{BO}_3$  sofre uma mudança de coordenação e passa a formar grupos tetraédricos  $\text{BO}_4^-$ . Estes grupos são negativamente carregados. Porém, possuem sua carga estabilizada por causa da presença do cátion modificador [1].

Estes tetraedros podem se organizar em anéis de borato com uma ou duas unidades de  $\text{BO}_4^-$  e até mesmo em unidades ainda maiores, exemplificados na figura 1.4, como o caso do diborato. Esta variação significativa da conectividade da rede borato ao adicionar óxidos modificadores, ocasiona mudanças não lineares em diversas propriedades e características físicas do vidro, e portanto, este efeito é conhecido como anomalia do boro [7].

As maiores unidades das estruturas borato possuem a capacidade de gerar estruturas tridimensionais, aumentando a conectividade da matriz vítrea e tornando-a mais polimerizada. Contudo, a matriz torna-se mais despolimerizada caso óxidos modificadores continuem sendo acrescentados, isto porque, as unidades de borato tetraédrico retornam às unidades

trigonais, formando pontes de oxigênios não ligantes (NBO's). Desta maneira, estas variações estão diretamente ou indiretamente relacionadas à densidade de energia permitindo que a rede borato adquira novas outras conformações, como é o caso dos anéis e cadeias de metaborato, bem como, piroborato [1].

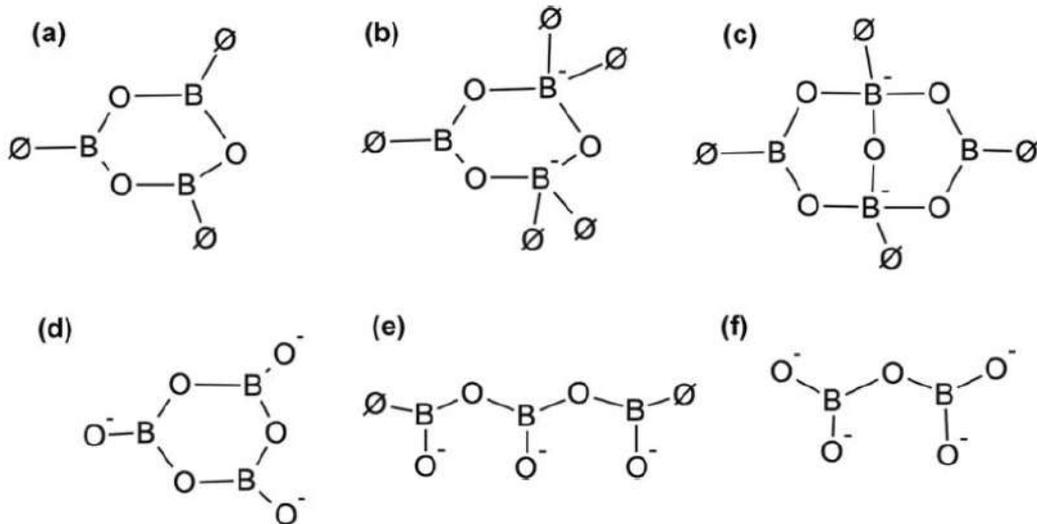


Figura 1.4: Unidades superestruturais presentes nos vidros de borato: (a) anel boroxol, (b) anel de borato, (c) grupo de diborato, (d) anel de metaborato, (e) cadeia metaborato e (f) piroborato. Sendo  $\emptyset$  indica átomos de oxigênio ligados. Adaptado da referência [1].

## 1.2 Vitrocerâmicas

Vitrocerâmicas são materiais obtidos por meio do processo de cristalização controlada de sistemas vítreos. Para que uma vitrocerâmica seja obtida, é necessário que o vidro seja produzido normalmente, e posteriormente, haja sua transformação em um material policristalino [8]. Estes materiais são inorgânicos e suas fases cristalinas são ditas como fase primária. Podem haver fases secundárias cristalinas, e ainda, fases vítreas residuais, as quais podem estar presentes em menor quantidade devido ao resquício de material não cristalizado. As relações entre as fases primárias, secundárias e a porosidade denominam-se microestruturas da vitrocerâmica, são responsáveis pelas propriedades físicas, químicas, biológicas e mecânicas do material [12], sendo capazes de conciliar propriedades dos “vidros” com características das “cerâmicas”, originando o nome “vitrocerâmicas” [7].

A cristalização pode ser definida como um processo que inicia a partir de uma fase amorfa, estruturalmente desorganizada e resulta em fases cristalinas, sólidas e estáveis, com ordenação geométrica estrutural. Como o vidro encontra-se em um estado metaes-

tável, para que o processo seja espontâneo, é preciso que haja redução da energia livre do sistema. Assim, a formação de estruturas cristalinas ocorrem com o intuito de atingir o equilíbrio termodinâmico do sistema [8].

A cristalização demanda inicialmente da formação de núcleos, seguida do crescimento de cristais sobre este núcleo. Então, primeiramente os átomos são responsáveis por formar a primeira estrutura ordenada, chamada de núcleo, no qual o crescimento de cristais é facilitado por camadas consecutivas de átomos. Tal etapa pode ser de dois tipos: homogênea ou heterogênea. A homogênea acontece quando uma nova fase desenvolve-se na ausência de fronteiras externas, geralmente formada a partir dos próprios constituintes da matriz vítrea. Enquanto que, na heterogênea a formação ocorre sobre partículas já existentes ou interfaces correspondentes às superfícies limitadoras do material. A nucleação heterogênea é o mecanismo mais comum já que, os limites externos (substratos) e limites de grão não podem ser excluídos [8, 10].

O início da nucleação pode ser determinado pelo  $T_g$  do material em estudo. É nesta temperatura que o vidro começa a apresentar uma mobilidade estrutural capaz de formar núcleos. Conforme ocorre o aumento de temperatura, os núcleos crescem em razão de uma menor viscosidade e subsequente, deposição sucessiva de material sobre eles, até originarem os cristais. A segunda etapa, cristalização, é consequência do constante crescimento dos núcleos e é caracterizada por uma liberação de calor durante o processo. Apresenta um pico de exotérmico, ou seja, de cristalização no termograma, este pico tem início no ponto conhecido como  $T_x$ . A medida que a temperatura aumenta, a taxa de crescimento de cristais tende a ser reduzida, pela dificuldade na dissipação de calor liberado durante o processo. Ambas etapas podem ser visualizadas na figura 1.5. Portanto, não necessariamente a nucleação precisa ser encerrada para que já ocorra crescimento dos cristais [1, 8, 10].

Ainda que não ocorra o processo de nucleação, é possível que haja início da cristalização em locais da superfície de menor energia, desvitrificando o material. O resultado disso são cristais orientados à superfície formando uma estrutura parecida a um cubo de gelo. O fluxo viscoso não nucleado em resposta à variação na densidade aparente durante a cristalização pode forçar o vidro a sofrer grandes distorções em sua forma. Diferentemente do que acontece em vidros nucleados, que não distorcem, ou muito pouco, da sua forma original [8].

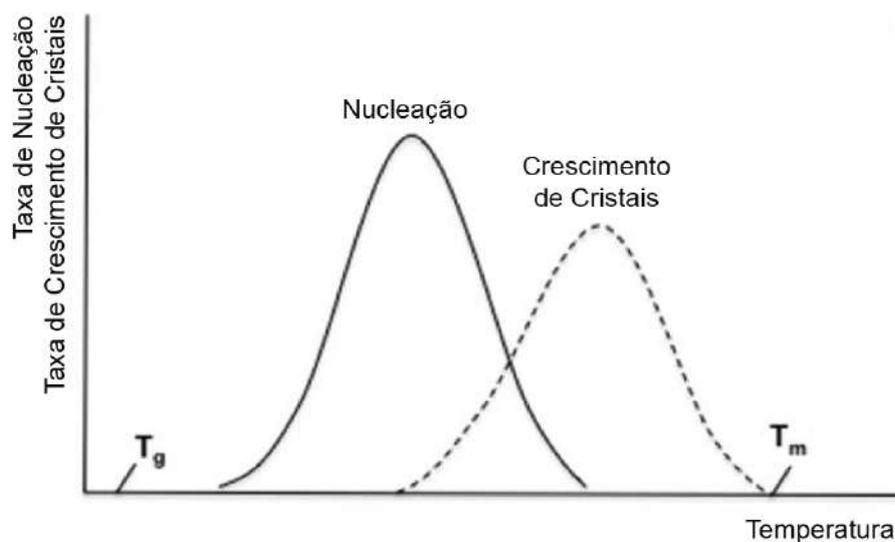


Figura 1.5: Efeito da temperatura na taxa de nucleação e crescimento de cristais em vidros. Adaptado da referência [1].

Por ser formada da união de cristais, a vitrocerâmica pode dificultar sua ruptura, ou quebra, já que, possui uma estrutura organizada, com descontinuidades estruturais e limitações de grãos, garantindo uma melhor rigidez mecânica. Elas também apresentam diversas propriedades, como propriedades luminescentes, magnéticas, piezoelétricas e dielétricas, sendo muito utilizadas nos mais diferentes ramos da indústria e pesquisa [8].

Com o avanço da pesquisa, outros métodos de produção tornaram-se viáveis, como é o caso da cristalização de vidro em pó. Este processo envolve primeiramente a sinterização e utiliza as imperfeições de superfície e de partículas como locais de nucleação [8]. A sinterização consiste no processo em que um pó compacto, por meio de aquecimento, reduz sua superfície específica e sua porosidade, transformando-se em um corpo cerâmico compacto e resistente [13].

O processo de sinterização pode ocorrer na ausência ou presença de uma fase líquida, denominando sinterização em estado sólido ou sinterização em fase líquida, respectivamente [13]. Na fabricação de vitrocerâmicas, o que acontece é a transição de um compacto de vidro em pó, mostrado na figura 1.6 (a), para um vidro sinterizado denso com alguns locais de nucleação, figura 1.6 (b). No caso destes materiais, a sinterização acontece em fase líquida devido à presença da fase vítrea precursora, a qual possui viscosidade reduzida conforme o aumento de temperatura. O processo é seguido pela cristalização e o produto final obtido é uma vitrocerâmica cristalina, figura 1.6 (c) [8].

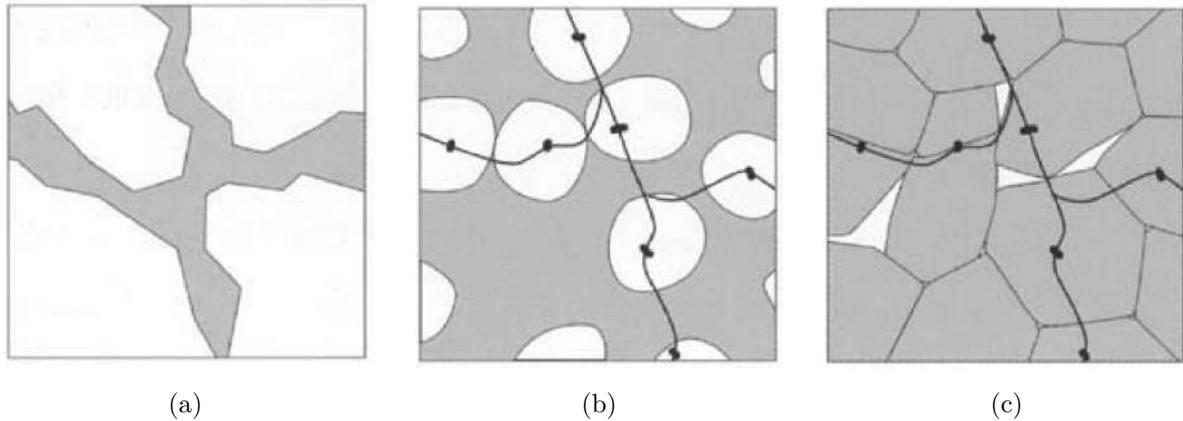


Figura 1.6: Esquema apresentando o processo de formação da vitrocerâmica, sendo (a) vidro compacto em pó; (b) densificação e início de cristalização; (c) vitrocerâmica [8].

A sinterização por meio do fluxo viscoso foi estudado por Frenkel [14], descrevendo o estágio inicial deste processo para partículas esféricas. Com o modelo proposto por ele, é possível o cálculo da taxa de retração de duas partículas em contato. Seu modelo afirma que a sinterização ocorre diretamente proporcional ao tempo e a tensão superficial, e inversamente proporcional à viscosidade e ao raio da partícula. Como a viscosidade sofre influência da temperatura e da composição do vidro, conseqüentemente, o fluxo viscoso também é afetado por estes fatores, sendo justamente este fluxo responsável pelo processo de sinterização e redução da área superficial. Desta forma, se este fluxo não é satisfatório, o processo de cristalização superficial pode iniciar simultaneamente, reduzindo a sinterização, e a conseqüentemente, a densificação [15]. Portanto, sinterização e cristalização podem ser consideradas processos concorrentes.

### 1.3 Biomateriais

Em virtude da evolução científica e tecnológica multidisciplinar de áreas como Medicina, Odontologia, Biologia, Engenharia, Física e Química, o desenvolvimento de materiais capazes de promover a substituição ou formação de tecidos vivos para repararem ou reporem os tecidos danificados tem aumentado a cada dia. Isto diante à preocupação de conservar a qualidade de vida e aumentar a longevidade da população. Desta forma, todos os materiais que exercem a respectiva função dos tecidos vivos quando substituídos, são denominados “Biomateriais” [16, 17].

O termo biomaterial foi definido em 1982, ao decorrer de conferências realizadas pela

*European Society for Biomaterials*, como sendo “qualquer substância ou combinação de substâncias, que não sejam drogas, de origem animal ou sintética que podem ser usadas por um período de tempo, como parte ou como um todo de sistemas que tratam, aumentam ou substituem quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo”. Entretanto, em 1991 houve uma readequação para: “Biomateriais são materiais com propósito de interagir com sistemas biológicos para avaliar, tratar, aumentar ou repor qualquer tecido, órgão ou função do corpo”. Sendo assim, biomaterial pode ser sugerido como materiais que, ao entrarem em contato com tecidos e fluidos biológicos, destinados ao uso em aplicações protéticas, terapêuticas e de diagnóstico, não afetem de forma adversa o organismo vivo e seus componentes [17, 18].

Apesar dos biomateriais serem motivo de intensa pesquisa atualmente, eles tiveram origem há muitos séculos atrás. Ainda na pré-história, por exemplo, é relatado que os Maias foram responsáveis pela substituição de dentes, sendo que os implantados eram criados a partir de conchas do mar. Pesquisas mostraram que este implante foi realizado em vida e alcançou a integração óssea. Ainda, são expostos outros materiais utilizados pela antiga sociedade, como ouro, vidro, madeira e até crina de cavalo para suturas. Estes materiais eram os quais se tinham acesso e fazem parte da primeira geração de biomateriais [17, 19].

As gerações dos biomateriais respeitam um agrupamento conceitual, apresentando a evolução das propriedades dos materiais [16]. A primeira geração é caracterizada por materiais bioinertes, cujo objetivo é ser implantados sem que provoquem reação de corpo estranho no organismo. Estes materiais geralmente ocasionam a formação de tecido fibroso, ao contrário de uma ligação química. Os materiais bioinertes mais comuns são metais, cerâmicas e polímeros, como: alumina, zircônia e polietileno (PE), sendo eles utilizados até hoje com fixação do tipo morfológica [20].

A segunda geração é designada como materiais que possuem a capacidade de interagir com o tecido biológico, deixando de ser passivos e tornando-se ativos, melhorando a conexão entre material e tecido. Compreendendo as interações biológicas com superfícies de biomateriais, puderam então produzir materiais chamados de reabsorvíveis, ou seja, que sofrem degradação progressiva durante a regeneração do novo tecido. Nesta geração, estão enquadrados os vidros, vitrocerâmicas bioativas e polímeros biodegradáveis de origem sintética ou natural [20].

A terceira geração é definida por materiais capazes de regenerar os tecidos e não meramente substituí-los, combinando os conceitos de bioatividade e biodegradabilidade. Estes materiais foram capazes de ativar e regenerar tecidos vivos em nível molecular. Dentre eles pode-se encontrar os cimentos ósseos reabsorvíveis, cartilagens para regeneração de articulações, peles artificiais e *scaffolds* de vidros, vitrocerâmicas e cerâmicas bioativas. Esta geração é muito estudada e aperfeiçoada pela Engenharia de Tecidos [20, 21].

Por fim, uma nova geração de biomateriais está em desenvolvimento com o intuito de auxiliar no processo de regeneração tecidual, inspirada nas recentes descobertas do comportamento eletrofisiológico de células e tecidos. Esta é a quarta geração de biomateriais e baseia-se na capacidade das células e tecidos gerarem e receberem sinais bioelétricos em estado estacionário. A atividade de canais e bombas de íons das membranas celulares são consideradas reguladoras-chave do comportamento e no controle do número de células (proliferação e apoptose), posições (migração e orientação) e identidades (trajetórias de diferenciação). Assim, estes materiais seriam capazes de modificar o comportamento celular, beneficiando por exemplo, a medicina regenerativa como um todo [21].

As propriedades apresentadas por cada geração de materiais destinam-se a diferentes funções e aplicações. Porém, de forma geral estes materiais devem resistir ao ataque do organismo, sem produzir reações biológicas adversas, locais ou sistêmicas. Desta forma, para emprego de um biomaterial, ele deve apresentar alguns pré-requisitos, como: 1) biocompatibilidade - promovendo boa integração e harmonia na interação entre implante e tecido, sem causar perturbações ou induzir resposta prejudicial, suportando ao ataque biológico sem liberação de substâncias tóxicas; 2) esterilizabilidade - suportando o processo de esterilização, seja ele com gás (óxido de etileno), radiação gama, autoclave ou vapor; 3) funcionalidade - capacidade em ser moldado para adequar-se a função específica; 4) manufaturabilidade - capacidade de fabricação e produção do material [22].

Ao alocar um biomaterial no interior de sistemas biológicos, o tecido local tende a reagir de diversas maneiras, a qual depende do tipo de material utilizado. Este mecanismo de interação entre ambos é proveniente da resposta tecidual à superfície implantada, sendo esta uma outra maneira de classificar estes materiais [22]. A figura 1.7 aborda as 4 principais classificações dos biomateriais de acordo com a interação tecido-implante, sendo (a) inerte, (b) poroso, (c) bioativo e (d) reabsorvível.

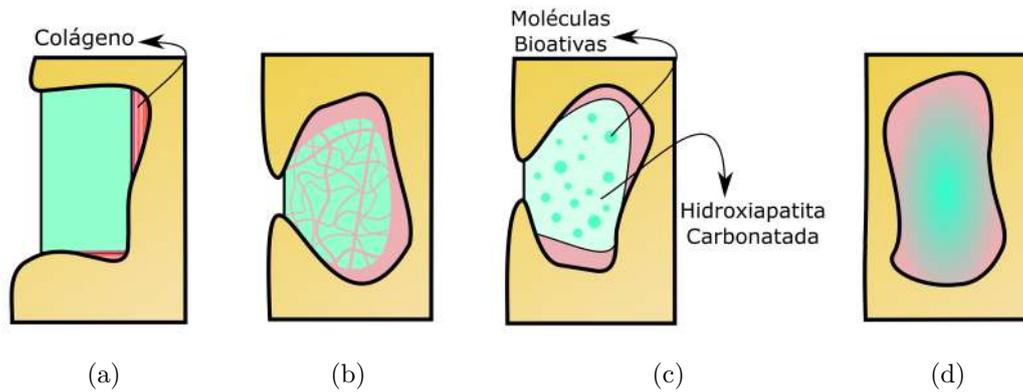


Figura 1.7: Classificação dos biomateriais quanto à interação tecido-implante, sendo (a) inerte; (b) poroso; (c) bioativo; (d) Reabsorvível. Os biomateriais implantados estão representados em verde. Adaptado da referência [22].

Os materiais inertes, como já abordado, são fixados morfológicamente, ou seja, necessita de parafusos, cimentos ou suturas para que haja aderência e crescimento ósseo superficial com formação de tecido fibroso. Os metais e ligas metálicas são exemplos desse tipo de material. Os materiais que são porosos, como hidroxiapatita porosa e materiais revestidos de hidroxiapatita, fixam-se por meio do crescimento tecidual dentro os poros, com fixação do tipo biológica e ligação mecânica. Tem-se também os materiais bioativos que interagem com os tecidos ósseos por meio de reações de troca iônica, dissolução e precipitação, formando camadas de fosfato de cálcio biologicamente ativo. Vidros bioativos, cerâmicas e hidroxiapatita sintética são exemplos destes materiais. Além disso, há os materiais reabsorvíveis que, como já comentado, após a implantação tendem a serem absorvidos e substituídos pelo tecido local. São exemplos de materiais reabsorvíveis os polímeros, beta fosfato tricálcico e sais de fosfato de cálcio [2].

### 1.3.1 Vidros e vitrocerâmicas bioativas

No verão de 1967, rumo à Conferência de Pesquisa de Materiais do Exército dos EUA, Larry L. Hench compartilhou uma viagem de ônibus com o coronel Klinker que havia recentemente retornado de uma missão no Vietnã. Durante uma conversa, Hench contou ao coronel sobre sua pesquisa em materiais resistentes à exposição de radiação com alta energia, especificamente semicondutores do tipo fosfato de vanádio, os quais suportavam até mesmo raios gama. Diante a situação enfrentada pelo militar em sua missão, na qual testemunhou inúmeras amputações em consequência da rejeição do corpo

em relação às peças metálicas e plásticas disponíveis para implantes, ele questionou Hench ao dizer que se eles puderam fabricar um material capaz de suportar a alta radiação, poderiam então, produzir um material que sobrevivesse à exposição do corpo humano. Complementarmente, o coronel ainda disse: “Podemos salvar vidas, mas não podemos salvar membros. Precisamos de novos materiais que não serão rejeitados pelo organismo” [3].

Já em 1969, Larry H. Hench juntamente com outros pesquisadores iniciaram suas pesquisas baseando-se na hipótese de que, materiais metálicos e poliméricos tendem a formar um tecido cicatricial ao seu redor quando implantados, ocasionando rejeição, porque não são constituídos dos mesmos elementos que compõem o tecido ósseo. Desta maneira, se o material fosse composto de fosfato de cálcio hidratado, poderia reduzir as chances de rejeição pelo organismo, já que possuiria mesma composição dos ossos [3].

Pensando desta forma, Hench desenvolveu um vidro, conhecido hoje como *Bioglass*<sup>®</sup>, o qual foi implantado em fêmur de ratos na Universidade da Flórida. O resultado obtido foi excepcional, uma vez que, não houve formação de tecido cicatricial. Após anos, o material ainda apresentou uma resistência da ligação interfacial (adesão) semelhante à resistência do osso [3]. Logo, esta descoberta foi publicada em um artigo, o qual descreve a composição vítrea utilizada pelo pesquisador e evidencia sua capacidade de ligação com o tecido ósseo, o que fez com que este material entrasse para a classe dos materiais bioativos, que podem ser utilizados em implantes, próteses, reparo de ossos e articulações [23].

Os materiais bioativos, quando implantados, reagem aos fluidos corporais a fim de ativá-los, passando por uma série de reações químicas, as quais os degradam lentamente, criando condições ideais para a reconstrução óssea por meio da osteocondução. Alguns dos materiais ainda podem ser ditos como osteoestimulantes, os quais estimulam a diferenciação de células progenitoras em osteoblastos [1, 2].

Independente da forma como a regeneração é incentivada, a conexão entre o vidro bioativo e o tecido acontece pela formação de uma camada de hidroxicarbonato-apatita (HCA) na superfície, que pode acontecer já nas primeiras horas após o implante. A camada de HCA possui fase mineral semelhante a do osso e por isso gera uma resistente ligação com o tecido. Todavia, a liberação iônica por parte dos vidros bioativos devem ter taxa compatível com os processos celulares que sustentam a regeneração e crescimento tecidual. Caso seja maior ou menor que o suportado, a velocidade de formação desta

camada será prejudicada, bem como, a interação entre material e tecido [1, 9].

Diferentemente dos vidros formados à base de silicato, os vidros boratos apresentam baixa durabilidade química, resultando em uma alta taxa de degradação, sendo muito utilizado na engenharia de tecidos na restauração de tecidos moles devido à sua boa compatibilidade celular, demonstrada por testes *in vitro* e *in vivo*. Por estes vidros possuem baixa duração, uma alternativa que vem sendo estudada é o tratamento térmico controlado para formação de vitrocerâmicas [1].

A principal vantagem das vitrocerâmicas é que elas apresentam propriedades mecânicas superiores às dos materiais vítreos, sendo que, dependendo das fases obtidas podem fornecer propriedades diferentes, interferindo profundamente na resposta biológica da mesma, podendo ser passiva (inerte), bioativa ou reabsorvível. Quando bioativas, a presença das fases cristalinas podem retardar a formação da camada, sendo benéfico principalmente para os materiais à base de boro [1].

Cabe aqui um adendo, as vitrocerâmicas fabricadas a partir do vidro pulverizado podem ainda fornecer uma porosidade parecida à dos *scaffolds*, devido ao efeito de porosidade induzida por cristalização, que forma poros esféricos intragranulares ao longo do processo de cristalização [24]. Desta maneira, ocorre uma maior liberação iônica, dependendo das fases formadas, em razão da melhor interação com o meio, podendo acelerar a formação da camada quando comparada às vitrocerâmicas, porém, mais devagar que os vidros. A quantidade de porosidade induzida aumenta conforme uma função da tendência de cristalização. Enquanto que, a resistência mecânica da cerâmica tende a aumentar com a cristalinidade. Logo, é importante que todos estes fatores sejam balanceados [24].

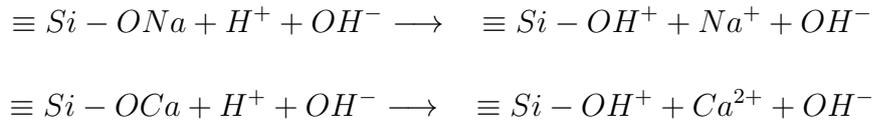
Da mesma forma que os vidros, as vitrocerâmicas bioativas sofrem uma reação biológica, desenvolvendo em sua superfície uma camada de HCA idêntica à dos vidros. Essa camada, como já comentado, é a chave para a ligação entre o material e o tecido, quando implantado. Uma forma de avaliar estes materiais, sejam vidros ou vitrocerâmicas, antes da implantação, é por meio do potencial bioativo deles [1]. Uma das maneiras de avaliação dos materiais é inseri-lo em contato com um líquido, acelular e aproteico que possui concentração iônica próxima à do plasma sanguíneo de forma a simular os fluidos corpóreo. Esta solução é chamada de SBF (*simulated body fluid*), traduzida como fluido corpóreo simulado, desenvolvida por Kokubo e Takadama [25]. Quando imerso neste líquido, a base do processo é a reatividade química, em razão das reações químicas que ocorrem

na superfície do material [1]. Desta maneira, na próxima subseção será apresentado os mecanismos de formação desta camada.

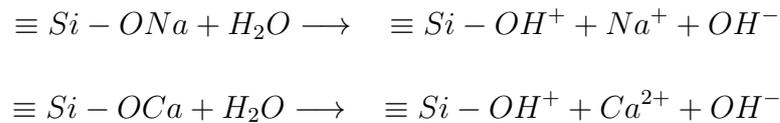
### 1.3.2 Mecanismo de formação da camada

O mecanismo de formação da camada sobre a superfície do vidro devido à interação com o meio de imersão foi estudado por Hench e Anderson em vidros silicatos. O processo é dividido em dez estágios que seguem desde a exposição do vidro ao tecido até a mineralização da matriz óssea [2]. As cinco primeiras etapas são descritas na sequência e podem ser visualizadas por meio da figura 1.8.

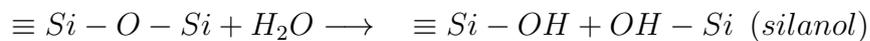
1. Lixiviação seletiva de alguns elementos, ou seja, trocas iônicas entre íons alcalinos e alcalinos terrosos ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ) com cátions da solução ( $\text{H}^+$  e  $\text{H}_3\text{O}^+$ ). A taxa de lixiviação do material é afetada dependendo da carga do íon modificador. Podendo ser expressa por meio da seguinte sentença:



A rede de sílica pode reagir com a própria água por meio da hidratação de suas ligações com íons metálicos:



2. Dissolução da sílica da rede vítrea por ataque dos íons de hidroxila, os quais são responsáveis por quebrar as ligações Si-O-Si e formar silanol. Sendo que, as hidroxilas formadas nas etapas anteriores podem agir como catalisadores no processo de dissolução da rede.



3. Despolimerização da rede vítrea devido a hidrólise, causando sílica solúvel no meio.



Nesta etapa, o silanol pode ainda se condensar e repolimerizar a camada rica em  $SiO_2$  como consequência da deficiência da superfície em íons alcalinos e alcalinos terrosos. Esta etapa pode ser lentamente acelerada por íons  $Ca^{2+}$  e  $PO_4^{3-}$  presentes na solução.



4. Migração de grupos  $Ca^{2+}$  e  $PO_4^{3-}$  provenientes das regiões internas do material, à medida que a solubilidade dos íons dissolvidos é excedida. Ocorre então a precipitação da solução sobre a camada de sílica gel. Forma-se então um filme amorfo rico em cálcio e fósforo amorfo. Este filme pode agir como barreira resistente à dissolução.
5. Cristalização da camada de cálcio e fósforo amorfo, geralmente incorporando em sua estrutura cristalina íons de  $CO_3^{2-}$ , originando a hidroxicarbonato apatita (HCA) na superfície do material. Mas também, íons como  $OH^-$  ou  $F^-$  podem ser precipitados, formando hidroxiapatita (HAp) ou fluorapatita (FA), respectivamente.

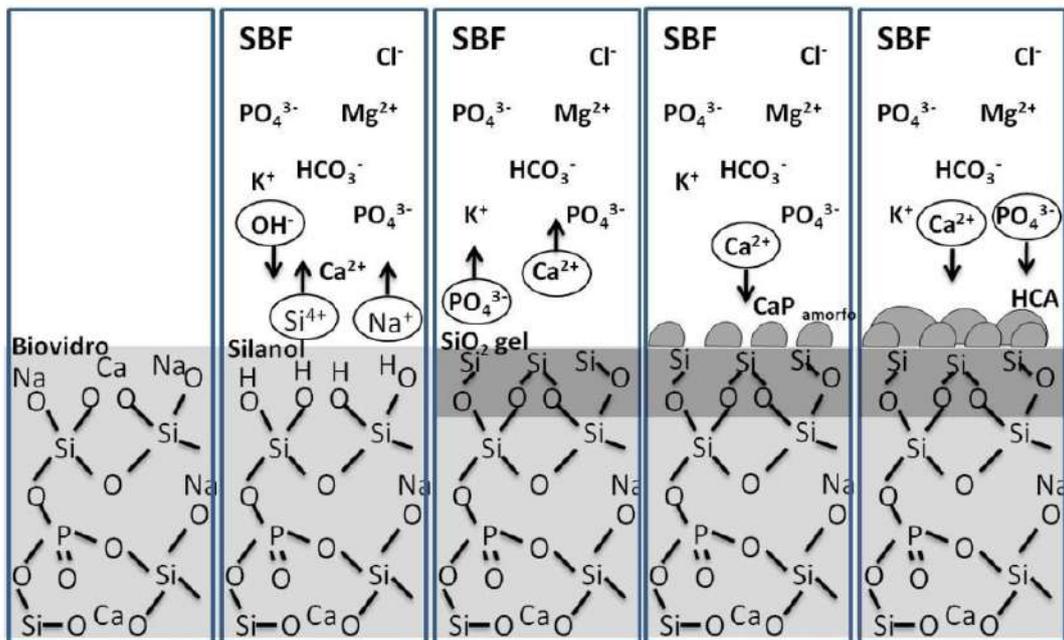


Figura 1.8: Esquema da formação de camada apatítica sobre a superfície de vidros silicatos quando em imersão em SBF [26].

As cinco últimas etapas descritas por Hench e Anderson acontecem apenas quando há presença de tecidos vivos e consiste em:

6. Adsorção de proteínas específicas.
7. Ação de macrófagos.
8. Adesão e diferenciação celular.
9. Formação de matriz extracelular.
10. Mineralização da matriz.

Para as vitrocerâmicas, todo o processo acontece de forma muito semelhante, conforme pode ser observado na figura 1.9. Primeiramente a lixiviação ocorre, correspondendo à etapa 1 descrita anteriormente. Posteriormente, a dissolução que é compreendida pelas etapas 2 e 3. Por fim, a precipitação da camada, a qual ocorre nas etapas 4 e 5. Sendo a principal diferença é que na etapa da lixiviação é preciso que aconteça o ataque nas redes formadoras ordenadas e, durante a dissolução, é preciso decompor os cristais a fim de liberar os íons que os formam [1, 27]. Dificultando todo o processo e conseqüentemente, retardando-o.

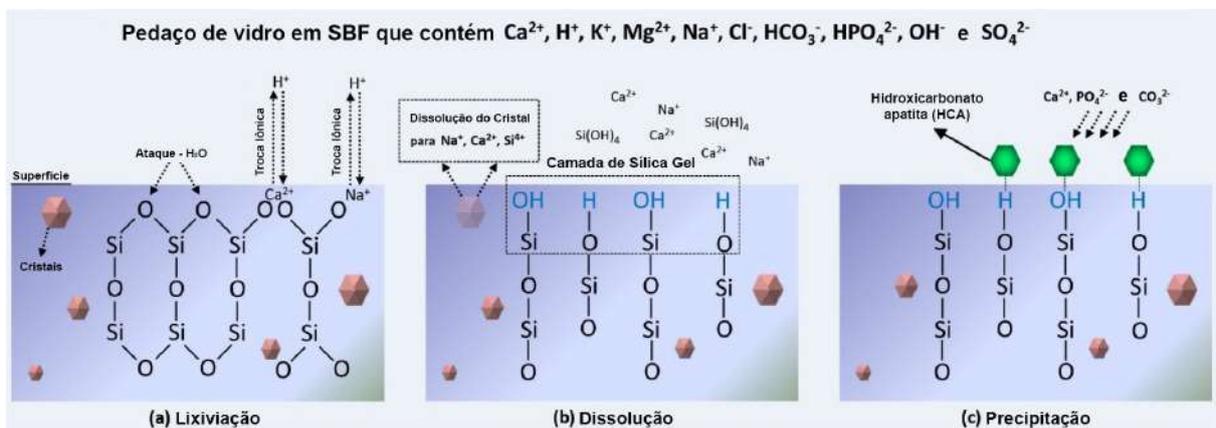


Figura 1.9: Mecanismo de formação de camada de HCA em vitrocerâmica após imersão em SBF. Adaptado de [27].

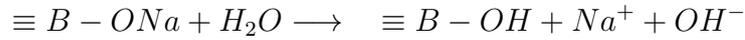
Todavia, o interesse é entender os processos de formação da camada em vidros borato. De forma geral, os mecanismos que regem a degradação do vidro borato e levam à formação da camada de HCA são parecidos com os silicatos, diferenciando apenas pelo fato que a camada de boro não possui a capacidade de se repolimerizar. Logo, o processo de degradação acontece de forma simultânea a hidratação e a hidrólise da rede vítrea [1,9,28].

Outro ponto que vale ser destacado, é que a rede borato pode conectar-se de diferentes maneiras, devido à anomalia do boro, já discutido anteriormente. Estas conexões podem facilitar ou dificultar as trocas iônicas, bem como, a degradação e precipitação da camada [1]. O processo pode ser então resumido em 4 etapas, sendo elas:

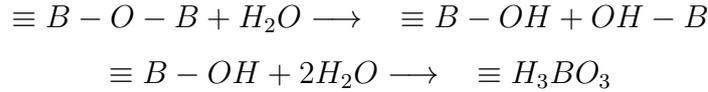
1. Hidratação das ligações de boros tetraédricos e a consequente troca iônica, liberando íons alcalinos e alcalinos terrosos. A hidratação cria ainda uma instabilidade que gera um rearranjo e leva a formação de uma unidade tringangular, como esquematizado:



Quando em unidades de boro tricoordenadas, a hidratação produz grupos hidroxil:



2. Ataque à rede vítrea por parte da hidroxila, dissociando-a e gerando como produto, ácido bórico ( $H_3BO_3$ ), sendo este um dos responsáveis pelo aumento do pH.



Estes processos de hidratação e hidrólise acontecem continuamente e coexistentemente de forma que, degradando o vidro em velocidade maior quanto aos silicatos, uma vez que não há a existência de uma camada de borogel.

3. Migração de grupos  $Ca^{2+}$  e  $PO_4^{3-}$  originados das regiões internas do material, ocasionando precipitação dos íons sobre o vidro, resultando na precipitação de fosfato de cálcio na superfície dos vidros.
4. Cristalização da camada, formando hidroxiapatita (HAp), fluorapatita (FA) ou hidroxicarbonato apatita (HCA).

Em geral, estes vidros apresentam dissolução mais rápida com maiores taxas de aumento de pH no meio nos primeiros dias. Logo, são mais reativos quando comparados aos silicatos e auxiliam, predominantemente, na recuperação de tecidos moles [1].

## CAPÍTULO 2

# PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS

Este capítulo contém a descrição dos protocolos experimentais utilizados na realização deste trabalho, relatando os passos para a preparação das amostras e especificações das técnicas utilizadas.

### 2.1 Preparação do vidro e vitrocerâmicas

A amostra escolhida para estudo é um vidro de base borato, do sistema vítreo  $60 \text{ B}_2\text{O}_3 - 5 \text{ CaF}_2 - (20-x) \text{ Na}_2\text{O} - (15-x) \text{ CaO} - (2x) \text{ P}_2\text{O}_5$  com ( $x = 0, 1, 2$ ), produzido em parceria com a Professora Dra. Franciana Pedrochi da Universidade Federal do Maranhão (Campus de Imperatriz) e estudado pelo Dr. Pablo Nabuco Portes em sua tese de doutorado [28]. Em seu trabalho, Portes mostrou que a amostra  $60 \text{ B}_2\text{O}_3 - 5 \text{ CaF}_2 - 19 \text{ Na}_2\text{O} - 14 \text{ CaO} - 2 \text{ P}_2\text{O}_5$ , denominada BV2, cuja composição pode ser visualizada na tabela 2.1, obteve o melhor resultado nos testes biológicos *in vitro*. Desta maneira, foi esta a composição escolhida para o estudo de tratamento térmico, cujo intuito é avaliar as fases formadas em função da temperatura e sua bioatividade *in vitro*.

Tabela 2.1: Composição da matriz vítrea escolhida em % de massa (wt. %) e de mol%.

	$\text{B}_2\text{O}_3$	$\text{CaF}_2$	$\text{Na}_2\text{O}$	$\text{CaO}$	$\text{P}_2\text{O}_5$
wt.%	60	5	19	14	2
mol%	57,8	4,1	20,5	16,7	0,9

Para a produção do vidro, os reagentes  $\text{CaCO}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$  e  $\text{CaF}_2$  foram

utilizados, sendo todos eles da marca Sigma Aldrich® com grau de pureza entre 98 e 99,999%. Estes reagentes tiveram suas massas aferidas em uma balança analítica. O  $\text{CaCO}_3$  e o  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  passaram pelo processo de calcinação por duas horas numa temperatura de 900 e 550 °C, respectivamente. A desgaseificação permite a eliminação de todo o  $\text{CO}_2$  do reagente, obtendo assim  $\text{CaO}$  e  $\text{Na}_2\text{O}$ . Após este importante passo, todos os reagentes foram depositados em um almofariz de ágata, homogenizados e posteriormente transferidos para um cadinho de platina, o qual foi inserido em um forno convencional mantido sob atmosfera ambiente para a fusão.

A fusão da mistura de reagentes ocorreu em 1100 °C permanecendo por 2 horas. Após este período, um molde de aço inoxidável aquecido em aproximadamente 400 °C recebeu o fundido, que sofreu um rápido resfriamento. A temperatura do molde foi escolhida abaixo da temperatura de transição vítrea do vidro.

Em seguida, para a eliminação das tensões internas e para uma maior resistência mecânica do vidro, o material foi recozido a 450 °C durante 5 horas. Após este período, o forno foi resfriado por inércia térmica até atingir a temperatura ambiente. A peça obtida pode ser visualizada na figura 2.1.



Figura 2.1: Vidro final obtido após recozimento em 450 °C durante 5 horas.

Posteriormente, o material passou por processo de pulverização, sendo peneirado em peneira de nylon para obtenção de partículas com tamanho  $< 45 \mu\text{m}$ . O pó obtido foi compactado por 10 minutos em uma prensa hidráulica uniaxial, com pressão na amostra de 55 MPa, em moldes cilíndricos de 5 mm de diâmetro e 2 mm de espessura.

Após o processo de prensagem, as amostras foram levadas a um forno tubular para tratamento térmico por 2 horas, sendo a taxa de aquecimento e resfriamento de 3 °C/min em atmosfera ambiente. As temperaturas escolhidas para tratamento térmico das amos-

tras foram baseadas na análise térmica, portanto foram nomeadas por T de temperatura e seu respectivo valor de tratamento térmico em graus célsius, sendo elas: T490, T560, T615, T625, T630, T715, T785 e T810.

As peças logo após o tratamento térmico podem ser observadas na figura 2.2. Vale a observação de que todas as fotos foram capturadas a mesma distância da câmera com o auxílio de um tripé fixo.

