

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**PROCESSAMENTO SOL-GEL  
DE PÓS BIOATIVOS VÍTREOS E CRISTALINOS**

Renato Luiz Siqueira

**SÃO CARLOS – SP  
MARÇO 2010**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS  
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DE TECNOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS**

**PROCESSAMENTO SOL-GEL  
DE PÓS BIOATIVOS VÍTREOS E CRISTALINOS**

Renato Luiz Siqueira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais como requisito parcial à obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E ENGENHARIA DE MATERIAIS

Orientador: Dr. Edgar Dutra Zanotto

Co-orientador: Dr. Oscar Peitl Filho

Agência Financiadora: CAPES

**SÃO CARLOS – SP**

**MARÇO 2010**

**Ficha catalográfica elaborada pelo DePT da  
Biblioteca Comunitária da UFSCar**

S618ps

Siqueira, Renato Luiz.

Processamento sol-gel de pós bioativos vítreos e cristalinos / Renato Luiz Siqueira. -- São Carlos : UFSCar, 2010.

111 p.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal de São Carlos, 2010.

1. Material cerâmico. 2. Biocerâmica. 3. Materiais bioativos. 4. Sol-gel. I. Título.

CDD: 620.14 (20ª)

## **DEDICATÓRIA**

Assim como escreveu Gary Larson em um de seus livros, quando eu era criança, o *barracão* em que residia também era repleto de monstros. Ambiente propício, eles viviam embaixo da modesta mobília que possuíamos e, quando estava escuro, praticamente em toda parte. Este trabalho é dedicado à minha mãe e aos meus irmãos que me protegeram de todos esses monstros.

## **VITAE DO CANDIDATO**

Licenciado em Química pela Universidade Federal de São João del-Rei (2007)  
Técnico em Zootecnia pela Escola Agrotécnica Federal de Inconfidentes (2000)

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO  
DE

**RENATO LUIZ SIQUEIRA**

---

APRESENTADA AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E  
ENGENHARIA DE MATERIAIS, DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO  
CARLOS, EM 19 DE MARÇO DE 2010

BANCA EXAMINADORA:



---

DR. EDGAR DUTRA ZANOTTO  
(ORIENTADOR)  
PPG-CEM – UFSCar



---

DR. ANSELMO ORTEGA BOSCHI  
PPG-CEM – UFSCar



---

DR. PAULO BARBEITAS MIRANDA  
IFSC – USP



## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço ao Prof. Dr. Edgar Dutra Zanotto, por ter me recebido em seu laboratório e auxiliado no desenvolvimento deste trabalho.

A todas as pessoas com quem pude me relacionar na Universidade Federal de São Carlos, em especial aos professores, funcionários e alunos do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais.

A todos com quem convivi no dia a dia do Laboratório de Materiais Vítreos, pela companhia, incentivos, bate-papos e discussões. Saibam que não valeu a pena; valeu a convivência, valeu a alegria, valeu o desfrute de suas sapiências!

Por fim, agradeço à CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – pela concessão da bolsa de estudo e suporte financeiro que permitiram a realização deste projeto de pesquisa.



## RESUMO

Nos últimos anos, o processo sol-gel tem sido amplamente utilizado para a preparação de vidros e vitrocerâmicas com aplicações na área biomédica. Embora os precursores empregados nessa metodologia de síntese sejam um parâmetro muito importante, poucos estudos têm relatado suas influências na síntese desses materiais. No presente trabalho, pós bioativos vítreos e cristalinos dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel a partir de diferentes precursores de fósforo. Foram escolhidos o trietilfosfato ( $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ), o ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), o ácido fítico ( $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ ) e uma solução elaborada pela dissolução de óxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) em etanol. Os materiais obtidos foram caracterizados por calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria (DSC / TG), difração de raios X (DRX), espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (IVTF), microscopia eletrônica de varredura (MEV), espectroscopia por dispersão de energia (EDS) e quanto à bioatividade *in vitro*. Com a simples alternância desses precursores, as etapas principais da síntese foram significativamente influenciadas, começando pelo tempo de formação dos géis. A influência mais marcante desses precursores no processo de síntese foi verificada durante a realização de tratamentos térmicos entre 700 e 1200 °C para a conversão dos géis em materiais cerâmicos. Nesse caso, as amostras exibiram comportamento de mineralização muito diferenciado, principalmente aquelas preparadas com a utilização do ácido fosfórico. Mas, apesar disso, todos os materiais se mostraram bioativos em testes *in vitro*. A bioatividade dos materiais aqui desenvolvidos foi influenciada pela temperatura de tratamento térmico e, no caso dos materiais cristalinos, também pelas fases existentes. Em relação aos materiais vítreos, a bioatividade diminuiu com a temperatura de estabilização dos géis. Para os materiais cristalinos, a bioatividade *in vitro* foi favorecida pela presença das fases wollastonita ( $\text{CaSiO}_3$ ) e *alfa*-fosfato tricálcio ( $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ), e pela presença do silicato de sódio e cálcio  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  nos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , respectivamente.



## SOL-GEL PROCESSING OF VITREOUS AND CRYSTALLINE BIOACTIVE POWDERS

### ABSTRACT

In recent years, the sol-gel process has been increasingly used in the preparation of glasses and glass-ceramics with biomedical applications. Although the precursors used in this synthesis methodology are a very important parameter, few studies have investigated their influence on the synthesis of these materials. In the present work, vitreous and crystalline bioactive powders of the systems  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  and  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  were synthesized by means of a sol-gel route using different phosphorus precursors. The compounds chosen were triethylphosphate ( $\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$ ), phosphoric acid ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), phytic acid ( $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ ), and a solution prepared by dissolving phosphorus oxide ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) in ethanol. The resulting materials were characterized by differential scanning calorimetry and thermogravimetry (DSC / TG), X-ray diffraction (XRD), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy coupled with energy-dispersive spectroscopy (SEM / EDS), and by *in vitro* bioactivity study. The use of different precursors significantly affected the main steps of the synthesis, beginning with the gelation time. The most striking influence of these precursors in the synthesis process was observed during the thermal treatments between 700 and 1200 °C for the conversion of the gels into ceramic materials. In this case, the samples, especially those prepared using phosphoric acid, exhibited very different mineralisation behaviours, but all were proven to be bioactive with *in vitro* tests. The bioactivity of these materials was strongly influenced by the treatment temperature, and in the case of the crystalline materials, also by the phases present. In vitreous materials, the bioactivity decreased with the stabilisation temperature. In the crystalline materials, the *in vitro* bioactivity was favored by the presence of wollastonite ( $\text{CaSiO}_3$ ) and *alpha*-tricalcium phosphate ( $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) for the system  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ , and by sodium calcium silicate  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  for the system  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ .



## PUBLICAÇÕES

### ➔ Trabalhos apresentados em congressos nacionais e internacionais:

➔ SIQUEIRA, R. L.; PEITL FILHO, O.; ZANOTTO, E. D. Synthesis and characterization of vitreous and crystalline bioactive powders by chemical processes. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CRYSTALLIZATION IN GLASSES AND LIQUIDS, 9., 2009, Foz do Iguaçu. **Abstracts...** Foz do Iguaçu: Crystallization 2009, 2009. p. 165.

➔ SIQUEIRA, R. L.; PEITL FILHO, O.; ZANOTTO, E. D. Sol-gel-derived bioactive materials. In: INTERNATIONAL SOL-GEL CONFERENCE, 15., 2009, Porto de Galinhas. **Abstracts...** Porto de Galinhas: Sol-Gel '09, 2009. p. 301.

➔ SIQUEIRA, R. L.; ZANOTTO, E. D. Síntese e caracterização de pós bioativos vítreos e cristalinos via processos químicos. In: ESCOLA DE VERÃO EM FÍSICA DOS MATERIAIS, 1., 2009, São Carlos. **Resumos...** São Carlos: FísMat 2009, 2009. IFSC – USP.

➔ SIQUEIRA, R. L.; PEITL FILHO, O.; ZANOTTO, E. D. Síntese e caracterização do Biosilicato<sup>®</sup> via processos químicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 18., 2008, Porto de Galinhas. **Resumos...** Porto de Galinhas: 18° CBECiMat, 2008. p. 25.

### ➔ Prêmios recebidos em eventos nacionais:

➔ Prêmio de "Melhor Imagem Científica" da I Escola de Verão em Física dos Materiais. São Carlos: FísMat 2009, 2009. IFSC – USP.

➔ Prêmio de "Melhor Trabalho Científico" da I Escola de Verão em Física dos Materiais: São Carlos: FísMat 2009, 2009. IFSC – USP.



## SUMÁRIO

<b>BANCA EXAMINADORA</b> .....	<b>i</b>
<b>AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>v</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vii</b>
<b>PUBLICAÇÕES</b> .....	<b>ix</b>
<b>SUMÁRIO</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xv</b>
<b>SÍMBOLOS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>xxi</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>5</b>
<b>3.1 Biomateriais</b> .....	<b>5</b>
3.1.1 Biocerâmicas .....	7
3.1.2 Vidros e vitrocerâmicas bioativas .....	11
3.1.3 Testes de bioatividade <i>in vitro</i> .....	18
<b>3.2 Processamento sol-gel</b> .....	<b>22</b>
3.2.1 Método sol-gel hidrolítico .....	25
3.2.2 Método dos precursores poliméricos .....	28
3.2.3 Processamento sol-gel de vidros e vitrocerâmicas bioativas .....	30
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
<b>4.1 Vidros e vitrocerâmicas do sistema SiO<sub>2</sub>-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b> .....	<b>35</b>
4.1.1 Preparação dos géis precursores .....	35
4.1.2 Conversão dos géis em materiais cerâmicos .....	39
4.1.3 Obtenção do complexo P-AC .....	40
<b>4.2 Vidros e vitrocerâmicas do sistema SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub></b> .....	<b>41</b>
4.2.1 Preparação dos géis precursores .....	41
4.2.2 Conversão dos géis em materiais cerâmicos .....	41

<b>4.3 Teste de bioatividade <i>in vitro</i></b> .....	<b>42</b>
4.3.1 Preparação das amostras .....	43
4.3.2 Avaliação da solubilidade das amostras em solução SBF .....	44
<b>4.4 Procedimentos instrumentais de análise</b> .....	<b>45</b>
4.4.1 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria .....	45
4.4.2 Difração de raios X .....	45
4.4.3 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier .....	46
4.4.4 Ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e $^{31}\text{P}$ .....	46
4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura e microanálise .....	46
4.4.6 Espectrofotometria ultravioleta e visível .....	47
4.4.7 Eletrodo íon-seletivo .....	48
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>5.1 Vidros e vitrocerâmicas do sistema <math>\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5</math></b> .....	<b>49</b>
5.1.1 Síntese e caracterização das amostras Bio1_TEP .....	49
5.1.2 Síntese e caracterização das amostras Bio2_AFos .....	54
5.1.3 Síntese e caracterização das amostras Bio3_EFos .....	56
5.1.4 Síntese e caracterização das amostras Bio4_AFit .....	61
5.1.5 Teste de bioatividade <i>in vitro</i> .....	63
5.1.6 Formação do complexo P-AC .....	72
5.1.7 Considerações finais para o sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ .....	72
<b>5.2 Vidros e vitrocerâmicas do sistema <math>\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5</math></b> .....	<b>75</b>
5.2.1 Síntese e caracterização das amostras Bio5_TEP-Na .....	75
5.2.2 Síntese e caracterização das amostras Bio6_AFos-Na e Bio7_EFos-Na .....	79
5.2.3 Teste de bioatividade <i>in vitro</i> .....	80
5.2.4 Considerações finais para o sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ ...	87
<b>6 CONCLUSÕES</b> .....	<b>93</b>
<b>7 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS</b> .....	<b>95</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>97</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1 – Composição típica e parâmetros cristalográficos da fase mineral do tecido ósseo presente em diferentes partes do corpo humano [12] .....	8
Tabela 3.2 – Índice de bioatividade e propriedades mecânicas de biocerâmicas que são utilizadas em procedimentos clínicos [1, 7, 23, 26] .....	13
Tabela 3.3 – Concentração iônica do plasma sanguíneo humano e das soluções SBF's propostas para avaliação da bioatividade <i>in vitro</i> [7, 52] .....	19
Tabela 4.1 – Reagentes utilizados para a síntese dos pós bioativos vítreos e cristalinos do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ .....	35
Tabela 4.2 – Composição nominal estabelecida para a síntese das amostras pertencentes ao sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ .....	36
Tabela 4.3 – Programa de tratamento térmico realizado para conversão dos géis do grupo Bio1_TEP em materiais cerâmicos .....	39
Tabela 4.4 – Programa de tratamento térmico realizado para conversão dos géis do grupo Bio5_TEP-Na em materiais cerâmicos ...	42
Tabela 4.5 – Reagentes utilizados para a preparação da solução SBF ....	42



