

Universidade Estadual de Maringá
Centro de Ciências Exatas
Departamento de Física

Dissertação de Mestrado

***Scaffolds* de cerâmicas bifásicas de fosfato
de cálcio obtidas de ossos de peixe:
influência do Nb_2O_5 nas propriedades
estruturais e físicas**

Acadêmica: Victoria Hellen de Souza Gonzaga

Orientadora: Profa. Dra. Francielle Sato

Maringá, setembro de 2025

Universidade Estadual de Maringá
Centro de Ciências Exatas
Departamento de Física

Dissertação de Mestrado

***Scaffolds* de cerâmicas bifásicas de fosfato
de cálcio obtidas de ossos de peixe:
influência do Nb_2O_5 nas propriedades
estruturais e físicas**

Dissertação de mestrado apresentada ao
programa de pós-Graduação em física da
Universidade Estadual de Maringá como
parte dos requisitos para obtenção do tí-
tulo de Mestre em Física.

Acadêmica: Victoria Hellen de Souza Gonzaga

Orientadora: Profa. Dra. Francielle Sato

Maringá, setembro de 2025

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

G643s

Gonzaga, Victoria Hellen de Souza

Scaffolds de cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio obtidas de ossos de peixe : influência do Nb₂O₅ nas propriedades estruturais e físicas / Victoria Hellen de Souza Gonzaga. -- Maringá, PR, 2025.

98 f. : il. color., figs., 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, 2025.

1. Cerâmica de fosfato de cálcio. 2. Biocerâmicas bifásicas - Scaffold. 3. Regeneração óssea. 4. Óxido de nióbio. 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. 530.41

VICTORIA HELLEN DE SOUZA GONZAGA

**SCAFFOLDS DE CERÂMICAS BIFÁSICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO OBTIDAS
DE OSSOS DE PEIXE: INFLUÊNCIA DO Nb_2O_5 NAS PROPRIEDADES
ESTRUTURAIS E FÍSICAS**

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

Aprovado em: Maringá, 29 de setembro de 2025.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 **FRANCIELLE SATO**
Data: 06/10/2025 13:37:30-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Francielle Sato
Universidade Estadual de Maringá – UEM

Documento assinado digitalmente
 **ANA CLAUDIA NOGUEIRA MULATI**
Data: 30/09/2025 10:49:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Ana Claudia Nogueira Mulati
Universidade Federal do Paraná – UFPR/ Jandaia do Sul

Documento assinado digitalmente
 **ROBSON FERRARI MUNIZ**
Data: 30/09/2025 16:07:55-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Robson Ferrari Muniz
Universidade Estadual de Maringá – UEM

"Isso é o que somos: viver por nada ou morrer por alguma coisa"

Rambo IV, por *Sylvester Stallone*.

Ninguém sabe do que você é capaz, a não ser você mesmo.

Rocky Balboa, por *Sylvester Stallone*.

Dedicatória

Eu dedico este trabalho e meus agradecimentos especial ao Prof. Dr. Wilson Ricardo Weinand (*in memoriam*) por todos os momentos, as conversas, as broncas, as risadas e todos os ensinamentos que não são possíveis de colocar num único parágrafo. Este trabalho e **todos** os outros que realizei ao longo de 8 anos na UEM jamais seriam possíveis sem toda essa vastidão de conhecimento, vontade de ensinar ao outro e o amor indescritível que o senhor tinha por toda essa pesquisa. O senhor me impactou para a vida, tudo que eu aprendi e consigo mensurar de conhecimento foi graças a todos os dias que passei ao seu lado, no laboratório, na estrada, pescando e limpando muitos peixinhos. Antes eu disse que o professor me proporcionou conhecimentos que me fizeram uma pesquisadora melhor, mas todas as nossas manhãs juntos me tornaram principalmente uma pessoa melhor. Este trabalho só foi possível graças a você, mas principalmente **por** você.

Dedico também este trabalho ao meu querido e amado pai, Vicente (*in memoriam*). Meu eterno companheiro, a sua ausência é sentida, mas o seu sorriso marcado na minha alma preenche um pouco esse vazio nos dias difíceis (as vezes).

Todo amor e carinho do mundo à minha mãezinha, Edna. Agradeço imensamente por tudo que fez/faz, todos os conselhos e o esforço que dedica a mim todos esses anos para continuar vencendo, um dia de cada vez.

Obrigada aos amigos que escolheram estar comigo nessa jornada, que é/foi uma das etapas mais difíceis dos meus poucos 25 anos. Por compreenderem a minha ausência nessa fase e perdoarem as minhas falhas, mas acima de qualquer coisa por terem continuado aqui.

Ao meu esposo Mateus Travain, meu fiel companheiro, agradeço o seu amor, carinho e tudo que estamos/vamos construir. Obrigada por todos os momentos que ao seu lado se tornam especiais. Este trabalho só foi possível graças a você do meu lado, é impossível mensurar o quanto o seu apoio me fez estar aqui hoje, apesar de todas as nossas adversidades nos últimos 2 anos e meio, seguimos firmes, sempre. Não vejo a hora de passar o resto de nossas vidas juntos.

Agradecimentos

Meus sinceros agradecimentos à Profa. Dra. Francielle Sato pela oportunidade de realizar mais esse trabalho. Agradeço por tudo que vivemos além da pesquisa, mas também pela empatia do início ao fim que possibilitou concluir essa etapa. De todo o meu coração, te respeito e admiro.

Agradeço ao Prof. Dr. Antônio Medina Neto pela primeira oportunidade que tive de ingressar como bolsista de PIBIC, que me abriu portas até o dia de hoje. Meus agradecimentos ao Prof. Dr. Vitor Santaella Zanuto pela paciência, compreensão, auxílio e orientação durante esse tempo que fez ser possível chegar até aqui.

Agradeço a todos que fazem parte do Grupo de Espectroscopia Óptica e Propriedades Termofísicas (GEOPT) e o Grupo de Estudos de Fenômenos Fototérmicos (GEFF) pela oportunidade e colaboração em todos esses anos. E ao programa de pós-graduação em Física (PFI) pela oportunidade de ser aluna, aos professores que contribuíram na minha jornada e aos funcionários do DFI/PFI-UEM, em especial à Mônica.

Agradeço ao Centro de Piscicultura (PEIXEGEN) e ao Departamento de Zootecnia UEM/DZO, que sempre contribuíram com a disponibilização do insumo para a realização dos meus principais trabalhos.

Por fim, meus agradecimentos ao Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa da UEM (COMCAP/UEM) e às agências de fomento Capes, CNPq, Fundação Araucária e Finep pelo suporte financeiro. E à Universidade Estadual de Maringá (UEM) por todos os anos presentes na minha vida, a estrutura que me permitiu fazer pesquisa e realizar este trabalho.

Resumo

Neste trabalho, buscou-se produzir e caracterizar *scaffolds* obtidos a partir de ossos de peixe tilápia (*Oreochromis niloticus*) de diferentes idades, fornecendo assim proporções diferentes entre hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico. Além disso, investigou-se o efeito da adição de Nb_2O_5 , elemento estratégico que pode modificar a evolução estrutural e funcional das cerâmicas de fosfato de cálcio. Os precursores de fosfato de cálcio foram calcinados à 900 °C e o Nb_2O_5 a 1150 °C. Os *scaffolds* de fosfato de cálcio com e sem adição de Nb_2O_5 foram obtidos por metalurgia do pó e sinterizados a 1070 °C. A caracterização dos biomateriais incluiu difração de raios X (DRX) com refinamento de Rietveld, espectroscopias Raman e FTIR, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e medidas de densidade, porosidade e variação dimensional. Os resultados demonstraram que a adição de Nb_2O_5 exerceu influência sobre o comportamento dimensional e microestrutural dos *scaffolds*. Enquanto as amostras sem Nb_2O_5 apresentaram a retração típica da sinterização, as com Nb_2O_5 exibiram expansão linear. Apesar da expansão, observou-se aumento da densidade e redução da porosidade, indicando que a expansão resultou de reações químicas e não da geração de novos poros. As análises de MEV confirmaram a presença de macroporos interconectados (50-350 μm), adequados à neoformação óssea, e revelaram que o Nb_2O_5 modulou o tamanho dos poros, com aumento nas amostras de HAp e BCP. As técnicas de DRX, FTIR e Raman corroboraram a formação das fases niobato-cálcicas e evidenciaram a diminuição da fração de β -TCP. Conclui-se que o Nb_2O_5 atuou como modulador estrutural e químico nas biocerâmicas de fosfato de cálcio, influenciando densificação, porosidade, variação dimensional e evolução de fases cristalinas. Os *scaffolds* de biocerâmicas bifásicas Nb_2O_5 apresentaram arquitetura adequada para crescimento celular e potencial bioatividade, consolidando-os como candidatos promissores para aplicações em regeneração óssea.

Palavras chave: Cerâmicas bifásicas. Fosfato de cálcio. Pentóxido de nióbio. *Scaffold*.

Abstract

This work aimed to produce and characterize *scaffolds* obtained from tilapia (*Oreochromis niloticus*) bones of different ages, thus providing distinct proportions of hydroxyapatite (HA) and β -tricalcium phosphate (β -TCP). In addition, the effect of Nb₂O₅, a strategic element capable of modifying the structural and functional evolution of calcium phosphate ceramics, was investigated. Calcium phosphate precursors were calcined at 900 °C and Nb₂O₅ at 1150 °C. *Scaffolds* with and without Nb₂O₅ addition were produced by powder metallurgy and sintered at 1070 °C. The biomaterials were characterized by X-ray diffraction (XRD) with Rietveld refinement, Raman and FTIR spectroscopies, scanning electron microscopy (SEM), and measurements of density, porosity, and dimensional variation. The results showed that the addition of Nb₂O₅ influenced the dimensional and microstructural behavior of the *scaffolds*. While samples without Nb₂O₅ exhibited the typical shrinkage of sintering, those with Nb₂O₅ presented linear expansion. Despite this expansion, increased density and reduced porosity were observed, indicating that the expansion resulted from chemical reactions rather than the formation of new pores. SEM analyses confirmed the presence of interconnected macropores (50-350 μ m), suitable for bone neoformation, and revealed that Nb₂O₅ modulated pore size, with enlargement in HAp and BCP samples. XRD, FTIR, and Raman analyses corroborated the formation of niobate-calcium phases and evidenced a decrease in the β -TCP fraction. It is concluded that Nb₂O₅ acted as both a structural and chemical modulator in calcium phosphate bioceramics, influencing densification, porosity, dimensional variation, and phase evolution. The Nb₂O₅-containing biphasic bioceramic *scaffolds* presented an architecture favorable to cell growth and potential bioactivity, consolidating them as promising candidates for applications in bone regeneration.

Keywords: Biphasic ceramics. Calcium phosphate. Niobium pentoxide. *Scaffold*.

Lista de Siglas

HA	Fase cristalina de Hidroxiapatita
HAp	Hidroxiapatita de ossos de peixes
HAs	Hidroxiapatita sintética comercial
β-TCP	Fase cristalina de β -fosfato tricálcico
BCP	Fosfato de Cálcio Bifásico (do inglês, <i>Biphasic Calcium Phosphate</i>)
BCP19	Fosfato de Cálcio Bifásico (19% de β -TCP e 81% HA)
BCP34	Fosfato de Cálcio Bifásico (34% de β -TCP e 66% HA)
BCP15	Fosfato de Cálcio Bifásico (15% de β -TCP e 85% HA) - BCP19 após sinterização à 1070 °C
BCP30	Fosfato de Cálcio Bifásico (30% de β -TCP e 70% HA) - BCP34 após sinterização à 1070 °C
BCP15NbO	Fosfato de Cálcio Bifásico (15% de β -TCP e 85% HA) - BCP15 com reforço de Nb ₂ O ₅
BCP30NbO	Fosfato de Cálcio Bifásico (30% de β -TCP e 70% HA) - BCP30 com reforço de Nb ₂ O ₅
DRX	Difração de Raios X
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (do inglês, <i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>)
ATR	Refletância Total Atenuada (do inglês, <i>Attenuated Total Reflectance</i>)
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

DLS	Espalhamento Dinâmico de Luz (do inglês, <i>Dynamic Light Scattering</i>)
Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂	Fórmula química da Hidroxiapatita
Ca₃(PO₄)₂	Fórmula química da β -TCP
NbO	Óxido de Nióbio
Nb₂O₅	Pentóxido de Nióbio
OH⁻	Hidroxila
CaNb₂O₆	Óxido de Cálcio-Nióbio, ou Fersmita
PNb₉O₂₅	Óxido de Fósforo-Nióbio
Ti₆Al₄V	Titânio Grau 5
MgO	Óxido de Magnésio
SiO₂	Dióxido de Silício
ZrO₂	Dióxido de Zircônio
CaP	Fosfato de Cálcio
Na₂O	Óxido de Sódio
CaO	Óxido de Cálcio
P₂O₅	Pentóxido de Fósforo
Y₂O₃	Óxido de Ítrio
Ca(OH)₂	Hidróxido de Cálcio
Ca(CO₃)₂	Carbonato de Cálcio
JCPDS	Comitê Conjunto de Séries de Padrões de Difração de Pó (tradução livre do inglês de, <i>Joint Committee Series of Powder Diffraction Standards</i>)
ICSD	Banco de Dados de Estruturas Cristalinas Inorgânicas (tradução livre do inglês de, <i>Database of Inorganic Crystal Structure</i>)

Lista de Figuras

1	Biomateriais das três gerações: a) 1ª - <i>Greville Chester Great Toe</i> - uma das próteses mais antigas, um polegar de madeira egípcio de aproximadamente 3.000 anos feito de madeira e couro [24], b) 2ª - <i>Scaffolds</i> de vidro bioativo, estruturas projetadas para suportar a degradação do material e promover a integração com tecidos biológicos [25] e c) 3ª - Enxerto ósseo e membrana reabsorvível, para pacientes que necessitam de implantes dentários, mas têm osso insuficiente [26].	21
2	Representação ilustrativa de dispositivos médicos que podem ser considerados biomateriais, mostrando sua representatividade em diversas áreas de atuação [33].	22
3	Exemplos de biomateriais: a) Implantes metálicos [43]; b) Balão polimérico utilizado como <i>stent</i> coronário [44]; c) Enxerto ósseo de vidro bioativo OSSPORE® [45] e d) Implantes dentários de zircônia cerâmica [46].	25
4	Representação esquemática da estrutura cristalográfica da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). As esferas azuis correspondendo aos íons cálcio (Ca), amarelas indicando os átomos de fósforo (P), vermelhas representando os átomos de oxigênio (O) e os grupos hidroxila (OH^-) são mostrados em verde [66,67].	28
5	Representação esquemática da estrutura cristalográfica do β -fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. As esferas azuis correspondendo aos íons cálcio (Ca), amarelas indicando os átomos de fósforo (P) e as vermelhas representando os átomos de oxigênio (O) [74].	29
6	Representação esquemática da estrutura cristalográfica do pentóxido de nióbio Nb_2O_5 . As esferas vermelhas correspondendo aos átomos de oxigênio (O) e as brancas indicando os átomos de nióbio (Nb) [97,98].	33
7	Esquema demonstrativo com as classes de materiais que possuem potencial para formar um material compósito [34].	34
8	Esquema representativo da estrutura de um <i>scaffold</i> tridimensional com alta porosidade. O círculo vermelho evidencia um poro, onde ele apresenta a interconectividade entre outros poros que é fundamental para um <i>scaffold</i> de uso para biomaterial [108].	36
9	Esquema representativo da técnica de <i>space holder</i> para confeccionar um <i>scaffold</i> poroso. Na primeira etapa a mistura da matéria-prima em pó com o agente formador de poros, posteriormente a compactação deste material e por fim o aquecimento dessa peça para remover o agente espaçador formando assim um arcabouço poroso [110].	37
10	Esquema da montagem do sistema de prensagem uniaxial, composto por matriz metálica, punção inferior fixa e punção superior responsável pela aplicação da pressão [117].	38
11	Etapas do processo de prensagem uniaxial: inserção do pó na matriz, compressão mecânica, formação do corpo compactado e ejeção da peça, resultando no <i>scaffold</i> ou corpo verde [102].	39
12	Evolução microestrutural durante a sinterização: (1) formação dos pontos de contato entre partículas; (2) desenvolvimento de pescoços entre os grãos; (3) presença de poros intergranulares; (4) definição dos contornos de grão e consolidação da microestrutura [102].	40

13	Fluxograma indicativo dos procedimentos experimentais por diferentes técnicas desenvolvidos no trabalho.	42
14	Etapa do processamento: pastilhas (discos) de fosfatos de cálcio (CaP) e compósitos CaP/Nb ₂ O ₅ obtidas por mistura de pós e prensagem uniaxial.	43
15	Aparato experimental para imersão e impregnação das amostras com água para medidas de densidade e porosidade [58].	46
16	Distribuição de tamanho de partículas obtidas por <i>DLS</i> para as amostras (a) HAp, (b) BCP19, (c) BCP34 e (d) Nb ₂ O ₅ . A linha contínua é o ajuste matemático com a função LogNormal.	48
17	Porosidade aberta $\Upsilon\%$ das amostras de <i>scaffolds</i> HAs, HAp, BCP15, BCP30, HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO sinterizadas em 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar.	51
18	Micrografias da superfície dos <i>scaffolds</i> sinterizados a 1070 °C por 2 h: (a) HAs; (b) HAsNbO; (c) HAp; (d) HApNbO; (e) BCP15; (f) BCP15NbO; (g) BCP30 e (h) BCP30NbO.	53
19	Padrões de DRX dos materiais precursores HAs, HAp, BCP19 (19% de β -TCP), BCP34 (34% de β -TCP) e Nb ₂ O ₅ . Símbolos das fases cristalinas indexadas: (◆) Hidroxiapatita, (○) fase β -TCP e (★) CaO.	55
20	Padrões de DRX do pó dos <i>scaffolds</i> HAs, HAp, BCP15 e BCP30 sinterizados a temperatura de 1070 °C por 2 h: (◆) picos da fase hidroxiapatita; ○pico da fase β -TCP e (★) pico da fase óxido de cálcio.	56
21	Padrões de DRX dos pós dos <i>scaffolds</i> HAsNbO; HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO, sinterizados a 1070 °C por 2 h. Símbolos: (x) CaNb ₂ O ₆ (JCPDS 39-1392); (◇) PNB ₉ O ₂₅ (JCPDS 81-1304) e (○) Ca ₃ (PO ₄) ₂ (JCPDS 09-0169).	57
22	Perfis de difração de raios X experimental e calculado, e o erro (diferença entre os perfis) obtidos do refinamento das amostras: (a) HAs; (b) HAp; (c) BCP19, (d) e BCP34 e (e) Nb ₂ O ₅ . As amostras de CaPs foram tratadas à 900 °C, e o Nb ₂ O ₅ a 1150 °C em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos () são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.	59
23	Perfis de difração de raios X experimental e calculado, e o erro (diferença entre os perfis) obtidos do refinamento das amostras: (a) HAs; (b) HAp; (c) BCP15 e (d) BCP30. Os <i>scaffolds</i> de CaPs foram sinterizados à 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos () são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.	60
24	Perfis de difração de raios X experimental e calculado e o erro (diferença entre os perfis), obtidos do refinamento das amostras: (a) HAsNbO, (b) HApNbO, (c) BCP15NbO e (d) BCP30NbO. Os <i>scaffolds</i> de CaPs/Nb ₂ O ₅ foram sinterizados à 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos () são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.	62
25	Espectros de FTIR-ATR dos pós dos materiais precursores HAp, HAs, BCP19 e BCP34 e dos <i>scaffolds</i> de CaPs HAs (1070 °C), HAp (1070 °C), BCP15 e BCP30 os quais foram sinterizados à 1070 °C. Os símbolos identificam grupos químicos das fases presentes: (◆) PO ₄ ³⁻ da HA, (○) PO ₄ ³⁻ da β -TCP, (●) OH ⁻ e (★) CO ₃ ²⁻	64
26	Espectros de FTIR-ATR dos pós: (a) materiais precursores e <i>scaffolds</i> (sinterizados à 1070 °C) de CaPs e CaPs/Nb ₂ O ₅ ; (b) dos <i>scaffolds</i> CaPs/Nb ₂ O ₅ com os símbolos que identificam grupos químicos das fases presentes: (◇) CaNb ₂ O ₆ , (X) PNB ₉ O ₂₅ e (○) β -TCP.	65
27	Comparação do comportamento aparente dos percentuais de cada fase cristalina obtidos pelas técnicas de DRX e FTIR-ATR presentes nos <i>scaffolds</i> CaPs/Nb ₂ O ₅	66

28	Espectros Raman normalizados dos materiais precursores (em pó) sendo eles HAs, HAp, BCP19 e BCP34 tratados termicamente à 900 °C: a) região entre 3600 e 3550 cm ⁻¹ e b) entre 1100 e 400 cm ⁻¹ . Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas de OH ⁻ (●), e de PO ₄ ³⁻ (◆) ambos da hidroxiapatita (HA) e de PO ₄ ³⁻ (○) da β-fosfato tricálcico (β-TCP).	67
29	Espectros Raman normalizados dos <i>scaffolds</i> de CaP (em pó), sendo eles HAs, HAp, BCP15 e BCP30 sinterizados à 1070 °C: a) região entre 3600 e 3550 cm ⁻¹ e b) entre 1100 e 400 cm ⁻¹ . Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas de OH ⁻ (●), e de PO ₄ ³⁻ (◆) ambos da hidroxiapatita (HA) e de PO ₄ ³⁻ (○) da β-fosfato tricálcico (β-TCP).	68
30	Espectros Raman normalizados dos <i>scaffolds</i> de CaPs/Nb ₂ O ₅ (em pó), sendo eles HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO sinterizados à 1070 °C, comparados ao pentóxido de nióbio (Nb ₂ O ₅). Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas: PNb ₉ O ₂₅ (X); β-TCP (○) e CaNb ₂ O ₆ (◆).	69
31	Comparação do comportamento dos percentuais de cada fase cristalina obtidos pelas técnicas de DRX e Raman presentes nos <i>scaffolds</i> CaPs/Nb ₂ O ₅ . No <i>inset</i> , o comportamento da fase β-TCP obtida por meio da espectroscopia Raman.	70
32	Esquema da técnica de Difração de Raios X (DRX), mostrando a incidência da radiação na amostra, a difração segundo o ângulo θ e a geração do difratograma para análise estrutural do material. Adaptado de [164].	74
33	Representação esquemática de modos vibracionais das moléculas por espectroscopia vibracional. No estiramento (átomos em rosa) apresenta os modos simétrico e assimétrico. Na deformação angular (átomos em azul) está representado os modos de deformação angular no plano e fora do plano. As setas indicam a direção dos movimentos atômicos durante a vibração [169,172].	76
34	Diagrama de níveis de energia de espalhamento Raman. Em vermelho o espalhamento Stokes, em verde o espalhamento anti-Stokes e em preto o espalhamento Rayleigh. Os níveis de energia vibracionais são representados em cinza, e os níveis virtuais em azul tracejado [177].	77
35	Espectro Raman da hidroxiapatita (HAp) destacando os principais modos vibracionais: deformação no ν ₂ (~430 cm ⁻¹) e ν ₄ (~590 cm ⁻¹), estiramento simétrico ν ₁ (~960 cm ⁻¹), estiramento assimétrico ν ₃ (~1040 cm ⁻¹) do grupo fosfato (PO ₄ ³⁻) e estiramento ν _S (~3570 cm ⁻¹) do grupo hidroxila (OH ⁻), com ilustrações representativas de cada modo [180].	78
36	Esquema representativo de um espectrômetro μ-Raman confocal, ilustrando o percurso óptico do feixe laser até a amostra e o retorno da radiação espalhada para o detector. O feixe é focalizado na superfície por uma objetiva de microscópio e a luz espalhada é separada no espectrógrafo e registrada por um detector CCD, gerando o espectro Raman digitalizado [182].	79
37	Esquema do interferômetro em um espectrômetro FTIR, mostrando a fonte de radiação, divisor de feixes, espelhos fixo e móvel, passagem pela amostra e detecção do sinal para geração do espectro no módulo de controle [185].	80
38	Diagrama esquemático do acessório de ATR para espectrômetro de FTIR. Onde n ₁ e n ₂ são os índices de refração do cristal de ATR e da amostra, respectivamente (n ₁ > n ₂), e θ é o ângulo de incidência da radiação incidente [188].	81

39	Esquema de funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) e exemplo de micrografia obtida. Na esquerda, o feixe de elétrons é gerado, focalizado por lentes eletromagnéticas, varre a amostra e interage com sua superfície, sendo detectado por detectores de elétrons secundários e retroespalhados. Já à direita, a micrografia resultante da amostra, mostrando detalhes morfológicos em alta resolução [192].	82
40	Esquema ilustrativo do comportamento dos efeitos que são gerados com a interação do feixe de elétrons incidente com uma amostra durante a realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura [194].	83

Sumário

Dedicatória

Agradecimentos

Resumo

Abstract

Introdução 17

Objetivos 19

1 Fundamentação Teórica 20

1.1 Um breve histórico dos biomateriais 20

1.2 Biomateriais: definição, características e classificação 21

1.3 Biocerâmicas de fosfato de cálcio 27

1.3.1 Hidroxiapatita (HA) 28

1.3.2 β -fosfato tricálcico (β -TCP) 28

1.3.3 Métodos de obtenção dos fosfatos de cálcio 29

1.3.4 Aplicações da HA e β -TCP 30

1.3.5 Cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (HA: β -TCP) 31

1.4 Pentóxido de nióbio 33

1.5 Compósitos 34

1.5.1 Compósitos de fosfato de cálcio e pentóxido de nióbio 35

1.6 Metalurgia do pó 36

1.6.1 *Scaffolds* 36

1.6.2 *Space Holder* 37

1.6.3 Compactação 38

1.6.4 Sinterização 39

2 Materiais e Métodos 41

2.1 Materiais precursores 42

2.2 *Scaffolds* produzidos de CaPs/Nb₂O₅ 43

2.3 Caracterização dos materiais na forma de pó 44

2.3.1 Difração de raios X e refinamento por Rietveld 44

2.3.2 Espectroscopia no Infravermelho 44

2.3.3 Espectroscopia Raman 44

2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura 44

2.3.5 Distribuição de tamanho de partícula 45

2.3.6 Variação dimensional 45

2.3.7 Densidade e porosidade aberta 45

3	Resultados e Discussão	47
3.1	Tamanho médio de partículas do pó dos precursores HAS, HAp, BCP19, BCP34 e Nb ₂ O ₅	47
3.2	Análise das propriedades físicas dos <i>scaffolds</i> de CaPs e CaPs/Nb ₂ O ₅ : Variação Dimensional ($V_D\%$) e Porosidade Aberta ($\Upsilon\%$)	48
3.2.1	Variação dimensional V_D	48
3.2.2	Porosidade Aberta ($\Upsilon\%$)	50
3.3	Imagens por Microscopia de Varredura Eletrônica dos <i>scaffolds</i> CaPs e CaPs/Nb ₂ O ₅	52
3.4	Análise por difração de raios X (DRX)	54
3.4.1	Materiais precursores HAS, HAp, BCP19, BCP34 e Nb ₂ O ₅	54
3.4.2	<i>Scaffolds</i> de HAS, HAp, BCP15 e BCP30	55
3.4.3	<i>Scaffolds</i> de HASNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO	56
3.4.4	Refinamento estrutural pelo método de Rietveld	58
3.4.4.1	Materiais precursores HAS, HAp, BCP19, BCP34 e Nb ₂ O ₅	58
3.4.4.2	<i>Scaffolds</i> de CaPs	60
3.4.4.3	<i>Scaffolds</i> de CaPs/Nb ₂ O ₅	61
3.5	Análise por espectroscopia FTIR-ATR	63
3.5.1	<i>Scaffolds</i> de CaPs	63
3.5.2	<i>Scaffolds</i> de CaPs/Nb ₂ O ₅	64
3.6	Análise por espectroscopia Raman	66
3.6.1	Precursores e <i>scaffolds</i> de CaPs	66
3.6.2	<i>Scaffolds</i> de CaPs/Nb ₂ O ₅	68
	Conclusão	71
	Apêndice	73
	A Difração de Raios X (DRX)	73
	B Espectroscopia Vibracional	75
	B.1 Espectroscopia Raman	76
	B.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	79
	C Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	82
	Referências Bibliográficas	84

Introdução

O desenvolvimento de biomateriais para regeneração óssea constitui um dos principais desafios da ciência dos materiais e da engenharia de tecidos, em virtude da crescente demanda clínica por substitutos ao enxerto autólogo, limitado pela morbidade do sítio doador e pela escassez de material disponível. As cerâmicas à base de fosfato de cálcio merecem destaque, pois apresentam composição química similar ao mineral ósseo, elevada biocompatibilidade e comprovada capacidade de promover a osteointegração [1, 2].

Entre os fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita (HA) e o β -fosfato tricálcico (β -TCP) apresentam propriedades complementares de grande relevância biomédica: enquanto a HA é estável e pouco solúvel em meio fisiológico, favorecendo a manutenção volumétrica, o β -TCP é mais reativo, promovendo dissolução controlada e liberação de íons que estimulam a neoformação óssea. A combinação dessas duas fases dá origem às cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (BCP), em que a proporção relativa entre HA e β -TCP permite ajustar a cinética de reabsorção e a estabilidade estrutural do material, adequando-o a diferentes aplicações clínicas. No caso específico das BCPs de origem natural, obtidas a partir de ossos de peixe, a proporção das fases não é fixa, mas depende de fatores biológicos, como a idade do animal: peixes mais jovens apresentam frações mais elevadas de β -TCP, enquanto os mais velhos exibem maior teor de HA [3]. Essa variabilidade intrínseca amplia o interesse científico e tecnológico pelo uso de ossos de peixe como fonte de fosfatos de cálcio, uma vez que a própria matéria-prima pode fornecer composições ajustadas para aplicações distintas. Além disso, a escolha de ossos de peixe como matéria-prima para síntese de HA e BCP também atende a uma perspectiva de sustentabilidade. Trata-se de um resíduo abundante da indústria pesqueira brasileira, cujo descarte inadequado pode gerar impactos ambientais.

Além da composição a produção de um material depende do design estrutural, nesse contexto, a manufatura de *scaffolds* assume papel central no desenvolvimento de biomateriais. Estruturas tridimensionais com poros interconectados favorecem adesão, migração e diferenciação celular, além de possibilitarem a perfusão de nutrientes e a formação de vasos sanguíneos [4, 5]. Estudos com *scaffolds* de BCP mostram que a arquitetura porosa atua em sinergia com a proporção HA/ β -TCP, influenciando diretamente a taxa de reabsorção e a estabilidade estrutural [6, 7]. Ademais, reforços por óxidos podem ser utilizados como forma de otimizar propriedades mecânicas sem comprometer a macroporosidade. Em particular, *scaffolds* de BCP contendo Nb₂O₅ apresentaram melhora na resistência, alta interconectividade e desempenho biológico promissor [8–10]. No processo de produção de *scaffolds* de cerâmicas a sinterização tem um papel importante, pois promove a coesão entre as partículas, controla a densidade e a porosidade e, ao mesmo tempo, induz a formação e estabilização das fases cristalinas. Esse processo pode inclusive favorecer transformações estruturais, como a conversão parcial da HA em β -TCP em determinadas faixas de temperatura, impactando diretamente a microestrutura final e a resposta biológica do material [11]. Assim, o controle das condições de sinterização é decisivo para o desempenho final dos *scaffolds*.

Paralelamente, a modificação dos fosfatos de cálcio com adição do pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) tem se mostrado uma estratégia promissora para ampliar seu desempenho estrutural e bioatividade. O Nb_2O_5 destaca-se por formar fases niobato-cálcicas (CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$) durante a sinterização, associadas ao aumento da densidade, ao aprimoramento das propriedades mecânicas e ao potencial de estímulo à atividade osteoblástica [10, 12]. Adicionalmente, o Nb_2O_5 pode alterar a cinética de transformação entre HA e β -TCP, interferindo na evolução microestrutural dos *scaffolds*. Estudos relatam ainda que sua incorporação favorece a formação de apatita em fluidos simulados e pode contribuir para a osteointegração em modelos *in vivo* [13]. Ele favorece a formação de apatita ao induzir defeitos estruturais que aumentam a reatividade da superfície liberando Nb^{5+} , o qual cria sítios preferenciais para nucleação e liberar espécies bioativas [14]. Outros dopantes, como MgO , SiO_2 e ZrO_2 , também já foram aplicados em sistemas à base de CaP, mas o Nb_2O_5 se diferencia por alguns motivos. Entre eles podemos citar o fato do Nb^{5+} liberado poder ocupar sítios intersticiais ou substituir parcialmente cátions na rede fosfática, estabilizando a HA em temperaturas mais elevadas e evitando uma degradação excessiva [9]; por sua reconhecida biocompatibilidade; e pelo fato de o Brasil deter as maiores reservas mundiais de nióbio, conferindo caráter estratégico ao desenvolvimento de biomateriais nacionais.

Diante desse panorama, o presente trabalho teve como objetivo produzir e caracterizar *scaffolds* de cerâmicas bifásicas de hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico obtidas a partir de ossos de peixe, com e sem adição de Nb_2O_5 . A caracterização envolveu técnicas de difração de raios X (DRX) com refinamento de Rietveld, espectroscopias Raman e FTIR, microscopia eletrônica de varredura (MEV), e medidas de densidade, porosidade e variação dimensional. Dessa forma, buscou-se compreender os efeitos da adição de Nb_2O_5 sobre as propriedades estruturais e físicas estrutural dos *scaffolds*, prospectando a aplicação como biomaterial sustentável para regeneração óssea em diferentes cenários clínicos.

Objetivos

Objetivo geral

O objetivo principal deste trabalho foi a produção e caracterização de *scaffolds* de cerâmicas bifásicas de hidroxiapatita: β -fosfato tricálcico, obtidas de ossos de peixe, com e sem adição de pentóxido de nióbio.

Objetivos específicos

1. Preparar os materiais precursores hidroxiapatita (HAp) e duas cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (BCP19 e BCP34), a partir de ossos de peixe tilápia da espécie *Oreochromis niloticus*, por meio da calcinação dos ossos à 900 °C;
2. Produzir por meio das técnicas de metalurgia do pó *scaffolds* de HAp, BCP15 e BCP30 com sinterização à 1070 °C;
3. Produzir por meio das técnicas de metalurgia do pó *scaffolds* a partir dos compósitos de HAp + Nb₂O₅ (HApNbO) e das BCPs + Nb₂O₅ (BCP15NbO e BCP30NbO) na proporção de 1:1 em volume, com sinterização à 1070 °C;
4. Produzir por meio das técnicas de metalurgia do pó *scaffolds* de hidroxiapatita sintética (HAs) e a partir do compósito HAs + Nb₂O₅ (HAsNbO) na proporção de 1:1 em volume, com sinterização à 1070 °C;
5. Caracterizar as propriedades físicas e estruturais dos materiais precursores e *scaffolds* utilizando as técnicas de difração de raios x (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia Raman, espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-ATR), analisador de tamanho de partícula (DLS), e medidas de variação dimensional, densidade e porosidade.

Fundamentação Teórica

1.1 Um breve histórico dos biomateriais

A sociedade moderna vive numa constante expansão de meios e alternativas para contatos sociais, conectando pessoas de formas que antes não era possível. A medicina, em colaboração com a engenharia e outras áreas científicas, têm avançado no desenvolvimento de técnicas novas, mais flexíveis e versáteis, incorporando métodos ousados e materiais modernos. Isso possibilita a substituição total ou parcial de partes do corpo por meio de implantes feitos de biomateriais, proporcionando aos pacientes uma maior expectativa e qualidade de vida [15].

A pesquisa e o desenvolvimento de biomateriais têm sido impulsionados e orientados por avanços nas áreas de biologia celular e molecular, química, ciência dos materiais, física, engenharia e diversas outras áreas. A comunidade científica de biomateriais desempenha um papel fundamental na compreensão das interações entre esses materiais e o ambiente fisiológico. A evolução dos biomateriais pode ser descrita em três gerações, que refletem a passagem de materiais inicialmente bioinertes para sistemas capazes de interagir ativamente com os tecidos e, mais recentemente, de estimular processos regenerativos [16].

Os biomateriais da primeira geração, datados desde a antiguidade, objetivavam uma combinação adequada e funcional que correspondesse às do tecido biológico que fosse ser substituído, não causando uma resposta adversa no organismo. No contexto histórico, as próteses são exemplos emblemáticos de biomateriais de primeira geração, concebidos para restaurar funções perdidas de forma essencialmente mecânica e a ausência de reações adversas significativas no organismo. O auge destes biomateriais ocorreu entre 1950 e 1960, compostos, em sua maioria, por materiais já existentes que não haviam sido criados para aplicações médicas. Todavia eles foram escolhidos devido à combinação de propriedades físicas adequadas; por serem bioinertes, ou seja, provocavam uma resposta mínima mas que restabelecesse a funcionalidade da parte que foi perdida, sendo assim considerados biocompatíveis [17, 18].

Os biomateriais de segunda geração propunham provocar uma interação controlada com os tecidos em que eram implantados, com o objetivo de induzir um efeito terapêutico específico. Na década de 1980, esses materiais bioativos começaram a ser utilizados clinicamente em cirurgias ortopédicas e odontológicas, incluindo diversas composições de vidros e cerâmicas bioativos, além de aplicações em liberação controlada de fármacos e dispositivos médicos. Essa geração também introduziu biomateriais reabsorvíveis, cuja taxa de degradação podia ser ajustada de acordo com as necessidades de cada aplicação. Isso permitia que, a longo prazo, a interface entre o implante e o tecido hospedeiro fosse eliminada, já que o material estranho seria degradado em produtos solúveis e não tóxicos pelo próprio organismo [19, 20].

A chamada terceira geração de biomateriais surgiu no final do século XX e início

do século XXI, marcada pela transição do conceito de simples substituição ou interação controlada para o de estimulação ativa da regeneração tecidual. Esses biomateriais não apenas oferecem suporte estrutural, mas também são projetados para modular respostas celulares e moleculares, promovendo osteocondução, osteoindução e angiogênese. Frequentemente desenvolvidos na forma de *scaffolds* tridimensionais, podem ser associados a fatores de crescimento com peptídeos bioativos ou células-tronco mesenquimais, criando um microambiente favorável à regeneração funcional do tecido. Além disso, os biomateriais de terceira geração são fundamentais na engenharia de tecidos e na medicina regenerativa, representando uma plataforma estratégica para o tratamento de lesões críticas e doenças degenerativas. Essa abordagem evidencia a mudança de paradigma: de materiais passivos ou apenas bioativos para sistemas capazes de induzir e guiar processos biológicos complexos [21–23]. Na Figura 1 é possível observar exemplos de biomateriais das três gerações mencionadas anteriormente.