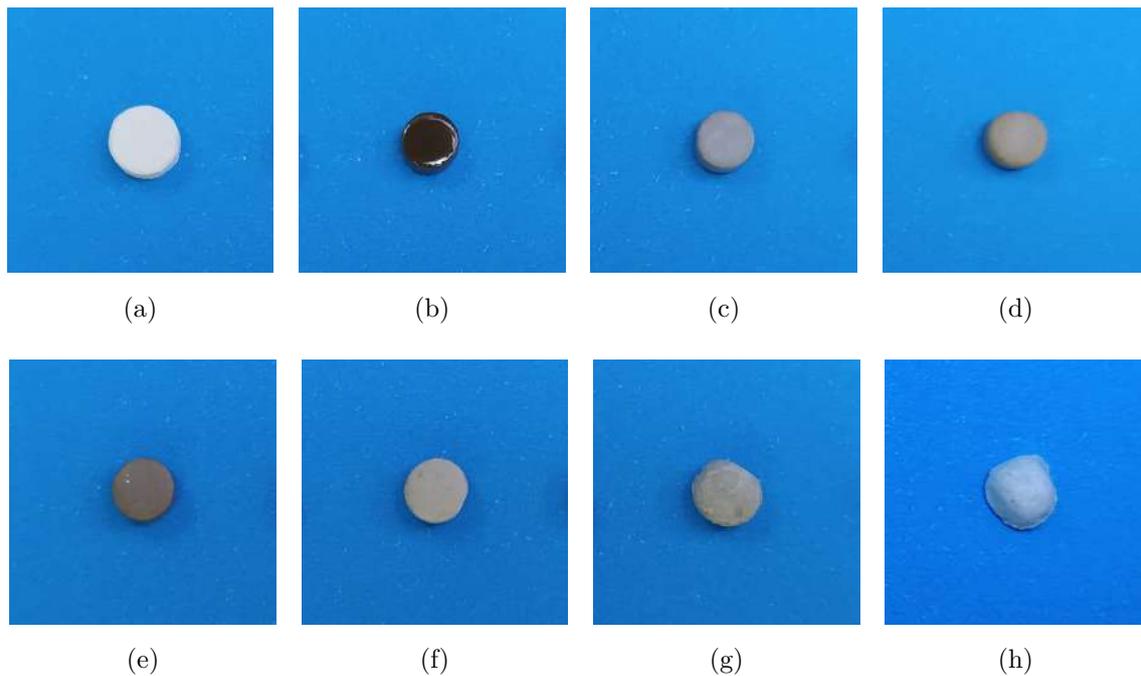


Figura 2.2: Peças após processo de tratamento térmico, sendo (a) T490, (b) T560, (c) T615, (d) T625, (e) T630, (f) T715, (g) T785 e (h) T810.

## 2.2 Parâmetros Experimentais

Nesta subseção é descrito os equipamentos, suas respectivas marcas e modelos e as configurações utilizadas para caracterização e estudo das amostras.

### 2.2.1 Análise térmica

A análise térmica foi realizada em um calorímetro (STA-404, NETZSCH-Geraëtebau GmbH) pertencente ao LaMaV-DEMa-UFSCar, em colaboração com a Professora Dra. Viviane de Oliveira Soares, com o intuito de determinar as temperaturas características do material para realização do tratamento térmico. Este processo foi realizado com o

vidro da figura 2.1 pulverizado e com tamanho de partícula  $< 45 \mu\text{m}$ . As medidas foram realizadas em cadinho de platina, com taxa de aquecimento de  $5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$  até atingir  $900 \text{ }^\circ\text{C}$  em atmosfera de ar.

### 2.2.2 Difratometria de raios-X (DRX)

Para obtenção dos difratogramas analisados neste trabalho, um difratômetro de raios X (D8 Advanced, Bruker) de geometria Bragg-Bretano do tipo  $\theta - \theta$ , pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) foi utilizado. A radiação aplicada foi  $K_\alpha$  proveniente do cobre, com tensão de  $35 \text{ kV}$  e corrente de  $30 \text{ mA}$ . Cada medida foi realizada com velocidade de varredura de  $0,29 \text{ }^\circ/\text{min}$ , passos de  $0,003 \text{ }^\circ$  com  $1 \text{ s}$  de aquisição no intervalo de  $7$  à  $65 \text{ }^\circ$ . A radiação atingiu a amostra em pó que estava condicionada sobre um porta-amostra de vidro em temperatura ambiente ( $\sim 21 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

### 2.2.3 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram adquiridos em um microscópio Raman Confocal, denominado  $\mu$ -Raman (Senterra, Bruker) pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As amostras foram excitadas em  $532 \text{ nm}$  com potência nominal de  $20 \text{ mW}$  e lente de magnificação de  $20\times$ . Cada espectro é uma média de  $3$  medidas, sendo cada medida coletada com  $30$  varreduras e  $5 \text{ s}$  de tempo de integração. A região espectral foi de  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$ , cuja resolução é de  $3\text{-}5 \text{ cm}^{-1}$ .

### 2.2.4 Espectroscopia no Infravermelho

Os espectros foram coletados nas amostras em pó por meio de um Espectrômetro no Infravermelho com Transformada de Fourier acoplado um acessório de Reflectância Total Atenuada (FTIR-ATR) (Vertex 70V, Bruker) também pertencente ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) da Universidade Estadual de Maringá (UEM). As amostras foram condicionadas diretamente sobre o cristal de diamante do acessório e o ar do equipamento foi eliminado (medidas em vácuo), eliminando contribuições atmosféricas. Os espectros foram adquiridos com  $128$  varreduras, no intervalo de  $4000$  a  $400 \text{ cm}^{-1}$  com

resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

### **2.2.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)**

As micrografias das superfícies e fraturas das amostras preparadas e na superfície das amostras pós-imersão (tempos de 0,25, 1, 7, 14, 21 e 28 dias) foram realizadas em um Microscópio Eletrônico de Duplo Feixe (Scios, Thermo Fischer Scientific). As imagens foram captadas em diferentes ampliações e aceleração do feixe de 20keV. Porém, apenas as ampliações mais relevantes foram apresentadas neste trabalho, variando de amostra para amostra e sendo indicada pela barra de escala em cada imagem, referente a escala. Ainda, é possível obter informações semiquantitativas da composição amostral. Estas análises foram realizadas nas amostras T560, T625 e T715 antes e após 14 dias de imersão com o intuito de avaliar se houve precipitação de camada apatítica.

## **2.3 Avaliação de bioatividade (*in vitro*)**

As amostras em suas respectivas temperaturas de tratamento térmico foram direcionadas para os testes biológicos *in vitro*. Dentre eles, avaliação da citotoxicidade e imersão em Fluido Corporal Simulado (SBF). Além da análise do material após imersão em SBF, a concentração de alguns íons no líquido foram determinadas por meio da espectroscopia de emissão atômica em plasma de micro-ondas (MP-AES).

### **2.3.1 Imersão em Fluido Corporal Simulado (SBF)**

O Fluido Corporal Simulado (SBF) utilizado para colocar em imersão duas peças ( $n=2$ ) de cada tratamento térmico (T560, T625 e T715), foi preparado seguindo cuidadosamente todos os processos e etapas descritos por Kokubo e Takadama [25]. Inicialmente, 700 mL de água deionizada foi depositada em um Becker plástico na presença de um agitador magnético e banho térmico configurado a  $36,5 \text{ }^\circ\text{C}$ . Os reagentes presentes na tabela 2.2 foram inseridos sequencialmente e vagarosamente, sendo que, os próximos reagentes só eram adicionados após a diluição completa do anterior. O não cumprimento deste passo pode causar precipitação de sais na solução, tornando o fluido inutilizável [25]. Um peagâmetro (MPA 210, MS Tecnoyon) e um termômetro comum foi utilizado com o intuito de controlar o pH e a temperatura, respectivamente. Por fim, água deionizada

foi adicionada para completar 1000 mL de solução, com a temperatura em exatamente 36,5 °C e pH em  $\sim 7,4$ . Em seguida, o fluido resfriou a temperatura ambiente, filtrou-se com filtro de seringa (Merck Millipore) de 0,22  $\mu\text{m}$  e armazenou em um frasco plástico à temperatura entre 6 e 10 °C.

Tabela 2.2: Reagentes utilizados na produção de SBF segundo Kokubo e Takadama [25].

Sequência	Reagentes	Quantidade (g)
1	NaCl	8,035
2	NaHCO <sub>3</sub>	0,355
3	KCl	0,225
4	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> · 3H <sub>2</sub> O	0,231
5	MgCl <sub>2</sub> · 6H <sub>2</sub> O	0,311
6	1.0M-HCl	39 mL
7	CaCl <sub>2</sub> · 2H <sub>2</sub> O	0,387
8	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0,072
9	Tris	6,118
10	1.0M-HCl	0-5 mL

Utilizando um tubo de fundo cônico do tipo falcon com capacidade para 50 mL e prendedores plásticos, as amostras foram inseridas na solução de SBF mantendo a razão do volume de SBF pela área superficial da amostra em 0,1 mL/mm<sup>2</sup>, de forma que a amostra não tivesse contato com as extremidades do tubo. Os tubos foram mantidos em um banho térmico com temperatura fixada em 36,5 °C pelos períodos de 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias. Ao fim de cada período as amostras eram retiradas cuidadosamente e enxaguadas suavemente com água deionizada, de modo a interromper quaisquer reações que pudessem ainda acontecer. Em seguida, as amostras foram mantidas em temperatura ambiente em placas de Petri cobertas com papel alumínio, por um dia para secagem e posteriormente armazenadas para análises.

A solução de SBF após imersão foi enviada para análise na espectroscopia de emissão atômica em plasma de micro-ondas (MP-AES). Além disso, as peças após imersão seguiram para análise de espectroscopia no infravermelho e em microscopia eletrônica de varredura (MEV) para detecção da camada de apatita formada.

## **pH e perda de massa**

Os valores de pH foram aferidos após a retirada das peças de imersão com o auxílio de um peagâmetro (MPA 210, MS Tecnopon) com precisão de  $\pm 0,001$  à temperatura de  $36,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , sendo o resultado uma média de 2 peças imersas para cada tempo de tratamento. A calibração do equipamento foi feita portando soluções tampões de pH 4, 7 e 10 em todos os dias de medida. Além disso, todas as peças tiveram suas massas aferidas antes e após o período de imersão em uma balança analítica de precisão 0,1 mg (Série 202, A&D Company). Por fim, as peças foram fotografadas por uma câmera comum de *smartphone* antes e após imersão em um mesmo ambiente. O aparelho foi mantido sobre um tripé fixo.

## **Espectroscopia de Emissão Atômica em Plasma de Micro-ondas (MP-AES)**

As medidas de concentração iônica da solução de SBF foram realizadas com o Professor Dr. Marcelo Augusto Batista no Departamento de Agronomia na Universidade Estadual de Maringá. Para estas análises um espectrômetro de emissão atômica em plasma de micro-ondas (MP-AES 4200, Agilent Technologies) foi utilizado. O método de curva de calibração externa foi empregado em todas as determinações. Além disso,  $\text{N}_2$  foi utilizado como fonte gás para a chama e os parâmetros experimentais foram de 3 segundos como tempo de integração, a velocidade de bomba peristáltica de 12 rpm, tempo de estabilização de 10 segundos e 3 réplicas foram feitas, sendo o valor obtido uma média das três medições. As amostras de SBF, para as três temperaturas (T560, T625, T715) e em seus respectivos tempos de imersão (0, 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias) foram diluídas em Ácido Nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) com diluição de 0,5/15,14 mL. O Fósforo foi lido em 213,618 nm seguido do Cálcio em 445,478 nm.

### **2.3.2 Teste de citotoxicidade**

Os ensaios ocorreram no Laboratório de Inovação Tecnológica no Desenvolvimento de Fármacos e Cosméticos da Universidade Estadual de Maringá em Parceira com o Professor Dr. Celso Vataru Nakamura e sua aluna Karina Miyuki Retamiro. As amostras T560, T625 e T715 foram submetidas a avaliação citotóxica por meio de células de pré-osteoblastos da linhagem MC3T3-E1. Para isso, as células foram ressuspensas à

concentração de  $1,0 \times 10^6$  cels/mL em meio  $\alpha$ -MEM acrescido de 10% de Soro Fetal Bovino (SFB), adicionado 100  $\mu$ L nos poços da placa de 96 poços, e incubadas por 24 h a 37 °C e 5% de CO<sub>2</sub>. As amostras testadas foram diluídas (1000, 700, 400 e 100  $\mu$ g/mL), adicionados sobre a monocamada celular e incubados por 24 h, em condições idênticas. Após a incubação, 50  $\mu$ L de solução 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT) à 2 mg/mL foi adicionada. A placa foi incubada por 4 h a 37 °C com 5% de CO<sub>2</sub> (protegido da luz) e adicionados 150  $\mu$ L de dimetilsulfóxido (DMSO). A leitura foi realizada em leitor de microplaca (PowerWave XS Microplate Reader, BioTek Instruments) a 570 nm. Os dados foram obtidos em triplicatas e plotados como médias  $\pm$  desvio padrão e submetidos a teste de análise de variância (ANOVA Two-Way) pelo teste de comparações múltiplas de Dunnett, comparando cada diluição amostral com o controle (0  $\mu$ g/mL) dentro de cada grupo amostral (T560, T625 e T715), sendo que a significância estatística considerada foi de  $P < 0,05$ .

## CAPÍTULO 3

# RESULTADOS E DISCUSSÃO - PARTE I

O presente capítulo destina-se a apresentação e análise dos resultados obtidos para as amostras descritas em Procedimentos Experimentais, os quais foram obtidos por meio das técnicas de análise térmica (DTA), difratometria de raios X (DRX), espectroscopia Raman, espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier acoplado a refletância total atenuada (FTIR-ATR) e por fim, microscopia eletrônica de varredura (MEV) com mapeamento por espectroscopia de energia dispersiva (EDS).

### 3.1 Caracterização térmica

A caracterização térmica do vidro pode ser obtida por meio de um termograma, no qual é possível avaliar o comportamento térmico do material em estudo e determinar suas temperaturas características, como transição vítrea ( $T_g$ ), início da cristalização ( $T_x$ ) e fusão ( $T_m$ ), conforme já descrito no Apêndice A - Técnicas Experimentais. Esta é uma importante análise para escolha das temperaturas de tratamento térmico, já que envolvem os principais processos térmicos sofridos pelo vidro.

A figura 3.1 apresenta a curva de termograma obtida via Análise Térmica Diferencial (DTA) para o pó do vidro com tamanho de partícula  $< 45 \mu\text{m}$ . O intervalo de temperatura na qual foi realizada a medida é entre 25 e 900 °C, mostrada na figura 3.1. Entretanto, o termograma foi exibido a partir de 200 °C já que nenhum fenômeno foi detectado abaixo desta temperatura.

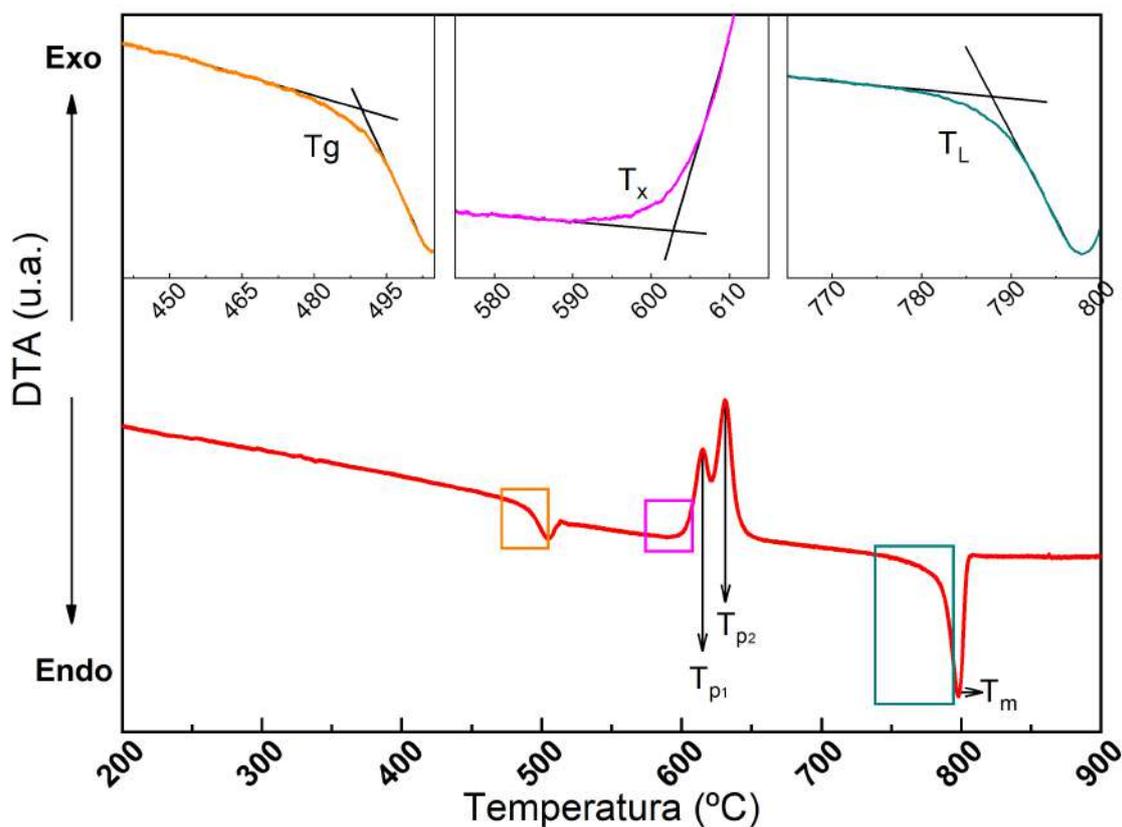


Figura 3.1: Termograma do vidro em pó com tamanho de partícula  $< 45\mu\text{m}$ . Os detalhes demarcados estão ampliados com suas respectivas cores.

Ao avaliar o termograma, é possível notar um primeiro pico endotérmico durante o processo de aquecimento, referente à primeira transição sofrida pelo vidro, a qual está associada a transição vítrea, tendo seu início no  $T_g$  em  $490\text{ }^\circ\text{C}$  e máximo em  $504\text{ }^\circ\text{C}$ . Este evento térmico compete a um aumento no calor específico do material, tornando-se um material viscoelástico e permitindo a mobilidade estrutural. Em seguida, observa-se picos exotérmicos, os quais remetem ao processo de cristalização, devido a liberação da entalpia de fusão da amostra [7]. A cristalização tem início em  $602\text{ }^\circ\text{C}$  e cada pico exotérmico, pode estar associado a formação de pelo menos uma fase cristalina [7]. Para este trabalho, dois picos estão presentes, o primeiro pico ( $T_{p1}$ ) encontra-se em  $615\text{ }^\circ\text{C}$  e o segundo ( $T_{p2}$ ) em  $630\text{ }^\circ\text{C}$ . Os picos de cristalização podem indicar mecanismos distintos de cristalização, assim como, podem ser um indício da presença de pelo menos duas fases cristalinas no material, fator este que merece atenção nas análises dos difratogramas.

Para temperaturas mais altas, observa-se um pico endotérmico, o qual está associado ao calor absorvido e necessário para que a amostra seja fundida [7]. O processo de fusão tem início em  $785\text{ }^\circ\text{C}$  ( $T_L$ ), seguido do pico endotérmico ( $T_m$ ) em  $797\text{ }^\circ\text{C}$ .

A temperatura em que ocorrem os fenômenos característicos do vidro podem variar de acordo com tamanho de partícula da amostra e a rampa de aquecimento escolhida, influenciando o deslocamento dos picos para temperaturas maiores ou menores, como estudado por Edi Carlos em sua dissertação sobre cinética de cristalização em vidros teluritos do sistema TLWN [29]. Portanto, foi de suma importância a realização da análise térmica com tamanho de partícula controlado e rampa símile à do tratamento térmico, uma vez que as temperaturas foram escolhidas baseadas no termograma, de forma que cada temperatura representasse diferentes estados e fases que o sistema pode apresentar, sendo elas:

- T490 → Valor de  $T_g$
- T560 → Entre o pico de transição vítrea ( $T_g$ ) e o primeiro pico de cristalização ( $T_{p1}$ );
- T615 → Primeiro pico de cristalização ( $T_{p1}$ );
- T625 → Entre o primeiro ( $T_{p1}$ ) e o segundo pico de cristalização ( $T_{p2}$ );
- T630 → Segundo pico de cristalização ( $T_{p2}$ );
- T715 → Entre o segundo pico de cristalização ( $T_{p2}$ ) e o pico de fusão ( $T_m$ );
- T785 → Início da fusão;
- T810 → Após temperatura de fusão ( $T_m$ ).

Em estudos anteriores, Lepry sintetizou vidros de base borato por meio da técnica sol-gel com diferentes concentrações de reagentes. Uma de suas composições<sup>10</sup> assemelha-se à deste vidro, apresentando ponto de  $T_g$  em 484 °C e pico de cristalização em 639 °C [30]. Entretanto, o material utilizado no presente trabalho possui fluoreto de cálcio ( $CaF_2$ ) em sua matriz, que além de ser um agente finalizador com a função de reduzir a formação de bolhas e a tensão superficial, pode ocasionar modificação na coordenação dos átomos ou até mesmo quebra de ligações, tornando o fundido menos viscoso. Além disto, ele é um facilitador de cristalização, reduzindo a temperatura de cristalização, devido à sua capacidade de formar pequenos cristais espontaneamente durante arrefecimento ou durante o subsequente reaquecimento de um vidro [7]. A presença do flúor pode estar associada a uma facilitação na cristalização e contribuir para a estabilidade das fases formadas, já que, por conta da nucleação e a sua capacidade de formar pequenos cristais, precipita e acelera o processo, como pode ser visto nos dados de difratometria de raios X.

---

<sup>10</sup>Composição em porcentagem de massa: 61,3  $B_2O_3$  – 19,3  $CaO$  – 17,5  $Na_2O$  – 1,9  $P_2O_5$  [30].

## 3.2 Avaliação dos difratogramas dos vidros e vitroce- râmicas

As amostras tratadas termicamente foram avaliadas por difração de raios X (DRX), cujos resultados estão apresentados nas figuras subsequentes desta seção. Inicialmente, a figura 3.2 apresenta os difratogramas referente ao vidro sem tratamento térmico (controle), T490 e T560.

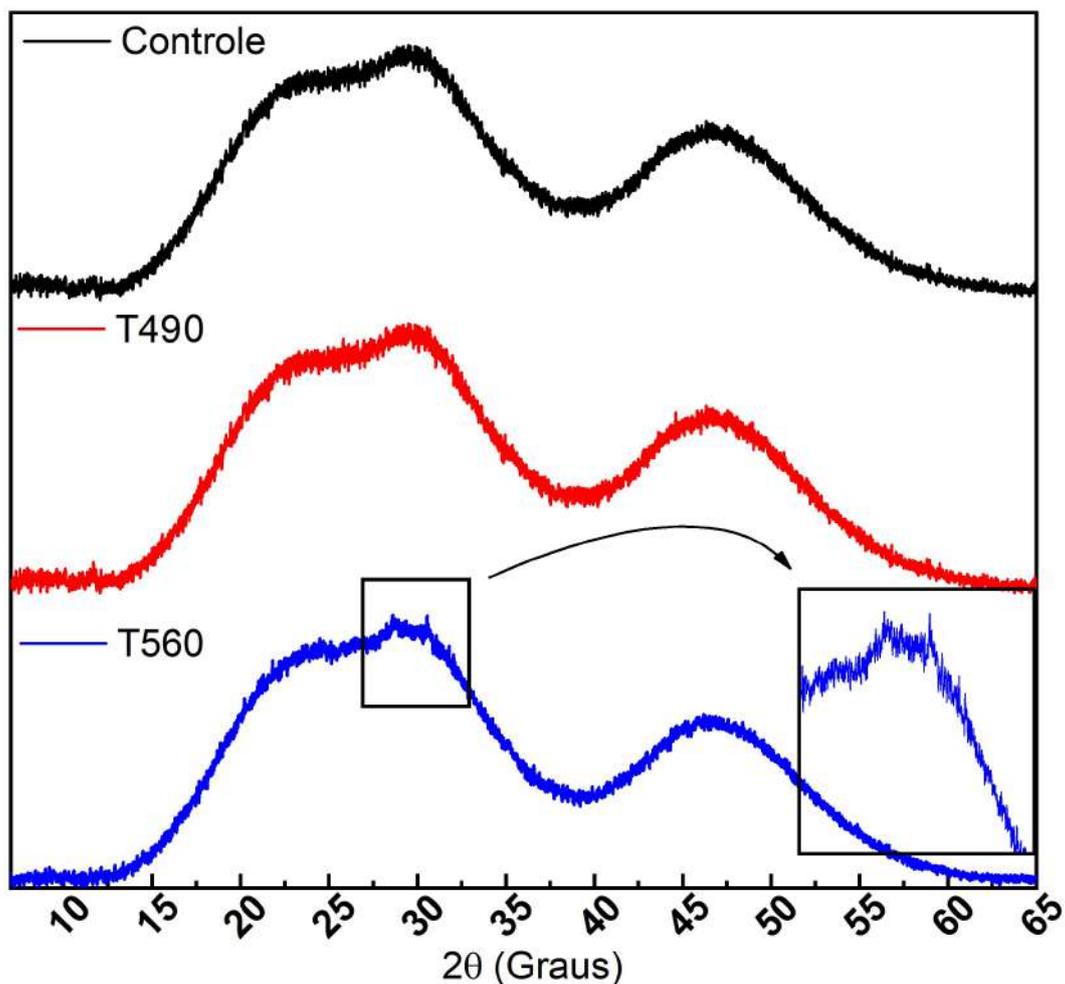


Figura 3.2: Difratogramas de raios X para a amostra controle, T490 e T560.

É possível observar que o difratograma do vidro controle não apresenta picos de difração, exibindo halos amorfos que confirma a natureza amorfa de vidro, sem ordenamento estrutural de longo alcance antes de qualquer tipo de tratamento [1,31].

O mesmo pode ser visualizado para a amostra tratada termicamente em 490 °C. Esta temperatura encontra-se na temperatura de transição vítrea do material, ponto no qual o vidro permanece com suas características amorfas, no entanto, espera-se o início de uma

certa mobilidade estrutural, diminuindo sua viscosidade e conforme ocorre aumento de temperatura, um fluido viscoso capaz de envolver as partículas de vidro é originado. É por meio da formação do fluido viscoso que os núcleos começam a ser desenvolvidos, os quais posteriormente, são responsáveis por induzirem a cristalização [31].

Para a amostra T560, é possível identificar o surgimento de pequenos picos de difração sobrepostos ao halo amorfo, em destaque na figura 3.2, podendo indicar início do processo de cristalização [31]. Este início de cristalização pode ter sido motivado pela presença de  $\text{CaF}_2$  na composição da amostra, pois como já foi relatado por Shelby, este composto tem a propriedade de gerar pequenos cristais espontaneamente durante arrefecimento ou durante o reaquecimento de um vidro [7]. Outro fator contribuinte pode ser o tempo de tratamento, já que as temperaturas determinadas pelo DTA são coletadas de forma dinâmica, e quando a amostra está no forno ocorre uma isoterma, ou seja, a temperatura permanece constante no valor de tratamento térmico por 2 horas. Como a transição vítrea apresenta um fluxo viscoso responsável por gerar núcleos os quais induzem a cristalização, é possível que o tempo de tratamento térmico resultou no início do crescimento desses cristais. Visto que não é preciso que a sinterização termine para que a cristalização inicie.

A amostra tratada termicamente no  $T_{p1}$ , T615, apresenta um difratograma contendo picos bem cristalinos e definidos, como mostrado na figura 3.3. As fichas utilizadas para indexação das fases estão identificadas na figura 3.3.

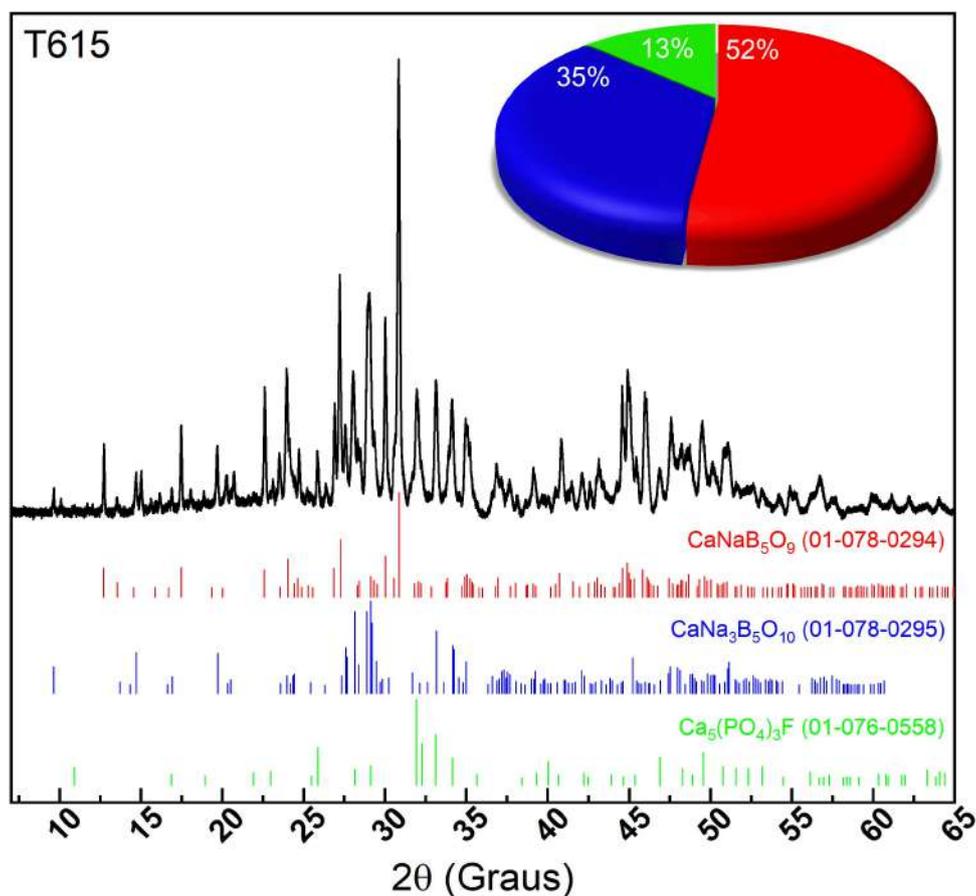


Figura 3.3: Difratoograma de raios X da amostra T615 com indexação das fases  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  (JCPDS #01-078-0294),  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  (JCPDS #01-078-0295) e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

Quanto às fases cristalinas, apesar da análise térmica expor a formação de pelo menos duas fases cristalinas devido à presença dos dois picos de cristalização, foram identificados três principais fases por meio do difratograma. Sendo que duas das fases contêm os elementos cálcio, sódio, boro e oxigênio e a outra é referente a Fluorapatita. As fichas atribuídas à maior parte dos picos do difratograma são  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ ,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ , com seus respectivos números das fichas cristalográficas PDF (*Powder Diffraction File*): 01-078-0294, 01-078-0295 e 01-076-0558.

Uma semiquantificação das fases cristalinas pode ser obtida por meio da Razão das Intensidades de Referência, do inglês, *Reference Intensity Ratio* (RIR). Para realizar esta semiquantificação, é avaliado a intensidade de espalhamento de difração do pico mais intenso da fase cristalina não quantificada com relação a uma amostra padrão, geralmente Corundo (I/Ic). O Corundo é o material mais utilizado para estabelecer esta relação, mas pode-se utilizar quartzo ou óxido de zinco. Uma vez obtido este valor para uma

determinada fase, esta razão permanece constante. Desta maneira, estes valores estão sendo vinculados ao PDF para diversas fases cristalinas por meio do *International Center for Diffraction Data* (ICDD), facilitando a quantificação por este método [32]. Para a presente amostra estudada, conforme observado no gráfico de setores presente no *inset* da figura 3.3, foi quantificado por meio da RIR 52% de  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , 35% de  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e 13% de  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ .

As amostras tratadas termicamente entre  $T_{p1}$  e  $T_{p2}$ , T625 e em  $T_{p2}$ , T630, são apresentadas nas figuras 3.4 e 3.5, respectivamente.

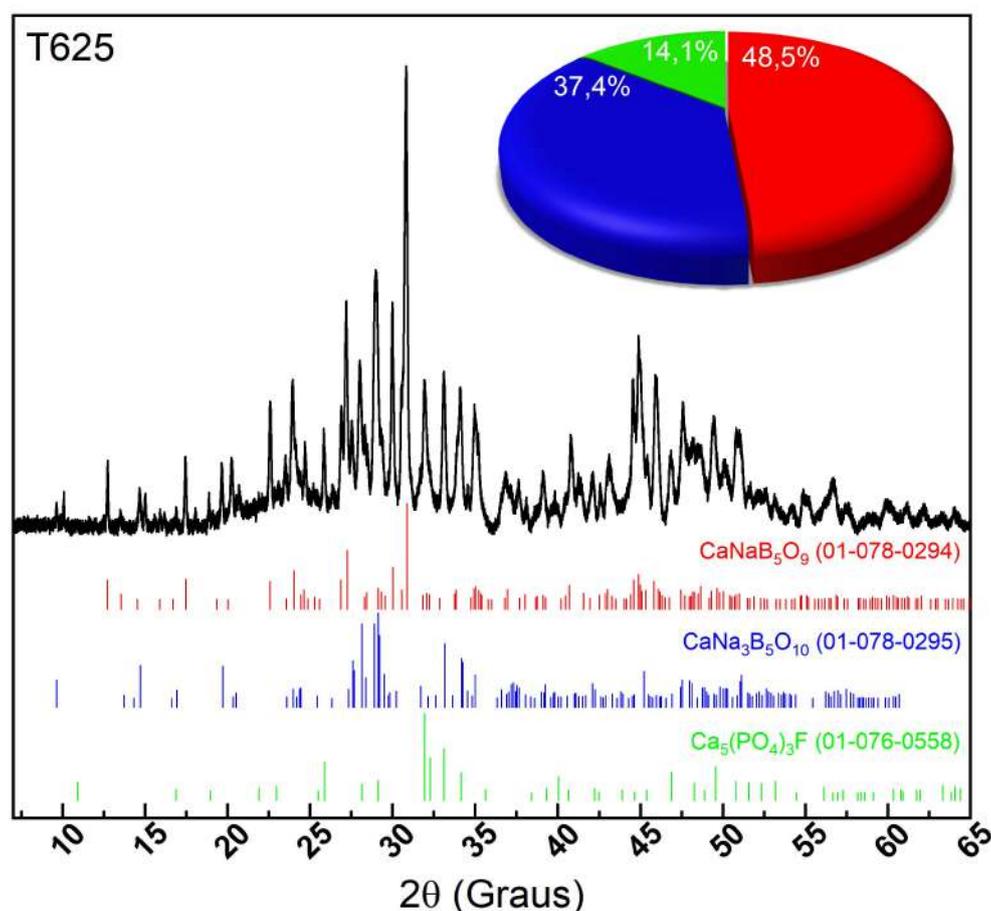


Figura 3.4: Difratoograma de raios X da amostra T625 com indexação das fases  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  (JCPDS #01-078-0294),  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  (JCPDS #01-078-0295) e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

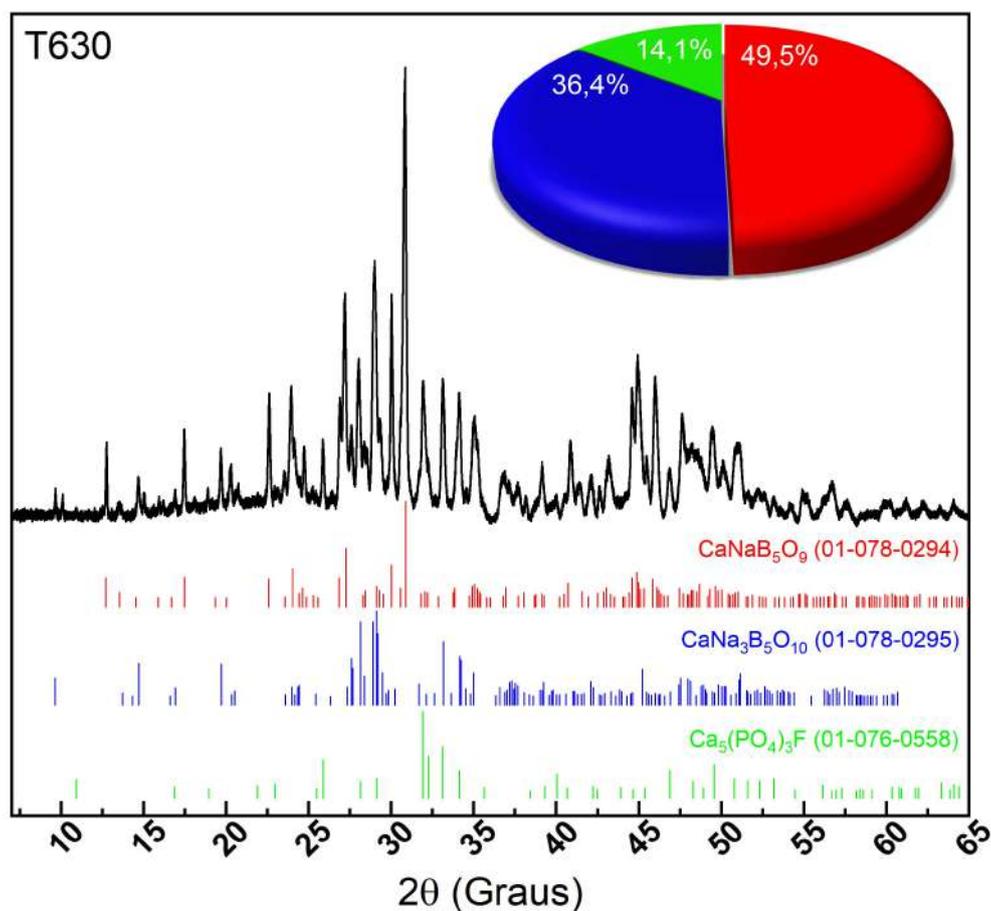


Figura 3.5: Difratoograma de raios X da amostra T630 com indexação das fases  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  (JCPDS #01-078-0294),  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  (JCPDS #01-078-0295) e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

A amostra T625 apresenta 48,5% de  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , 37,4% de  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e 14,1% de  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ . Enquanto que, a T630 foi quantificada com 49,5%, 36,4% e 14,1% das fases, respectivamente.

A amostra T715, apresentada na figura 3.6, conta com um percentual de 47,5% da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , 38,6% de  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e 13,9% de  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ .

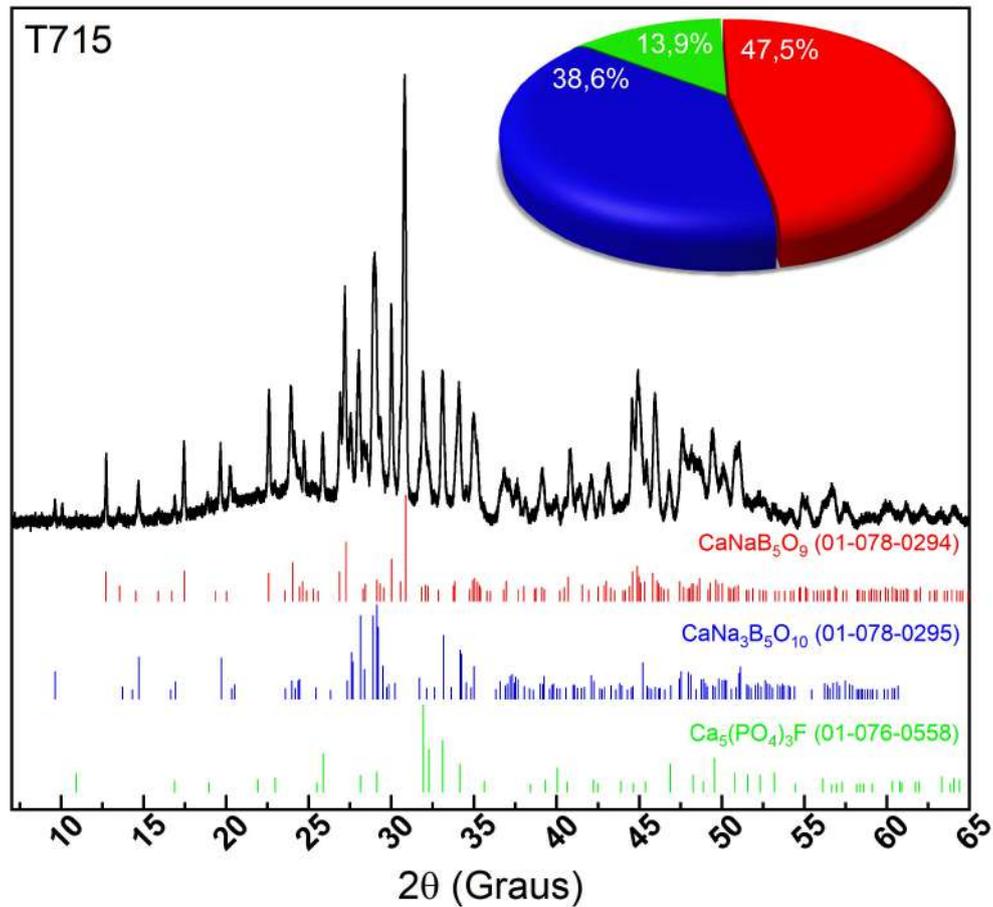


Figura 3.6: Difratoograma de raios X da amostra T715 com indexação das fases  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  (JCPDS #01-078-0294),  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  (JCPDS #01-078-0295) e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$  (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

Apesar da temperatura de tratamento térmico em 785 °C ter formado maior quantidade da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , aproximadamente 59%, a Fluorapatita 12% e  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  29%, como pode ser observado na figura 3.7, o percentual estimado para cada fase permanece próximo.