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1 – Representação esquemática de eventos ocasionados na interface de um implante metálico [3] .....	6
Figura 3.2 – Estrutura simplificada do tecido ósseo. Destaque para a fase mineral composta por cristais de HA [10, 13] .....	9
Figura 3.3 – Diagrama ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O}$ mostrando a relação existente entre composição e índice de bioatividade [7] .....	14
Figura 3.4 – Representação esquemática de como os vidros bioativos podem vir a ser utilizados na reconstituição de defeitos ósseos [34] .....	16
Figura 3.5 – Representação esquemática do mecanismo de formação da HA na superfície de um vidro bioativo do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ [55] .....	21
Figura 3.6 – Representação esquemática do processo sol-gel [62] .....	23
Figura 3.7 – Mecanismos de reação envolvendo diferentes condições de catálise e influência do pH na formação de géis a partir do TEOS .....	27
Figura 3.8 – Influência do processo de síntese na bioatividade de vidros do sistema ternário $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ : fusão / solidificação versus sol-gel [26, 80] .....	31
Figura 4.1 – Aparato utilizado para a realização da síntese do novo precursor de fósforo a partir da mistura reacional contendo óxido de fósforo e etanol .....	37
Figura 4.2 – Fluxograma das etapas de síntese elaboradas para a obtenção dos géis particulados e sua posterior conversão em materiais cerâmicos .....	38
Figura 4.3 – Dimensão das pastilhas conformadas para a realização dos testes de bioatividade <i>in vitro</i> .....	43

Figura 4.4 – Aparato utilizado na realização dos testes de bioatividade <i>in vitro</i> .....	44
Figura 5.1 – Ilustração do gel Bio1_TEP sintetizado com a utilização do TEP como precursor de fósforo .....	49
Figura 5.2 – Curvas de DSC e TG do gel Bio1_TEP .....	50
Figura 5.3 – Difratograma de raios X da amostra Bio1.1_TEP .....	51
Figura 5.4 – Curva de DSC da amostra Bio1.1_TEP .....	52
Figura 5.5 – Difratogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio1_TEP: * = apatita; * = wollastonita; * = quartzo; * = <i>alfa</i> -fosfato tricálcio; * = cristobalita .....	53
Figura 5.6 – Ilustração do gel Bio2_AFos sintetizado com a utilização do H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> como precursor de fósforo .....	54
Figura 5.7 – Difratogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio2_AFos: * = apatita; * = wollastonita; * = <i>alfa</i> -fosfato tricálcio; * = quartzo; * = cristobalita .....	55
Figura 5.8 – Espectros de RMN de <sup>31</sup> P das soluções obtidas a partir da mistura reacional contendo P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e etanol .....	57
Figura 5.9 – Espectros de IVTF das soluções obtidas a partir da mistura reacional contendo P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> e etanol .....	58
Figura 5.10 – Ilustração do gel Bio3_EFos sintetizado com a utilização do precursor de fósforo previamente elaborado a partir da dissolução do P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> em etanol (refluxo 24h) .....	59
Figura 5.11 – Difratogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio3_EFos: * = apatita; * = wollastonita; * = quartzo; * = <i>alfa</i> -fosfato tricálcio; * = cristobalita .....	60
Figura 5.12 – Ilustração do gel Bio4_AFit sintetizado com a utilização do ácido fítico como precursor de fósforo .....	61

Figura 5.13 – Difratoograma de raios X e espectro de EDS da fase precipitada durante a síntese dos géis Bio4_AFit .....	62
Figura 5.14 – Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio3.1_EFos, antes e após as realizações dos ensaios: (a) antes do ensaio; (b) após 3h; (c) após 24h; (d) após 144h .....	64
Figura 5.15 – Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio1.1_TEP e Bio2.6_AFos, antes e após a realização do ensaio: (a) e (c) antes do ensaio; (b) e (d) após 144h .....	65
Figura 5.16 – Micrografia eletrônica de varredura da superfície de uma amostra Bio1.5_TEP após 144 horas de ensaio (diferentes aumentos) .....	66
Figura 5.17 – Espectros de IVTF da superfície das amostras vítreas, antes e após a imersão em solução SBF nos diferentes tempos de ensaio .....	67
Figura 5.18 – Espectros de IVTF da superfície das amostras cristalinas, antes e após 144 horas de imersão em solução SBF .....	68
Figura 5.19 – Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo em função do tempo de exposição das amostras vítreas à solução SBF .....	69
Figura 5.20 – Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo após 144 horas de exposição das amostras vítreas e cristalinas à solução SBF .....	70
Figura 5.21 – Comportamento de mineralização dos géis Bio1_TEP, Bio2_AFos e Bio3_EFos em função das temperaturas de tratamento térmico .....	73
Figura 5.22 – Ilustração do gel Bio5_TEP-Na sintetizado com a utilização do TEP como precursor de fósforo .....	76

Figura 5.23 – Curvas de DSC e TG do gel Bio5_TEP-Na .....	76
Figura 5.24 – Difratoogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio5_TEP-Na: * = $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ ; * = $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ .....	78
Figura 5.25 – Ilustração dos géis Bio6_AFos-Na e Bio7_EFos-Na sintetizados com a utilização do $\text{H}_3\text{PO}_4$ e do precursor de fósforo previamente elaborado a partir da dissolução do $\text{P}_2\text{O}_5$ em etanol (refluxo 24h), respectivamente .....	79
Figura 5.26 – Difratoogramas de raios X das amostras derivadas dos géis Bio6_AFos-Na e Bio7_EFos-Na: * = $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ ; * = $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ .....	80
Figura 5.27 – Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio5.3_TEP-Na e Bio6.4_AFos-Na, antes e após as realizações dos ensaios: (a) e (c) antes do ensaio; (b) após 48h; (d) após 144h .....	82
Figura 5.28 – Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio7.4_EFos-Na, antes e após as realizações dos ensaios: (a) antes do ensaio; (b) após 3h; (c) após 48h; (d) após 144h .....	83
Figura 5.29 – Micrografia eletrônica de varredura e espectros de EDS da superfície de uma amostra Bio7.4_EFos-Na após 48 horas de ensaio .....	84
Figura 5.30 – Espectros de IVTF da superfície das amostras contendo sódio, antes e após a imersão em solução SBF nos diferentes tempos de ensaio .....	84
Figura 5.31 – Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo após 144 horas de exposição das amostras contendo sódio à solução SBF .....	86
Figura 5.32 – Comportamento de mineralização dos géis Bio5_TEP-Na, Bio6_AFos-Na e Bio7_EFos-Na em função das temperaturas de tratamento térmico .....	88

Figura 5.33 – Difratoogramas de raios X das amostras Bio5_TEP-Na, Bio6_AFos-Na e Bio7_EFos-Na submetidas ao tratamento térmico de 610 °C .....	90
--	----



**SÍMBOLOS E ABREVIATURAS**

AC	Ácido cítrico
AFit	Ácido fítico
AFos	Ácido fosfórico
Bio1_TEP	Identificação das amostras do grupo 1
Bio2_AFos	Identificação das amostras do grupo 2
Bio3_EFos	Identificação das amostras do grupo 3
Bio4_AFit	Identificação das amostras do grupo 4
Bio5_TEP-Na	Identificação das amostras do grupo 5
Bio6_AFos-Na	Identificação das amostras do grupo 6
Bio7_EFos-Na	Identificação das amostras do grupo 7
DRX	Difração de raios X
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
EDS	Espectrometria de energia dispersiva
EFos	Etilfosfato
EG	Etileno glicol
endo	Processo endotérmico
exo	Processo exotérmico
h	Tempo (horas)
HA	Hidroxiapatita
I <sub>B</sub>	Índice de bioatividade
IVTF	Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
Na	Sódio
pH	Potencial hidrogeniônico
RMN	Ressonância magnética nuclear
SBF	Simulated body fluid (solução simuladora do fluido corpóreo)
t	Tempo (dias)
T <sub>c</sub>	Temperatura de cristalização

TCP	Fosfato tricálcio
TEOS	Tetraetoxissilano
TEP	Trietilfosfato
$T_f$	Temperatura de fusão
TG	Termogravimetria
UV-Vis	Regiões ultravioleta e visível do espectro eletromagnético
ZAS	Cerâmica à base de zircônia, alumina e sílica
$\delta$ - delta	Modo de vibração (angular)
$\nu$ - ni	Modo de vibração (estiramento)
$\rho$ - rô	Modo de vibração (rocking)

## 1 INTRODUÇÃO

A elaboração de biomateriais sintéticos que facilitem a reparação de tecidos vivos lesionados visando o rápido restabelecimento de suas funções fisiológicas tem sido atualmente objeto de intensa investigação em nível mundial. Em se tratando da regeneração, ou mesmo reposição de partes do tecido ósseo, as cerâmicas têm sido a classe de materiais mais pesquisada, embora apenas um grupo seletivo tenha se mostrado com desempenho clínico satisfatório. Dentre os materiais cerâmicos propostos para esse fim, os vidros e as vitrocerâmicas bioativas têm sido dos mais promissores devido às suas notáveis características de interação com os tecidos vivos. Estudos recentes têm demonstrado que, além de exibirem uma resposta biológica específica na interface, que resulta na formação de uma ligação química com os tecidos, os produtos da dissolução desses materiais podem exercer um controle genético sobre o ciclo celular de osteoblastos e uma rápida expressão de genes que regulam a osteogênese e a produção de fatores de crescimento. Desse modo são capazes de direcionar a regeneração tecidual à medida que vão sendo progressivamente degradados no organismo.

A diversidade das aplicações dos vidros e vitrocerâmicas bioativas, assim como o amplo espectro de suas composições químicas e a necessidade de formas e morfologias apropriadas para suas utilizações, tornam a pesquisa nessa área do conhecimento um trabalho de característica eminentemente interdisciplinar, envolvendo uma série de fatores que são responsáveis pelo sucesso de suas aplicações. Dentre esses fatores, no que diz respeito somente às rotas de síntese, basicamente dois segmentos têm sido considerados: i) o processo convencional, envolvendo a fusão de matérias-primas e solidificação para obtenção de materiais vítreos. Quando há interesse em vitrocerâmicas, subsequentes tratamentos térmicos são realizados para cristalização. E ii) os métodos químicos, dos quais tem merecido destaque o processo sol-gel.

Estabelecendo uma relação entre essas duas metodologias de síntese, nota-se que o processo sol-gel tem demonstrado vantagens sobre o processo convencional na obtenção de vidros e vitrocerâmicas bioativas, tais como a

utilização de materiais de partida com elevada pureza, controle estrutural e composicional em nível molecular, temperaturas de processamento bem mais baixas e moldagem do material em formas complexas, tais como membranas micro e mesoporosas, *scaffolds*, filmes finos, fibras e monólitos. Também pode ser citada a tendência dos derivados sol-gel em apresentar bioatividade *in vitro* e *in vivo* superior à dos obtidos pelo processo convencional, conforme tem sido observado e destacado na literatura para o caso dos vidros bioativos. Somado a isso, ainda convém ressaltar que o método permite a elaboração de sistemas híbridos organoinorgânicos pela incorporação de proteínas e moléculas ativas *in situ* durante os procedimentos de síntese, o que torna o método sol-gel adequado à geração de materiais com aplicações cada vez mais sofisticadas.