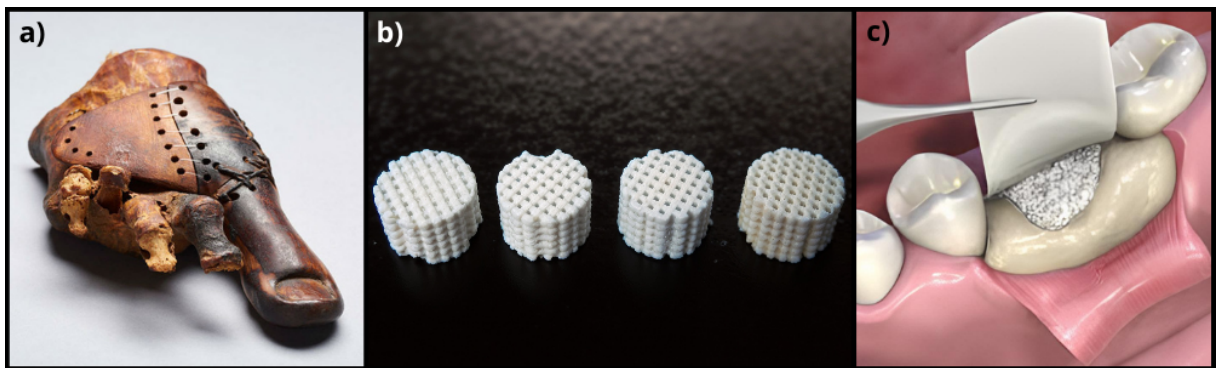


Figura 1: Biomateriais das três gerações: a) 1ª - *Greville Chester Great Toe* - uma das próteses mais antigas, um polegar de madeira egípcio de aproximadamente 3.000 anos feito de madeira e couro [24], b) 2ª - *Scaffolds* de vidro bioativo, estruturas projetadas para suportar a degradação do material e promover a integração com tecidos biológicos [25] e c) 3ª - Enxerto ósseo e membrana reabsorvível, para pacientes que necessitam de implantes dentários, mas têm osso insuficiente [26].

A literatura mais recente tem discutido a emergência de uma possível quarta geração de biomateriais, caracterizada por sistemas inteligentes e responsivos ao ambiente biológico. Diferentemente das gerações anteriores, que priorizaram inicialmente a biocompatibilidade, depois a bioatividade e, por fim, a regeneração tecidual, os biomateriais de quarta geração são projetados para responder dinamicamente a estímulos externos ou internos, como variações de pH, temperatura, forças mecânicas ou sinais bioquímicos. Esses materiais inteligentes podem liberar fatores bioativos sob demanda, modificar suas propriedades de acordo com o microambiente ou até mesmo se autorreparar, ampliando as perspectivas em medicina personalizada e terapias avançadas. Tal conceito se alinha ao desenvolvimento de biomateriais multifuncionais, integrados a nanotecnologia e biotecnologia, com potencial para revolucionar o tratamento de doenças complexas e acelerar a consolidação da medicina regenerativa moderna [27].

1.2 Biomateriais: definição, características e classificação

Em 1986, em Conferência realizada pela European Society for Biomaterials em Chester na Inglaterra, surgiu a definição do termo biomaterial como sendo como "um material não vivo, utilizado como dispositivo médico, projetado para interagir com sistemas biológicos"

[28]. O Consenso de Chester de 1991, novamente promovido pela European Society for Biomaterials (ESB), teve como objetivo revisar e ampliar a definição estabelecida em 1986. A definição inicial, centrada na ideia de biomaterial como um material não vivo utilizado em dispositivos médicos, foi considerada excessivamente restritiva. No encontro de 1991, o conceito foi expandido para incluir qualquer material, natural ou sintético, destinado a entrar em contato com sistemas biológicos com a finalidade de avaliar, tratar, reforçar ou substituir tecidos, órgãos ou funções do organismo. Essa formulação mais abrangente passou a orientar a literatura especializada e consolidou a noção moderna de biomaterial como categoria central em ciência, engenharia e medicina [29].

Hoje em dia, o biomaterial é definido como qualquer substância (exceto drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que possa ser usada temporária ou permanentemente como parte de um sistema que trate, melhore ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo. A Figura 2 ilustra alguns tipos de biomateriais. O termo é utilizado para descrever materiais empregados na fabricação de implantes, próteses, marca-passos, entre outros dispositivos [15,30]. Para ser um biomaterial, ele deve ser apto de ligar-se com os sistemas biológicos, a fim de tratar, expandir ou substituir tecidos, órgãos ou funções do organismo. O biomaterial diferencia-se, em especial, por sua composição química, física, mecânica e biocompatível, tornando viável sua utilização no corpo humano [15,31,32]. A Figura 2 ilustra aplicações e alguns tipos de biomateriais que são usados atualmente.

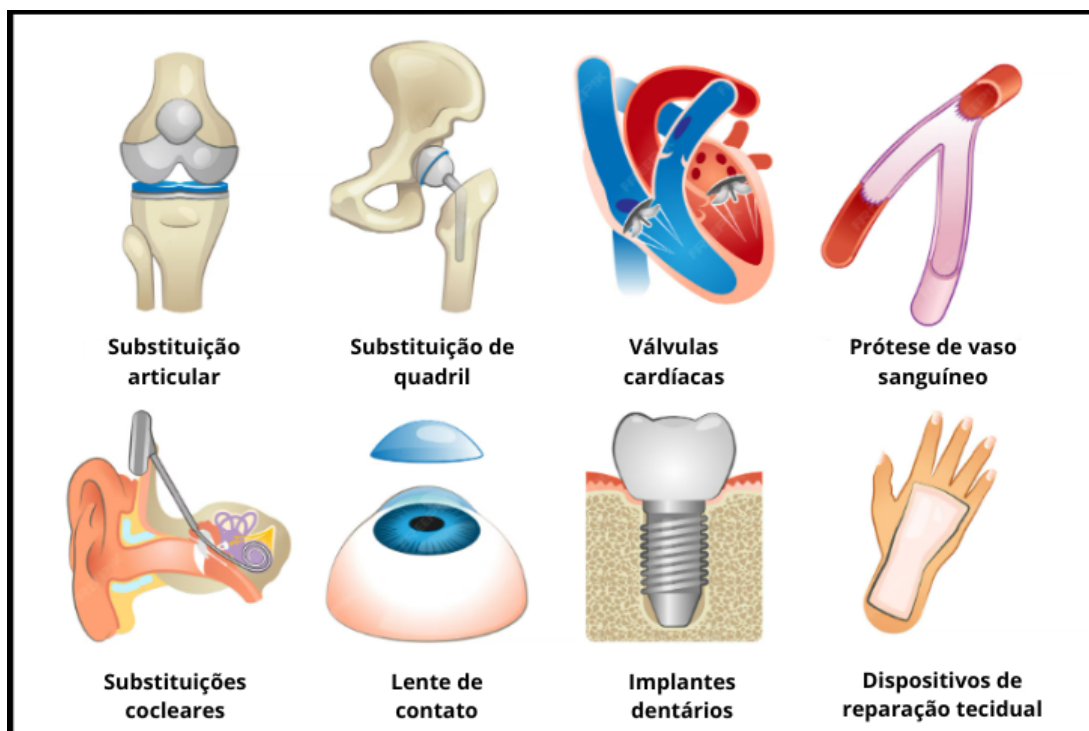


Figura 2: Representação ilustrativa de dispositivos médicos que podem ser considerados biomateriais, mostrando sua representatividade em diversas áreas de atuação [33].

Os biomateriais existentes são obtidos a partir de duas origens: natural e sintética. Podem ser naturalmente extraídos de uma gama de seres vivos, desde bactérias a mamíferos. São nomeados de autógenos: que tem origem no próprio paciente; alógenos: que teve origem em local diferente daquele onde se encontra atualmente (exemplo: um doador); ou xenógenos: que tem origem a partir de um animal de outra espécie. Por outro lado, os biomateriais podem ser sintetizados a partir de metais e suas ligas, polímeros, cerâmi-

cos e compósitos, tendo como principais exemplos os carbonatos de cálcio e fosfatos de cálcio [15, 16, 34].

Os biomateriais necessitam exercer sua função estrutural sem causar efeitos inconvenientes, apresentando desempenho biológico análogo ao tecido ou órgão que vão substituir. A bioatividade, biocompatibilidade e biofuncionalidade são características fundamentais para a definição e caracterização de um biomaterial, pois garantem sua eficácia e segurança em aplicações médicas. Juntas, essas três características garantem que um biomaterial possa ser utilizado de forma segura e eficaz, promovendo a recuperação e a funcionalidade do tecido lesado, além de facilitar a integração com o organismo humano [1, 35–38].

- **Bioatividade**

A bioatividade é a propriedade de certos materiais de interagirem com o ambiente biológico de maneira específica. Ela é definida como a capacidade de um biomaterial de formar tecido sobre sua superfície, criando uma interface contínua que suporte as cargas funcionais normalmente presentes no local da implantação. Isso significa que, além de promover a formação de tecido, um biomaterial bioativo deve ser capaz de manter sua integridade estrutural e funcional, cumprindo suas funções mecânicas e biológicas no organismo. Um caso comum de aplicação de bioatividade é o uso de hidroxiapatita como revestimento em implantes ósseos, onde atua como uma superfície bioativa que promove a sustentação de osso recém-formado [1, 38];

- **Biocompatibilidade**

A biocompatibilidade refere-se à capacidade de um material se interagir com o organismo sem causar efeitos adversos. Inicialmente, acreditava-se que um material biocompatível deveria ser completamente inerte ao corpo humano, sem gerar qualquer resposta biológica. No entanto, essa visão foi abandonada, uma vez que a presença de qualquer material no organismo sempre desencadeia algum tipo de reação, que pode variar conforme o contexto, incluindo a aplicação do material [35]. Atualmente, biocompatibilidade é entendida como a habilidade de um material cumprir sua função pretendida no organismo, promovendo a incorporação adequada no hospedeiro sem causar efeitos sistêmicos ou locais indesejáveis. Esse conceito engloba um conjunto de propriedades essenciais para o uso seguro dos materiais em sistemas biológicos, incluindo a ausência de toxicidade, carcinogenicidade, reações alérgicas e inflamações, além de garantir a estabilidade do material durante sua aplicação. Em resumo, materiais biocompatíveis devem atuar em harmonia com os sistemas vivos sem prejudicar o ambiente de interação biológica [39, 40];

- **Biofuncionalidade**

A biofuncionalidade refere-se ao comportamento de materiais implantados no organismo e à sua capacidade de desempenhar funções semelhantes às dos tecidos ou estruturas que estão substituindo. Essa habilidade é crucial tanto para implantes permanentes quanto temporários, pois um biomaterial deve ser capaz de funcionar adequadamente e interagir com o organismo hospedeiro durante o tempo necessário. Os requisitos para que um material seja considerado biofuncional incluem características físicas, químicas, biológicas e mecânicas adequadas para cada aplicação específica. Por exemplo, na substituição óssea, o material deve ser capaz de transmitir e distribuir tensões; em dispositivos como corações artificiais, controlar o fluxo sanguíneo; em cirurgias estéticas, preencher espaços; e em marca-passos, fornecer estímulos elétricos. Para implantes ópticos, como lentes, ou auditivos, como

implantes cocleares, o material também deve ser capaz de transmitir luz e som, respectivamente. Além disso, a escolha do biomaterial deve considerar as propriedades necessárias para a substituição do tecido lesado. Materiais metálicos ou cerâmicos são frequentemente utilizados para substituir tecidos duros, como ossos ou dentes. Assim, a biofuncionalidade está intimamente ligada à adequação do biomaterial às exigências funcionais do tecido a ser substituído, assegurando uma integração eficaz no organismo [41].

A classificação dos biomateriais pode ser realizada a partir de diferentes critérios, refletindo tanto sua natureza quanto sua função no organismo. Do ponto de vista da origem, distinguem-se biomateriais naturais, extraídos de organismos vivos, e sintéticos, produzidos em laboratório ou por processos industriais. Considerando a composição química, são geralmente agrupados em metais e ligas, cerâmicas, polímeros e compósitos, cada qual com propriedades físico-químicas específicas. Já sob a perspectiva da resposta biológica, consagrada nas definições de Hench e Williams, os biomateriais podem ser classificados como bioativos, bioinertes ou biorreabsorvíveis.

- **Bioativos**

Materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre material e tecido ósseo. Esses materiais possuem a capacidade de formar tecido sobre a superfície de um biomaterial e estabelecer uma interconexão capaz de suportar cargas funcionais. Nestes casos, há uma ligação direta do biomaterial com os tecidos vivos, devido aos íons, favorecendo uma ligação biológica entre ambos. Os principais materiais desta classe são os vidros e vitrocerâmicas à base de fosfatos de cálcio, a hidroxiapatita e os compostos de fosfato de cálcio [41, 42];

- **Bioinertes**

São materiais menos susceptíveis a reações biológicas adversas, devido à sua maior estabilidade química em comparação com outros biomateriais. São tolerados pelo organismo, mas a formação de tecido é mínima, praticamente inexistente. De certa forma, podemos mesmo dizer que não provocam reação de corpo estranho em um organismo, mesmo em contato direto com o tecido receptor. Alguns exemplos de materiais bioinertes são o carbono, titânio, alumina e zircônia [37];

- **Biorreabsorvíveis (ou biodegradáveis)**

Materiais que após certo período em contato com os tecidos acabam sendo degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo. Mostram degradação através da diminuição de tamanho e são reabsorvidos *in vivo*, isto é, são eliminados por rotas metabólicas do organismo. Estes compostos são utilizados em tecidos que carecem de um suporte temporário para sua recomposição tecidual. Temos como exemplos o fosfato tricálcio (TCP) e os vidros bioativos [1].

A classificação dos biomateriais de acordo com a composição química é de grande relevância, pois permite correlacionar diretamente as propriedades intrínsecas do material como resistência mecânica, estabilidade química, solubilidade, bioatividade e degradação com sua performance clínica. Essa abordagem facilita a seleção racional de materiais para cada aplicação biomédica, uma vez que diferentes composições conferem características distintas em termos de interação com tecidos biológicos, durabilidade em meio fisiológico e capacidade de integração ao organismo. Além disso, a categorização composicional

estabelece uma base comparativa entre classes distintas de biomateriais, servindo como referência para o desenvolvimento de novas gerações de materiais híbridos ou multifuncionais. Dentre as diferentes composições existentes de biomateriais, recebem destaque: metálicos, vidros, polímeros e cerâmicas. A Figura 3 mostra alguns exemplos destes biomateriais.

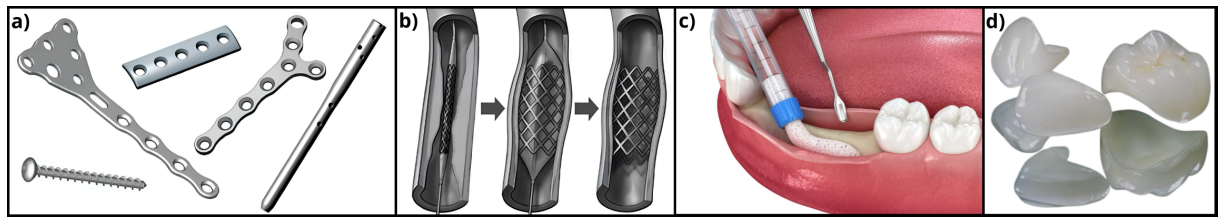


Figura 3: Exemplos de biomateriais: a) Implantes metálicos [43]; b) Balão polimérico utilizado como *stent* coronário [44]; c) Enxerto ósseo de vidro bioativo OSSPORE® [45] e d) Implantes dentários de zircônia cerâmica [46].

• Metálicos

Os biomateriais metálicos são amplamente utilizados na área médica devido às suas propriedades mecânicas excepcionais, como alta resistência, rigidez, tenacidade e resistência à fadiga e fratura. Eles são principalmente usados em ortopedia, implantodontia e odontologia para substituir, estabilizar ou reforçar tecidos duros submetidos a grandes cargas. Esses metais, como titânio, nióbio e tântalo, se destacam por sua biocompatibilidade, resistência à corrosão e capacidade de osteointegração [15, 32, 47]. Os biomateriais metálicos são divididos em três classes principais: ligas ferrosas (aços inoxidáveis), ligas à base de cobalto e ligas à base de titânio. A biocompatibilidade desses materiais está ligada à formação de uma fina camada de óxido em sua superfície, que protege contra a corrosão fisiológica. Contudo, a diferença entre o módulo de elasticidade dos metais e dos ossos pode causar afrouxamento dos implantes, problema minimizado por tratamentos de superfície e inserção de poros [15, 48, 49]. Aplicações comuns incluem fixadores temporários (parafusos, placas) e próteses permanentes (quadril, joelho). Além da ortopedia, esses metais são usados em *stents* vasculares, marca-passos e odontologia, devido à sua durabilidade e resistência. Contudo, metais precisam de melhorias contínuas para superar limitações como liberação de íons tóxicos e inflamações, mantendo sua relevância na biomedicina. O nióbio, em particular, é um metal biorreativo que tem ganhado destaque. Sua bioatividade pode ser melhorada por tratamento de superfície, o que o torna uma alternativa promissora tanto como componente de ligas metálicas ou quanto em sua forma pura. Estudos indicam que o nióbio apresenta excelente potencial em aplicações biomédicas devido à sua biocompatibilidade e resistência à corrosão [48];

• Polímeros

Os polímeros são os materiais mais utilizados em aplicações biomédicas. São materiais que formam grandes cadeias compostas por muitas unidades repetidas. Os usos dos materiais poliméricos são mais diversos que os dos implantes metálicos, mas sua evolução não é tão grande. Suas características únicas são: flexibilidade, alta biocompatibilidade, fácil manuseio, facilidade de produção e custo razoável. Apresenta diversas desvantagens em relação aos biomateriais metálicos e cerâmicos, tais como: propriedades mecânicas inferiores, falta de adesão aos tecidos vivos e reação imunológica desfavorável [48]. Os polímeros, naturais ou sintéticos, constituem a

classe mais diversa de biomateriais, apresentando uma ampla gama de composições e propriedades. Estes polímeros oferecem maior flexibilidade em termos de processamento e modificação do que outros tipos de biomateriais, o que permite melhorar os materiais ou adicionar novas propriedades e, portanto, uma variedade de utilizações [30]. Polímeros naturais são macromoléculas produzidas durante o ciclo de crescimento dos organismos vivos, por reações catalisadas por enzimas e por reações em cadeia de crescimento por monômeros, criados nas células por processos metabólicos complexos. Polímeros sintéticos são utilizados em aplicações biomédicas porque suas propriedades podem ser controladas ajustando a rota de síntese. Propriedades como cristalinidade, temperatura de fusão e transição vítrea, massa molar e formação de grupos laterais dependem dos monômeros utilizados, iniciadores, aditivos e condições de reação [15,32]. As aplicações mais importantes dos polímeros em ortopedia incluem suturas, tecidos, implantes ortopédicos, dispositivos de fixação, cimento ósseo e componentes acetabulares para cirurgia de quadril. Entre os materiais mais utilizados estão os polímeros fluorados como teflon, poliamidas, elastômeros, silicones, poliésteres e policarbonatos [15]. Além disso, os polímeros podem ser utilizados nos estados sólido, líquido e gel. Espera-se um forte crescimento no mercado de biomateriais poliméricos, devido às suas características de elasticidade, flexibilidade, biocompatibilidade, inércia biológica e longevidade [49];

- **Vidros**

Os vidros bioativos foram classificados como um biomaterial, sendo um dos primeiros materiais sintéticos com alta biocompatibilidade. Tradicionalmente, os vidros bioativos eram utilizados para preencher e restaurar defeitos ósseos, mas recentemente passaram a ser foco de pesquisas em engenharia de tecido ósseo [50]. O desenvolvimento dos vidros bioativos foi liderado pelo Professor Larry Hench, que sintetizou composições de vidros contendo sílica, fosfato, óxido de cálcio e sódio. Até 1967, Hench concentrava-se em materiais vítreos e suas interações com radiação nuclear [51]. Os vidros bioativos foram inicialmente criados para servir como implantes e revestimentos [52]. A composição padrão desses materiais inclui SiO_2 , Na_2O , CaO e P_2O_5 , sendo o Bioglass®, em português biovidro (também conhecido como 45S5), foi a primeira fórmula amplamente estudada, composta por 45% de SiO_2 , 24,5% de Na_2O , 24,5% de CaO e 6% de P_2O_5 , em percentual de massa e foi assim que o biovidro foi concebido [34,51]. Os vidros bioativos e cerâmicas podem ser aplicados na forma de grânulos ou corpos porosos, úteis para estimular o crescimento ósseo ou como revestimentos bioativos em implantes, onde uma forte adesão entre o osso e o biomaterial é necessária. Esses materiais são projetados para restaurar ossos perdidos ou orientar o crescimento ósseo em áreas com defeitos [48]. Posteriormente ao sucesso dos vidros bioativos, eles foram amplamente reconhecidos por sua capacidade de estimular o crescimento de células ósseas e se ligar de forma estável tanto a tecidos duros quanto a tecidos moles. Resultados mostraram que após a implantação, esses vidros passam por reações específicas que resultam na formação de fosfato de cálcio amorfo ou hidroxiapatita cristalina em sua superfície, promovendo uma ligação forte com o tecido ao redor, corroborando com os primeiros testes que Hench conduziu [53,54];

- **Cerâmicas**

Os biomateriais cerâmicos são menos propensos a causar reações biológicas adversas, devido à sua estabilidade química superior em comparação a outros materiais. Exemplos comuns incluem carbono, alumina e zircônia. A alumina e a zircônia

são amplamente utilizadas em superfícies de articulações artificiais sujeitas à fricção, graças à sua excelente resistência ao desgaste. As cerâmicas são quimicamente muito estáveis, tornando-as altamente improváveis de gerar uma resposta biológica negativa [47, 48, 55, 56]. A alumina policristalina de alta densidade e pureza é usada em próteses de cabeça de fêmur e componentes acetabulares. Suas principais características são a estabilidade química, inércia biológica e elevada resistência à fricção e ao desgaste. Normalmente, a cabeça do fêmur é feita de alumina, enquanto a articulação é de polietileno ou alumina. No entanto, a alumina tem limitações, como baixa tenacidade e resistência à tração e à flexão, além de desafios dimensionais relacionados ao raio de curvatura ideal. A zircônia surgiu como alternativa à alumina por ter maior tenacidade. Sua estrutura monoclinica à temperatura ambiente se transforma em estrutura tetragonal com o aumento da temperatura. A adição de óxido de ítrio (Y_2O_3) estabiliza a fase tetragonal à temperatura ambiente, e a transformação para a fase monoclinica cria um campo de tensão compressivo que bloqueia a propagação de trincas. Isso confere à zircônia propriedades mecânicas superiores e maior liberdade dimensional na produção de implantes [34, 48, 57]. As cerâmicas de um modo geral são mais adequadas, em relação aos metais, do ponto de vista estético, de biocompatibilidade e de resistência química. Algumas cerâmicas densas, como alumina e zircônia, possuem baixa porosidade e boa resistência mecânica. Essas cerâmicas são utilizadas em reconstituição de cabeça de fêmur e em implantes dentários [58]. Os biomateriais derivados de materiais cerâmicos, são frequentemente óxidos, nitretos e carbetos, que possuem importantes propriedades para biomateriais ortopédicos, como isolantes térmicos, alta resistência a altas temperaturas e a ambientes abrasivos, quando comparados aos materiais metálicos e poliméricos. Por serem de difícil fabricação, esses materiais conferem baixa confiabilidade mecânica e alta densidade. Suas projeções baseiam-se especificamente na utilização em implantes cirúrgicos, próteses e órgãos artificiais, pois possuem uma boa biocompatibilidade e favorecem uma melhor integração óssea [49, 56].

1.3 Biocerâmicas de fosfato de cálcio

Com a evolução no campo de biomateriais, temos que as cerâmicas de fosfato de cálcio (CaP) vêm recebendo mais visibilidade entre as outras biocerâmicas por manifestarem particularidades promissoras em relação a habilidade de formação de tecido ósseo. Apesar das diversas categorias de biocerâmicas existentes, poucas são usadas clinicamente, por motivos de que para aplicações biológicas é necessário ser bioativo, bioinerte e biorreabsorvível [59, 60].

Os CaPs são materiais bem fundamentados em aplicações com finalidade de cicatrização e reconstrução óssea. Em geral, a característica mais importante dos fosfatos de cálcio como biomateriais é a paridade com a parte inorgânica da matriz óssea, apresentam enorme similaridade cristalográfica com a apatita dos ossos e dentes. As biocerâmicas à base de CaP amplamente conhecidas são a hidroxiapatita (HA) e o beta fosfato tricálcico (β -TCP), por possuírem alta biocompatibilidade, osteocondutividade e executar bem o papel da osteoindução e da osteointegração quando aplicados *in vivo*. Esses atributos favoráveis podem ser explicados pelo caráter químico destes materiais, por serem formados em resumo por íons cálcio e fosfato que contribuem efetivamente no equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica [61, 62].

1.3.1 Hidroxiapatita (HA)

A HA ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) está entre os principais fosfatos de cálcio, é um mineral encontrado também no corpo humano, sendo constituído basicamente de cálcio, fósforo e oxigênio. A estrutura cristalina mais comum e estável é do tipo hexagonal, ocorrendo naturalmente nos tecidos duros e sendo formada por uma rede tridimensional de íons de cálcio e fosfato ligados por grupos hidroxila (OH^-) como mostrado na Figura 4. Com relação a simetria é do grupo espacial $\text{P6}_3/\text{m}$ caracterizada por três eixos iguais, formando um ângulo de 120° entre si. Os parâmetros de rede típicos para a HA estequiométrica é $a = b = 0,9423 \text{ nm}$ e $c = 0,6875 \text{ nm}$ [63–65].

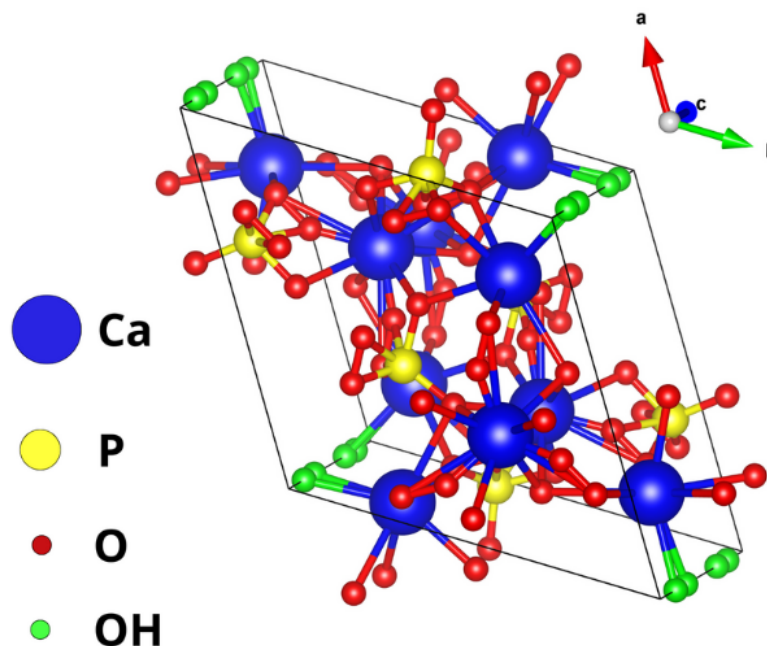


Figura 4: Representação esquemática da estrutura cristalográfica da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$). As esferas azuis correspondendo aos íons cálcio (Ca), amarelas indicando os átomos de fósforo (P), vermelhas representando os átomos de oxigênio (O) e os grupos hidroxila (OH^-) são mostrados em verde [66,67].

A razão Ca/P na HA é de 1,67 em circunstâncias ideais, visto que quanto mais próximo deste número maior a pureza e estabilidade química do material. Essa proporção é considerada importante para manter a estabilidade e as propriedades biológicas da HA no corpo humano [64,65]. O índice de cristalinidade é um valor que depende do material que está sendo estudado, mas em relação a HA calcinada (termicamente tratada), temos que esse valor de cristalinidade é maior [68–70].

1.3.2 β -fosfato tricálcico (β -TCP)

É um dos biomateriais mais estudados atualmente, pois detém mais estabilidade química em comparação com outros tipos de fosfatos. Este material tem uma elevada biocompatibilidade, é um excelente osteocondutor e é naturalmente reabsorvido pelo corpo vivo. Por essas razões e por apresentar composição química tão próxima ao do tecido ósseo, o β -TCP está se sobressaindo em implantes de reparação de defeitos e de reconstrução do tecido ósseo [61,71,72].

O β -TCP pertence ao grupo espacial R3c de simetria romboédrico/hexagonal com célula unitária $a = b = 1,0439$ nm e $c = 3,7375$ nm. Essa cerâmica possui sua fórmula química $(\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2)$ e cada célula unitária contém 21 unidades dessa mesma fórmula, podemos observar a representação dessa célula na Figura 5 [58,60,73].

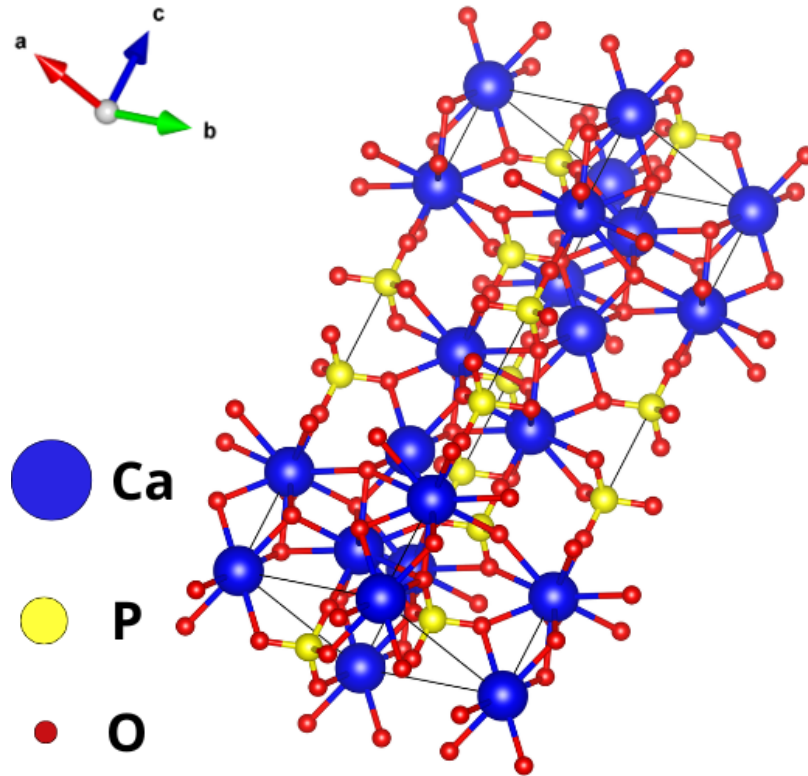


Figura 5: Representação esquemática da estrutura cristalográfica do β -fosfato tricálcico $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. As esferas azuis correspondendo aos íons cálcio (Ca), amarelas indicando os átomos de fósforo (P) e as vermelhas representando os átomos de oxigênio (O) [74].

O β -TCP tem razão molar Ca/P de 1,5; este valor é menor que a da HA, tornando-o mais solúvel e mais reabsorvível. Apresenta um grau de cristalinidade menor que o da hidroxiapatita, mas que pode ser ajustada termicamente conforme a temperatura de calcinação do material [58,60,75].

1.3.3 Métodos de obtenção dos fosfatos de cálcio

A síntese dos fosfatos de cálcio pode ser por diferentes formas, que variam conforme o tipo de método ou matéria prima que será usada. Entre os métodos sintéticos mais conhecidos destaca-se a precipitação via úmida, que consiste em reações em solução aquosa entre sais de cálcio e fósforo, com controle de pH e temperatura [76,77]. Nesse processo, utiliza-se comumente o nitrato de cálcio tetrahidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) como fonte de cálcio, e fosfato de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) como fonte de fósforo. A solução de fosfato é adicionada gradualmente à solução de cálcio sob agitação constante, mantendo o pH em torno de 10-11 por meio da adição de NH_4OH ; nessas condições, ocorre a precipitação da hidroxiapatita [78]. Também é frequentemente aplicado o método sol-gel, pois possibilita a mistura em nível molecular dos precursores e produz materiais com elevada homogeneidade e pureza, sendo ideal para a obtenção de pós ultrafinos [77].

Além desses métodos sintéticos, também é possível obter hidroxiapatita ou β -TCP por rotas de origem natural. Nesse caso, materiais biológicos como ossos de animais, escamas de peixe ou cascas de ovos são tratados para remoção da matéria orgânica e posteriormente calcinados, resultando em hidroxiapatita e/ou β -TCP com composição semelhante ao mineral natural [76, 79].

A obtenção dos fosfatos de cálcio, hidroxiapatita e β -TCP realizada a partir de ossos de peixes, especialmente a partir da tilápia da espécie *Oreochromis niloticus* de patente (PI 0506242-0), são uma fonte alternativa para a obtenção de CaPs, apresentando vantagens em relação a outros métodos [3]. O processo de obtenção de hidroxiapatita a partir de ossos de peixe geralmente envolve a remoção da matriz orgânica por meio de tratamentos térmicos e químicos, seguida por processos de purificação e cristalização. A utilização de ossos de peixe como fonte de HA e β -TCP pode ter vantagens econômicas, já que a produção de HA a partir de ossos humanos ou animais maiores pode ser mais cara [3, 34, 80].

Além de apresentar vantagens em termos de custo e sustentabilidade, o CaPs obtidos a partir de ossos de peixe de tilápia tem mostrado resultados promissores em estudos de comportamento biológico. Em um estudo com ratos, por exemplo, foi observado que o implante de hidroxiapatita obtida a partir deste material estimulou a formação de tecido ósseo, apresentando resultados semelhantes aos obtidos com hidroxiapatita sintética. Outros estudos têm demonstrado a eficácia dessa HA a partir da tilápia no tratamento de defeitos ósseos em diferentes regiões do corpo, como mandíbula, crânio e fêmur [3, 10, 13].

A obtenção da hidroxiapatita por síntese química pode gerar resíduos tóxicos e demandar um grande consumo de energia, o que pode impactar negativamente o meio ambiente. Porém, há alternativas mais sustentáveis, como a obtenção de hidroxiapatita a partir de resíduos de origem animal, como os ossos de tilápia, podendo contribuir para a redução do desperdício de recursos naturais e para o desenvolvimento de práticas mais sustentáveis na área da saúde [34].

1.3.4 Aplicações da HA e β -TCP

A HA e o β -TCP são largamente usados como biomaterial em decorrência da sua biocompatibilidade e a aptidão de ser integrada ao tecido ósseo. Esses materiais são atóxicos e não ocasionam reações prejudiciais quando implantadas *in vivo*. Esses CaPs são utilizados também na produção de suportes porosos (*scaffolds*) para o crescimento de células e tecidos, por possuir a capacidade de interagir com as células ósseas, promovendo a regeneração óssea [81]. Esses materiais têm sido estudados e utilizados em diversas aplicações biomédicas:

- A **hidroxiapatita** é amplamente utilizada em enxertos ósseos na ortopedia e odontologia, devido à sua capacidade osteocondutora e osteointegrativa. Também é empregada como revestimento de implantes metálicos, favorecendo a integração com o osso. Além disso, tem aplicação na regeneração periodontal e em próteses dentárias, por apresentar bioatividade e composição química semelhante à da dentina e do esmalte. Outro uso relevante é como suporte para o carregamento de fármacos, permitindo a liberação controlada de medicamentos [82];
- O **β -TCP**, por sua vez, destaca-se por ser mais reabsorvível que a hidroxiapatita, o que o torna indicado em enxertos temporários, nos quais se deseja a substituição gradual pelo tecido ósseo natural. Também é utilizado no preenchimento de defeitos

ósseos em cirurgias ortopédicas. Além disso, é comum sua aplicação em formulações bifásicas com hidroxiapatita, conhecidas como biocerâmicas bifásicas (BCPs), que combinam a reabsorção do β -TCP com a estabilidade da HA, otimizando o processo de regeneração óssea [83]. Em síntese, a HA e o β -TCP obtidos a partir de ossos de peixe representam uma alternativa viável e promissora para a produção de biomateriais com propriedades osteointegrativa e bioativas [84].

1.3.5 Cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (HA: β -TCP)

As cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (BCP), compostas por diferentes proporções de hidroxiapatita (HA) e β -tricálcio fosfato (β -TCP), têm recebido crescente atenção nas últimas décadas como substitutos ósseos sintéticos devido à sua composição química semelhante à fase mineral do tecido ósseo e à sua reconhecida biocompatibilidade [37]. A combinação das duas fases cristalinas confere ao material características intermediárias entre a elevada estabilidade estrutural da HA e a solubilidade controlada do β -TCP, permitindo ajustar a cinética de reabsorção e a formação de novo osso de acordo com a aplicação clínica desejada [1].

A razão HA: β -TCP é considerada uma variável crítica para modular a resposta biológica. A HA apresenta elevada cristalinidade, baixa solubilidade fisiológica e capacidade de manter volume a longo prazo, sendo particularmente indicada em situações clínicas nas quais a estabilidade dimensional é fundamental, como em elevação de seio maxilar ou reconstrução de cristas alveolares finas. Por outro lado, o β -TCP possui dissolução mais rápida, liberando íons cálcio e fosfato que favorecem a osteogênese, além de facilitar a substituição progressiva do enxerto por osso neoformado. Assim, ao associar estas fases, o BCP permite criar um balanço entre manutenção volumétrica e taxa de remodelação, algo difícil de alcançar com o uso isolado de uma única fase [85].

Na área da implantodontia, ensaios clínicos randomizados e estudos multicêntricos recentes demonstraram a eficácia do BCP como substituto ósseo em procedimentos de levantamento de seio maxilar. Em protocolos comparativos com enxertos xenógenos ou alógenos, o BCP em proporções de 60/40 e 70/30 (HA/ β -TCP) mostrou taxas de formação óssea similares, além de manutenção satisfatória do volume enxertado após seis a nove meses de cicatrização [86, 87]. Estudos longitudinais apontam que embora a HA predomine na manutenção volumétrica, a presença de 30 a 40% de β -TCP é suficiente para estimular maior atividade osteoclástica e acelerar o processo de remodelação óssea. Em contrapartida, composições mais ricas em β -TCP, como 30/70, apresentam reabsorção mais acentuada, sendo indicadas quando há envelope ósseo adequado e expectativa de regeneração rápida [85].

Outro campo de aplicação em expansão é a cirurgia da coluna, particularmente em artrodeses lombares (PLF, TLIF e ALIF). Ensaios clínicos controlados publicados entre 2024 e 2025 demonstraram que o uso de BCP de topografia submicrométrica, com proporções em torno de 60/40, resulta em taxas de fusão óssea comparáveis ao enxerto autólogo, considerado padrão-ouro [88–90]. O grande benefício clínico reside na eliminação da morbidade do sítio doador e na redução do tempo cirúrgico. Nestes cenários, o equilíbrio entre HA e β -TCP mostrou-se determinante: enquanto altas frações de β -TCP aceleram a incorporação, pode haver perda precoce de volume e instabilidade do segmento, algo indesejável em fusões vertebrais. Por isso, composições intermediárias têm se consolidado como as mais adequadas.

No contexto dos defeitos críticos em ossos longos e aplicações ortopédicas em geral,

BCPs com maior teor de β -TCP são preferidos por promoverem remodelação mais rápida. Estudos pré-clínicos em modelos animais confirmam que *scaffolds* contendo 70% de β -TCP apresentam degradação acelerada e substituição progressiva por tecido ósseo vascularizado [91,92]. A reabsorção controlada do β -TCP estimula a liberação local de íons de cálcio, que participam da sinalização osteogênica. Contudo, em defeitos sujeitos a maior carga mecânica, recomenda-se fração maior de HA de modo a evitar colapso prematuro do enxerto [37].

Avanços recentes também ocorreram no campo da biofabricação de *scaffolds* personalizados. Técnicas de impressão 3D por extrusão ou litografia por estereolitografia (SLA) permitiram produzir estruturas com elevada interconectividade porosa, adequadas para vascularização e deposição óssea. Nestes casos, o BCP é frequentemente combinado a polímeros naturais ou sintéticos, como colágeno, gelatina metacrilada (GelMA) ou polilactídeo (PLA), resultando em compósitos híbridos bioativos. Trabalhos recentes indicam que *scaffolds* 3D de BCP 60/40 associados a fatores de crescimento derivados de plaquetas (PRP) ou células-tronco mesenquimais podem acelerar significativamente a regeneração em defeitos segmentares, promovendo não apenas a formação de osso, mas também vascularização robusta [85].