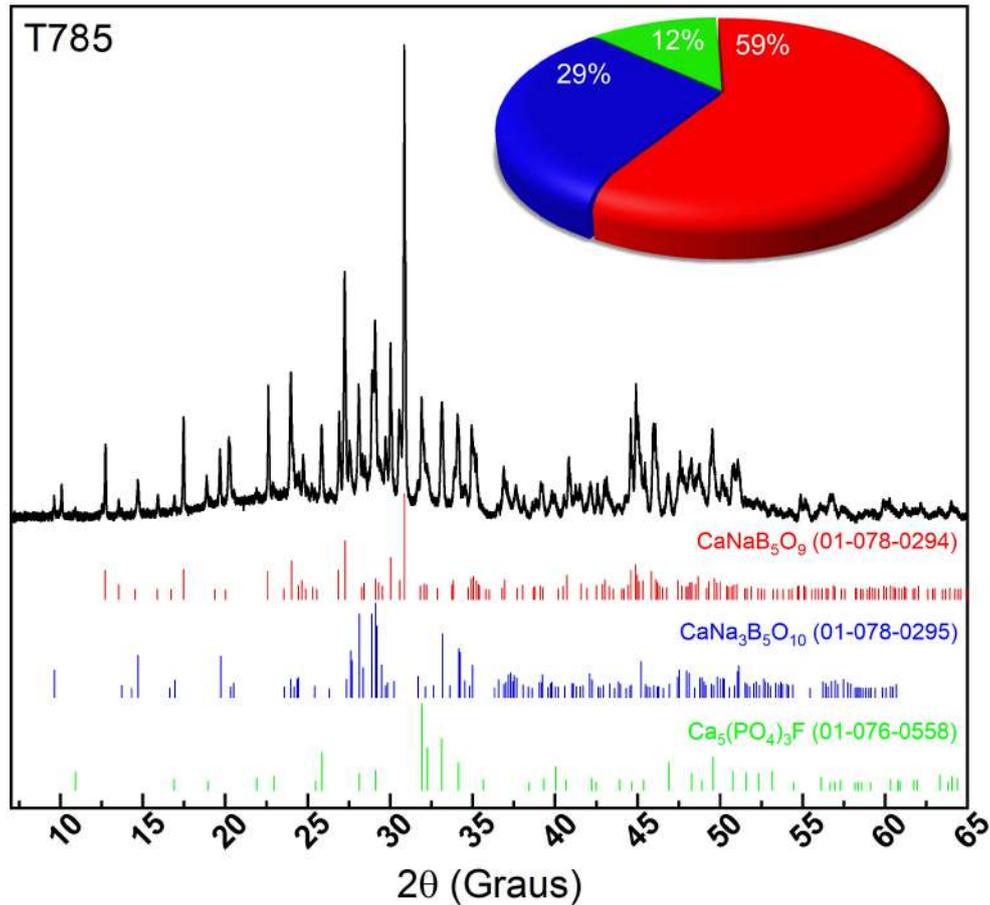


Figura 3.7: Difratoograma de raios X da amostra T785 com indexação das fases CaNaB<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (JCPDS #01-078-0294), CaNa<sub>3</sub>B<sub>5</sub>O<sub>10</sub> (JCPDS #01-078-0295) e Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>F (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

Os picos do difratograma para a temperatura de tratamento em 785 °C continuam sendo justificados com as mesmas fichas cristalográficas de temperaturas menores, ou seja, após a temperatura inicial de cristalização ( $T_x$ ) houve uma resistência entre as fases para converter-se em outras, mostrando o quão estável essas fases podem ser mediante à rampa e à metodologia utilizada neste trabalho. Desta maneira, observa-se que, seguindo o protocolo estabelecido, todas as amostras formaram fases com quantidades semelhantes.

Com relação às fases residuais amorfas, nota-se a presença de dois halos amorfos no *background* a partir das figuras 3.3, ocasionadas devido à falta de ordenamento molecular. A fração cristalizada pode ser calculada por meio da equação 3.1.

$$I_c = \frac{A_c}{A_a + A_c} \cdot 100 \quad (3.1)$$

em que IC é o índice de cristalinidade (%),  $A_c$  é a área cristalina difratada e  $A_a$  é a área amorfa difratada [33], exibido na figura 3.8b).

Dessa maneira, a área cristalina é calculada fazendo a integral apenas dos picos de difração. Enquanto que, a área amorfa é calculada pela área da linha de base do difratograma, conforme a linha vermelha indica na figura 3.8 a). Entretanto, como o suporte utilizado para as medidas de DRX é constituído de vidro silicato, ele também apresenta halo amorfo, conforme exibido em cor azul na figura 3.8. Portanto, houve a necessidade de subtrair o porta amostra da área amorfa, obtendo uma estimativa da porção cristalizada entre as amostras.

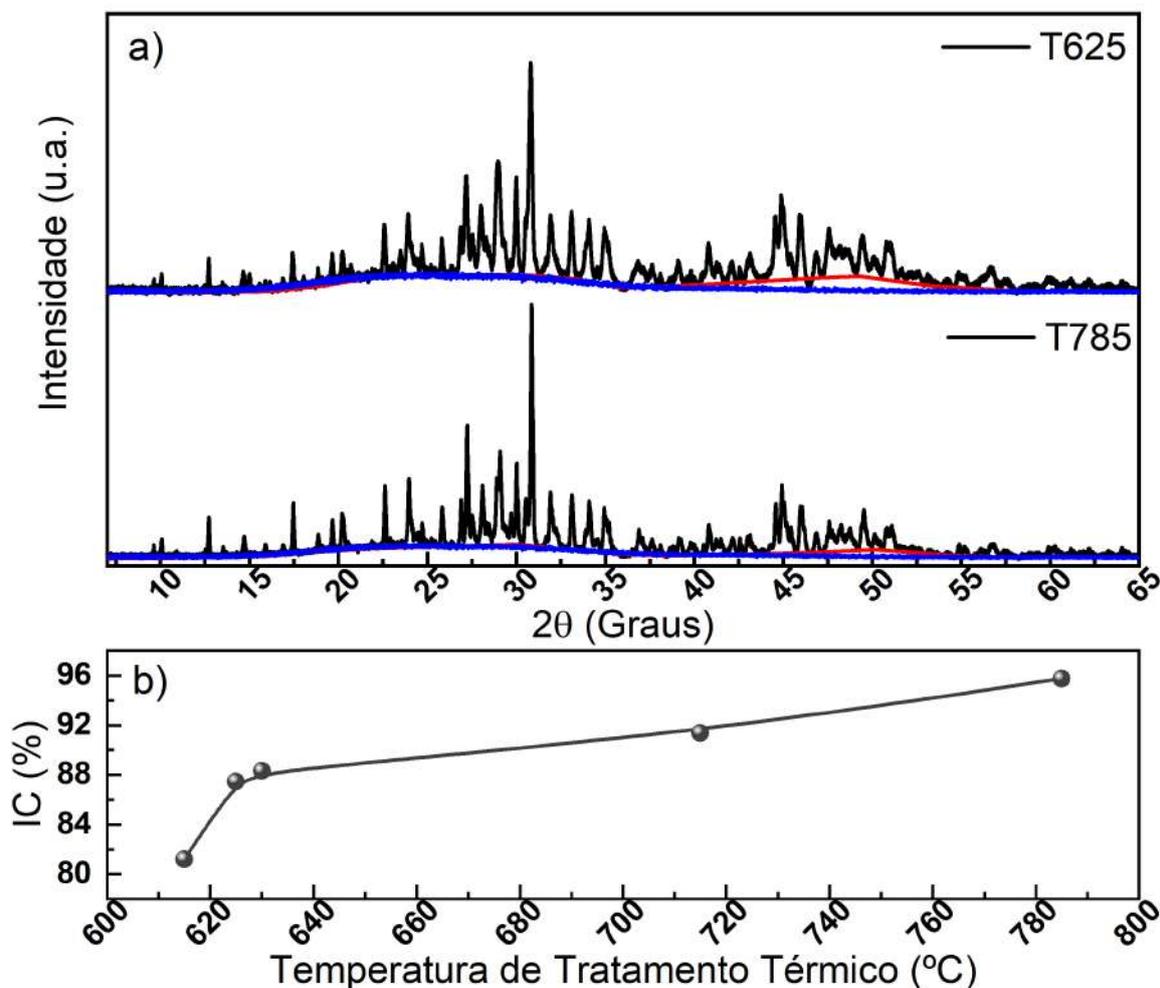


Figura 3.8: a) Difratogramas das amostras T625 e T785 em preto. Em azul, o difratograma do porta amostra e em vermelho, a área amorfa refratada. b) Efeito da temperatura de tratamento térmico na cristalinidade do material calculado [33].

Assim sendo, este método não permite uma quantificação exata da porção cristalizada. No entanto, outros métodos quantitativos tal como do padrão interno, não seria viável devido à complexidade do sistema vítreo e das fases apresentadas. Esta estimativa indica que conforme a temperatura de tratamento térmico aumenta, há um aumento também no índice de cristalinidade. Outro ponto a ser destacado, é que devido à subtração da área

referente ao porta-amostra, a contribuição amorfa é menor, resultando em uma estimativa cristalizada maior que a real. Portanto, é possível comprovar que existe um residual amorfo presente mesmo na amostra tratada termicamente a 785 °C.

Por fim, para facilitar a observação, a figura 3.9 compara os difratogramas de todas as temperaturas de tratamento térmico. Contendo a indexação das fichas cristalográficas por meio de símbolos.

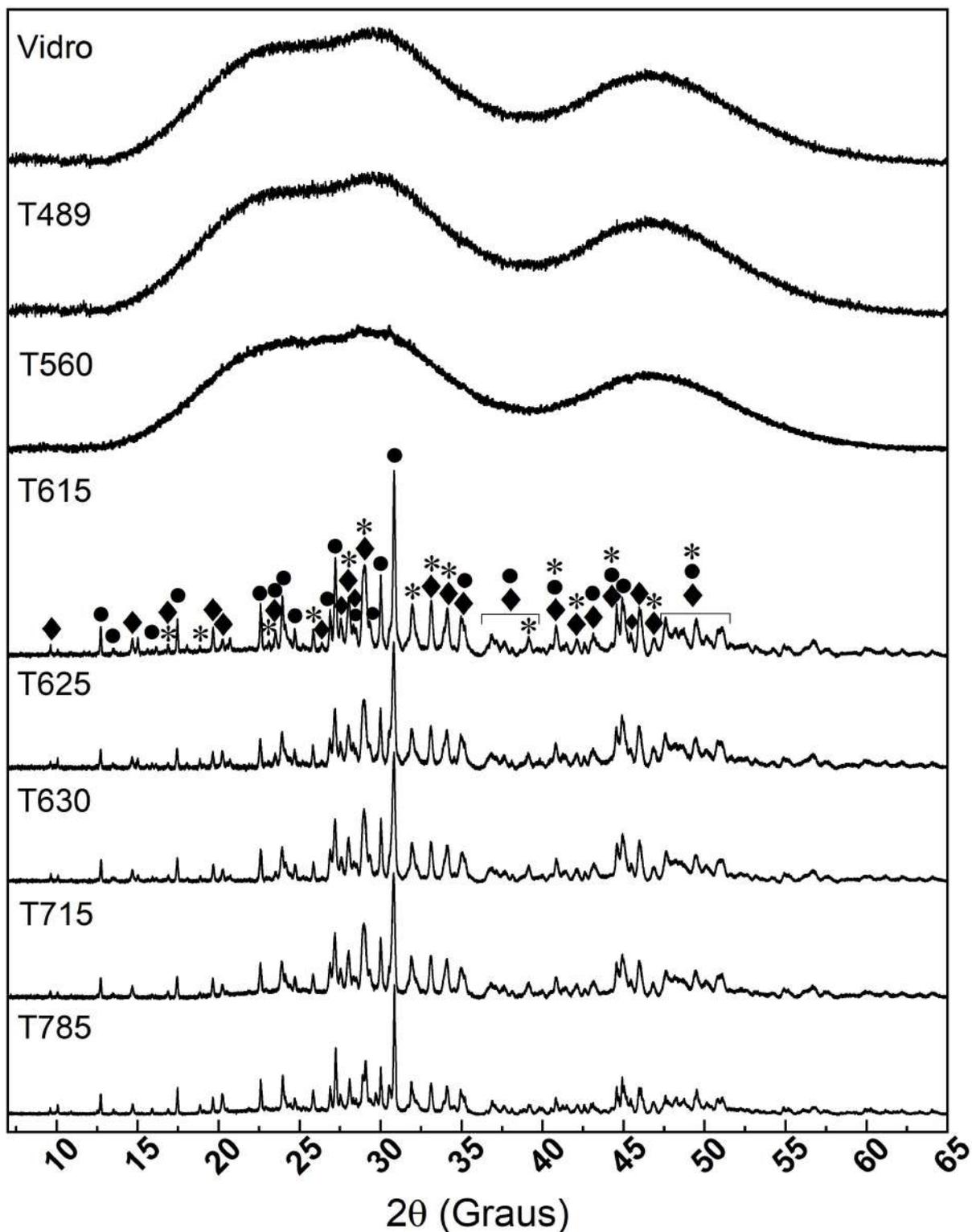


Figura 3.9: Comparativo entre os difratogramas das amostras em todas as temperaturas de tratamento térmico. Os símbolos ●, ◆ e \* são referentes as fichas cristalográficas da  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ ,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ , respectivamente

Dessa forma, há indícios de que um dos picos de cristalização encontrados no DTA com a estruturação da fase relacionada a Fluorapatita e, o outro pode estar associado com

a formação das fases relacionadas ao boro, cálcio e sódio. Essas fases cristalinas obtidas neste trabalho foram encontradas e estudadas por outros pesquisadores [34–37] como Yao *et al.* que trataram termicamente partículas de vidro com tamanho  $<50 \mu\text{m}$  compostas de  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$  e  $\text{P}_2\text{O}_5$ . O tratamento foi realizado de forma isotérmica por 3 horas obtendo  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  como fase principal do seu material. Para temperaturas de tratamento térmico próximas de  $700 \text{ }^\circ\text{C}$ , os autores observaram fase de  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  também [35].

Além disso, Marzouk *et al.* estudaram vidros que em sua composição haviam  $\text{SrO}$  no lugar do  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Entretanto, sem a presença do óxido de estrôncio, os autores constataram duas fases cristalinas de cálcio, sódio, boro e oxigênio. A primeira sendo a mesma encontrada por Yao *et al.*,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e, a segunda  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , assim como foi encontrado no presente trabalho. A medida que estrôncio era adicionado à composição, acarretou na formação de outras fases, como  $\text{Sr}_2\text{B}_2\text{O}_5$  e também fases contendo boro e sódio, como  $\text{Na}_2\text{B}_6\text{O}_{10}$  e  $\text{Na}_3\text{B}_2\text{O}$  [34].

Ouis *et al.* também estudaram vitrocerâmicas bioativas de base borato em função de diferentes concentrações de reagente. Com isto, eles obtiveram fases diferentes para cada composição, estas fases são compostas de cálcio, fósforo, sódio e boro, variando sua forma estrutural entre cada uma delas. Desta maneira, não são apenas as condições do tratamento térmico que influenciam na obtenção da fase final, mas também a composição vítrea, ou seja, a quantidade de cada reagente na produção do vidro [36].

Ainda, foi estudado que íons de  $\text{Ca}^{2+}$  possuem facilidade em participar da separação de fases em vidros de borato e estão sempre prontos a nuclear e gerar fases microcristalinas [34,36]. Devido a isto, algumas fases contendo cálcio são facilmente obtidas em diversos estudos. Ademais, a presença de pentóxido de fósforo na estrutura vítrea não é expressa em detalhes pelos pesquisadores. Todavia, sua existência pode promover a nucleação de volume e cristalização. Logo, os cristais de fosfato precipitados podem agir como nucleadores locais heterogêneos para formação das fases [36]. Na presença de  $\text{CaF}_2$ , estes cristais podem ser ainda mais incentivados, já que, este composto pode atuar como agente cristalizador naturalmente [7]. Sendo assim, a presença de alguns elementos químicos na composição vítrea propiciaram a formação de pelo menos três fases principais quando o vidro estudado é submetido ao tratamento térmico.

Outras fases, chamadas de fases cristalinas secundárias, também podem ter sido for-

madras, entretanto, por estarem em menor quantidade, a intensidade do pico de difração é menor. Além disso, estes picos podem estar sobrepostos a outros, devido a alguns planos cristalográficos em comum, dificultando sua identificação. Contudo, a presença de múltiplas fases principais em vidros do tipo borato são comuns, como já visto em alguns estudos e abordado também por Erfani *et al.*, que sintetizaram nanopartículas de borato de cálcio e o efeito de recozimento em sua estrutura e tamanho, o qual apresentou até cinco fases associadas ao boro em uma única amostra [37].

Complementarmente, amostras foram produzidas na temperatura de tratamento térmico de 810 °C, ou seja, após o T<sub>m</sub> no DTA. O difratograma para esta amostra é mostrado na figura 3.10 e as fichas utilizadas para indexação das fases estão identificadas.

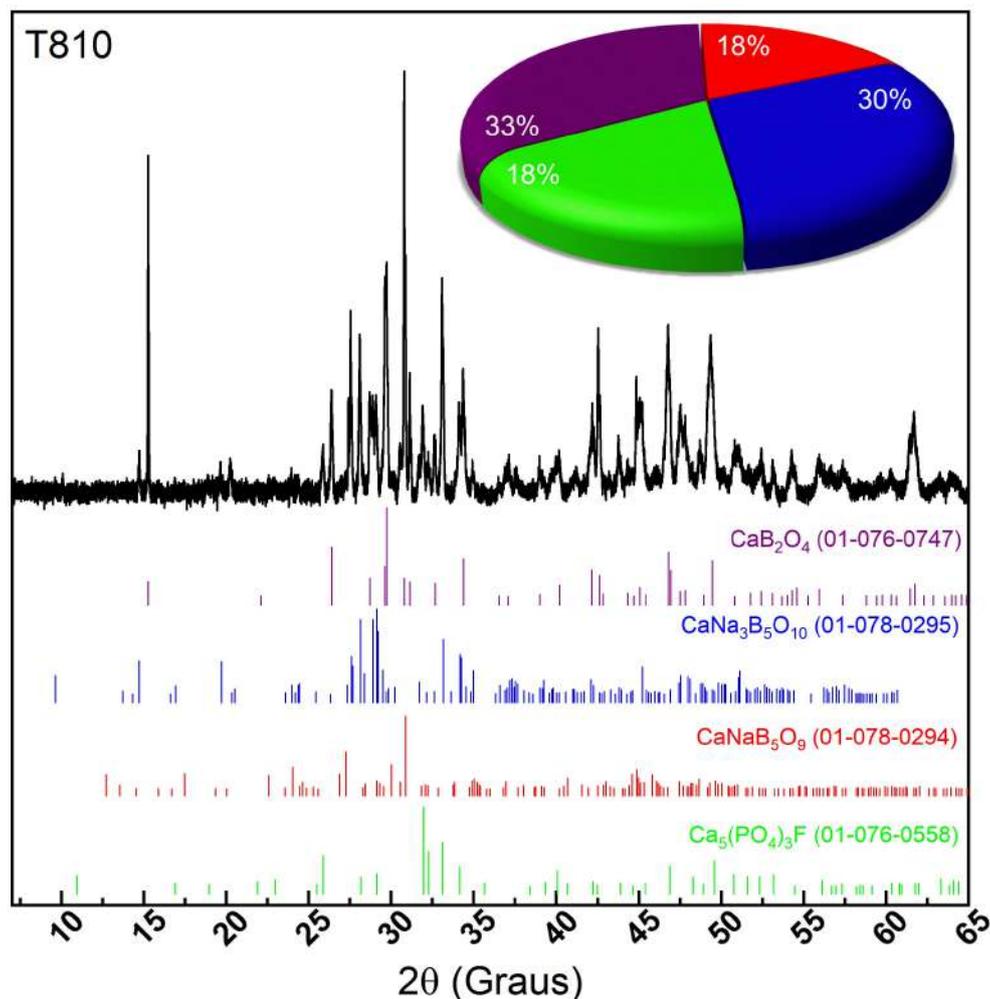


Figura 3.10: Difratoograma de raios X da amostra T810 com indexação das fases CaB<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (JCPDS #01-076-0747), CaNa<sub>3</sub>B<sub>5</sub>O<sub>10</sub> (JCPDS #01-078-0295), CaNaB<sub>5</sub>O<sub>9</sub> (JCPDS #01-078-0294) e Ca<sub>5</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>F (JCPDS #01-076-0558). O detalhe apresenta análise semiquantitativa pelo método RIR.

Vale observar primeiramente que para esta temperatura de tratamento térmico ocorreu

a formação de uma nova fase,  $\text{CaB}_2\text{O}_4$ , ficha cristalográfica 01-076-0747. Ao comparar a semiquantificação realizada pelo método RIR entre a T810 e as amostras tratadas termicamente em temperaturas menores, pode-se notar uma consistência nas fases  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ . Ainda, redução da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ . Em contrapartida, a nova fase,  $\text{CaB}_2\text{O}_4$ , prepondera o difratograma.

É possível associar a redução da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  e o aparecimento da fase  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  como sendo decomposição de uma em outra. Apesar de outros autores já terem relatado a decomposição de fase em outros materiais [38–41], este fato não foi observado para os vidros, existindo a possibilidade de ter acontecido esta decomposição como resultado de pouco tempo de tratamento térmico e conseqüentemente, pouca energia fornecida para o material, evitando que as fases fossem totalmente fundidas. Garcia *et al.* relatam que a fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  decompõe-se em  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  cristalino somado a  $\text{NaB}_3\text{O}_5$  amorfo para minerais borato [38], sendo que a fase  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  inicia sua fusão em aproximadamente 989 °C [42]. Assim, a temperatura de 810 °C apenas a fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  decompôs-se, já que, a fase  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  é totalmente convertida apenas para valores superiores a 800 °C. Vale relembrar que esta temperatura também é alterada dependendo dos elementos e composições que constituem o material [38].

Além da análise estrutural realizada por meio do DRX, é importante que haja a avaliação dos modos vibracionais dos materiais em estudo, uma vez que eles podem fornecer informações moleculares, confirmando a discussão realizada na presente seção. Para isto, a espectroscopia Raman e infravermelho foram utilizadas.

### 3.3 Avaliação espectroscópica dos vidros e vitrocerâmicas

A avaliação dos espectros Raman e infravermelho das amostras é de grande importância na compreensão das estruturas vítreas e das vitrocerâmicas, já que estas técnicas são capazes de avaliar os grupos funcionais formados, rompidos e/ou modificados influenciados pela temperatura a partir da interação radiação-matéria.

### 3.3.1 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman, de forma geral, é capaz de fornecer informações vibracionais do material em estudo. Com isto, informações quanto aos modos de vibração das ligações químicas podem ser coletadas, permitindo que o material seja caracterizado de forma molecular, avaliando os grupos funcionais presentes. Desta maneira, as análises via espectroscopia Raman são apresentadas nesta subseção para o vidro em função do tratamento térmico.

Na figura 3.11 é exibido o espectro Raman do vidro sem tratamento térmico, sequencialmente é apresentado o espectro para as amostras T490 e T560. Apesar dos espectros terem sido coletados no intervalo de 4000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , os mesmos não apresentam modos vibracionais entre de 4000 até 1800  $\text{cm}^{-1}$ , optando por não inseri-los neste trabalho.

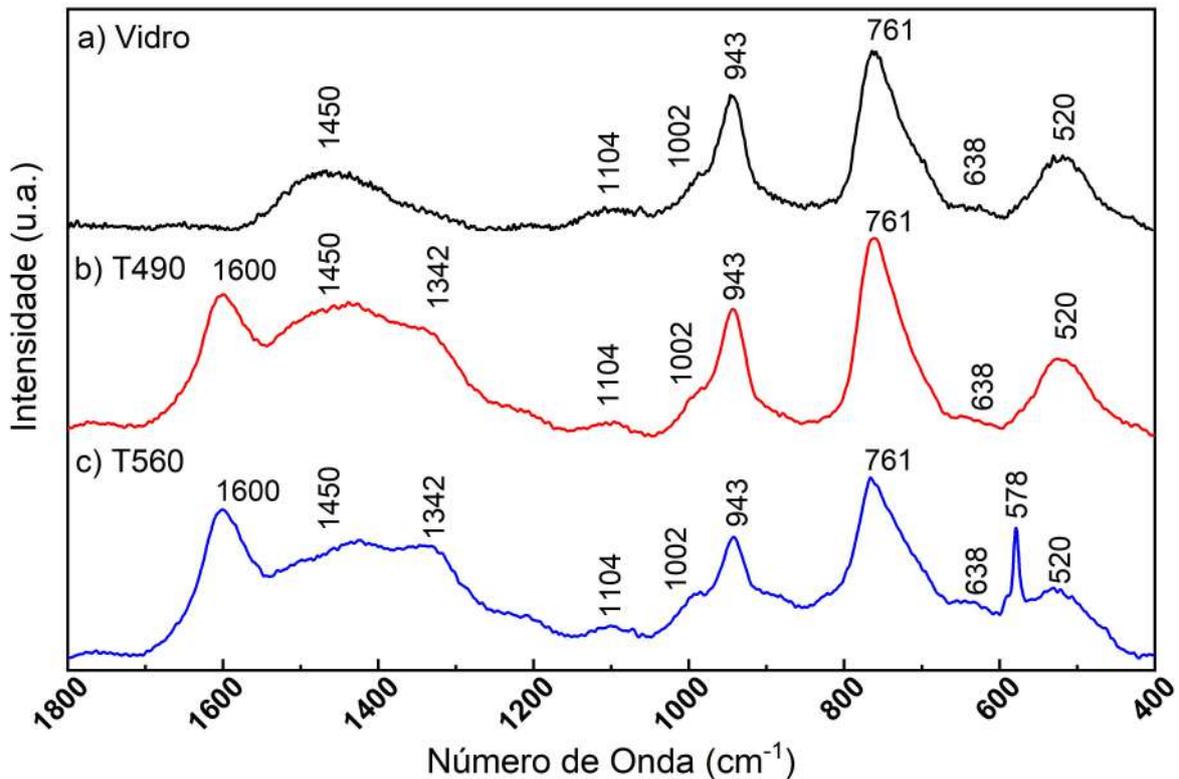


Figura 3.11: Espectros Raman para a) vidro; b) T490 e c) T560.

O espectro Raman de vidros formados por  $\text{B}_2\text{O}_3$  foram conhecidos e estudados por diversos autores [43–46]. Como já visto, o vidro formado a base de boro tende a formar anéis boroxol constituído de estruturas  $\text{BO}_3$  em um único plano. Com a adição de óxido modificador, essas estruturas podem alterar sua coordenação, não necessariamente rompendo ligações, mas modificando sua conformação [1].

A presença de pentóxido de fósforo na composição deste vidro, tem a intenção de agir justamente como agente modificador, alterando suas respostas bioativas, conforme estudado por Portes [28]. Conseqüentemente, intensifica-se as mudanças conformacionais do vidro e, em conjunto com os outros reagentes, promove a formação de grupos poliboratos, como é o caso das estruturas do tipo pentaboratos.

Segundo Meera e Ramakrishna [43], em seu artigo de revisão, os pentaboratos são originados em decorrência da adição de modificadores na matriz vítrea, convertendo os anéis boroxol nestas estruturas e não em estruturas do tipo tetraborato ou triborato. Isto pode ser notado na banda em  $761\text{ cm}^{-1}$ , estudado por Kamitsos e Chryssikos e atribuída como pentaborato formado pela união de dois anéis de 6 membros com um tetraedro  $\text{BO}_4^-$ , influenciada pela adição de óxidos alcalinos e alcalinos terras, como o  $\text{Na}_2\text{O}$  e  $\text{CaO}$  [44]. Este modo vibracional é referente as ligações do tipo B-O-B presente nesta estrutura [45].

As cadeias e anéis de metaborato estão presentes na região de  $1450\text{ cm}^{-1}$  e  $638\text{ cm}^{-1}$ , apresentando modos de vibração da cadeia e também dos anéis [43, 45]. Estruturas do tipo diborato são notadas pela banda em  $1104\text{ cm}^{-1}$  [43, 45]. Kamitsos e Chryssikos observaram que a presença de óxidos modificadores influenciam também a presença destes grupos borato [44]. Ainda, o estudo Raman de vidros borato e lítio mostram vibrações do tipo B-O em  $520\text{ cm}^{-1}$  referente ao boro tetracoordenado ( $\text{BO}_4^-$ ), que está presente na união dos anéis na estrutura pentaborato [45].

A banda em  $1002\text{ cm}^{-1}$  é devido à presença de fósforo na matriz vítrea, a qual está relacionado com a criação de unidades de polifosfato contendo átomos de boro. Por fim, o pico em  $943\text{ cm}^{-1}$  com modo de estiramento simétrico das unidades tetraédricas  $\text{PO}_4$  (ligação P-O) ( $\nu_1$ ) [46]. Estes modos vibracionais foram também notados e explanados por Portes em sua tese de doutorado, o qual caracterizou este vidro sem tratamento térmico [28].

As bandas observadas para o vidro sem tratamento térmico comprovam as características de vidros boratos. Ainda, as bandas mais alargadas também validam a característica amorfa de vidro observada no difratograma.

O espectro Raman da amostra T490 é exibido na figura 3.11 b). Nota-se o surgimento de duas novas bandas, em  $1600\text{ cm}^{-1}$  e em  $1342\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas podem ser atribuídas aos modos de estiramento da ligação de B-O<sup>-</sup> de anéis e cadeias de metaboratos [45]. A

banda em  $1342\text{ cm}^{-1}$  pode estar relacionada à cadeia de  $\text{B}_5\text{O}_{11}$ , ou seja, grupamento de dipenta-borato [45, 47]. Os outros modos vibracionais, seguem semelhantes aos do vidro sem tratamento. Desta maneira, há um indício de que em  $490\text{ }^\circ\text{C}$  está iniciando um processo de modificação, para que a sinterização inicie.

Apesar da amostra T560 apresentar espectro semelhante a T490, nota-se um pico estreito e de característica cristalina em  $578\text{ cm}^{-1}$ , o qual pode ser associado a um cristalite. Este modo vibracional refere-se a deformações das ligações de  $\text{BO}_3$  e  $\text{BO}_4$  [48, 49], as quais podem estar associado com cristalização inicial das fases relacionadas ao boro, uma vez que esta temperatura de tratamento térmico apresenta início de picos de difração no raio X e as fases contendo boro foram identificadas em temperaturas mais altas de cristalização. Dessa maneira, confirma que a temperatura de  $560\text{ }^\circ\text{C}$  origina um processo de alteração estrutural e molecular no vidro e isto é possível ser detectado utilizando a espectroscopia Raman, por conta da sensibilidade desta técnica à mudança de curto alcance dentro de uma célula unitária [50].

À medida que a temperatura de tratamento térmico do material aumenta, outras alterações foram também detectadas via espectroscopia Raman. Para isto, a figura 3.12 compara a amostra T560 e T615, mostrando que houve uma transição entre as propriedades vítreas para propriedades de vitrocerâmicas, ou seja, de características amorfas tais como picos e bandas alargados para características cristalinas tais como picos estreitos. Essas alterações espectrais corroboram com as alterações nos padrões de difração obtidos via DRX.

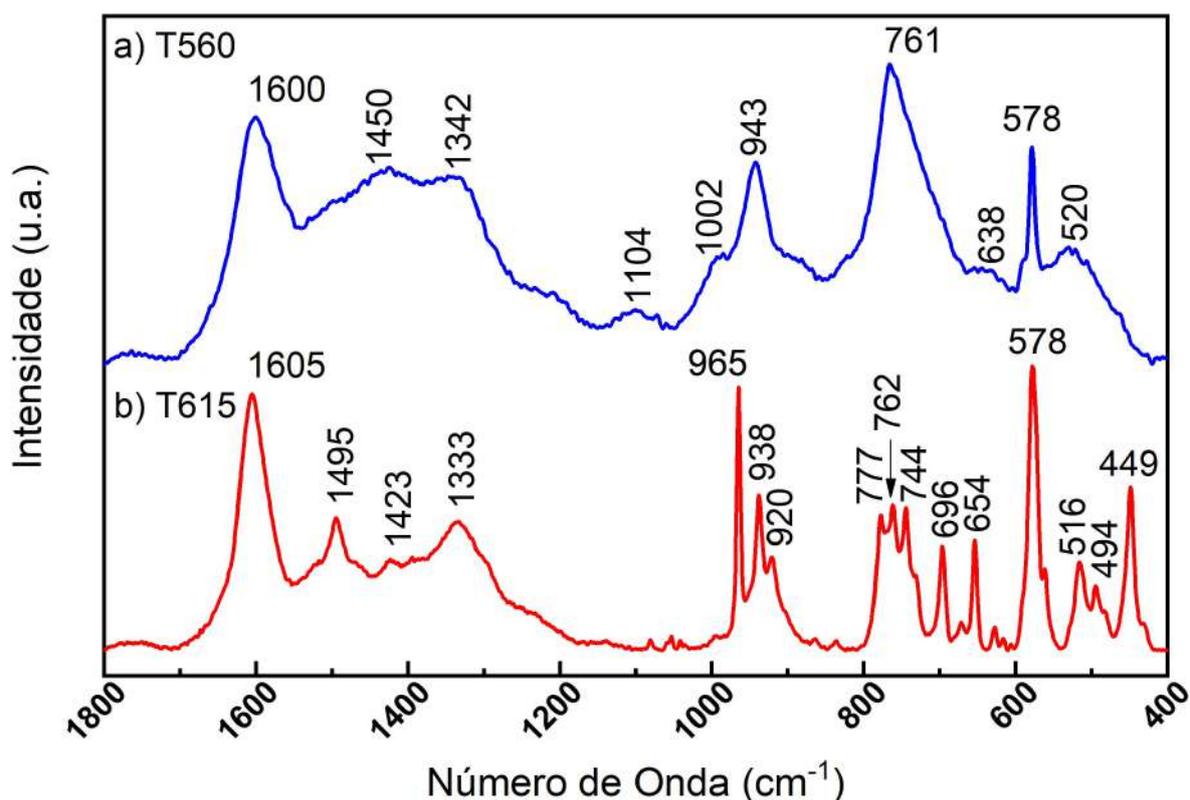


Figura 3.12: Comparativo entre os espectros Raman das amostras: a) T560 e b) T615.

O primeiro ponto a ser destacado é que o pico em  $578\text{ cm}^{-1}$  permanece centrado neste valor, tornando-se apenas mais intenso. Ele se refere aos modos de deformação entre boro e oxigênio [48, 49]. Desta forma, assim como para a amostra T560, este modo de vibração continua presente para a amostra T615.

A região entre  $1100$  e  $400\text{ cm}^{-1}$  é totalmente alterada, na qual pode-se notar a transformação das bandas largas para picos, ocasionados devido ao processo de cristalização do material. A banda em  $943\text{ cm}^{-1}$  atribuída anteriormente ao modo de estiramento simétrico das unidades tetraédricas  $\text{PO}_4$  [46], também chamadas de ortofosfatos desloca-se para  $965\text{ cm}^{-1}$ , correspondendo ao modo  $\nu_{1s}$  (estiramento simétrico) da unidade de  $\text{PO}_4$  da fluorapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ ) [51, 52].

Neste intervalo espectral ainda aparecem outras bandas, as quais são atribuídas a modos de estiramentos e deformações das unidades  $\text{BO}_3$  e  $\text{BO}_4$  e do acoplamento ou desacoplamento entre tais estruturas [49, 53]. Segundo Frost, o ânion borato mais simples ( $\text{BO}_3^{3-}$ ), chamado de ortoborato, apresenta quatro regiões principais de vibração: entre  $1285$  e  $1020\text{ cm}^{-1}$  associado ao modo de estiramento assimétrico, enquanto que, estiramento simétrico é encontrado na região de  $945$  a  $840\text{ cm}^{-1}$ . Ainda, associa-se deformação

fora do plano o intervalo entre 810 e 676  $\text{cm}^{-1}$  e no plano, entre 672 e 570  $\text{cm}^{-1}$  [53]. Kipcak *et al.* ainda complementam Frost *et al.* ao dizerem que os estiramentos podem ser associados também a unidades tetraédricas de B-O [49].

Além disto, devido a presença de pelo menos três fases no material em análise, conforme apresentado na difratometria de raios X, cada fase pode apresentar pequenas mudanças nos arranjos interatômicos e alterações nas distâncias espaciais, as quais podem ocasionar deslocamentos, ausência ou presença de novos picos mesmo que o grupo funcional em questão seja o mesmo, isto porque, a energia espalhada inelasticamente entre esses grupos será diferente, uma vez que a interação entre a radiação e a matéria é modificada [54].

Outro detalhe a ser observado, são os picos originados acima de 1300  $\text{cm}^{-1}$ , modos vibracionais estes que são atribuídos a cadeias de metaboratos, não só por Yadav *et al.* [45], mas também por Rulmont e Almou [55]. Estas cadeias podem ser cadeias simples ou até mesmo estruturas mais complexas contendo grupos de  $\text{BO}_3$  e  $\text{BO}_4$  interconectados. Desta forma, as regiões próximas a 1450  $\text{cm}^{-1}$ , são atribuídas a estiramentos de estruturas de B-O as quais possuem um oxigênio externo aos sítios de coordenação, ou seja, oxigênios não ligados. Enquanto que, as regiões próximas a 1150  $\text{cm}^{-1}$  encontram-se os modos associados as pontes de B-O, que possuem distância interatômica significativamente menor [45, 55].

A figura 3.13 apresenta o espectro Raman da amostra T615 com indexação da fase da fluorapatita em verde, obtida por meio do banco de dados RRUFF número R040098-3 [56]. Além disto, em azul são apresentados os picos referentes à fase  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  [48] e a fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  está apresentada em vermelho, obtida por meio de comparação com a amostra T810, conforme será discutido adiante.

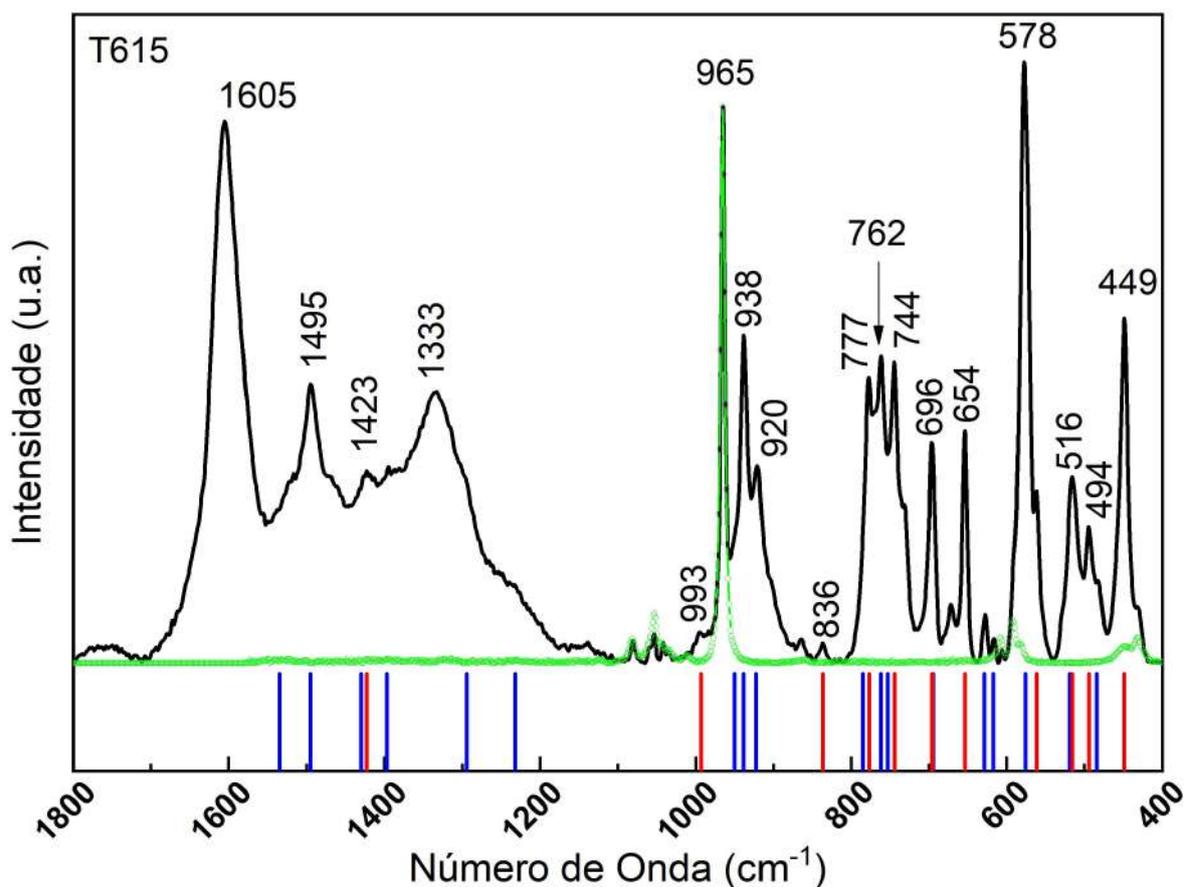


Figura 3.13: Espectro Raman da amostra T615 com indexação da Fluorapatita em cor verde segundo ficha RRUFF R040098-3 [56], fase  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  em azul [48] e  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  em vermelho obtida por comparativo.