Diante desses motivos, fica evidente que o processo sol-gel pode ser uma alternativa interessante e inovadora o suficiente para justificar estudos e, conseqüentemente, aplicações na área biomédica. Desta maneira, pode contribuir de forma significativa tanto para a indústria como para a academia. Portanto, é neste contexto que o presente trabalho discorre sobre a síntese e caracterização de pós bioativos vítreos e cristalinos dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  utilizando o processo sol-gel, tendo em conta a importância do desenvolvimento, produção e principalmente a aplicação desses biomateriais para o aumento da qualidade e surgimento de alternativas de tratamentos eficazes, duradouros e de alcance social.

## 2 OBJETIVOS

Face ao exposto, os objetivos deste trabalho são específicos para cada um dos sistemas propostos:

➤ Em relação aos pós bioativos vítreos, o objetivo é a obtenção de biovidros dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  utilizando o processo sol-gel a partir de diferentes precursores de fósforo e suas respectivas análises quanto à bioatividade *in vitro*;

➤ Em relação aos pós bioativos cristalinos, o objetivo é a obtenção de biovitrocerâmicas a partir da cristalização dos sistemas vítreos  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  anteriormente preparados e das suas análises quanto ao comportamento de bioatividade *in vitro*, visando, principalmente, a verificação da influência das fases cristalinas formadas.



## 3 REVISÃO DA LITERATURA

### 3.1 Biomateriais

A ideia de se utilizar materiais com origens naturais ou sintéticas para reparar ou mesmo substituir partes do corpo humano é uma prática utilizada há milhares de anos [1]. A esses materiais normalmente é atribuído o termo biomateriais. Em diversos achados arqueológicos, datados ainda da era pré-cristã, é possível observar que o ouro foi um dos materiais mais comuns utilizados para essa finalidade. O cobre, o ferro e o bronze também foram usados nesse período, acarretando, certamente, inúmeros inconvenientes devido às suas incompatibilidades com o organismo. A utilização indiscriminada desses e de diversos outros materiais permaneceu frequente até meados do século XIX, quando foram estabelecidos os primeiros procedimentos de assepsia cirúrgica por Joseph Lister no ano de 1860, vindo a proporcionar significativos avanços tanto na aplicação como na pesquisa de novos biomateriais [1, 2].

Desde os trabalhos de Lister, os estudos envolvendo biomateriais têm sido fortemente direcionados para o entendimento e controle dos eventos ocasionados na interface gerada entre o biomaterial e tecido no qual foi implantado, apesar de toda a complexidade envolvida, como mostra a representação esquemática na Figura 3.1 [3, 4]. Ao se considerar apenas a divisão primária dos materiais - cerâmicos, metálicos e poliméricos -, é notória toda a dificuldade em se abordar esta questão, uma vez que somente pelas características intrínsecas desses materiais as possibilidades de uso já se tornam demasiadamente diversificadas [1-4]. Desta forma, embora tenham ocorrido inúmeras tentativas de se definir o termo biomateriais e toda sua área de abrangência na ciência, somente no ano de 1986, durante a Conferência de Consenso sobre Definições em Biomateriais, realizada na cidade de Chester, é que se derivou uma definição mais consistente. Na ocasião foi sugerido que um biomaterial faz referência "*a um material não viável, utilizado em um dispositivo médico destinado a interagir com sistemas biológicos*" [5].

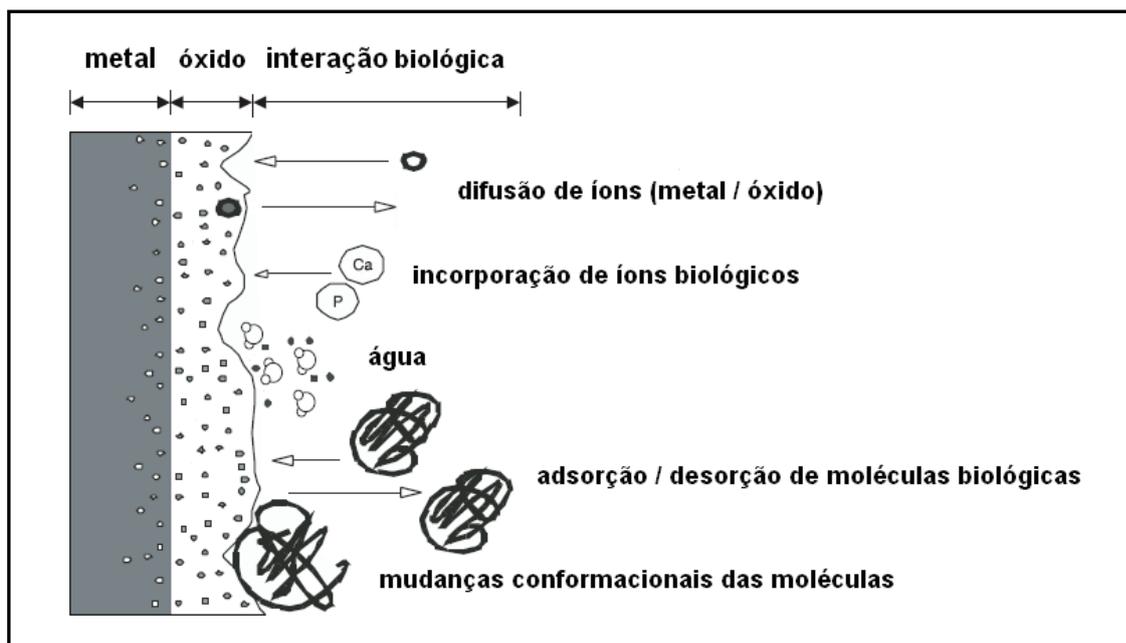


Figura 3.1: Representação esquemática de eventos ocasionados na interface de um implante metálico [3].

Mesmo após a realização da conferência do ano de 1986, questões de base conceituais acerca dos biomateriais ainda persistem e continuam sendo muito discutidas [4, 6]. Tais discussões têm sido delineadas por duas perspectivas. A primeira, relacionada com a evolução sofrida na ciência dos materiais e ao expressivo número de novos materiais que surgiram nas últimas décadas. A segunda é referente ao avanço no diagnóstico e tratamento de doenças. Em consequência desses adventos, as situações em que os biomateriais têm sido empregados atualmente são muito diferentes das de uma década atrás. Ao lado dos biomateriais estruturais tradicionais, hoje encontramos sistemas que foram projetados para desempenhar funções no âmbito médico e odontológico em que seus desempenhos são diretamente controlados pela interação existente com o organismo como, por exemplo, os sistemas híbridos organoinorgânicos e os sistemas automontados para liberação controlada de drogas [1, 3, 6].

De acordo com Williams (2009), todas essas mudanças implicam que os nossos conceitos originais sobre os biomateriais e as nossas expectativas quanto aos seus desempenhos devem também ser mudados [6]. Propondo

estimular um debate construtivo sobre os biomateriais de hoje e do futuro, esse autor redefine o termo sugerindo que *"um biomaterial é uma substância que tenha sido projetada para ter uma forma que, sozinha ou como parte de um sistema complexo, seja usada para direcionar, pelo controle das interações com os componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou de diagnóstico, na medicina humana e veterinária"* [6].

Em consonância, admitimos que qualquer definição para biomateriais não seja perfeita e nem completa, mas pode promover uma referência ou ponto de partida para novos debates. Era inevitável que tal definição sofresse atualizações para que pudesse refletir ambos: a evolução ocorrida na ciência dos materiais e o avanço que temos vivenciado quanto ao diagnóstico e tratamento de doenças. Hoje, com a ênfase crescente no desenvolvimento de metodologias não convencionais para os cuidados com a saúde, o setor que diz respeito aos biomateriais tem enfrentado desafios incomensuráveis [1, 3, 6]. Assim, limitando-nos apenas aos biomateriais cerâmicos, mais precisamente aos vidros e às vitrocerâmicas bioativas, abaixo seguirá um breve referencial, no qual serão enfatizadas suas principais contribuições nesse segmento.

### 3.1.1 Biocerâmicas

A utilização de materiais cerâmicos como biomateriais tipicamente é associada ao restabelecimento de defeitos ósseos, envolvendo com frequência procedimentos realizados em cirurgias bucomaxilofaciais e ortopédicas [1, 7]. Para esse fim, o uso das cerâmicas tem se estendido desde o emprego isolado do material, que obviamente pode ser processado sob diferentes formas e morfologias, até o revestimento de próteses metálicas ou mesmo configurações de sistemas híbridos organoinorgânicos, que são obtidos por sua associação com alguns polímeros naturais ou sintéticos [1, 7, 8].

Dentre as biocerâmicas de maior destaque neste segmento podemos citar: a *alfa*-alumina ( $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ ), devido a sua elevada resistência mecânica e boa biocompatibilidade; os vidros e vitrocerâmicas bioativas, que interagem de

forma específica com os tecidos; e as cerâmicas pertencentes à família dos fosfatos de cálcio, por sua similaridade química e estrutural com a fase mineral ou inorgânica que constitui o tecido ósseo [1, 7-11]. Representando cerca de 70% da massa de ossos e dentes, essa fase mineral presente no tecido é composta basicamente por íons cálcio, fosfato e, em menor proporção, por íons carbonato como pode ser observado na Tabela 3.1 [12].

Tabela 3.1: Composição típica e parâmetros cristalográficos da fase mineral do tecido ósseo presente em diferentes partes do corpo humano [12].

Composição típica e parâmetros cristalográficos	Dente		Osso
	esmalte	dentina	
% cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ )	36,5	35,1	34,8
% fósforo (P)	17,7	16,9	15,2
relação molar Ca/P	1,63	1,61	1,71
% sódio ( $\text{Na}^+$ )	0,50	0,60	0,90
% magnésio ( $\text{Mg}^{2+}$ )	0,44	1,23	0,72
% potássio ( $\text{K}^+$ )	0,08	0,05	0,03
% carbonato ( $\text{CO}_3^{2-}$ )	3,50	5,60	7,40
% flúor ( $\text{F}^-$ )	0,01	0,06	0,03
% cloro ( $\text{Cl}^-$ )	0,30	0,01	0,13
% pirofosfato ( $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$ )	0,022	0,10	0,07
% inorgânicos totais	97,0	70,0	65,0
% orgânicos totais	1,50	20,0	25,0
% água absorvida ( $\text{H}_2\text{O}$ )	1,50	10,0	10,0
elementos traço: $\text{Sr}^{2+}$ , $\text{Pb}^{2+}$ , $\text{Zn}^{2+}$ ...			
célula unitária hexagonal (eixo a) (Å)	$9,441 \pm 0,003$	$9,42 \pm 0,003$	$9,41 \pm 0,003$
célula unitária hexagonal (eixo c) (Å)	$6,880 \pm 0,003$	$6,88 \pm 0,003$	$6,89 \pm 0,003$
índice de cristalinidade ( $\text{HA}_m = 100$ )	70-75	33-37	33-37
tamanho médio de cristal (Å)	1300 X 300	200 X 40	250 X 30
produto de decomposição (800 °C)	$\beta$ -TCP + HA	$\beta$ -TCP + HA	HA + CaO

‰: valor expresso em massa

$\text{HA}_m$ : hidroxiapatita mineral /  $\beta$ -TCP: *beta*-fosfato tricálcio ( $\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) / CaO: óxido de cálcio

No meio biológico, o cálcio e o fósforo se combinam formando cristais de hidroxiapatita (HA) com fórmula molecular  $(Ca-Z)_{10}(PO_4-Y)_6(OH-X)_2$ , em que as letras Z, Y e X representam, respectivamente, substituições parciais dos íons  $Ca^{2+}$ ,  $PO_4^{3-}$  e  $OH^-$  na estrutura cristalina por espécies que são comumente encontradas no meio fisiológico, tais como  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $HPO_4^{2-}$ ,  $F^-$ ,  $Cl^-$ , entre outras [10-12]. Configurando a complexa estrutura do tecido ósseo, esses cristais se encontram dispostos ao longo de fibras colágenas, constituindo esse que corresponde, essencialmente, à fase orgânica primária contida no tecido [7, 10]. A combinação entre as fibras colágenas e os cristais de HA confere ao tecido ósseo toda a resistência mecânica que lhe é característica e também peculiar, uma vez que o tecido apresenta aspectos diferentes nas várias partes de ossos e dentes, por elas desempenharem funções diferentes e suportarem ações de diferentes forças [7]. Uma representação esquemática de forma simplificada da estrutura óssea é mostrada na Figura 3.2, recebendo destaque a fase mineral composta pelos cristais de HA [10, 13].