Outra aplicação em expansão refere-se ao revestimento de superfícies metálicas. O recobrimento de implantes de titânio ou zircônia com camadas finas de BCP tem se mostrado eficaz para acelerar a osteointegração. Nestes casos, a escolha da proporção entre HA e β -TCP também é relevante. Revestimentos com maior fração de HA favorecem a estabilidade da camada e a durabilidade do implante, enquanto a incorporação de β -TCP contribui para liberar íons bioativos na interface osso-implante, modulando a resposta celular inicial [87].

As aplicações recentes das cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio demonstram que a versatilidade do material depende essencialmente da proporção HA/ β -TCP. O predomínio da HA garante estabilidade volumétrica a longo prazo, crucial em situações que exigem manutenção estrutural, enquanto o aumento do teor de β -TCP favorece reabsorção mais acelerada e substituição dinâmica por tecido ósseo. Proporções intermediárias, como 60/40 ou 70/30, têm se consolidado em diversas áreas por proporcionarem equilíbrio adequado entre remodelação e estabilidade. A incorporação de tecnologias emergentes, como bioimpressão 3D, dopagem com fatores bioativos e revestimentos híbridos, expande ainda mais o potencial translacional dos BCPs, consolidando-os como materiais estratégicos na regeneração óssea contemporânea [1,37,86].

Composições ricas em HA, como 70:30, destacam-se pela maior estabilidade volumétrica e pela previsibilidade de manutenção estrutural em procedimentos de levantamento de seio maxilar, enquanto proporções intermediárias, como 60:40, oferecem equilíbrio entre reabsorção e neoformação óssea, mostrando-se eficazes tanto em implantodontia quanto em artrodeses vertebrais. Por sua vez, composições mais ricas em β -TCP, como 30:70, apresentam degradação mais acelerada e favorecem a substituição dinâmica por osso vital, sendo indicadas em situações em que há suporte ósseo adequado e interesse em remodelação rápida. Além disso, estudos experimentais demonstram que a modulação da razão entre as fases impacta diretamente a atividade osteoclástica e a liberação de íons bioativos, influenciando a cinética da regeneração óssea. Dessa forma, a proporção HA/ β -TCP pode ser considerada um parâmetro de engenharia biomaterial estratégica, cuja escolha deve ser orientada tanto pelas condições do defeito quanto pelos objetivos clínicos a longo prazo [85,86].

1.4 Pentóxido de nióbio

O nióbio (Nb) é um metal que possui propriedades físicas e mecânicas, como o alto ponto de fusão, resistência mecânica e resistência à corrosão. Esses atributos o transformam em um promissor insumo para biomateriais. Embora biocompatível, apresenta desafios industriais devido à sua reatividade química elevada e elevado ponto de fusão, exigindo técnicas de processamento que encarecem a sua produção [58,93,94]. Apesar do seu potencial, o número de estudos científicos sobre o nióbio é expressivamente inferior em comparação com outros metais.

Em contraste, o pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) que é obtido a partir do nióbio, oferece vantagens significativas, ele é mais estável, demonstra elevada biocompatibilidade e resistência à corrosão, o que favorece seu uso em implantes e compósitos. Além disso, pode ser sinterizado em atmosfera aberta, possui ponto de fusão inferior ao do metal nióbio puro, é menos reativo, o que facilita seu manuseio e permite um fácil processamento por moagem de alta energia e outras técnicas mecânicas. Essas características tornam o pentóxido de nióbio especialmente interessante para a produção de biocompósitos com fosfatos de cálcio, como a HA e o β -TCP [58,94–96].

O pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) pertence ao grupo espacial P2. A estrutura cristalina do Nb_2O_5 é constituída, em sua maior parte, por octaedros NbO_6 , nos quais as ligações Nb-O são relativamente fracas. Sua célula unitária é definida com os parâmetros de rede típicos de $a = 2,038 \text{ nm}$, $b = 0,3824 \text{ nm}$ e $c = 1,936 \text{ nm}$. Podemos observar a representação dessa célula na Figura 6, as esferas em vermelho representam os átomos de oxigênio (O), já as brancas evidenciam os átomos de nióbio (Nb) [63,97,98].

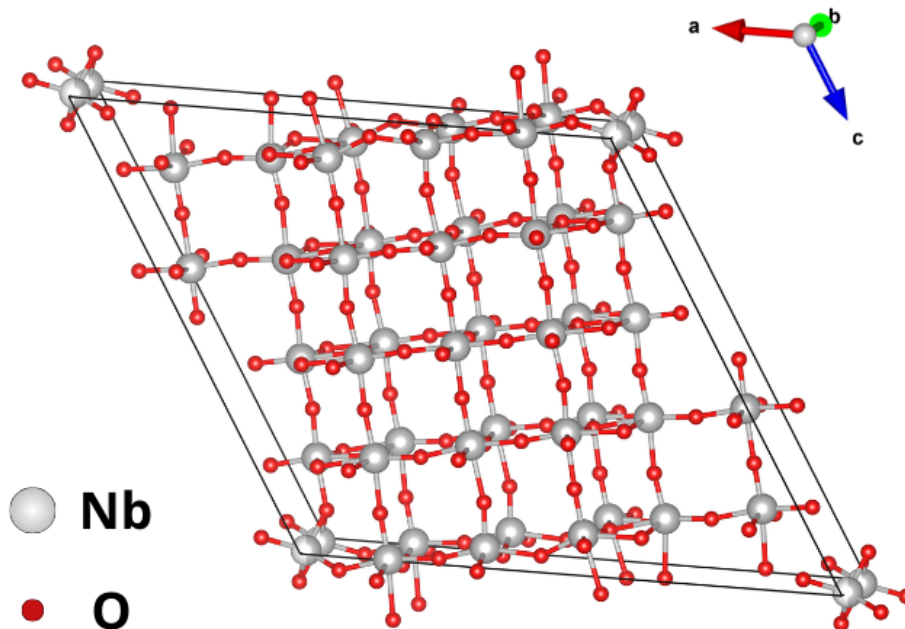


Figura 6: Representação esquemática da estrutura cristalográfica do pentóxido de nióbio Nb_2O_5 . As esferas vermelhas correspondendo aos átomos de oxigênio (O) e as brancas indicando os átomos de nióbio (Nb) [97,98].

1.5 Compósitos

Um compósito é uma classificação de material que contém duas ou mais fases em escalas macro ou microscópicas, mas não em nível atômico. O objeto central da produção de materiais compósitos é unir diferentes materiais para criar um único material com atributos que superam as dos componentes originais. Normalmente, uma dessas fases é descontínua, mais rígida e resistente, sendo conhecida como reforço, enquanto a fase mais fraca e contínua é chamada de matriz [15, 34, 58]. Em certos casos, devido a interações químicas ou a efeitos de processamento, uma fase adicional chamada de interfase, se forma entre o reforço e a matriz. De modo separado, cada material possui suas características únicas, mas quando combinados, formam um compósito com um conjunto de características que, particularmente, é difícil alcançar [99].

As propriedades de um compósito dependem das qualidades dos componentes e da geometria e distribuição das fases. Um parâmetro importante na produção de compósitos é a fração volumétrica do reforço. A distribuição do reforço determina a uniformidade do material. Quanto menos uniforme for essa distribuição, mais heterogêneo o compósito será, aumentando o risco de falhas nas áreas mais frágeis [30, 34]. A Figura 7 apresenta as diferentes classes de materiais que podem compor um compósito.

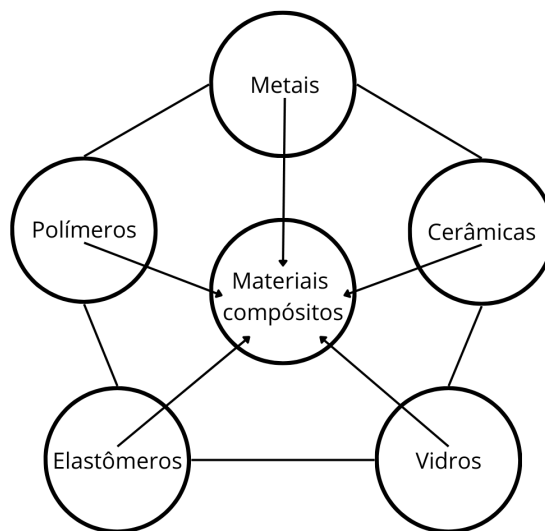


Figura 7: Esquema demonstrativo com as classes de materiais que possuem potencial para formar um material compósito [34].

O reforço ou modificador pode ser adicionado em forma de fibras ou partículas com variados objetivos, como aprimorar atributos mecânicos, aumentar a taxa de degradação, melhorar a biocompatibilidade e a bioatividade, ou ainda, controlar a liberação de medicamentos ou fatores de crescimento incorporados aos dispositivos [30]. A combinação de materiais é uma alternativa para superar limitações nas características (mecânicas, físicas e biológicas) que cada componente possui isoladamente, tornando-os adequados a novas aplicações, inclusive na engenharia de tecidos. Como muitos dos tecidos humanos são compósitos reais, esses materiais são explorados para a reconstrução de tecidos, dado que o principal objetivo da engenharia de tecidos é a recuperação, manutenção ou aprimoramento das funções teciduais. Existem diversas maneiras de formar compósitos biomateriais, com destaque para associações metal-cerâmica, a qual será explorada no trabalho [31].

1.5.1 Compósitos de fosfato de cálcio e pentóxido de nióbio

A incorporação de pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) em cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (BCP, constituídas por hidroxiapatita e β -TCP) tem sido investigada como uma estratégia para melhorar propriedades estruturais e, ao mesmo tempo, manter ou até potencializar a resposta biológica desses biomateriais. Em compósitos de BCP adicionados de Nb_2O_5 e submetidos a sinterização na faixa de 1000-1150 °C, observou-se a formação de fases niobato-cálcicas, como CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$, coexistindo com β -TCP residual. Essa configuração trifásica foi correlacionada com aumento de densidade, dureza e resistência à compressão, sem prejuízo da bioatividade e da biocompatibilidade, tanto em ensaios *in vitro* quanto em modelos animais [10,12]. Estudos com BCP de origem biológica obtida de ossos de peixe, também mostraram que a adição de Nb_2O_5 seguida de sinterização otimizada resultou em microestruturas mais densas e com melhor desempenho mecânico, enquanto em defeitos críticos de calvária de rato houve integração tecidual satisfatória e formação óssea progressiva, sugerindo que a presença das fases niobato não compromete a osteocondução do compósito [12]. Resultados quantitativos indicaram ganhos expressivos em propriedades físico-mecânicas, com aumento de $\sim 17\%$ na densidade, $\sim 66\%$ na microdureza Vickers e $\sim 180\%$ na resistência à compressão em comparação ao BCP sem Nb_2O_5 , confirmando o papel do nióbio como agente densificante e reforçador da matriz [10].

Do ponto de vista biológico, o nióbio pode atuar tanto por dopagem direta da hidroxiapatita quanto pela presença das fases niobato-cálcicas no compósito. Estudos com HA dopada com Nb em escala nanométrica relataram citocompatibilidade elevada e aumento da atividade de fosfatase alcalina, sugerindo efeito positivo na diferenciação osteoblástica e no estímulo à osteogênese [9]. Em outra linha, a síntese de CaNb_2O_6 por sol-gel demonstrou promover a formação de hidroxiapatita em contato com fluidos simulados, evidenciando sua contribuição para a bioatividade superficial [100]. Esses achados reforçam a ideia de que o nióbio, além de modificar a microestrutura e a resistência mecânica da BCP, também pode desempenhar papel ativo na modulação celular e no favorecimento da neoformação óssea.

A rotas típicas envolvem moagem e mistura de BCP com Nb_2O_5 , compactação sob altas pressões (≈ 350 -650 MPa) e posterior sinterização controlada, em que a temperatura e o tempo determinam o balanço entre β -TCP remanescente e a formação de CaNb_2O_6 / $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ [10,13]. Além dos blocos e grânulos, também foram explorados revestimentos de hidroxiapatita dopada com Nb sobre ligas metálicas como $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$, produzidos por processamento assistido por micro-ondas. Esses revestimentos resultaram em camadas mais densas e cristalinas, com maior resistência à corrosão e evidências de atividade antibiofilme, apontando uma rota promissora para aplicações em implantes metálicos [13].

De modo geral, os compósitos BCP/ Nb_2O_5 apresentam desempenho mecânico superior ao BCP convencional, ao mesmo tempo em que mantêm citocompatibilidade e osteocondução adequadas. As fases niobato-cálcicas formadas durante a sinterização parecem não apenas contribuir para a estabilidade estrutural, mas também favorecer a formação de apatita em meio fisiológico e estimular respostas osteoblásticas, o que posiciona esse tipo de compósito como candidato promissor para aplicações em regeneração óssea e implantes estruturais em áreas sujeitas a maior exigência mecânica [10,13].

1.6 Metalurgia do pó

A metalurgia do pó é um conjunto de técnicas de processamento de materiais, que se fundamenta na fabricação de peças, começando com a compactação de pós, sendo esses metálicos, cerâmicos ou compósitos e em seguida aplicando tratamento térmico (sinterização) para obtenção de peças sólidas para diversas finalidades [101, 102].

Em resumo, o processo começa com a preparação dos pós, depois são moldados por compactação mecânica (uniaxial) em um molde com uma geometria pré-definida e em seguida, essa peça é submetida a uma sinterização, uma etapa térmica que viabiliza a coalescência das partículas, resultando em um material sólido. Esse método é vantajoso na fabricação de componentes com geometrias mais complexas, pois é possível definir previamente um molde. Além disso, é útil no controle preciso de composição e microestrutura, no contexto de biomateriais, a metalurgia do pó tem sido amplamente utilizada na elaboração de *scaffolds* porosos com composição e propriedades ajustáveis, que são essenciais para a regeneração tecidual que são mais difíceis de alcançar por métodos convencionais de fundição ou usinagem [103].

1.6.1 *Scaffolds*

Os *scaffolds* são estruturas tridimensionais com elevada porosidade e interconectividade, projetadas para atuar como suportes temporários que facilitará a regeneração de tecidos. A Figura 8 mostra uma ilustração de um *scaffold*. Em aplicações ósseas, essas estruturas devem reproduzir as propriedades mecânicas e morfológicas do tecido natural, além de apresentar composição bioativa onde gradualmente são degradados e substituídos pelo novo tecido [104–106]. Os principais requisitos dos *scaffolds* incluem: biocompatibilidade, biodegradabilidade controlada, porosidade adequada e resistência mecânica suficiente para suportar o ambiente fisiológico. O tamanho desses poros (geralmente entre 100 e 600 μm) e a distribuição também influenciam diretamente na resposta biológica [106]. A metalurgia do pó, associada ao uso de *space holders*, tem se destacado como uma das abordagens mais eficazes para a produção desses *scaffolds* cerâmicos com morfologia e propriedades otimizadas [107].

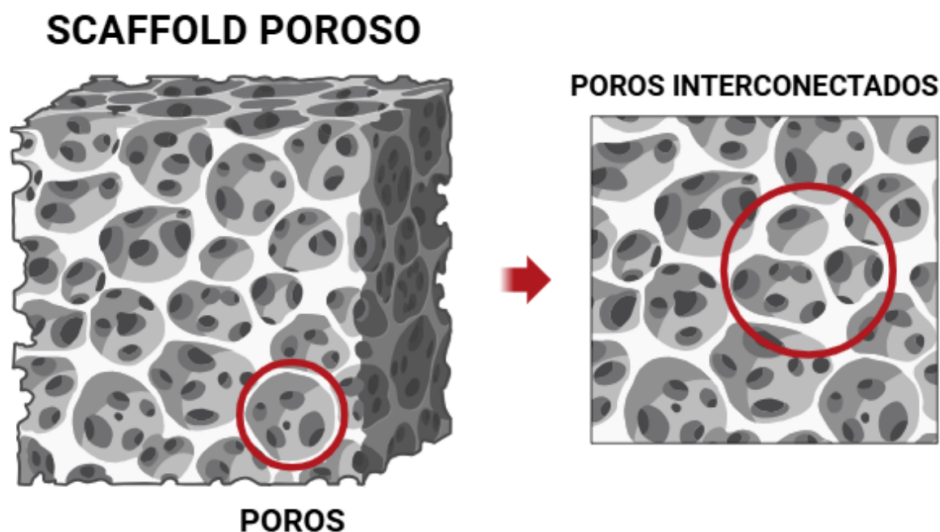


Figura 8: Esquema representativo da estrutura de um *scaffold* tridimensional com alta porosidade. O círculo vermelho evidencia um poro, onde ele apresenta a interconectividade entre outros poros que é fundamental para um *scaffold* de uso para biomaterial [108].

Os *scaffolds* surgiram da limitação de tratamentos convencionais em casos de grandes perdas ósseas, fraturas críticas ou defeitos congênitos, onde o corpo não consegue promover a regeneração adequada sem suporte. Assim, o desenvolvimento de *scaffolds* bioativos e biodegradáveis tem se tornado uma das principais técnicas na medicina regenerativa [109].

1.6.2 *Space Holder*

O método de *space holder* se resume na adição de partículas porogênicas (ou seja, um agente formador de poros) ao pó compósito antes de realizar a compactação deste material para obter o *scaffold* cru. Essas partículas irão atuar como moldes temporários dos poros desejados, esse agente formador é eliminado decorrente de decomposição térmica nesse caso, deixando cavidades/poros/buracos na estrutura após a sinterização completa da peça [110, 111]. Podemos observar detalhadamente essas etapas da técnica na representação esquemática na Figura 9. A escolha do agente porogênico pode variar bastante e depende de diversos fatores desse fabricante de poros: a granulometria que é a dimensão dessa partícula; a estabilidade térmica dele e facilidade de remoção quando submetido a sinterização, sempre preservando a peça final [112, 113].

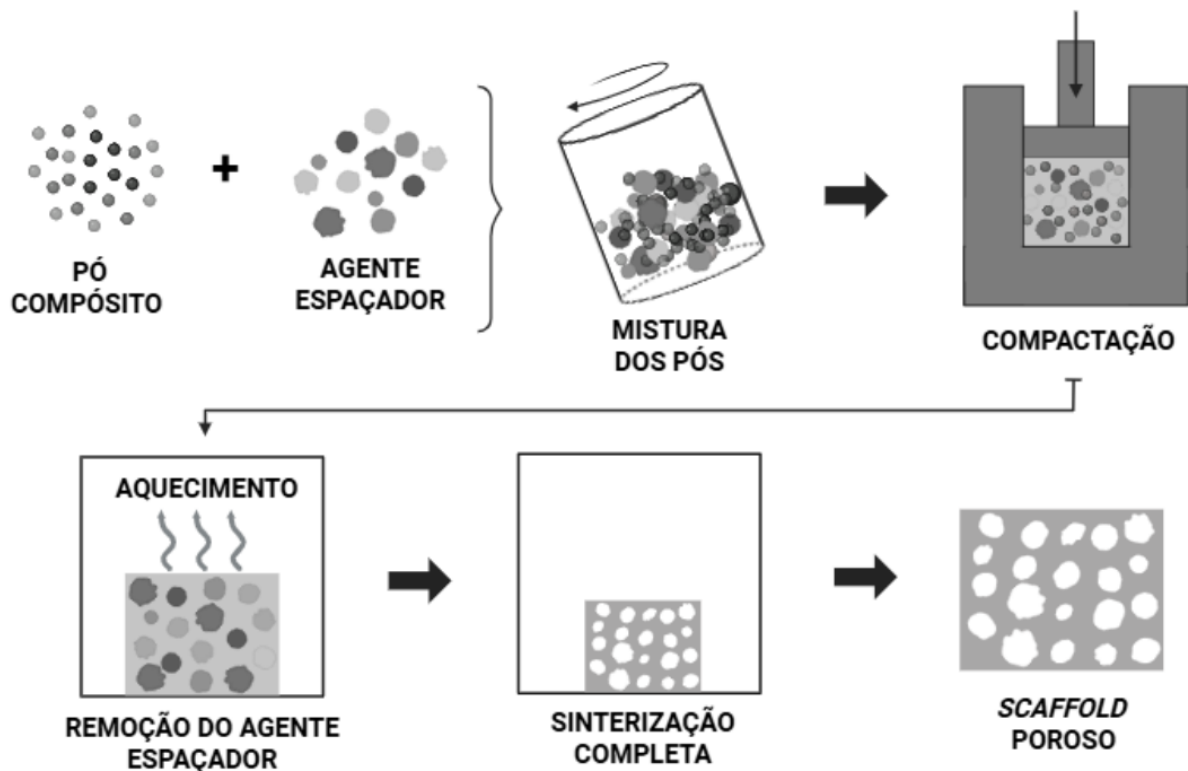


Figura 9: Esquema representativo da técnica de *space holder* para confeccionar um *scaffold* poroso. Na primeira etapa a mistura da matéria-prima em pó com o agente formador de poros, posteriormente a compactação deste material e por fim o aquecimento dessa peça para remover o agente espaçador formando assim um arcabouço poroso [110].

O uso de *space holder* concede um maior controle da fração volumétrica de poros desejada, do tamanho médio que essas cavidades podem chegar e o quanto de interconectividade esses poros vão ter. Essa técnica possibilita produzir *scaffolds* com propriedades ajustadas as necessidades específicas que diferentes aplicações biomédicas demandam [103, 113]. Esse método permite o uso de diversos tipos de partículas, em especial

para a produção de *scaffolds* de HA e β -TCP, permitindo criar estruturas porosas com alta semelhança ao osso natural, ambos largamente estudados por sua biocompatibilidade e bioatividade em aplicações médicas [114,115].

1.6.3 Compactação

A compactação por prensagem é uma das etapas fundamentais no processamento de obtenção de *scaffolds* por metalurgia do pó, permitindo a formação inicial da peça com coesão mecânica suficiente para suportar a manipulação e os tratamentos térmicos posteriores [103,116]. Na Figura 10 é representado um esquema básico de uma matriz metálica para uso no sistema de prensagem uniaxial, esse sistema é composto por três partes principais:

1. **Matriz (molde):** consiste num cilindro oco, dividido em duas partes, onde a mistura de pós é colocada, ele define a forma que o corpo verde que será compactado;
2. **Punção inferior:** acoplada e fixa, consiste numa base metálica que se encaixa na matriz pela parte inferior dela, serve como suporte para a mistura de pós durante a compactação e possui uma pequena elevação para facilitar a ejeção da peça compactado posteriormente;
3. **Punção superior:** uma haste de metal, parte móvel do sistema responsável por aplicar pressão verticalmente no pó dentro da matriz promovendo a compactação do corpo verde [117].

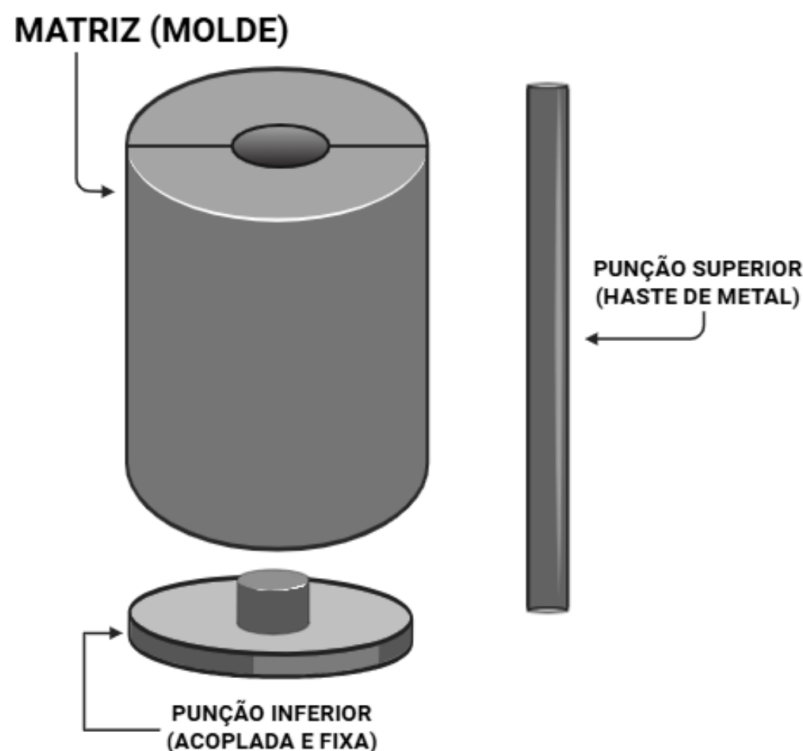


Figura 10: Esquema da montagem do sistema de prensagem uniaxial, composto por matriz metálica, punção inferior fixa e punção superior responsável pela aplicação da pressão [117].

A prensagem uniaxial é uma das técnicas mais utilizadas na conformação de corpos verdes a partir de pós cerâmicos, devido à sua simplicidade, fácil reprodução e baixo custo. Seu uso adequado contribui para a obtenção de um *scaffold* com boa integridade mecânica, porosidade planejada e morfologia adequada para uso na regeneração óssea [118]. A mistura de pós a partir da técnica de *space holder* é colocada nesse molde rígido e comprimido por meio de uma punção que aplica força em uma única direção, essa pressão aplicada geralmente varia de 50 a 300 MPa, em específico para materiais cerâmicos. Durante o processo de prensagem, as partículas de pó sofrem rearranjos e deformações localizadas, o que resulta na redução do volume total e no aumento da coesão entre as partículas [101,102]. A Figura 11 ilustra as etapas deste processo.

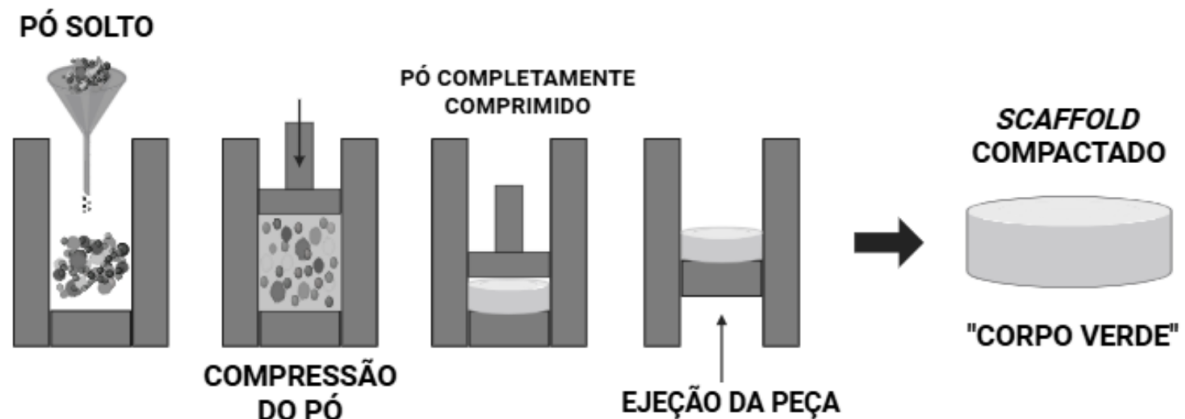


Figura 11: Etapas do processo de prensagem uniaxial: inserção do pó na matriz, compressão mecânica, formação do corpo compactado e ejeção da peça, resultando no *scaffold* ou corpo verde [102].

Pressões muito elevadas podem levar à fratura das partículas ou à deformação indesejada dos *space holders*, o que compromete a porosidade final da estrutura [110]. Por outro lado, pressões insuficientes resultam em um corpo verde com baixa resistência mecânica e compactação desigual, dificultando o manuseio e comprometendo a sinterização subsequente [103]. Assim, a compactação por prensagem, quando devidamente controlada, permite a produção de *scaffolds* cerâmicos com formato definido, boa resistência inicial e porosidade planejada. Essa etapa, combinada à sinterização posterior, resulta em estruturas tridimensionais que aliam desempenho mecânico à funcionalidade biológica, sendo especialmente eficaz na fabricação de *scaffolds* baseados em hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico [118,119].

1.6.4 Sinterização

A sinterização é a etapa térmica após à compactação dos pós, responsável pela consolidação do corpo verde. Esse processo ocorre a temperaturas abaixo do ponto de fusão do material, promovendo o crescimento de pescoços entre os grãos, a redução do tamanho dos poros e o aumento da resistência mecânica da peça [103,120]. Ao contrário de componentes densos, o objetivo na sinterização de *scaffolds* não é a máxima densificação. A densificação parcial é, portanto, intencional, pois permitem obter resistência mecânica moderada com alta porosidade funcional, um equilíbrio entre essas duas propriedades [101,121,122]. A Figura 12 exemplifica o fenômeno de contorno de grão e suas etapas durante a sinterização do material.

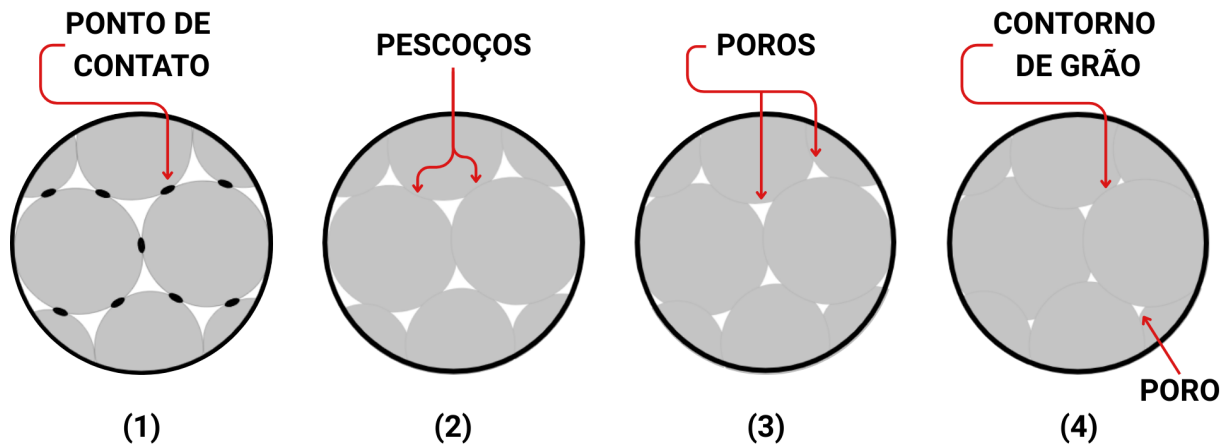


Figura 12: Evolução microestrutural durante a sinterização: (1) formação dos pontos de contato entre partículas; (2) desenvolvimento de pescoços entre os grãos; (3) presença de poros intergranulares; (4) definição dos contornos de grão e consolidação da microestrutura [102].

No caso de biomateriais cerâmicos como a HA e o β -TCP, o controle da temperatura de sinterização é fundamental. Além disso, é necessário equilibrar a densificação com a preservação da porosidade, especialmente em *scaffolds*, nos quais a presença de poros interconectados é um requisito biológico essencial [123]. A sinterização de *scaffolds* cerâmicos, como os de HA e β -TCP, normalmente é realizada entre 1000 °C e 1250 °C, dependendo da composição, morfologia dos pós, agentes porogênicos utilizados e atmosfera (normalmente ar) [121, 124]. Temperaturas acima de 1300 °C podem causar decomposição de fases ou a formação de produtos indesejados [125].

Materiais e Métodos

Este trabalho teve como objetivo produzir, por meio das técnicas de metalurgia do pó, e caracterizar *scaffolds* de fosfato de cálcio com e sem adição de Nb_2O_5 . Os fosfatos de cálcio naturais foram obtidos por meio dos processos de tratamento térmico e moagem de ossos de peixe de tilápia. Para melhor entendimento das etapas deste trabalho foi organizado um fluxograma (Figura 13) com as amostras e técnicas experimentais as quais foram submetidas, e serão explicadas ao longo deste capítulo.

- **Etapa I - Produção e caracterização da matéria prima precursora**

Primeiramente, foi realizada a produção dos materiais precursores de origem natural de ossos de peixe: (i) hidroxiapatita (HAp) e (ii) cerâmicas bifásicas naturais de hidroxiapatita e β -TCP com duas proporções diferentes entre as duas fases - BCP19 e BCP30 e dos comerciais: (iii) hidroxiapatita sintética (HAs) e (iv) Nb_2O_5 cedido pela CBMM. Os precursores foram calcinados e moídos (em pó), sendo a temperatura de calcinação de 900 °C para HAp, BCP19, BCP34 e HAs, e 1150 °C para o Nb_2O_5 . Nos precursores de origem natural há um processo intermediário entre a calcinação e moagem, a seleção visual dos ossos, objetivando a remoção dos ossos de coloração escura. Os materiais foram caracterizados por diferentes técnicas, como pode ser observado na Figura 13.

- **Etapa II - Produção e caracterização dos *scaffolds* de CaPs: HAp, BCP15, BCP30 e HAs**

A partir dos materiais precursores moídos e calcinados foram produzidos os *scaffolds* de CaPs, utilizando a lactose como agente porogênico, e temperatura de sinterização à 1070 °C. Os *scaffolds*, na forma de pó, foram caracterizados por diferentes técnicas, como pode ser observado na Figura 13.

- **Etapa III - Produção e caracterização dos *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5**

A partir dos materiais precursores moídos e calcinados foram produzidos os *scaffolds* de CaPs com adição de Nb_2O_5 , na proporção de 1:1 (50:50%, em volume), também utilizando a lactose como agente porogênico e temperatura de sinterização à 1070 °C. Os *scaffolds*, na forma de pó, foram caracterizados por diferentes técnicas, como pode ser observado na Figura 13.

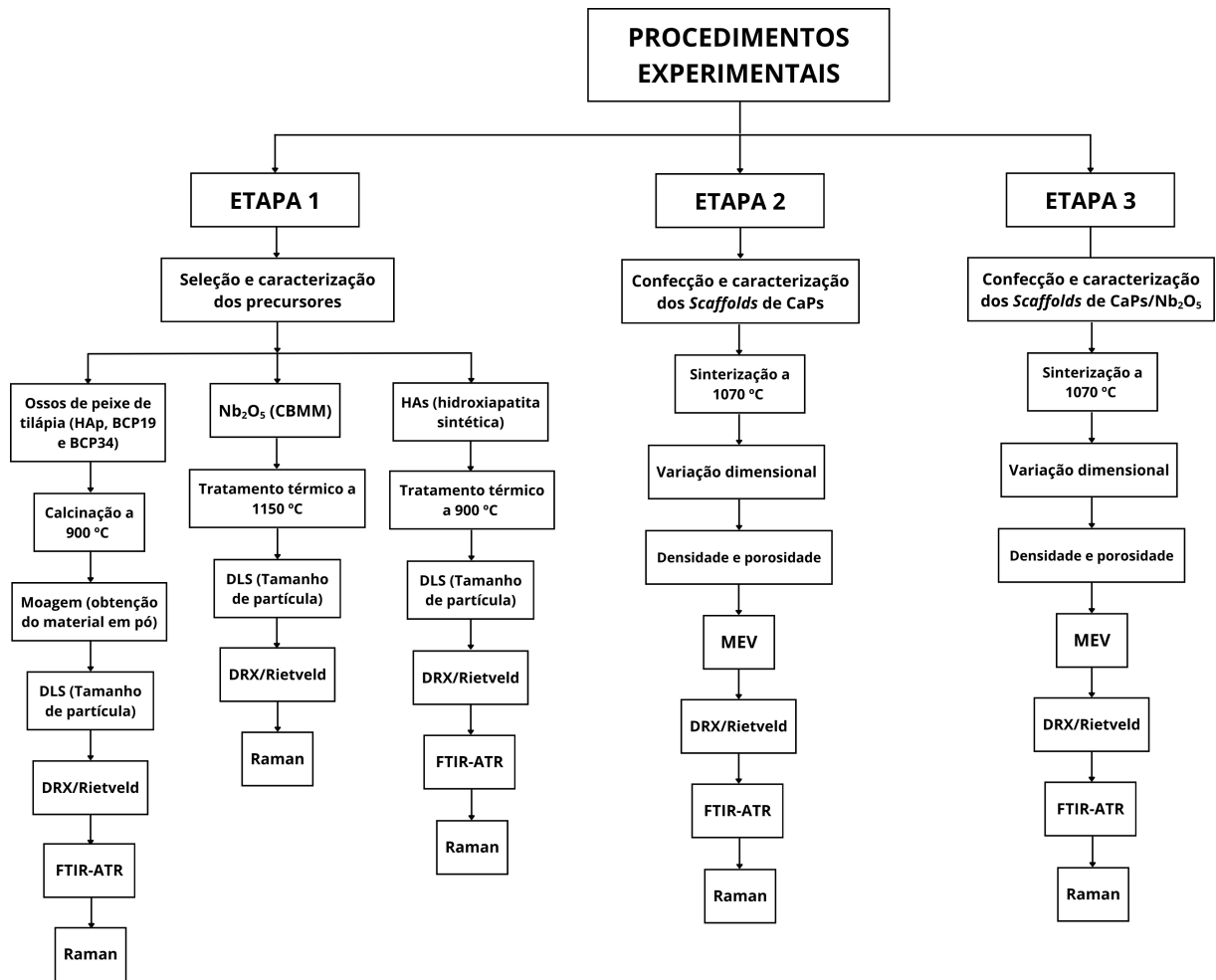


Figura 13: Fluxograma indicativo dos procedimentos experimentais por diferentes técnicas desenvolvidos no trabalho.

2.1 Materiais precursores

Os fosfatos de cálcio (CaPs) de hidroxiapatita (HAp - 100% HA), e os fosfatos de cálcio bifásicos BCP19 (81% HA e 19% β -TCP) e BCP34 (66% HA e 34% β -TCP) foram produzidos a partir de ossos de tilápia da espécie (*Oreochromis niloticus*) com idade de 120 e 105 dias, respectivamente, sendo os BCPs com maior concentração de β -TCP provenientes de peixes de menor idade [3,10]. Os peixes com idade de 390 dias foram utilizados para a obtenção da amostra HAp. Os peixes foram fornecidos pelo Departamento de Zootecnia (DZO) da Universidade Estadual de Maringá (UEM), Centro de Piscicultura, localizado no Distrito de Floriano/Maringá. Os peixes foram criados em tanques rede na Estação Rio do Corvo do Campus Regional Diamante do Norte-DZO/UEM. Após fazer a limpeza e secagem, os ossos foram calcinados a 900 °C por 8 horas, e então moídos no moinho de alta energia (Retsch, PM-100) por 4 horas a 300 rpm, utilizando vaso de moagem e esferas de zircônia com razão, em massa, (esferas/pó da amostra) de 6:1. O pó de hidroxiapatita comercial (HAs) com pureza da ordem de 98% (Sigma Aldrich) foi utilizado como material de controle. O pentóxido de nióbio (Nb₂O₅) na forma de pó, doado pela Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM), foi submetido a tratamento térmico em um forno mufla (Quimes, Q818M24) a 1150 °C por 2 horas, em atmosfera de ar, para eliminar as formas polimórficas, restando apenas a fase monoclinica do grupo espacial P2/m. Na sequência, o material foi moído no moinho de alta energia

por 1,5 horas a 300 rpm, utilizando um vaso de moagem e esferas de zircônia com razão, em massa, (esferas/pó da amostra) de 6:1 [58,96].

2.2 *Scaffolds* produzidos de CaPs/ Nb_2O_5

Os *scaffolds* foram produzidos de acordo com as técnicas da metalurgia do pó misturando os pós de HAs, HAp, BCP19 e BCP34 com Nb_2O_5 na proporção de 1:1, sendo 50:50% em volume. Os *scaffolds* serão denominados de HAs, HAp e os de BCP19 e BCP34, passarão a ser denominados como BCP15 e BCP30, respectivamente. O motivo dessa mudança se deu pela amostra BCP19 apresentar uma redução da fase β -TCP de 19% para ~15%, enquanto a amostra BCP34 de 34% para ~30%. O mesmo passa a valer para os *scaffolds* com adição de pentóxido de nióbio, sendo nominados de HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO, respectivamente [58,126]. Após a homogeneização da mistura, o material foi moído no moinho de alta energia por 3 horas a 300 rpm, utilizando um vaso de moagem e esferas de zircônia com razão, em massa, (esferas/pó da amostra) de 6:1.