Como é possível observar, o pico em  $965\text{ cm}^{-1}$  está associado ao modo  $\nu_1$  da fluorapatita [51, 52, 56], enquanto que, os outros modos vibracionais estão sobrepostos por modos vibracionais referentes ao boro. Este fator corrobora com os resultados obtidos pela difratometria, ao evidenciar a presença desta fase no material.

Além disto, o espectro da amostra T615 apresenta muitas contribuições relacionadas à fase  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$ . Esta fase é estruturada por pentaboratos, constituído de unidades de poliânion  $((\text{B}_5\text{O}_{10})^{5-})$ , em que cada átomo de oxigênio pode se coordenar com até quatro cátions ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ). Os poliânions por sua vez, são constituídos de dois anéis que contém unidades trigonais  $\text{BO}_3$  conectadas por unidades tetraédricas  $\text{BO}_4$  que apresentam diferentes distâncias para as ligações de B-O, dependendo da localidade e vizinhança da molécula [57].

Outro ponto a destacar, é que possivelmente há picos sobrepostos referentes à fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ . Nela há a presença de unidades de poliânion também, entretanto, a estrutura

é construída como uma folha complexa. A unidade polianiônica se propaga por translação ao longo de um eixo, construindo longas cadeias. Cada estrutura contém dois conjuntos de sítios catiônicos, sendo que eles podem ficar no meio das folhas ou entre as folhas [58].

A mesma análise pode ser realizada para as amostras tratadas termicamente nas temperaturas subsequentes e apresentadas na figura 3.14. Uma vez que, na região de 1100 a 400  $\text{cm}^{-1}$  não houve alterações significativas, registrando uma melhor evidência dos picos entre 800 e 700  $\text{cm}^{-1}$ , devido a um maior grau de cristalização das fases, conforme observado pelo índice de cristalinidade das amostras.

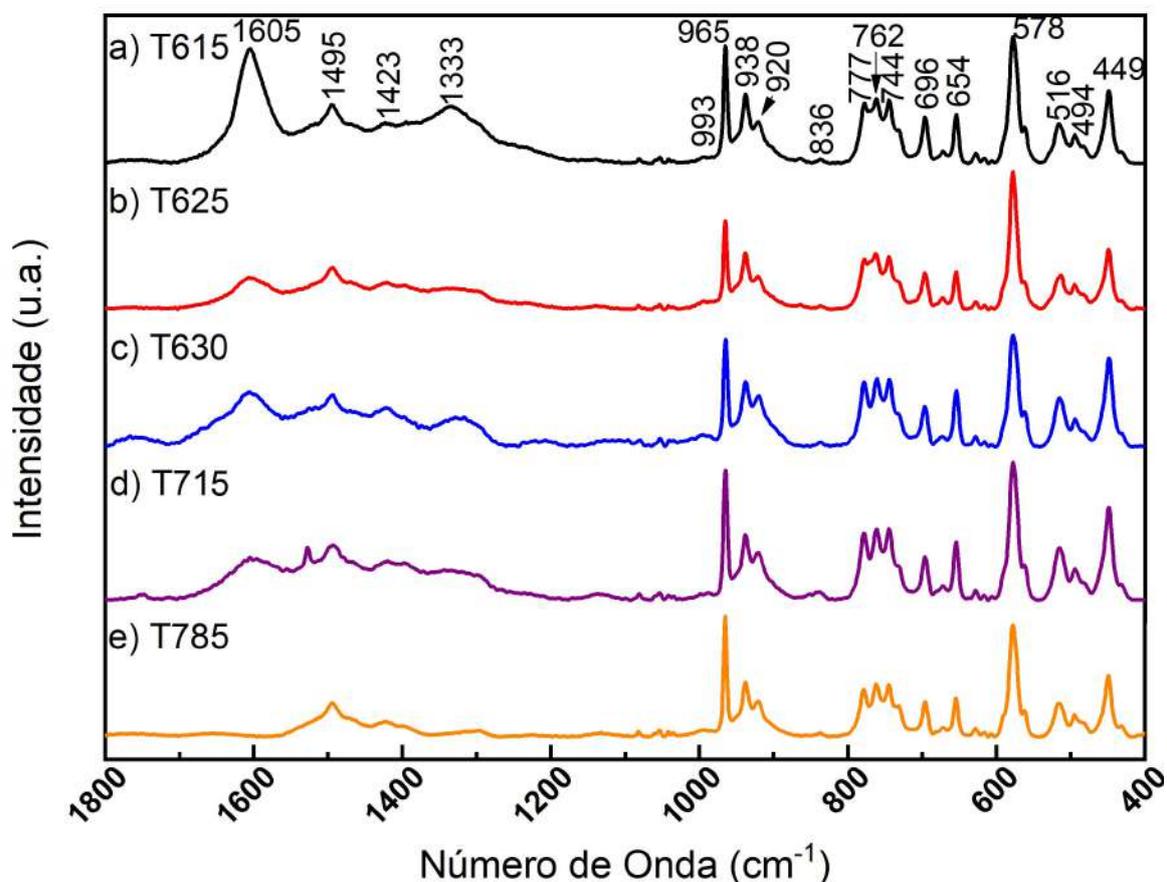


Figura 3.14: Espectros Raman para as seguintes amostras: a) T615; b) T625; c) T630; d) T715 e e) T785.

Vale ressaltar também, a presença de um pico 1527  $\text{cm}^{-1}$  para a amostra T715, o qual pode ser atribuído a estiramentos da estruturas de B-O com oxigênio não ligado [55]. Ainda, uma ligeira mudança na região acima de 1300  $\text{cm}^{-1}$  é notória. Provavelmente devido à inibição dos modos vibracionais relacionados às cadeias de metaborato, com o aumento de temperatura e estabilização da rede cristalina.

Desta maneira, os resultados obtidos para a espectroscopia Raman concordam com o

que foi obtido na difratometria de raios X, visto que, além da Fluorapatita ter sido detectada, as fases de cálcio, sódio, boro e oxigênio podem ser responsáveis pela disposição dos picos observados, apesar de que, por ambas fases serem constituídas das mesmas unidades fundamentais:  $\text{BO}_3$  e  $\text{BO}_4$ , não é possível fazer a devida separação nos espectros. A amostra T810 também foi submetida a espectroscopia Raman, como pode ser observado na figura 3.15c). Desta forma, foi possível indexar os picos referentes à fases da Fluorapatita, obtidas via RRUFF [56],  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  [48] e  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  [55], corroborando com as fases apresentadas pela difratometria. Todavia, a amostra T810 reduziu drasticamente a quantidade da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ . Logo, os modos vibracionais que desapareceram ou que tiveram suas intensidades reduzidas, podem estar associados justamente à fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  e foram apresentados na figura 3.15 comparando com as amostras T625 e T785.

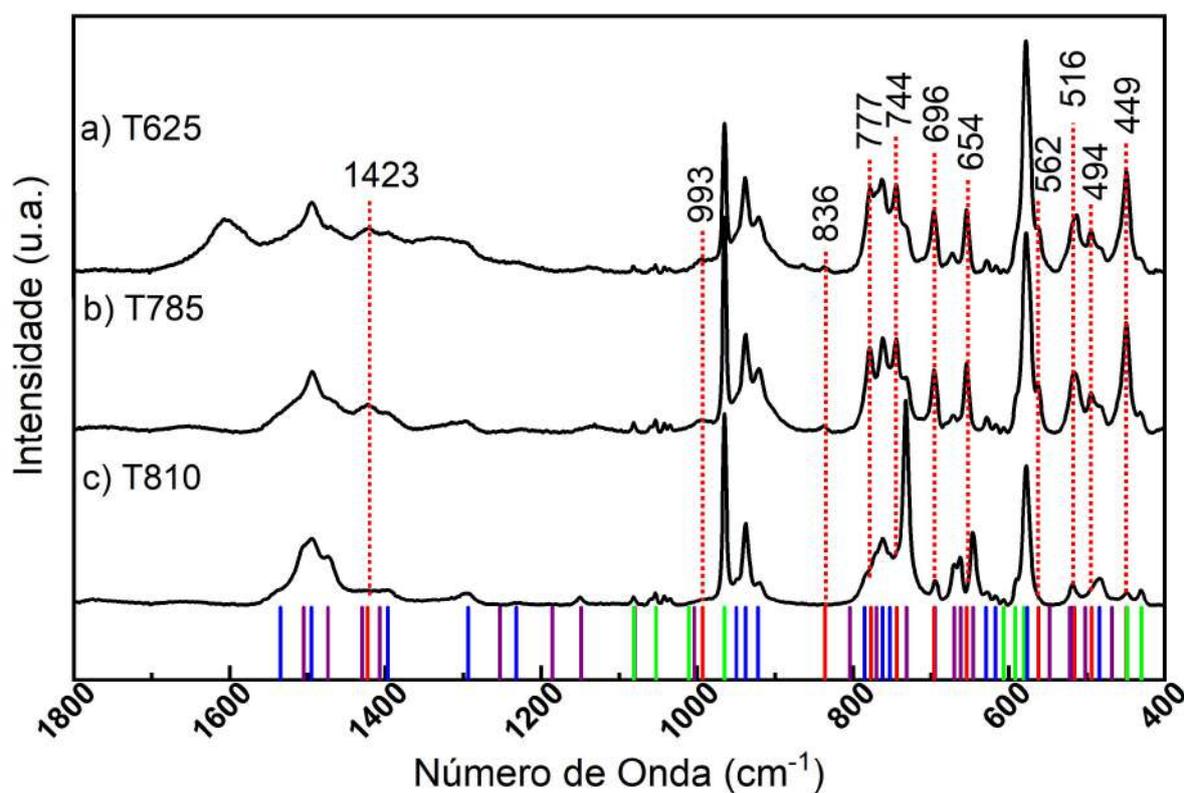


Figura 3.15: Espectros Raman para as amostras: a) T625; b) T785 e c) T810 com indexação da fluorapatita em cor verde segundo ficha RRUFF R040098-3 [56], fase  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  em roxo [55],  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  em azul [48] e  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  em vermelho obtida por comparativo.

As fases  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  apresentam grupos funcionais semelhantes que podem acarretar na sobreposição dos picos das fases e, utilizando a comparação entre os espectros, há apenas a identificação daqueles picos da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  que não se sobrepõem aos da fase  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$ . A fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  obtida por comparação foi indexada

nos espectros das temperaturas inferiores, bem como, no espectro da amostra T810, visto que, ainda pode existir esta fase em menor quantidade.

Além da espectroscopia Raman, a espectroscopia FTIR também pode ser utilizada para avaliar os modos vibracionais, em virtude de serem técnicas complementares, podendo fornecer novas informações. Apesar da maior parte das simetrias moleculares serem detectáveis por ambas as técnicas espectroscópicas, há algumas exceções na qual são apenas Raman ativa ou infravermelho ativa [54]. Portanto, a espectroscopia FTIR será utilizada de maneira complementar neste estudo, a fim de confirmar os modos vibracionais detectáveis via Raman [54].

### 3.3.2 Espectroscopia no Infravermelho

A figura 3.16 apresenta os espectros no infravermelho entre o intervalo espectral de 1800 a 400  $\text{cm}^{-1}$  do vidro sem tratamento térmico, e das amostras T490 e T560.

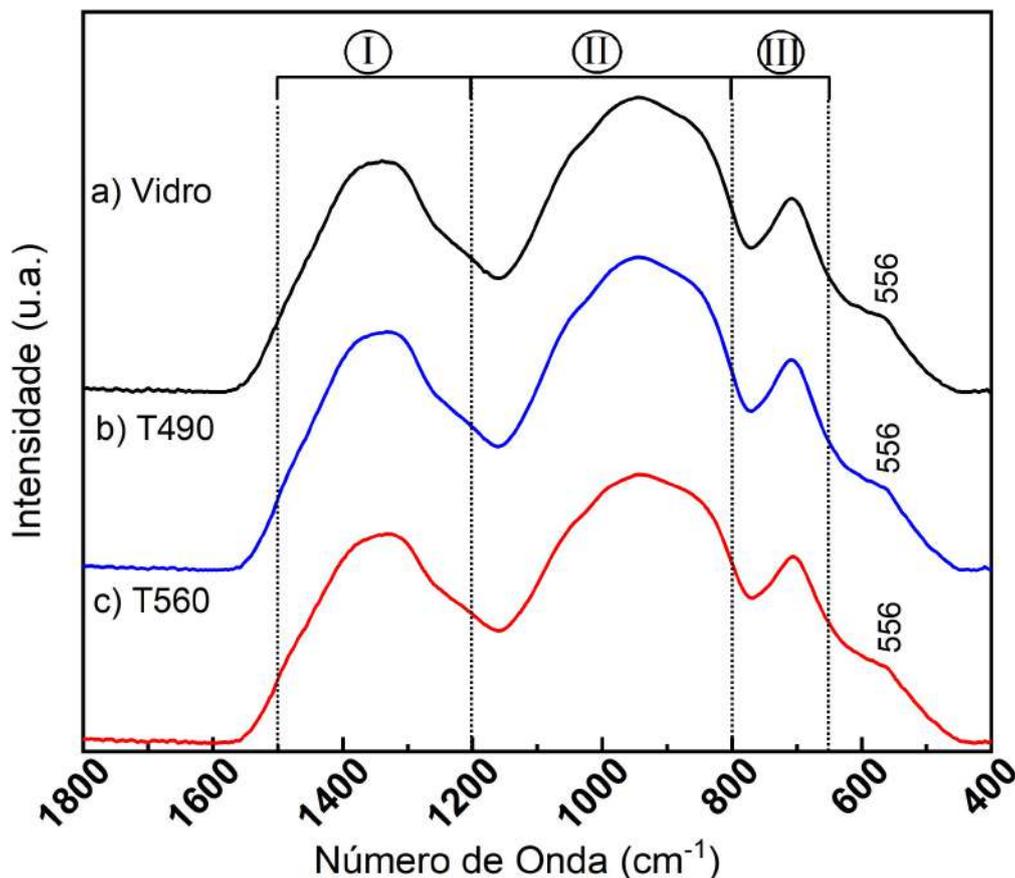


Figura 3.16: Espectros FTIR para: a) vidro; b) T490 e c) T560. As regiões I, II e III indicam os intervalos de 1500 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ , 1200 a 800  $\text{cm}^{-1}$  e 800 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , regiões características de vidros borato.

Para vidros borato, três regiões espectrais mostram-se ativas no infravermelho, sendo elas: 1500 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ , 1200 a 800  $\text{cm}^{-1}$  e 800 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , identificadas na figura 3.16 pela Região I, II e III, respectivamente. A banda com centro em 1400  $\text{cm}^{-1}$  apresenta modos de vibração de estiramento B-O das unidades de  $\text{BO}_3$  presentes em cadeias e anéis de metaboratos [59,60].

A região de 1200 a 800  $\text{cm}^{-1}$  é caracterizada por vibrações de estiramento dos grupos contendo tetraedros de  $\text{BO}_4$  como: diborato, triborato, tetraborato e pentaborato. Enquanto que, entre 800 e 600  $\text{cm}^{-1}$  os modos vibracionais são de deformação destes mesmo grupos [59,60]. Por fim, o ombro em aproximadamente 556  $\text{cm}^{-1}$  é característico de estiramento das ligações do tipo P-O originadas pela adição de  $\text{P}_2\text{O}_5$  na matriz

vítrea [59].

Para as amostras T490 e T560, nota-se uma estrutura semelhante a do vidro sem tratamento e com característica de materiais amorfos. Com a espectroscopia no infravermelho, a detecção do início da cristalização não foi constatada como via Raman, possivelmente devido a alterações das distâncias interatômicas, justamente pelo fato da a espectroscopia Raman ser muito sensível a ordem de curto alcance dentro de uma célula unitária [50].

Uma comparação é realizada na figura 3.17 entre a amostra T560 e T615. Assim como no Raman, é possível perceber diferenças espectrais ocasionadas devido ao processo de cristalização, como a conversão das bandas largas em bandas mais estreitas.

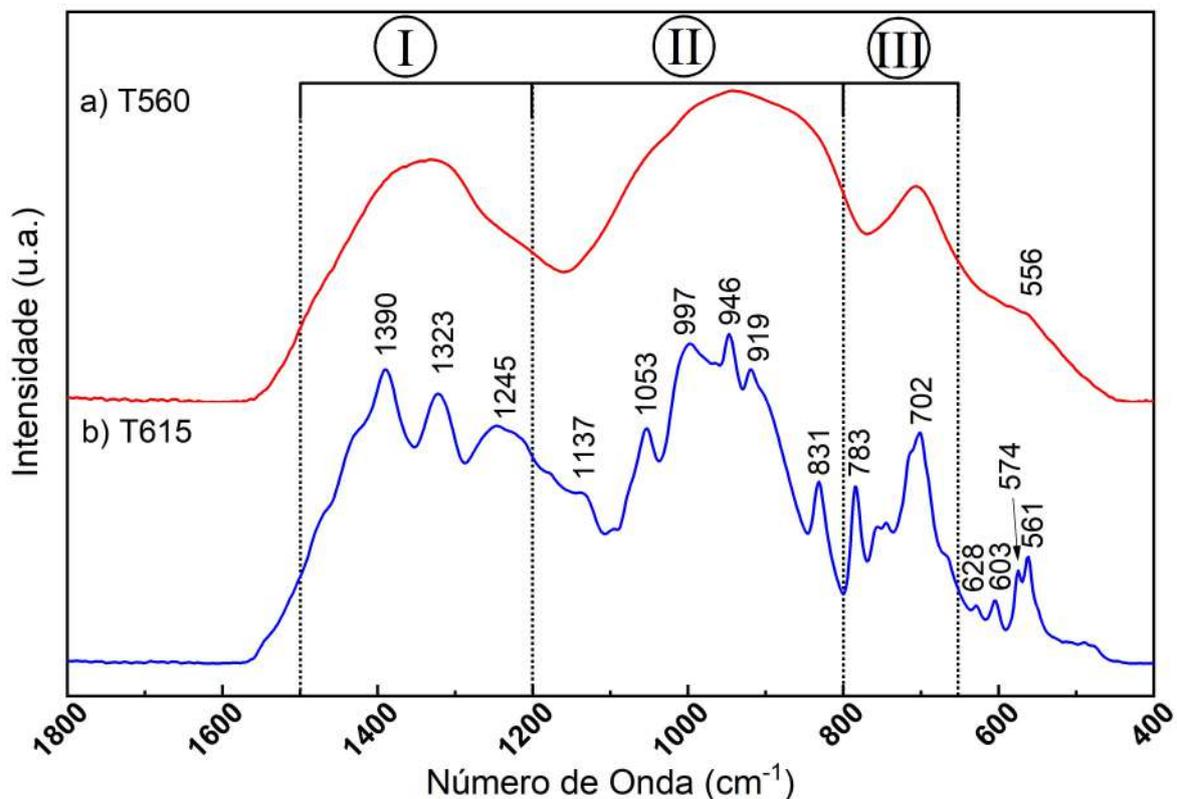


Figura 3.17: Comparativo dos espectros FTIR para: a) T560 e b) T615, sendo as regiões I, II e III os intervalos de 1500 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ , 1200 a 800  $\text{cm}^{-1}$  e 800 a 600  $\text{cm}^{-1}$ , regiões características de vidros borato.

A região III atribuída até então as deformações dos grupos contendo tetraedros de boro ( $\text{BO}_4$ ) para as amostras de caráter amorfo, podem ser relacionadas na amostra T615 a deformações dos boratos trigonais ( $\text{BO}_3$ ), segundo Frost *et al.* [61]. Os autores estudaram o mineral borato  $\text{Ca}_3(\text{BO}_3)_2$ , observando picos de absorção no infravermelho em 677, 694, 707, 712, 728 e 742  $\text{cm}^{-1}$ . Kipcak *et al.* [49], por sua vez, atribuem a região próxima de 656  $\text{cm}^{-1}$  a modos de deformação da ligação entre boro e oxigênio dos grupos  $\text{BO}_3$  e Pascuta

*et al.* [62] associam bandas em 704 e 773  $\text{cm}^{-1}$  a deformações de B-O-B e  $\text{O}_3\text{B-O-BO}_4$ , respectivamente. Então, pode-se afirmar que esta região é caracterizada por modos de deformação das ligações estruturais do boro ( $\text{BO}_3$  e  $\text{BO}_4$ ).

Com relação ao intervalo de 1200 a 800  $\text{cm}^{-1}$ , ou seja, região II, os modos vibracionais continuam sendo atribuídos a estiramentos das unidades do boro, basicamente. Além disso, a banda em 919  $\text{cm}^{-1}$  é associada a estiramento simétrico de  $\text{BO}_3$ , enquanto que, a região próxima a 1059  $\text{cm}^{-1}$  é pertencente aos estiramentos assimétricos de  $\text{BO}_4$  [49]. Ademais, em 946  $\text{cm}^{-1}$  está presente no trabalho de Pascuta *et al.* [62], em 945  $\text{cm}^{-1}$ , o qual é associado a estiramos de B-O presente nas unidades de  $\text{BO}_4$  que formam os grupos diboratos e, estiramentos de B-O em pontes que são atribuídos em 1140  $\text{cm}^{-1}$  por Rulmont e Almou [55].

A região III é atribuída a estiramentos B-O das unidades de  $\text{BO}_3$  presentes em cadeias e anéis de metaborato, grupos piroborato e ortoborato para as amostras sem tratamento, T490 e T560 [59, 60]. Entretanto, Peak *et al.* [63] estudaram a adsorção de ácido bórico em óxido férrico hidratado e o espectro de FTIR apresenta três picos nesta região, que são associados a estiramento das bandas trigonais de B-O, sendo o primeiro em 1395  $\text{cm}^{-1}$ , seguido de 1330  $\text{cm}^{-1}$  e 1250  $\text{cm}^{-1}$ . Picos estes, semelhantes aos obtidos pela amostra T615. Apesar dos materiais serem diferentes, eles apresentam espectro símile e a justificativa para os picos estão associadas com os complexos trigonais de boro ( $\text{BO}_3$ ) que por serem degenerados, apresentam diferentes estruturas e simetrias [63]. O mesmo é expresso por Kipcak *et al.* [49], Frost *et al.* [61] e Pascuta *et al.* [62], os quais dizem que a região de 1407 a 1251  $\text{cm}^{-1}$ , região I, contém bandas atribuídas a estiramento assimétrico de  $\text{BO}_3$ .

Especificamente o pico em 997  $\text{cm}^{-1}$  não foi encontrado atribuição. Porém, este pico encontra-se muito próximo ao pico principal da fluorapatita no FTIR, em 1024  $\text{cm}^{-1}$ . Pico este associado ao modo vibracional de estiramento assimétrico do  $\text{PO}_4$  [51]. Desta forma, as bandas associadas a fluorapatita podem estar sobrepostas aos modos vibracionais do boro. Pode-se observar ainda que 962 e 1091  $\text{cm}^{-1}$  referente ao modo de estiramento assimétrico e simétrico de  $\text{PO}_4$  da fluorapatita, respectivamente [51]. Mas, estes picos aparecem como um pequeno ombro no espectro da amostra T615, de maneira pouco evidenciado, porém, presente. Ainda, a fluorapatita apresenta picos na região abaixo de 610  $\text{cm}^{-1}$ . Sendo um pico em 599  $\text{cm}^{-1}$  e outro em 565  $\text{cm}^{-1}$ , associados a deformação

de  $\text{PO}_4$  [51].

Desta maneira, as caracterizações e atribuições realizadas para a amostra T615 podem ser utilizadas para as temperaturas de tratamento subsequentes, conforme a figura 3.18 mostra. Já que os modos vibracionais entre as temperaturas de tratamento térmico não evidenciaram alterações significativas.

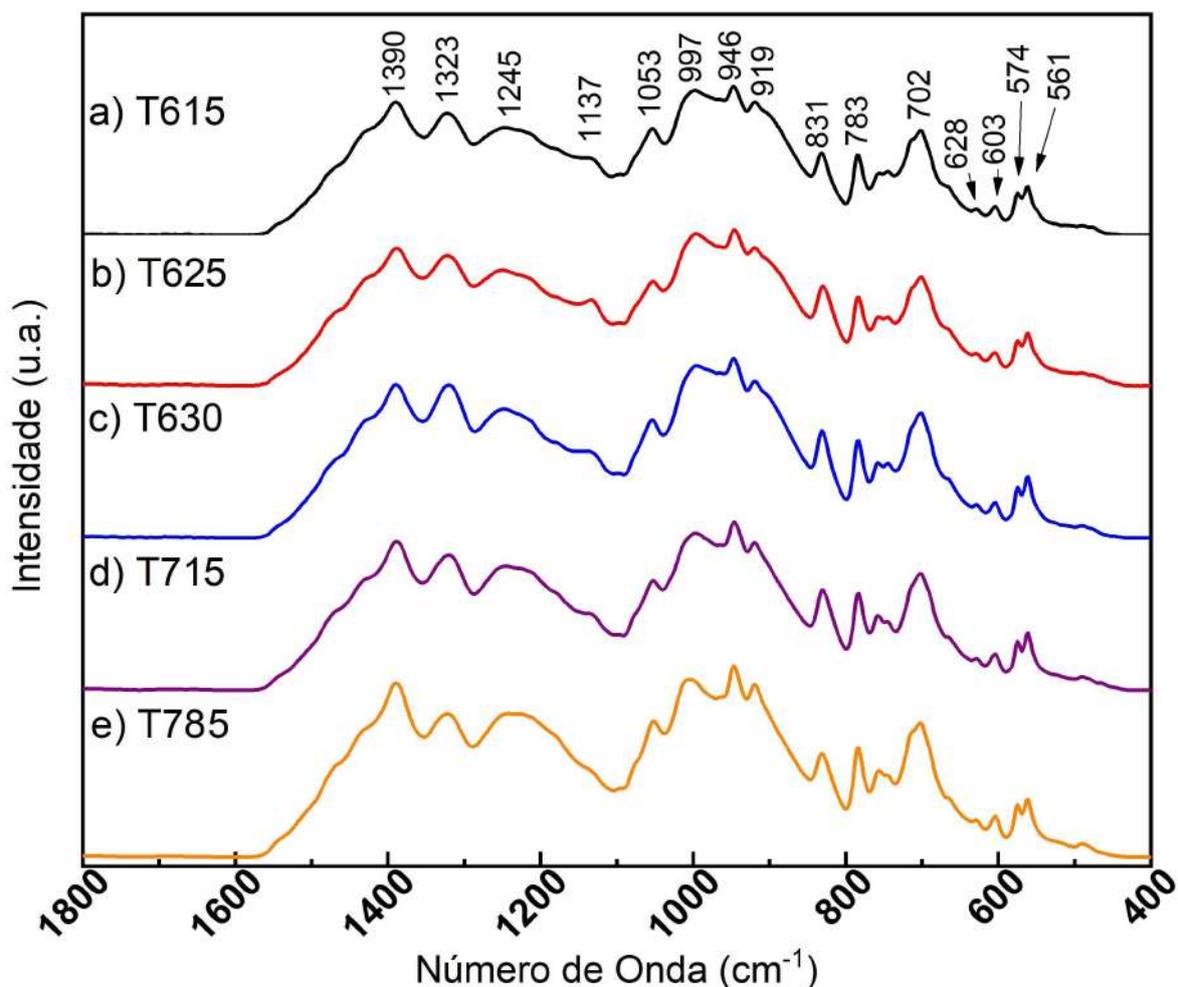


Figura 3.18: Espectros FTIR para as amostras: a) T615; b) T625; c) T630; d) T715 e f) T785.

A amostra T810 foi também analisada por espectroscopia no infravermelho. Desta maneira, ao detectar a fase da fluorapatita [56],  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  [48] e  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  [55], os picos que houvessem desaparecidos ou com suas intensidades reduzidas, quando comparadas com as amostras tratadas em temperaturas inferiores, pudessem estar relacionados justamente a fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , conforme pode ser observado na figura 3.19.

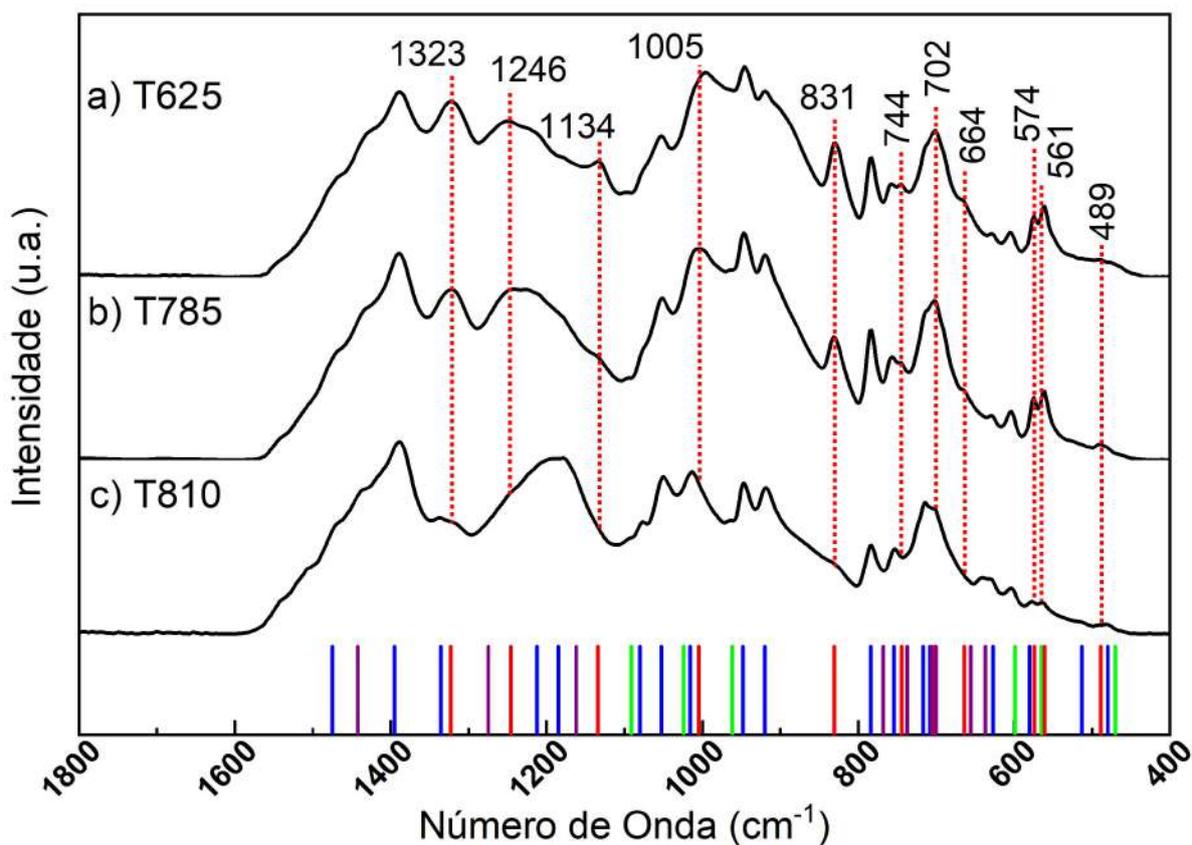


Figura 3.19: Espectros FTIR para as amostras: a) T625; b) T785 e c) T810 com indexação da fluorapatita em cor verde segundo ficha RRUFF R040098-3 [56], fase  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  em roxo [55],  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  em azul [48] e  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  em vermelho obtida por comparativo.

Assim como para o espectro Raman, é possível que haja sobreposição de picos relacionados a fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ , devido ao modo vibracional do boro comum com  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$ . Desta forma, há apenas a identificação das bandas que não se sobrepõem.

Pode-se então inferir que as informações obtidas por meio dos espectros de FTIR estão em concordância com os dados obtidos via Raman e conseqüentemente com a difratometria de raios X. Vale ressaltar que a fluorapatita não demonstra-se tão evidente no FTIR tal como é na espectroscopia Raman, evidenciando o fato das técnicas de espectroscopia Raman e infravermelho serem complementares [54]. Cabe ainda uma observação de que o FTIR foi menos sensível na detecção do processo de cristalização, uma vez que, esta técnica não detecta pequenas mudanças de curto alcance dentro de uma célula unitária [50].

### 3.4 Avaliação microscópica dos vidros e vitrocerâmicas

As imagens obtidas por meio da microscopia eletrônica de varredura (MEV) são analisadas de forma qualitativa, através do estudo morfológico das amostras tratadas termicamente. Para essa análise, foram realizadas diversas micrografias, sendo que apenas as mais representativas foram escolhidas para serem apresentadas no presente trabalho.

As imagens de MEV foram realizadas na superfície e na fratura das amostras antes e após tratamento térmico. Primeiramente, na figura 3.20 a), imagens do pó de vidro utilizado para preparo das amostras é exibida, apresentando partículas com ampla distribuição nos tamanhos, mas todas menores que  $45 \mu\text{m}$ , com formatos irregulares e fraturas concoidais, característica de vidros moídos, ou seja, ocasionadas devido ao processo de pulverização [64].

Na figura 3.20 b) é possível observar a superfície do material compactado, amostra controle, antes do tratamento térmico, o qual apresenta uma superfície semelhante ao pó. É possível notar que além da presença das partículas irregulares, há fraturas concoidais formando uma espécie de aglomerados, como consequência do processo de compactação [64]. Todavia, nota-se uma compactação efetiva de partículas, ou seja, uma peça não laminada em que as partículas menores são responsáveis por rearranjar-se entre as maiores, fazendo com que o espaçamento entre partículas seja reduzido, diminuindo a formação de poros, no entanto, não impedindo a presença de microporosidades, conforme observado no detalhe.

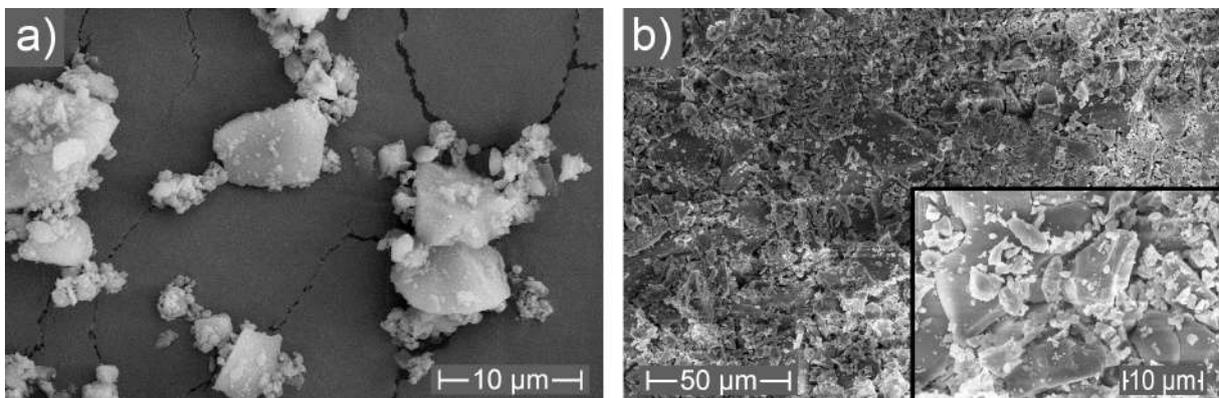


Figura 3.20: Micrografias obtidas via MEV sendo a) pó de vidro e b) amostra compactada e sem tratamento térmico.

Para a amostra T490, temperatura de  $T_g$  do vidro, tanto a superfície quanto a fratura

mostradas na figura 3.21 a) e b), respectivamente, exibem uma morfologia s milde à amostra controle, ou seja, as partículas continuam com aspecto de aglomerado e com presença de microporos. Dessa maneira, mesmo o Raman evidenciando algumas alterações moleculares, morfologicamente nota-se que a temperatura, ou até mesmo o tempo, não foram suficientes para iniciar o processo de sinterização. Dando evidências de que   necessário um tratamento com temperatura superior ao pico endotérmico do  $T_g$ , ou com tempo mais prolongado, para que a sinterização realmente inicie.

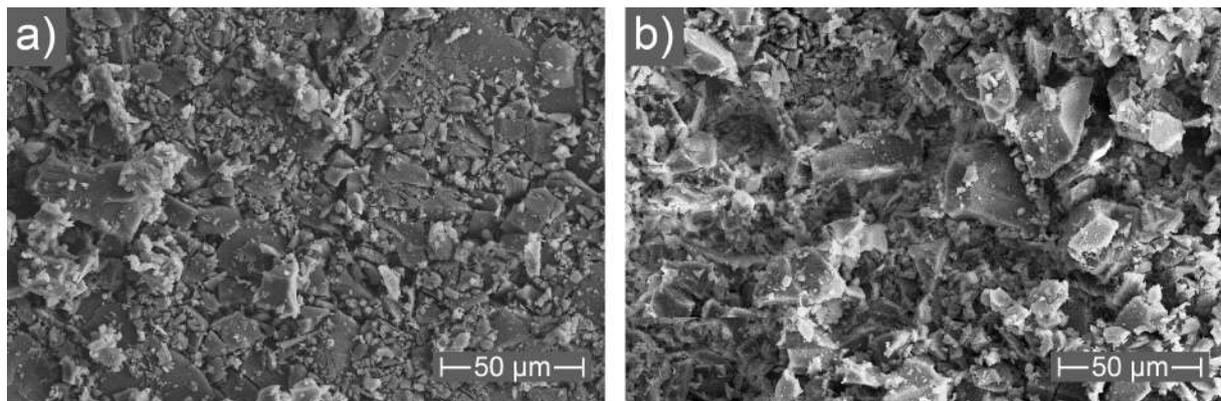


Figura 3.21: Micrografias obtidas via MEV da amostra T490, sendo a) superfície e b) fratura.

A temperatura de tratamento térmico de 560  C, encontra-se entre o intervalo de transição vítreia da amostra e o início da cristalização. Neste intervalo ocorre a formação do fluido viscoso capaz de envolver as partículas e densificar o material, reduzindo a microporosidade existente e formando um corpo viscoelástico, conforme pode ser observado nas imagens da amostra T560, exibida na figura 3.22 a) e b). Entretanto, observa-se a presença de alguns poros especificamente na fratura do material, havendo três possíveis hipóteses para os poros observados: 1. são poros remanescentes que não foram fechados pelo fluido viscoso, como resultado de um processo de sinterização incompleto [65]; 2. possível formação de gases devido ao processo de sinterização [65]; 3. indução de porosidade devido a cristalização, observado no trabalho de Mihailova, Djambazki e Mehandjiev [66].

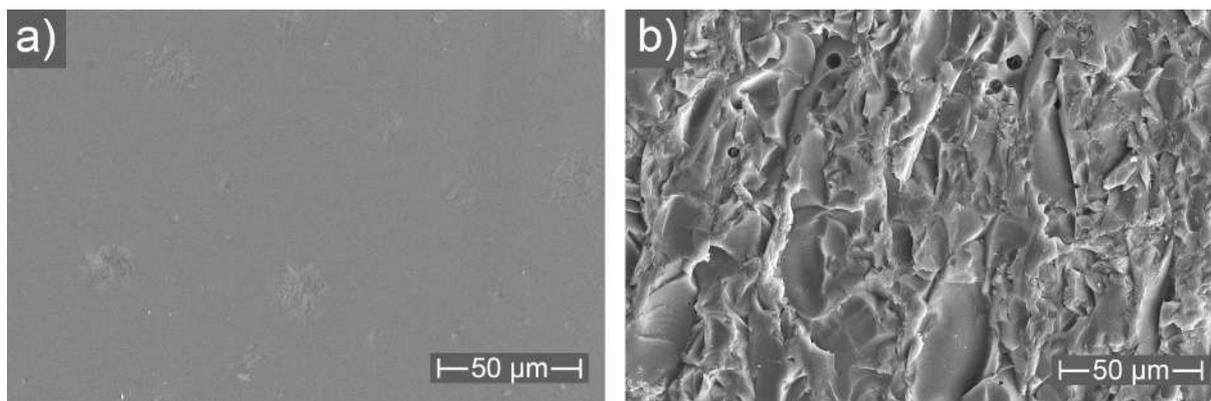


Figura 3.22: Micrografias obtidas via MEV da amostra T560, sendo a) superfície e b) fratura.