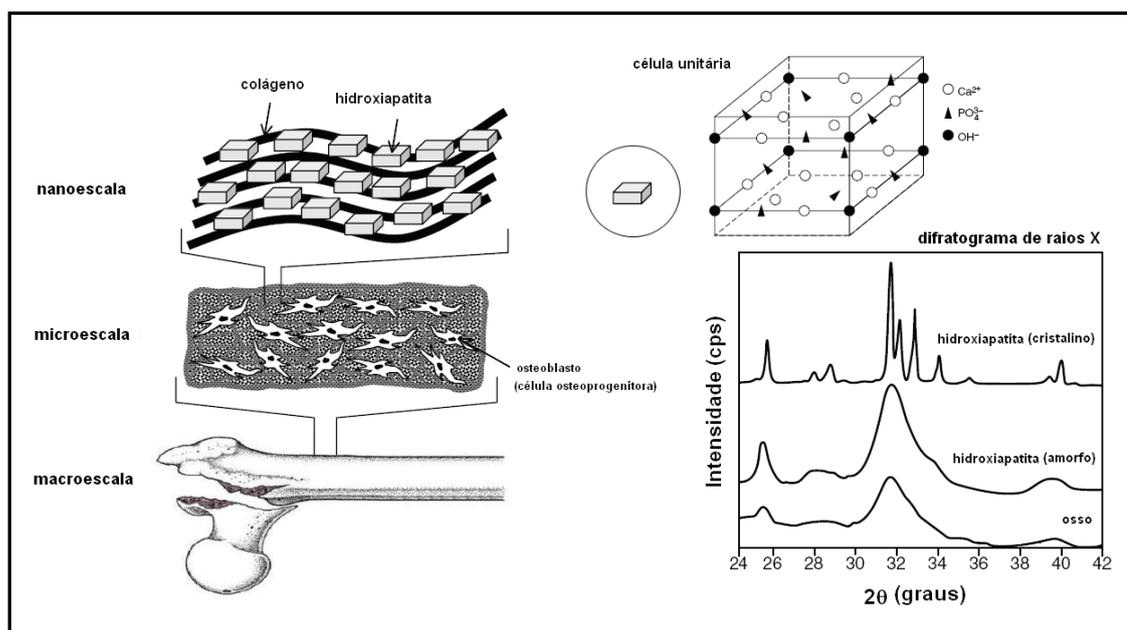


Figura 3.2: Estrutura simplificada do tecido ósseo. Destaque para a fase mineral composta por cristais de HA [10, 13].

Embora a semelhança entre os padrões de difração de raios X da fase mineral do tecido ósseo e da HA natural só tenha sido observado no ano de

1926, inicialmente com os trabalhos realizados por de Jong [14], o uso de biocerâmicas destinadas à reconstituição de ossos e dentes já vinha sendo realizado há mais de séculos [1, 15]. Na prática clínica, o uso controlado das biocerâmicas teve início no final do século XVIII com a utilização da porcelana para a confecção de coroas dentárias na odontologia. Na ortopedia, esse início se deu no final do século XIX com o uso do gesso (sulfato de cálcio hidratado,  $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), sendo ele empregado para preenchimento ósseo [7, 15].

Com a pretensão de se atender aos requisitos exigidos de materiais dedicados a aplicações cada vez mais específicas, no século XX inúmeras cerâmicas de "alta tecnologia" se tornaram disponíveis para fins biomédicos [1, 7]. No ano de 1920, Albee e Morrison [16] relataram as primeiras aplicações de cerâmicas pertencentes à família dos fosfatos de cálcio para reparação óssea, imaginando na ocasião se tratar de um composto formado unicamente por fosfato tricálcio (TCP,  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ). A primeira aplicação dentária desses materiais foi relatada por Nery *et al.* [17] 50 anos mais tarde, fazendo uso de um material sintético poroso obtido pela sinterização do até então descrito TCP, que posteriormente demonstrou ser, na verdade, uma mistura constituída por HA e  $\beta$ -TCP [10]. Biocerâmicas apresentando elevada biocompatibilidade e resistência mecânica, destinadas à elaboração de próteses ortopédicas para substituição de ossos ou parte deles que são submetidos, na sua atividade funcional, a esforços elevados, não foram atingidas antes de 1965, quando a primeira alumina densa, dedicada à reposição de articulações do quadril foi patenteada [7, 15]. Poucos anos depois, outro advento proporcionou significativas mudanças, tanto no conceito como na aplicação das biocerâmicas, o surgimento dos vidros bioativos [18]. Dada a importância desses materiais, seu desenvolvimento no final da década de 60 reflete até hoje as tendências observadas nesse segmento, que tem tido como foco a regeneração tecidual em vez de sua simples substituição [1, 7, 9, 15, 19].

Devido ao aumento do número de materiais cerâmicos utilizados como biomateriais e os diversos aspectos envolvidos na interação com os tecidos vivos, tem-se procurado classificá-los em diversos grupos. Assim, em termos gerais, as biocerâmicas são classificadas em bioinertes e bioativas [1, 7, 8]. De

acordo com a Conferência de Consenso sobre Definições em Biomateriais, que foi anteriormente mencionada [5], o termo bioinerte não é adequado, já que todo material induz algum tipo de resposta do tecido hospedeiro, mesmo que mínima, devendo, por esse motivo, ser evitado. No entanto, ele ainda é comumente utilizado, fazendo referência aos materiais que apresentam uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição do tecido hospedeiro, havendo apenas formação de uma membrana de tecido fibroso ao redor do material [5, 15, 20]. Esse mecanismo tem como propósito o isolamento do material de forma a prevenir possíveis interações adicionais que possam vir a ocorrer com o tecido [3]. Dentre as cerâmicas bioinertes que se encontram disponíveis atualmente e que têm apresentado uso mais difundido estão a  $\alpha$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$ , a zircônia ( $\text{ZrO}_2$ ) e o carbono pirolítico [1, 7, 15]. Por outro lado, as cerâmicas bioativas são definidas como aquelas que induzem uma resposta biológica específica na interface, resultando na formação de uma ligação química entre o tecido vivo e o material sem a presença de invólucros fibrosos [5, 7, 8]. Toda a figuração quanto ao desenvolvimento e característica das cerâmicas bioativas poderá ser acompanhada na subseção 3.1.2.

Antes de passar para a próxima subseção, é importante deixar claro que o uso das biocerâmicas não se restringe aos procedimentos biomédicos destinados à reparação do tecido ósseo. Elas podem também ser usadas para reparar ou mesmo substituir partes do sistema cardiovascular, especialmente válvulas cardíacas, bem como serem utilizadas de forma terapêutica para o tratamento de tumores. Uma descrição detalhada dessas e de diversas outras aplicações para as biocerâmicas não faz parte do escopo deste trabalho, no entanto fica como sugestão de leitura às referências [1, 3, 6-8, 11], que o fazem de maneira suntuosa.

### 3.1.2 Vidros e vitrocerâmicas bioativas

Como previamente mencionado, o estudo das cerâmicas bioativas teve início no final da década de 60 com o desenvolvimento de certas composições

de vidros silicatos. Resultado dos trabalhos pioneiros de Hench *et al.*, entre 1969-71 surge o Bioglass<sup>®</sup> 45S5, vidro do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  que, devido as suas excepcionais propriedades, permanece até hoje um dos mais utilizados clinicamente [18]. Na oportunidade, o termo bioatividade foi utilizado pela primeira vez para descrever a habilidade que esse material apresenta de se ligar fortemente ao tecido ósseo. Quando implantado no organismo, uma camada de HA biologicamente ativa se forma na superfície desse material, o que promove uma interface para a ligação com o tecido. A fase HA formada possui composição química e estrutura equivalente à fase mineral do tecido ósseo, o que promove a forte ligação interfacial observada [7, 8, 21, 22]. Hoje, já é de conhecimento que outros materiais também podem ser bioativos, como por exemplo, novas composições de vidros, vitrocerâmicas e as cerâmicas da família dos fosfatos de cálcio [7, 11, 21-23]. Convém ainda citar alguns metais e ligas, desde que sob condições especiais de tratamento superficial [24, 25].

Por suas características intrínsecas e natureza distinta, é de se esperar que esses materiais citados acima apresentem índices de bioatividade variado, ou seja, apresentem diferentes tempos para o estabelecimento de ligação com o tecido. O índice de bioatividade ( $I_B$ ) de um material pode ser relacionado com o tempo,  $t$ , em dias, para que mais de 50% de sua superfície esteja ligada às células do tecido, sendo  $I_B = 100/t_{0,5bb}$ . A HA, por exemplo, apresenta índice de bioatividade muito inferior à de alguns vidros e vitrocerâmicas bioativas. De acordo com Hench (1998), o índice de bioatividade do Bioglass<sup>®</sup> 45S5 é 12,5, ao passo que a HA exibe índice de bioatividade de 3,1 [26]. Dessa forma, enquanto o Bioglass<sup>®</sup> 45S5 levaria cerca de 8 dias para que 50% de sua superfície esteja ligada às células do tecido, a HA levaria cerca de 32 dias, se utilizados sob as mesmas condições experimentais.

Em geral, um maior índice de bioatividade é alcançado com materiais vítreos, contudo esses materiais apresentam baixas propriedades mecânicas, o que impede a sua ampla utilização como implantes em situações em que o implante é submetido a condições de maiores solicitações mecânicas. Algumas cerâmicas e vitrocerâmicas, especialmente desenvolvidas para a obtenção de propriedades bioativas, apresentam propriedades mecânicas superiores às dos

vidros bioativos, porém a introdução de cristalinidade no material, necessária para a obtenção de cerâmicas e vitrocerâmicas com melhores propriedades mecânicas, geralmente reduz drasticamente seu índice de bioatividade. Desta forma, de um modo geral são obtidos vidros bioativos com elevado índice de bioatividade e baixas propriedades mecânicas ou cerâmicas e vitrocerâmicas com elevadas propriedades mecânicas e baixo índice de bioatividade, como pode ser observado na Tabela 3.2 para alguns desses materiais [1, 7, 23, 26].

Tabela 3.2: Índice de bioatividade e propriedades mecânicas de biocerâmicas que são utilizadas em procedimentos clínicos [1, 7, 23, 26].

Biocerâmicas	Bioglass® 45S5	Bioglass® 52S4.6	A/W	Ceravital®	HA <sub>s</sub>	Biolox® Forte
Índice de bioatividade (I <sub>B</sub> )	12,5	10,5	6	5,6	3,1	0
Resistência à flexão (MPa)	40	40	215	100–150	50–200	466
Resistência à compressão (MPa)	?	?	1080	500	500–100	4400
Módulo de elasticidade (GPa)	35	35	118	100–159	80–110	380
Estrutura	fase vítrea	fase vítrea	$\beta$ -CaSiO <sub>3</sub> ( <sup>1</sup> ) apatita fase vítrea	( <sup>1</sup> ) apatita fase vítrea	( <sup>2</sup> ) apatita	$\alpha$ -Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>

?: dado não encontrado na literatura

A/W: vitrocerâmica /  $\beta$ -CaSiO<sub>3</sub>; *beta*-wollastonita / (<sup>1</sup>): composição não definida

Ceravital®: vitrocerâmica / (<sup>1</sup>): composição não definida

HA<sub>s</sub>: hidroxiapatita sintética / (<sup>2</sup>): (Ca)<sub>10</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>6</sub>(OH)<sub>2</sub>

Em se tratando apenas dos vidros e vitrocerâmicas bioativas, tem sido observado na literatura que somente uma série de composições muito limitada exhibe alto índice de bioatividade. A relação entre composição e bioatividade para vidros do sistema SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, obtidos pelo processo de fusão e solidificação, é mostrada na Figura 3.3, na qual é assumida concentração constante de 6% em massa de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. No diagrama, as delineações em cinza estão indicando limite cinético e não limite de equilíbrio de fases.