Para a produção dos arca-bouços porosos, ou *scaffolds*, foi utilizado o método *space holder* no qual se adiciona partículas temporárias (formadoras de poros) ao pó da matriz cerâmica, removidas na etapa de sinterização [110]. Neste trabalho utilizou-se aglomerados esféricos de lactose monohidratada como partículas temporárias. Os pós de HAs, HAp, BCP19, BCP34, HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO foram misturados às partículas temporárias, homogeneizados por vibração mecânica e posteriormente conformados a 105 MPa em uma matriz metálica numa prensa uniaxial (Panambra, TEM-POPRESS 2) em forma de discos com, aproximadamente, 7,8 mm de diâmetro e 2,5 mm de espessura. Na sequência, as amostras foram sinterizadas em um forno tubular a 1070 °C por 2 horas em atmosfera de ar. Após a sinterização, as amostras foram lixadas com lixa de grão 400 até atingir uma espessura de 2 mm. As amostras sinterizadas foram lavadas em banho ultrassônico por 10 min em acetona, álcool e água deionizada, respectivamente, para eliminar resíduos da sinterização e do lixamento. Os *scaffolds* foram secos em mufla a 80 °C por 24 horas e mantidos em dessecador até a realização das medidas [58].

As etapas de processamento dos materiais foram realizadas no Laboratório de Materiais Metálicos e Biomateriais do Departamento de Física DFI/UEM. A Figura 14 apresenta parte dos *scaffolds* produzidos neste trabalho.

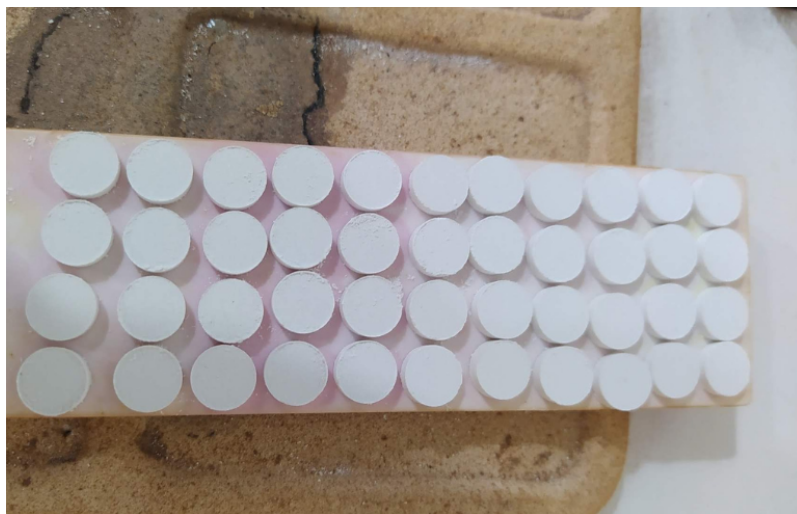


Figura 14: Etapa do processamento: pastilhas (discos) de fosfatos de cálcio (CaP) e compósitos CaP/ Nb_2O_5 obtidas por mistura de pós e prensagem uniaxial.

2.3 Caracterização dos materiais na forma de pó

A caracterização físico-química dos materiais precursores, na forma de pó, foi realizada por difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho via transformada de Fourier com acessório de refletância total atenuada (FTIR-ATR) e Raman. A morfologia e a distribuição de tamanho de partículas foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e espalhamento dinâmico de luz (DLS), respectivamente. Para as análises de DRX e FTIR-ATR os *scaffolds* foram triturados em almofariz de ágata e, em seguida, submetidos a moagem no moinho de alta energia por 30 minutos a 300 rpm, utilizando-se um vaso de moagem e esferas de zircônia, com uma razão de massa de bola para pó de 6:1.

2.3.1 Difração de raios X e refinamento por Rietveld

As caracterizações estruturais à temperatura ambiente foram realizadas por DRX utilizando um difratômetro (Shimadzu, XRD 7000) com fonte de radiação Cu K α ($\lambda = 0,15418$ nm) disponível no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP/UEM). Os dados foram coletados em 40 kV, 30 mA no intervalo (2θ) entre 10 e 80°, com uma taxa de varredura de 0,5° (2θ)/min, e incremento angular de 0,0104°. As fases foram identificadas por comparação com os padrões JCPDS (*Joint Committee Series of Powder Diffraction Standards*) e ICSD (*Database of Inorganic Crystal Structure*). O refinamento estrutural pelo método Rietveld foi usado para quantificar as fases cristalinas (fração de massa - wt%) presentes nos materiais precursores e nos materiais sinterizados.

2.3.2 Espectroscopia no Infravermelho

A espectroscopia FTIR-ATR foi realizada para investigar os grupos químicos das bio-cerâmicas. Os espectros foram obtidos em um espectrômetro de FTIR (Bruker, Vertex 70 V) acoplado ao acessório de ATR (Bruker, Platinum) equipado com cristal de diamante, disponível na infraestrutura do COMCAP-UEM. Cada espectro foi coletado entre 4000 e 400 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹ sendo uma média de 128 varreduras.

2.3.3 Espectroscopia Raman

Os grupos químicos presentes nos materiais também foram investigados por espectroscopia Raman, utilizando um espectrômetro Raman confocal (Bruker, Senterra) configurado com laser de excitação em 532 nm e potência nominal de 20 mW focado na superfície da amostra por uma objetiva de ampliação de 20x disponível na infraestrutura do COMCAP-UEM. Cada espectro tem uma média de 20 varreduras, no intervalo espectral de 4000 a 400 cm⁻¹ com resolução de 4 cm⁻¹.

2.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

A morfologia dos pós precursores e a porosidade na superfície dos *scaffolds* foi avaliada por MEV por meio de um microscópio de varredura eletrônica (FEI/Thermo Fisher Scientific, Quanta 250). As amostras foram revestidas com um filme condutor de ouro

por pulverização em metalizador (Shimadzu, IC-50 Ion Coater) disponível no COMCAP-UEM.

2.3.5 Distribuição de tamanho de partícula

A análise da distribuição de tamanho de partícula (% de volume) foi realizada em um analisador de partículas Dynamic Light Scattering - DLS (Malvern Instruments Ltd.) disponível no COMCAP-UEM. Para a análise, as partículas de pó de HAp, BCP19, BCP34 e NB_2O_5 , foram submetidas a um banho ultrassônico em acetona por 5 min para minimizar os efeitos de agregação de partículas.

2.3.6 Variação dimensional

A variação dimensional foi obtida por comparação entre a medida do diâmetro da amostra verde (antes da sinterização) e a medida do diâmetro após a sinterização. As medidas foram realizadas com um paquímetro digital (MTX, 316119) com precisão de $\pm 0,02$ mm. O valor da variação dimensional corresponde ao valor médio de três amostras. A variação dimensional foi calculada pela Equação 1:

$$V_D(\%) = \left(\frac{L_F - L_I}{L_I} \right) \times 100\% \quad (1)$$

Sendo:

- V_D é a variação dimensional percentual;
- L_I é a dimensão inicial (diâmetro da peça a verde);
- L_F é a dimensão final (diâmetro da peça sinterizada).

2.3.7 Densidade e porosidade aberta

A densidade e porosidade dos *scaffolds* foram determinados através do método de imersão baseado no princípio de Arquimedes [127]. Os *scaffolds* foram secos por 24 horas em estufa a 80 °C e em seguida foram medidas as massas em uma balança digital (Shimadzu, AUW220D) utilizando o kit de acessórios *Specific Gravity Measurement* que acompanha a balança. Primeiramente, os *scaffolds* foram medidos secos para obter o m_s (massa sinterizada), e em seguida foram acomodados e presos em uma bandeja com cavidades individuais e posteriormente colocado num recipiente dentro do interior de um dessecador no qual se fez vácuo a $\sim 10^{-2}$ Torr por 2 horas. O objetivo do sistema é a retirada do ar que está dentro dos poros abertos nas pastilhas, pois se o *scaffold* for simplesmente imerso sob o líquido à pressão atmosférica, a pressão interna do ar nos poros pode dificultar o preenchimento deles pelo líquido impedindo a precisão da medida. Sendo assim, em seguida, a bandeja foi inundada com água deionizada através do funil acoplado no topo do dessecador, para depois ser retirado o recipiente com água, ficando 30 minutos em temperatura ambiente de 21 °C no dia da realização do experimento. Podemos observar essa configuração experimental na Figura 15. Após este tempo, as medidas das massas dos *scaffolds* foram realizadas para a massa impregnada (m_i) e a massa empuxo (m_e) utilizando uma cesta metálica presente no acessório que acompanha a balança. Os

valores correspondem à média das medidas de três amostras e temos que a densidade foi obtida a partir da Equação 2:

$$\rho_s = \left(\frac{m_s}{m_i - m_e} \right) \rho_{\text{água}} \quad (2)$$

Sendo:

- ρ_s : densidade da amostra sinterizada;
- $\rho_{\text{água}}$: densidade da água na temperatura em que a medida foi realizada;
- m_s : massa da amostra sinterizada e seca;
- m_i : massa da amostra impregnada com água;
- m_e : massa da amostra sob o empuxo da água (suspensa).

A porosidade aberta dos *scaffolds* foi determinada a partir dos dados obtidos das massas de m_s , m_i e m_e . Os valores correspondem à média das medidas de três amostras e a porosidade aberta $\Upsilon(\%)$ em percentual de volume foi calculada pela Equação 3:

$$\Upsilon(\%) = \left(\frac{m_i - m_s}{m_i - m_e} \right) \times 100 \quad (3)$$

Sendo:

- $\Upsilon(\%)$ é a porosidade aberta e percentual de volume;
- m_s é a massa da amostra sinterizada e seca;
- m_i é a massa da amostra impregnada com água;
- m_e é a massa da amostra sob o empuxo da água (suspensa).



Figura 15: Aparato experimental para imersão e impregnação das amostras com água para medidas de densidade e porosidade [58].

Resultados e Discussão

3.1 Tamanho médio de partículas do pó dos precursores HAs, HAp, BCP19, BCP34 e Nb₂O₅

O tamanho de partícula do pó de HAs é indicado pelo fabricante sendo menor que 200 nm. Na Figura 16 são apresentados os resultados da distribuição de tamanho das partículas do pó de HAp, BCP19, BCP34 e Nb₂O₅. O D50, o diâmetro mediano da distribuição de tamanho de partículas, obtido por meio do ajuste matemático da função LogNormal [128], é de 1207, 821, 834 e 457 nm para os pós de HAp, BCP19, BCP34 e Nb₂O₅, respectivamente. A Equação 4 mostra a função LogNormal utilizada na análise do tamanho de partícula:

$$y(x) = y_0 + \frac{A}{\sqrt{2\pi \cdot \omega \cdot x}} \cdot \exp\left(-\frac{(\ln(\frac{x}{x_c}))^2}{2\omega^2}\right) \quad (4)$$

Sendo:

- y_0 : *offset* vertical;
- A : amplitude;
- ω : desvio padrão do logaritmo dos tamanhos;
- x_c : diâmetro mediano da distribuição de tamanho de partículas.

Assim, o tamanho médio de partícula da HAs e de Nb₂O₅ são menores que os da HAp, BCP19 e BCP34, o que está relacionado com a característica de aglomeração/agregação dos pós associado ao método de produção [34].

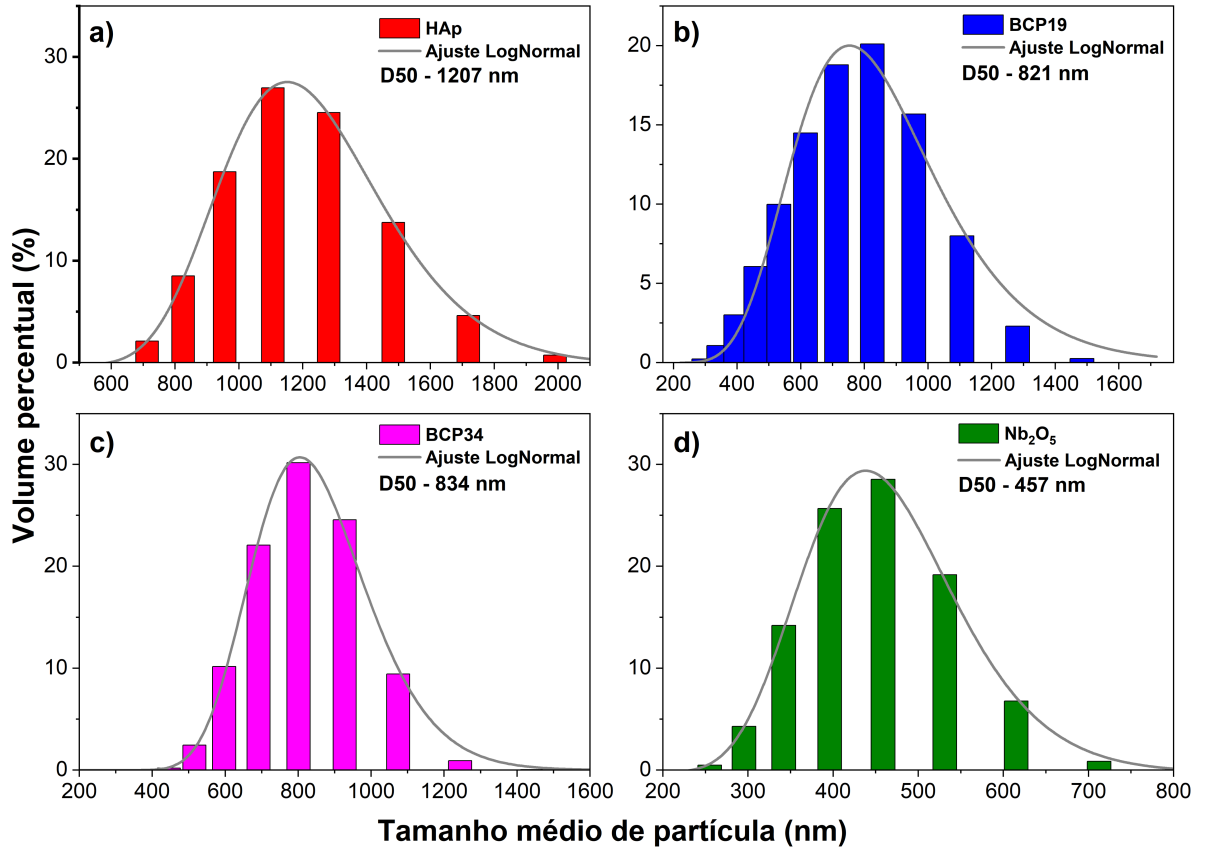


Figura 16: Distribuição de tamanho de partículas obtidas por *DLS* para as amostras (a) HAp, (b) BCP19, (c) BCP34 e (d) Nb₂O₅. A linha contínua é o ajuste matemático com a função LogNormal.

3.2 Análise das propriedades físicas dos *scaffolds* de CaPs e CaPs/Nb₂O₅: Variação Dimensional ($V_D\%$) e Porosidade Aberta ($\Upsilon\%$)

As características físicas, tais como variação dimensional (alterações de tamanho), densidade e porosidade de um material sinterizado, oferecem a capacidade de antecipar potenciais aplicações desse material. O conhecimento destas propriedades possibilita estimar a precisão dimensional com a qual se deve produzir uma série de componentes via metalurgia do pó.

3.2.1 Variação dimensional V_D

Variações no diâmetro entre as amostras após a compactação e a sinterização derivam, principalmente, das mudanças de dimensões (contração e expansão). Isso ocorre devido às interações entre a substância durante a sinterização e a atmosfera circundante, bem como a possíveis reações internas na substância, as quais podem resultar na formação de gases [103]. As amostras foram compactadas em pastilhas circulares com diâmetro inicial verde (D_v). A variação dimensional foi determinada pela diferença entre os diâmetros do estado compactado inicial D_v , padronizado em $0,790 \pm 0,002$ cm e obtido após compactação uniaxial a 35 Mpa, e estado final sinterizado (D_s). A matriz de confecção das pastilhas, com diâmetro compactado de 0,790 cm foi escolhida em razão de ser uma medida já

utilizada em trabalhos anteriores do grupo. Os diâmetros foram aferidos com paquímetro de precisão de 0,02 mm.

Todos os *scaffolds* de HAs, HAp, BCP15 e BCP30 e os *scaffolds* de HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO foram sinterizados a temperatura de 1070 °C por 2 h. A técnica *space holder* foi usada para a produção dos *scaffolds*, utilizando aglomerados esféricos de lactose monohidratada como agente espaçador, com tamanho de partícula entre (75-300 μm), a qual evaporou completamente durante a sinterização das pastilhas, agindo como um formador dos poros [110]. A lactose monohidratada sofre decomposição térmica entre 300 °C e 500 °C, com queima completa em torno de 550 °C, permitindo a formação de poros nos *scaffolds* durante a etapa de calcinação em atmosfera oxidante [58, 129].

O diâmetro das peças após sinterização e a variação dimensional V_D estão dispostos na Tabela 1. O valor da $V_D\%$ corresponde a diferença entre o valor D_v e o valor médio dos diâmetros D_s ($\overline{D_s}$) ($n = 3$).

Tabela 1: Valores dos diâmetros das amostras de *scaffolds* pós sinterização (1070 °C) e média da Variação Dimensional ($V_D\%$).

Amostras	$(D_s \pm 0,002) \text{ cm}$			$V_D(\%)$
	1	2	3	
HAs	0,750	0,750	0,745	- 5,3 $\pm$ 0,3
HAp	0,760	0,755	0,765	- 3,8 $\pm$ 0,4
BCP15	0,775	0,775	0,780	- 1,7 $\pm$ 0,3
BCP30	0,770	0,770	0,765	- 2,7 $\pm$ 0,3
HAsNbO	0,760	0,760	0,770	- 3,4 $\pm$ 0,5
HApNbO	0,765	0,765	0,765	- 3,2 $\pm$ 0,2
BCP15NbO	0,795	0,800	0,800	+ 1,1 $\pm$ 0,3
BCP30NbO	0,815	0,800	0,810	+ 2,3 $\pm$ 0,6

$$V_D\% = \left(\left(\frac{\overline{D_s}}{D_v} \right) - 1 \right) \times 100\%; \quad \overline{D_s} = \text{média dos valores de } D_s$$

Observa-se contração para os materiais HAs (5,3%), HAp (3,8%), BCP15 (1,7%), BCP30 (2,7%), HAsNbO (3,4%) e HApNbO (3,2%) em relação ao diâmetro pré sinterização. Já nos materiais BCP15NbO e BCP30NbO houve uma expansão de 1,1% e 2,3%, respectivamente. Em relação às mudanças dimensionais, várias causas podem ser responsáveis, uma delas é a contração/expansão no momento da eliminação de poros [130].

A contração maior na hidroxiapatita sintética HAs pode ocorrer devido à característica mais amorfa em comparação com a hidroxiapatita natural HAp. Além do comportamento mais amorfo, o tamanho de partícula também é expressivamente menor comparando, então durante o processo de sinterização há a cristalização dessa HAs, tornando o material mais organizado, sendo assim densificando mais e sofrendo maior contração. Já a HAp natural costuma ser mais cristalina e com partículas maiores após a calcinação, o que reduz a retração, mas ainda ocorrendo a mesma [131, 132].

De um modo geral, observa-se a contração dos *scaffolds* de composição: HAs, HAp, BCP15, BCP30, HAsNbO e HApNbO. Esse comportamento está associado à densificação do material, a qual produz uma redução do grau de porosidade e no tamanho dos poros [34, 133], no caso dos *scaffolds* HAsNbO e HApNbO também está relacionado a adição de Nb_2O_5 , uma vez que este tem maior densidade que o fosfato de cálcio. Entretanto, para as composições de BCP15NbO e BCP30NbO ocorre uma expansão, quando o

esperado seria uma contração devido à maior densidade do Nb_2O_5 . A análise do comportamento dimensional dos *scaffolds* a partir de ossos de peixe evidenciou que, enquanto as amostras de BCP apresentaram contração moderada e a HAp pura exibiu retração mais acentuada, a adição de Nb_2O_5 modificou de forma significativa esse quadro, levando à expansão nos compósitos BCP15NbO e BCP30NbO. Esse fenômeno pode ser explicado pela competição entre a retração decorrente da sinterização e a expansão associada a reações sólido-sólido entre o β -TCP e o Nb_2O_5 , que possivelmente resultam na formação de fases como CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ (a serem confirmadas pelas medidas de DRX). Tais transformações são acompanhadas de variações positivas de volume molar, caracterizando uma expansão química que, somada ao efeito inibidor do Nb sobre a difusão em contornos de grão, sobrepõe-se à densificação típica do processo. O aumento da expansão com o teor de β -TCP reforça essa interpretação, já que o tricálcio fosfato é a fase mais reativa frente ao Nb_2O_5 na faixa de sinterização empregada. Além disso, deve-se considerar que o próprio Nb_2O_5 apresenta coeficientes de expansão térmica positivos e anisotrópicos, o que pode contribuir para o aumento dimensional quando incorporado à matriz cerâmica [134]. Em contraste, estudos de BCP sem adição de NbO, como o de Yetmez et al. demonstram comportamento de retração consistente com o aumento da temperatura de sinterização e transformação de fases (densificação, crescimento de grão) para misturas HA/ β -TCP ($\sim 30/70$), sem evidência de expansão líquida [11].

Em decorrência do processo de sinterização, é frequente observar alterações nas dimensões em relação à matriz original. O peso do material compactado também pode sofrer modificações, normalmente diminuindo (contração). Isso ocorre devido a interações entre a substância durante a sinterização e a atmosfera circundante, bem como a possíveis reações internas na substância, as quais podem resultar na formação de gases [34].

3.2.2 Porosidade Aberta ($\Upsilon\%$)

Os *scaffolds* são elementos porosos cuja estrutura garante a sustentação mecânica para o desenvolvimento celular permitindo o transporte de nutrientes, fatores de crescimento, entre outros. Além dos requisitos de biocompatibilidade, bioatividade e biodegradação, os *scaffolds* devem possuir alta porosidade, poros interconectados com dimensões apropriadas entre 50-500 μm para permitir a difusão das células [20].

Com os dados da densidade dos materiais sinterizados, podemos avaliar a porosidade das amostras. Na Figura 17 é apresentado o comportamento da $\Upsilon\%$ média dos *scaffolds* sinterizados na temperatura de 1070 $^\circ\text{C}$ por 2 h em atmosfera de ar, observa-se para os CaPs HAp, BCP15, BCP30 uma porosidade aberta maior que 60%, enquanto para o controle HAs a porosidade foi da ordem 44%. Com relação aos *scaffolds* produzidos HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO observou-se que a adição do pentóxido de nióbio produziu, de forma geral, uma diminuição da porosidade em relação aos *scaffolds* de HAp, BCP15 e BCP30. No HAsNbO, houve um pequeno aumento em relação à HAs, entretanto este aumento está dentro do erro experimental esperado.

A análise de porosidade e densidade revelou comportamentos distintos entre a HAs, HAp e os BCPs. A HAs apresentou menor porosidade (44,2%) e maior densidade (2,17 g.cm^{-3}), condizente com sua origem sintética e microestrutura mais compacta. Já a HAp derivada de osso de peixe mostrou elevada porosidade (63,5%) e baixa densidade (1,00 g.cm^{-3}), característica esperada de materiais biogênicos, enquanto os BCPs exibiram valores intermediários (61,3% e 1,19 g.cm^{-3} para BCP15; 64,9% e 1,07 g.cm^{-3} para BCP30). Com a adição de Nb_2O_5 , observou-se tendência geral de redução da porosidade e aumento

da densidade, como evidenciado para HApNbO (52,5% e $1,84 \text{ g.cm}^{-3}$), BCP15NbO (55,5% e $1,71 \text{ g.cm}^{-3}$) e BCP30NbO (53,9% e $1,76 \text{ g.cm}^{-3}$), indicando efeito densificante associado à formação das fases CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$. O comportamento da HAsNbO destoa dessa tendência, com densidade reduzida ($1,47 \text{ g.cm}^{-3}$) e porosidade inalterada em relação à HAs pura, sugerindo ocorrência de heterogeneidades microestruturais ou microtrincas durante a reação com o Nb_2O_5 . Defeitos cristalinos, como vacâncias aniônicas/catiônicas, gerados durante a incorporação do Nb podem reduzir o fator de empacotamento atômico efetivo, resultando em menor densidade aparente [9, 135].

Além de microtrincas e defeitos cristalinos, a baixa densidade da HAsNbO pode estar ligada à morfologia dos pós, tamanho de partículas, segregação incompleta do Nb_2O_5 , alteração da cristalinidade, formação de fases secundárias menos densas ou a existência de barreiras que dificultam a difusão durante o processo de sinterização [105, 136].

Ao relacionar esses dados com a variação dimensional, verifica-se que a expansão observada nos compósitos BCP com Nb_2O_5 não implicou em aumento da porosidade; ao contrário, tais amostras apresentaram simultaneamente expansão linear e aumento da densidade aparente, evidenciando que o crescimento dimensional foi resultado de reações químicas, como a possível formação de CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ (a serem confirmadas pelas medidas de DRX), acompanhadas de fechamento de poros finos, o que acontece devido à atuação preferencial do Nb_2O_5 em sistemas mais porosos, o que também promove uma maior coesão da matriz [10].

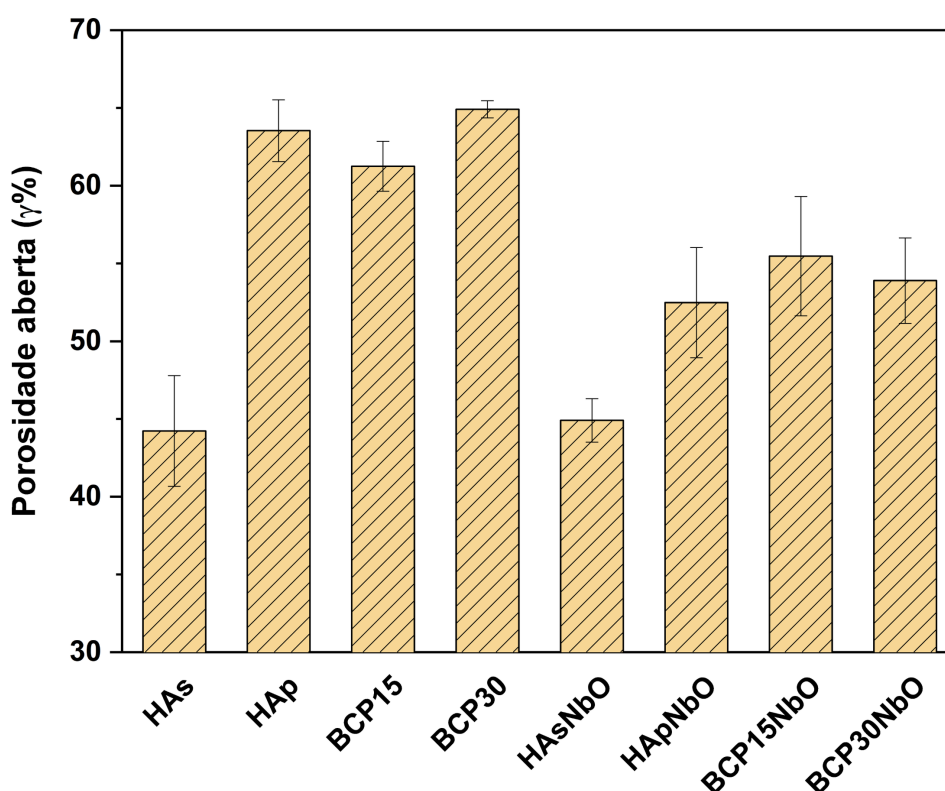


Figura 17: Porosidade aberta $\Upsilon\%$ das amostras de *scaffolds* HAs, HAp, BCP15, BCP30, HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO sinterizadas em 1070°C por 2 h em atmosfera de ar.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores médios ($n = 3$) obtidos para porosidade aberta e para a densidade dos *scaffolds* produzidos, como também o desvio padrão para cada amostra.

Tabela 2: Média dos valores da porosidade aberta $\Upsilon\%$ e da densidade ρ (g/cm³) dos *scaffolds* sinterizados a 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar ($n = 3$).

Amostras	Υ (%)	ρ (g/cm ³)	Amostras	Υ (%)	ρ (g/cm ³)
HAs	44,2 $\pm$ 3,6	2,17 $\pm$ 0,19	HAsNbO	44,9 $\pm$ 1,4	1,47 $\pm$ 0,14
HAp	63,5 $\pm$ 2,0	1,00 $\pm$ 0,14	HApNbO	52,5 $\pm$ 3,6	1,84 $\pm$ 0,06
BCP15	61,3 $\pm$ 1,6	1,19 $\pm$ 0,03	BCP15NbO	55,5 $\pm$ 3,8	1,71 $\pm$ 0,12
BCP30	64,9 $\pm$ 0,6	1,07 $\pm$ 0,07	BCP30NbO	53,9 $\pm$ 2,8	1,76 $\pm$ 0,08

3.3 Imagens por Microscopia de Varredura Eletrônica dos *scaffolds* CaPs e CaPs/Nb₂O₅

As imagens de microscopia, obtidas por meio do MEV, da superfície dos *scaffolds* estão apresentadas na Figura 18. Para melhor visualização dos poros formados no processo de sinterização foi utilizada uma lixa de carbetto de silício de 400 de gramatura, removendo a camada superficial.

A análise por MEV confirmou a presença de macroporos interconectados, originados da eliminação do agente formador de poros durante a sinterização, com dimensões entre 50 e 350 μm , faixa considerada ideal para *scaffolds* bioativos segundo Hench et al., por favorecer a penetração celular, a vascularização e a neoformação óssea [20,137]. De forma geral, observou-se que a adição de Nb₂O₅ modulou o tamanho dos poros de acordo com a composição de cada amostra. Enquanto na HAs (Figura 18-a) a microporosidade foi ligeiramente reduzida com a dopagem (Figura 18-b) (111-212 μm para 108-138 μm), na HAp (Figura 18-c e 18-d) ocorreu o efeito inverso, com aumento das dimensões médias dos poros (120-179 μm para 148-211 μm). Nos BCPs, a presença de Nb₂O₅ levou a um aumento significativo do tamanho de poros em ambas as composições, especialmente na BCP15NbO (Figura 18-e e 18-f) (89-138 μm para 151-176 μm), enquanto a BCP30 (Figura 18-g e 18-h) e sua variante dopada exibiram os maiores macroporos dentre todas as amostras (183-248 μm e 179-254 μm , respectivamente). Esses resultados indicam que o Nb₂O₅, ao interagir com as fases fosfatadas, influencia não apenas a densificação e a variação dimensional, mas também a arquitetura porosa, favorecendo a manutenção de macroporosidade interconectada compatível com aplicações em regeneração óssea.

A diferença observada no efeito da adição de Nb₂O₅ sobre o tamanho dos poros pode ser atribuída às características estruturais iniciais e à reatividade de cada amostra. Na amostra HAs, que já apresentava microestrutura mais densa e menor porosidade, o Nb₂O₅ atuou predominantemente como agente redutor da mobilidade de contornos de grão e favorecendo uma densificação localizada, o que resultou em poros ligeiramente menores em relação à HAs. Em contraste, na HAp e nos *scaffolds* bifásicos (BCPs), mais porosos e estruturalmente abertos, a interação entre Nb₂O₅ e β -TCP levou à formação de fases CaNb₂O₆ e PNb₉O₂₅, acompanhada de expansão química local. Esse processo promoveu tensões internas que alargaram os poros preexistentes, explicando o aumento de suas dimensões médias. O efeito foi mais pronunciado nos BCPs, devido à maior reatividade do β -TCP frente ao Nb₂O₅, reforçando a relação entre composição de fases, formação de produtos de reação e modulação da arquitetura porosa final.

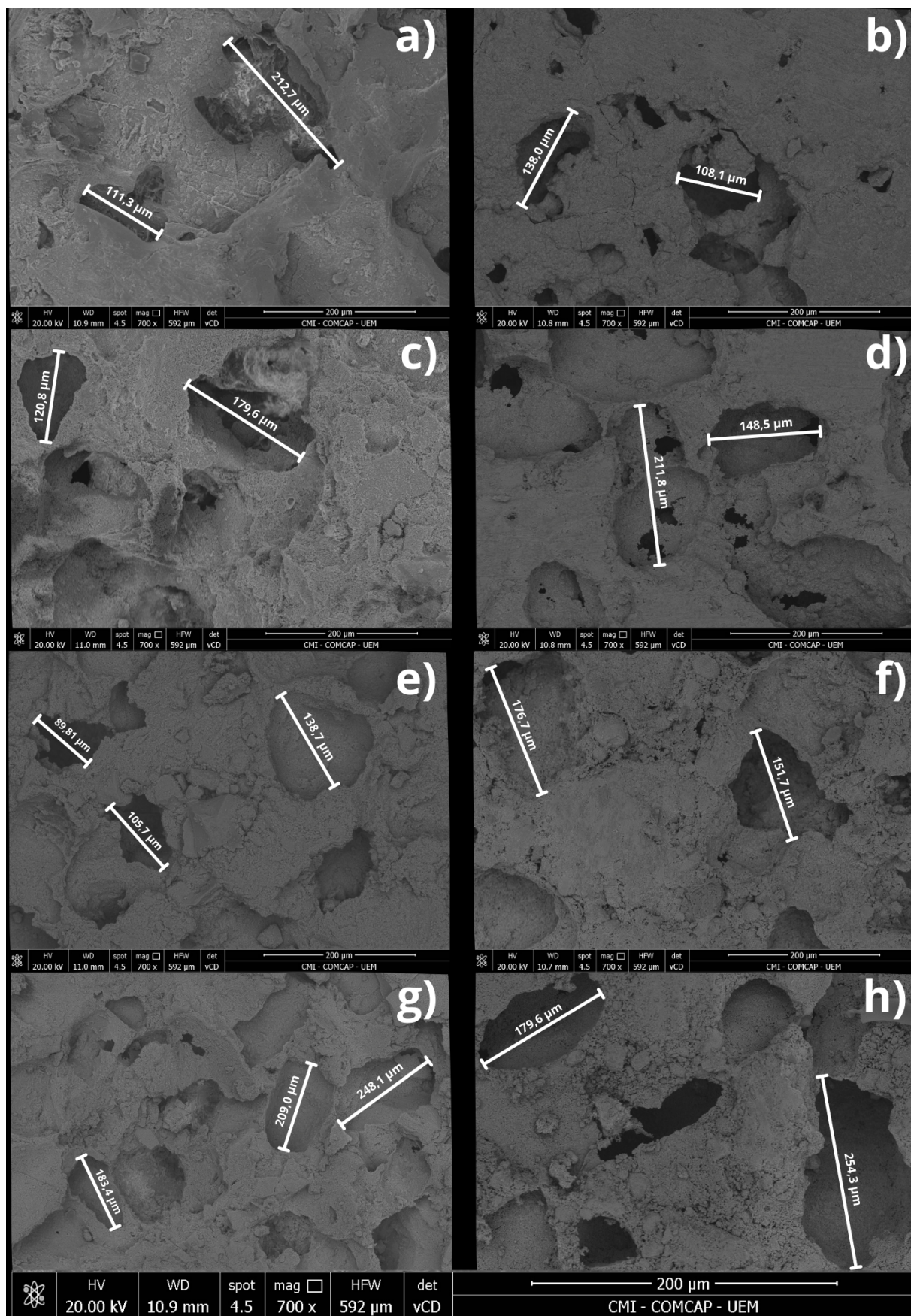


Figura 18: Micrografias da superfície dos *scaffolds* sinterizados a 1070 °C por 2 h: (a) HAs; (b) HAsNbO₅; (c) HAp; (d) HApNbO₅; (e) BCP15; (f) BCP15NbO₅; (g) BCP30 e (h) BCP30NbO₅.

3.4 Análise por difração de raios X (DRX)

A análise por DRX foi utilizada para a caracterização, identificando as fases cristalinas presentes no pó dos precursores e *scaffolds*. Foi realizado o DRX nas amostras em pó dos materiais precursores: HAs, HAp, BCP19, BCP34 e o Nb_2O_5 . No qual os materiais precursores não foram submetidos a tratamento térmico, exceto o Nb_2O_5 , tratado à 1150 °C por 2 h, para remoção das formas polimórficas, restando somente a fase monoclinica. As amostras de HAp, BCP19 e BCP34 foram calcinadas em 900 °C por 8 h e a HAs foi utilizada como recebido. Já os *scaffolds* foram sinterizados à 1070 °C durante 2 h, em etapa de manufatura, conforme mencionado em materiais e métodos. Sendo possível identificar as fases presentes nos *scaffolds* feitos a partir de HAs, HAp, BCP19 e BCP34, a técnica também foi usada para acompanhar a formação de novas fases nos *scaffolds* de HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO.

3.4.1 Materiais precursores HAs, HAp, BCP19, BCP34 e Nb_2O_5

Os padrões de DRX dos precursores HAs, HAp, BCP19, BCP34 e Nb_2O_5 , estão apresentados na Figura 19. A identificação das fases foi realizada a partir do banco de dados JCPDS usando o programa X'Pert High Score. Os difratogramas das amostras HAs e HAp apresentam picos correspondentes ao padrão da hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), de sistema hexagonal e grupo espacial P63/m (JCPDS 09-0432) [138]. Os difratogramas correspondentes aos BCPs (BCP19 e BCP34) foram indexados com as fases de hidroxiapatita (JCPDS 09-0432) e a fase β -fosfato tricálcico ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), conhecido como β -TCP, com estrutura romboédrica de grupo espacial R3c (JCPDS 09-0169) [34]. O padrão da fase de pentóxido de nióbio (Nb_2O_5), foi indexado com grupo espacial P2m (JCPDS 37-1468) [10]. Os picos da fase da hidroxiapatita foram identificados com o símbolo ($\blacklozenge$) e os picos da fase β -TCP foram identificados com o símbolo ($\circ$).

Os BCPs utilizados neste trabalho são oriundos de peixes com diferentes idades, que após calcinação à 900 °C, apresentam em sua composição as fases HA e β -TCP, sendo a BCP19 com 19% de β -TCP e 81% de HA, e o BCP34 com 34% de β -TCP e 66% de HA. Quanto menor a idade óssea dos peixes que serão usados como biomaterial, maior o percentual da fase β -TCP ele apresentará. Nota-se um aumento na intensidade dos picos referentes à fase β -TCP no BCP34 (peixe de ~ 105 dias), quando comparado ao BCP19 (peixe de ~ 120 dias), devido ao aumento do percentual desta fase no material. A escolha dos picos não foi arbitrária, usualmente a escolha deles para definir um material é levando em consideração os picos de maior intensidade. Além disso, considerou-se o pico aproximadamente em $2\theta = 28^\circ$ que apresenta as fases HA e β -TCP, sendo possível observar a intensidade da fase β -TCP diminuindo com o aumento da idade do peixe, resultando num pico com apenas a fase de hidroxiapatita no material HAp (100% de HA; peixe de ~ 390 dias), por exemplo.

Na amostra HAs foi observado o pico em $2\theta = 37,5^\circ$ de baixa intensidade indexados como óxido de cálcio, CaO (JCPDS 37-1497) [139], e o mesmo foi identificado com o símbolo ($\star$). O CaO é uma impureza comumente detectada em hidroxiapatitas sintéticas, originado em ocorrência de decomposição térmica (≥ 800 -1000 °C) durante o processamento, ou a presença de intermediários cálcicos residuais decorrentes precursores, tais como $(\text{Ca}(\text{OH})_2$ ou $\text{Ca}(\text{CO}_3)_2$), empregados da rota química de síntese [140, 141].