Estas hipóteses podem ser consideradas, pelo fato de que é a partir do  $T_g$  que o processo de sinterização começa a ocorrer, no qual os núcleos começam a ser formados e posteriormente, são responsáveis por induzirem a cristalização. Sendo que a sinterização e a cristalização são processos concorrentes, ou seja, a sinterização não precisa terminar de acontecer para dar início à cristalização [31]. Desta maneira, na superfície do material mostrada na figura 3.22 a), é possível visualizar pequenos pontos salientes do material, os quais revelam a formação de núcleos precedendo a formação de cristais [67]. Além disso, vale observar as áreas rugosas que podem ser encontrados por toda extensão superficial da amostra, assim como a parte lisa, que é homogênea. Esta rugosidade pode estar associada justamente à precipitação de uma das fases do material, visto que, foi observado um início do processo de cristalização pelos picos de difração sobrepostos ao halo amorfo na difratometria e, a banda em  $578\text{ cm}^{-1}$  na espectroscopia Raman. Enquanto que a parte lisa e homogênea corresponde a região densificada e amorfa.

As figuras 3.23 a) e b) apresentam as micrografias de superfície e de fratura da amostra T615, respectivamente. Ao observar primeiramente a fratura, nota-se homogeneidade morfológica e, por toda a extensão pode ser observado uma estrutura densa com presença de grãos, distribuição uniforme de tamanho e textura irregular, semelhante a retângulos, mas com arestas e vértices levemente arredondados. A estrutura densa pode ainda estar associada a matriz amorfa que não passou pelo processo de cristalização. Para mais, nota-se a presença de microfissuras, semelhantes a rachaduras e, é possível reparar em um aumento da quantidade de poros.

Já para a superfície, 3.23 a), é possível notar duas morfologias diferentes. Primeiramente, são exibidas regiões craqueladas (semelhantes às fissuras exibidas na micrografia

de fratura) separadas por regiões com aspecto rugoso, a qual aparenta conter grãos de formatos irregulares, assim como na fratura, e a presença de poros. Estes poros estão rodeados por grãos, inferindo que os poros podem estar associados ao processo de cristalização [66]. As regiões craqueladas podem estar relacionadas a transformação de fase (amorfo para cristalino) e ao relaxamento de microtensões originadas entre os grãos e a fase vítrea circundante. Estas microtensões foram estudadas por El-Maghraby *et al.* que, ao estudar cristais de quartzo, observaram que estas poderiam ser ocasionadas devido à mudança nos coeficientes de expansão térmica [68]. Desta maneira, pode-se dizer que para esta temperatura de tratamento térmico foi obtido centros de cristalização.

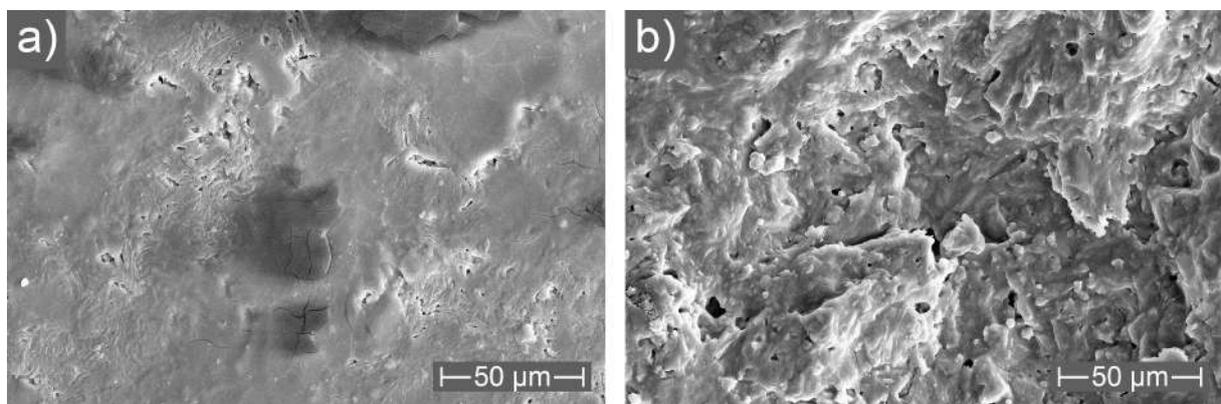


Figura 3.23: Micrografias obtidas via MEV da amostra T615, sendo a) superfície e b) fratura.

Para a superfície da amostra T625, figura 3.24 a), a separação de fases fica evidente, uma vez que as bordas da amostra possuem aspecto da região cristalizada superficialmente, similar a T615, enquanto que a região central apresenta cristais bem desenvolvidos, como pode ser visto no detalhe. Os cristais apresentam formato retangular e sobressalente, com faces lapidadas, mas nem sempre com formato idêntico. Estes cristais aparentam percorrer “caminhos”, os quais podem acontecer devido à conexão entre os centros de cristalização. Centros estes observados na superfície da amostra T615. Podem ser observadas ainda, pequenas fissuras, significando que o processo de cristalização não aconteceu totalmente, existindo regiões que ainda estão a sofrer este processo, ou seja, há a presença de residuais amorfos. Isto é esperado, uma vez que esta temperatura de tratamento térmico está entre dois picos de cristalização, ou seja, possivelmente é uma região transitória entre as fases formadas.

Para a fratura da amostra T625, figura 3.24 b), observa-se início de cristalização nas regiões próxima aos poros, destacada no *inset*. Além disto, alguns poros tiveram seus

diâmetros aumentados e pode ser notado ainda regiões que permanecem amorfas, com aspecto densificado e que ainda não iniciaram o processo de cristalização.

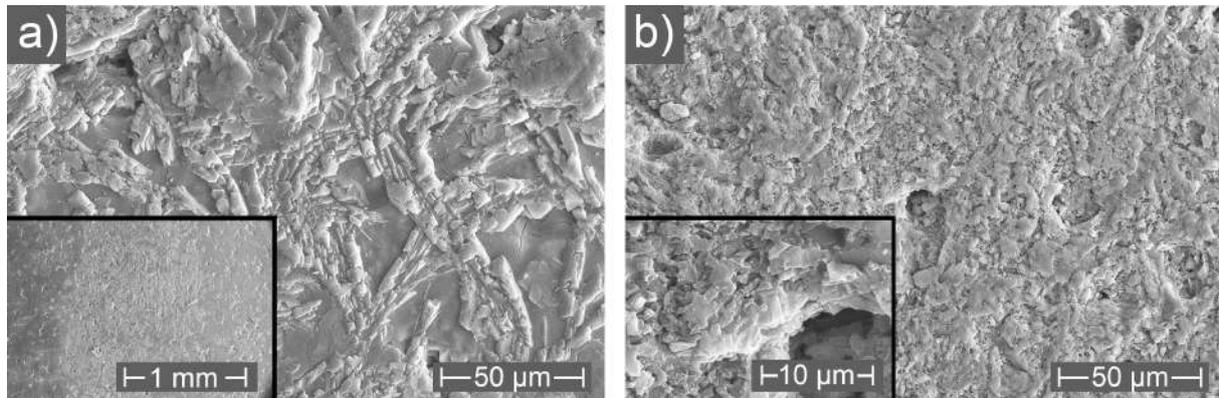


Figura 3.24: Micrografias obtidas via MEV da amostra T625, sendo a) superfície e b) fratura.

A superfície da amostra T630, figura 3.25 a), exibe uma melhor homogeneidade e presença de poros superficiais, os quais apresentam formas irregulares, além de alguns lugares apresentarem resquícios da fase cristalina observada em T625, como pode ser visto no detalhe. Ainda, é possível notar o início de grãos, melhor desenvolvidos próximo à região porosa.

Já para a fratura da amostra T630, 3.25 b), o primeiro fato a ser notado é a porosidade, a qual aumenta significativamente. Além dos grãos e cristais retangulares que podem ser observados em seu interior. O fato aqui a ser destacado, é que não observa-se regiões tão densificadas como anteriormente, havendo uma redução da quantidade amorfa residual, o que é estimado também via DRX. Ainda, vale notar que para esta temperatura de tratamento térmico, os poros são capazes de se interconectar, obtendo canais semelhantes a *scaffolds*.

O tamanho dos poros é uma das características mais importantes do *scaffolds*, uma vez que eles devem ter cerca de 100 µm para que a migração celular, vascularização e o crescimento ósseo interno seja possível. Outro fator importante é o tamanho das interconexões, as quais são os caminhos entre os poros e devem ser da ordem ou maior que 40 µm pois facilitam a penetração celular. Mas, em biocerâmicas é encontrado tamanho mínimo da ordem de 20 µm e além disto, quanto mais interconectado mais favorável é o transporte de fluidos [65]. Apesar do objetivo não ter sido formar *scaffolds*, a temperatura de tratamento térmico de 630 °C permitiu uma boa interconexão entre os poros. O mesmo

não é observado para amostras tratadas em temperaturas superiores, provavelmente pelo fato da rampa térmica ser dinâmica neste intervalo.

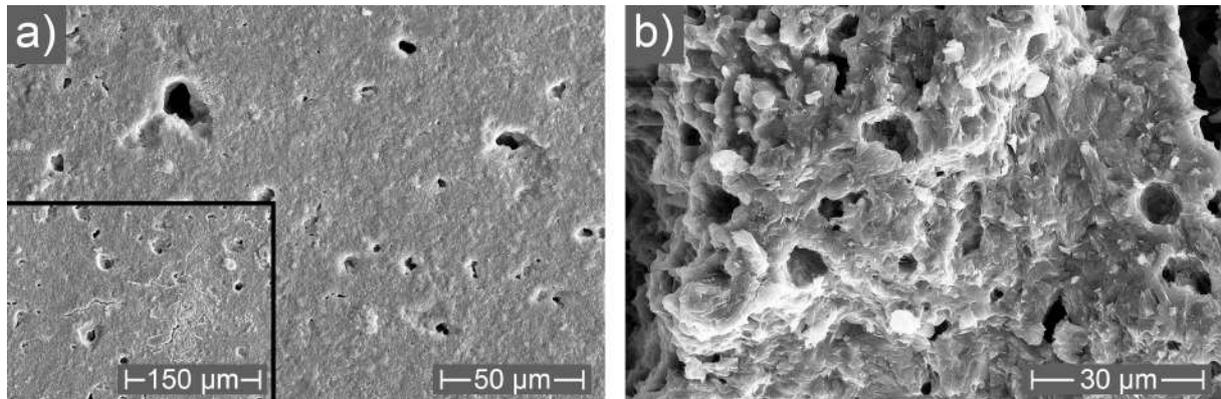


Figura 3.25: Micrografias obtidas via MEV da amostra T630, sendo a) superfície e b) fratura.

A superfície da amostra T715 apresentada na figura 3.26 a), exibe menos poros quando comparada com a amostra T630, observando um expressivo aumento e desenvolvimento dos grãos, o que é esperado com o aumento de temperatura de tratamento, segundo Denry *et al.* [69]. A redução de regiões densificadas, é percebida na região interna da amostra T715, figura 3.26 b), corroborando para o fato desta amostra, ter um índice de cristalinidade maior que as temperaturas antecedentes, figura 3.8.

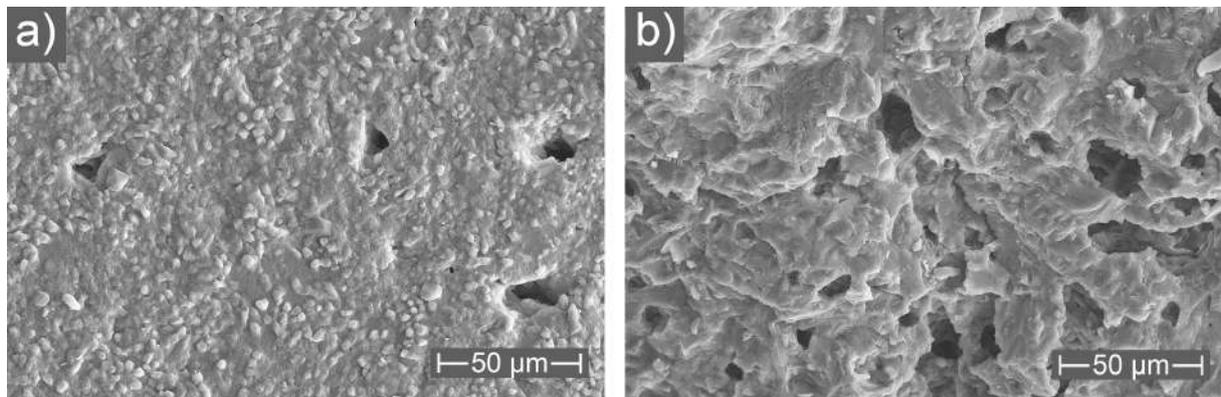


Figura 3.26: Micrografias obtidas via MEV da amostra T715, sendo a) superfície e b) fratura.

Por fim, para a temperatura de tratamento térmico em 785 °C, observa-se a união dos grãos superficiais na figura 3.27 a) e com isto obtém-se uma superfície com estruturas semelhantes a bastonetes. Na fratura desta amostra, figura 3.27 b), por sua vez, observa-se um alto grau de cristalinidade, retângulos irregulares, bastonetes e pequenos grãos, em formato circular. Basicamente três morfologias podem ser observadas. Todavia, não é

possível inferir quais são as morfologias associadas a cada fase. Vale ressaltar também que é possível observar pequenas regiões onde ainda há material densificado e não totalmente cristalizado, confirmando o fato encontrado via difratometria. Por fim, para a amostra T810 não foi realizado imagens de MEV, uma vez que a peça perdeu seu formato original e neste caso, o interesse fica comprometido devido ao seu potencial de aplicação.

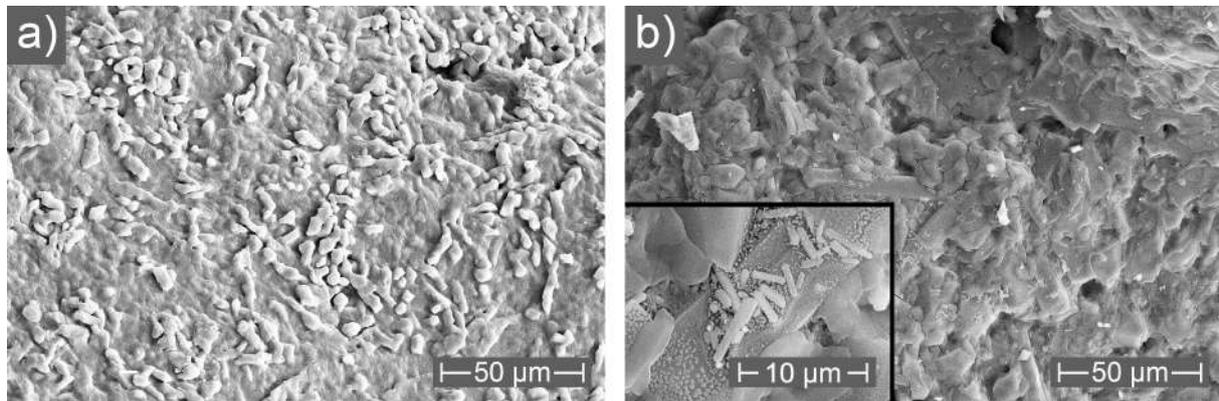


Figura 3.27: Micrografias obtidas via MEV da amostra T785, sendo a) superfície e b) fratura.

De forma geral, apesar de ocorrer separação das fases, ou seja, formação de morfologias diferentes dependendo da temperatura de tratamento térmico e conseqüentemente, a fase atribuída, é possível dizer que há uma certa homogeneidade no quesito extensão amostral, já que, é possível encontrar todas as texturas ao longo da superfície/fratura de cada amostra. Além disto, pelo fato das morfologias estarem juntas, mescladas e conglomeradas, impossibilita a identificação e associação referente a cada fase. Ademais, é estudado que a morfologia é muito influenciada e limitada pela vizinhança, como é o caso da fluorapatita, segundo Denry *et al.* [69]. A cristalização da fluorapatita ocorre dentro de gotículas de fase separada e é limitada pelo seu tamanho, até 500 nm, pois o crescimento do cristal de fluorapatita pode ser impedido pelo esgotamento dos elementos-chave da matriz vítrea circundante, acarretando em uma microestrutura de cristais isométricos de fluorapatita em oposição aos cristais em forma de agulha. Também foi mostrado que dependendo de sua composição e conectividade, as gotas separadas por fase facilitam a cristalização da fluorapatita, diminuindo a energia de ativação para o crescimento do cristal fluorapatita e agindo como locais de nucleação heterogêneos [69]. Logo, pode-se dizer que houve uma separação da fase vítrea do vidro, com posterior cristalização das fases.

As observações confirmaram o que já foi anteriormente estudado por Mihailova *et al.*, que a interface superficial das partículas é um fator favorável para a cristalização. Ainda,

os poros maiores originados devido ao processo de cristalização foram observados à medida que obtinha-se um maior grau de cristalinidade [66].

Devido a estes fatores, os pós prensados auxiliam na cristalização volumétrica e se transformam materiais fortes e relativamente densos, possuindo várias fases cristalinas e fazendo com que o processo de cristalização seja melhor desenvolvido. Fato este também descrito por Mihailova *et al.* [66].

## CAPÍTULO 4

# RESULTADOS E DISCUSSÃO - PARTE II

A parte II dos Resultados e Discussão destina-se a apresentação e discussão dos resultados obtidos para as análises de citotoxicidade e bioatividade *in vitro*. O teste de bioatividade foi realizado por meio da imersão do material em fluido corporal simulado (SBF), sendo o material analisado via espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier acoplado a reflectância total atenuada (FTIR-ATR) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Ainda, a concentração de íons dissociados no fluido (SBF) foi avaliada por meio da técnica de espectroscopia de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas (MP-AES). Estes estudos foram realizados para três amostras: T560, T625 e T715 a fim de que fosse avaliada as características da rampa, ou seja, após  $T_g$ , após  $T_{p1}$  e após  $T_{p2}$ .

### 4.1 Teste de citotoxicidade

Células pré-osteoblásticas da linhagem MC3T3-E1 foram utilizadas na realização deste experimento. Já é sabido que, quando mantido em cultura, estas células dividem-se e multiplicam-se continuamente. Todavia, estes processos metabólicos celulares podem sofrer interferência quando em contato com materiais tóxicos, podendo resultar até a morte celular e redução do número de células viáveis quando comparado com controles não-tratados [70].

Desta maneira, foi avaliado a viabilidade celular para as amostras T560, T625 e T715 para diferentes diluições de amostra, as quais são exibidas na figura 4.1.

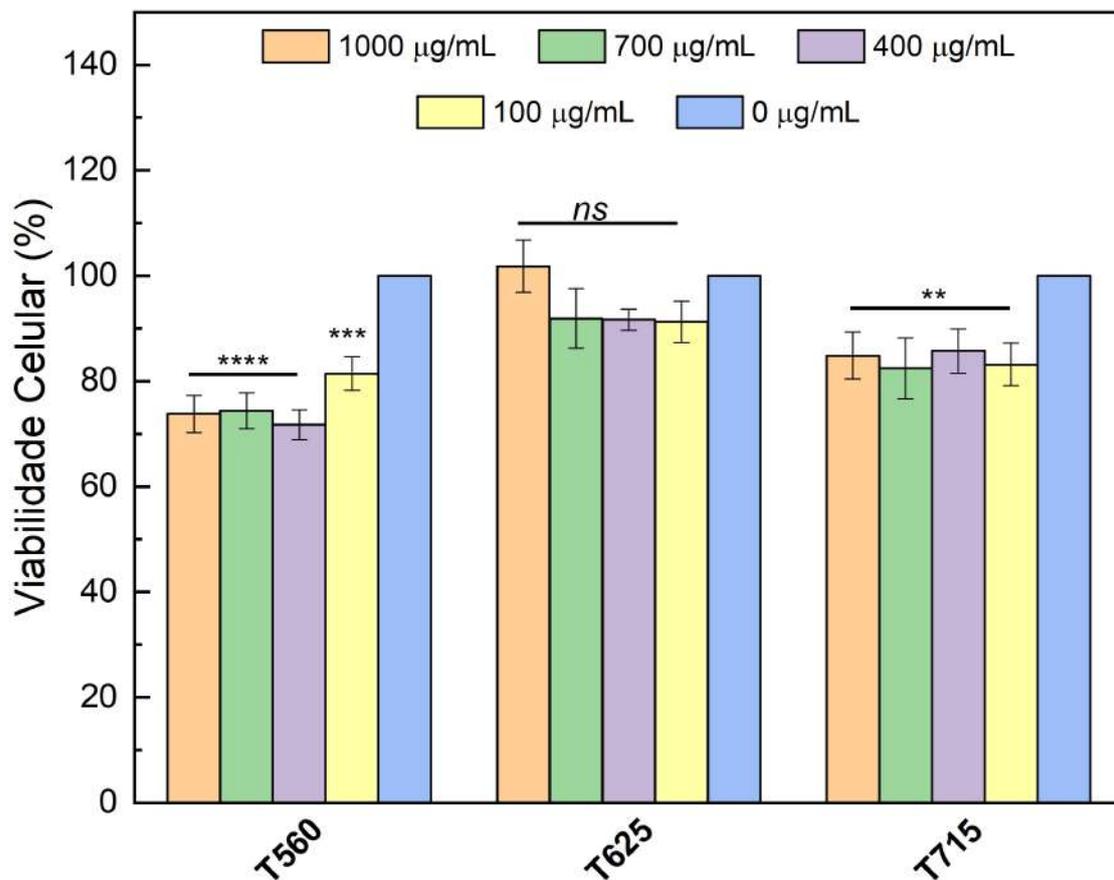


Figura 4.1: Viabilidade celular das amostras T560, T625 e T715 testadas em diferentes concentrações de amostra por 24 horas de incubação. Sendo a concentração  $0 \mu\text{g/mL}$  o controle. O símbolo “*ns*” indica que não houve diferença significativa das diluições de amostra com o controle. E, \*\*, \*\*\* e \*\*\*\* é a diferença estatística entre as amostras. As barras de erros são referente a um  $n=3$ .

Os resultados foram satisfatórios uma vez que a quantidade de células viáveis após o ensaio foi superior ou muito próxima a 80%, independentemente da amostra e da diluição estudada. Vale observar que a amostra T625 apresenta ainda um maior índice de viabilidade celular e que ela não apresentou diferenciação estatisticamente significativa com o controle ( $0 \mu\text{g/mL}$ ). Desta maneira, é possível inferir que manteve excelente viabilidade celular em todas as diluições, não impedindo a multiplicação celular e garantindo boa compatibilidade [71]. Ainda, para a maior concentração, houve proliferação celular indicando um pouco mais de 100% de células viáveis. A amostra T715, apesar de apresentar redução do percentual quando comparado com a T625, diferenciando estatisticamente do controle, possui boa resposta para todas as concentrações. Por fim, a T560 apresenta menor viabilidade celular para as diluições de 1000, 700 e 400  $\mu\text{g/mL}$ . Estas diluições foram estatisticamente semelhantes entre si quando comparado com o controle. A dilui-

ção de 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , diferenciou-se das outras, sendo a mais viável desta temperatura quando comparado com as diluições mais concentradas.

Vale ressaltar que a composição química e aspectos físicos das amostras podem interferir na biodegradação e liberação iônica ao longo do período de incubação, influenciando conseqüentemente no pH do meio, afetando diretamente a multiplicação celular e na resposta citotóxica [70, 72]. Apesar desta técnica não afirmar quanto ao potencial de aplicação biológica, ela indica o quão tóxico os materiais são na presença de células pré-osteoblásticas, viabilizando a sintetização de componentes orgânicos na matriz óssea. Todavia, estes parâmetros (biodegradação, liberação iônica e pH) são de suma importância na avaliação do potencial de aplicação. Portanto, os ensaios de bioatividade foram realizados e estão apresentados sequencialmente.

## **4.2 Teste de bioatividade**

### **4.2.1 Avaliação do pH, perda de massa e concentração iônica**

De forma geral, o potencial hidrogeniônico (pH) possui uma forte influência na formação da camada de apatita na superfície dos materiais. Vale salientar que a formação desta camada superficial ao material indica a capacidade de ligação com meio bioativo. Desta forma, avaliar o pH é de suma importância e indica interação entre o material e o meio imerso, uma vez que estes fatores estão diretamente associados [1, 9].

O meio de imersão utilizado foi o fluido corporal simulado (SBF), que é uma solução com concentração de íons semelhantes ao do plasma sanguíneo. Desta maneira, as amostras foram imersas neste fluido por diferentes períodos: 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias, a fim de avaliar a dissolução e formação da camada de apatita. As amostras após imersas foram caracterizadas via FTIR e MEV.

Na figura 4.2 é mostrada a variação de pH para as amostras tratadas em três temperaturas: 560 °C, 625 °C, 715 °C e para o BV2, dado obtido por Portes [28].

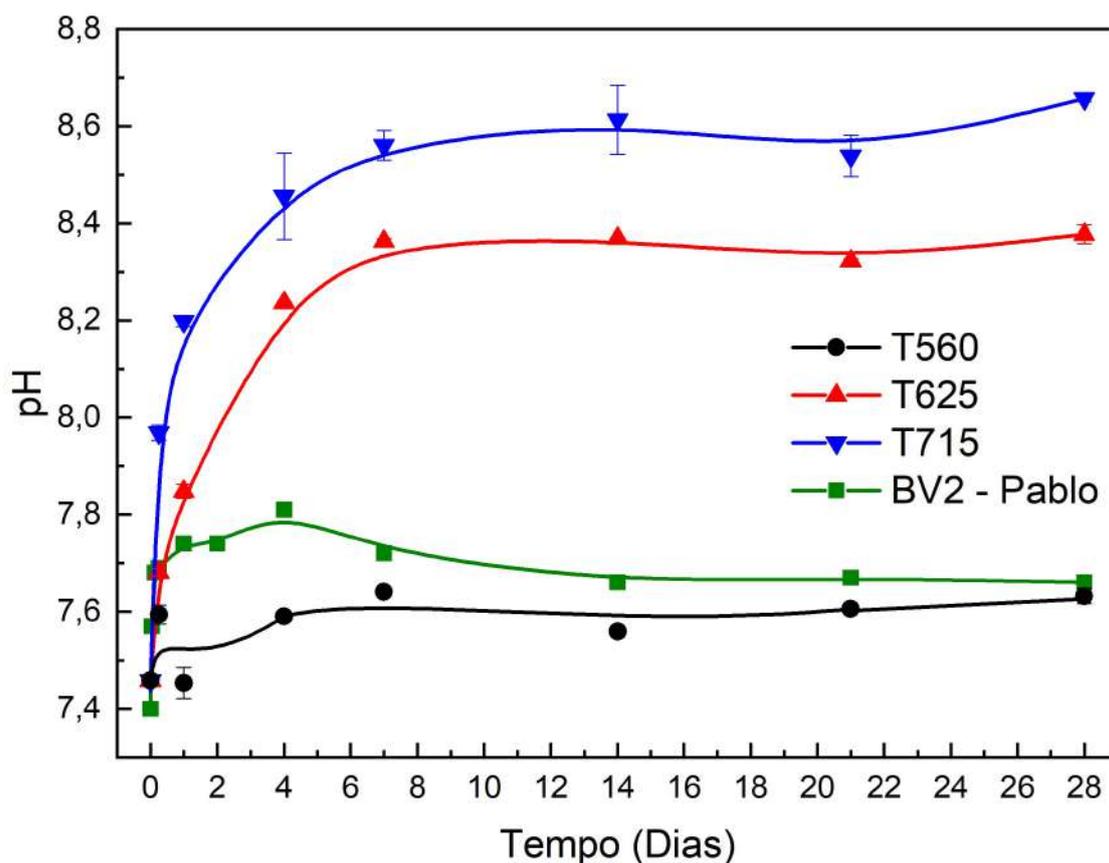


Figura 4.2: Variação do pH da solução de imersão em diferentes tempos de imersão para as amostras T560, T625, T715 e BV2 (dados obtidos por [28]), sendo o tempo 0 o pH inicial do SBF. Ainda, as linhas são guias visuais e a barra de erro é referente à  $n=2$ .

Observa-se primeiramente que o pH possui um valor inicial de 7,45, conforme orientado por Kokubo e Takadama [25], sendo a maior taxa de crescimento nos primeiros 7 dias para todas as amostras. A amostra T715 foi a que apresentou maior valor de pH durante os primeiros dias, seguido da T625 e por fim, a T560. Posteriormente, para as três amostras acontece uma tendência de estagnação.

O aumento do valor de pH é associado a dissolução de íons da superfície do material. Espécies do tipo  $H^+$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$  são responsáveis por lixiviar a superfície em decorrência da hidratação e hidrólise das ligações de boro tricoordenados e tetracoordenados provocando instabilidade no arranjo estrutural e a dissociação de íons como  $Na^+$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $F^-$ . Todavia, a dissolução tende a cessar a medida que o sistema torna-se saturado, reduzindo as trocas iônicas e estagnando o valor de pH, uma vez que, todo o mecanismo é diretamente relacionado entre si [1,9].

Este ataque a estrutura do material e a conseqüentemente troca iônica, acarretam em uma biodegradação que pode ser observada por meio da perda de massa das amostras,

exibidas na figura 4.3.

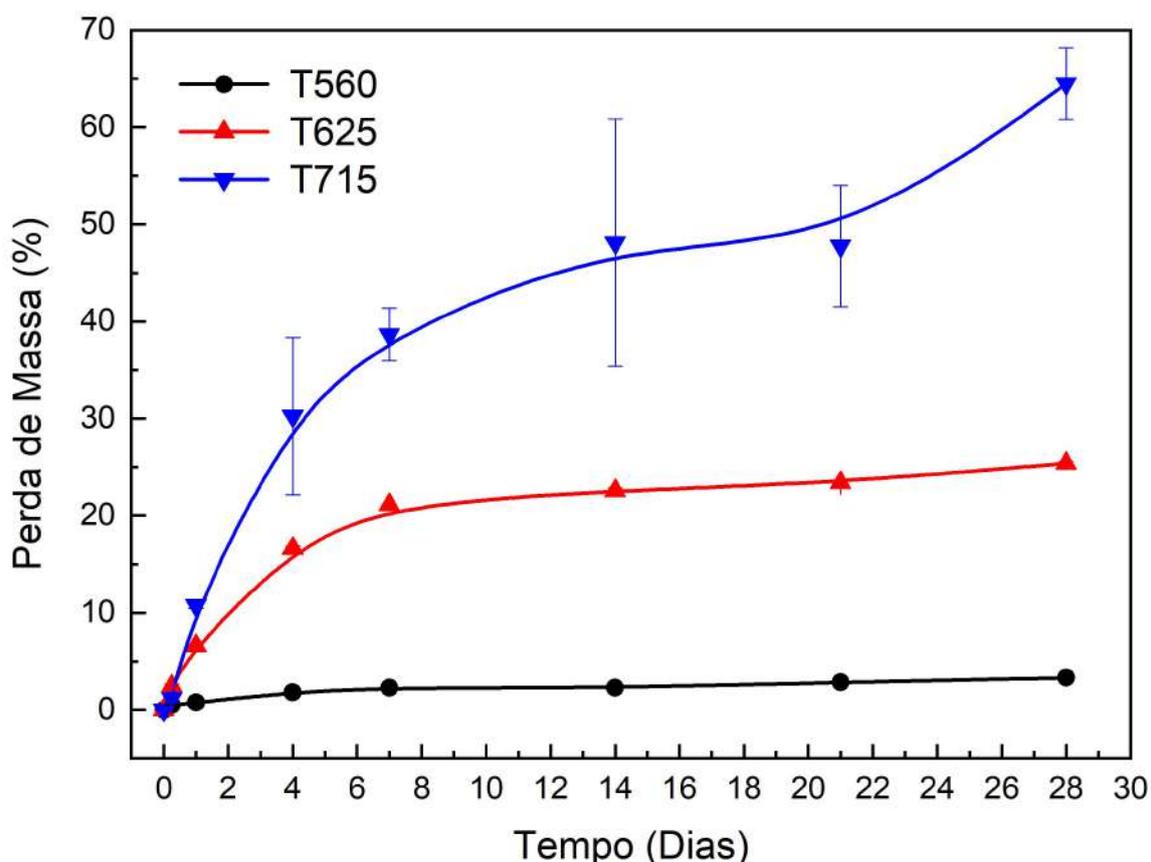


Figura 4.3: Variação da massa das amostras T560, T625 e T715 nos diferentes tempos de imersão.

Pode-se notar que a amostra T560 foi a qual apresentou menor perda de massa, sendo mínima a variação de pH também. Todavia, a amostra T625 exibe uma elevada perda de massa até o sétimo dia e uma tendência de equilíbrio após este período, coincidindo com as análises de pH. Enquanto que, a amostra T715 apresenta uma acentuada curva de perda de massa.

Além da liberação de íons de sódio, cálcio e flúor por meio do material, existe a presença de íons de fósforo e cálcio no meio de imersão. É imprescindível a presença destes dois íons para que uma camada apatítica seja depositada na superfície da amostra [1]. Desta maneira, foi então avaliado a concentração dos íons cálcio e fósforo por meio da técnica de MP-AES, exibido na figura 4.4.

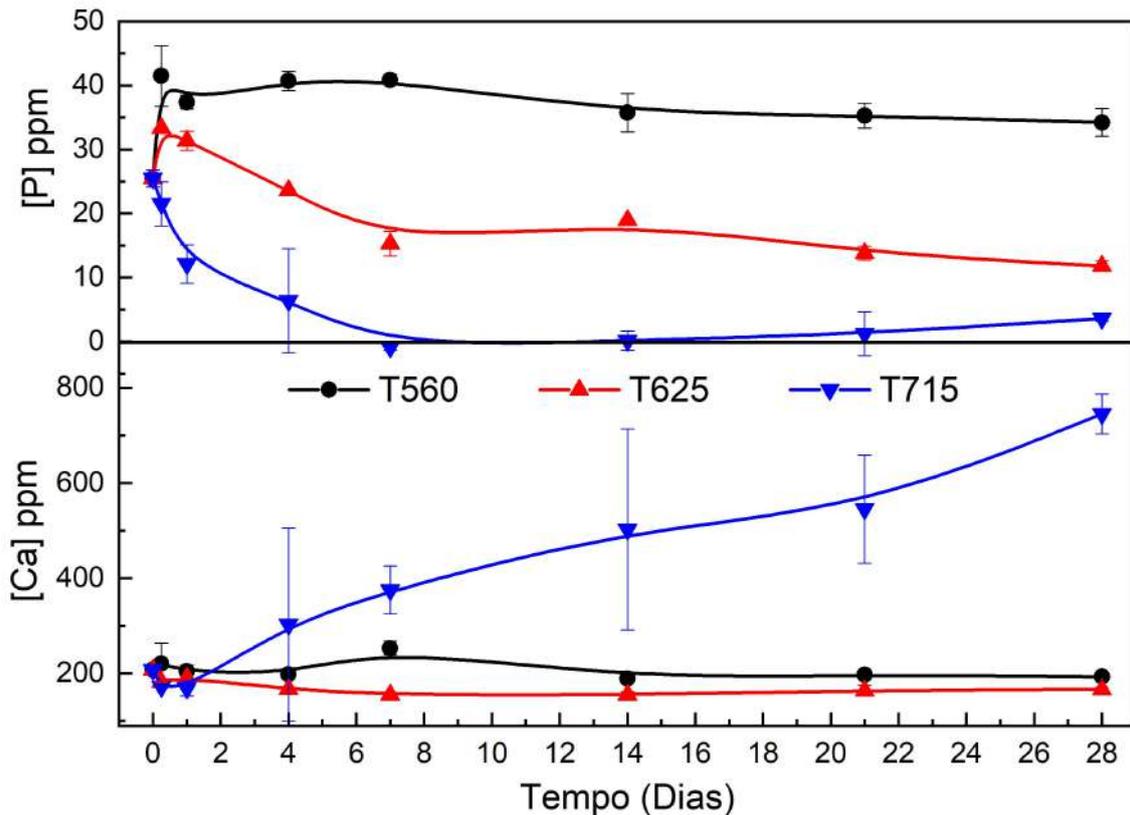


Figura 4.4: Concentração dos íons de Fósforo (P) e Cálcio (Ca) na solução pós-imersão em cada período de imersão, sendo o tempo zero a solução sem nenhuma amostra imersa.

Em geral, o aumento de cálcio deve-se a sua liberação juntamente com íons de sódio e flúor. Todavia, este aumento foi observado apenas para a amostra T715. Ao avaliar a concentração de fósforo, nota-se que a mesma reduziu para próximo de zero no sétimo dia, sem grandes variações até o fim do período de 28 dias. Logo, pode-se concluir que nos sete primeiros dias aconteceu toda a troca iônica para formação da camada, visto que o fósforo foi reduzido no sistema e, a amostra continuou liberando cálcio, podendo ter fragilizado sua estrutura, aumentando a biodegradação, conforme pode ser observada na figura 4.7.

Para a amostra T625, nota-se uma constância na concentração de cálcio, ou seja, subentende-se de que o cálcio que estava sendo liberado para o meio, foi rapidamente consumido para produção da camada na superfície, permanecendo apenas o que já estava na solução inicialmente. É possível apenas realizar esta afirmação, visto que ocorre uma variação na concentração de fósforo no meio. Associado a este fator, acontece alteração do valor de pH, bem como, perda de massa. As fotos após os períodos de imersão podem ser visualizadas na figura 4.6.

Todavia, para a amostra T560 observa-se que o íon cálcio permaneceu constante, ocorreu liberação de fósforo para o meio nas primeiras 6 horas e posteriormente, não houve variação significativa entre as concentrações iônicas. Vale salientar que há maior variação de pH apenas nos dias iniciais de imersão e ocorre perda de massa mínima, permanecendo o material íntegro com uma leve camada superficial, como pode ser observado nas fotos 4.5.

Nas fotos após imersão podem ser notadas crescimento de uma camada para cada uma das amostras.

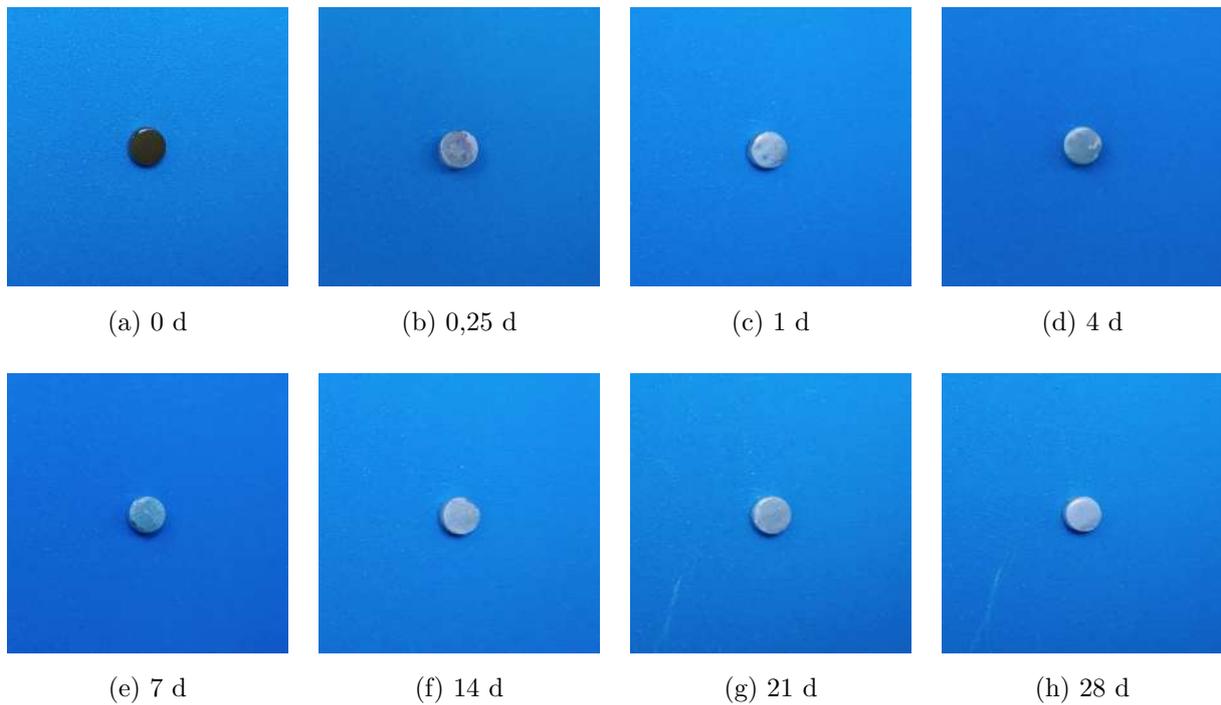


Figura 4.5: Fotos das amostras T560 antes (0d) e após imersão em SBF em 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias.