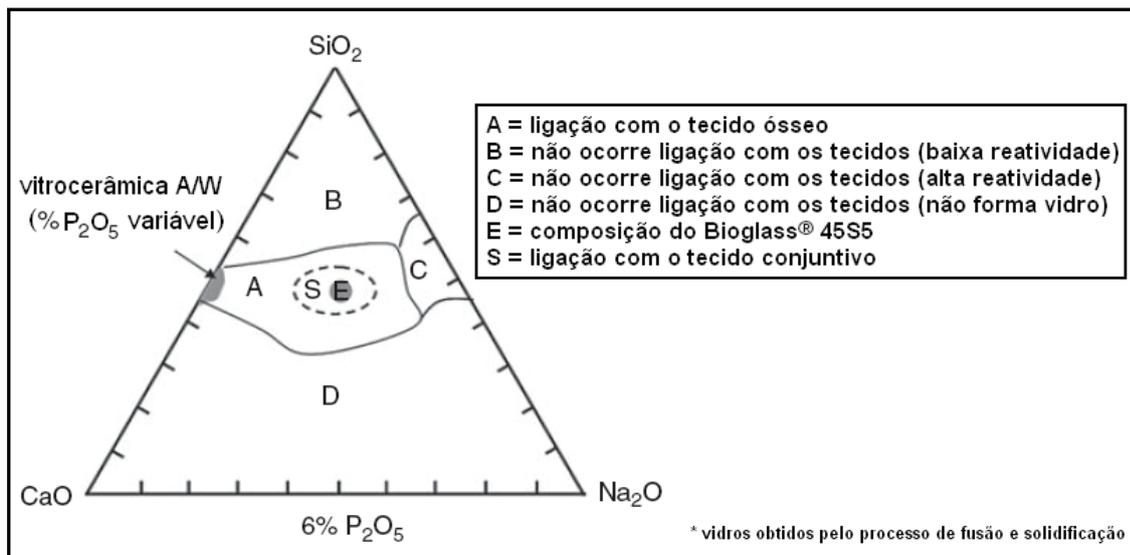


Figura 3.3: Diagrama ternário SiO<sub>2</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O mostrando a relação existente entre composição e índice de bioatividade [7].

Na região central do diagrama, designada pela letra E, se encontram as composições dos vidros que exibem índice de bioatividade mais elevado para este sistema. As composições que contêm de 52 a 60% em massa de SiO<sub>2</sub> apresentam taxas de ligação mais lentas com o tecido ósseo. Acima de 60% de SiO<sub>2</sub> (região B) não há formação de ligação com o tecido, assumindo o material comportamento bioinerte. No entanto, com o aumento da área de superfície do material, que pode ser conseguido tanto pelo seu processamento em diferentes formas e morfologias como também se lançando mão de outra metodologia de síntese, como é o caso do método sol-gel, esse intervalo de concentração de SiO<sub>2</sub> pode ser estendido conservando-se ainda elevados índices de bioatividade [7, 18, 26]. Adicionando determinados componentes ao sistema que contenham cátions polivalentes, tais como Al<sup>3+</sup>, Ti<sup>4+</sup> ou Ta<sup>5+</sup>, é observada redução da bioatividade do material à medida que a concentração dessas espécies aumenta [7, 27]. A base científica para a habilidade que uma dada composição de vidro apresenta em se ligar aos tecidos está associada com a taxa das reações que ocorre na sua superfície. Todavia são essas mesmas espécies polivalentes, incluindo o Si<sup>4+</sup>, que estruturam a rede vítrea e, portanto, são as mesmas que regulam como e com que intensidade as reações de superfície irão ocorrer.

Até o ano de 1981, imaginava-se que somente o tecido ósseo podia interagir com os materiais bioativos. Wilson *et al.* (1981) foram os primeiros a demonstrar que o Bioglass<sup>®</sup> 45S5 também exibia interação com o tecido conjuntivo, desde que a interface estivesse imóvel [28]. Posteriormente, esses autores ainda mostraram que apenas os vidros com taxas rápidas de reação superficial são capazes de interagir com o tecido conjuntivo, restringindo de maneira considerável as composições que exibem essa propriedade conforme pode ser observado no diagrama da Figura 3.3 (região S). Essa constatação serviu de base para o uso do Bioglass<sup>®</sup> 45S5 em procedimentos cirúrgicos destinados à reconstrução da cadeia ossicular, conhecido como ossiculoplastia, e também na sua aplicação para a preservação do rebordo alveolar em pacientes submetidos à exodontia e posterior colocação de implantes [7, 18].

A proposição que se admite por trás dessa importante descoberta para o avanço da medicina regenerativa é que os produtos da dissolução desses materiais podem exercer um controle genético sobre o ciclo celular de osteoblastos, que são as células osteoprogenitoras, e também proporcionar a expressão genética, que pode regular a osteogênese e a produção de fatores de crescimento. Sete famílias de genes são reguladas quando osteoblastos humanos primários são expostos a produtos iônicos da dissolução dos vidros bioativos. Nesse sentido, o silício tem sido considerado o elemento químico de maior importância para a mineralização do tecido, através do estímulo à síntese de colágeno tipo 1 em osteoblastos e para a ativação genética envolvida no processo [19, 30-33].

É importante frisar que, por causa de todas essas propriedades, o desenvolvimento e aplicação dos biomateriais destinados à reparação do tecido ósseo tem sido focado no conceito de bioatividade, sendo buscada a regeneração tecidual em vez de sua simples substituição, já que a essência das tendências atuais é despertar a capacidade do corpo para a regeneração, dando a este assistência na forma de matrizes tridimensionais, remodeláveis e bioabsorvíveis, moléculas e também células instrutivas, caso essas não estejam disponíveis para serem mobilizadas [1, 6, 7, 9, 15, 19, 21, 32]. Nesta nova área em expansão, destaca-se a utilização das cerâmicas bioativas na

engenharia de tecidos, na qual elas são arquitetadas de forma a se maximizar toda a sua potencialidade, reproduzindo, sempre que possível, a estrutura natural obtida nos sistemas vivos. À luz destas novas tendências, uma das possíveis formas de aplicação desses materiais para a reconstituição óssea é mostrada na representação esquemática da Figura 3.4, em que matrizes altamente porosas são projetadas (*scaffolds*), no caso utilizando-se os vidros bioativos, para direcionar a regeneração do tecido localmente [34].

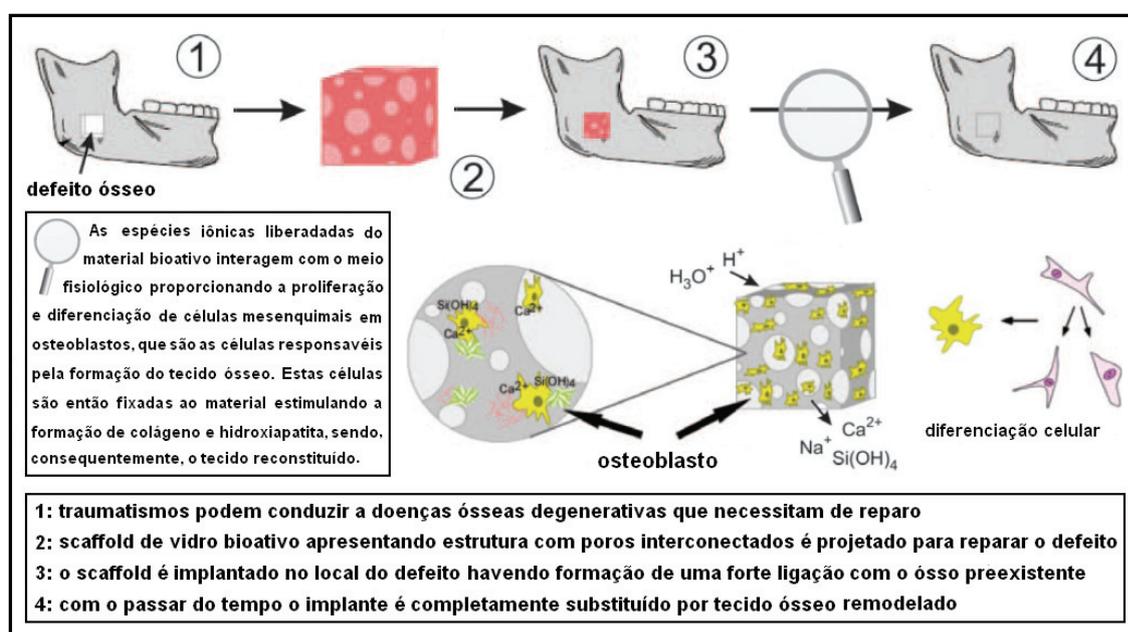


Figura 3.4: Representação esquemática de como os vidros bioativos podem vir a ser utilizados na reconstituição de defeitos ósseos [34].

Mesmo com toda a potencialidade dos vidros bioativos em promover a regeneração do tecido ósseo, o baixo desempenho mecânico desses materiais tem limitado bastante a sua utilização em diversos setores, inclusive na engenharia de tecidos. Um caminho promissor para minimizar tais problemas tem sido a formulação de materiais híbridos organoinorgânicos a partir de suas combinações com materiais poliméricos, tais como o álcool polivinílico (PVA), a quitosana ou mesmo o colágeno [1, 7, 8, 19 21]. Outra possibilidade seria a obtenção de vitrocerâmicas a partir da cristalização destes vidros que, além de poder exibir melhores propriedades mecânicas, também estariam aptas para a elaboração desses compostos híbridos, podendo até configurar materiais

com resistência superior, quando comparados aos que utilizaram os vidros bioativos. Entretanto, como já mencionado anteriormente, a introdução de cristalinidade no material, necessária para a obtenção de vitrocerâmicas que exibem melhores propriedades mecânicas, geralmente reduz drasticamente seu índice de bioatividade. Em função disso, a utilização das vitrocerâmicas também tem sido bastante restrita, uma vez que, para interagir com o tecido conjuntivo e, conseqüentemente, atender aos requisitos que são exigidos de materiais destinados à elaboração de matrizes na engenharia de tecidos, é necessário índice de bioatividade superior a 8 ( $I_B > 8$ ) [7, 8, 21, 29].

É oportuno mencionar uma vitrocerâmica que atende, de forma satisfatória, a boa parte dos requisitos que são exigidos neste recente segmento, denominada Biosilicato<sup>®</sup>. Resultado de uma longa evolução na área dos materiais bioativos, após décadas de estudo realizados na área dos vidros e vitrocerâmicas bioativas, o Biosilicato<sup>®</sup> apresenta propriedades mecânicas superiores às dos vidros bioativos e, diferentemente das outras vitrocerâmicas bioativas que se encontram atualmente disponíveis, tais como as que são expostas na Tabela 3.2, é totalmente cristalino e exibe elevado índice de bioatividade [35, 36]. Os estudos envolvendo essa vitrocerâmica tiveram início na década de 90 com os trabalhos de doutoramento de Peitl Filho [37], resultando em um depósito de patente no ano de 1997 [38]. O seu desenvolvimento na forma particulada em 2003 por Ravagnani *et al.* [39] no Laboratório de Materiais Vítreos situado no Departamento de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de São Carlos resultou em outro depósito de patente, que posteriormente foi estendida à fase internacional através do tratado de cooperação em patentes para os Estados Unidos da América, Japão, China, Coréia, Rússia, Indonésia e Europa [40, 41].