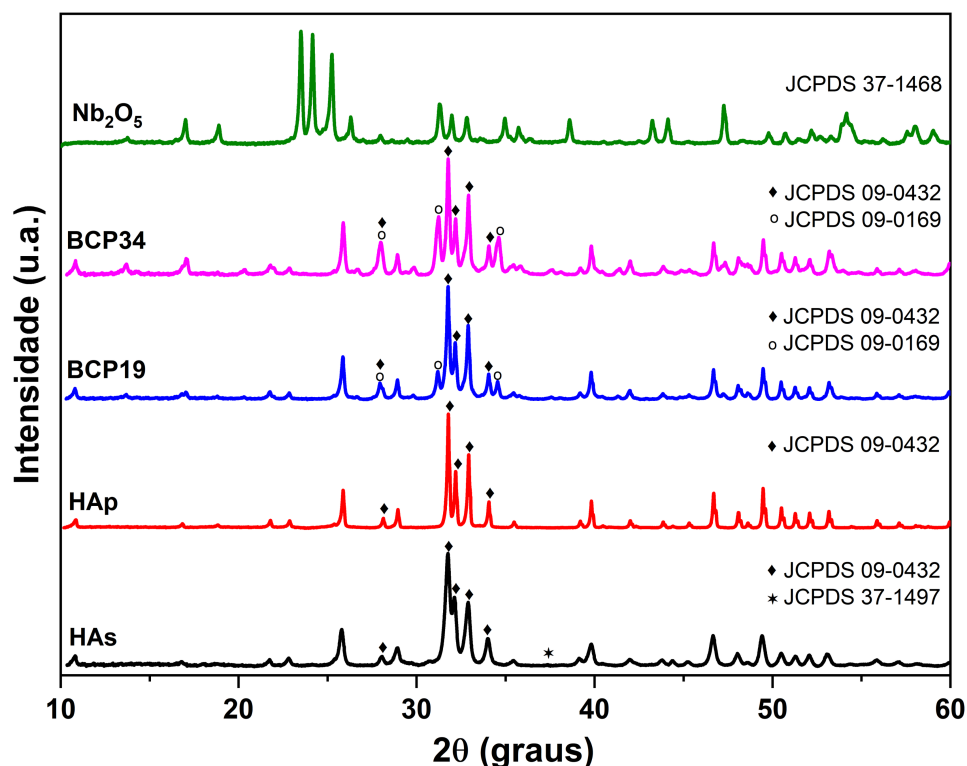


Figura 19: Padrões de DRX dos materiais precursores HAs, HAp, BCP19 (19% de β -TCP), BCP34 (34% de β -TCP) e Nb_2O_5 . Símbolos das fases cristalinas indexadas: (◆) Hidroxiapatita, (○) fase β -TCP e (★) CaO.

3.4.2 *Scaffolds* de HAs, HAp, BCP15 e BCP30

Na Figura 20 estão apresentados os padrões de DRX dos pós dos *scaffolds* de CaP (sendo eles: HAs, HAp, BCP15 e BCP30) após a sinterização a 1070 °C por 2 h. Observa-se para as amostras HAs e HAp picos característicos da fase hidroxiapatita (◆) estão em conformidade com o padrão JCPDS 09-0432 [138]. O difratograma da amostra HAs sinterizada apresentou características mais cristalinas quando comparado ao difratograma anterior à sinterização (como apresenta a Figura 19). Além disso, após a sinterização da HAs, é possível observar a presença mais intensa do CaO nos picos em $2\theta = 37,5^\circ$ e $53,9^\circ$. Isso ocorre devido a volatilização parcial de fosfato durante tratamentos térmicos intensos, o que pode favorecer o enriquecimento em cálcio e, conseqüentemente, a formação de CaO cristalino [142]. Os picos característicos da fase CaO (★) estão em conformidade com o padrão JCPDS 37-1497 [139].

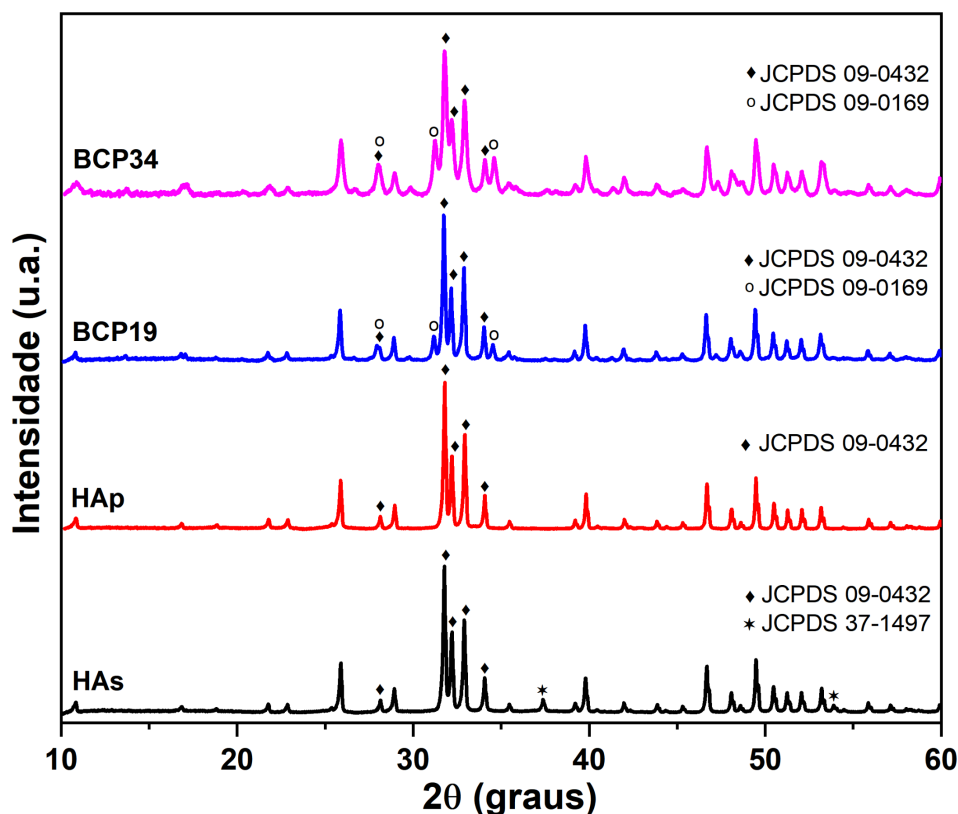


Figura 20: Padrões de DRX do pó dos *scaffolds* HAs, HAp, BCP15 e BCP30 sinterizados a temperatura de 1070 °C por 2 h: (♦) picos da fase hidroxiapatita; ○ picos da fase β -TCP e (*) pico da fase óxido de cálcio.

De acordo com a literatura, durante a sinterização dos BCPs (o qual apresenta a fase da hidroxiapatita e da β -TCP) ocorre uma decomposição parcial da hidroxiapatita em β -TCP [143]. Entretanto, nas amostras utilizadas neste trabalho isto não acontece. Comparando os padrões de DRX dos precursores com os dos *scaffolds* (conforme apresentam as Figuras 19 e 20, respectivamente), nos BCPs nota-se uma sutil redução na intensidade dos picos relacionados a fase β -TCP (○). Além disso, é observado uma melhor definição nos picos, característica de uma estrutura mais cristalina.

Uma hipótese para essa redução de β -TCP e o aumento da hidroxiapatita nos BCPs após sinterização (como mostra a Tabela 3 de fração de massa (wt%)) será discutida com mais detalhes na seção 3.4.4.3 do trabalho.

3.4.3 *Scaffolds* de HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO

Na Figura 21 estão apresentados os padrões de DRX dos *scaffolds* de CaP/Nb₂O₅ e a identificação das fases cristalinas, realizada a partir do banco de dados JCPDS usando o programa X'Pert High Score. Foram identificadas as seguintes fases cristalinas: óxido de cálcio-nióbio (CaNb₂O₆), também conhecida como Fersmita, de estrutura ortorrômbica e grupo espacial Pbcn; óxido de fósforo-nióbio (PNb₉O₂₅) de estrutura tetragonal e grupo espacial I4/m e β -TCP que correspondem às fichas JCPDS 39-1392, JCPDS 81-1304 e JCPDS 09-0169, respectivamente [10,34].

Nas amostras HAsNbO e HApNbO nota-se a decomposição dos precursores hidroxiapatita e Nb₂O₅. Na Figura 21 os picos característicos de β -TCP foram observados, sem remanescente significativo de HA. Durante a sinterização a 1070 °C por 2 h, a hidro-

xiapatita pode sofrer desidroxilação, reação na qual um grupo hidroxila é removido de um composto seguida de uma decomposição parcial, gerando a β -TCP. Simultaneamente, espécies de cálcio e fósforo remanescentes reagem com Nb_2O_5 , promovendo reações de estado sólido e resultando na formação das fases niobadas: CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ [10].

Nos *scaffolds* de BCP15NbO e BCP30NbO são observadas as mesmas fases formadas anteriormente, também sem a presença da fase da hidroxiapatita. A reação de decomposição no caso das BCPs/ Nb_2O_5 seguiu uma dinâmica similar aos *scaffolds* de hidroxiapatitas/ Nb_2O_5 . Durante a sinterização a 1070 °C, a hidroxiapatita sofre decomposição térmica, liberando água pela desidroxilação e originando a β -TCP e o CaO. Por sua vez, o CaO liberado nessa etapa apresenta elevada reatividade e, conseqüentemente, reage com o Nb_2O_5 , promovendo a formação da fase CaNb_2O_6 . Paralelamente, tanto o β -TCP já presente no precursor quanto aquele formado pela decomposição da hidroxiapatita reagem com Nb_2O_5 , favorecendo a cristalização da fase pirofosfato niobada, ocasionando em $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$. Dessa forma, a redistribuição entre cálcio, fósforo e nióbio no compósito conduz a um equilíbrio final constituído por três fases principais: $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ [10,144]. Conforme evidenciado nos difratogramas da Figura 21.

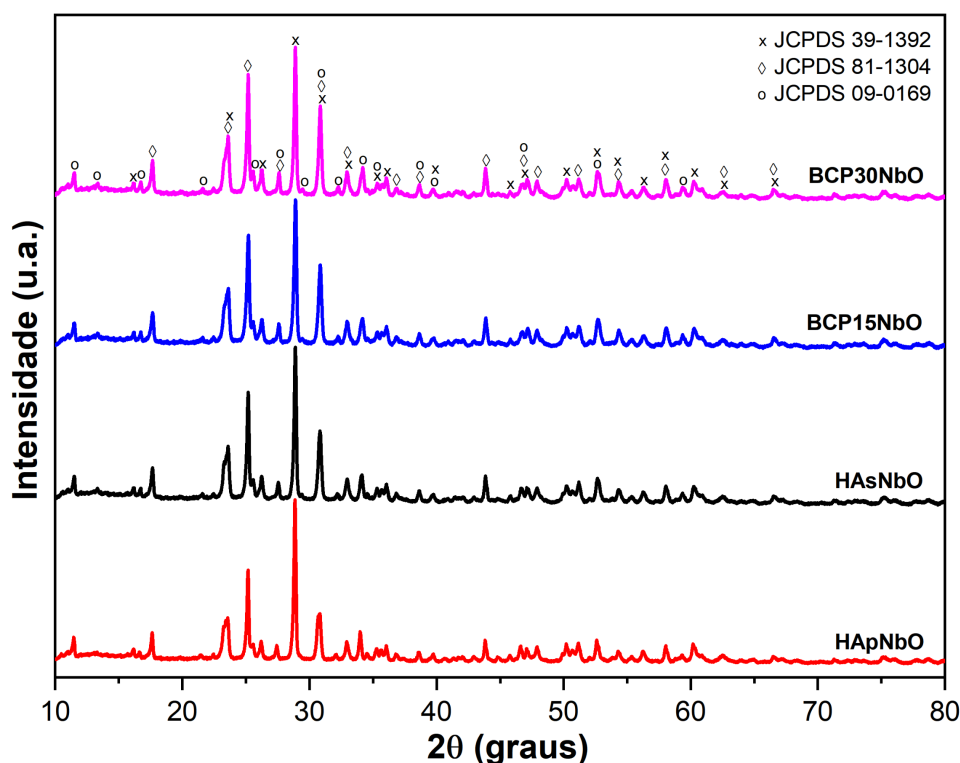


Figura 21: Padrões de DRX dos pós dos *scaffolds* HAsNbO; HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO, sinterizados a 1070 °C por 2 h. Símbolos: (x) CaNb_2O_6 (JCPDS 39-1392); (◊) $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ (JCPDS 81-1304) e (○) $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (JCPDS 09-0169).

Além disso, a razão inicial entre HA e β -TCP nos precursores pode exercer um papel fundamental na quantidade relativa dessas fases formadas. Em compósitos com maior teor inicial de hidroxiapatita, há maior geração de CaO disponível durante a decomposição, o que tende a favorecer a formação de CaNb_2O_6 . Por outro lado, em precursores mais ricos em β -TCP, seja na composição inicial ou pela conversão parcial da hidroxiapatita, a reação preferencial com Nb_2O_5 promove maior formação de $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$. Assim, a proporção HA: β -TCP nos precursores pode atuar como fator determinante na distribuição final das fases cristalinas observadas após a sinterização. Observa-se nos padrões de DRX na Figura 21 uma superposição dos picos dessas três fases, para todos os compósitos produzidos.

3.4.4 Refinamento estrutural pelo método de Rietveld

A quantificação em massa (wt%) das fases cristalinas nos materiais foi realizada por refinamento estrutural utilizando o método de Rietveld e o programa *fullprof*, software de código livre. Os parâmetros iniciais adotados nos refinamentos foram obtidos do banco de dados ICSD [138, 145]. As fichas das fases cristalinas utilizadas do padrão JCPDS foram: 09-0432 (HA - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), 09-0169 (β -TCP - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), 37-1497 (CaO), 37-1468 (Nb_2O_5), 39-1392 (CaNb_2O_6) e 81-1304 ($\text{PNb}_9\text{O}_{25}$).

Nos gráficos desta seção (presentes nas Figuras 22, 23 e 24) serão apresentados os perfis experimentais e os calculados, a diferença entre eles e as posições dos picos de Bragg das fichas padrão JCPDS para as amostras estudadas neste trabalho. Além disso, também estão apresentados nas figuras os fatores de qualidade dos ajustes numéricos (R_{wp} , R_{exp} e χ^2), relativos ao refinamento dos *scaffolds* analisados. Estes parâmetros indicam que o padrão calculado apresentou uma aproximação aceitável ao do padrão experimental, ou seja, os valores obtidos para o padrão simulado estão suficientemente próximos dos valores dos parâmetros reais. Observa-se também, ao se analisar os difratogramas experimentais e calculados (simulados) uma boa concordância, evidenciando uma escolha adequada das estruturas e dos parâmetros iniciais selecionados para o refinamento.

3.4.4.1 Materiais precursores HAs, HAp, BCP19, BCP34 e Nb_2O_5

Na Tabela 3 estão apresentados os valores da fração em massa (wt%) dos materiais precursores, obtidos via refinamento os quais estão representados na Figura 22. No material HAs o percentual de HA foi de 99,3% e observou-se um percentual de 0,7% de CaO presente na amostra. Já a amostra HAp, obtida dos ossos de peixe tilápia (*Oreochromis niloticus*), com idade aproximada de 390 dias, apresentou 100% de HA na composição, mostrando a eficiência do método de obtenção da hidroxiapatita a partir de ossos de peixe, quando comparado ao processo sintético.

Os BCPs utilizados neste trabalho são oriundos de peixes com diferentes idades, que após calcinação à 900 °C, apresentam em sua composição as fases HA e β -TCP, sendo a BCP19 com 19% de β -TCP e 81% de HA, e o BCP34 com 34% de β -TCP e 66% de HA. Quanto menor a idade óssea dos peixes que serão usados, maior percentual da fase β -TCP ele apresentará. Por essa razão, na Figura 19 foi possível notar uma diminuição na intensidade dos picos referentes a fase β -TCP no BCP19 (peixe de ~120 dias), quando comparado ao BCP34 (peixe de ~105 dias), devido ao percentual desta fase ser maior nos peixes mais novos.

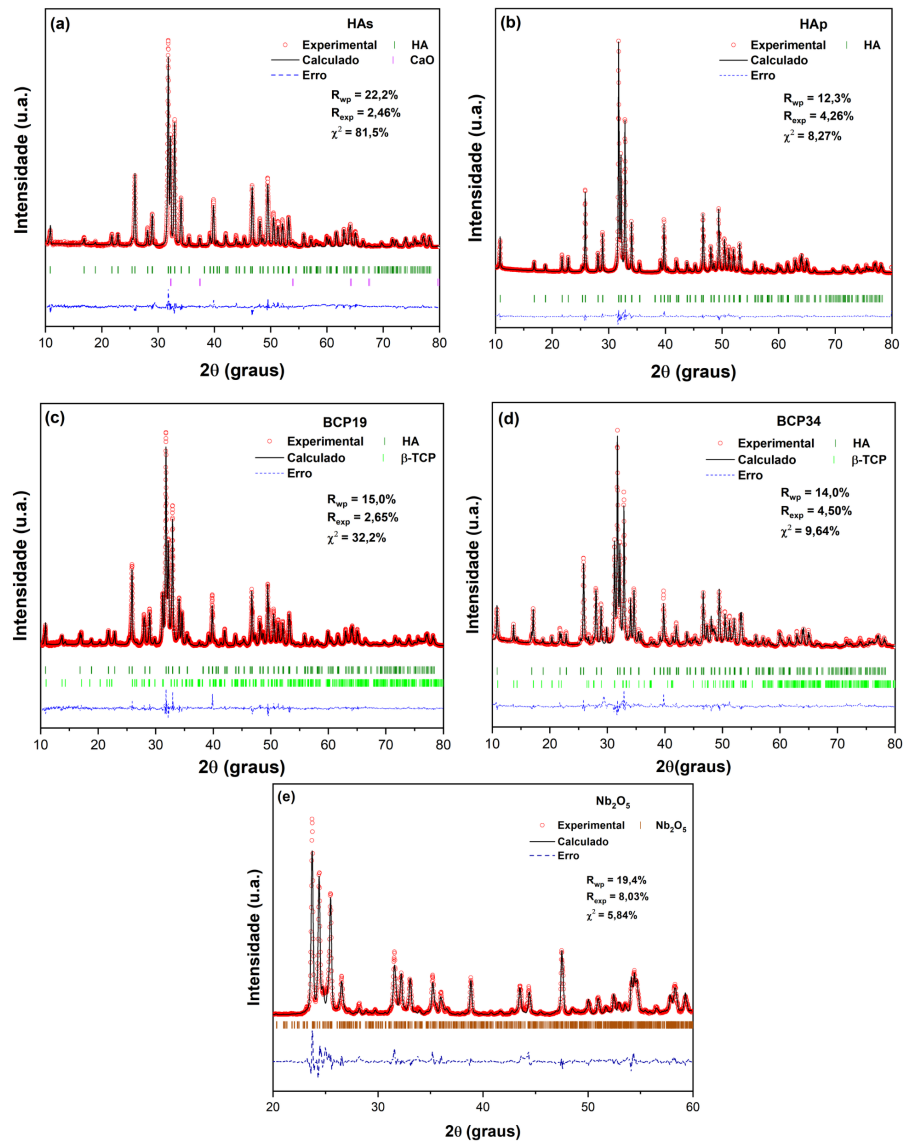


Figura 22: Perfis de difração de raios X experimental e calculado, e o erro (diferença entre os perfis) obtidos do refinamento das amostras: (a) HAs; (b) HAp; (c) BCP19, (d) e BCP34 e (e) Nb₂O₅. As amostras de CaPs foram tratadas à 900 °C, e o Nb₂O₅ a 1150 °C em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos (|) são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.

Tabela 3: Fração em massa (wt%) dos materiais precursores, calcinados a 900 °C por 8 h, obtidos via refinamento pelo método de Rietveld.

CaPs (Precursores)				
ID	wt (%)			
	HA	β -TCP	CaO	Nb ₂ O ₅
HAs	99,29 (0,73)	-	0,71 (0,05)	-
HAp	100,00 (0,31)	-	-	-
BCP19	80,56 (0,50)	19,44 (0,20)	-	-
BCP34	65,78 (0,54)	34,22 (0,34)	-	-
Nb₂O₅	-	-	-	100,00 (1,02)

CaPs: fosfatos de cálcio; HA: fase hidroxiapatita; β -TCP: fase β -fosfato tricálcico; CaO: fase óxido de cálcio; Nb₂O₅: fase pentóxido de nióbio. ID: nome da amostra.

3.4.4.2 *Scaffolds* de CaPs

Foi possível observar nos BCPs (BCP19 e BCP34) uma diminuição da fração da fase β -TCP, quando sinterizados à 1070 °C para manufatura dos *scaffolds*. Sendo possível quantizar essa redução pelo refinamento de Rietveld apresentado na Figura 23, e os dados da fração de massa (wt%) estão apresentados na Tabela 4. Quando as Figuras 19 e 20 foram analisadas nas seções 3.4.1 e 3.4.2, as amostras HAs e HAp apresentaram picos mais definidos, mostrando um aumento na cristalinidade das fases presentes após a sinterização quando comparadas às fases presentes antes da sinterização. Comparando a Tabela 3 com a Tabela 4, o percentual de fração de massa (wt%) das fases na amostra HAp não apresentou mudanças, permanecendo com 100% de HA, pois a temperatura para decomposição da fase HA é a partir de 1300 °C [144]. Já a amostra de HAs teve um aumento no percentual da fase CaO para 2,91% após a sinterização. As amostras denominados de BCP19 e BCP34, passaram a ser denominados como BCP15 e BCP30, respectivamente. O motivo dessa mudança se deu pela amostra BCP19 apresentar uma redução da fase β -TCP de 19% para ~15%, enquanto a amostra BCP34 de 34% para ~30%. O mesmo passou a valer para os *scaffolds* de BCP19NbO e BCP34NbO, os quais foram denominados como BCP15NbO e BCP30NbO, respectivamente.

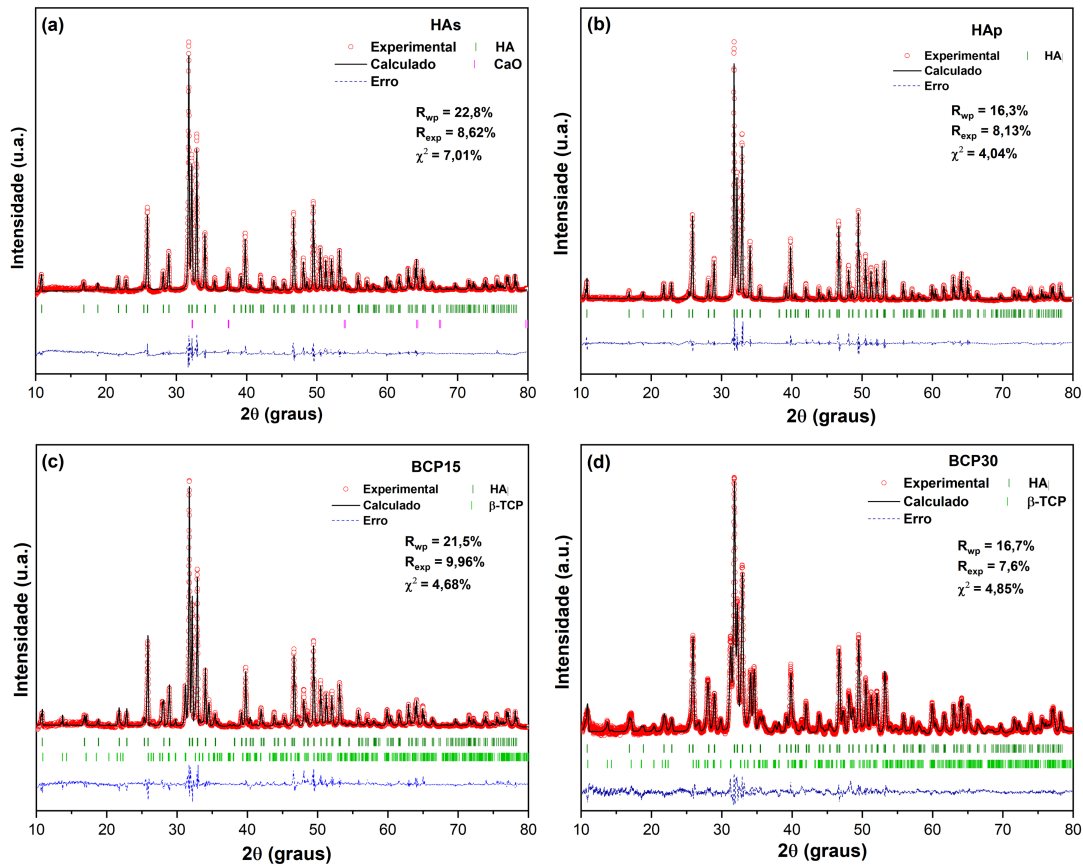


Figura 23: Perfis de difração de raios X experimental e calculado, e o erro (diferença entre os perfis) obtidos do refinamento das amostras: (a) HAs; (b) HAp; (c) BCP15 e (d) BCP30. Os *scaffolds* de CaPs foram sinterizados à 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos (|) são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.

Tabela 4: Fração em massa (wt%) dos CaPs, sinterizados a 1070 °C por 2 h, obtidos via refinamento pelo método de Rietveld.

CaPs			
ID	wt (%)		
	HA	β -TCP	CaO
HAs	97,09 (0,53)	-	2,91 (0,07)
HAp	100,00 (0,00)	-	-
BCP15	84,93 (0,39)	15,07 (0,20)	-
BCP30	69,91 (0,36)	30,09 (0,27)	-

CaPs: fosfatos de cálcio; HA: fase hidroxiapatita; β -TCP: fase β -fosfato tricálcico; CaO: fase óxido de cálcio. ID: nome da amostra.

3.4.4.3 *Scaffolds* de CaPs/Nb₂O₅

No trabalho de tese de doutorado de da Cruz (2018) foram propostas reações químicas para a decomposição da HAp e do Nb₂O₅, em função da composição e da temperatura de sinterização em compósitos CaP/Nb₂O₅ [144]. Com base neste estudo, podemos fazer algumas considerações a respeito das reações químicas e de estado sólido sobre a decomposição da BCP e do Nb₂O₅, em função da composição e da temperatura de sinterização dos *scaffolds*. As reações que ocorrem, resultam da interação entre a HA (Ca₁₀(PO₄)₂(OH)₂), β -TCP (Ca₃(PO₄)₂) e o pentóxido de nióbio (Nb₂O₅) em atmosfera de ar, que induzem a decomposição destas e a formação das fases óxido de fósforo-nióbio (PNb₉O₂₅) e óxido de cálcio-nióbio (CaNb₂O₆), como apresentadas na Figura 24 e na Tabela 5. Vale ressaltar que na produção dos *scaffolds* foi empregado o uso de um agente porogênico, no caso, a lactose monohidratada. Um roteiro reacional pode ser descrito em quatro etapas principais, que explicam a formação das fases observadas por DRX:

1. **Decomposição térmica da lactose:** Entre aproximadamente 200 e 450 °C, a lactose sofre decomposição térmica, desidratação e carbonização, resultando na emissão de CO₂ e H₂O, ocasionando na formação de poros na estrutura do compósito;
2. **Desidroxilação e decomposição da HA:** A HA presente no BCP perde grupos hidroxila, liberando H₂O e se decompondo parcialmente em β -TCP e CaO. A reação estequiométrica que rege essa decomposição é: Ca₁₀(PO₄)₆(OH)₂ → 3Ca₃(PO₄)₂ + CaO + H₂O. A presença do Nb₂O₅ atua como sequestrante do CaO liberado, deslocando o equilíbrio da reação e favorecendo a conversão da HA em β -TCP, ocasionando na ausência de hidroxiapatita no produto;
3. **Formação do CaNb₂O₆:** O CaO liberado nas etapas anteriores reage com o Nb₂O₅, assim formando CaNb₂O₆. A reação estequiométrica que rege essa interação é: CaO + Nb₂O₅ → CaNb₂O₆. Esta reação consome o CaO livre que foi liberado, estabilizando o sistema e evitando a presença de óxido de cálcio residual detectável por DRX;
4. **Formação do PNb₉O₂₅:** Parte do β -TCP reage com Nb₂O₅ para formar PNb₉O₂₅. A equação estequiométrica que descreve a transformação, incluindo a reciclagem do CaO, é: Ca₃(PO₄)₂ + 11Nb₂O₅ → 2CaNb₂O₆ + 2PNb₉O₂₅ + CaO. O CaO gerado nesta reação é novamente consumido pela formação de CaNb₂O₆, sendo consistente com as fases finais observadas.

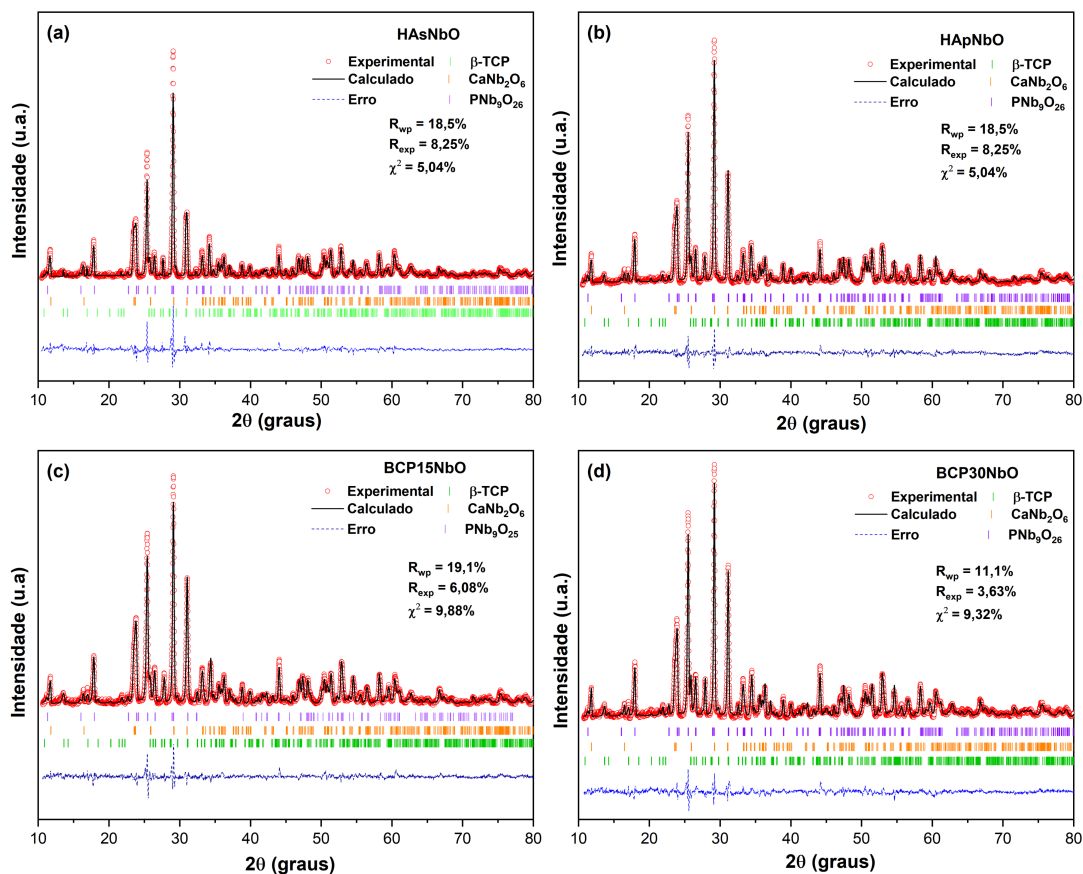


Figura 24: Perfis de difração de raios X experimental e calculado e o erro (diferença entre os perfis), obtidos do refinamento das amostras: (a) HAsNbO, (b) HApNbO, (c) BCP15NbO e (d) BCP30NbO. Os *scaffolds* de CaPs/Nb₂O₅ foram sinterizados à 1070 °C por 2 h em atmosfera de ar. Os círculos são o perfil experimental, a linha contínua o perfil calculado, a linha tracejada a diferença (experimental - calculado) e os símbolos (|) são as posições dos picos de Bragg das fases identificadas.

Tabela 5: Fração em massa (wt%) dos CaPs/Nb₂O₅, sinterizados a 1070 °C por 2 h, obtidos via refinamento pelo método de Rietveld.

CaPs/Nb ₂ O ₅			
ID	wt (%)		
	β-TCP	CaNb ₂ O ₅	PNb ₉ O ₂₅
HAsNbO	38,09 (0,54)	45,40 (0,60)	16,51 (0,12)
HApNbO	37,19 (0,55)	43,66 (0,31)	19,15 (0,13)
BCP15NbO	45,67 (0,51)	35,51 (0,54)	18,82 (0,11)
BCP30NbO	47,96 (0,45)	33,14 (0,19)	18,90 (0,10)

CaPs/Nb₂O₅: Compósitos fosfatos de cálcio e pentóxido de nióbio (1:1); β-TCP: fase β-fosfato tricálcico; CaNb₂O₅: óxido de cálcio-nióbio (fersmita); PNb₉O₂₅: óxido de fósforo-nióbio. ID: nome da amostra.

Ao término do processo de sinterização, as fases cristalinas estáveis detectadas por DRX são: β-TCP (remanescente do BCP e formado a partir da HA), CaNb₂O₆ (formado a partir do consumo de CaO pelo Nb₂O₅) e PNb₉O₂₅ (resultante da reação entre β-TCP e Nb₂O₅). A ausência de CaO residual evidencia a eficiência da sequência reacional, enquanto pequenas variações locais de composição e porosidade, geradas pelo esgotamento da lactose, podem modular a proporção relativa entre CaNb₂O₆ e PNb₉O₂₅.

O consumo contínuo de CaO e a disponibilidade de fósforo localmente garantem que a HA seja quase totalmente convertida em β -TCP e que uma fração do β -TCP seja transformada em $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$. Além disso, a atmosfera oxidante estabiliza Nb(V) nas estruturas de CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$. Uma difusão suficiente durante 2 h de sinterização permitiu nucleação e crescimento dessas fases cristalinas.

A fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ é a de menor percentual em massa, indicando que a conversão de β -TCP em $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ foi parcial. Pelas estequiometrias acima, isso pode corresponder que uma pouca quantidade reagiu à β -TCP para formação da fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$, enquanto uma parte significativa de Nb pode ter ficado amorfo e parte foi transformada em CaNb_2O_6 (35,51%). O tratamento térmico em 1300 °C pode ser uma maneira de aumentar a proporção da fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ em futuros estudos [146]. A fração de Nb não incorporada nas fases cristalinas pode permanecer como Nb_2O_5 amorfo ou em $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ amorfo. As fases amorfas do tipo P-Nb-O ou Ca-P-Nb-O podem ser resultantes da difusão limitada da reação entre Nb e os precursores em regiões porosas.

3.5 Análise por espectroscopia FTIR-ATR

A análise por FTIR-ATR foi utilizada para a identificação das bandas características de cada uma das fases cristalinas presentes nos pós dos precursores e nos *scaffolds*. Foram realizadas as medidas nas amostras em pó dos materiais precursores: HAs, HAp, BCP19 e BCP34. Já nos *scaffolds* feitos a partir de HAs, HAp, BCP15 e BCP30, que foram sinterizados à 1070 °C, foi possível identificar as bandas das fases presentes. A técnica também foi usada para acompanhar a formação de novas bandas das fases nos *scaffolds* de HAsNbO , HApNbO , BCP15NbO e BCP30NbO .

3.5.1 *Scaffolds* de CaPs

A Figura 25 apresenta os espectros de FTIR-ATR dos materiais precursores e *scaffolds* de CaPs. Em todos os espectros nota-se uma melhor definição nas bandas após a sinterização à 1070 °C, isso ocorre devido a maior cristalização do material a qual já é esperada pelo processo de sinterização. Este processo se mostrou mais evidente para a amostra HAs.

São observadas bandas características das fases cristalinas HA nas amostras HAs e HAp relacionadas aos grupos funcionais PO_4^{3-} (◆) e OH (●). As cerâmicas bifásicas BCP34 e BCP19 (apenas calcinadas) e as cerâmicas BCP30 e BCP15 (sinterizadas em 1070 °C), além das bandas características da HA, apresentam assinaturas vibracionais da fase β -TCP (○) as quais estão relacionadas aos grupos químicos de PO_4^{3-} . A presença de carbonato CO_3^{2-} (★) é observada em todas as CaPs antes da sinterização. Após este processo não é possível mais se observar a presença das bandas referentes aos modos vibracionais do CO_3^{2-} no intervalo estudado.

Os modos vibracionais da fase HA estão centrados em 1088 e 1028 cm^{-1} para ν_3 (P-O), 962 cm^{-1} para ν_1 (P-O), 565 e 600 cm^{-1} para ν_4 (O-P-O) e 473 cm^{-1} para ν_2 (O-P-O). Os modos de vibração do grupo OH^- em 3572 e 632 cm^{-1} são atribuídos, respectivamente, ao estiramento simétrico (ν_S) e vibracional (ν_L). As bandas observadas em 946, 974, e 984 cm^{-1} do modo ν_1 , e 1121 cm^{-1} do modo ν_3 (das ligações P-O) são características da fase β -TCP. As bandas associadas ao grupo CO_3^{2-} , que apenas são evidentes nas amostras antes da sinterização, são detectadas no intervalo entre 1400-1600 cm^{-1} (modo, ν_3) e 879

cm^{-1} (modo, ν_2) e podem indicar substituição de íons CO_3^{2-} do tipo A (OH^-) e tipo B (PO_4^{3-}). Após a sinterização estas contribuições das bandas associadas ao grupo CO_3^{2-} não são mais observadas [147–150]. A banda de OH^- em 3572 cm^{-1} não está apresentada devido à sobreposição com os modos rotacionais da água livre presente no espectrômetro em decorrência de vácuo não adequado durante a realização das medidas.

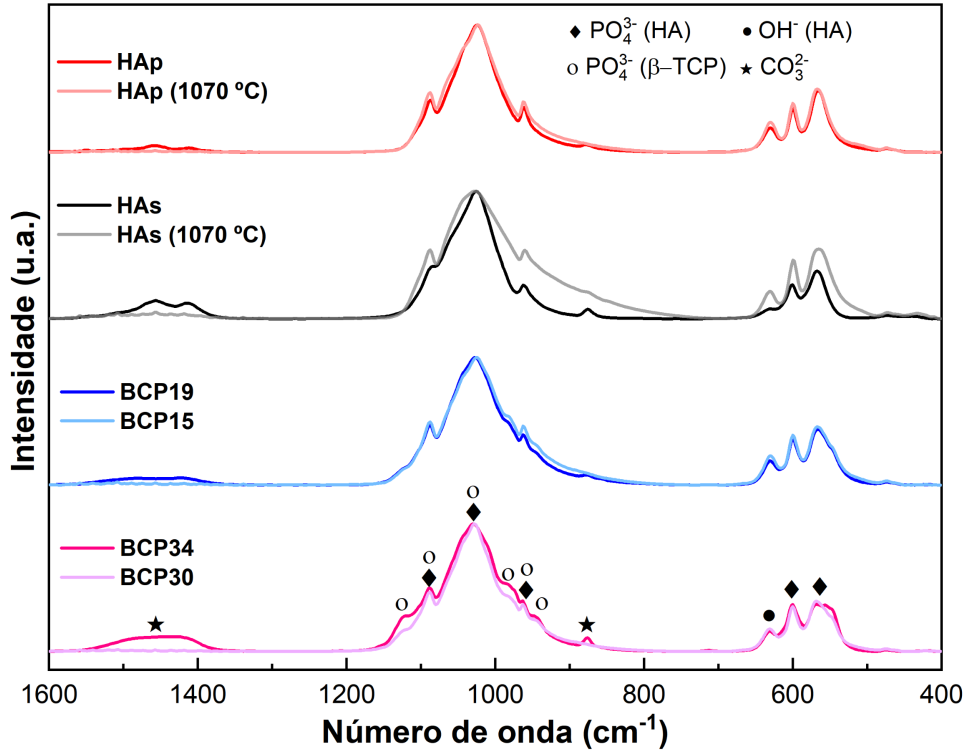


Figura 25: Espectros de FTIR-ATR dos pós dos materiais precursores HAp, HAs, BCP19 e BCP34 e dos *scaffolds* de CaPs HAs (1070 °C), HAp (1070 °C), BCP15 e BCP30 os quais foram sinterizados à 1070 °C. Os símbolos identificam grupos químicos das fases presentes: (◆) PO_4^{3-} da HA, (○) PO_4^{3-} da β -TCP, (●) OH^- e (★) CO_3^{2-}

3.5.2 *Scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5

Os espectros FTIR-ATR dos *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5 são HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO e estão apresentados na Figura 26. Analisando a Figura 26 (a) foi realizada a comparação dos materiais sem pentóxido de nióbio (linha contínua) e com a adição do pentóxido de nióbio (círculos). Nota-se a presença de novas bandas referentes as fases $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ e CaNb_2O_6 entre 925 e 640 cm^{-1} e entre 513 e 400 cm^{-1} , além de sobreposições nas demais regiões de predominância das bandas dos modos vibracionais do grupo fosfato dos CaPs e da hidroxila referente a fase HA.