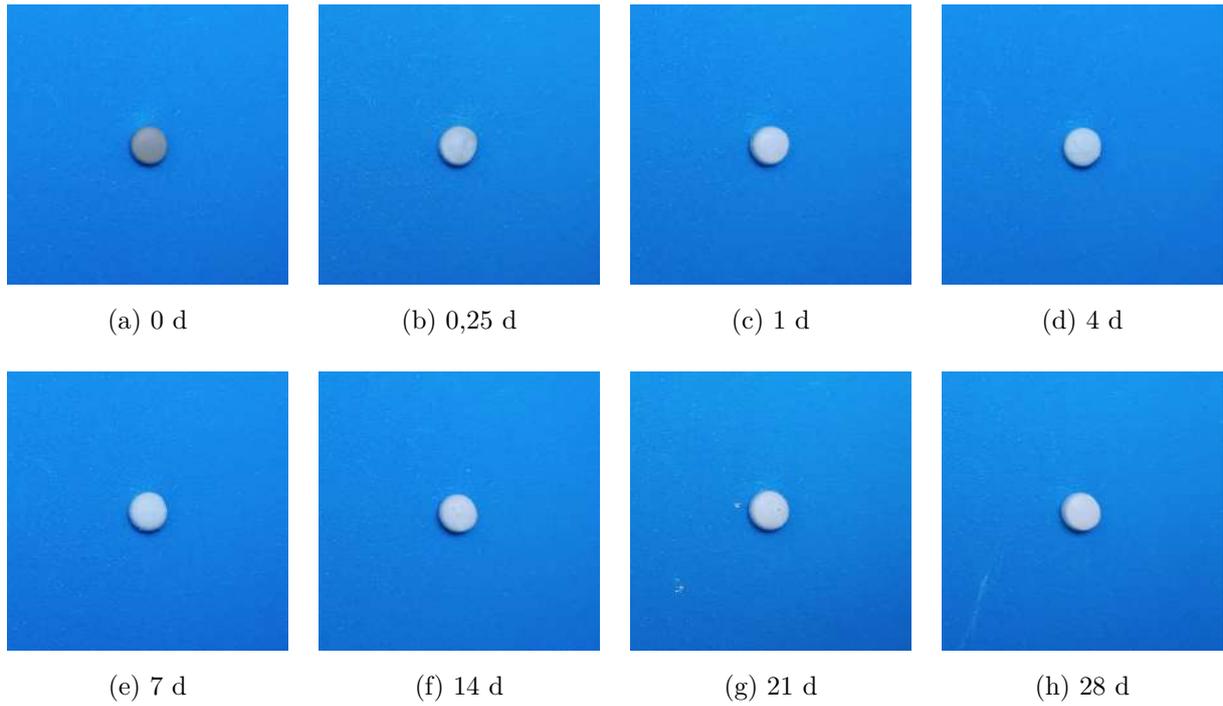


Figura 4.6: Fotos das amostras T625 antes (0d) e após imersão em SBF em 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias.

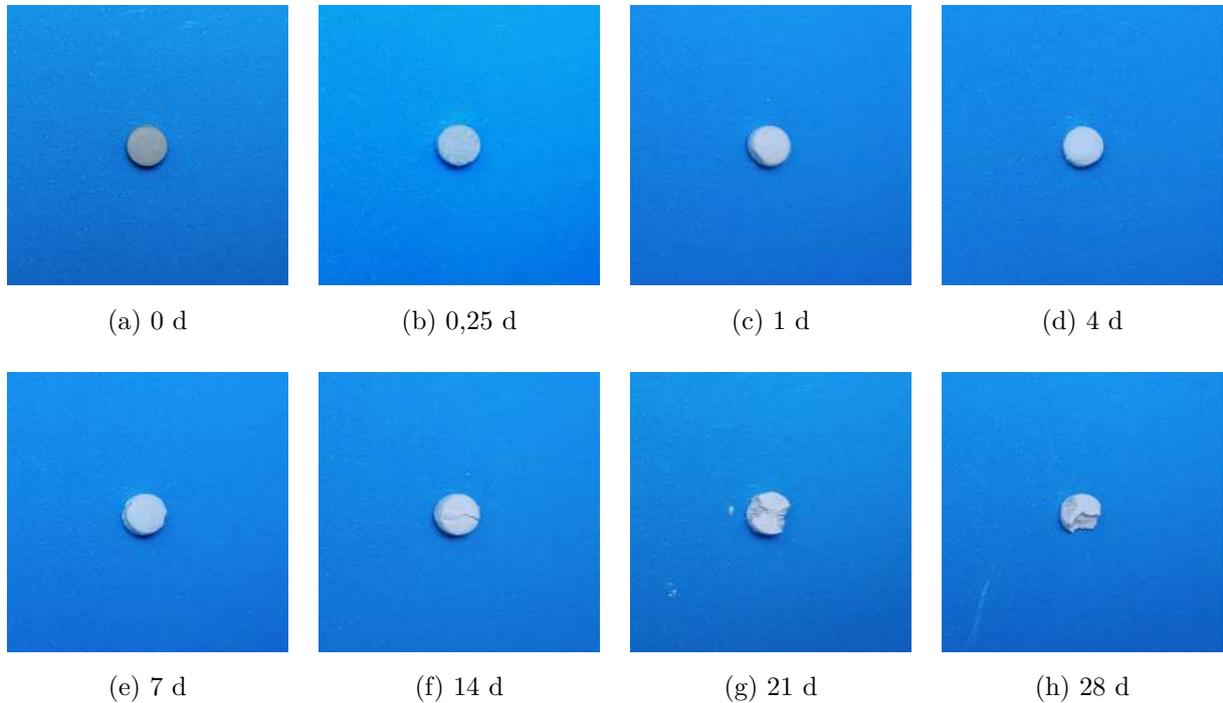


Figura 4.7: Fotos das amostras T715 antes (0d) e após imersão em SBF em 0,25, 1, 4, 7, 14, 21 e 28 dias.

Ao avaliar os valores de pH obtidos para o BV2 por Portes em sua tese [28] e também

apresentado na figura 4.2, vidro este utilizado como precursor no presente trabalho, nota-se que ocorre um máximo aumento de pH próximo a 1 hora e meia de imersão, atingindo o valor de 7,8. Posteriormente, o pH tem uma leve decaída, permanecendo estagnado até 28 dias em aproximadamente 7,65, vale ressaltar que as amostras de Portes eram em *bulk*. Ao comparar com os resultados obtidos neste trabalho, percebe-se que o vidro tratado termicamente a 560 °C teve seu potencial hidrogeniônico afetado pela sinterização, uma vez que a resposta iônica foi reduzida quando comparada com o material de partida. Enquanto que, as amostras tratadas em 625 °C e 715 °C tiveram uma melhor resposta, visto que, tiveram maior troca iônica com o meio, atingindo valores de pH de 8,36 e 8,56 em um período de 7 dias. Desta maneira, além do valor de pH ter aumentado (liberação de mais íons de cálcio, sódio e flúor para o meio) ocorreu também uma prolongação no tempo de liberação em comparação com o material precursor. Por outro lado, foram as que tiveram a maior taxa de perda de massa/degradação.

Quando apenas sinterizada, a amostra T560 apresentou uma alta densificação, sem porosidade e com uma camada superficial protetora, semelhante a um verniz (figura 4.5 a)), possivelmente formada pelo fluido viscoso, como foi observado na parte I dos resultados. Esta morfologia da peça, pode ter impossibilitado o ataque por meio das espécies do tipo  $H^+$ ,  $H_3O^+$  e  $OH^-$ , impedindo a hidratação e hidrólise da rede formadora, reduzindo sua interação com o meio de imersão. Este fator ainda, pode ter colaborado para uma redução na viabilidade celular observada para esta amostra, em comparação com as cristalizadas, T625 e T715.

As amostras com fases cristalinas, apresentaram porosidade e uma superfície mais propensa à lixiviação, como pôde ser observado nas micrografias exploradas anteriormente. Ambas amostras mostraram-se eficazes quanto ao quesito bioatividade, uma vez que apresentaram maior interação com o meio e liberação prolongada quando comparado ao vidro precursor, possivelmente por serem estruturas ordenadas com a presença de cristais, dificultando o processo, mas não impedindo.

Mais um ponto a ser observado é que esta melhora na resposta bioativa pode ter sofrido influência das fases cristalinas presentes nos materiais, já que o comportamento entre a amostra T625 e T715 é similar. Elas apresentam semiquantificação das fases similares, observadas nas figuras 3.4 e 3.6, diferenciando principalmente pelo índice de cristalinidade (IC) 3.8 b) e provavelmente, tamanho de cristais (observado nas micrografias). Como foi

visto para a amostra T560, a parte amorfa após a sinterização não desenvolveu significativamente potencial bioativo. Como a T625 apresenta IC intermediário, ou seja, ainda há uma porção amorfizada, pode ser que houve balanceamento entre os processos de lixiviação, dissolução e precipitação, desenvolvendo bom resultado na bioatividade e excelente resposta na citotoxicidade. Já a amostra T715, a qual apresenta maior IC, ou seja, menor quantidade de fase residual amorfa, gera uma boa resposta bioativa, porém, exibe biodegradação. Além disso, sua resposta citotóxica apresentou uma pequena redução da viabilidade celular quando comparada com o controle, este fato pode ser associado à alta taxa de liberação de cálcio. Já que, o cálcio possui uma dupla atribuição nas funções de diversos tipos de células e, quando em excesso, pode ocasionar estresse celular, levando ao dano e até mesmo, à morte celular [1, 73].

Todo o processo de avaliação bioativa é complexo e é essencial para a análise do material bioativo em estudo. A camada precipitada sobre a superfície de cada amostra é de suma importância, dado que, a interface gerada entre o material e o meio é similar a que ocorre entre ossos e tecidos biológicos. Então, cada amostra foi avaliada por espectroscopia no infravermelho, apresentada na seção subsequente.

#### **4.2.2 FTIR-ATR**

Os espectros de FTIR das amostras T560, T625 e T715 em função do tempo de imersão em SBF, são exibidos nas figuras 4.8, 4.9 e 4.10, respectivamente.

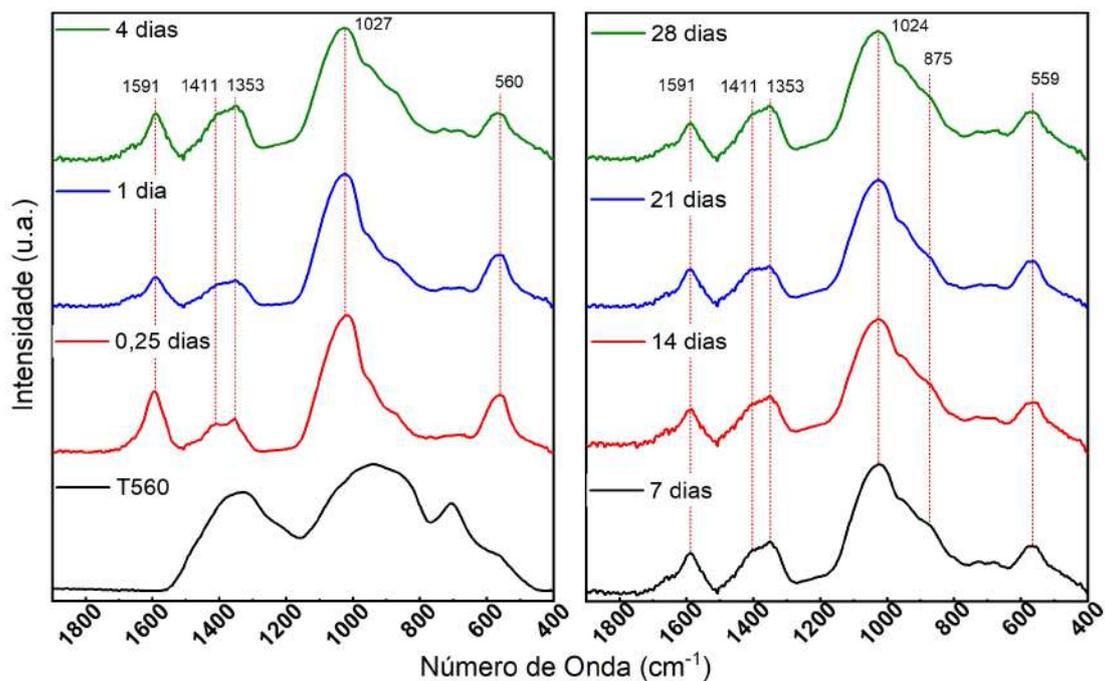


Figura 4.8: Espectros de FTIR-ATR da amostra T560 imersa em SBF pelos períodos de tempo compreendidos entre 0,25 e 28 dias. As linhas pontilhadas destacam as mudanças observadas entre os períodos de imersão.

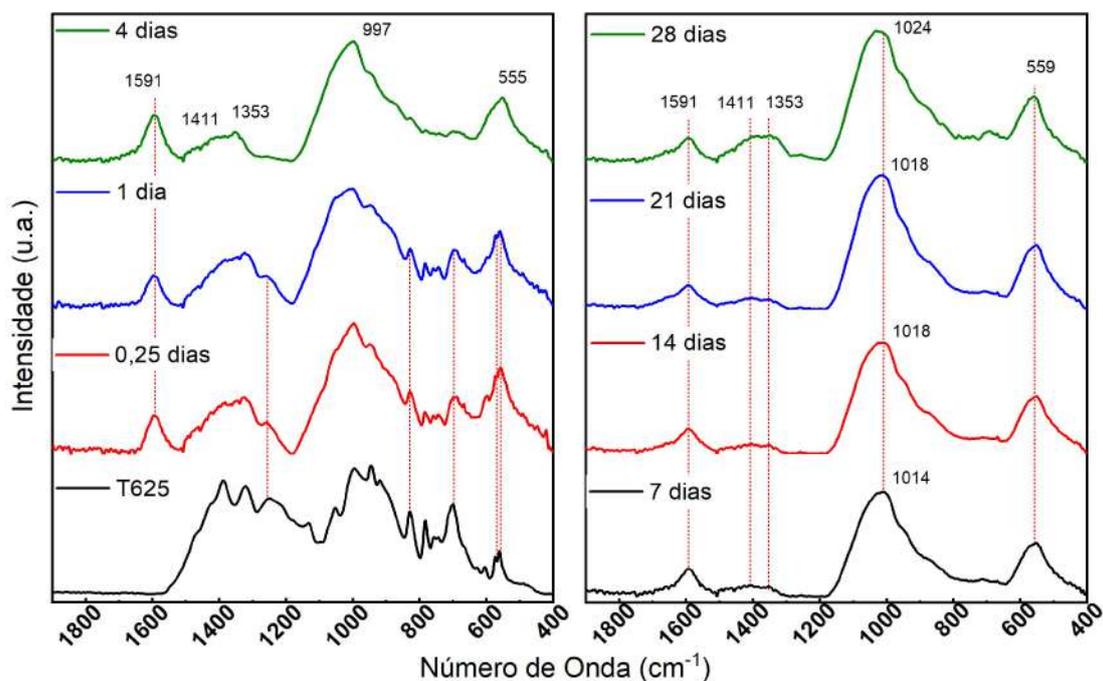


Figura 4.9: Espectros de FTIR-ATR da amostra T625 imersa em SBF pelos períodos de tempo compreendidos entre 0,25 e 28 dias. As linhas pontilhadas destacam as mudanças observadas entre os períodos de imersão.

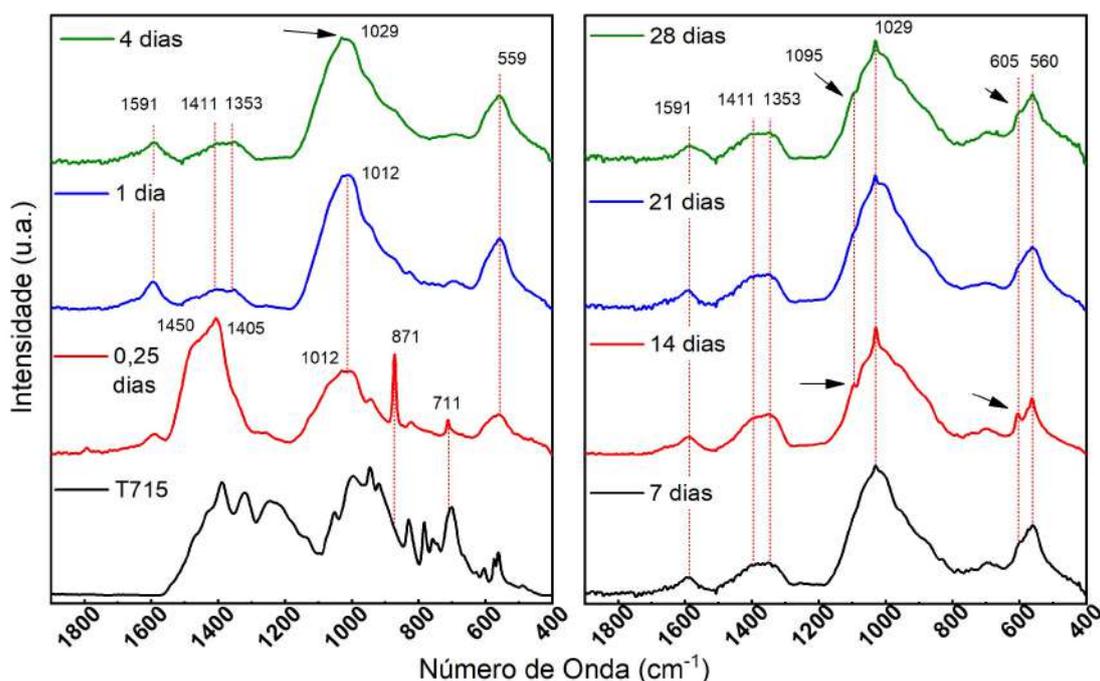


Figura 4.10: Espectros de FTIR-ATR da amostra T715 imersa em SBF pelos períodos de tempo compreendidos entre 0,25 e 28 dias. As linhas pontilhadas destacam as mudanças observadas entre os períodos de imersão.

A camada precipitada na superfície do material acontece de forma mais simplificada para os materiais formados à base de boro quando comparado com os silicatos, uma vez que eles não possuem a capacidade de repolimerização. Logo, concomitantemente a biodegradação, os íons de cálcio e fósforo presentes no meio de imersão precipitam na superfície do material na forma de fosfato de cálcio. Esta camada então, pode cristalizar em uma forma mais estável, como hidroxicarbonato apatita (HCA), com o aumento do tempo de imersão [1,9].

Vale ressaltar que apatita é a designação de todos os grupos minerais inseridos nos fosfatos, predominantemente formados por fosfato de cálcio, podendo apresentar contribuições de outros elementos, como hidróxido, cloro ou flúor [74].

A formação da camada de fosfato de cálcio e seu desenvolvimento para HCA, ocorre rapidamente, apresenta rica contribuição de cálcio e fósforo e é marcada pela presença das bandas no intervalo de 610 a 560  $\text{cm}^{-1}$ . Esta região é atribuída à deformação do  $\text{PO}_4$ . Quando este P-O é amorfo, a vibração é predominante na região de 560 a 550  $\text{cm}^{-1}$ . À medida que acontece a mineralização da camada, convertendo em uma camada cristalina, acontece um *split*, originando um pico atribuído ao P-O cristalino entre 610 e 600  $\text{cm}^{-1}$  [75,76].

O espectro também é característico devido à forte banda em  $1035\text{ cm}^{-1}$ , ocasionada pelo modo vibracional de estiramento assimétrico do  $\text{PO}_4$ . Esta banda pode ter seu centro variável entre  $960$  e  $1200\text{ cm}^{-1}$  devido ao tamanho dos cristais de apatita e defeitos nos precipitados de apatita [75].

A região entre  $1420$  e  $1450\text{ cm}^{-1}$  apresenta uma larga banda proveniente dos modos vibracionais dos grupos de carbonato incorporados na estrutura da apatita. Esses grupos também são responsáveis por gerar uma banda em  $875\text{ cm}^{-1}$ , que pode aparecer sobreposta ao pico principal do fosfato. Enquanto que, o intervalo entre  $1350$  e  $1080\text{ cm}^{-1}$  é atribuído a estiramento da dupla ligação entre fósforo e o oxigênio. Por fim, a região próxima a  $1600\text{ cm}^{-1}$  pode ser associado ao modo vibracional da molécula de O-H, indicando umidade absorvida na camada [75].

Para o espectro da amostra T560 apresentado na figura 4.8, nota-se que após 6 horas de imersão, o espectro do vidro altera-se, possuindo contribuições vibracionais da camada de apatita, ou seja, pode-se inferir que as oscilações nos valores de pH neste início podem estar associados à formação da mesma. Desta maneira, observa-se que um período menor que seis horas já é suficiente para iniciar a formação da camada. Todavia, esta camada apresenta características amorfas, observado pela presença de uma só banda em  $560\text{ cm}^{-1}$ . Outro ponto, é que não houve mudança significativa no espectro desta camada ao longo do período de imersão, ou seja, não houve crescimento ou desenvolvimento para a forma cristalina da mesma.

Já para a amostra T625, os espectros em função do tempo de imersão são apresentados na figura 4.9. Para as 6 horas de imersão, nota-se uma mudança espectral entre  $1200$  e  $1400\text{ cm}^{-1}$ , indicando que há interação com o meio, mas com pequena taxa de dissolução e precipitação. Para 1 dia de imersão, as bandas do material entre  $900$  e  $500\text{ cm}^{-1}$  ainda são evidentes, mas pode-se observar a formação do pico em  $997\text{ cm}^{-1}$  referente ao fosfato. Para 4 dias de imersão, nota-se características espectrais semelhantes a da apatita, com a presença dos grupos de carbonato ( $1411\text{ cm}^{-1}$ ) e fosfato ( $997$  e  $555\text{ cm}^{-1}$ ) na superfície do material. Logo, há indícios de que a formação da camada aconteceu entre 1 e 4 dias. Esta camada permanece com caráter amorfo durante todo o período de imersão, perceptível ao olhar para a região entre  $550$  e  $560\text{ cm}^{-1}$ . Vale observar também, o deslocamento de números de onda menores para maiores no pico principal da apatita. A hidroxiapatita e fluorapatita apresentam um pico principal definido entre  $1026$  e  $1034$

$\text{cm}^{-1}$ , atribuído ao fosfato [77]. Desta maneira, este deslocamento pode indicar que o processo para cristalização da camada está próximo de ocorrer e precisa de um período maior em imersão.

Por fim, para a amostra T715, os espectros são apresentados na figura 4.10. Uma considerável mudança no espectro já pode ser observada a partir de 6 horas, na qual a região de  $1400 \text{ cm}^{-1}$  apresenta destaque, bem como as bandas em  $871 \text{ cm}^{-1}$  e  $711 \text{ cm}^{-1}$ . A presença destas bandas pode indicar a presença de calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) [78], possivelmente devido ao consumo de cálcio do meio. Todavia, acontece a conversão para a camada de apatita já nos períodos seguintes. Para o 1º dia, o espectro já é característico da apatita e em 4 dias de imersão, já apresenta indícios de pico cristalino em  $1029 \text{ cm}^{-1}$ . A partir de 7 dias, ocorre evidência desta banda, a qual aumenta conforme os dias em imersão. Destaca-se também, a banda em  $1095 \text{ cm}^{-1}$  e a região entre  $600$  e  $500 \text{ cm}^{-1}$  para 14 dias, as quais são características de uma camada mais cristalina sobre a superfície do material. Todavia, em 21 dias, as duas bandas em aproximadamente  $600 \text{ cm}^{-1}$  unem-se novamente, podendo indicar a formação de uma camada amorfa sobreposta a anterior. Desta forma, para esta temperatura houve maior cristalização da camada de apatita.

Desta maneira, pode-se observar então que as três amostras imersas em fluido corporal simulado apresentam resposta bioativa em função do tempo de imersão. Sendo que a T715 foi a única a apresentar indícios de uma camada cristalina.

A apatita pode ser classificada em hidroxiapatita, fluorapatita ou cloroapatita, quando ocorre substituição iônica, sendo constituída pelo hidróxido ( $\text{OH}^-$ ), fluoreto ( $\text{F}^-$ ) ou cloreto ( $\text{Cl}^-$ ), respectivamente. A precipitação da fluorapatita é favorecida quando comparada à precipitação de HAp na presença de  $\text{F}^-$  no meio de imersão, uma vez que, a formação da camada é fortemente influenciada pelos íons presentes no meio e também, dependente do valor de pH [79,80]. Como os tipos de apatita se diferenciam apenas pelo íon, não é possível afirmar por meio da espectroscopia no infravermelho qual das camadas está em crescimento. Todavia, a morfologia entre elas é alterada, e a presença ou ausência de flúor torna-se detectável via espectroscopia de energia dispersiva (EDS).

### 4.2.3 MEV e EDS

Após o ensaio de bioatividade em SBF, as superfícies das amostras T560, T6258 e T715 foram observadas por microscopia eletrônica de varredura, nos períodos de imersão de: 0,25, 1, 7, 14, 21 e 28 dias. As micrografias são apresentadas na figura 4.11.

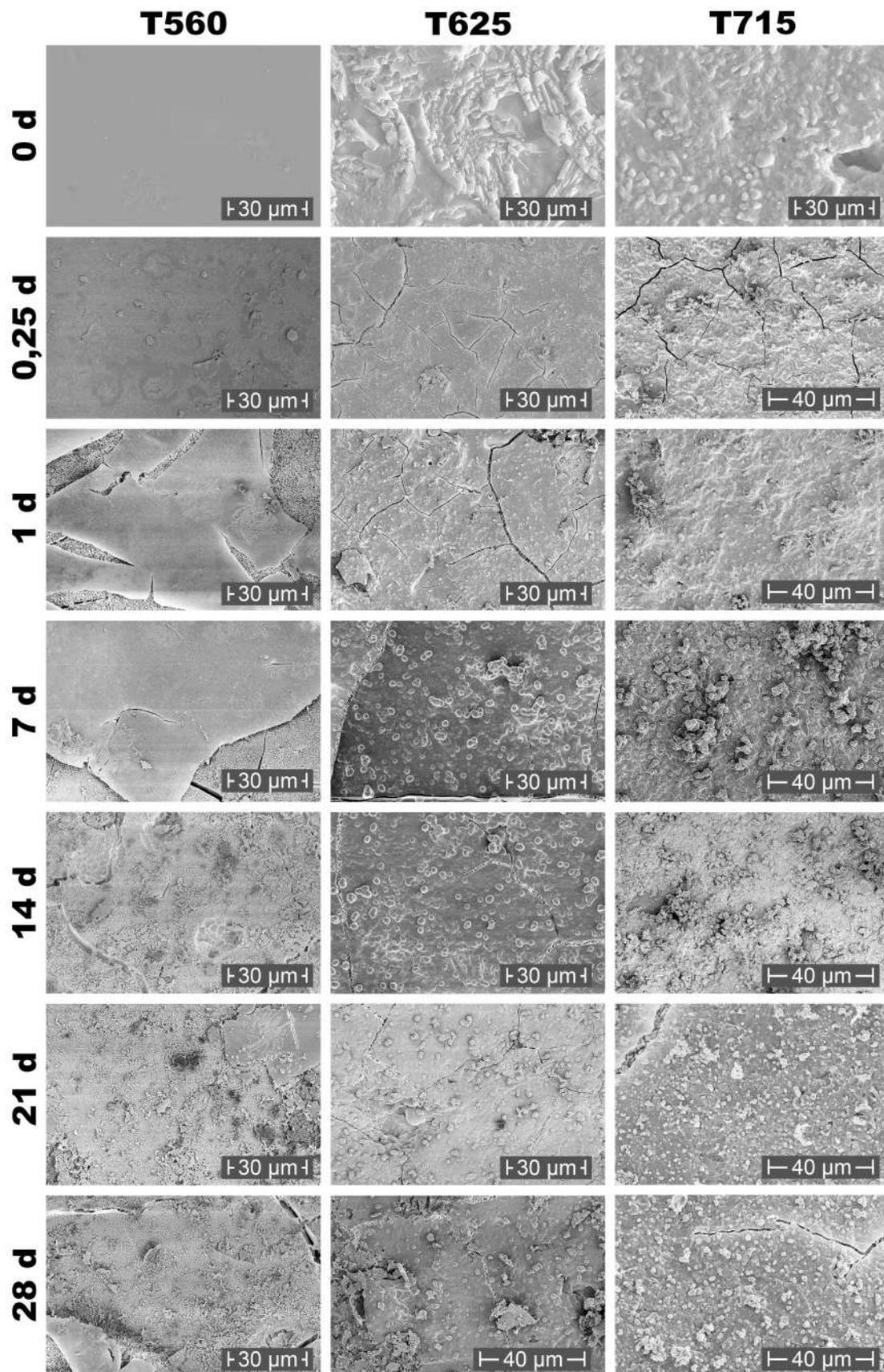


Figura 4.11: Micrografias obtidas via Microscopia Eletrônica de Varredura das superfícies das amostras T560, T625 e T715 pós-imersão em SBF nos tempos de 0,25, 1, 7, 14, 21 e 28 dias.

Para a amostra T560, pode-se observar que a superfície começa apresentar lixiviação e precipitação de camada a partir de 6 horas de imersão, a qual pode ser melhor observada na ampliação da figura 4.12, corroborando com os dados obtidos via FTIR. Esta lixiviação progride ao longo dos períodos de imersão. Todavia, para 21 e 28 dias, a superfície do vidro ainda não foi totalmente biodegradada pelo meio. Também é notório o desenvolvimento da camada ao longo do tempo, mesmo que mínimo, pode ser observado nas micrografias. Este desenvolvimento pode estar relacionado às pequenas variações próximos de 14 e 21 dias no pH, na concentração iônica do material e minimamente na perda de massa.

Já para a amostra T625, nota-se nos dois primeiros períodos de imersão, uma superfície totalmente craquelada. Neste caso a camada começou a ser precipitada sobre o material, como visto na ampliação, figura 4.13. Mas, não se pode atribuir estas rachaduras como sendo da camada, uma vez que, esta amostra apresentou cristalização heterogênea com microfissuras superficiais, as quais podem ter sido dilatadas devido ao processo de lixiviação. Na figura 4.11, pode ser observado com detalhe a precipitação da camada, a partir de 7 dias de imersão, confirmando os dados obtidos via FTIR. Porém, para pH, perda de massa e concentração iônica, ocorre uma maior variação entre os 7 primeiros dias, provavelmente devido à uma maior troca iônica entre o meio e a superfície.

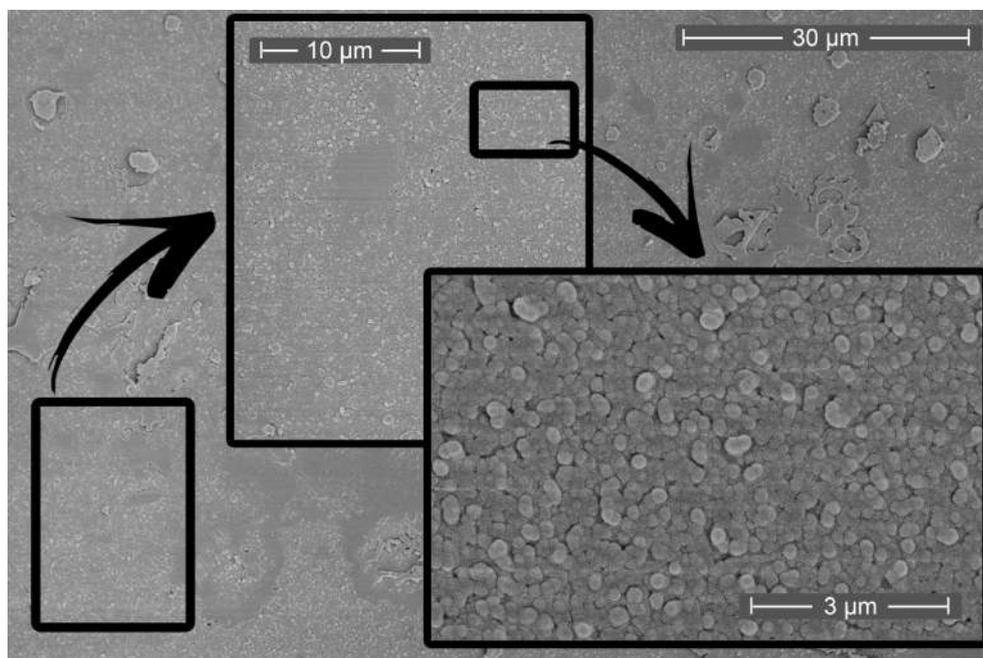


Figura 4.12: Micrografia da superfície da amostra T560 após 0,25 dias de imersão em SBF.

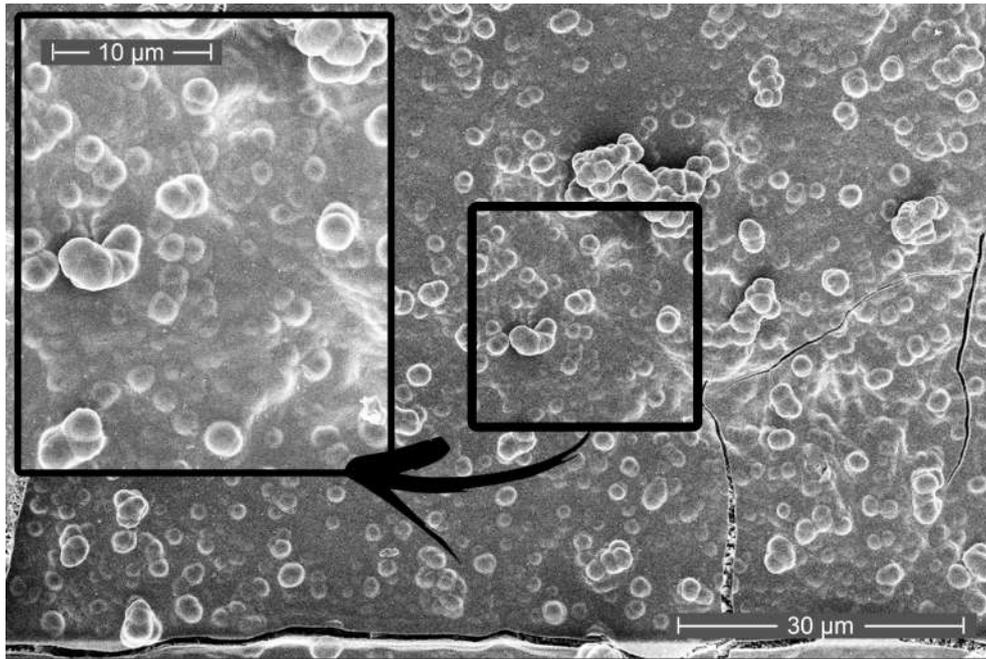


Figura 4.13: Micrografia da superfície da amostra T625 após 7 dias de imersão em SBF.

Por fim, para a amostra T715, pode-se observar que logo nas primeiras 6 horas já há a presença da camada sobre a superfície do material. Para melhor visualização, a figura 4.14 apresenta a ampliação deste tempo de imersão. Esta camada segue se desenvolvendo ao longo do tempo de imersão, para 14 dias, nota-se a presença de uma camada extremamente extensa, corroborando com os dados de FTIR, no qual mostra o *split* nos picos do fosfato, indicando a cristalização da mesma. Para tempos de imersão maiores, 21 e 28 dias observa-se que uma nova camada esta crescendo em sobreposição à cristalizada, conforme já discutido anteriormente.

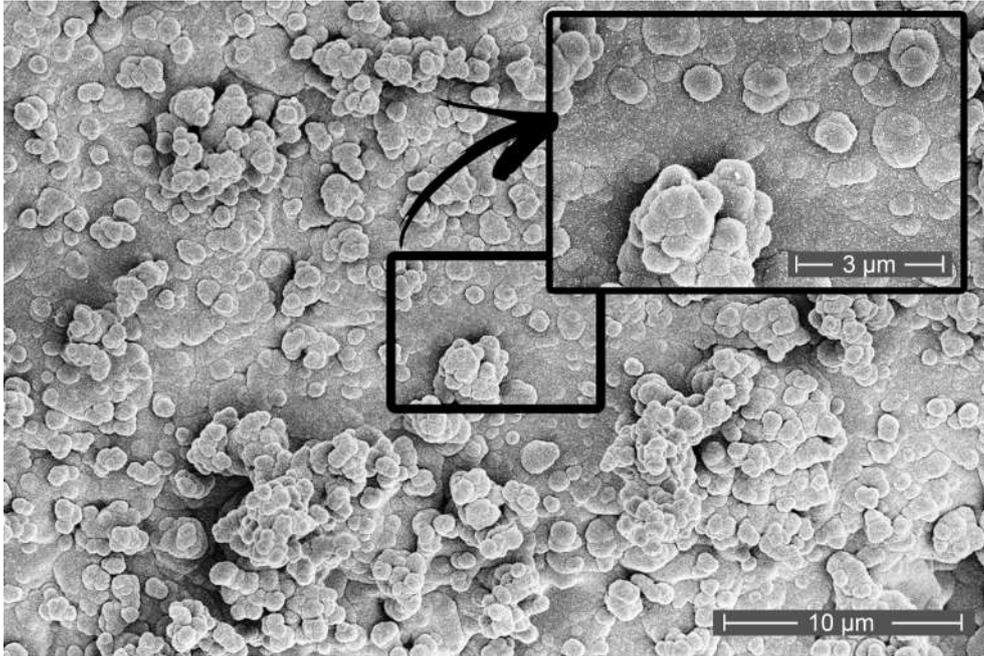


Figura 4.14: Micrografia da superfície da amostra T715 após 14 dias de imersão em SBF.

Vale ressaltar que a morfologia da camada obtida para as três amostras apresentam semelhança com a camada obtida por Manafi *et al.* em seu trabalho de síntese e avaliação da bioatividade de nanocompósito de vidro bioativo. Neste trabalho a camada obtida foi de fluorapatita [81]. O mapeamento por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) pode indicar a presença de flúor sobre a superfície das amostras, sendo assim, foram realizadas medidas por meio desta técnica nas amostras após 14 dias de imersão em SBF. A mérito de comparação, foi realizado também o mapeamento antes de imersão, pois na presença de camada, é esperado que a razão Ca/P se altere. Os resultados podem ser observados na figura 4.15.

Primeiro ponto a ser observado é que alguns elementos de baixo número atômico ( $u < 10$ ), como o boro, pode apresentar resultados não tão representativos, devido a limitação técnica do equipamento. Desta forma, nota-se que este elemento não foi detectado em nenhuma das amostras. Além disso, é preciso reparar na semiquantificação do flúor, uma vez que ele aparece em menor quantidade quando comparado com as amostras pós-imersão por 14 dias. Provavelmente, isto ocorreu devido a liberação deste elemento no meio e a sua precipitação na camada como fluorapatita.

A figura 4.15 também exibe a razão Ca/P de cada uma das amostras. A razão Ca/P da apatita é de aproximadamente 1,67 [26]. Como pode ser verificado, houve uma redução nesta razão entre as amostras antes para após imersão, sendo que a amostra T715 apresen-

tou razão de 1,74, permanecendo muito próxima a da apatita e indicando a cristalização da mesma. Fato este já observado via FTIR, bem como, nas micrografias.

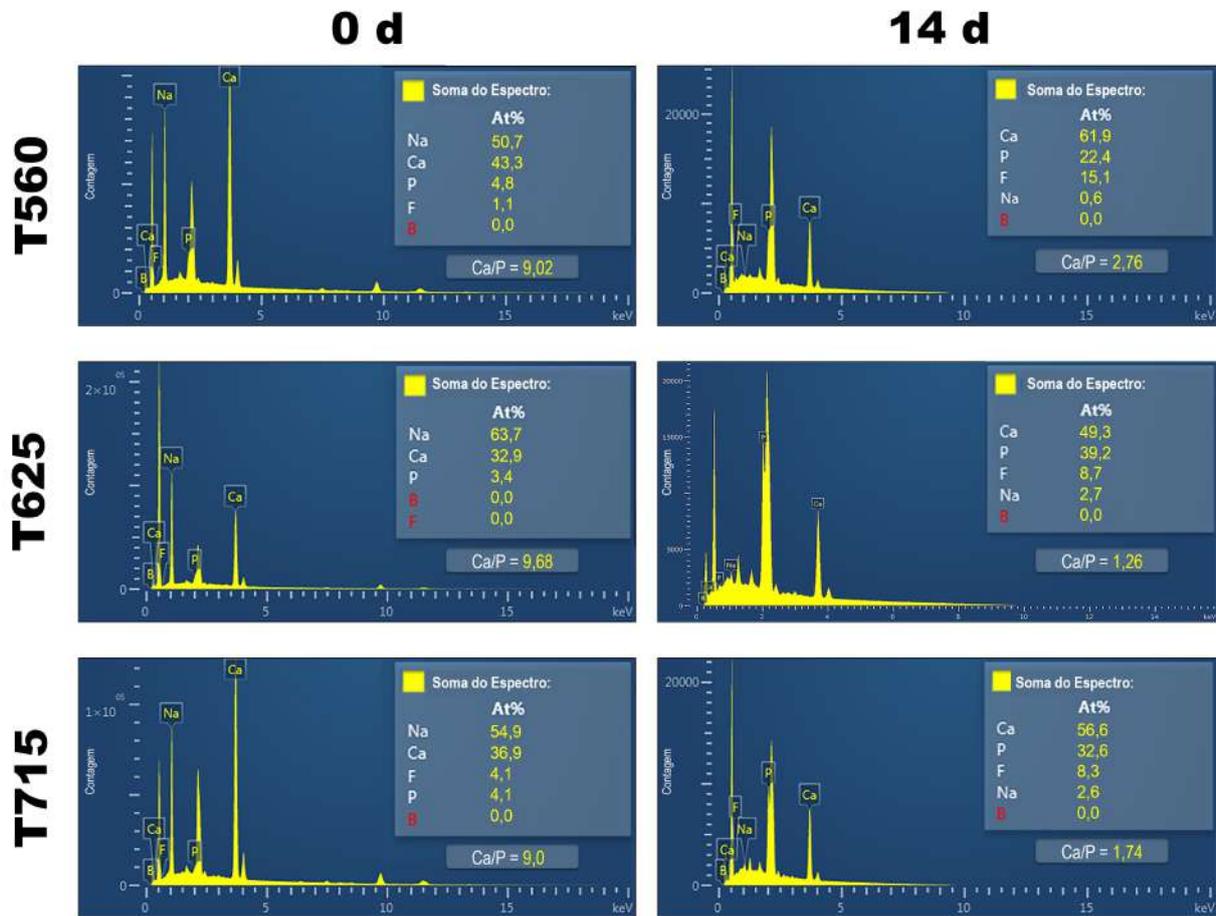


Figura 4.15: Semiquantificação obtida via Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) na superfície das amostras T560, T625 e T715 antes e após 14 dias de imersão em SBF. Sendo *At%* o percentual do elemento em peso atômico.