Atualmente, o Biosilicato<sup>®</sup> figura como alvo de diferentes frentes de pesquisa, envolvendo desde sua aplicação para a manutenção da saúde bucal até aos procedimentos cirúrgicos destinados à reconstituição da cadeia ossicular [39, 42-46]. Ainda convém salientar o seu processamento a partir de diferentes rotas de síntese e também sua conformação para a obtenção de matrizes macroporosas com potencial uso na engenharia de tecidos [47, 48].

### 3.1.3 Testes de bioatividade *in vitro*

Diante das dificuldades experimentais e problemas éticos inerentes aos procedimentos *in vivo* para se avaliar a bioatividade de um determinado material, na qual são envolvidos procedimentos cirúrgicos e, na maioria dos casos, posterior sacrifício dos animais envolvidos, vários procedimentos *in vitro* têm sido propostos buscando reproduzir, da maneira mais fiel possível, o que se tem observado *in vivo*. A primeira questão a ser colocada é: como saber se um material é ou não bioativo? A maioria dos materiais bioativos desenvolvidos até o momento apresenta a habilidade de formação em sua superfície de uma camada de HA quando em contato com os tecidos vivos, logo vindo a se ligar quimicamente ao tecido ósseo [7, 21, 29]. Por sua vez, essa habilidade que os materiais bioativos apresentam pode ser reproduzida *in vitro*, desde que o material seja exposto a um meio apropriado. Assim, com base nos resultados obtidos, é possível traçar um direcionamento, devendo a formação *in vitro* de HA na superfície do material ser considerada como um indício de que o material possa mesmo vir a ser bioativo, o que reduz, de forma significativa, o número de experimentos que seriam realizados *in vivo*.

Estudos pioneiros desse tipo foram realizados por Pantano Jr. *et al.* (1974), que mostraram o crescimento de uma camada rica em íons cálcio e fosfato na superfície do Bioglass<sup>®</sup> 45S5 logo após sua imersão em uma solução aquosa contendo ácido clorídrico (HCl) e tris(hidroximetil)aminometano como agente tamponante (tampão tris) [49]. No entanto, posteriormente foi verificado para outros sistemas, inclusive alguns com bioatividade comprovada *in vivo*, que não ocorria o crescimento dessa camada rica em  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  ao serem imersos no tampão tris [7, 50]. No ano de 1990, Kokubo *et al.* propuseram uma nova solução aquosa para testes de bioatividade contendo concentrações de íons semelhantes às que são encontradas no plasma sanguíneo humano, utilizando também, como agente tamponante, o tris(hidroximetil)aminometano [7, 51]. Tal solução foi capaz de induzir mudanças estruturais na superfície de materiais bioativos semelhantes às que são apresentadas *in vivo*, ou seja, formava-se a camada de HA. Desse modo, os resultados apresentados por

estes autores indicaram a necessidade de uma seleção cuidadosa para o tipo de solução a ser empregada na avaliação da bioatividade *in vitro*, que deve, em sua essência, simular o comportamento das reações superficiais que ocorrem *in vivo*. Essa solução desenvolvida por Kokubo *et al.* é designada pela sigla SBF (simulated body fluid) e é acelular, livre de proteínas e apresenta um pH de 7,40. Na Tabela 3.3 consta a composição dessa solução bem como as novas composições que se originaram a partir de sua implementação [7, 52].

Tabela 3.3: Concentração iônica do plasma sanguíneo humano e das soluções SBF's propostas para avaliação da bioatividade *in vitro* [7, 52].

Simulated Body Fluid (SBF)	Concentração iônica (mmol L <sup>-1</sup> )							
	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
ISO 23317 (junho de 2007)								
Plasma sanguíneo humano	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
*SBF (original)	142,0	5,0	1,5	2,5	148,8	4,2	1,0	-
*SBF (corrigida)	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5
**SBF (revisada)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
**SBF (melhorada)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	4,2	1,0	0,5

\*Tampão utilizado: tris(hidroximetil)aminometano (TRIS)

\*\*Tampão utilizado: ácido *N*-2-hidroxietilpiperazino-*N'*-2-etanossulfônico (HEPES)

A primeira solução SBF proposta não apresentava em sua composição íons sulfato, que também estão presentes no plasma sanguíneo humano. Em 1991, a concentração iônica da solução foi corrigida, como mostra a Tabela 3.3 e, a partir de então, tem sido muito empregada para se avaliar a bioatividade de inúmeros materiais [7, 24, 51]. Deve-se notar, no entanto, que a solução SBF corrigida exibe maior concentração de íons cloreto e menor concentração de íons bicarbonato que o plasma sanguíneo como visto na Tabela 3.3. No ano de 2001, Kim *et al.* [52] propuseram uma solução SBF revisada, na qual ambas as concentrações de cloreto e íons bicarbonato foram equiparadas às contidas no plasma sanguíneo humano. Contudo, carbonato de cálcio tende a precipitar nessa solução revisada durante a realização dos ensaios ou armazenagem

dela. Em função disso, Takadama *et al.* (2004) propuseram uma nova e melhorada solução SBF, em que apenas a concentração de íons cloreto foi igualada com a concentração presente no plasma sanguíneo [53]. Essa nova solução SBF foi comparada com a solução SBF corrigida, tanto em estabilidade como ainda na reprodutibilidade de formação da HA na superfície de materiais sintéticos, em dez diferentes institutos de pesquisa. Verificou-se que não houve diferença entre elas. Pelos resultados então obtidos, a solução SBF corrigida foi proposta e aprovada em junho de 2007 pela Organização Internacional de Normalização (International Organization for Standardization – ISO) como a solução indicada para se avaliar *in vitro* a capacidade de formação da HA na superfície de materiais destinados a implantes (norma ISO 23317: 2007) [54].

Atualmente, a maneira mais usual de se realizar os procedimentos para testes de bioatividade *in vitro* consiste na imersão do material a ser testado em solução SBF por períodos de tempo entre 3 horas e 15 dias, com posterior verificação de formação ou não de HA na superfície do material [7, 22, 25, 51]. Materiais com diferentes graus de bioatividade são classificados de acordo com o tempo necessário para o aparecimento da camada de HA. Para explicar as reações que ocorrem na superfície de materiais bioativos, quando imergidos em solução SBF, alguns mecanismos têm sido propostos [7, 8, 22, 24, 25, 34]. Considerando um biovidro do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , resumidamente esse processo pode ser descrito em 5 estágios (Figura 3.5):

❶ Estágio 1: rápida troca iônica entre íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  pertencentes à superfície do material com íons  $\text{H}^+$  da solução, ocasionando aumento do pH do meio e formação de grupos silanol ( $\text{Si-OH}$ ):



❷ Estágio 2: liberação de sílica solúvel do material para a solução na forma  $\text{Si(OH)}_4$ , sendo resultado da quebra de ligações siloxano ( $\text{Si-O-Si}$ ) e contínua formação de grupos silanol:



➔ Estágio 3: policondensação dos grupos silanol formando uma camada porosa rica em sílica na superfície do material exaurida de íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^+$ :



➔ Estágio 4: aumento da concentração de íons na solução com o passar do tempo, ocorrendo posterior formação de um filme amorfo, rico em  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  na superfície do material, quando o ponto de saturação da solução é alcançado. A alta área superficial da camada rica em sílica age como uma fonte de sítios para a nucleação heterogênea do filme, que cresce pela incorporação de mais íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  presentes na solução;

➔ Estágio 5: formação da HA na superfície do material em consequência da cristalização do filme amorfo, rico em íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$ , pela incorporação dos ânions  $\text{OH}^-$  e  $\text{CO}_3^{2-}$  presentes na solução.

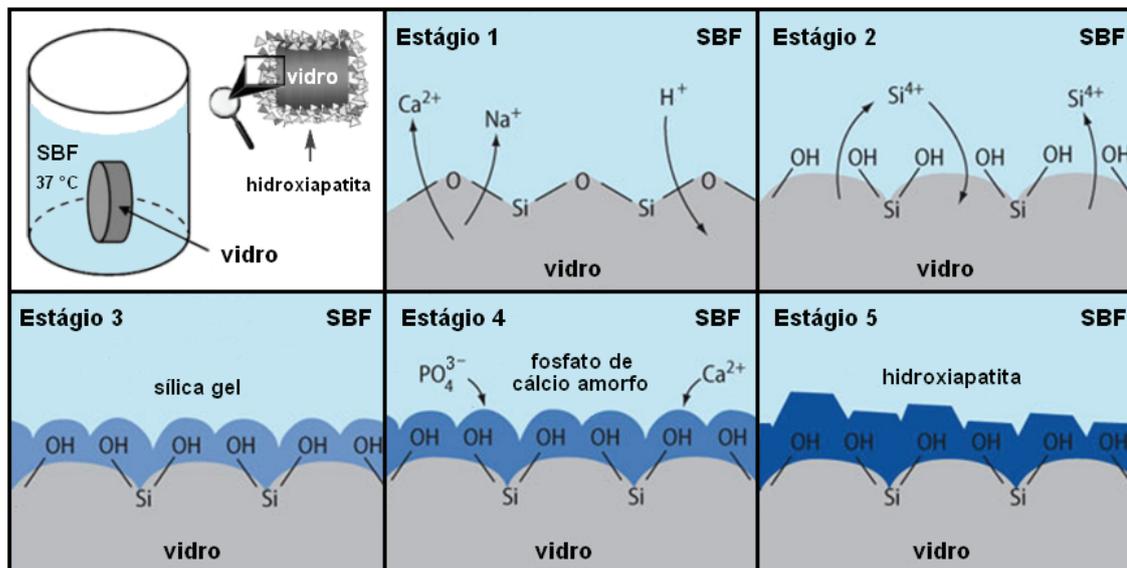


Figura 3.5: Representação esquemática do mecanismo de formação da HA na superfície de um vidro bioativo do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  [55].

No caso dos metais bioativos, o mecanismo proposto é semelhante. Em vez de serem formadas ligações do tipo  $\text{Si-O-Si}$ , são formadas ligações  $\text{Ti-O-Ti}$  ou  $\text{Ta-O-Ta}$ , no caso do titânio e tântalo, respectivamente [7, 24, 25].

Durante a realização dos testes de bioatividade *in vitro*, é possível observar que vários parâmetros podem interferir no processo de nucleação dos fosfatos de cálcio amorfo e, conseqüentemente, na formação da HA na superfície do material em estudo. Dentre esses parâmetros, estão as condições de superfície e de tratamento do substrato, o pH da solução, o tempo e natureza da exposição (estático ou dinâmico), além da razão entre a área de superfície da amostra e o volume de solução adequado a se utilizar [7, 21, 22, 25, 51]. Por conseguinte, torna-se perceptível que esses testes *in vitro* sejam fortemente dependentes das condições experimentais adotadas, devendo, portanto, ser conduzidos apenas com o intuito de se avaliar o potencial de bioatividade do material, e não como um teste conclusivo sobre essa questão.

Pelo exposto a respeito dos procedimentos *in vitro* para se testar a bioatividade de um dado material (não se considerando a influência de proteínas e células no meio), é notável o quão são interessantes, contudo uma questão é inevitável: tais procedimentos são realmente capazes de reproduzir o que é observado *in vivo*? A resposta é sim, desde que sejam realizados com muito critério e os padrões adotados para sua realização sejam muito bem estabelecidos. Mas, de acordo com Bohner *et al.* (2009), ainda não existem dados científicos suficientes para apoiar essa hipótese e, mesmo que ela seja válida, a forma em que normalmente o teste é realizado deixa espaço para muitas melhorias [56]. Por outro lado, vários estudos comparativos têm demonstrado que há boa correlação entre os experimentos realizados *in vitro* e *in vivo* [7, 57, 58]. De nosso conhecimento, somente dois casos discrepantes foram relatados. Um envolvendo o carbonato de cálcio (calcita,  $\text{CaCO}_3$ ) e o outro envolvendo  $\beta$ -TCP [7, 59].