Na Figura 26 (b) estão apresentados os espectros dos *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5 na região na qual se identificou algumas bandas referentes as fases cristalinas presentes. Para a fase CaNb_2O_6 , são características as bandas centradas em 867 , 805 e 747 cm^{-1} referentes ao modo de estiramento de Nb-O, e em 485 cm^{-1} a deformação angular de O-Nb-O. Além disso, é possível observar o estiramento da ligação Ca-O na faixa entre 1200 e 400 cm^{-1} . Por fim, em 590 cm^{-1} há o estiramento de Nb-O associado à fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ [13,151,152]. As assinaturas espectrais no infravermelho de estiramento e deformação do grupo funcional PO_4^{3-} em cerca de 1121 , 1084 , 1035 , 972 cm^{-1} e em 598 cm^{-1} , são características da fase β -TCP. Por outro lado, as bandas características do íon OH^- não são observadas em 3572

e 631 cm^{-1} , indicando a decomposição da fase HAp, em concordância com os resultados obtidos na análise feita por DRX [10, 13, 153].

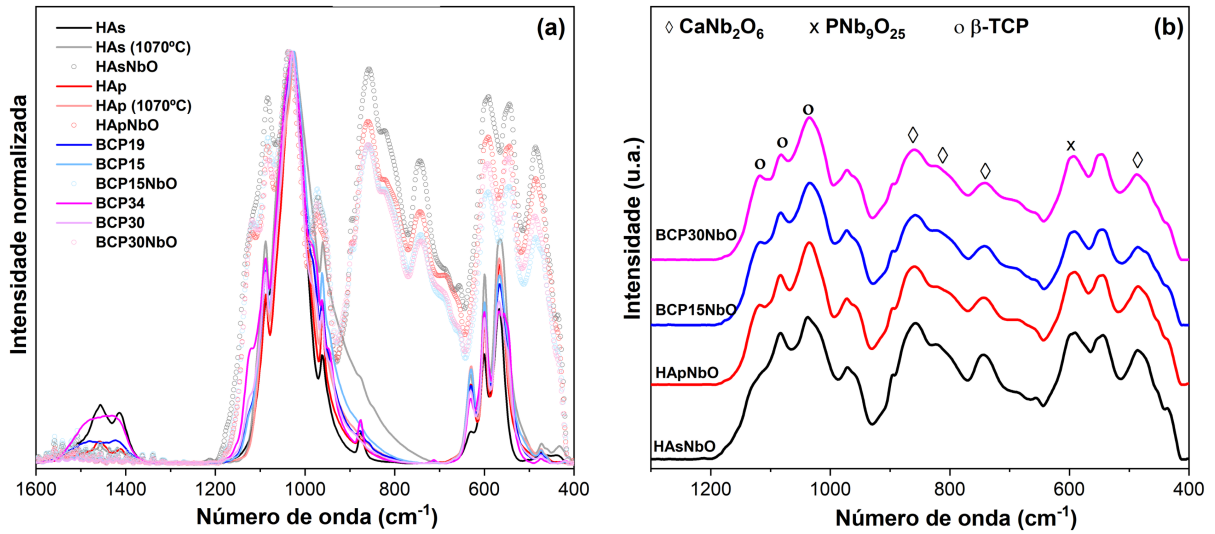


Figura 26: Espectros de FTIR-ATR dos pós: (a) materiais precursores e *scaffolds* (sinterizados à $1070\text{ }^{\circ}\text{C}$) de CaPs e CaPs/ Nb_2O_5 ; (b) dos *scaffolds* CaPs/ Nb_2O_5 com os símbolos que identificam grupos químicos das fases presentes: ($\diamond$) CaNb_2O_6 , (X) $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ e (O) β -TCP.

Por meio das áreas de cada banda atribuída as fases presentes, podemos fazer uma estimativa do percentual de cada fase. Foram utilizadas as áreas das bandas em 1034 , 861 e 596 cm^{-1} referentes as fases β -TCP, CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$, respectivamente. As áreas calculadas foram normalizadas pela área total das três bandas utilizadas, fornecendo então a estimativa percentual de cada fase por espectroscopia de FTIR-ATR. Os resultados obtidos foram comparados aos obtidos por DRX e estão apresentados na Figura 27. Vale ressaltar que os valores percentuais absolutos não são comparáveis, pois são técnicas experimentais diferentes, desta forma será comparado apenas o comportamento aparente das fases para os *scaffolds* estudados.

Observa-se na Figura 27 que o comportamento do percentual para a fase CaNb_2O_6 é similar entre as técnicas comparadas, sendo o maior percentual para a HAsNbO e o menor para a BCP30NbO . As demais fases apresentam menor similaridade entre os resultados obtidos por DRX e FTIR, possivelmente este comportamento se deve à sobreposição das bandas dos modos vibracionais do PO_4^{3-} com as bandas das ligações de Nb com O nas regiões adotadas para o cálculo das áreas. A região calculada para a fase CaNb_2O_6 não apresenta contribuição significativa das bandas de fosfato, como foi exibida na Figura 26 (b).

Nas medidas realizadas por FTIR, existe uma sobreposição entre as bandas NbO e fosfato, isso dificulta a atribuição precisa das mesmas e explica as diferenças existentes em comparação aos resultados de DRX. A quantificação por áreas de bandas também é limitada, pois não são considerados os diferentes coeficientes de absorção. Em adição, as fases amorfas ricas em Nb, detectadas indiretamente no DRX, não foram evidenciadas no FTIR. Além disso, a ausência do OH^- pode indicar uma possível decomposição da HA, mas também pode estar relacionada à influência da umidade na aquisição. Observa-se, então, que a interpretação isolada do FTIR tem suas restrições, mas quando integrada aos resultados obtidos por meio das técnicas de DRX e Raman, confirma de forma consistente o papel estrutural do Nb_2O_5 no material estudado.

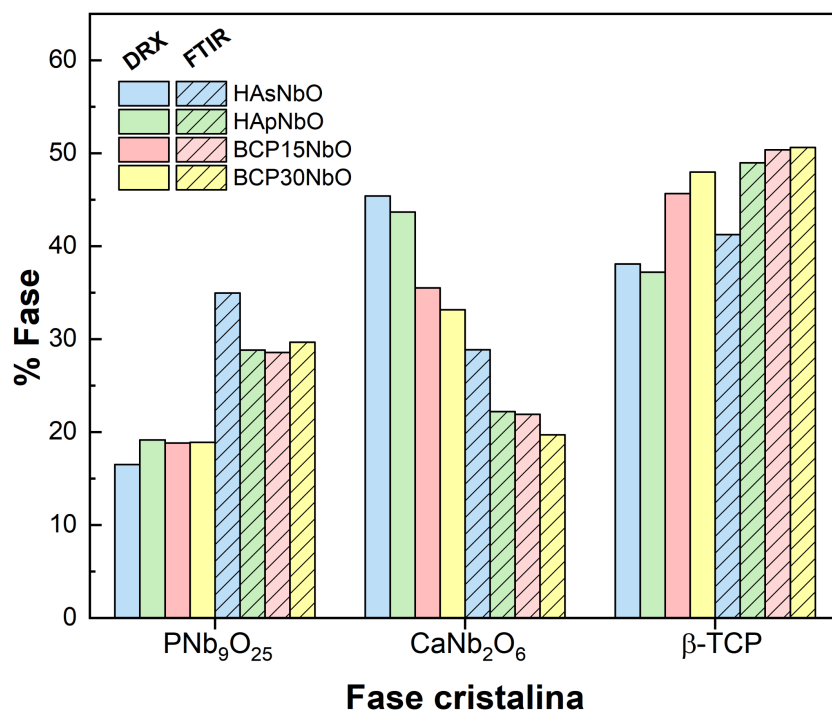


Figura 27: Comparação do comportamento aparente dos percentuais de cada fase cristalina obtidos pelas técnicas de DRX e FTIR-ATR presentes nos *scaffolds* CaPs/Nb₂O₅.

3.6 Análise por espectroscopia Raman

A análise por espectroscopia Raman foi utilizada para a identificação das bandas características de cada uma das fases cristalinas presentes nos pós dos precursores e nos *scaffolds*. Foram realizadas as medidas nas amostras em pó dos materiais precursores: HAs, HAp, BCP19 e BCP34. Além disso, foi feita análise nos *scaffolds* feitos a partir de HAs, HAp, BCP15 e BCP30, os quais foram sinterizados à 1070 °C, sendo possível identificar as bandas das fases presentes nesses materiais. A técnica também foi usada para acompanhar as fases nos *scaffolds* de HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO.

3.6.1 Precursores e *scaffolds* de CaPs

Os espectros Raman dos materiais precursores serão apresentados na Figura 28, os quais foram tratados termicamente à 900 °C, exceto a HAs. São observadas bandas características das fases HA e β -TCP relacionadas ao grupo funcional PO_4^{3-} , além da presença da banda de OH^- da HA.

Na região entre 990 e 930 cm^{-1} , como demonstrada na Figura 28 (b), está presente o modo vibracional de estiramento simétrico P-O (o mais intenso dos espectros), sendo em 962 cm^{-1} para a HA, e em 972 e 950 cm^{-1} para β -TCP. A hidroxiapatita possui seis tetraedros de PO_4^{3-} , enquanto a β -TCP tem quarenta e dois tetraedros na célula unitária, tornando-se assim menos simétrica que a HA. Isto acontece pois o PO_4^{3-} ocupa vários sítios cristalograficamente não equivalentes na rede cristalina, diferindo assim, nas distâncias e ângulos das ligações intratetraedrais e ocasionando em duas bandas Raman no β -TCP ao invés de uma única como na HA. Na Figura 28 (a) é observada a presença da banda Raman, em 3572 cm^{-1} , referente ao modo de estiramento simétrico de O-H da fase HA [58,154].

Observa-se modos de vibração do PO_4^{3-} também em outras regiões espectrais. Todas as bandas associadas a fase HA são: em 448 e 432 cm^{-1} do modo ν_2 (duplamente degenerado) de flexão simétrica de O-P-O; em 609, 593 e 582 cm^{-1} do modo ν_4 (triplamente degenerado) de flexão assimétrica O-P-O; em 1085, 1077, 1048 e 1029 cm^{-1} do modo ν_3 (triplamente degenerado) de estiramento assimétrico P-O. Já para a fase β -TCP as bandas estão localizadas: em 442 e 407 cm^{-1} do modo ν_2 ; em 623, 607 e 593 cm^{-1} associadas ao modo ν_4 ; e em 1084, 1045 e 1016 cm^{-1} do modo ν_3 [58,154].

Conforme mostrado nos resultados das técnicas anteriores de FTIR e DRX para os BCPs, há uma redução da fase HA conforme o aumento da fase β -TCP, visualizado de forma mais evidente pelas intensidades das bandas Raman do modo ν_1 PO_4^{3-} para HA em 962 cm^{-1} e em 972 cm^{-1} para β -TCP, além da redução na intensidade da banda ν_s OH^- da HA. Por não ter sido submetida a tratamento térmico, a HA mostrou espectro Raman de menor intensidade, quando comparada aos demais CaPs, possivelmente por se tratar de uma amostra menos cristalina; entretanto é possível notar a presença das assinaturas Raman tal como na HA.

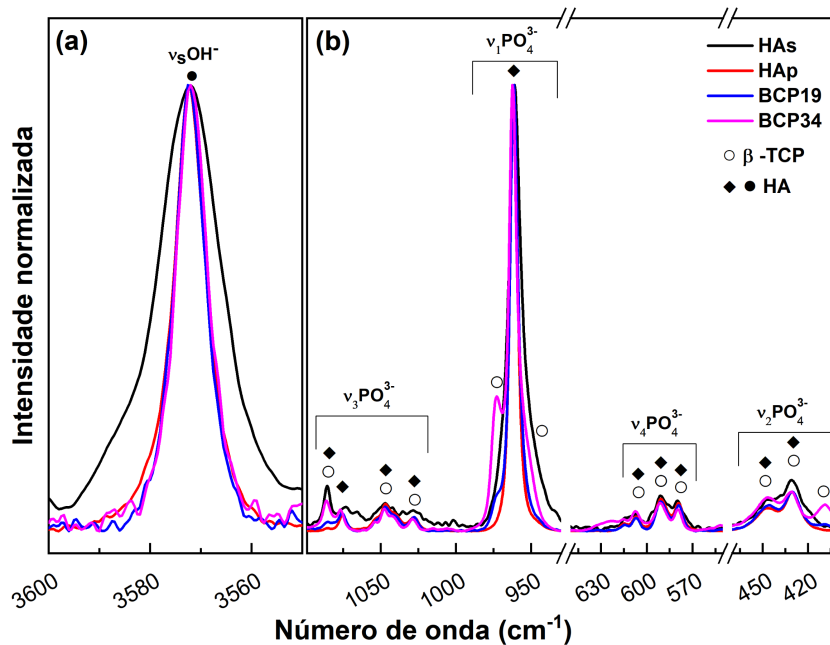


Figura 28: Espectros Raman normalizados dos materiais precursores (em pó) sendo eles HAs, HAp, BCP19 e BCP34 tratados termicamente à 900 °C: a) região entre 3600 e 3550 cm^{-1} e b) entre 1100 e 400 cm^{-1} . Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas de OH^- (●), e de PO_4^{3-} (◆) ambos da hidroxiapatita (HA) e de PO_4^{3-} (○) da β -fosfato tricálcico (β -TCP).

A Figura 29 mostra os espectros Raman dos *scaffolds* de CaPs. As atribuições espectrais, bem como as posições das bandas Raman, não se alteram com o processo de sinterização, tal como mostrado nos resultados obtidos pelas técnicas de FTIR e DRX: as fases cristalinas permanecem as mesmas. Um dos efeitos mais notáveis da sinterização nos espectros Raman é o aumento da cristalinidade nos materiais, principalmente na HAs. Isto pode ser visto por meio do estreitamento das bandas quando comparado ao espectro da Figura 28 (antes da sinterização), esse estreitamento ocasiona em uma melhor definição das formas das bandas. Outro efeito notável é a redução de intensidade do ombro em 951 cm^{-1} , nessa posição há um dos modos ν_1 PO_4^{3-} presentes na fase β -TCP, possivelmente devido à redução desta fase conforme observado em resultados anteriores.

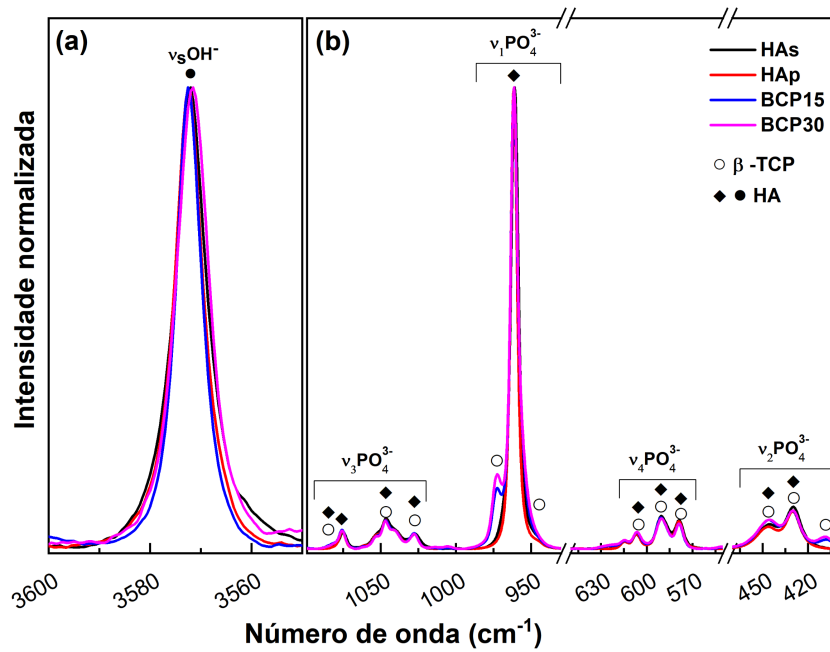


Figura 29: Espectros Raman normalizados dos *scaffolds* de CaP (em pó), sendo eles HAs, HAp, BCP15 e BCP30 sinterizados à 1070 °C: a) região entre 3600 e 3550 cm^{-1} e b) entre 1100 e 400 cm^{-1} . Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas de OH^- (●), e de PO_4^{3-} (◆) ambos da hidroxiapatita (HA) e de PO_4^{3-} (○) da β -fosfato tricálcico (β -TCP).

3.6.2 *Scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5

Os espectros Raman dos *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5 e o pentóxido de nióbio (Nb_2O_5) estão apresentados na Figura 30, os quais se mostram similares em termos de cristalinidade com as fases cristalinas também observadas na técnica de DRX. As bandas observadas em 903 e 848 cm^{-1} correspondem aos modos de vibração ν_1 de estiramento simétrico do Nb-O que ocorrem na fase CaNb_2O_6 . Os modos ν_3 de estiramento assimétrico dessa fase são observados em 597 e 538 cm^{-1} e os modos ν_4 de flexão Nb-O-Nb estão identificados em 496 e 484 cm^{-1} . O CaNb_2O_6 cristaliza em uma estrutura ortorrômbica, na qual o nióbio (Nb^{+5}) está coordenado por seis oxigênios formando um octaedro NbO_6 , cujas ligações podem ser do tipo *corner-shared* (dois octaedros compartilham um vértice - um átomo de oxigênio) e *edge-shared* (dois octaedros compartilham uma aresta - dois átomos de oxigênio) [153,155]. Os octaedros NbO_6 formam correntes lineares ao longo do eixo c, todos por *edge-sharing*. Essas correntes são separadas por canais que se conectam entre si por *corner-sharing* [153]. Por esse motivo, deve haver dois modos de vibração do tipo ν_1 ; um dos modos é devido às ligações *corner-shared* e o outro modo devido à ligação *edge-shared*. As bandas Raman relacionadas à fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ são observados em 1010, 694 e 628 cm^{-1} , sendo o primeiro atribuído ao modo de vibração ν_1 de estiramento simétrico do P-O, e os outros dois relacionados ao modo ν_2 flexão dos octaedros do tipo O-Nb-O ou P-O-Nb [10, 13, 58, 93, 156].

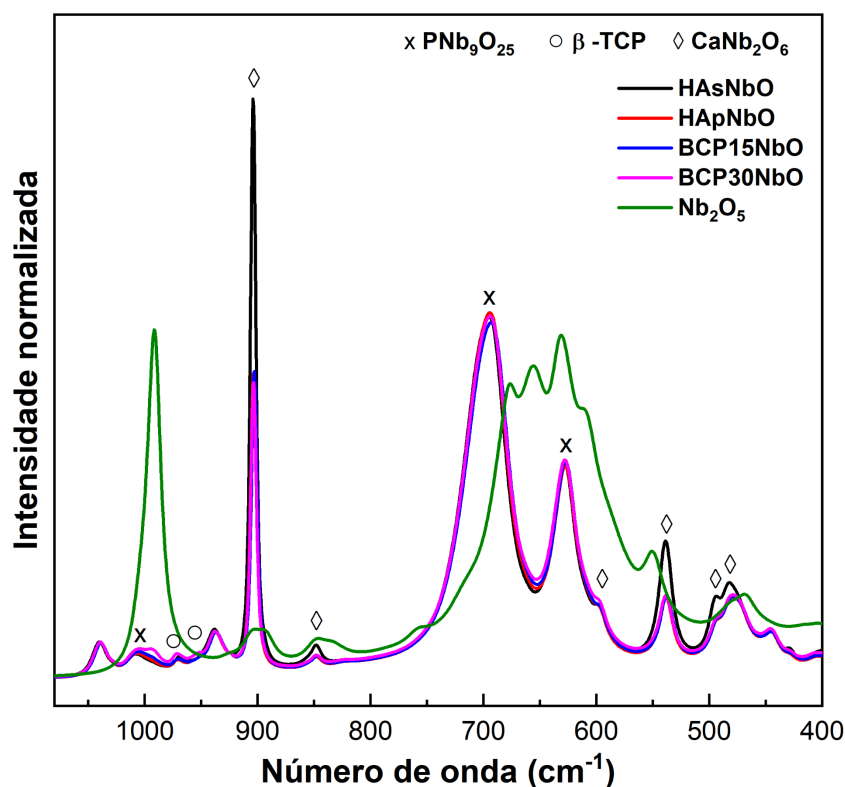


Figura 30: Espectros Raman normalizados dos *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5 (em pó), sendo eles HAsNbO, HApNbO, BCP15NbO e BCP30NbO sinterizados à 1070 °C, comparados ao pentóxido de nióbio (Nb_2O_5). Os símbolos representam as bandas Raman atribuídas as fases cristalinas: $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ (X); β -TCP (O) e CaNb_2O_6 (◇).

As bandas em 903, 694 e $(972 + 951) \text{ cm}^{-1}$ foram utilizadas para obter uma estimativa do percentual das fases cristalinas CaNb_2O_6 , $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ e β -TCP, respectivamente, por meio do cálculo da área da banda. A Figura 31 mostra o resultado obtido do percentual de cada fase para os *scaffolds* de CaPs/ Nb_2O_5 . Vale ressaltar que, tal como na comparação dos percentuais entre as técnicas de FTIR e DRX apresentada anteriormente na seção 3.5.2, essa análise pretende avaliar a sensibilidade da técnica de espectroscopia vibracional por meio de uma comparação de comportamento, e não de valores absolutos, com a difratometria de raios X.

Na fase $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ apresentada na Figura 31, é possível perceber uma maior similaridade no comportamento da fase entre as técnicas de Raman e de DRX que entre as técnicas de FTIR-ATR e de DRX apresentadas na Figura 27. A fase CaNb_2O_6 também apresentou comportamento semelhante aos resultados da técnica de DRX. Entretanto, as bandas atribuídas a fase β -TCP apresentaram baixa intensidade, quando comparada as vibrações de Nb-O referentes as fases $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ e CaNb_2O_6 , isso acontece pois as bandas atribuídas às fases CaNb_2O_6 e $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ ($867, 805, 747$ e 590 cm^{-1}) estão na mesma região espectral dos modos vibracionais do PO_4^{3-} ($1121\text{-}972 \text{ cm}^{-1}$ e 598 cm^{-1}). Este comportamento influenciou de forma negativa a estimativa por meio da espectroscopia Raman, pois a sobreposição pode inflar ou reduzir artificialmente o percentual estimado das fases observadas.

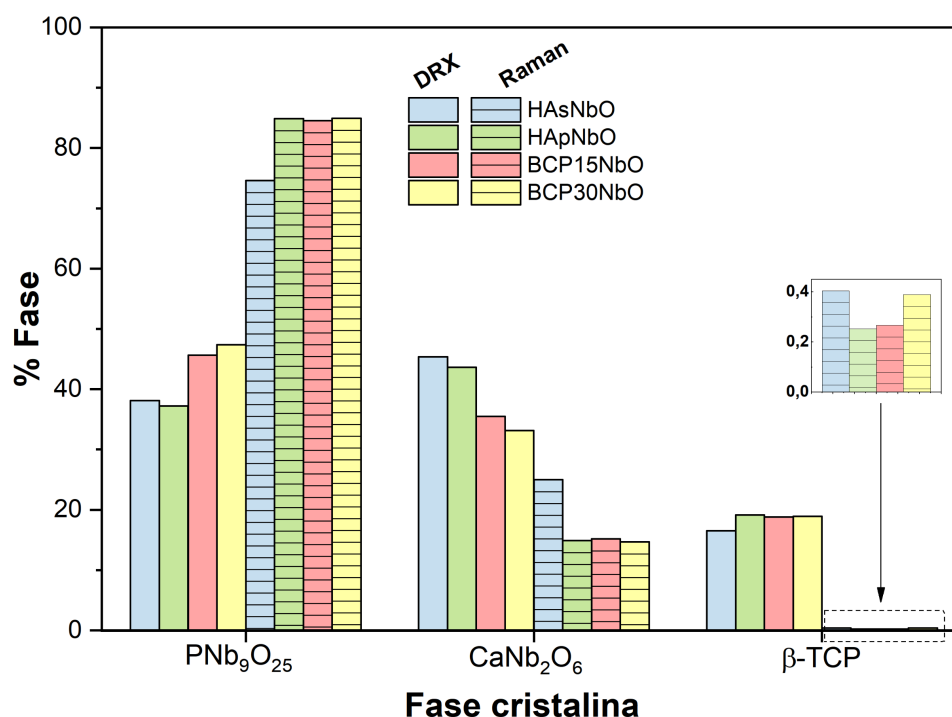


Figura 31: Comparação do comportamento dos percentuais de cada fase cristalina obtidos pelas técnicas de DRX e Raman presentes nos *scaffolds* CaPs/Nb₂O₅. No *inset*, o comportamento da fase β-TCP obtida por meio da espectroscopia Raman.

As espectroscopias vibracionais se mostraram eficazes na estimativa das fases cristalinas presentes nas amostras deste trabalho. Porém existem limites de aplicação, principalmente com relação a sobreposição de bandas de outras fases. A difração de raios-X (DRX) é a técnica experimental que forneceu os percentuais das fases cristalinas de forma mais confiável em todos os materiais estudados, sendo amplamente utilizada em conjunto com o método de refinamento Rietveld para este propósito.

A sinterização das BCPs depende das condições experimentais e da atmosfera de processamento. Em temperaturas acima de 900 °C, a HA tende a se decompor dando origem à β-TCP e óxido de cálcio (CaO), acompanhada da liberação de vapor d'água pela desidroxilação da rede cristalina [157]. Esse processo resultaria, em princípio, em um aumento relativo da fração de β-TCP e redução da HA. Entretanto, nossos resultados, por meio do refinamento Rietveld, mostraram aumento da HA e redução da β-TCP, possivelmente pela recombinação assistida por vapor d'água.

A decomposição da HA libera H₂O na forma gasosa, podendo criar localmente uma pressão parcial de vapor, mesmo em altas temperaturas. Esse vapor, somado à umidade residual do ar no interior do forno, pode ter reagido com o CaO, formado durante a decomposição, sendo assim promovendo a recomposição da fase apatítica a partir da reação de β-TCP + CaO + H₂O, formando HA ou oxi-hidroxiapatita [157, 158]. Assim, pode estar ocorrendo um aumento de β-TCP por conta de um ciclo dinâmico no qual parte dessa fase é consumida para regenerar a apatita, resultando em sua diminuição relativa após a sinterização. Além disso, pode-se considerar que a HA pode perder parcialmente suas hidroxilas sem que a estrutura cristalina apatítica seja destruída, formando oxi-hidroxiapatita. Essa fase é frequentemente refinada como hidroxiapatita, o que contribui para o aumento aparente da fração de HA em detrimento do β-TCP [157].

Conclusão

Os resultados obtidos neste trabalho permitiram atingir os objetivos inicialmente propostos de produzir arcabouços porosos (*scaffolds*) a partir de hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico com reforço do pentóxido de nióbio e estudar a sua viabilidade de utilização.

A expansão observada nos *scaffolds* de BCP com Nb_2O_5 contrasta com a retração típica do BCP e pode ser explicada pela formação de fases CaNb_2O_6 e PNb_9O_5 , que geram variação positiva de volume molar e reduzem a densificação. Esse efeito, associado à expansão térmica anisotrópica do Nb_2O_5 , reforça que a interação química entre o dopante e as fases de CaP altera de forma decisiva o comportamento dimensional durante a sinterização.

A adição de Nb_2O_5 aos *scaffolds* de HAp e BCP resultou em redução da porosidade e aumento da densidade, indicando efeito densificante associado à formação de fases niobato-cálcicas. Apesar da expansão linear observada em BCP15NbO e BCP30NbO, esses compósitos apresentaram maior densidade, evidenciando que a expansão esteve ligada a reações químicas e não ao aumento da porosidade. Pelo contrario, ambos materiais tiveram uma redução na porosidade com a adição do pentóxido de nióbio. Esse comportamento reforça o papel do Nb_2O_5 como modificador estrutural e determinante no desempenho final das cerâmicas.

A análise de MEV demonstrou que a adição de Nb_2O_5 influenciou diretamente a arquitetura porosa dos *scaffolds*. Enquanto na HAs houve leve redução no tamanho dos poros, nas amostras de HAp e BCPs verificou-se aumento das dimensões, efeito associado à formação de fases niobato-cálcicas e à expansão química local. Esses resultados indicam que o Nb_2O_5 atua como modulador estrutural, contribuindo para a manutenção de macroporosidade favorável à regeneração óssea.

A combinação das técnicas de DRX, FTIR e Raman se mostraram eficazes na identificação e quantificação das fases presentes nos *scaffolds* de CaP e CaP/ Nb_2O_5 . O refinamento de Rietveld mostrou-se fundamental para a determinação confiável do percentual de cada fase cristalina presente, enquanto as espectroscopias vibracionais forneceram informações complementares, mesmo diante de limitações de sobreposição de bandas. Em conjunto, os resultados evidenciaram a formação consistente de CaNb_2O_6 e PNb_9O_5 nas amostras dopadas, bem como a cristalização aprimorada das fases fosfatadas após a sinterização.

A integração das análises estruturais (DRX, FTIR e Raman) com os resultados de variação dimensional, densidade e porosidade demonstrou que a adição de Nb_2O_5 exerce papel determinante tanto na evolução das fases cristalinas quanto na arquitetura microestrutural dos *scaffolds*. A formação de CaNb_2O_6 e PNb_9O_5 , identificada pelas três técnicas, esteve diretamente associada à expansão linear observada em BCP15NbO e BCP30NbO, concomitante ao aumento da densidade e à redução da porosidade. Esses achados indicam que a expansão resultou de reações químicas e não da geração de novos poros, confirmando o papel do Nb_2O_5 como modulador estrutural. A diminuição da fração de β -TCP após a sinterização, pode ter sido ocasionada por um mecanismo de recombinação assistida por

vapor d'água, que promoveu regeneração parcial da fase apatítica, reforçando a complexa interação entre composição, processamento térmico e resposta microestrutural.

A avaliação dos *scaffolds* com diferentes proporções de BCP demonstrou que a presença da fase β -TCP, especialmente quando associada ao Nb_2O_5 , pode conferir características vantajosas a biomateriais para regeneração óssea. A maior reatividade do β -TCP frente ao nióbio favorece a formação de fases niobato-cálcicas bioativas, capazes de modular tanto a dissolução controlada do material quanto a liberação de íons que estimulam a osteogênese. Dessa forma, compósitos BCP/ Nb_2O_5 despontam como candidatos promissores para aplicações em defeitos críticos de carga moderada a elevada, revestimentos de implantes metálicos e *scaffolds* personalizados por manufatura aditiva, unindo estabilidade estrutural e bioatividade potencializada.

Difração de Raios X (DRX)

A técnica de caracterização por difração de raio X é amplamente utilizada para analisar a estrutura cristalina de materiais, amorfos ou cristalinos. Na técnica de DRX acontece o fenômeno de interação entre o feixe de raios X incidente e os elétrons dos átomos de um determinado material estudado, com a técnica é possível caracterizar e identificar precisamente as fases cristalinas que estão presentes em qualquer material. Após o material ser analisado em um difratômetro, o aparelho fornecerá um difratograma. Cada material possui um padrão único e específico de picos, o que facilita na sua identificação [159, 160].

Quando o feixe de raios X incide no material, ele é difratado pelas regiões ordenadas daquela estrutura cristalina, assim gerando os padrões típicos de difração. Esses feixes quando difratados podem gerar dois tipos de perfis de interferências, construtivas ou destrutivas. A interferência destrutiva resulta em amplitude zero e ocorre quando a diferença das distâncias percorridas pelos feixes for de meio comprimento de onda. Por outro lado, a interferência construtiva ocorre se, para cada feixe, a diferença das distâncias percorridas for um múltiplo inteiro do comprimento de onda [161].

Se aprofundando no funcionamento dessas interferências, temos que a diferença das distâncias percorridas pelo feixe pode ser observada geometricamente pela **Lei de Bragg**, que correlaciona a distância entre planos atômicos da amostra (d), com o ângulo incidido (θ), o comprimento de onda dos raios X (λ) e com a ordem de difração (n), resultando na Equação 5 [162].

$$n = 2d \sin(\theta) \quad (5)$$

Sendo:

- n : número inteiro (ordem de difração);
- λ : comprimento de onda dos raios X;
- d : distância entre planos cristalinos;
- θ : ângulo de incidência/reflexão.

A Figura 32 exemplifica o princípio de funcionamento da técnica de difração de raios X. À esquerda, é possível verificar a fonte de raios X e os feixes provenientes desta fonte incidindo sobre a amostra cristalina. A amostra é representada por uma combinação de átomos (esferas azuis) organizados em planos cristalinos. Quando o feixe atinge os planos atômicos, parte dele é refletido e sofre interferência construtiva, obedecendo à condição estabelecida pela **Lei de Bragg**, formando feixes difratados que despontam em direção ao detector. Esses feixes difratados são captados por um detector, que mede a intensidade dos raios X refletidos em diferentes ângulos. Os dados coletados pelo detector são enviados

a um sistema computacional, que processa as informações e gera um difratograma [159, 160, 162].

Os padrões podem ser analisados para obter uma variedade de informações, incluindo a análise de pico para determinar os valores de espaçamento interplanar, a análise de perfil de linha para determinar o tamanho do cristal e o refinamento estrutural. Na direita da Figura 32, temos um gráfico demonstrativo da intensidade dos picos difratados de um material mais cristalino, cada um desses picos formados representa um plano cristalográfico desse material, sendo cada um reconhecido pelo **Índice de Miller (100)** [160–163].

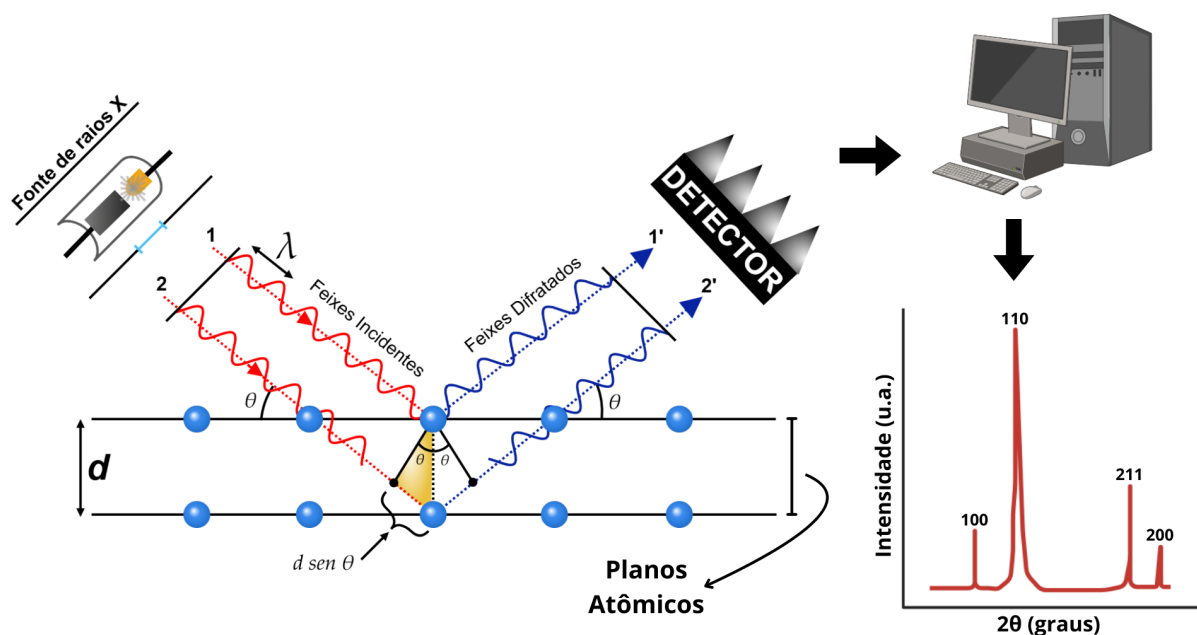


Figura 32: Esquema da técnica de Difração de Raios X (DRX), mostrando a incidência da radiação na amostra, a difração segundo o ângulo θ e a geração do difratograma para análise estrutural do material. Adaptado de [164].

Em resumo, a Figura 32 representa um processo completo de uma análise por DRX, desde a emissão da radiação, a interação com a estrutura cristalina da amostra, a detecção dos feixes difratados e a geração do padrão de difração que permite a identificação de fases, determinação de parâmetros de rede e a análise estrutural detalhada do material.

A difração de raios X é largamente usada em diversas áreas da ciência e tecnologia. No caso da hidroxiapatita, por exemplo, a DRX é usada para confirmar a sua estrutura cristalina e obter informações sobre as propriedades estruturais, a sua simetria e o tamanho do cristalito. Além disso, a DRX também é usada para avaliar a pureza da HA e identificar a presença de outras fases cristalinas na amostra que, quando combinado com o Método de Rietveld, permite estimar a proporção de cada fase em um material multifásico [159, 161, 165]. Isso é importante na produção de biomateriais, pois a presença de impurezas ou outras fases pode afetar as propriedades mecânicas e biológicas dos materiais [166].

Espectroscopia Vibracional

A espectroscopia vibracional é um método útil na caracterização de materiais, permitindo a identificação dos modos vibracionais de uma molécula detectando vibrações moleculares que ocorrem pela absorção de radiação na região espectral do infravermelho (IR) ou pelo espalhamento inelástico da luz por uma molécula [167, 168]. Um material pode gerar um espectro vibracional único, que funciona como uma impressão digital desse elemento, facilitando na sua identificação. A espectroscopia vibracional pode ser aplicada para analisar diversos materiais como gases, líquidos e sólidos, sendo largamente utilizada para investigar materiais orgânicos e inorgânicos [167].

A análise dessa frequência de vibração fornece informações sobre o tipo de ligação química, a geometria molecular e permite a distinção entre polimorfos, que são substâncias com a mesma fórmula química mas estruturas cristalinas diferentes, resultando em propriedades distintas [169].

Os modos vibracionais moleculares retratam as diferentes formas que os átomos de uma molécula são capazes de oscilar. Esses movimentos ocorrem devido à absorção ou ao espalhamento da radiação eletromagnética, que transfere energia para essas moléculas, excitando-as para níveis vibracionais superiores. A espectroscopia vibracional utiliza a interação da luz com as moléculas para observar essas vibrações moleculares, as quais se dividem em dois grupos principais: estiramento e deformação [167, 170].