## CONCLUSÕES

A primeira parte do presente trabalho envolveu estudar o processo de cristalização de amostras pulverizadas e compactadas com tamanho de partícula  $<45 \mu\text{m}$ . As temperaturas escolhidas para tratamento foram baseadas nos dados de análise térmica, resultando em oito temperaturas de tratamento térmico.

A difratometria de raios X indicou caráter amorfo para a amostra sem tratamento térmico e T490, além de início de cristalização para a amostra T560. As amostras tratadas termicamente entre  $615 \text{ }^\circ\text{C}$  e  $785 \text{ }^\circ\text{C}$  evidenciaram três fases cristalinas principais:  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$ ,  $\text{CaNa}_3\text{B}_5\text{O}_{10}$  e  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ . Houve um aumento no índice de cristalinidade (IC) conforme o aumento da temperatura de tratamento térmico e detectou-se uma decomposição da fase  $\text{CaNaB}_5\text{O}_9$  para a fase  $\text{CaB}_2\text{O}_4$  na amostra tratada acima do  $T_m$ . Os modos vibracionais associados a cada uma das fases foram identificados via espectroscopia Raman e FTIR. As micrografias evidenciaram o início de cristalização superficial na amostra T560 e foi possível acompanhar o desenvolvimento da cristalização superficial e volumétrica, formação dos cristais, porosidade e a distribuição elementar para as amostras tratadas termicamente acima de  $615 \text{ }^\circ\text{C}$ . Assim, pode-se concluir que o sistema vítreo da forma como trabalhado, apresenta facilidade para cristalizar, mantendo estabilizada a proporção de suas fases cristalinas, com alteração na morfologia.

A segunda parte dos resultados consistiu em avaliar as três amostras em função do tempo de imersão em SBF. Os testes biológicos apontaram que os materiais não apresentam caráter citotóxico, possuindo 80% ou mais de viabilidade celular, sendo este um pré-requisito para a aplicação como biomaterial. A avaliação da bioatividade exibiu alterações de pH, perda de massa e concentração iônica, as quais foram confirmadas por análise de FTIR e MEV, indicando formação da camada de apatita na superfície do material, com fortes indícios, por meio do EDS, que esta camada precipitou na forma de fluorapatita.

Conclui-se que a principal vantagem de cristalizar os vidros, por meio de uma rampa controlada, foi a obtenção de vitrocerâmicas com base borato que apresentaram boa troca iônica, exibindo formação de camada apatítica e apresentando fases cristalizadas não citotóxicas. Para futura aplicação em compósitos, a indicação fica a depender do material de reforço utilizado.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

Alguns pontos deste trabalho ainda precisam ser melhor explorados, como a alteração do tamanho de partícula do vidro e a alteração da rampa de cristalização, bem como, o tempo de cristalização, afim de avaliar se há formação de novas fases e como se desenvolve a morfologia da amostra.

Ainda, seria interessante avaliar vidros com diferentes composições, principalmente acima do segundo pico endotérmico para verificar a decomposição de fases e relacionar com estudos já realizados.

Além disso, seria interessante o estudo do tamanho de partícula obtida na realização da moagem do vidro em moinho de bolas, utilizando diferentes tempos, razões entre bolas e quantidade de bolas para facilitar o processo de preparação da amostra.

Ademais, seria de grande valia investigar a resistência mecânica e a densidade destes materiais, uma vez que varia com a composição, a temperatura e tempo de cristalização, principalmente devido à formação de poros, o que pode, em alguns casos, fragilizar o material.

Por fim, pretende-se realizar medidas de difratometria de raios X pós-imersão, bem como, avaliar todas as temperaturas de tratamento térmico imersas no SBF. A avaliação de todos os elementos via MP-AES também faz-se necessária. Além de produzir compósitos dos vidros com outros materiais bioativos, como por exemplo, a hidroxiapatita utilizando como base para produção, o presente trabalho.

Este capítulo apresenta uma breve fundamentação teórica, representações esquemáticas e considerações importantes à respeito das técnicas de análise utilizadas neste trabalho.

## A.1 Análise térmica

O termo análise térmica pode ser utilizado para descrever técnicas experimentais analíticas capazes de investigar a relação entre as propriedades (físicas e/ou químicas) de uma amostra e suas respectivas temperaturas, conforme ocorre aquecimento ou resfriamento de maneira controlada [82, 83]. Logo, para que experimentos em função da temperatura sejam realizados com êxito, é de suma importância conhecer de forma quantitativa e qualitativa o comportamento do material frente às mudanças de temperatura [84].

A análise térmica engloba uma infinidade de técnicas que estudam o material em função da temperatura. Para que essas técnicas se enquadrem em análise térmica é preciso que pelo menos uma propriedade física da amostra seja medida. Além disso, a medida deve ser expressa em função da temperatura de forma direta ou indireta e a medida deve ser feita sob um programa controlado de temperatura [85]. Dentre essas diversas técnicas, destacam-se duas: DTA (*Differential Thermal Analysis*, em português, Análise Térmica Diferencial) e DSC (*Differential Scanning Calorimeter*, em português, Calorimetria Exploratória Diferencial).

O DTA utiliza como base a diferença de temperatura na amostra analisada e uma amostra referência, termicamente inerte, quando colocadas sob o mesmo controle de temperatura [86]. O equipamento utilizado para a realização destas medidas é um analisador térmico diferencial e seu funcionamento está esquematizado na figura A.1. No interior de um bloco cerâmico<sup>6</sup> contido dentro de um forno, são condicionados dois portas-amostras conectados com dois termopares, um para a amostra em análise e outro para a amostra

<sup>6</sup>O bloco cerâmico possui a função de distribuir o calor uniformemente na amostra [87].

referência. Os medidores são responsáveis por mensurar a diferença de potencial elétrico, na ordem de milivolts (mV) entre ambas as amostras, sendo este sinal convertido para temperatura. Conforme o tempo passa, o forno varia sua temperatura uniformemente entre ambas as amostras. Caso a amostra analisada ( $T_a$ ) sofra uma transição de fase, a energia absorvida ou liberada ocasiona uma diferença de temperatura com a amostra de referência ( $T_r$ ). Logo, obtém-se uma diferença de temperatura expressa por  $\Delta T = T_r - T_a$ . Ao finalizar o evento de transição, a amostra  $T_a$  volta a possuir uma diferença de temperatura com a amostra referência equivalente a zero [83,85].

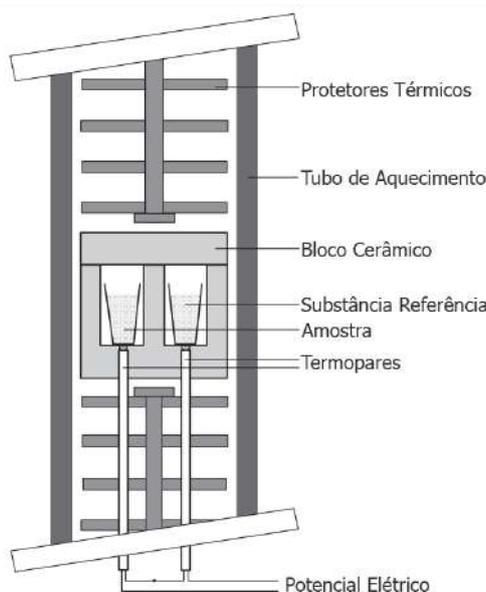


Figura A.1: Esquema de um analisador térmico diferencial. Adaptado de [87].

Apesar de ser semelhante ao DTA, a técnica de DSC é responsável por diferenciar a taxa de fluxo de calor à uma determinada temperatura entre a amostra analisada e o material de referência [88]. Desta maneira, ao invés de avaliar a diferença direta de temperatura, como é feito pelo DTA, esta técnica avalia a diferença de energia fornecida entre ambas as amostras [85].

Desta forma, para que esta análise seja possível, é preciso um calorímetro exploratório diferencial. Há dois tipos comumente utilizados: DSC com fluxo de calor e DSC com compensação de potência. No primeiro, ambas as amostras (a ser analisada e de referência) são colocadas sobre um suporte metálico que pode ter diferentes formatos<sup>7</sup>. As trocas de calor entre a amostra e o forno devem ocorrer por meio do suporte metálico, esquematizado na figura A.2a . Quando não há registro de eventos térmicos esta troca acontece em regime estacionário, ou seja, o fluxo térmico não apresenta variação com o tempo. Caso a amostra analisada sofra alguma transição, o sinal é captado por meio de uma variação de temperatura com a referência, em  $\mu V$  e, por meio de uma calibração, é possível converter

<sup>7</sup>O suporte metálico pode ser em formato de disco, torre ou cilindro. Sua forma pode interferir principalmente na quantidade de amostra e sensibilidade na troca de calor [89].

este sinal em mW, unidade respectiva a fluxo de calor [85,88,89]. Enquanto que, no DSC com compensação de potência cada amostra é disposta em fornos individuais e mantidas a uma mesma temperatura com o auxílio de aquecedores elétricos individuais, conforme a figura A.2b apresenta. Desta forma, ao ocorrer um evento térmico, a variação na potência de entrada de cada aquecedor é alterada, permitindo a detecção [88,89].

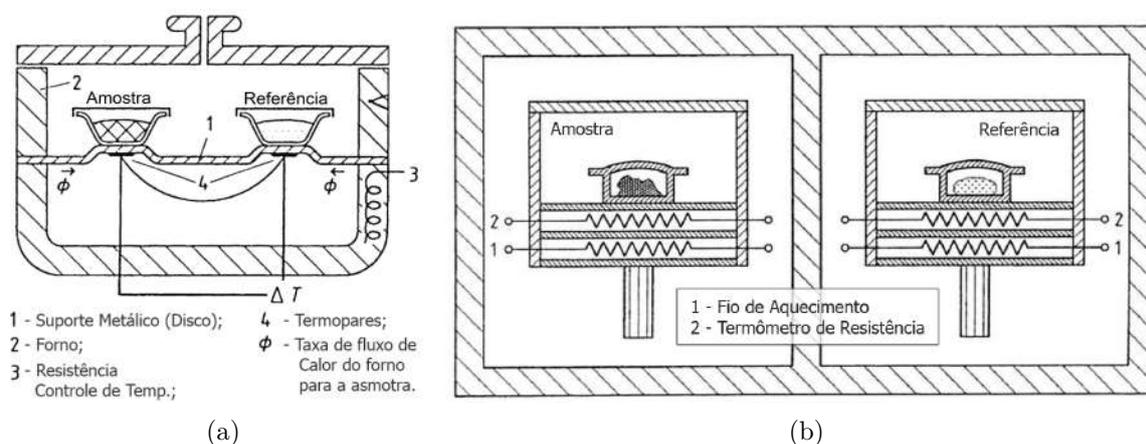


Figura A.2: Representação do funcionamento de um DSC sendo: (a) DSC com compensação de potência; (b) DSC com fluxo de calor. Adaptado da referência [89].

Tanto o DTA quanto o DSC fornecem seus resultados em uma curva conhecida como termograma. Ambas as curvas são em função da temperatura, diferenciam-se pela unidade do eixo da ordenada e são bem semelhantes, apresentando as temperaturas características da amostra, como por exemplo: cristalização e fusão. Mas, pelo fato do DSC fornecer a medida em fluxo de calor, por meio de seu termograma é possível determinar valores como a variação de entalpia, resistência térmica total ao fluxo calórico e capacidade calorífica [85,88,90].

As variações de entalpia podem ser do tipo endotérmica ou exotérmica (absorvendo ou liberando calor, respectivamente). Estas variações são consideradas transições de primeira ordem pois originam picos, da mesma forma que a fusão, dessorção, reações de redução, cristalização, reações de polimerização, oxidação, cura, dentre outros. Já as transições de segunda ordem apresentam variação do calor específico à pressão constante, caracterizando um deslocamento na linha de base. Estas transições de segunda ordem são características em relaxações de tensões térmicas de cadeias poliméricas e transições vítreas nos vidros [90]. Tais mudanças nos termogramas podem ser observadas na figura A.3 que representam curvas obtidas no DSC. Os valores das temperaturas características são determinados por meio de extrapolações da linha inicial ou final do evento térmico com a linha de base [90].

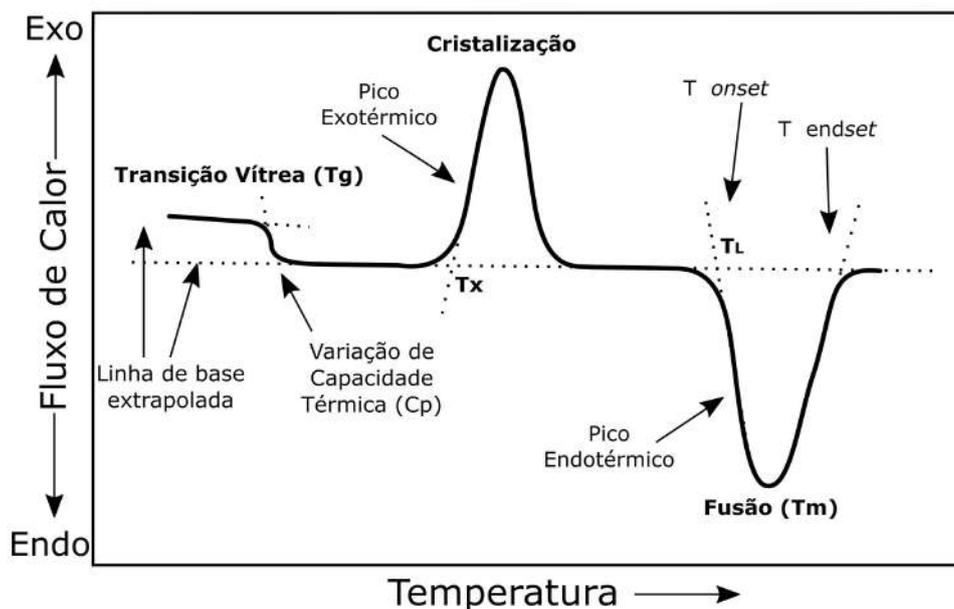


Figura A.3: Representação de termograma obtido em um equipamento de DSC. Adaptado das referências [7, 90].

Vidros apresentam curvas de DSC já muito bem conhecida e caracterizada. Sendo que, conforme há o aumento de temperatura, este material possui uma transição de fase de segunda ordem, conhecida como transição vítrea ( $T_g$ ), ponto no qual o vidro converte de sólido para um líquido extremamente viscoso no qual ainda permanece amorfo. O início da cristalização é denominado  $T_x$  e dá origem ao processo de cristalização do vidro, ou seja, um ordenamento estrutural começa a ser gerado. Seguido do pico de cristalização no qual a fase formada é estabelecida. Por fim, o início da fusão e o pico de fusão ( $T_m$ ), no qual o vidro torna-se um fundente líquido [7].

## A.2 Difratometria de raios X (DRX)

A difratometria de raios X, conhecida e abreviada pela sigla DRX, é uma importante técnica não-destrutiva capaz de identificar e caracterizar parâmetros estruturais de materiais sólidos cristalinos. Esses parâmetros abrangem o tipo da estrutura do material, a orientação dos cristais, fases, tamanho de cristalito, cristalinidade, dentre outras. Tais informações são aplicáveis não só em áreas como a Física mas também na Química, Farmácia, Geologia, Biologia e até mesmo Medicina [91, 92].

Nem todos os materiais sólidos são considerados cristalinos, isto porque o conceito de cristal é proveniente de uma organização atômica tridimensional e periódica de longa escala [93]. A periodicidade de um arranjo de átomos em longo alcance pode gerar diversos planos cristalográficos. Para famílias de planos paralelos costuma-se utilizar uma trinca de índices inteiros conhecidos como  $(hkl)$  na notação cristalográfica. Estes índices podem ser definidos pelo inverso dos pontos nos quais o plano cristalográfico intercepta os eixos

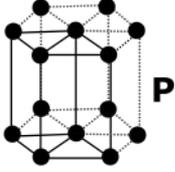
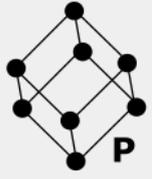
de coordenadas da célula unitária<sup>8</sup>, tais índices são conhecidos por índices de Miller. Os eixos de coordenadas de uma célula unitária são expressos pelas letras **a**, **b** e **c** e os ângulos interaxiais definidos como  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  [91,94,95].

Caso o módulo dos eixos de coordenadas de uma célula unitária e/ou seus ângulos sejam diferentes entre si, eles formam sistemas cristalinos diferentes. Auguste Bravais foi responsável por estudar, classificar e definir 14 configurações diferentes para as células unitárias sendo que, podem ser agrupadas em 7 sistemas cristalinos distintos como apresenta a tabela A.1 [91,95].

Tabela A.1: Relações entre os parâmetros de rede para os 7 sistemas cristalinos e figuras apresentando as 14 possíveis configurações espaciais das células unitárias. Sendo P a célula unitária primitiva ou simples; I a célula de corpo centrado; F de face centrada e C de célula centrada uma única face [95]. Imagens elaborada pela autora.

Sistema Cristalino	Relações Axiais e Ângulos Interaxiais	Redes de Bravais
Cúbica	$\mathbf{a} = \mathbf{b} = \mathbf{c}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	
Tetragonal	$\mathbf{a} = \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	
Ortorrômico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$ $\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$	
Monoclínico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$ $\alpha = \gamma = 90^\circ; \beta \neq 90^\circ$	
Triclínico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$ $\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$	

<sup>8</sup>A célula unitária pode ser considerada como a menor unidade (formada por um arranjo atômico) que se repete no espaço para definir a estrutura espacial do material como um todo [94].

Hexagonal	$\mathbf{a} = \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$ $\alpha = \beta = 90^\circ; \gamma = 120^\circ$	
Romboédrico ou Trigonal	$\mathbf{a} = \mathbf{b} = \mathbf{c}$ $\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$	

Para estudar estes sistemas cristalinos é necessário uma radiação eletromagnética cujo comprimento de onda seja da mesma ordem de grandeza da distância interatômica e interplanares da rede cristalina, aproximadamente de 1 e 2 Å [91]. Por possuir comprimentos de onda pequenos, entre 0,1 e 100 Å, os raios X são capazes de auxiliar nestes estudos, sendo a região espectral comumente utilizada entre 0,5 e 3 Å [91, 93].

A geração de raios X em fontes convencionais acontece no interior de um tubo evacuado. Neste tubo contém um filamento que é estimulado por uma corrente elétrica que o faz emitir elétrons, os quais são direcionados e acelerados a um alvo metálico devido à presença de uma diferença de potencial elétrico [91]. A colisão dos átomos do material metálico com os elétrons gera a emissão de radiação eletromagnética. A radiação eletromagnética gerada pela desaceleração dos elétrons, conhecida como *Bremsstrahlung* (freamento), fornece um espectro contínuo contendo diversos comprimentos de onda que dependem da energia cinética do elétron incidente. Enquanto que os elétrons incidentes, capazes de desalojar elétrons de camadas mais internas do alvo metálico, produzem espectros de raios X característicos que possuem energia equivalente à diferença dos níveis eletrônicos do átomo [91, 94]. Os materiais comumente utilizados nos alvos metálicos são Cobre, Cobalto, Cromo, Ferro e Molibdênio e os comprimentos de onda dos raios X característicos dependem exclusivamente do metal utilizado [93].

Os espectros de emissão para o alvo metálico é constituído então de um espectro contínuo gerado por meio da desaceleração dos elétrons incidentes (pouco intenso) e por picos de emissão característicos do material metálico. Os picos mais comuns são  $K_\alpha$  e  $K_\beta$  provenientes dos diferentes intervalos (*gaps*) de energia entre os orbitais atômicos do metal, orbital L para K e M para K, respectivamente. O pico escolhido para atingir a amostra geralmente é o  $K_\alpha$  por ser o mais eminente [91, 92, 94].

O esquema da figura A.4 apresenta um material cristalino de distância interplanar  $d$  que é incidido por uma radiação característica, monocromática e intensa de comprimento de onda  $\lambda$ . Ao atingir o material com um ângulo  $\theta$  em relação ao plano da superfície do material, o feixe é disperso tanto pela superfície quanto pelos planos cristalográficos subsequentes. Os feixes dispersos podem sofrer interferência destrutiva, ou seja, as ondas difratadas ficam fora de fase, resultando em uma amplitude igual a zero. Como também,

as ondas difratadas podem estar em fase, resultando em uma interferência construtiva [91, 93, 94].

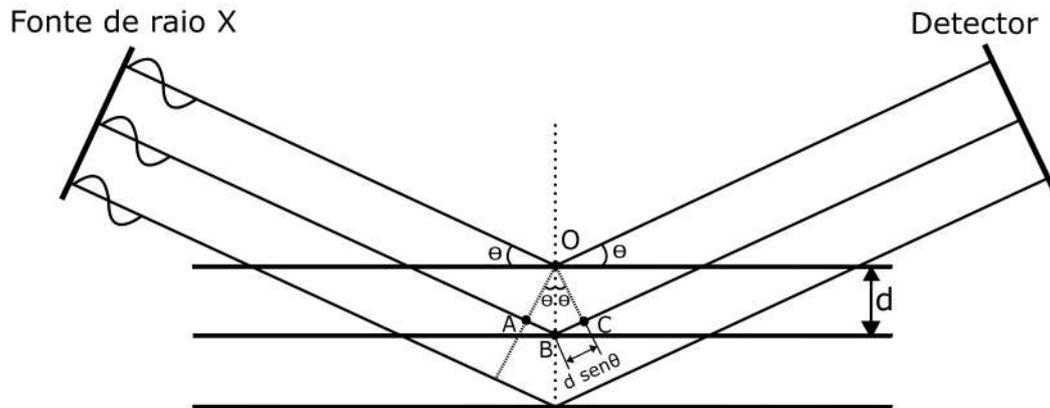


Figura A.4: Esquema da difração dos feixes de raios X em uma rede cristalina. Adaptado da referência [95].

Para que a interferência construtiva aconteça, é preciso que a diferença de caminho percorrido ( $\overline{ABC}$  - apresentada na figura A.4), pelos feixes difratados seja um múltiplo inteiro de seu comprimento de onda ( $n\lambda$  - sendo  $n$  um número inteiro). Desta forma, com auxílio geométrico, a equação A.1 é obtida. Esta equação é denominada Lei de Bragg [91].

$$\overline{AB} + \overline{BC} = 2\overline{AB} = 2d \sin \theta = n\lambda; \quad n = 1, 2, 3... \quad (\text{A.1})$$

O instrumento comumente utilizado para determinação dos parâmetros cristalográficos de um dado material é o difratômetro de raios X. Dentre os diversos métodos de análise, o método do pó recebe popularidade por analisar materiais policristalinos<sup>9</sup> [94]. Esses difratômetros podem apresentar diversos arranjos geométricos, sendo o do tipo Bragg-Brentano empregado com maior frequência.

O arranjo de Bragg-Brentano engloba duas principais geometrias. A do tipo  $\theta - 2\theta$  em que a fonte de raios X permanece fixa e o suporte da amostra movimenta-se ao redor de  $\theta$ , seguida do detector que move em torno de  $2\theta$ . Enquanto que, na geometria  $\theta - \theta$ , a amostra permanece fixa à medida que, a fonte de raios X e o detector movimentam-se ao redor de  $\theta$  [94], conforme apresenta a figura A.5.

A figura A.5 mostra uma representação esquemática do difratômetro utilizado no presente trabalho. Tal geometria é do tipo  $\theta - \theta$  e formada por dois círculos: o círculo focal e o círculo do goniômetro. O círculo focal está representado pela letra K e aborda componentes como a fonte, a óptica primária, a amostra e o detector. Já o círculo do goniômetro possui a amostra C localizada em seu centro (no eixo P) e a óptica secundária acoplada. O raio do goniômetro é fixo, mantendo a distância entre a fonte de raios X e a amostra ( $\overline{LC}$ ) e a amostra e a fenda receptora ( $\overline{DC}$ ) idênticas. Além disto, esta

<sup>9</sup>Policristais são sólidos cristalinos constituídos por milhares de pequenos cristais, conhecidos por cristalitos ou grãos [93].

- L – fonte de raios X
- G - fendas soller
- B – fenda divergente
- C - amostra
- D – fenda receptora
- E – fendas soller
- F – fenda de espalhamento
- T – detector de raios X

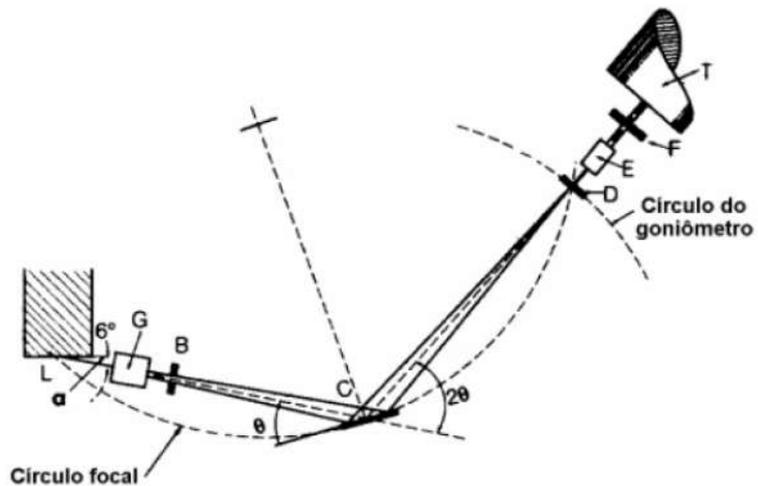


Figura A.5: Esquema experimental de um difratômetro de raio X na geometria  $\theta - \theta$ . Adaptado da referência [91].

distância fixa permite que o feixe incidente e difratado permaneça sempre no plano do círculo focal [94].

O feixe de raio X, produzido na fonte de raio X (L), permeia o colimador paralelo (G), também chamado de fenda Soller, sua função é impedir que os raios não paralelos ao plano do difratômetro passem. Os raios que atravessam atingem uma fenda divergente (B) que determina o tamanho do feixe que irá atingir a amostra em C. Os raios difratados pela amostra seguem caminho até a fenda receptora (D) que permite passagem apenas dos ângulos desejados, que prosseguem em direção a fenda Soller (E), atingindo por fim a fenda de espalhamento (F) e o detector (T). A fenda de espalhamento permite a passagem apenas dos comprimentos de onda desejáveis [94]. O detector coleta as intensidades difratadas (contagens para cada pico) obtidas nos respectivos ângulos  $2\theta$  de difração e fornece um difratograma.

No difratograma, cada pico está relacionado com a difração do feixe incidente em um conjunto de planos cristalográficos do material. Cada plano com seu respectivo índice de Miller ( $hkl$ ). Desta forma, pode-se considerar que o padrão de difração de raios X fornece a impressão digital dos arranjos atômicos periódicos em um determinado material cristalino, já que, são específicos de cada composto [91, 94]. A identificação do material cristalino pode ser realizada comparando os difratogramas da amostra com os padrões difratográficos disponíveis em bancos de dados como ICDD (*International Center for Diffraction Data*), JCPDS (*Joint Committee of Powder Diffraction Standards*), ICSD (*Inorganic Crystal Structure Database*), COD (*Crystallography Open Database*), dentre outros [94].

Para sólidos não cristalinos, chamados também de amorfos como o vidro e alguns polímeros, por não possuírem nenhum arranjo atômico regular, não possuem planos cristalográficos e conseqüentemente não apresentam picos de difração a serem analisados pela técnica de difratometria de raios X [91], como é possível observar na figura A.6 que

compara o difratograma de materiais cristalinos e amorfos.

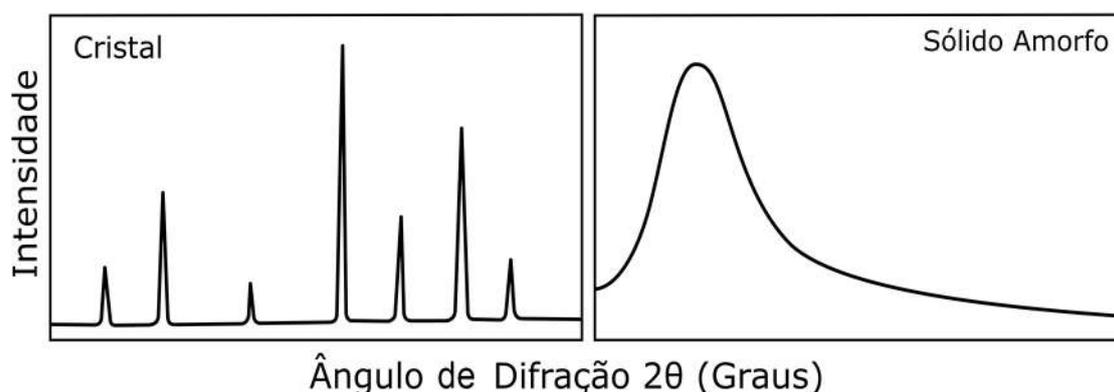


Figura A.6: Representação de difratogramas de sólidos cristalinos e amorfo. Adaptado da referência [91].

### A.3 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia abrange uma série de técnicas capazes de caracterizar materiais baseando-se no fato de como a radiação eletromagnética interage com a matéria. Essas interações podem detectar desde mudança no spin até mudança da configuração nuclear, que são verificadas por técnicas instrumentais e dependem especificamente da região do espectro eletromagnético utilizado [96, 97].

O espectro eletromagnético varia desde ondas de rádio até raios gama, com comprimentos de onda entre  $10$  e  $10^{-13}$  m, respectivamente. A região conhecida como infravermelho, é subdividida em três intervalos:  $0,7$  a  $2,5 \mu\text{m}$  referente a região infravermelho próximo,  $2,5$  a  $50 \mu\text{m}$  infravermelho médio e  $50$  a  $100 \mu\text{m}$  infravermelho longínquo, sendo estas regiões capazes de fornecer informações quanto às vibrações e rotações dos átomos de uma molécula [96, 97].

Cada ligação química de uma molécula possui frequências de vibração particulares, com níveis de energia vibracionais específicos que dependem de diversos fatores como a geometria molecular, energia potencial da molécula e massas dos átomos. Como consequência deste movimento vibracional, as moléculas variam seu momento dipolar elétrico. Os momentos de dipolo elétrico nas moléculas são gerados pelas cargas presentes nos átomos [97, 98]. Conseqüentemente, ao incidir uma radiação infravermelha no material, frações desta radiação só serão absorvidas caso as frequências de radiação sejam equivalentes às frequências vibracionais naturais da molécula. Se isto acontecer, as moléculas aumentam a sua amplitude de vibração devido à energia absorvida. Porém, para moléculas diatômicas homonucleares como é o caso do  $\text{H}_2$ ,  $\text{N}_2$  e  $\text{O}_2$ , seu momento dipolar é nulo, pois não há presença de cargas. Assim, não apresentam resposta de interação com a radiação infravermelha, ou seja, não apresentam um espectro de absorção desta radiação, sendo ditas inativas no infravermelho. Portanto, a variação do momento dipolar é uma

regra de seleção para que haja absorção na região do infravermelho [97,98].

Individualmente, cada átomo pode se movimentar em 3 coordenadas. Caso haja  $N$  átomos livres, não conectados entre si, o sistema contaria com  $3N$  graus de liberdade. Porém, considerando que estes átomos combinem-se formando uma molécula com  $N$  átomos, esta molécula também possui  $3N$  graus de liberdade. Todavia, destes  $3N$ , 3 graus estão relacionados com a translação do centro de massa da molécula e 3 graus relacionados com a rotação ao redor dos eixos de suas coordenadas. Resultando em  $3N-6$  graus de liberdade vibracionais para uma molécula não-linear. Entretanto, para uma molécula linear, não considera-se rotações sobre seu eixo internuclear, ficando então com  $3N-5$  graus de liberdade para as vibrações. Estes graus de liberdade vibracionais são correspondentes aos diferentes modos normais de vibração de uma molécula [54,96,97].

Os modos normais de vibração de uma molécula poliatômica são caracterizados por mudanças nos deslocamento das ligações, podendo ser de estiramento simétrico ou assimétrico, ou por mudanças nos ângulos das ligações, que podem ser deformações simétricas ou assimétricas no plano ou assimétricas fora do plano [96,97], conforme a figura A.7 mostra.

A frequência com que uma molécula vibra é característica de uma ligação ou grupo funcional. Assim, ao absorver a radiação incidente, originam-se bandas no espectro vibracional que indicam quais são essas ligações ou grupos funcionais, tal como uma impressão digital do material analisado, sendo muito útil, principalmente na caracterização química. Como a maioria dos materiais possuem ligações do tipo  $N-H$ ,  $C-H$ ,  $O-H$ ,  $C=O$ ,  $C-O$ ,  $C-C$ ,  $C=C$ ,  $C\equiv C$  e  $C\equiv N$ , a maioria dos equipamentos de absorção no infravermelho utilizam radiação na região do infravermelho médio, pois tais ligações são muito absorvedoras nesta região [96,97].

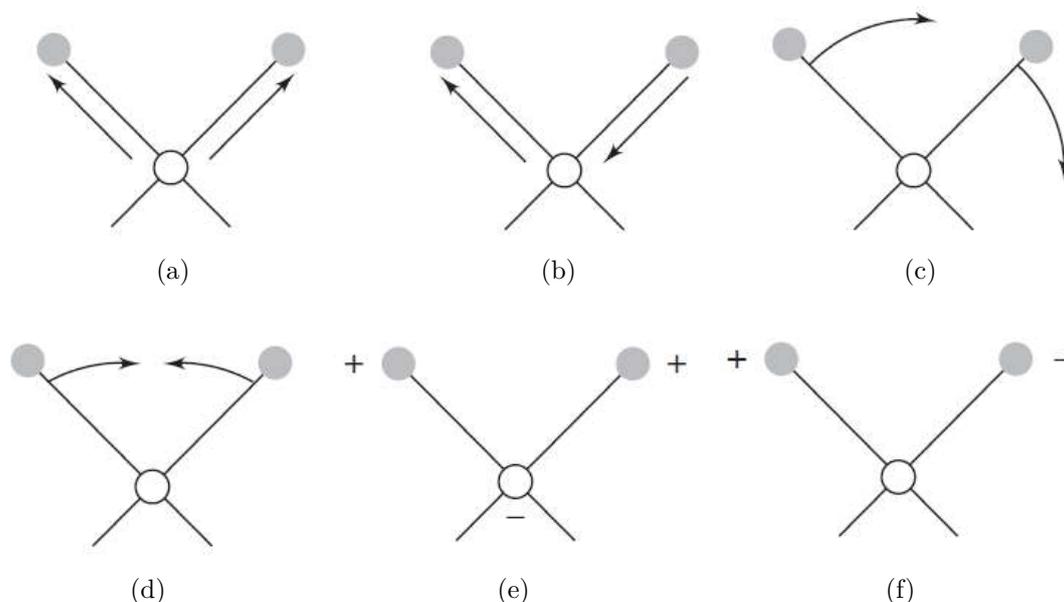


Figura A.7: Modos de vibrações das moléculas, sendo (a) estiramento simétrico, (b) estiramento assimétrico, (c) deformação angular simétrica no plano, (d) deformação angular assimétrica no plano, (e) deformação simétrica fora do plano e (f) deformação angular simétrica fora do plano. O “+” representa movimento para fora do plano e “-” movimento para dentro do plano. A molécula é representada por átomos de cor cinza e branco, sendo que cinza representa átomos pertencentes a um mesmo elemento químico enquanto que, a cor branca representa um elemento químico diferente. Adaptado da referência [96].

O espectro vibracional do material indica a intensidade da luz infravermelha coletada no sensor *versus* o número de onda, geralmente na unidade  $\text{cm}^{-1}$ , ou seja, energia. O eixo das abscissas não é expresso em comprimento de onda simplesmente por uma convenção. Para obtenção desses espectros, um equipamento chamado espectrômetro de infravermelho é utilizado [96].

Os primeiros espectrômetros utilizavam um monocromador como instrumento dispersivo para selecionar os diversos comprimentos de onda provenientes de uma fonte de infravermelho, sendo que era coletado o que transmitia da amostra, um a um, por um detector. Além da instabilidade da medida, o tempo de coleta era longo. Como solução deste problema, os espectrômetros de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR - *Fourier Transform Infrared*) utilizam um interferômetro em sua montagem experimental [97, 99].

Portanto, o equipamento consiste em uma fonte de infravermelho que incide uma radiação colimada em direção ao divisor de feixes (do inglês: *beam splitter*) que divide o feixe em dois de iguais intensidade. Um dos feixes segue em direção a um espelho fixo e o outro em direção a um espelho móvel que possui velocidade constante de oscilação. Estes feixes ao serem refletidos são recombinados no divisor de feixes, por motivo de possuir uma diferença de caminho óptico, ocorre interferências do tipo construtivas e destrutivas, formando um interferograma [97–99].

Este feixe recombinado passa então pela amostra que absorve todas frequências com-

patíveis com os seus modos normais de vibração. O feixe ao deixar a amostra, tem seu interferograma alterado e o detector lê tal informação em tempo real. O computador compara o interferograma modificado e um interferograma referência, realizado antes de colocar a amostra. E, por meio de um processo matemático, a transformada de Fourier, é capaz de transformar o interferograma que possui domínio temporal, em frequências individuais transmitidas ou absorvidas pela amostra [97,99]. O esquema de um espectrômetro encontra-se na figura A.8.

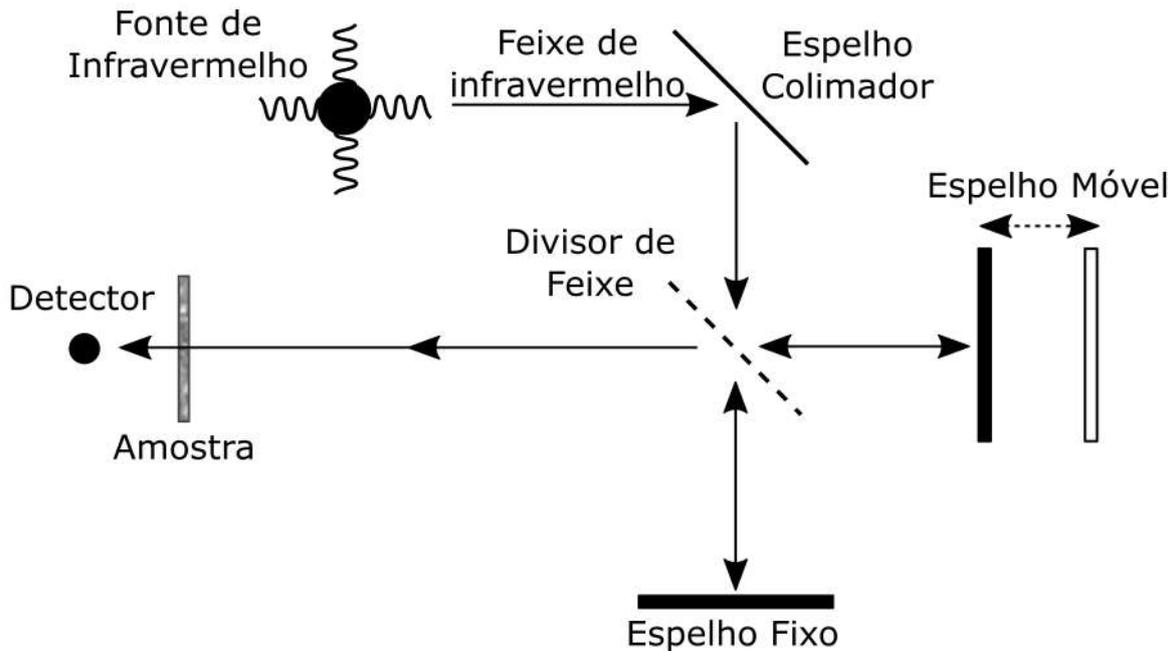


Figura A.8: Esquema de um espectrômetro no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Adaptado da referência [99].

O espectro é dado em transmitância assim que a transformada de Fourier é realizada e leva em consideração a intensidade de radiação antes ( $I_o$ ) e após atravessar a amostra ( $I$ ) [99], como mostra a expressão A.2:

$$T = \frac{I}{I_o} \quad (\text{A.2})$$

O espectro de absorção é obtido por meio da transformação:  $A = -\log T$ . Pode-se notar que a transmitância possui os picos apontando o lado negativo do eixo, enquanto que, na absorção os picos apontam para o sentido positivo. Ambos os espectros podem ser usados de forma qualitativa, ou seja, para caracterizar e identificar as ligações e grupos funcionais do material [96, 97, 99].