### **3.2 Processamento sol-gel**

Nos últimos anos, grande atenção tem sido dada à elaboração de novos materiais cerâmicos ou, mesmo, ao aprimoramento das qualidades de materiais tradicionais que não têm sido facilmente conseguidas ou possíveis

através dos métodos convencionais de processamento. Para atender a esses anseios, métodos químicos têm sido requisitados, dentre os quais o processo sol-gel tem merecido significativo destaque [7, 18, 60-62]. Compreendendo diversas metodologias de síntese, que se caracterizam por reações entre precursores moleculares em solução, o processo sol-gel tem propiciado a obtenção de materiais inorgânicos, ou híbridos organoinorgânicos, que exibem elevada pureza e boa homogeneidade química empregando-se temperaturas relativamente baixas. Também é importante mencionar que esse processo de síntese possibilita a obtenção de uma extensa gama de formulações configuracionais, conforme é mostrado na representação esquemática da Figura 3.6 [7, 18, 34, 60-62].

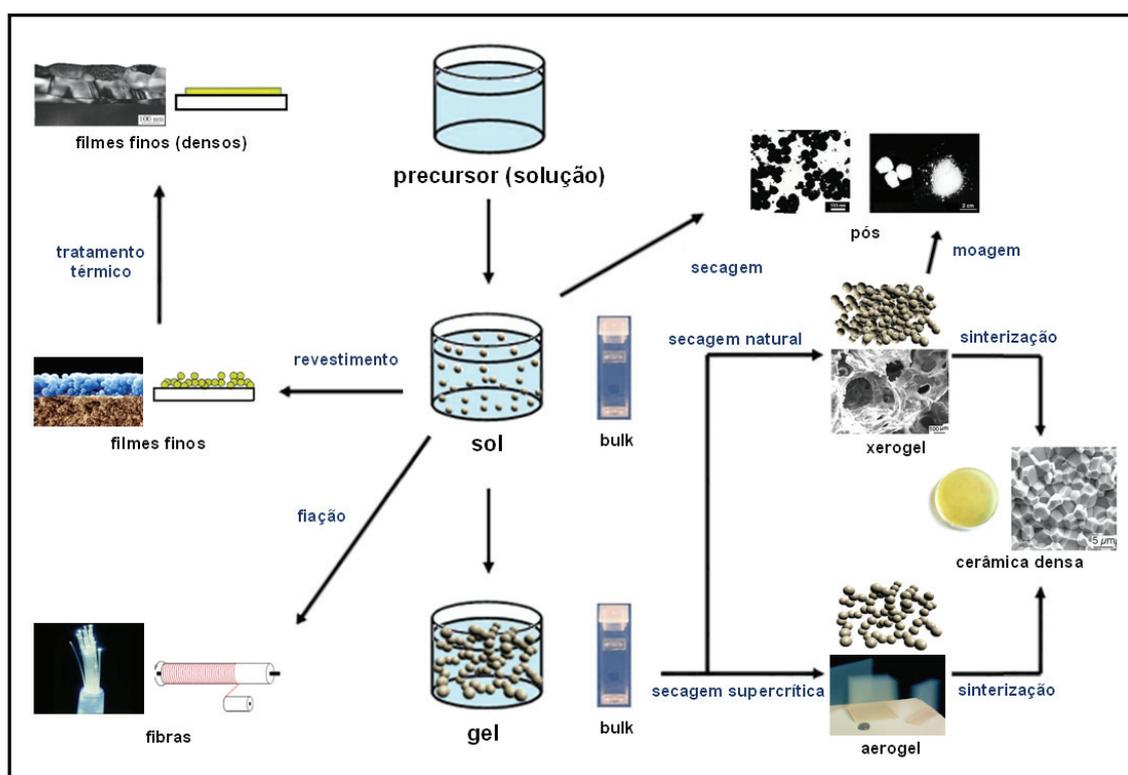


Figura 3.6: Representação esquemática do processo sol-gel [62].

Na terminologia sol-gel, o termo sol é normalmente empregado para se designar uma dispersão de partículas coloidais, de dimensão entre 1 e 100 nm, estável em um fluido, enquanto o termo gel pode ser visto como sendo um sistema formado pela estrutura rígida das partículas coloidais ou de cadeias

poliméricas que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios [63]. A transição de sol para gel acarreta a formação de uma rede sólida tridimensional. Estas regiões estruturadas crescem até a rede sólida ocupar cerca de metade do volume total, situação em que a viscosidade é máxima, e o sistema atinge o ponto de gel. Essa etapa é conhecida como gelatinização. Como consequência, o sistema, inicialmente viscoso, adquire um caráter elástico; apesar disso, esta transição é muito diferente da solidificação clássica de líquidos, permanecendo a estrutura sólida aberta e impregnada pela fase líquida. A partir do ponto de gel, as cadeias estruturadas crescem conjuntamente, formando uma rede contínua por todo o sistema [63-65]

Esse processo para a obtenção de materiais a partir de precursores moleculares em solução não é novo, apesar de suas aplicações terem se multiplicado nas últimas duas décadas e se tornado continuamente emergente [60-62]. Os primeiros estudos envolvendo o processo sol-gel tiveram início em meados do século XIX, com os trabalhos dos químicos Jacques Ebelmen (1846) e Thomas Graham (1864), cada um dos quais observando a formação de monólitos semelhantes a vidros após a hidrólise e condensação do tetraetoxissilano (TEOS,  $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ ) [63, 65, 66]. No entanto, por causa do longo tempo de secagem e da existência de trincas no material, o interesse tecnológico ligado ao processo na época foi pequeno. A potencialidade do processo começou a ser estabelecida somente em 1920, quando os químicos foram mais uma vez estimulados pela possibilidade de formação de estruturas complexas, tais como o fenômeno dos anéis de Liesegang (formação de certos padrões espaciais pela precipitação periódica) e o crescimento de estruturas chegando a géis [63-65]. Poucos anos mais tarde, Kistler (1931) verificou que a estrutura dos géis não é destruída quando sua secagem é efetuada sob condições controladas (secagem supercrítica), demonstrando a existência de uma estrutura sólida no interior dos géis e o preparo de corpos com porosidade em torno de 95%, sendo estes de grande interesse para o isolamento térmico e acústico [60, 63, 64, 67, 68].

O processo sol-gel ganhou grande impulso no setor industrial no ano de 1939 com os trabalhos de Geffcken e Berger, que elaboraram um método

para a preparação de filmes inorgânicos por *dip-coating* que se revelou muito útil na fabricação de vitrais [69]. Posteriormente, já no final dos anos 60, Dislich mostrou a viabilidade de se preparar vidros multicomponentes controlando-se as taxas das reações de hidrólise e condensação durante a transição sol-gel [63-66]. Por conseguinte, somando-se ainda a descoberta de outros compostos inorgânicos que também apresentam a habilidade de gelatinização, de forma similar aos compostos de silício até então utilizados, o processo sol-gel veio a atingir maturidade na década de 80, exibindo aplicações inovadoras nas mais diferentes áreas do conhecimento [7, 18, 60-62, 66]

### 3.2.1 Método sol-gel hidrolítico

Retomando o que foi mencionado anteriormente, o processo sol-gel compreende diversas metodologias de síntese, apesar de tradicionalmente ser associado ao método hidrolítico. Por esse método, as reações são processadas basicamente por hidrólise e policondensação. Os precursores usualmente empregados são soluções aquosas de sais inorgânicos, sóis pré-formados ou alcóxidos metálicos dissolvidos em solventes orgânicos [63-65]. Os precursores mais comumente utilizados são os alcóxidos como, por exemplo,  $\text{Si}(\text{OR})_4$ ,  $\text{RSi}(\text{OR})_3$ ,  $\text{PO}(\text{OR})_3$ ,  $\text{Al}(\text{OR})_3$  e  $\text{Ti}(\text{OR})_4$ ; sendo  $R = \text{CH}_3$ ,  $\text{C}_2\text{H}_5$  ou  $\text{C}_3\text{H}_7$ . Os alcóxidos podem ser obtidos pela reação de um haleto metálico com um determinado álcool, em presença de um receptor do ácido formado para deslocar a reação, ou, ainda, pela reação direta do próton do álcool com o metal, com eliminação de hidrogênio gasoso [70].

As principais etapas envolvidas na transformação de um precursor molecular num óxido inorgânico através do método sol-gel hidrolítico podem ser sumarizadas nas etapas de hidrólise e policondensação que são descritas abaixo, considerando-se a utilização de um único alcóxido:

➔ Hidrólise:



☛ Condensação alcoólica:



☛ Condensação aquosa:



em que  $R$  representa um grupo alquila, logo  $OR$  é um grupo alcóxido e  $ROH$  seu respectivo álcool. A hidrólise é o primeiro passo do processo, levando à formação de ligações entre o metal,  $M$ , e os grupos hidroxila ( $M-OH$ ). A etapa de condensação das espécies  $M-OH$  leva à formação de ligações  $M-O-M$ . Desta forma, com a policondensação das espécies  $M-OH$  uma rede polimérica é gerada, permanecendo a água e o álcool, obtidos como produtos da reação, aprisionados na rede. As etapas subsequentes à hidrólise e condensação, tais como cura, secagem e estabilização do sistema, dependem da estrutura do gel, portanto é de suma importância entender as reações de hidrólise e condensação, pois são elas que determinam a estrutura do gel [63-65].

O mecanismo proposto para a ocorrência das reações de hidrólise e policondensação é através de substituições nucleofílicas, que podem ser catalisadas por ácidos e bases. Entretanto, o mecanismo de reação depende do tipo de catálise e, conseqüentemente, do pH do meio reacional. Quando as condições de catálise são em meio ácido, as reações de condensação serão mais rápidas quando envolverem espécies pouco condensadas. Assim, serão formadas estruturas mais ramificadas ou mais abertas, resultantes da reação preferencial entre átomos metálicos com baixo grau de substituição dos grupos alcóxidos por grupos  $-OH$  ou  $-OM$ . Com o consumo total desses monômeros, o que geralmente acontece em tempos bem curtos, a condensação entre as espécies completamente hidrolisadas passa a acontecer através da agregação oligômero-oligômero, proporcionando a formação de estruturas com poucas ramificações. Já na catálise básica, é observado o efeito inverso, sendo favorecidas as reações que envolvem espécies muito condensadas. Além disso, reações contrárias à condensação (depolymerização) ocorrem a taxas

mais elevadas, favorecendo ainda mais a formação de estruturas compactas por proporcionarem novas oportunidades de os monômeros reagirem para a formação de estruturas mais estáveis (reações de redistribuição). Nota-se, portanto, que as características do gel formado dependem fundamentalmente do mecanismo de reação e, desse modo, do pH. Contudo, vale ressaltar que as estruturas dos géis são também sensíveis a outros fatores, tais como natureza dos reagentes, relação molar água/precursor utilizada, tipo do substituinte no precursor, entre outros [63-65]. Mecanismos simplificados sugeridos para a catálise ácida e básica, bem como a influência do pH na formação de géis a partir do TEOS, são demonstrados na Figura 3.7.