As vibrações de estiramento (*stretching*) ocorrem quando as ligações químicas da molécula se esticam e encolhem em resposta à radiação eletromagnética no mesmo plano. As vibrações de estiramento podem ser de dois tipos, simétricas ou assimétricas, onde as vibrações simétricas ocorrem quando os dois lados da ligação se esticam e encolhem da mesma maneira, enquanto as vibrações assimétricas ocorrem quando um lado da ligação se estica mais do que o outro lado [167, 171].

As vibrações de deformação (*bending*) ocorrem quando os ângulos de ligação da molécula se alteram em resposta à radiação eletromagnética, podendo ocorrer no plano ou fora do plano. Essas deformações vibracionais podem ser de dois tipos: degeneradas e não degeneradas. São degeneradas quando dois ângulos de ligação mudam em direções opostas; são não degeneradas quando apenas mudam um ângulo de ligação [167, 171]. Na Figura 33, é possível observar um esquema ilustrativo do comportamento desses modos vibracionais, tanto o estiramento, quanto a deformação angular.

MODOS DE VIBRAÇÕES

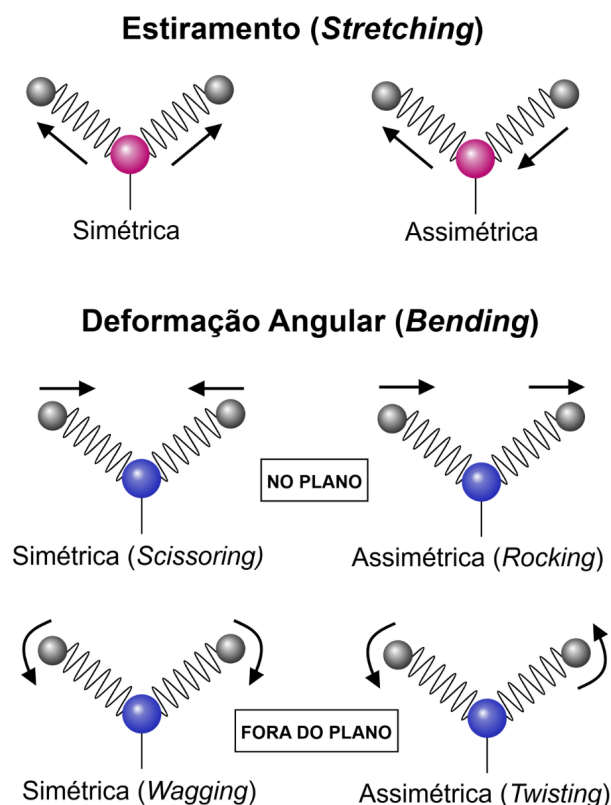


Figura 33: Representação esquemática de modos vibracionais das moléculas por espectroscopia vibracional. No estiramento (átomos em rosa) apresenta os modos simétrico e assimétrico. Na deformação angular (átomos em azul) está representado os modos de deformação angular no plano e fora do plano. As setas indicam a direção dos movimentos atômicos durante a vibração [169,172].

Espectros vibracionais são normalmente medidos por duas técnicas diferentes, a espectroscopia Raman e a infravermelho (IR), e nem sempre os espectros dessas duas técnicas são idênticos para a absorção na amostra analisada. Por esse motivo, ambas são usualmente definidas como técnicas complementares, sendo as duas necessárias para um estudo detalhado dos estados vibracionais de qualquer composto [168,170].

B.1 Espectroscopia Raman

A espectroscopia Raman é uma técnica fotônica de grande relevância, pois fornece informações para a caracterização química e estrutural de compostos orgânicos e inorgânicos. O fenômeno do efeito Raman foi observado experimentalmente pela primeira vez em 1928 por Chandrasekhara Venkata Raman, que recebeu posteriormente o Prêmio Nobel de Física em 1930 por essa descoberta e, em sua homenagem, o fenômeno e a técnica receberam seu sobrenome [170,173].

O princípio do efeito Raman envolve a interação de luz monocromática (proveniente de um laser) que é espalhada ao incidir sobre o material analisado. Quando o feixe de luz incide sobre a amostra, a maior parte dos fótons sofre espalhamento elástico (Rayleigh), onde a maior parte da luz espalhada também apresenta a mesma frequência do feixe

incidente. Isso ocorre quando a molécula, inicialmente em seu estado fundamental, absorve momentaneamente a energia do fóton e retorna ao mesmo nível energético após a interação, sem perda ou ganho de energia [167,174,175].

Entretanto, uma pequena fração dos fótons interage de forma diferente. Apenas uma pequena porção da luz é espalhada inelasticamente frente às rápidas mudanças de frequência, devido à interação da luz com a matéria, o que é uma característica intrínseca do material analisado e independente da frequência da luz incidente. Nesse processo característico do efeito Raman, a molécula é excitada de seu estado fundamental para um estado virtual de energia, no qual é um estado temporário e instável, que não corresponde a um nível eletrônico real, mas resulta da interação momentânea entre a radiação incidente e a nuvem eletrônica molecular [167,176].

A partir desse estado virtual, a molécula pode retornar para um nível vibracional mais alto que o inicial, emitindo um fóton de energia menor que a incidente. Esse processo é denominado Espalhamento Raman Stokes e é o mais comum, pois a maioria das moléculas está no estado fundamental antes da interação. Entretanto, para um nível vibracional mais baixo que o inicial, a molécula já se encontra excitada antes da interação, emitindo um fóton de energia maior que a incidente. Esse é o Espalhamento Raman Anti-Stokes, menos frequente e geralmente de menor intensidade [167,174]. Na Figura 34 está apresentado um esquema representativo dos espalhamentos.

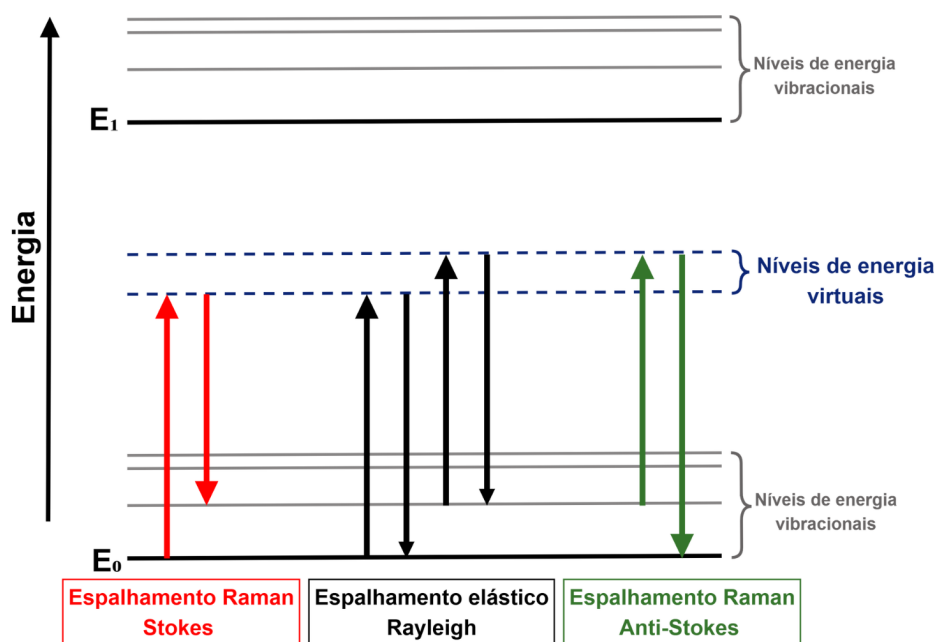


Figura 34: Diagrama de níveis de energia de espalhamento Raman. Em vermelho o espalhamento Stokes, em verde o espalhamento anti-Stokes e em preto o espalhamento Rayleigh. Os níveis de energia vibracionais são representados em cinza, e os níveis virtuais em azul tracejado [177].

O aspecto central para que um modo vibracional seja detectável por espectroscopia Raman é que, durante a vibração molecular, ocorra variação na polarizabilidade da molécula, ou seja, na facilidade com que sua nuvem eletrônica pode ser distorcida por um campo elétrico. Essa característica distingue o Raman da espectroscopia no infravermelho, que exige variação no momento de dipolo elétrico [177,178].

As bandas obtidas no espectro Raman correspondem a energias dos modos vibracionais dos diferentes elementos presentes na amostra. A técnica é especialmente útil para analisar

sólidos cristalinos, como por exemplo na análise da hidroxiapatita, devido à sua alta sensibilidade aos modos vibracionais do grupo fosfato (PO_4^{3-}), principal constituinte da estrutura cristalina do material. Na Figura 35 podemos ver um espectro da hidroxiapatita, onde é evidenciado os modos vibracionais das moléculas, estiramento ou deformação (ou, dobramento) [179].

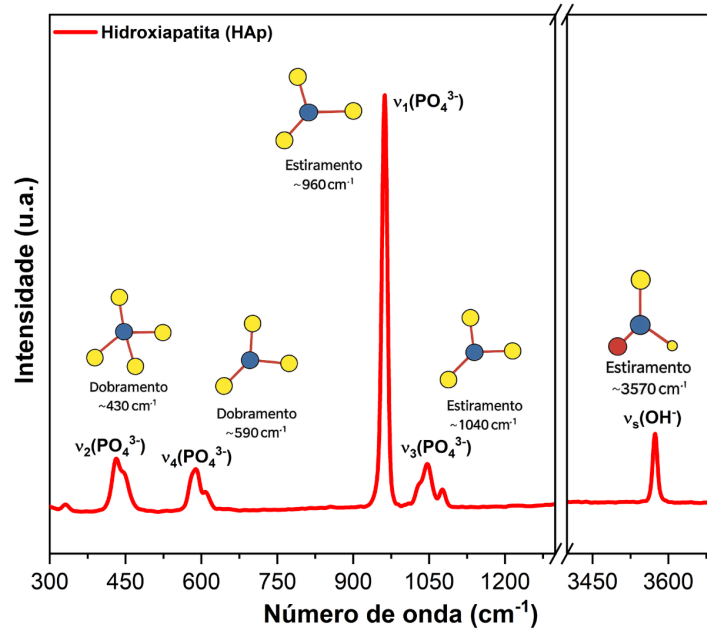


Figura 35: Espectro Raman da hidroxiapatita (HAp) destacando os principais modos vibracionais: deformação no ν_2 ($\sim 430 \text{ cm}^{-1}$) e ν_4 ($\sim 590 \text{ cm}^{-1}$), estiramento simétrico ν_1 ($\sim 960 \text{ cm}^{-1}$), estiramento assimétrico ν_3 ($\sim 1040 \text{ cm}^{-1}$) do grupo fosfato (PO_4^{3-}) e estiramento ν_s ($\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$) do grupo hidroxila (OH^-), com ilustrações representativas de cada modo [180].

Contudo, na Figura 35 o espectro da HA possui um pico intenso em aproximadamente $\sim 960 \text{ cm}^{-1}$, atribuído à vibração de estiramento simétrico (ν_1) do PO_4^{3-} , utilizado como marcador direto para identificação do material e avaliação do grau de cristalinidade. Além deste, outros modos vibracionais característicos são: o modo de deformação fora do plano (ν_2) do PO_4^{3-} , em torno de $\sim 430 \text{ cm}^{-1}$; o modo de estiramento triplo degenerado (ν_3), próximo de $\sim 1040 \text{ cm}^{-1}$ e o modo de deformação no plano (ν_4), localizado aproximadamente em $\sim 590 \text{ cm}^{-1}$. Em alguns casos, é possível identificar ainda o estiramento livre do grupo hidroxila (OH^-) por volta de $\sim 3570 \text{ cm}^{-1}$ [175]. A espectroscopia Raman possibilita a análise da hidroxiapatita de diversas maneiras, em amostras biológicas, biomateriais, revestimentos e compósitos, sendo amplamente empregada em ciência dos materiais, na odontologia, na ortopedia e engenharia de biomateriais [181].

A Figura 36 apresenta um esquema representativo do funcionamento de um espectrômetro μ -Raman do tipo confocal. À esquerda, observa-se a fonte de excitação, um laser contínuo com determinada potência nominal cujo feixe é direcionado por um sistema óptico de espelhos e divisores de feixe em direção à amostra. Uma abertura confocal pode ser usada para reduzir o laser a um ponto com difração limitada. Um conjunto de divisores de feixe e filtros (não mostrados) permite a inspeção da amostra com uma câmera de vídeo. O feixe laser é focalizado na superfície da amostra por meio de uma objetiva de microscópio, permitindo alta resolução espacial na coleta dos sinais [182, 183].

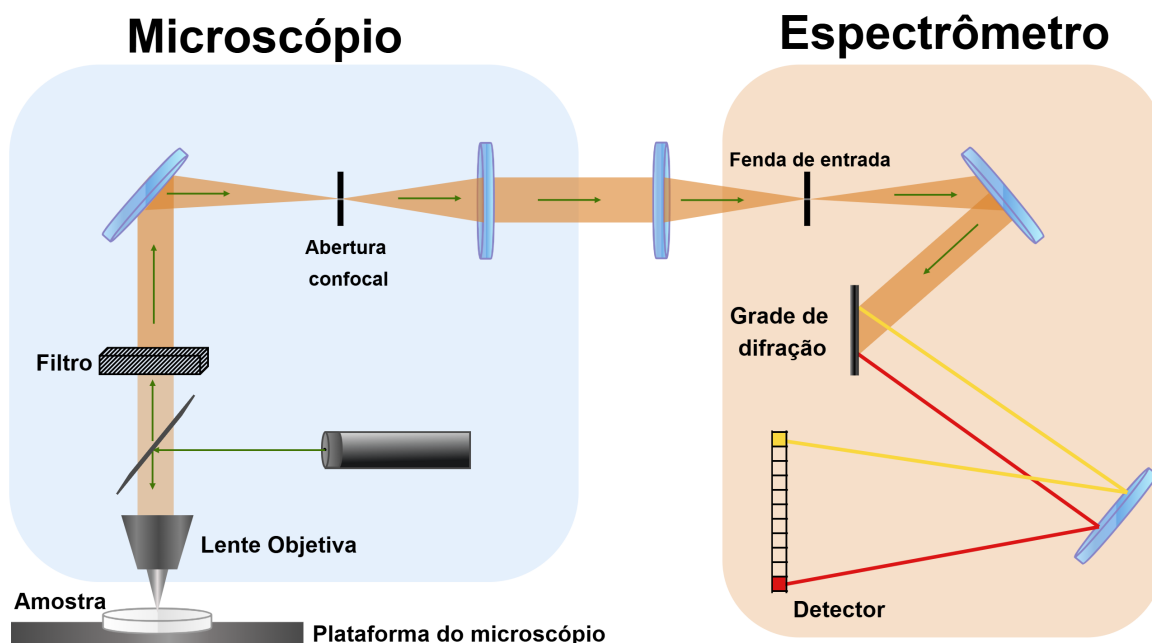


Figura 36: Esquema representativo de um espectrômetro μ -Raman confocal, ilustrando o percurso óptico do feixe laser até a amostra e o retorno da radiação espalhada para o detector. O feixe é focalizado na superfície por uma objetiva de microscópio e a luz espalhada é separada no espectrógrafo e registrada por um detector CCD, gerando o espectro Raman digitalizado [182].

Não obstante, na Figura 36, a radiação espalhada pela amostra retorna pela mesma objetiva, passando novamente pelos divisores de feixe e por diafragmas confocais, que eliminam sinais fora de foco e aumentam a relação sinal-ruído. Em seguida, a luz é direcionada para o espectrógrafo, onde ocorre a separação espectral das diferentes frequências de espalhamento Raman por meio de uma grade de difração. O sinal disperso é detectado por um detector sensível (como um CCD), e os dados obtidos são enviados a um computador, onde são processados e convertidos em espectros Raman digitalizados [183,184].

B.2 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A radiação infravermelha (IR) foi descoberta em 1800 por William Herschel, ao observar que a luz além da faixa visível vermelha provocava aquecimento em um termômetro, revelando assim a existência de radiação com comprimentos de onda superiores ao da luz vermelha. Mas somente 100 anos depois que foi utilizada por William Coblentz para se obter espectros de absorção no infravermelho, o qual obteve espectros de muitos compostos orgânicos em estado sólido, líquido e gasoso [185].

No infravermelho a absorção ocorre quando a frequência da radiação incidente está em ressonância com a frequência de vibração natural de uma molécula, desde que ocorra variação no momento de dipolo elétrico da molécula durante essa vibração. Não são todas as ligações que serão ativas no infravermelho, apenas as que variam o dipolo que interagem de forma eficiente com o campo elétrico da radiação [167,186]. O instrumento

fundamental em um espectrômetro de FTIR é o interferômetro, que pode ser conferido na Figura 37 todo o seu funcionamento.

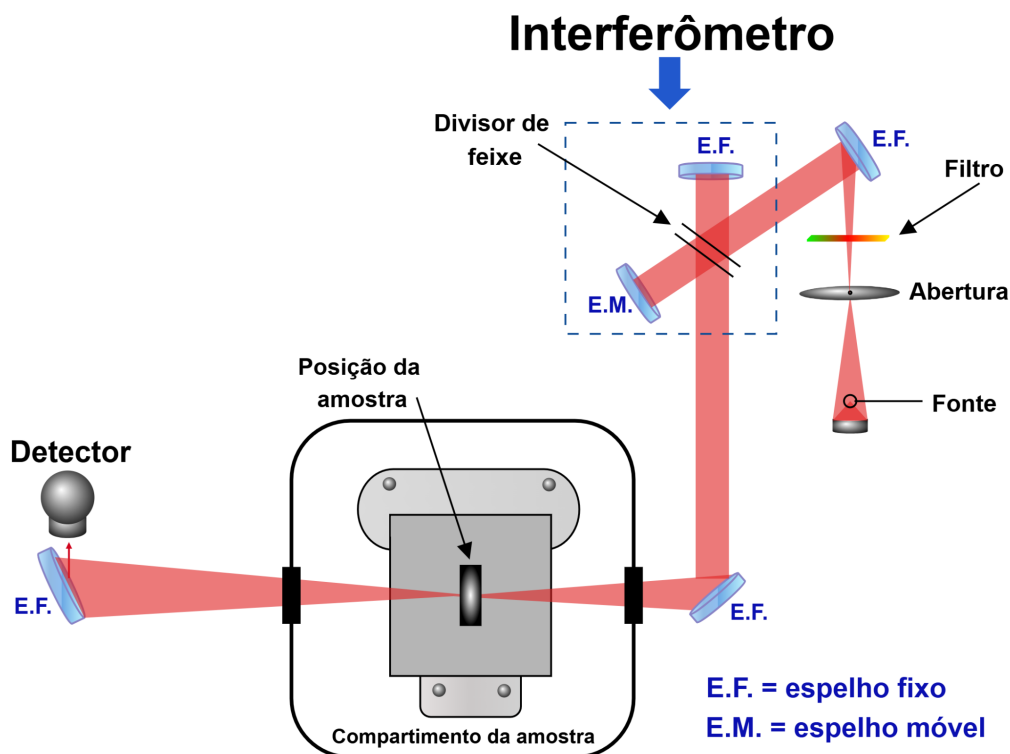


Figura 37: Esquema do interferômetro em um espectrômetro FTIR, mostrando a fonte de radiação, divisor de feixes, espelhos fixo e móvel, passagem pela amostra e detecção do sinal para geração do espectro no módulo de controle [185].

Ainda na Figura 37, o interferômetro mostrado é constituído de um divisor de feixes que reflete e transmite parcialmente a radiação que o atinge, e de dois espelhos, sendo um fixo e outro que se movimenta constantemente com uma frequência fixa. A fonte de excitação emite radiação no infravermelho composta de diferentes frequências, que incide no divisor de feixes, sendo parcialmente refletida ao espelho fixo e parcialmente transmitida ao espelho móvel. Após as reflexões nos espelhos, estas se recombinam novamente no divisor de feixes e se propagam até a amostra, e então a radiação não absorvida pela amostra é direcionada ao detector [175]. A utilização do interferômetro ao invés de elementos dispersivos estimula o processo de medida, já que todas as frequências transmitidas pela amostra são detectadas ao mesmo tempo [175, 185].

Com a variação constante da posição do espelho móvel, os feixes combinados podem estar em fase ou defasados resultando em um interferograma com máximos e mínimos de intensidade. Entretanto, o interferograma é uma função descrita no espaço temporal, não fornecendo diretamente informações com relação aos modos vibracionais das moléculas da amostra. Sendo assim é realizada a transformada de Fourier no sinal detectado convertendo o interferograma em espectro no espaço das frequências, que mostra a variação da intensidade transmitida pela amostra em função da frequência, sendo esta proporcional à energia [167]. Cada pico em um espectro de absorção no infravermelho indica um modo vibracional da amostra, que pode ser chamado de infravermelho ativo. Nem todas as ligações químicas presentes nas amostras mostram picos no espectro de infravermelho, pois para isso é necessário que o momento de dipolo da ligação entre os átomos varie durante a interação com o campo elétrico da radiação incidente [186, 187].

A espectroscopia FTIR é uma técnica muito versátil permitindo a medida em materiais opticamente opacos e transparentes, e ainda em fase líquida, sólida ou gasosa, pois os espectrofotômetros podem ser acoplados a acessórios, tais como o de reflectância total atenuada (ATR), chamada então de espectroscopia FTIR-ATR [176,188]. Nesta configuração um feixe de infravermelho é focado em um cristal com alto índice de refração, tais como seleneto de zinco, germânio ou diamante, em um ângulo definido. As reflexões internas resultantes criam uma onda transitória que atinge além da superfície externa do cristal opticamente denso e, em seguida, atinge a amostra que é mantida em contato com ele. Essa onda inicial se projeta por apenas alguns micrômetros além da superfície do cristal e na própria amostra. Portanto, deve haver contato decente feito entre a amostra escolhida e a superfície do cristal, definindo um perfil de penetração que depende de cada amostra; esta onda que penetra no material é chamada de onda evanescente. A energia atenuada final de cada onda é guiada de volta ao feixe infravermelho original, que posteriormente sai pelo outro lado do cristal, direcionado então ao detector do espectrômetro [188,189]. A Figura 38 esquematiza o funcionamento do acessório de ATR.

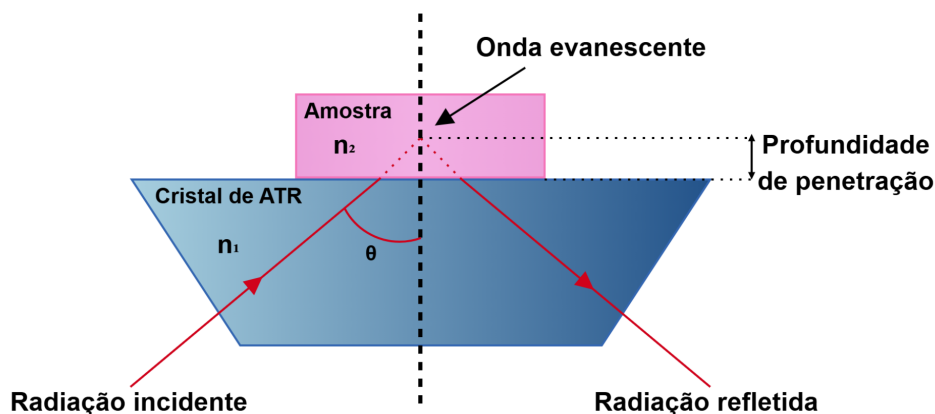


Figura 38: Diagrama esquemático do acessório de ATR para espectrômetro de FTIR. Onde n_1 e n_2 são os índices de refração do cristal de ATR e da amostra, respectivamente ($n_1 > n_2$), e θ é o ângulo de incidência da radiação incidente [188].

Para finalizar, precisamos dizer que nem sempre os espectros Raman e IR são idênticos para uma mesma amostra, e por essa razão elas são geralmente definidas como técnicas complementares, sendo ambas necessárias para uma investigação detalhada dos estados vibracionais de um composto. Estas diferenças surgem devido às regras de seleção e são elas que determinam o que esperar de cada espectro [175].

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) é uma técnica importante na caracterização de materiais, muito usada em diversas áreas da ciência como, física, engenharia, biologia e em outros campos. Diferente dos microscópios ópticos, que utilizam luz visível, essa técnica funciona com feixes de elétrons, alcança resoluções superiores e ampliação mais profunda, permitindo ver detalhes morfológicos, extrair informações sobre a composição química e características estruturais do material estudado [190, 191].

O MEV é uma ferramenta indispensável para o estudo de microestruturas, na identificação das fases, defeitos, porosidade e relações entre estrutura e propriedades mecânicas/químicas daquele material. Ele se destaca na análise de biomateriais, especificamente, quando aplicado na engenharia de tecidos, como um *scaffold* de hidroxiapatita, onde é possível ver a interconectividade de poros da estrutura, crescimento de fases bioativas e outros comportamentos nessas superfícies [190, 192–194]. Na Figura 39 é possível observar a configuração experimental de um microscópio eletrônico de varredura, possibilitando entender melhor como é realizado o experimento.

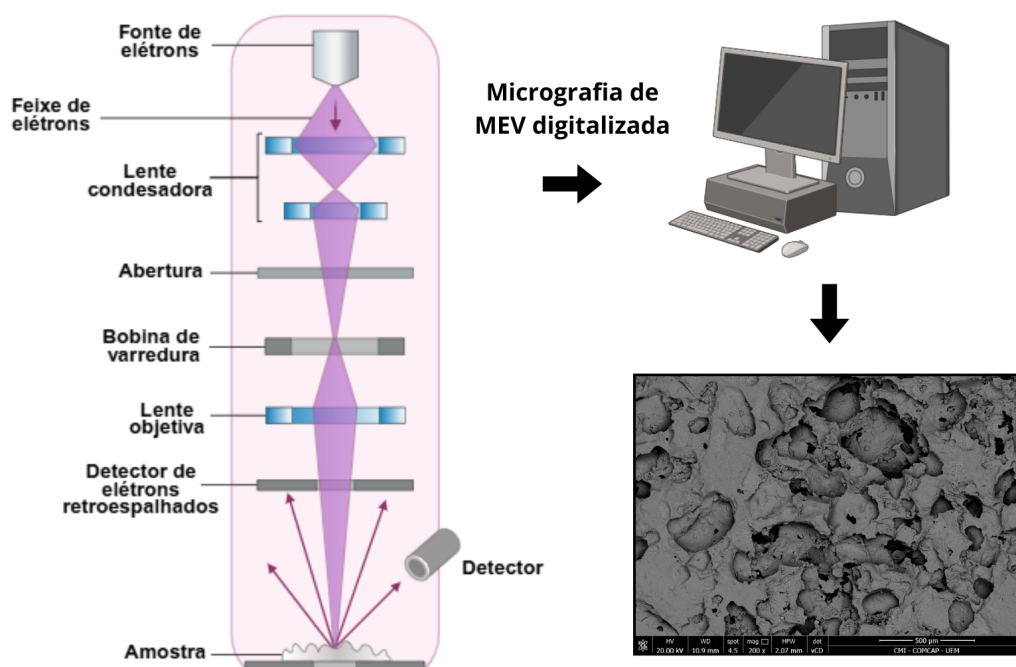


Figura 39: Esquema de funcionamento de um microscópio eletrônico de varredura (MEV) e exemplo de micrografia obtida. Na esquerda, o feixe de elétrons é gerado, focalizado por lentes eletromagnéticas, varre a amostra e interage com sua superfície, sendo detectado por detectores de elétrons secundários e retroespalhados. Já à direita, a micrografia resultante da amostra, mostrando detalhes morfológicos em alta resolução [192].

Um MEV convencional opera em vácuo e oferece resolução na escala nanométrica. Seu padrão de funcionamento se baseia na emissão termiônica de elétrons, geralmente a partir de um filamento de tungstênio. Esses elétrons são acelerados por uma tensão entre 0,5 e 30 kV dentro de uma coluna com alto vácuo, direcionando-se a um canhão de elétrons. Após atravessar o ânodo, o feixe passa por um sistema de lentes condensadoras, que o focaliza em um diâmetro extremamente fino (cerca de 50 Å) e o direciona à abertura da lente objetiva. Esta última ajusta o foco antes do feixe incidir sobre a amostra. Acima da abertura final, dentro de uma cavidade na objetiva, estão localizadas bobinas eletromagnéticas que realizam a varredura da amostra [192, 194–197].

A possibilidade de captar e mensurar as diferentes radiações geradas pela interação elétron-amostra, tornam a microscopia eletrônica de varredura bastante flexível. Após atingir a superfície do material em análise, o feixe de elétrons interage com os átomos do material e produzindo diferentes sinais, tais como elétrons secundários, elétrons retroespalhados, elétrons Auger, raios-X, radiação eletromagnética no infravermelho, visível e ultravioleta, entre outros [195–197]. A Figura 40 exemplifica o comportamento de alguns desses efeitos quando incididos na amostra.

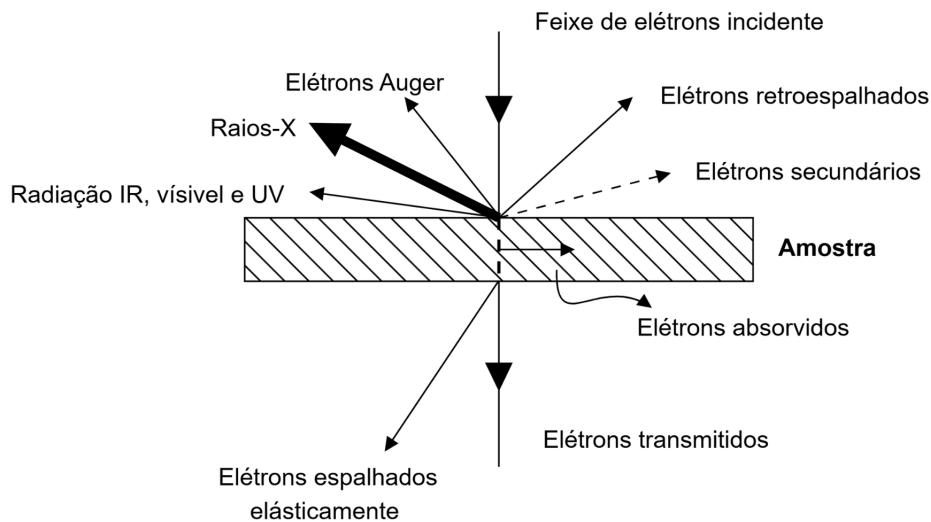


Figura 40: Esquema ilustrativo do comportamento dos efeitos que são gerados com a interação do feixe de elétrons incidente com uma amostra durante a realização da técnica de microscopia eletrônica de varredura [194].

O potencial atômico e nuclear da amostra altera a velocidade inicial dos elétrons que incidem sobre ela. Essas interações podem ser classificadas como elásticas, quando há mudança na trajetória do elétron sem variação em sua energia cinética, ou inelásticas, quando ocorre transferência de energia do elétron incidente para os átomos da amostra [194, 196]. Dentre essas interações, a geração de elétrons secundários e retroespalhados é particularmente relevante, pois fornece os sinais utilizados na formação das imagens no MEV. Essas imagens geradas apresentam profundidade de foco, permitindo ampliações que variam de 10 até 100.000 vezes. Além disso, a capacidade de detectar e mensurar as diversas radiações resultantes das interações elétron-amostra confere ao MEV uma versatilidade única, tornando-o uma ferramenta indispensável para análise microscópica [192, 196].

Referências Bibliográficas

- [1] L. L. Hench and J. M. Polak, “Third-generation biomedical materials,” *Science*, vol. 295, no. 5557, pp. 1014–1017, 2002.
- [2] I. Manjubala, M. Sivakumar, R. Sureshkumar, and T. Sastry, “Bioactivity and osseointegration study of calcium phosphate ceramic of different chemical composition,” *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 63, no. 2, pp. 200–208, 2002.
- [3] W. R. Weinand, J. A. Cruz, A. N. Medina, W. M. Lima, F. Sato, R. da Silva Palacios, M. S. Gibin, E. A. Volnistem, J. M. Rosso, I. A. Santos, *et al.*, “Dynamics of the natural genesis of β -TCP/HAp phases in postnatal fishbones towards gold standard biocomposites for bone regeneration,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 279, p. 121407, 2022.
- [4] V. Karageorgiou and D. Kaplan, “Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 27, pp. 5474–5491, 2005.
- [5] C. M. Murphy, M. G. Haugh, and F. J. O’Brien, “The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen–glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 31, no. 3, pp. 461–466, 2010.
- [6] F. J. O’Brien, “Biomaterials & scaffolds for tissue engineering,” *Materials today*, vol. 14, no. 3, pp. 88–95, 2011.
- [7] S. Li, J. R. De Wijn, J. Li, P. Layrolle, and K. De Groot, “Macroporous biphasic calcium phosphate scaffold with high permeability/porosity ratio,” *Tissue engineering*, vol. 9, no. 3, pp. 535–548, 2003.
- [8] X. Guo, H. Gao, X. Liu, J. Diao, X. Shi, N. Zhao, and Y. Wang, “Porous li-containing biphasic calcium phosphate scaffolds fabricated by three-dimensional plotting for bone repair,” *RSC Advances*, vol. 7, no. 55, pp. 34508–34516, 2017.
- [9] N. S. Capanema, A. A. Mansur, S. M. Carvalho, A. R. Silva, V. S. Ciminelli, and H. S. Mansur, “Niobium-doped hydroxyapatite bioceramics: synthesis, characterization and *in vitro* cytocompatibility,” *Materials*, vol. 8, no. 7, pp. 4191–4209, 2015.
- [10] T. Bonadio, E. Fiorentin, A. Candido, R. Miyahara, V. Freitas, H. Kiyochi Jr, L. Hernandez, J. Rosso, J. Burato, I. Santos, *et al.*, “Enhanced mechanical properties and osseointegration features of $\text{CaNb}_2\text{O}_6\text{-PNb}_9\text{O}_{25}\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ triphasic nanostructured bioceramics derived by optimised sinterization of Nb_2O_5 and natural hydroxyapatite- β -tricalcium phosphate,” *Ceramics International*, vol. 46, no. 8, pp. 12837–12845, 2020.

- [11] M. Yetmez, “Sintering behavior and mechanical properties of biphasic calcium phosphate ceramics,” *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2014, no. 1, p. 871749, 2014.
- [12] H. d. J. Kiyochi Junior, A. G. Candido, T. G. M. Bonadio, J. A. Da Cruz, M. L. Baesso, W. R. Weinand, and L. Hernandez, “*In vivo* evaluation of interactions between biphasic calcium phosphate (BCP)-niobium pentoxide (Nb_2O_5) nanocomposite and tissues using a rat critical-size calvarial defect model,” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 31, no. 8, p. 71, 2020.
- [13] G. de Castro Prado, W. R. Weinand, E. A. Volnistem, M. L. Baesso, J. N. G. Noronha, C. Truite, B. M. de Souza, T. G. M. Bonadio, P. J. dos Reis, and L. Hernandez, “Physicochemical and bone regeneration studies using scaffoldings of pure natural hydroxyapatite or associated with Nb_2O_5 ,” *Materials Chemistry and Physics*, vol. 272, p. 124922, 2021.
- [14] B. Madhavi, A. S. S. Reddy, P. S. Prasad, A. Prasad, P. P. K. Devi, V. R. Kumar, and N. Veeraiah, “The impact of Nb_2O_5 on *in-vitro* bioactivity and antibacterial activity of CaF_2 – CaO – B_2O_3 – P_2O_5 – SrO glass system,” *Ceramics International*, vol. 47, no. 20, pp. 28328–28337, 2021.
- [15] V. V. Silva, “Aplicação de biomateriais em ortopedia e engenharia de tecido ósseo,” *Revista Saúde e Meio Ambiente*, vol. 5, no. 2, pp. 14–27, 2017.
- [16] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, “Biomaterials science: an evolving, multidisciplinary endeavor,” *Journal of Biomaterials science*, pp. 15–39, 2013.
- [17] N. Huebsch and D. J. Mooney, “Inspiration and application in the evolution of biomaterials,” *Nature*, vol. 462, no. 7272, pp. 426–432, 2009.
- [18] E. Marin, “History of dental biomaterials: biocompatibility, durability and still open challenges,” *Heritage Science*, vol. 11, no. 1, p. 207, 2023.
- [19] F. J. Maksoud, M. F. V. de la Paz, A. J. Hann, J. Thanarak, G. C. Reilly, F. Claeysens, N. H. Green, and Y. S. Zhang, “Porous biomaterials for tissue engineering: a review,” *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 10, no. 40, pp. 8111–8165, 2022.
- [20] L. L. Hench and E. Ethridge, “Biomaterials: an interfacial approach,” *Journal of Biomedical Materials Research*, 1982.
- [21] B. Leukers, H. Gölkan, S. H. Irsen, S. Milz, C. Tille, M. Schieker, and H. Seitz, “Hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering made by 3D printing,” *Journal of materials science: Materials in medicine*, vol. 16, no. 12, pp. 1121–1124, 2005.
- [22] E. S. Place, N. D. Evans, and M. M. Stevens, “Complexity in biomaterials for tissue engineering,” *Nature materials*, vol. 8, no. 6, pp. 457–470, 2009.
- [23] L. A. Toazza, “Biomateriais para enxertos ósseos na odontologia: uma revisão de literatura,” *Journal of Multidisciplinary Dentistry*, vol. 11, no. 1, pp. 146–50, 2021.
- [24] A. G. Nerlich, A. Zink, U. Szeimies, and H. G. Hagedorn, “Ancient egyptian prosthesis of the big toe,” *The Lancet*, vol. 356, no. 9248, pp. 2176–2179, 2000.

- [25] Sts304, “Biological response to artificial materials and bioactive glasses.” <https://sts304.wordpress.com/2012/12/12/biological-response-to-artificial-materials-and-bioactive-glasses/>. Acesso em: 17/09/2025.
- [26] Ortoplant, “Enxerto Ósseo.” <https://ortoplant.com.br/cirurgias/>. Acesso em: 17/09/2025.
- [27] C. Ning, L. Zhou, and G. Tan, “Fourth-generation biomedical materials,” *Mater. Today*, vol. 19, no. 1, pp. 2–3, 2016.
- [28] D. F. Williams *et al.*, “Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 3-5, 1986,” (*No Title*), 1987.
- [29] D. F. Williams *et al.*, “Definitions in biomaterials: proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials, Chester, England, March 1991,” (*Elsevier*), 1992.
- [30] M. P. Bernardo, R. T. Paschoalin, D. M. d. Santos, S. Bilatto, C. S. Farinas, D. S. Correa, O. N. Oliveira Jr, and L. H. C. Mattoso, “Processamento e aplicação de biomateriais poliméricos: avanços recentes e perspectivas,” *Química Nova*, vol. 44, pp. 1311–1327, 2021.
- [31] A. L. R. Pires, A. C. Bierhalz, and Â. M. Moraes, “Biomateriais: tipos, aplicações e mercado,” *Química nova*, vol. 38, no. 7, pp. 957–971, 2015.
- [32] L. Cardoso Mendes, V. de Lima Golçalves, and A. Alves Pereira, “Biomateriais: propriedades, classificações e aplicações,” *Zenodo*, Sept. 2019.
- [33] freepik, “Ilustración de biomateriales. conjunto de colección de reemplazo de órganos etiquetados.” https://www.freepik.es/vector-premium/ilustracion-biomateriales-conjunto-coleccion-reemplazo-organos-etiquetados_7807090.htm. Acesso em: 17/09/2025.
- [34] W. Weinand, “Hidroxiapatita natural obtida por calcinação de osso de peixe e a sua aplicação na produção de materiais compósitos cerâmicos biocompatíveis,” *Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Estadual de Maringá*, 2009.
- [35] B. D. Ratner, A. S. Hoffman, F. J. Schoen, and J. E. Lemons, “Biomaterials science: an introduction to materials in medicine,” *San Diego, California*, vol. 5, pp. 162–4, 2004.
- [36] D. F. Williams, “On the mechanisms of biocompatibility,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 20, pp. 2941–2953, 2008.
- [37] B. D. Ratner and S. J. Bryant, “Biomaterials: where we have been and where we are going,” *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, vol. 6, no. 1, pp. 41–75, 2004.
- [38] T. Kokubo and H. Takadama, “How useful is sbf in predicting *in vivo* bone bioactivity?,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 15, pp. 2907–2915, 2006.