O espectro de absorção pode ser obtido diretamente por meio de um acessório de Reflectância Total Atenuada (ATR) inserido no compartimento de amostra do FTIR. Neste acessório a amostra é posicionada sobre um cristal que possui alto índice de refração. Assim, a radiação infravermelha que incide no interior desse cristal com um certo ângulo

crítico, é totalmente refletido no interior do cristal e, ao se deparar com a amostra, uma pequena parte é absorvida pelos modos normais de vibração da amostra e o restante é refletido e captado por um sensor. Assim, a radiação que penetrou na amostra é chamada de onda evanescente [97,98]. O esquema experimental é mostrado na figura A.9.

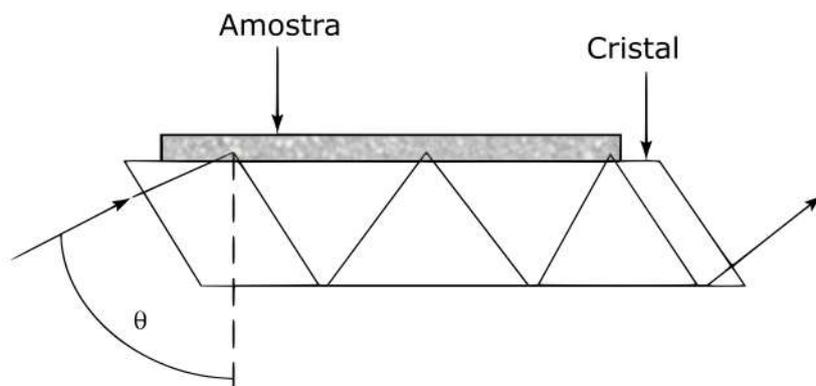


Figura A.9: Esquema da reflexão interna total múltipla em um cristal do acessório de reflectância total atenuada (ATR). Adaptado da referência [97].

Tanto o FTIR por transmitância quanto o acoplado com o acessório de ATR vêm sendo muito empregado na caracterização de amostras, identificando suas ligações e respectivos grupos funcionais. É comumente utilizado em áreas como Química, Física, Biologia, Agronomia, Farmácia, Engenharia [96].

## A.4 Espectroscopia Raman

Diferentemente da espectroscopia no infravermelho que necessita da variação do momento dipolar da molécula, o efeito Raman precisa que a radiação eletromagnética ocasiona uma mudança na polarizabilidade molecular, ou seja, é preciso que a interação da molécula com a radiação gere uma deformação em sua nuvem eletrônica. Para isto, ao perturbar a molécula com um fóton, ela transita do seu estado fundamental para um estado excitado "virtual", e decai assim que não está mais excitada. O estado de interação entre a radiação e a nuvem de elétrons é dito virtual justamente em virtude da instabilidade do estado excitado e o curto tempo de vida. Assim, a radiação é emitida como radiação espalhada e, o efeito Raman pode também ser chamado de espalhamento Raman [100].

Desta maneira, ao incidir um fóton sobre uma molécula, pode ocorrer espalhamento elástico ou inelástico. O espalhamento elástico, também chamado de espalhamento *Rayleigh*, é quando a molécula emite em uma mesma frequência do fóton incidente, ou seja, o fóton é espalhado com a mesma energia inicial. O espalhamento inelástico acontece quando o fóton espalhado possui energia diferente da inicial. Se o fóton emitido tiver energia menor da incidente, este espalhamento é chamado Stokes e, se caso a molécula já estiver em um estado excitado e emitir, decaindo para o fundamental, o fóton espalhado

terá energia maior que inicial e o espalhamento é dito anti-Stokes [54, 100]. A figura A.10 ilustra estes três tipos de espalhamento, sendo em Stokes, Rayleigh e anti-Stokes, respectivamente.

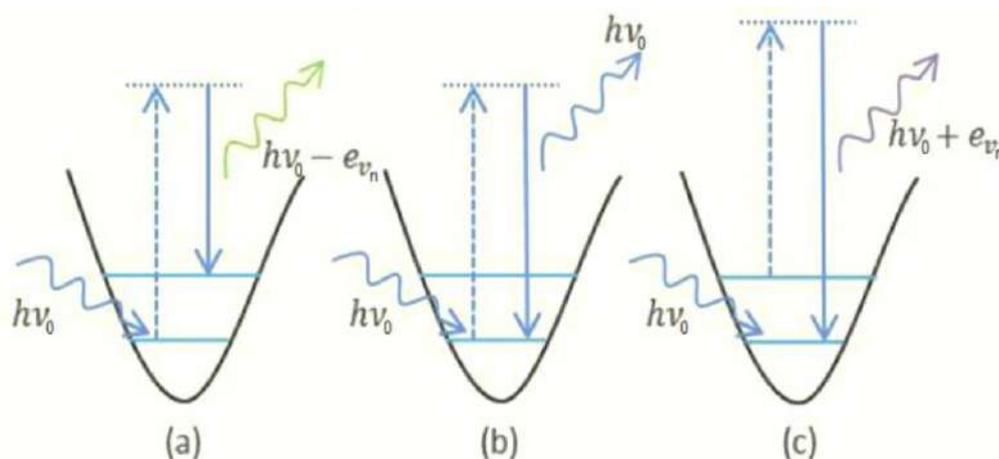


Figura A.10: Tipos de espalhamento: a) Raman Stokes; b) Rayleigh; c) Raman Anti-Stokes. Sendo  $h\nu_0$  a energia do fóton incidente e  $e_\nu$  a diferença de energia do fóton espalhado. Adaptado de [54].

Desta maneira, a regra para que ocorram as transições vibracionais do efeito Raman é de que a polarizabilidade da molécula deve alterar com a vibração molecular. Sendo que as ligações moleculares apresentam modos de vibrações diferentes que fazem com que o fóton emitido possua frequência característica, possibilitando sua identificação por meio do espectro Raman [54]. Este espectro é formado por uma banda referente ao espalhamento *Rayleigh* e as regiões Stokes e anti-Stokes, conforme ilustrado na figura A.11. Para as frequências, e conseqüentemente, energias de vibração mais baixas, tem-se o espalhamento do tipo Stokes e para frequências mais altas anti-Stokes. Todavia, o Stokes é sempre mais intenso, já que há uma maior quantidade de moléculas no estado fundamental. Ainda, para altas frequências vibracionais, a intensidade anti-Stokes torna-se difícil de ser observada [54, 100].

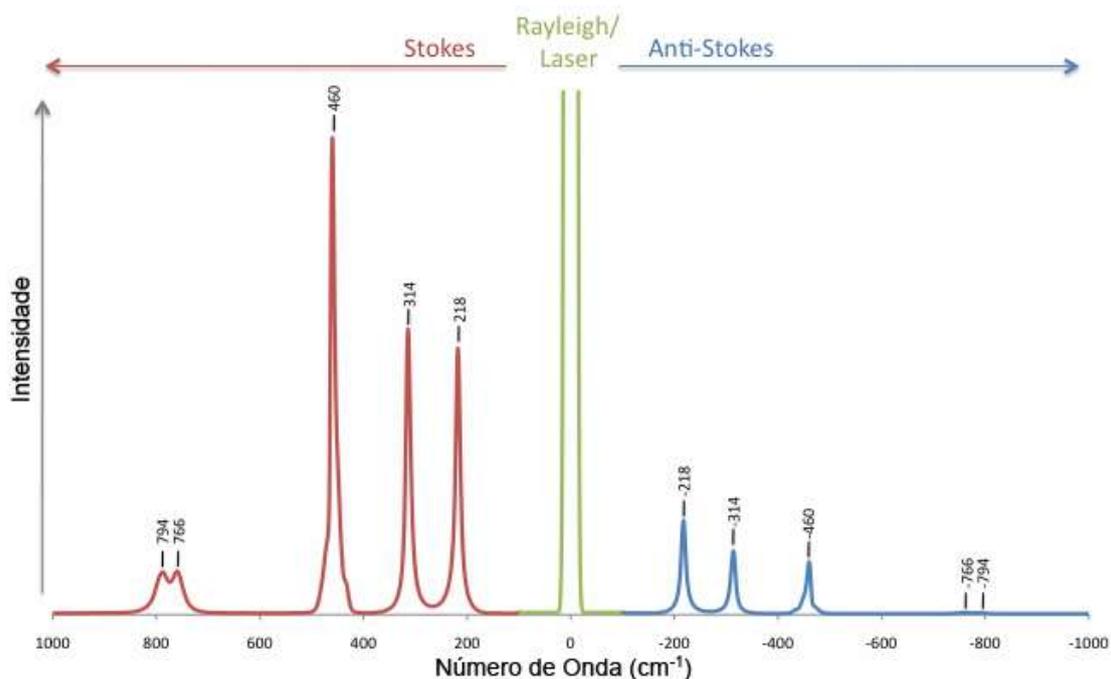


Figura A.11: Representação de um espectro com espalhamentos Stokes, Rayleigh e Anti-Stokes. Adaptado da referência [101].

Logo, cada banda apresentada no espectro Raman são respostas dos modos normais de vibração das moléculas que constituem um determinado material. Para obtenção dos espectros, primeiramente utiliza-se um feixe monocromático como fonte de excitação, o espalhamento é captado por um sensor e convertido em forma de espectro, o qual é expresso em intensidade por frequência. Todavia, o sinal Raman é fraco, cerca de 1 em 10 milhões de fótons, então toda a óptica deve ser otimizada para a detecção deste sinal. Há os espectrômetros que utilizam grade de difração e um dispositivo de carga acoplada (CCD) para que o sinal seja captado e, interferômetros similares ao do infravermelho, composto por um interferômetro de Michelson, no qual a transformada de Fourier é realizada para obtenção dos espectros.

## A.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O microscópio foi desenvolvido com a finalidade de ampliar objetos para que seus detalhes, não visíveis a olho nú, pudessem ser observados. A Microscopia Óptica é a mais antiga e usual técnica utilizada para este tipo de análise. Seu sistema é constituído de uma fonte de iluminação com comprimento de onda visível e um sistema de lentes, o que limita sua ampliação em 2000x. Com esta ampliação, torna-se difícil o estudo e análise em escala micrométrica e submicrométrica por uma infinidade de fatores, como a difração da luz. Por conta do avanço tecnológico e aperfeiçoamento nos instrumentos, o Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) foi desenvolvido e tem auxiliado nestas análises, fornecendo imagens com excelente resolução [102, 103].

O MEV vem sendo utilizado nos mais variados campos e abrange desde análises morfológicas, até estrutura atômica, porosidade, defeitos, tamanho de partículas, dentre outros. Isto apenas é possível graças à substituição do comprimento de onda da fonte de iluminação que, deixa de ser em centenas de nanômetros e passa a ser em frações de nanômetros, ou seja, deixa de usar fontes de iluminação na região do visível para usar feixes de elétrons [103, 104].

O interior de um MEV foi esquematizado na figura A.12. O feixe de elétrons é gerado utilizando um filamento aquecido de Tungstênio localizado na parte superior do microscópio. Este feixe é acelerado em uma coluna mantida em alto vácuo em razão da presença de uma diferença de potencial que pode variar de 1 à 30 kV. O feixe atinge lentes condensadoras eletromagnéticas que colimam e o conduzem até a objetiva. É pela objetiva que o feixe é focado na amostra e, em virtude de bobinas no interior da objetiva, o feixe é defletido em componentes  $x$  e  $y$  para que percorra toda a amostra [102, 104].

Se o feixe colidir e penetrar na amostra sendo desviado para uma nova direção devido aos núcleos atômicos, sem que haja perda de energia cinética, podemos dizer que houve uma interação do tipo elástica entre o feixe e a amostra. Esse tipo de interação acontece em virtude da força atrativa exercida sobre o elétron, por um núcleo relativamente grande de carga positiva da amostra. Esta força varia conforme o número atômico dos átomos presentes, estes elétrons defletidos são ditos elétrons retroespalhados. Portanto, além de fornecer o contraste da imagem em função do relevo, é possível obter imagens de composição atômica do material, ou seja, contraste em função do  $n^{\circ}$  atômico dos elementos presentes na amostra. Os elétrons transmitidos também sofrem espalhamento do tipo elástico, sendo responsáveis pela formação da imagem nos Microscópios Eletrônicos de Transmissão (MET) [102–104].

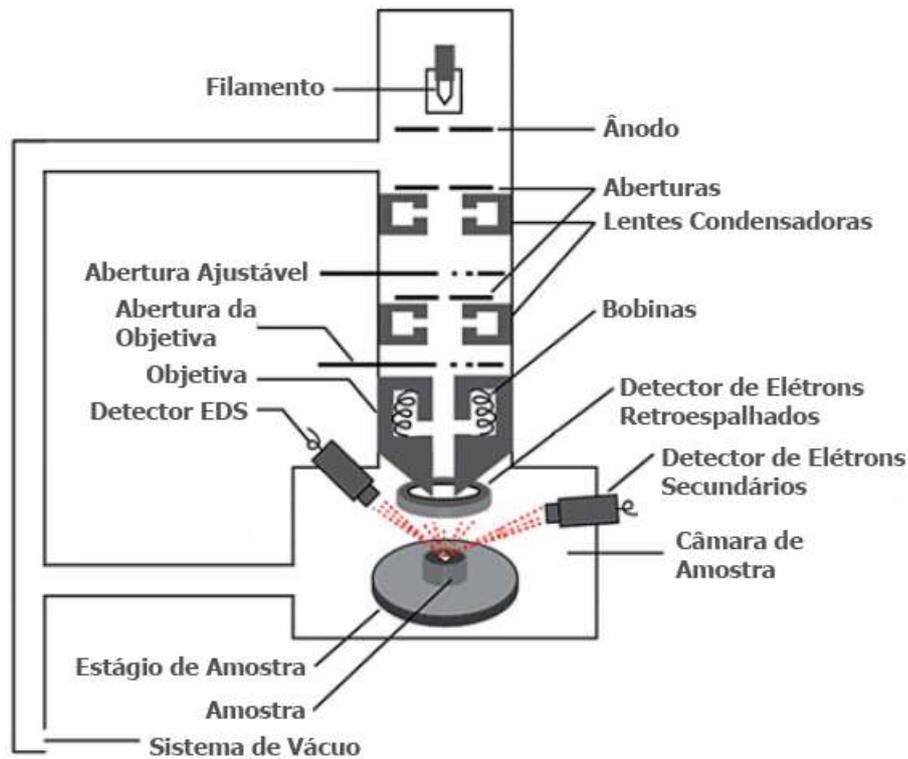


Figura A.12: Esquema de funcionamento do Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV). Adaptado de [104].

A imagem para visualização topográfica é obtido por meio de elétrons secundários. Esses elétrons são consequência de uma colisão inelástica, ou seja, o elétron incidente transfere energia para o átomo da amostra, saindo com menor energia cinética. Dessa forma, os elétrons só conseguem escapar se forem provenientes de camadas nanométricas da superfície. Além disso, os elétrons que não conseguem escapar, são absorvidos pela amostra, gerando corrente elétrica que é conduzida e descarregada, garantindo a integridade do material [102–104].

Além disso, caso o feixe de elétrons interaja e remova elétrons de átomos das camadas mais profundas do material, os elétrons de outras camadas podem sofrer decaimento. Neste processo, ocorre emissão de raios X. A energia desse raio X emitida depende especificamente de cada átomo, chamada de raio X característico. A leitura deste raio X característico emitido é feito por um detector de energia dispersiva de raios X (EDS), cuja técnica também recebe este nome. Por fim, o *software* recebe o sinal do detector e por meio de recursos estatísticos, fornece a identificação dos elementos, gerando uma tabela com os valores elementares entre os elementos detectados [102, 103].

## A.6 Espectroscopia de Emissão Atômica com Plasma Induzido por Micro-Ondas (MP-AES)

A espectroscopia atômica abrange diversas técnicas analíticas utilizadas na análise de composições elementares por meio de seu espectro de massa ou espectro eletromagnético. A espectroscopia de emissão atômica está incluída neste grupo, sendo muito empregada principalmente na química analítica, devido ao seu potencial de análise quantitativa e qualitativa de multielementos. A técnica pode ser utilizada para mensurar desde elementos da água e do leite até nutrientes em solo, englobando as mais diversas áreas: Química, Agronomia e Biologia [96, 105].

Esta técnica baseia-se na excitação dos elétrons dos átomos do elemento de análise, quando estes elétrons excitados retornam ao seu estado fundamental, emitindo um fóton. Este fóton possui comprimentos de onda específicos para cada átomo, geralmente na região entre 180 a 800 nm com comprimentos de onda característico para cada elemento [96, 105].

Para isto, a amostra líquida é inserida no compartimento de indução de amostra, sendo direcionada a um nebulizador capaz de transformar a amostra líquida em aerossol, seguindo em direção ao plasma. É no plasma que o aerossol sofre o processo de vaporização, transformando-se em partículas individuais, dissociando-se em átomos. Somente após estes processos, o plasma é capaz de excitar os elétrons dos átomos como consequência das colisões entre suas partículas e os átomos. Ao ocorrer o decaimento, uma emissão axial ao plasma é direcionada até o monocromador que seleciona os comprimentos de onda a serem monitorados por um dispositivo de carga acoplada (CCD) [96, 105, 106]. Na figura A.13 é mostrado um esquema do equipamento.

O plasma de micro-ondas é gerado por meio do uso de um sistema de guias de ondas, no qual um campo magnético axial e um campo elétrico radial formam uma “íris ressonante” mantendo e focalizando a energia de micro-ondas que excita um gás, geralmente utiliza-se nitrogênio ( $N_2$ ), o qual forma um plasma toroidal com um canal central que possui alta temperatura e alta resistência. O plasma possui elétrons livres e íons positivos em movimentos provenientes do gás utilizado. Então, o plasma é utilizado na excitação dos átomos da amostra [105, 106].

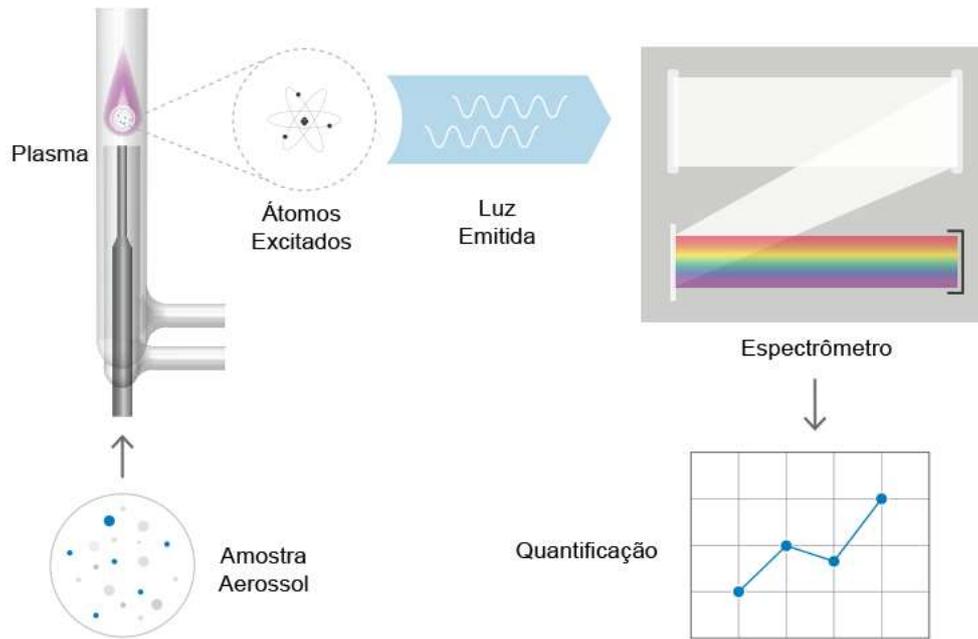


Figura A.13: Esquema do funcionamento de um espectrômetro de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas (MP-AES). Adaptado da referência [105].

Para quantificar cada elemento, o equipamento faz uma comparação da emissão de uma amostra conhecida com a analisada. Assim, é preciso que uma curva de calibração seja lida pelo equipamento anteriormente as medidas [105].

- [1] A. R. Boccaccini, D. S. Brauer, and L. Hupa, *Bioactive glasses: Fundamentals, technology and applications*. Royal Society of Chemistry, 2016.
- [2] L. L. Hench, *An introduction to bioceramics*, vol. 1. World Scientific, 1993.
- [3] L. L. Hench, “The story of Bioglass,” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 17, no. 11, pp. 967–978, 2006.
- [4] L. A. H. Durand, G. E. Vargas, N. M. Romero, R. Vera-Mesones, J. M. Porto-López, A. R. Boccaccini, M. P. Zago, A. Baldi, and A. Gorustovich, “Angiogenic effects of ionic dissolution products released from a boron-doped 45S5 bioactive glass,” *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, no. 6, pp. 1142–1148, 2015.
- [5] D. Bellucci, V. Cannillo, and A. Sola, “An overview of the effects of thermal processing on bioactive glasses,” *Science of Sintering*, pp. 307–320, 2010.
- [6] E. Le Bourhis, *Glass: mechanics and technology*. John Wiley & Sons, 2014.
- [7] J. E. Shelby, *Introduction to glass science and technology*. Royal Society of Chemistry, 2005.
- [8] W. Holand and G. H. Beall, *Glass-ceramic technology*. John Wiley & Sons, 2019.
- [9] J. Jones and A. Clare, *Bioglasses: an introduction*. John Wiley & Sons, 2012.
- [10] A. K. Varshneya, *Fundamentals of inorganic glasses*. Elsevier, 2013.
- [11] W. H. Zachariasen, “The atomic arrangement in glass,” *Journal of the American Chemical Society*, vol. 54, no. 10, pp. 3841–3851, 1932.
- [12] E. El-Meliegy and R. Van Noort, *Glasses and glass ceramics for medical applications*. Springer Science & Business Media, 2011.
- [13] M. Barsoum, *Fundamentals of ceramics*. CRC press, 2002.

- [14] J. Frenkel, “Viscous flow of crystalline bodies under the action of surface tension,” *Journal of Physics*, vol. 9, p. 385, 1945.
- [15] V. O. Soares, “*Sinterização, cristalização, desenvolvimento e caracterização de vitrocerâmicas de baixo coeficiente de expansão térmica do sistema  $Li_2O-Al_2O_3-SiO_2$  (LAS)*.” Tese de Doutorado, Universidade Federal de São Carlos, 2010.
- [16] M. A. C. Sinhoreti, R. P. Vitti, and L. Correr-Sobrinho, “Biomateriais na odontologia: panorama atual e perspectivas futuras,” *Revista da Associação Paulista de Cirurgiões Dentistas*, vol. 67, no. 4, pp. 256–261, 2013.
- [17] G. M. Raghavendra, K. Varaprasad, and T. Jayaramudu, “Biomaterials: design, development and biomedical applications,” in *Nanotechnology applications for tissue engineering*, pp. 21–44, Elsevier, 2015.
- [18] S. Donglu, *Introduction to biomaterials*. World Scientific, 2005.
- [19] V. Migonney, “History of biomaterials,” in *Biomaterials*, pp. 1–10, Wiley Online Library, 2014.
- [20] S. Bose and A. Bandyopadhyay, “Introduction to biomaterials,” in *Characterization of Biomaterials*, pp. 1–9, Elsevier, 2013.
- [21] C. Ning, L. Zhou, and G. Tan, “Fourth-generation biomedical materials,” *Materials Today*, vol. 19, no. 1, pp. 2–3, 2016.
- [22] S. H. Teoh, *Engineering materials for biomedical applications*, vol. 1. World Scientific, 2004.
- [23] L. L. Hench, R. J. Splinter, W. Allen, and T. Greenlee, “Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials,” *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 5, no. 6, pp. 117–141, 1971.
- [24] A. Karamanov and M. Pelino, “Induced crystallization porosity and properties of sintered diopside and wollastonite glass-ceramics,” *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 28, no. 3, pp. 555–562, 2008.
- [25] T. Kokubo and H. Takadama, “How useful is sbf in predicting in vivo bone bioactivity?,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 15, pp. 2907–2915, 2006.
- [26] J. K. M. F. Daguano, “*Biovidros e vitrocerâmicos bioativos do sistema  $3CaO.P_2O_5-SiO_2-MgO$  para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais mecânicas e biológicas*.” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, 2011.
- [27] S. Kargozar, F. Kermani, S. Mollazadeh Beidokhti, S. Hamzehlou, E. Verné, S. Ferraris, and F. Baino, “Functionalization and surface modifications of bioactive glasses

- (BGs): tailoring of the biological response working on the outermost surface layer,” *Materials*, vol. 12, no. 22, p. 3696, 2019.
- [28] P. N. Portes, “*Caracterização e avaliação da bioatividade in vitro do sistema vítreo:  $60B_2O_3 - 5CaF_2 - (20-x)Na_2O - (15-x)CaO - (2x)P_2O_5$  ( $x = 0, 1, 2$ ).*” Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Maringá, 2018.
- [29] E. C. P. Sousa, “*Cinética de cristalização em vidros teluritos do sistema TLWN.*” Tese de Doutorado, Universidade Estadual Paulista, 2013.
- [30] W. C. Lepry and S. N. Nazhat, “Highly bioactive sol-gel-derived borate glasses,” *Chemistry of Materials*, vol. 27, no. 13, pp. 4821–4831, 2015.
- [31] A. R. Boccaccini, Q. Chen, L. Lefebvre, L. Gremillard, and J. Chevalier, “Sintering, crystallisation and biodegradation behaviour of Bioglass derived glass-ceramics,” *Faraday discussions*, vol. 136, pp. 27–44, 2007.
- [32] C. R. Hubbard and R. L. Snyder, “RIR - measurement and use in quantitative XRD,” *Powder Diffraction*, vol. 3, no. 2, pp. 74–77, 1988.
- [33] L. H. Sperling, *Introduction to physical polymer science*. John Wiley & Sons, 2005.
- [34] M. A. Marzouk and H. A. Elbatal, “In vitro bioactivity of soda lime borate glasses with substituted SrO in sodium phosphate solution,” *Processing and Application of Ceramics*, vol. 8, no. 3, pp. 167–177, 2014.
- [35] A. Yao, M. N. Rahaman, J. Lin, and W. Huang, “Structure and crystallization behavior of borate-based bioactive glass,” *Journal of Materials Science*, vol. 42, no. 23, pp. 9730–9735, 2007.
- [36] M. A. Ouis, A. M. Abdelghany, and H. A. Elbatal, “Corrosion mechanism and bio-activity of borate glasses analogue to Hench’s Bioglass,” *Processing and Application of Ceramics*, vol. 6, no. 3, pp. 141–149, 2012.
- [37] M. Erfani, E. Saion, N. Soltani, M. Hashim, W. S. B. W. Abdullah, and M. Navasery, “Facile synthesis of calcium borate nanoparticles and the annealing effect on their structure and size,” *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 13, no. 11, pp. 14434–14445, 2012.
- [38] M. García-Vallès, P. Alfonso, J. Arancibia, S. Martínez, and D. Parcerisa, “Mineralogical and thermal characterization of borate minerals from Rio Grande deposit, Uyuni (Bolivia),” *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, vol. 125, no. 2, pp. 673–679, 2016.
- [39] S. Şener, G. Özbayoğlu, and Ş. Demirci, “Changes in the structure of ulexite on heating,” *Thermochimica Acta*, vol. 362, no. 1-2, pp. 107–112, 2000.

- [40] M. B. Piskin, “Investigation of sodium borohydride production process: “ulexite mineral as a boron source”,” *International journal of hydrogen energy*, vol. 34, no. 11, pp. 4773–4779, 2009.
- [41] J. S. Cho and Y. C. Kang, “Synthesis of spherical shape borate-based bioactive glass powders prepared by ultrasonic spray pyrolysis,” *Ceramics International*, vol. 35, no. 6, pp. 2103–2109, 2009.
- [42] A. A. Ozkenter, H. E. Çamurlu, and N. Sevinc, “Effects and roles of  $\text{CaCO}_3$  and roles of  $\text{CaO}$  in the carbothermic formation of h-BN,” *Journal of Ceramic Processing Research*, vol. 13, no. 5, pp. 533–540, 2012.
- [43] B. Meera and J. Ramakrishna, “Raman spectral studies of borate glasses,” *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 159, no. 1-2, pp. 1–21, 1993.
- [44] E. Kamitsos and G. D. Chryssikos, “Borate glass structure by Raman and infrared spectroscopies,” *Journal of molecular structure*, vol. 247, pp. 1–16, 1991.
- [45] A. K. Yadav and P. Singh, “A review of the structures of oxide glasses by Raman spectroscopy,” *RSC advances*, vol. 5, no. 83, pp. 67583–67609, 2015.
- [46] A. Saranti, I. Koutselas, and M. Karakassides, “Bioactive glasses in the system  $\text{CaO-B}_2\text{O}_3\text{-P}_2\text{O}_5$ : preparation, structural study and in vitro evaluation,” *Journal of Non-Crystalline Solids*, vol. 352, no. 5, pp. 390–398, 2006.
- [47] V. Timar, R. Lucăcel-Ciceo, and I. Ardelean, “Structural studies of iron doped  $3\text{B}_2\text{O}_3 \cdot 0.7 \text{PbO} \cdot 0.3 \text{Ag}_2\text{O}$  glasses by FTIR and Raman spectroscopies,” *Semiconductor Physics, Quantum Electronics & Optoelectronics*, vol. 11, no. 3, 2008.
- [48] M. Almou and A. Rulmont, “Vibrational spectrum of trisodium calcium pentaborate  $\text{Na}_3\text{Ca}(\text{B}_5\text{O}_{10})$  and probable occurrence of the discrete pentaborate ion  $(\text{B}_5\text{O}_{10})_5^-$  in some glassy metaborates,” *Journal de la Société Ouest-Africaine de Chimie*, vol. 012, pp. 21–37, 2001.
- [49] A. S. Kipcak, F. T. Senberber, M. Yildirim, S. A. Yuksel, E. M. Derun, and N. Tugrul, “Characterization and physical properties of hydrated zinc borates synthesized from sodium borates,” *Main Group Metal Chemistry*, vol. 39, no. 1-2, pp. 59–66, 2016.
- [50] M. Marques, A. Mamede, A. Vassalo, C. Makhoul, E. Cunha, D. Gonçalves, S. Parker, and L. B. de Carvalho, “Heat-induced bone diagenesis probed by vibrational spectroscopy,” *Scientific Reports*, vol. 8, no. 1, pp. 1–13, 2018.
- [51] Q. Williams and E. Knittle, “Infrared and Raman spectra of  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}_2$  - fluorapatite at high pressures: compression-induced changes in phosphate site and

- davydov splittings,” *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 57, no. 4, pp. 417–422, 1996.
- [52] G. Leroy, N. Leroy, G. Penel, C. Rey, P. Lafforgue, and E. Bres, “Polarized micro-Raman study of fluorapatite single crystals,” *Applied Spectroscopy*, vol. 54, no. 10, pp. 1521–1527, 2000.
- [53] R. L. Frost, “Raman spectroscopy of selected borate minerals of the pinakiolite group,” *Journal of Raman Spectroscopy*, vol. 42, no. 3, pp. 540–543, 2011.
- [54] O. Sala, *Fundamentos da espectroscopia Raman e no infravermelho*. Editora Unesp, 2 ed., 2008.
- [55] A. Rulmont and M. Almou, “Vibrational spectra of metaborates with infinite chain structure:  $\text{LiBO}_2$ ,  $\text{CaB}_2\text{O}_4$ ,  $\text{SrB}_2\text{O}_4$ ,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, vol. 45, no. 5, pp. 603–610, 1989.
- [56] B. Lafuente, R. T. Downs, H. Yang, and N. Stone, *The power of databases: The RRUFF project*, pp. 1–30. De Gruyter, 2015.
- [57] J. Fayos, R. Howie, and F. Glasser, “Structure of calcium trisodium pentaborate,” *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, vol. 41, no. 10, pp. 1396–1398, 1985.
- [58] J. Fayos, R. Howie, and F. Glasser, “Structure of calcium sodium pentaborate,” *Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications*, vol. 41, no. 10, pp. 1394–1396, 1985.
- [59] Manupriya, K. S. Thind, G. Sharma, K. Singh, V. Rajendran, and S. Aravindan, “Soluble borate glasses: in vitro analysis,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 90, no. 2, pp. 467–471, 2007.
- [60] F. H. Margha and A. M. Abdelghany, “Bone bonding ability of some borate bio-glasses and their corresponding glass-ceramic derivatives,” *Processing and Application of Ceramics*, vol. 6, no. 4, pp. 183–192, 2012.
- [61] R. L. Frost, A. López, Y. Xi, L. M. Graça, and R. Scholz, “A vibrational spectroscopic study of the borate mineral takedaite  $\text{Ca}_3(\text{BO}_3)_2$ ,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 132, pp. 833–837, 2014.
- [62] P. Pascuta, G. Borodi, and E. Culea, “Structural investigation of bismuth borate glass ceramics containing gadolinium ions by X-ray diffraction and FTIR spectroscopy,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 20, no. 4, pp. 360–365, 2009.

- [63] D. Peak, G. W. Luther III, and D. L. Sparks, "ATR-FTIR spectroscopic studies of boric acid adsorption on hydrous ferric oxide," *Geochimica et Cosmochimica Acta*, vol. 67, no. 14, pp. 2551–2560, 2003.
- [64] C. R. Perruso, A. Alcover Neto, R. Neumann, R. S. V. Nascimento, and M. V. d. A. Fonseca, "Powdered microporous glasses: changing porosity through aging," *Cerâmica*, vol. 44, no. 289, pp. 160–165, 1998.
- [65] E. Erasmus, O. Johnson, I. Sigalas, and J. Massera, "Effects of sintering temperature on crystallization and fabrication of porous bioactive glass scaffolds for bone regeneration," *Scientific Reports*, vol. 7, no. 1, pp. 1–12, 2017.
- [66] I. Mihailova, P. Djambazki, and D. Mehandjiev, "The effect of the composition on the crystallization behavior of sintered glass-ceramics from blast furnace slag," *Bulgarian Chemical Communications*, vol. 43, no. 2, pp. 293–300, 2011.
- [67] C. B. d. Silveira, S. D. d. Campos, E. A. d. Campos, and A. P. N. d. Oliveira, "Crystallization mechanism and kinetics of BaO-Li<sub>2</sub>O-ZrO<sub>2</sub>-SiO<sub>2</sub> glasses," *Materials Research*, vol. 5, no. 1, pp. 21–26, 2002.
- [68] H. El-Maghraby, M. M. El-Omla, F. Bondioli, and S. Naga, "Granite as flux in stoneware tile manufacturing," *Journal of the European Ceramic Society*, vol. 31, no. 12, pp. 2057–2063, 2011.
- [69] I. Denry, J. Holloway, and P. Gupta, "Effect of crystallization heat treatment on the microstructure of niobium-doped fluorapatite glass-ceramics," *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 100, no. 5, pp. 1198–1205, 2012.
- [70] Ö. S. Aslantürk, "In vitro cytotoxicity and cell viability assays: principles, advantages, and disadvantages," *Genotoxicity-A predictable risk to our actual world*, vol. 2, pp. 64–80, 2018.
- [71] D.-A. Draghici, A.-A. Mihai, M.-O. Aioanei, N.-E. Negru, A.-I. Nicoara, S.-I. Jinga, D. Miu, M. Bacalum, and C. Busuioc, "Strontium-substituted bioactive glass-ceramic films for tissue engineering," *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 2020.
- [72] R. Nithya and N. M. Sundaram, "Biodegradation and cytotoxicity of ciprofloxacin-loaded hydroxyapatite-polycaprolactone nanocomposite film for sustainable bone implants," *International journal of nanomedicine*, vol. 10, no. Suppl 1, p. 119, 2015.
- [73] C. Cerella, M. Diederich, and L. Ghibelli, "The dual role of calcium as messenger and stressor in cell damage, death, and survival," *International journal of cell biology*, vol. 2010, 2010.

- [74] “Geociências USP.” Disponível em: <https://didatico.igc.usp.br/minerais/fosfatos/apatita/>. Acesso em: 20/06/2021.
- [75] A. Stoch, W. Jastrzębski, A. Brożek, J. Stoch, J. Szaraniec, B. Trybalska, and G. Kmita, “FTIR absorption–reflection study of biomimetic growth of phosphates on titanium implants,” *Journal of Molecular Structure*, vol. 555, no. 1-3, pp. 375–382, 2000.
- [76] O. P. Filho, G. P. La Torre, and L. L. Hench, “Effect of crystallization on apatite-layer formation of bioactive glass 45S5,” *Journal of biomedical materials research: an official journal of the society for biomaterials and the Japanese society for biomaterials*, vol. 30, no. 4, pp. 509–514, 1996.
- [77] M. R. d. Cunha, F. A. Menezes, G. R. d. Santos, C. A. L. Pinto, B. Barraviera, V. d. C. A. Martins, A. M. d. G. Plepis, and R. S. Ferreira, “Hydroxyapatite and a new fibrin sealant derived from snake venom as scaffold to treatment of cranial defects in rats,” *Materials Research*, vol. 18, pp. 196–203, 2015.
- [78] G. Jovanovski, V. Stefov, B. Shoptrajanov, and B. Boev, “Minerals from macedonia IV. Discrimination between some carbonate minerals by FTIR spectroscopy,” *Mineralogie - Abhandlungen*, no. 404, pp. 1–13, 2002.
- [79] H. U. Gerth, T. Dammaschke, E. Schäfer, and H. Züchner, “A three layer structure model of fluoridated enamel containing  $\text{CaF}_2$ ,  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  and FAp,” *Dental Materials*, vol. 23, no. 12, pp. 1521–1528, 2007.
- [80] D. S. Brauer, N. Karpukhina, M. D. O’Donnell, R. V. Law, and R. G. Hill, “Fluoride-containing bioactive glasses: effect of glass design and structure on degradation, pH and apatite formation in simulated body fluid,” *Acta Biomaterialia*, vol. 6, no. 8, pp. 3275–3282, 2010.
- [81] S. Manafi, F. Mirjalili, and R. Reshadi, “Synthesis and evaluation of the bioactivity of Fluorapatite -45S5 bioactive glass nanocomposite,” *Progress in biomaterials*, vol. 8, no. 2, pp. 77–89, 2019.
- [82] T. Lever, P. Haines, J. Rouquerol, E. L. Charsley, P. Van Eckeren, and D. J. Burlett, “ICTAC nomenclature of thermal analysis (IUPAC Recommendations 2014),” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 86, no. 4, pp. 545–553, 2014.
- [83] T. Hatakeyama and F. Quinn, *Thermal analysis: fundamentals and applications to polymer science*. John Wiley & Sons, 1999.
- [84] M. E. Brown, *Introduction to thermal analysis: techniques and applications*, vol. 1. Springer Science & Business Media, 2001.

- [85] M. Ionashiro, F. J. Caires, and D. Gomes, “Giolito: fundamentos da termogravimetria e análise térmica diferencial/calorimetria exploratória diferencial,” *São Paulo: Giz Editorial*, 2005.
- [86] R. Speyer, *Thermal analysis of materials*. CRC press, 1993.
- [87] V. Danek, *Physico-chemical analysis of molten electrolytes*. Elsevier, 2006.
- [88] P. K. Gallagher, M. E. Brown, and R. B. Kemp, *Handbook of thermal analysis and calorimetry*. Elsevier, 1998.
- [89] G. Höhne, W. F. Hemminger, and H.-J. Flammersheim, *Differential scanning calorimetry*. Springer Science & Business Media, 2013.
- [90] S. V. J. Canevarolo, *Técnicas de caracterização de polímeros*. Artliber, 2003.
- [91] B. D. Cullity, *Elements of X-ray Diffraction*. Addison-Wesley Publishing, 2 ed., 1978.
- [92] A. A. Bunaciu, E. G. Udriștioiu, and H. Y. Aboul-Enein, “X-ray diffraction: instrumentation and applications,” *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 45, no. 4, pp. 289–299, 2015.
- [93] A. F. Padilha, *Materiais de engenharia*. Hemus, 1997.
- [94] R. Jenkins and R. L. Snyder, *Introduction to X-ray powder diffractometry*, vol. 138. New York: Wiley, 1996.
- [95] C. Kittel, *Introdução à física do estado sólido*. Grupo Gen-LTC, 2000.
- [96] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Princípios de análise instrumental*. Cengage Learning, 6 ed., 2008.
- [97] B. Stuart, *Infrared spectroscopy*. Wiley Online Library, 2000.
- [98] P. Larkin, *Infrared and Raman spectroscopy: principles and spectral interpretation*. Elsevier, 2011.
- [99] B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. CRC press, 2 ed., 2011.
- [100] E. Smith and G. Dent, *Modern Raman spectroscopy: a practical approach*. John Wiley & Sons, 2019.
- [101] “Fundamentals & technology of Raman spectroscopy.” Disponível em: <http://www.raman.de/>. Acesso em: 05/01/2020.

- [102] B. A. Dedavid, C. I. Gomes, and G. Machado, *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. Editora PUCRS, 2007.
- [103] R. Mehta, “Interactions, imaging and spectra in sem,” in *scanning electron microscopy*, InTech, 2012.
- [104] A. Ul-Hamid, *A beginners' guide to scanning electron microscopy*. Springer, 2018.
- [105] Agilent Technologies, “Microwave plasma atomic emission spectroscopy (MP-AES) - application handbook.” [https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-7282EN\\_MP-AES-eBook.pdf](https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-7282EN_MP-AES-eBook.pdf), 2016. Acesso em: 02/04/2020.
- [106] K. J. Jankowski and E. Reszke, *Microwave induced plasma analytical spectrometry*. Royal Society of Chemistry, 2011.