- [39] V. Rosa, N. Silikas, B. Yu, N. Dubey, G. Sriram, S. Zinelis, A. F. Lima, M. C. Bottino, J. N. Ferreira, G. Schmalz, *et al.*, “Guidance on the assessment of biocompatibility of biomaterials: Fundamentals and testing considerations,” *Dental Materials*, vol. 40, no. 11, pp. 1773–1785, 2024.
- [40] B. Huzum, B. Puha, R. M. Necoara, S. Gheorghevici, G. Puha, A. Filip, P. D. Sirbu, and O. Alexa, “Biocompatibility assessment of biomaterials used in orthopedic devices: An overview,” *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol. 22, no. 5, p. 1315, 2021.
- [41] K. Joyce, G. T. Fabra, Y. Bozkurt, and A. Pandit, “Bioactive potential of natural biomaterials: Identification, retention and assessment of biological properties,” *Signal transduction and targeted therapy*, vol. 6, no. 1, p. 122, 2021.
- [42] D. F. Williams, “Biocompatibility pathways and mechanisms for bioactive materials: The bioactivity zone,” *Bioactive Materials*, vol. 10, pp. 306–322, 2022.
- [43] D. BomBač, M. Brojan, P. Fajfar, F. Kosel, and R. Turk, “Review of materials in medical applications pregled materialov v medicinskih aplikacijah,” *RMZ–Materials and Geoenvironment*, vol. 54, no. 4, pp. 471–499, 2007.
- [44] Lisa Pruitt and Jevan Furmanski, “Polymeric biomaterials for load-bearing medical devices.” <https://www.tms.org/pubs/journals/jom/0909/pruitt-0909.html>. Acesso em: 17/09/2025.
- [45] Lisa Pruitt and Jevan Furmanski, “Osspore bioglass putty and injectable.” <https://xcem.co.in/shop/dental-bone-regen-products/osspace-bioglass-2/>. Acesso em: 17/09/2025.
- [46] PreciseCeramic, “How to use zirconia in dentistry?.” <https://www.preciseceramic.com/blog/how-to-use-zirconia-in-dentistry.html>. Acesso em: 17/09/2025.
- [47] T. E. Zucolotto, R. M. P. Gerônimo, P. I. J. Silva, and L. C. S. da Costa, “Uso de biomateriais em cirurgia geral e ortopédica,” *Brazilian Journal of Health Review*, vol. 6, no. 6, pp. 31285–31293, 2023.
- [48] M. H. P. da Silva, “Apostila de biomateriais,” *Rio de Janeiro: UFRJ*, 2006.
- [49] M. H. Faleiros-Santos, A. M. Ribeiro, W. D. Mesquita, and M. F. Gurgel, “Evolução dos biomateriais na ortopedia e cardiologia,” *Revista Processos Químicos*, vol. 13, no. 26, pp. 35–42, 2019.
- [50] L.-C. Gerhardt and A. R. Boccaccini, “Bioactive glass and glass-ceramic scaffolds for bone tissue engineering,” *Materials*, vol. 3, no. 7, pp. 3867–3910, 2010.
- [51] L. L. Hench, “The story of bioglass®,” *Journal of materials science: materials in medicine*, vol. 17, no. 11, pp. 967–978, 2006.
- [52] B. D. Ratner and G. Zhang, “A history of biomaterials,” in *Biomaterials science*, pp. 21–34, Elsevier, 2020.
- [53] Q. Fu, E. Saiz, M. N. Rahaman, and A. P. Tomsia, “Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives,” *Materials science and engineering: C*, vol. 31, no. 7, pp. 1245–1256, 2011.

- [54] A. Mahato, B. Kundu, P. Mukherjee, and S. K. Nandi, “Applications of different bio-active glass and glass-ceramic materials for osteoconductivity and osteoinductivity,” *Transactions of the Indian Ceramic Society*, vol. 76, no. 3, pp. 149–158, 2017.
- [55] E. Marin, F. Boschetto, and G. Pezzotti, “Biomaterials and biocompatibility: An historical overview,” *Journal of biomedical materials research Part A*, vol. 108, no. 8, pp. 1617–1633, 2020.
- [56] H.-G. Woo and H. Li, *Advanced functional materials*. Springer Science & Business Media, 2011.
- [57] H. Qu, H. Fu, Z. Han, and Y. Sun, “Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review,” *RSC advances*, vol. 9, no. 45, pp. 26252–26262, 2019.
- [58] T. Bonadio, “Biocompósitos de pentóxido de nióbio, hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico: produção, caracterização e estudos *in vivo* como suportes ósseos denso e poroso,” *Tese de doutorado, Programa de Pós-Graduação em Física, Universidade Estadual de Maringá*, 2014.
- [59] E. Y. Kawachi, C. A. Bertran, R. R. d. Reis, and O. L. Alves, “Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar,” *Química nova*, vol. 23, pp. 518–522, 2000.
- [60] J. Farias, G. Carvalho, and A. Braga, “Cerâmicas de fosfatos de cálcio bifásicas: Uma revisão,” *Revista Eletrônica de Materiais e Processos*, vol. 15, no. 2, 2020.
- [61] A. L. Dallabrida, N. H. Camargo, A. N. Moraes, A. Gava, G. M. Dalmônico, B. D. Costa, and N. Oleskovicz, “Caracterização de biocerâmica de fosfatos de cálcio microestruturada em diferentes composições em ovinos,” *Pesquisa Veterinária Brasileira*, vol. 38, no. 07, pp. 1327–1336, 2018.
- [62] I. Gasamáns García, “Estudio comparativo de biocerâmicas de fosfato cálcico para regeneración ósea: efectos de la estructura cristalina y de la micro y nanoporosidad,” *Tese de Doutorado, Universidade de Santiago de Compostela*, 2019.
- [63] T. Bonadio, “Estudos dos compósitos TiO_2 -hidroxiapatita e Nb_2O_5 -hidroxiapatita: Comportamento físico-mecânico, estrutural e de bioatividade,” *Maringá (PR): Universidade Estadual de Maringá*, 2011.
- [64] J. R. Viana, A. A. M. Macêdo, A. O. d. Santos, P. d. F. Façanha Filho, M. P. F. Graça, and C. C. d. Silva, “Análise comparativa da síntese de hidroxiapatita via estado sólido,” *Matéria (Rio de Janeiro)*, vol. 25, pp. e-12588, 2020.
- [65] A. Ressler, A. Žužić, I. Ivanišević, N. Kamboj, and H. Ivanković, “Ionic substituted hydroxyapatite for bone regeneration applications: A review,” *Open Ceramics*, vol. 6, p. 100122, 2021.
- [66] H. Brasil, P. Pereira, J. Correa, E. Rodrigues, *et al.*, “Síntese e caracterização de material híbrido tipo Hidrotalcita-Hidroxiapatita,” *XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, 2014.
- [67] D. Gomes, A. Santos, G. Neves, and R. Menezes, “A brief review on hydroxyapatite production and use in biomedicine,” *Cerâmica*, vol. 65, no. 374, pp. 282–302, 2019.

- [68] E. Gemelli, C. J. Franco, and N. H. A. Camargo, “Elaboração de hidroxiapatita sinterizada a alta temperatura para aplicações odontológicas,” *Matéria (Rio de Janeiro)*, vol. 25, no. 04, pp. e-12842, 2020.
- [69] R. Bonan, P. Bonan, A. Batista, J. Oliveira, R. Menezes, and E. Medeiros, “Métodos de reforço microestrutural da hidroxiapatita,” *Cerâmica*, vol. 60, pp. 402–410, 2014.
- [70] Z. Zuliantoni, W. Suprpto, P. H. Setyarini, and F. Gapsari, “Extraction and characterization of snail shell waste hydroxyapatite,” *Results in Engineering*, vol. 14, p. 100390, 2022.
- [71] T. S. de Araujo Batista and J. B. dos Santos-Filho, “Calcita, hidroxiapatita e β -fosfato tricálcio como absorvedores do ultravioleta,” *EDIFS*, 2016.
- [72] C. Ruiz-Aguilar, U. Olivares-Pinto, E. A. Aguilar-Reyes, R. López-Juárez, and I. Alfonso, “Characterization of β -tricalcium phosphate powders synthesized by sol-gel and mechanosynthesis,” *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, vol. 57, no. 5, pp. 213–220, 2018.
- [73] X. Yin, M. Stott, and A. Rubio, “ α -and β -tricalcium phosphate: A density functional study,” *Physical Review B*, vol. 68, no. 20, p. 205205, 2003.
- [74] M. Yashima, A. Sakai, T. Kamiyama, and A. Hoshikawa, “Crystal structure analysis of β -tricalcium phosphate $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ by neutron powder diffraction,” *Journal of solid state chemistry*, vol. 175, no. 2, pp. 272–277, 2003.
- [75] M. Bohner, B. L. G. Santoni, and N. Döbelin, “ β -tricalcium phosphate for bone substitution: Synthesis and properties,” *Acta biomaterialia*, vol. 113, pp. 23–41, 2020.
- [76] V. Bonzanini, “Síntese, obtenção e caracterização de hidroxiapatita a partir da casca de ovo de galinha,” *Simpósio de Engenharia Metalúrgica e de Materiais Sul Fluminense*, 2019.
- [77] A. C. F. de Melo Costa, M. G. de Lima, L. H. M. de Almeida Lima, V. V. Cordeiro, K. M. de Souto Viana, C. V. de Souza, and H. de Lucena Lira, “Hidroxiapatita: Obtenção, caracterização e aplicações,” *Revista eletrônica de Materiais e Processos*, vol. 4, no. 3, 2009.
- [78] C. Guzman Vazquez, C. Piña Barba, and N. Munguia, “Stoichiometric hydroxyapatite obtained by precipitation and sol gel processes,” *Revista mexicana de fisica*, vol. 51, no. 3, pp. 284–293, 2005.
- [79] Daniel Marques Ferreira, “Extração e caracterização de hidroxiapatita a partir de escamas de peixe.” https://www.puc-rio.br/ensinopesq/ccpg/pibic/relatorio_resumo2020/download/relatorios/CTC/DEQM/DEQM-Daniel%20Marques%20Ferreira.pdf. Acesso em: 10/08/2025.
- [80] L. B. A. d. Oliveira, A. M. V. Barbosa, L. D. A. d. S. Meira, P. L. B. d. S. Fernandes, *et al.*, “Obtenção e caracterização de hidroxiapatita a partir de ossos de peixe da Amazônia,” *XXVIII Encontro Nacional de Tratamento de Minérios e Metalurgia Extrativa*, 2019.

- [81] C. Savicki, N. H. A. Camargo, E. Gemelli, C. Copatti, N. A. Camargo, and D. F. Silva, “Carregamento e caracterização do fármaco carboplatina na microestrutura microporosa do biomaterial granulado bifásico micro e nanoestruturado de fosfato de cálcio,” *Matéria (Rio de Janeiro)*, vol. 24, pp. e–12776, 2019.
- [82] M. S. F. Hussin, H. Z. Abdullah, M. I. Idris, and M. A. A. Wahap, “Extraction of natural hydroxyapatite for biomedical applicationsA review,” *Heliyon*, vol. 8, no. 8, 2022.
- [83] S. V. Dorozhkin, “Bioceramics of calcium orthophosphates,” *Biomaterials*, vol. 31, no. 7, pp. 1465–1485, 2010.
- [84] R. N. Granito, A. C. M. Renno, H. Yamamura, M. C. de Almeida, P. L. M. Ruiz, and D. A. Ribeiro, “Hydroxyapatite from fish for bone tissue engineering: A promising approach,” *International journal of molecular and cellular medicine*, vol. 7, no. 2, p. 80, 2018.
- [85] C. A. Rocha, R. V. N. Arantes, T. M. Cestari, P. S. Santos, G. F. Assis, and R. Taga, “Maxillary sinus lift response to platelet-rich plasma associated with autogenous bone, ceramic biphasic HA/ β -TCP (70: 30), or deproteinized bovine bone,” *International Journal of Implant Dentistry*, vol. 6, no. 1, p. 79, 2020.
- [86] M. Furlani, V. Notarstefano, N. Riberti, E. D’Amico, T. V. Pierfelice, C. Mangano, E. Giorgini, G. Iezzi, and A. Giuliani, “Healing kinetics of sinus lift augmentation using biphasic calcium phosphate granules: A case series in humans,” *Bioengineering*, vol. 12, no. 8, p. 848, 2025.
- [87] A.-M. Băban, C. N. Feurdean, A. Ionel, W. A. Uriciuc, R. Chifor, C. A. B. Jaques, B. A. Boca, and A. Ilea, “Insights into sinus-lift bone grafting materials: Whats changed?,” *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 16, no. 4, p. 133, 2025.
- [88] P. Nunley, M. Sanda, H. Googe, D. Cavanaugh, K. Sage, J. Ryaby, M. B. Stone, and D. A. Cavanaugh, “Biphasic calcium phosphate bone graft with a unique surface topography: a single-center ambispective study for degenerative disease of the lumbar spine,” *Cureus*, vol. 16, no. 4, 2024.
- [89] H. W. Stempels, A. M. Lehr, D. Delawi, E. A. Hoebink, I. A. Wiljouw, D. H. Kempen, J. L. van Susante, and M. C. Kruyt, “Efficacy of biphasic calcium phosphate ceramic with a needle-shaped surface topography versus autograft in instrumented posterolateral spinal fusion,” *Dutch Clinical Spine Research Group, Spine 49(19):p 1323-1331*, 2024.
- [90] S. H. Wakelin, K. D. Cobourn, T. Stirrat, A. Sayah, K. Sage, J. Ryaby, and F. A. Sandhu, “Fusion rate of biphasic calcium phosphate bone graft with needle-shaped submicron surface topography in interbody lumbar fusion for degenerative disc disease: A single-center retrospective review,” *World Neurosurgery*, vol. 196, p. 123759, 2025.
- [91] X. Li, Q. Zhou, Y. Wu, C. Feng, X. Yang, L. Wang, Y. Xiao, K. Zhang, X. Zhu, L. Liu, *et al.*, “Enhanced bone regenerative properties of calcium phosphate ceramic granules in rabbit posterolateral spinal fusion through a reduction of grain size,” *Bioactive Materials*, vol. 11, pp. 90–106, 2022.

- [92] N. Stokovic, N. Ivanjko, M. Pecin, I. Erjavec, A. Smajlović, M. Milesevic, S. Karlovic, H. Capak, Z. Vrbanc, D. Maticic, *et al.*, “Long-term posterolateral spinal fusion in rabbits induced by rhbmp6 applied in autologous blood coagulum with synthetic ceramics,” *Scientific reports*, vol. 12, no. 1, p. 11649, 2022.
- [93] T. Bonadio, F. Sato, A. Medina, W. Weinand, M. Baesso, and W. Lima, “Bioactivity and structural properties of nanostructured bulk composites containing Nb₂O₅ and natural hydroxyapatite,” *Journal of Applied Physics*, vol. 113, no. 22, 2013.
- [94] N. H. Marins, R. M. Silva, C. P. Ferrua, D. Łukowiec, A. M. Barbosa, J. S. Ribeiro, F. Nedel, E. R. Zavareze, T. Tański, and N. L. Carreño, “Fabrication of electrospun poly (lactic acid) nanoporous membrane loaded with niobium pentoxide nanoparticles as a potential scaffold for biomaterial applications,” *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, vol. 108, no. 4, pp. 1559–1567, 2020.
- [95] N. H. Marins, B. E. Lee, R. M. e Silva, A. Raghavan, N. L. V. Carreño, and K. Grandfield, “Niobium pentoxide and hydroxyapatite particle loaded electrospun polycaprolactone/gelatin membranes for bone tissue engineering,” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 182, p. 110386, 2019.
- [96] W. Nascimento, T. Bonadio, V. Freitas, W. Weinand, M. Baesso, and W. Lima, “Nanostructured Nb₂O₅–natural hydroxyapatite formed by the mechanical alloying method: A bulk composite,” *Journal of Materials Chemistry and Physics*, vol. 130, no. 1-2, pp. 84–89, 2011.
- [97] K. Kato, “Structure refinement of H-Nb₂O₅,” *Structural Science*, vol. 32, no. 3, pp. 764–767, 1976.
- [98] B. Gatehouse and A. Wadsley, “The crystal structure of the high temperature form of niobium pentoxide,” *Acta Crystallographica*, vol. 17, no. 12, pp. 1545–1554, 1964.
- [99] É. K. A. de Lima, E. F. dos Santos Fernandes, N. I. Pacheco, E. S. Aguiar, D. C. Lopes, and L. A. P. P. F. Mendes, “Uma breve revisão sobre a hidroxiapatita: uma biocerâmica promissora,” *Research, Society and Development*, vol. 11, no. 1, pp. e26411124767–e26411124767, 2022.
- [100] P. V. C. Ferreira, L. R. Oliveira, L. A. Rocha, E. J. Nassar, B. E. C. Oliveira, F. S. Gomes, R. F. C. de Macedo, M. A. C. Sinhoreti, and J. R. de Oliveira Bauer, “Synthesis and characterization of bioactive calcium niobate particles derived from non-hydrolytic sol-gel for application in dental adhesives,” *Dental Materials*, 2025.
- [101] G. A. Moraes, “Desenvolvimento da metalurgia do pó,” *EDUFRN, Natal/RN, Brasil*, 2022.
- [102] A. S. Ferreira, “Efeito do tamanho e formato dos pós metálicos no processo de compactação na metalurgia do pó,” *Monografia (Graduação em Engenharia Metalúrgica) - Escola de Minas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto*, 2022.
- [103] V. Chiaverini and A. B. de Metais, *Metalurgia do pó: técnica e produtos*. ABM, 1992.

- [104] K. P. Sommer, A. Krolinski, M. Mirkhalaf, H. Zreiqat, O. Friedrich, and M. Vielericher, "Protocol for cell colonization and comprehensive monitoring of osteogenic differentiation in 3D scaffolds using biochemical assays and multiphoton imaging," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, no. 3, p. 2999, 2023.
- [105] M. Trzaskowska, V. Vivcharenko, and A. Przekora, "The impact of hydroxyapatite sintering temperature on its microstructural, mechanical, and biological properties," *International journal of molecular sciences*, vol. 24, no. 6, p. 5083, 2023.
- [106] E. Tsuruga, H. Takita, H. Itoh, Y. Wakisaka, and Y. Kuboki, "Pore size of porous hydroxyapatite as the cell-substratum controls BMP-induced osteogenesis," *The Journal of Biochemistry*, vol. 121, no. 2, pp. 317–324, 1997.
- [107] L. M. R. Vasconcellos, M. V. Oliveira, M. L. A. Graça, L. G. O. Vasconcellos, Y. R. Carvalho, and C. A. A. Cairo, "Porous titanium scaffolds produced by powder metallurgy for biomedical applications," *Materials Research*, vol. 11, pp. 275–280, 2008.
- [108] A. Trifonov, A. Shehzad, F. Mukasheva, M. Moazzam, and D. Akilbekova, "Reasoning on pore terminology in 3D bioprinting," *Gels*, vol. 10, no. 2, p. 153, 2024.
- [109] L. E. Z. Matsunaka and J. C. Frantz, "Análise da resistência à compressão de scaffolds fabricados por manufatura aditiva aplicados em regeneração óssea analysis of the compressive strength of scaffolds manufactured by additive manufacturing applied in bone regeneration," *Brazilian Journal of Development*, vol. 7, no. 9, pp. 93043–93069, 2021.
- [110] B. Arifvianto and J. Zhou, "Fabrication of metallic biomedical scaffolds with the space holder method: a review," *Materials*, vol. 7, no. 5, pp. 3588–3622, 2014.
- [111] R. M. Kumar and B. R. Golla, "Effect of space holder on porosity, structure and mechanical properties of al processed via powder metallurgy," *Transactions of the Indian Institute of Metals*, vol. 74, no. 9, pp. 2379–2386, 2021.
- [112] S. Lascano, C. Arévalo, I. Montealegre-Melendez, S. Muñoz, J. A. Rodriguez-Ortiz, P. Trueba, and Y. Torres, "Porous titanium for biomedical applications: evaluation of the conventional powder metallurgy frontier and space-holder technique," *Applied sciences*, vol. 9, no. 5, p. 982, 2019.
- [113] B. Lee, T. Lee, Y. Lee, D. J. Lee, J. Jeong, J. Yuh, S. H. Oh, H. S. Kim, and C. S. Lee, "Space-holder effect on designing pore structure and determining mechanical properties in porous titanium," *Materials & Design*, vol. 57, pp. 712–718, 2014.
- [114] Y. Torres, S. Lascano, J. Bris, J. Pavón, and J. A. Rodriguez, "Development of porous titanium for biomedical applications: A comparison between loose sintering and space-holder techniques," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 37, pp. 148–155, 2014.
- [115] R. Parai and S. Bandyopadhyay-Ghosh, "Engineered bio-nanocomposite magnesium scaffold for bone tissue regeneration," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 96, pp. 45–52, 2019.
- [116] J. F. Liberati and F. Ambrozio Filho, "Compactação isostática a quente do pó de aço rápido AISI M2," 2001.

- [117] V. P. Meshalkin and A. V. Belyakov, “Methods used for the compaction and molding of ceramic matrix composites reinforced with carbon nanotubes,” *Processes*, vol. 8, no. 8, p. 1004, 2020.
- [118] S. Soares, “Desenvolvimento de suportes porosos de biovidro para aplicações biomédicas,” *Dissertação de Mestrado, Universidade da Beira Interior (Portugal)*, 2012.
- [119] 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, p. 6046, 2017.
- [120] F. Thümmeler and W. Thomma, “The sintering process,” *Metallurgical Reviews*, vol. 12, no. 1, pp. 69–108, 1967.
- [121] R. H. Aspera-Werz, G. Chen, L. Schilonka, I. Bouakaz, C. Bronne, E. Cobraiville, G. Nolens, and A. Nussler, “Impact of particle size and sintering temperature on calcium phosphate gyroid structure scaffolds for bone tissue engineering,” *Journal of Functional Biomaterials*, vol. 15, no. 12, p. 355, 2024.
- [122] J. Kong, C. Xu, J. Li, W. Chen, and H. Hou, “Evolution of fractal features of pores in compacting and sintering process,” *Advanced Powder Technology*, vol. 22, no. 3, pp. 439–442, 2011.
- [123] P. Miranda, E. Saiz, K. Gryn, and A. P. Tomsia, “Sintering and robocasting of β -tricalcium phosphate scaffolds for orthopaedic applications,” *Acta biomaterialia*, vol. 2, no. 4, pp. 457–466, 2006.
- [124] P. Stastny, R. Sedlacek, T. Suchy, V. Lukasova, M. Rampichova, and M. Trunec, “Structure degradation and strength changes of sintered calcium phosphate bone scaffolds with different phase structures during simulated biodegradation *in vitro*,” *Materials Science and Engineering: C*, vol. 100, pp. 544–553, 2019.
- [125] M. L. Munar, K. Ishikawa, S. Matsuya, M. Nakagawa, *et al.*, “Effects of sintering temperature over 1,300 °C on the physical and compositional properties of porous hydroxyapatite foam,” *Dental materials journal*, vol. 25, no. 1, pp. 51–58, 2006.
- [126] C. Suryanarayana, “Mechanical alloying and milling,” *Progress in materials science*, vol. 46, no. 1-2, pp. 1–184, 2001.
- [127] M. N. S. Montanheiro, “Determinação da densidade de sólidos e líquidos pelo princípio de arquimedes,” *Caderno Brasileiro de Ensino de Física*, pp. 120–123, 2004.
- [128] B. Dennis and G. Patil, “Applications in ecology,” in *Lognormal distributions*, pp. 303–330, Routledge, 2018.
- [129] W. Weinand, “Processo de obtenção de suportes biocerâmicos porosos tridimensionais (scaffolds) para preenchimento ósseo utilizando aglomerados esféricos de lactose como agente espaçador e respectivos suportes,” BR 10 2018 011354-2. 2023.
- [130] E. T. C. Andrade *et al.*, “Análise das variáveis do processo para obtenção de compósito bronze-quasicristal,” *Dissertação de Mestrado, Universidade Federal da Paraíba*, 2022.
- [131] S. Bailliez and A. Nzihou, “The kinetics of surface area reduction during isothermal sintering of hydroxyapatite adsorbent,” *Chemical Engineering Journal*, vol. 98, no. 1-2, pp. 141–152, 2004.

- [132] M. Prakasam, J. Locs, K. Salma-Ancane, D. Loca, A. Largeteau, and L. Berzina-Cimdina, “Fabrication, properties and applications of dense hydroxyapatite: a review,” *Journal of functional biomaterials*, vol. 6, no. 4, pp. 1099–1140, 2015.
- [133] W. Nascimento, *Preparação e Caracterização Físico-Mecânica, Microestrutural e Térmica de Compósitos Base de Nióbio e Hidroxiapatita*. PhD thesis, Dissertação de Mestrado em Física, Universidade Estadual de Maringá, 2009.
- [134] W. Manning, O. Hunter Jr, F. Calderwood, and D. Stacy, “Thermal expansion of Nb_2O_5 ,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 55, no. 7, pp. 342–347, 1972.
- [135] T. Tite, A.-C. Popa, L. M. Balescu, I. M. Bogdan, I. Pasuk, J. M. Ferreira, and G. E. Stan, “Cationic substitutions in hydroxyapatite: Current status of the derived biofunctional effects and their *in vitro* interrogation methods,” *Materials*, vol. 11, no. 11, p. 2081, 2018.
- [136] R. German, “Thermodynamics of sintering,” in *Sintering of advanced materials*, pp. 3–32, Elsevier, 2010.
- [137] S. Hulbert, F. Young, R. Mathews, J. Klawitter, C. Talbert, and F. Stelling, “Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses,” *Journal of biomedical materials research*, vol. 4, no. 3, pp. 433–456, 1970.
- [138] Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS), “Powder diffraction files (PDF).” <https://bdec.dotlib.com.br/>, 2025. Acessado via Inorganic Crystal Structure Database (ICSD) de acordo com a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Brasil.
- [139] H. F. McMurdie, M. C. Morris, E. H. Evans, B. Paretzkin, W. Wong-Ng, L. Etlinger, and C. R. Hubbard, “Standard X-ray diffraction powder patterns from the JCPDS research associateship,” *Powder Diffraction*, vol. 1, no. 2, pp. 64–77, 1986.
- [140] N. V. Bulina, S. V. Makarova, S. G. Baev, A. A. Matvienko, K. B. Gerasimov, O. A. Logutenko, and V. S. Bystrov, “A study of thermal stability of hydroxyapatite,” *Minerals*, vol. 11, no. 12, p. 1310, 2021.
- [141] J. Neves, D. Navarro da Rocha, C. Lopes, M. Prado da Silva, M. Sinhoreti, L. Correr-Sobrinho, M. Fraga, and A. Correr, “Effect of pH level and calcination on the production of calcium phosphates by acidic route of wet precipitation,” *Cerâmica*, vol. 67, no. 382, pp. 236–243, 2021.
- [142] A. d. S. Azevedo, K. Strecker, and H. Gorgulho, “Efeito da temperatura em processos de sinterização de pós de hidroxiapatita,” *Cerâmica*, vol. 61, no. 357, pp. 52–59, 2015.
- [143] L. Zhang, C. Zhang, R. Zhang, D. Jiang, Q. Zhu, and S. Wang, “Extraction and characterization of HA/ β -TCP biphasic calcium phosphate from marine fish,” *Materials Letters*, vol. 236, pp. 680–682, 2019.
- [144] J. A. Cruz, *Estudo do efeito da composição e da temperatura de sinterização nas propriedades estruturais do compósito Hap/ Nb_2O_5 e da evolução das fases da biocerâmica HAp/ β -TCP em ossos de peixe calcinados em função da idade*, school = Universidade Estadual de Maringá, address = Maringá, Brasil, year = 2018, type = Tese de Doutorado. PhD thesis.

- [145] J. Rodríguez-Carvajal, “An introduction to the program,” *Laboratoire Léon Brillouin*, 2001.
- [146] K. Shimamura and J. Fu, “Dielectric properties of $\text{PNb}_9\text{O}_{25}$ – $\text{GeNb}_8\text{O}_{47}$ ceramics,” *Journal of the Ceramic Society of Japan*, vol. 131, no. 9, pp. 549–554, 2023.
- [147] L. Berzina-Cimdina and N. Borodajenko, “Research of calcium phosphates using fourier transform infrared spectroscopy,” *Infrared spectroscopy-materials science, engineering and technology*, vol. 12, no. 7, pp. 251–263, 2012.
- [148] S. Meejoo, W. Maneeprakorn, and P. Winotai, “Phase and thermal stability of nanocrystalline hydroxyapatite prepared via microwave heating,” *Thermochimica acta*, vol. 447, no. 1, pp. 115–120, 2006.
- [149] I. Rehman and W. Bonfield, “Characterization of hydroxyapatite and carbonated apatite by photo acoustic FTIR spectroscopy,” *Journal of materials science: materials in Medicine*, vol. 8, no. 1, pp. 1–4, 1997.
- [150] A. Antonakos, E. Liarokapis, and T. Leventouri, “Micro-Raman and FTIR studies of synthetic and natural apatites,” *Biomaterials*, vol. 28, no. 19, pp. 3043–3054, 2007.
- [151] K. Mathai, S. Vidya, A. John, S. Solomon, and J. Thomas, “Structural, optical, and compactness characteristics of nanocrystalline CaNb_2O_6 synthesized through an autoigniting combustion method,” *Advances in Condensed Matter Physics*, vol. 2014, no. 1, p. 735878, 2014.
- [152] A. S. Rocha, A. M. Forrester, M. H. de la Cruz, C. T. da Silva, and E. R. Lachter, “Comparative performance of niobium phosphates in liquid phase anisole benzylation with benzyl alcohol,” *Catalysis Communications*, vol. 9, no. 10, pp. 1959–1965, 2008.
- [153] E. Husson, Y. Repelin, N. Q. Dao, and H. Brusset, “Normal coordinate analysis for CaNb_2O_6 of columbite structure,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 66, no. 11, pp. 5173–5180, 1977.
- [154] N. C. d. C. A. Garcias, “Síntese por via úmida de hidroxiapatita a partir de casca de ovo (*Gallus gallus domesticus*) e sua caracterização microestrutural,” 2021.
- [155] I.-S. Cho, S. T. Bae, D. K. Yim, D. W. Kim, and K. S. Hong, “Preparation, characterization, and photocatalytic properties of CaNb_2O_6 nanoparticles,” *Journal of the American Ceramic Society*, vol. 92, no. 2, pp. 506–510, 2009.
- [156] A. A. McConnell, J. Aderson, and C. Rao, “Raman spectra of niobium oxides,” *Spectrochimica Acta Part A: Molecular Spectroscopy*, vol. 32, no. 5, pp. 1067–1076, 1976.
- [157] N. Böhme, K. Hauke, M. Dohrn, M. Neuroth, and T. Geisler, “High-temperature phase transformations of hydroxylapatite and the formation of silicocarnotite in the hydroxylapatite–quartz–lime system studied *in situ* and *in operando* by Raman spectroscopy,” *Journal of Materials Science*, vol. 57, no. 32, pp. 15239–15266, 2022.
- [158] J. Barralet, J. Knowles, S. Best, and W. Bonfield, “Thermal decomposition of synthesised carbonate hydroxyapatite,” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 13, no. 6, pp. 529–533, 2002.

- [159] A. Ali, Y. W. Chiang, and R. M. Santos, “X-ray diffraction techniques for mineral characterization: A review for engineers of the fundamentals, applications, and research directions,” *Minerals*, vol. 12, no. 2, p. 205, 2022.
- [160] E. Ameh, “A review of basic crystallography and X-ray diffraction applications,” *The international journal of advanced manufacturing technology*, vol. 105, no. 7, pp. 3289–3302, 2019.
- [161] E. Zolotoyabko, *Basic concepts of X-ray diffraction*. John Wiley & Sons, 2014.
- [162] D. ZhiLi, *Fundamentals of Crystallography, Powder X-ray Diffraction, and Transmission Electron Microscopy for Materials Scientists*. CRC Press, 2022.
- [163] A. Clearfield, J. H. Reibenspies, and N. Bhuvanesh, “Principles and applications of powder diffraction,” (*No Title*), 2008.
- [164] V. J. Pimenta and H. B. de Carvalho, “Otimização do processo de preparação e caracterização de cerâmicas do sistema Cu_2O e $\text{Cu}_2\text{O}:\text{Co}_3\text{O}_4$,” *Universidade Federal de Alfenas*, 2021.
- [165] M. Rabiei, A. Palevicius, A. Monshi, S. Nasiri, A. Vilkauskas, and G. Janusas, “Comparing methods for calculating nano crystal size of natural hydroxyapatite using X-ray diffraction,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 9, p. 1627, 2020.
- [166] G. Poralan, J. Gambe, E. Alcantara, and R. Vequizo, “X-ray diffraction and infrared spectroscopy analyses on the crystallinity of engineered biological hydroxyapatite for medical application,” in *IOP conference series: materials science and engineering*, vol. 79, p. 012028, IOP Publishing, 2015.
- [167] O. Sala, “Fundamentos da espectroscopia raman no infravermelho,” 1996.
- [168] R. A. Ando, *Espectroscopia vibracional, Raman ressonante e eletrônica de nitroderivados em sistemas conjugados*. PhD thesis, Universidade de São Paulo, 2005.
- [169] E. Mendes and N. Duarte, “Mid-infrared spectroscopy as a valuable tool to tackle food analysis: A literature review on coffee, dairies, honey, olive oil and wine,” *Foods*, vol. 10, no. 2, p. 477, 2021.
- [170] T. P. Rodrigues, *Espectroscopia vibracional, técnicas fototérmicas e quimiométricas para caracterização físico-química de diesel e combustíveis alternativos*. Tese de doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, Brasil, 2011.
- [171] J. Coates, “Vibrational spectroscopy: instrumentation for infrared and Raman spectroscopy,” *Applied spectroscopy reviews*, vol. 33, no. 4, pp. 267–425, 1998.
- [172] M. Mutsaers, “Near infrared spectroscopy as a diagnostic tool in surveillance of arboviral vector control, predicting Wolbachia infection in *post-mortem* *Aedes aegypti*,” 2018.
- [173] M. S. Haack, “Identificação e caracterização de materiais por espectroscopia Raman,” 2015.
- [174] B. Nascimento-Dias, “Raman spectroscopy and its peculiarities,” *Journal of Experimental Techniques and Instrumentation*, vol. 4, no. 01, pp. 15–25, 2020.

- [175] G. D. Webler *et al.*, “Síntese e caracterização de cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (HAp- β -TCP) puras e dopadas com magnésio,” 2015.
- [176] P. R. Griffiths, “Introduction to vibrational spectroscopy,” *Handbook of vibrational spectroscopy*, 2006.
- [177] A. B. Teixeira, “Propriedades Ópticas e vibracionais de amostras de turmalina natural.” Trabalho de Conclusão de Curso - Universidade Federal de São Paulo, 2023.
- [178] S. P. Mulvaney and C. D. Keating, “Raman spectroscopy,” *Analytical Chemistry*, vol. 72, no. 12, pp. 145–158, 2000.
- [179] W. Querido, J. M. Falcon, S. Kandel, and N. Pleshko, “Vibrational spectroscopy and imaging: applications for tissue engineering,” *Analyst*, vol. 142, no. 21, pp. 4005–4017, 2017.
- [180] V. Russo, M. Ghidelli, P. Gondoni, C. S. Casari, and A. Li Bassi, “Multi-wavelength Raman scattering of nanostructured Al-doped zinc oxide,” *Journal of Applied Physics*, vol. 115, no. 7, 2014.
- [181] D. De Faria, L. Santos, and N. Gonçalves, “Uma demonstração sobre o espalhamento inelástico de luz: repetindo o experimento de Raman,” *Química nova*, vol. 20, pp. 319–323, 1997.
- [182] L. Quaroni and F. Zobi, “Cellular imaging with metal carbonyl complexes,” *Inorganic Chemical Biology: Principles, Techniques and Applications*, pp. 149–182, 2014.
- [183] L. Bonales, J. Elorrieta, Á. Lobato Fernández, and J. Cobos, *Raman spectroscopy, a useful tool to study nuclear materials*. IntechOpen, 2016.
- [184] M. Szybowicz, A. B. Nowicka, and A. Dychalska, “Characterization of carbon nanomaterials by Raman spectroscopy,” in *Characterization of nanomaterials*, pp. 1–36, Elsevier, 2018.
- [185] C. Y. L. Ogawa, “Técnicas espectroscópicas para identificação e quantificação de compostos fenólicos sólidos,” *Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Maringá*, 2016.
- [186] H. Kaur, B. Rana, D. Tomar, S. Kaur, and K. C. Jena, “Fundamentals of ATR-FTIR spectroscopy and its role for probing in-situ molecular-level interactions,” in *Modern Techniques of Spectroscopy: Basics, Instrumentation, and Applications*, pp. 3–37, Springer, 2021.
- [187] B. C. Smith, *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*. CRC press, 2011.
- [188] A. Bieberle-Hütter, A. Bronneberg, K. George, and M. Van De Sanden, “Operando attenuated total reflection Fourier-transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy for water splitting,” *Journal of Physics D: Applied Physics*, vol. 54, no. 13, p. 133001, 2021.
- [189] P. R. Griffiths and J. A. de Haseth, “Other components of FT-IR spectrometers,” *Fourier Transform Infrared Spectrometry*, pp. 143–160, 2007.

- [190] J. Rydz, A. Šišková, and A. Andicsová Eckstein, “Scanning electron microscopy and atomic force microscopy: topographic and dynamical surface studies of blends, composites, and hybrid functional materials for sustainable future,” *Advances in Materials Science and Engineering*, vol. 2019, no. 1, p. 6871785, 2019.
- [191] K. D. Vernon-Parry, “Scanning electron microscopy: an introduction,” *III-Vs review*, vol. 13, no. 4, pp. 40–44, 2000.
- [192] F. A. Shah, K. Ruscsák, and A. Palmquist, “50 years of scanning electron microscopy of bone: a comprehensive overview of the important discoveries made and insights gained into bone material properties in health, disease, and taphonomy,” *Bone research*, vol. 7, no. 1, p. 15, 2019.
- [193] N. Hojat, P. Gentile, A. M. Ferreira, and L. Šiller, “Automatic pore size measurements from scanning electron microscopy images of porous scaffolds,” *Journal of Porous Materials*, vol. 30, no. 1, pp. 93–101, 2023.
- [194] P. N. Portes, *Caracterização e avaliação da bioatividade in vitro do sistema vítreo: $60B_2O_3 - 5CaF_2 - (20-x)Na_2O - (15-x)CaO - 2xP_2O_5$ ($x = 0, 1, 2$)*. Tese de doutorado em física, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR, Brasil, 2018.
- [195] A. Mohammed and A. Abdullah, “Scanning electron microscopy (SEM): A review,” in *Proceedings of the 2018 international conference on hydraulics and pneumatics HERVEX, Băile Govora, Romania*, vol. 2018, pp. 7–9, 2018.
- [196] A. Ul-Hamid, *A beginners’ guide to scanning electron microscopy*, vol. 1. Springer, 2018.
- [197] B. A. Dedavid, C. I. Gomes, and G. Machado, *Microscopia eletrônica de varredura: aplicações e preparação de amostras: materiais poliméricos, metálicos e semicondutores*. EdIPUCRS, 2007.