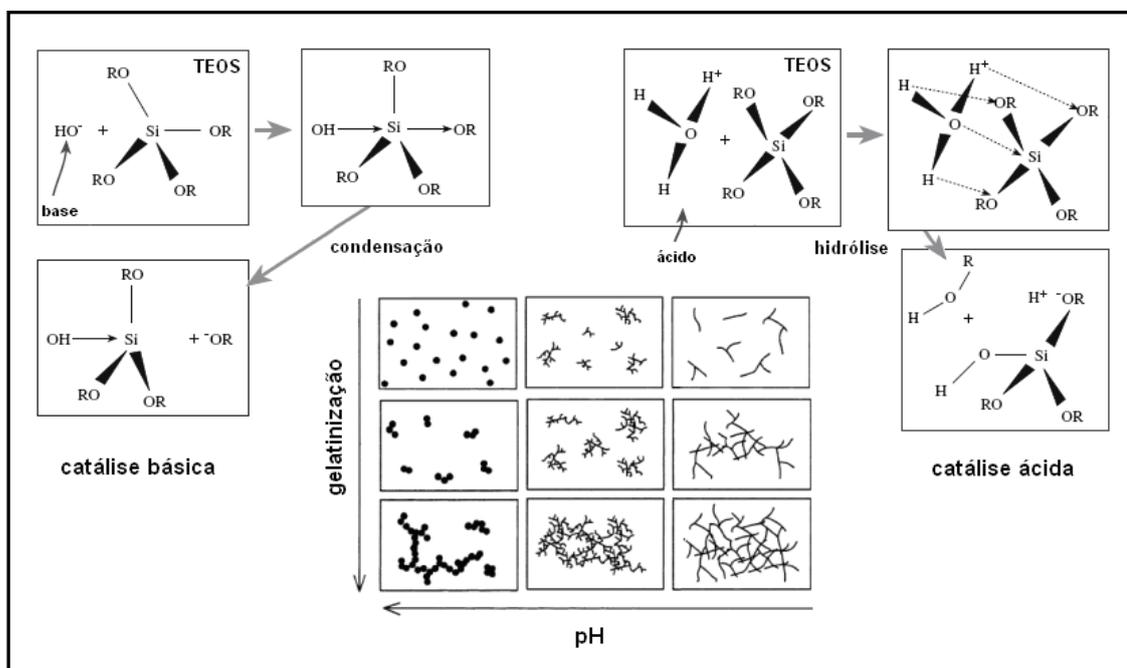


Figura 3.7: Mecanismos de reação envolvendo diferentes condições de catálise e influência do pH na formação de géis a partir do TEOS.

A conversão do gel para cerâmica, quando esse é o interesse, pode ser conseguida por tratamentos térmicos a temperaturas elevadas, mas ainda menores do que as empregadas nos processos convencionais. As faixas de temperatura mais relevantes para essa conversão geralmente se concentram aproximadamente entre: i) 100-200 °C, dessorção de solventes fisicamente adsorvidos nas paredes dos poros; ii) 300-500 °C, decomposição

de compostos orgânicos e redistribuição de ligações no sistema; e finalmente iii) 600-900 °C, organização da estrutura do material com a correspondente formação da cerâmica de interesse [63-65].

### 3.2.2 Método dos precursores poliméricos

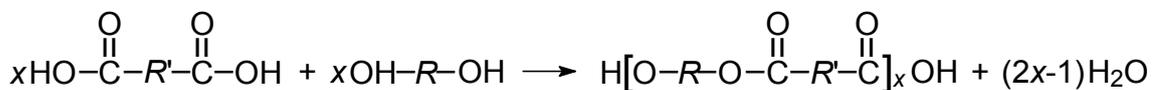
No ano de 1967, o pesquisador norte-americano Maggio Pechini [71] desenvolveu uma variação do processo sol-gel objetivando a aplicação em sistemas que até então não apresentavam desempenho satisfatório com o uso do processo tradicional, uma vez que esses sistemas continham metais que apresentavam condições desfavoráveis de equilíbrio na etapa de hidrólise, logo interferindo consideravelmente nas subseqüentes reações de condensação. Embora o método original desenvolvido por Pechini tivesse sido direcionado especificamente para a preparação de filmes finos de titanatos e niobatos para a indústria de capacitores, a potencialidade da técnica se expandiu para outros segmentos devido a adaptações sofridas no decorrer dos anos [64].

O método dos precursores poliméricos, conhecido também por método Pechini, se fundamenta na habilidade que alguns ácidos policarboxílicos, tais como o ácido etilenodiaminotetracético (EDTA,  $C_{10}H_{16}N_2O_8$ ), o ácido maleico ( $C_4H_4O_4$ ) e o ácido cítrico (AC,  $C_6H_8O_7$ ), apresentam em formar complexos com vários íons metálicos (dissolvidos em meios apropriados). Esses complexos, quando em contato com algum álcool poli-hidroxilado, como o etileno glicol (EG,  $C_2H_4(OH)_2$ ), sob agitação e aquecimento moderado ( $\sim 120$  °C), sofrem uma reação de condensação pela formação de um poliéster, no qual os íons metálicos se distribuem de forma uniforme na matriz orgânica. Na seqüência do processo, o sistema é submetido a um aquecimento adicional, geralmente entre 300 e 400 °C, para a remoção de excesso de solvente e também para a eliminação de subprodutos de reações incompletas. Para a obtenção da fase inorgânica de interesse, subseqüentes tratamentos térmicos são realizados a temperaturas entre aproximadamente 500 e 900 °C, resultando em óxidos combinados quimicamente e com a estequiometria desejada [64, 72-74].

Embora pouco se saiba sobre o mecanismo de reação envolvido na rota dos precursores poliméricos, o consenso geral é que haja reações de desidratação envolvendo um ácido policarboxílico e um álcool poli-hidroxilado, ou seja, uma esterificação [75]. Um exemplo de reação de esterificação entre um ácido dicarboxílico e um álcool apresentando dois grupos hidroxila pode ser expresso conforme a reação simplificada abaixo:



Como resultado dessa reação, obtém-se um produto dímero do éster contendo um grupo hidroxila (-OH) pertencente ao álcool no final direito da cadeia e um grupo carboxila (-COOH) do ácido na outra extremidade da cadeia. Assim, esse produto pode reagir com outras moléculas do ácido e também do álcool conduzindo à formação de uma molécula polimérica como segue abaixo:



No método dos precursores poliméricos, a combinação AC e EG é sem dúvida o par mais amplamente utilizado como agentes complexante e polimerizante, respectivamente. Isso é mais bem compreendido quando três aspectos são levados em consideração: i) muitos dos íons metálicos, exceto cátions monovalentes, formam complexos muito estáveis com o AC; ii) esses complexos formados podem ser estabilizados com EG, uma vez que este álcool possui duas hidroxilas funcionais com alta afinidade de interação; e iii) sucessivas reações de esterificação podem ocorrer entre o AC e o EG para formar um poliéster, já que o AC contém 3 grupos carboxila em cada molécula, e o EG, 2 grupos hidroxila por molécula. Dentre as vantagens da técnica destacam-se a homogeneidade química dos produtos, controle direto e preciso da estequiometria de sistemas multicomponentes em temperaturas não muito elevadas e a obtenção de pós cerâmicos finamente particulados [64, 72-74].

### 3.2.3 Processamento sol-gel de vidros e vitrocerâmicas bioativas

O processo sol-gel surgiu como alternativa para a síntese de vidros bioativos no final da década de 80 com os trabalhos de doutoramento de Li [76], os quais resultaram em registro de patente no ano de 1991 [77]. Esse processo permitiu a obtenção de vidros com maior pureza e homogeneidade do que aqueles obtidos pelo processo convencional de fusão e solidificação, sendo também os intervalos de suas composições e propriedades texturais consideravelmente expandidas. Além disso, como todas as etapas envolvidas nesse processo de síntese são realizadas a temperaturas relativamente baixas, a inclusão de componentes no sistema destinados a diminuir a temperatura de fusão, como é o caso do óxido de sódio ( $\text{Na}_2\text{O}$ ) na rota convencional, não se faz necessária. Desta forma, a utilização do processo sol-gel na síntese desses materiais levou a uma simplificação do sistema, surgindo então os primeiros vidros bioativos do sistema ternário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  [76, 77]. Posteriormente, foi demonstrado que certas composições do sistema binário  $\text{SiO}_2\text{-CaO}$  também são bioativas, indicando que a presença do  $\text{P}_2\text{O}_5$  não é essencial para a bioatividade [78]. Em testes de bioatividade *in vitro*, foi observado que a ausência desse componente reflete apenas em tempos mais elevados para que haja formação da camada de HA na superfície do material, logo sendo a bioatividade preservada [79].

Nos trabalhos iniciais de Li *et al.* (1991), foi mostrado que esta nova classe de vidros bioativos apresentavam um maior intervalo de composições exibindo bioatividade. Na ocasião, esses autores puderam demonstrar que os derivados sol-gel do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  exibiam bioatividade *in vitro* com teor de  $\text{SiO}_2$  em torno de 90% em mol. Isso é completamente diferente em relação ao observado para os vidros bioativos preparados pelo processo de fusão e solidificação, que com esse alto teor de  $\text{SiO}_2$  são altamente estáveis, não apresentando bioatividade [76]. Primeiramente, é razoável imaginar que tal efeito seja em função dos diferentes sistemas em questão, um ternário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e o outro quaternário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , respectivamente. No entanto, ao se comparar sistemas semelhantes, ainda é

possível verificar a tendência de maior reatividade dos derivados sol-gel. Na Figura 3.8, esse efeito pode ser verificado para várias composições do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  que exibem bioatividade *in vitro* e também *in vivo*. Este último, apenas para algumas composições, já que não foram encontrados na literatura maiores registros de testes *in vivo* [7, 9, 26, 34, 80].

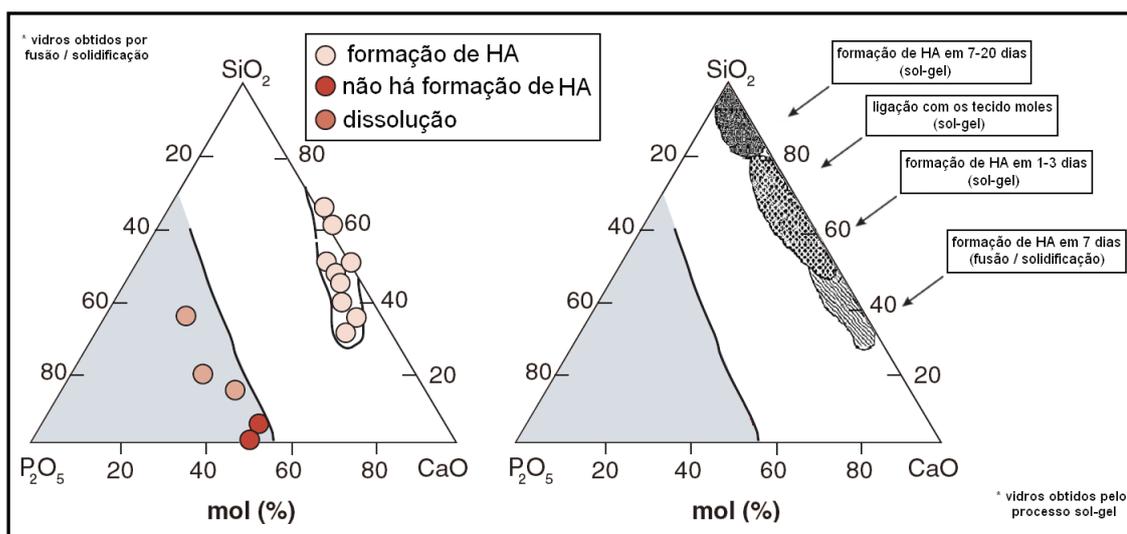


Figura 3.8: Influência do processo de síntese na bioatividade de vidros do sistema ternário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ : fusão / solidificação versus sol-gel [26, 80].

A partir desses diagramas, é possível observar que a maior reatividade dos derivados sol-gel não apresenta relação direta com a composição, sendo, portanto, esta característica inerente ao processo de síntese. Deste modo, uma possível explicação para o aumento na bioatividade é a presença de poros muito pequenos, elevada área superficial específica e uma alta concentração de grupos silanol sobre a superfície destes materiais, características que são obtidas exclusivamente com o processo sol-gel. Esses aspectos estruturais são responsáveis pelo aumento da densidade de sítios para a nucleação que resulta na formação da HA sobre os vidros bioativos [7, 22, 34, 76]. Só para se ter uma ideia, a área superficial específica típica de materiais vítreos porosos derivados do processo sol-gel é em torno de  $200 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ . Isso é observado porque os derivados sol-gel contêm uma densidade de poros muito elevada, de tamanho médio entre 1 e 30 nm, enquanto os vidros obtidos por fusão

são completamente densos. O interessante é que esses poros são formados durante as reações de policondensação, conseqüentemente podendo ser controlados e adaptados mediante algumas alterações nos parâmetros de síntese [7, 63, 64].

Outro fato que chama a atenção nos vidros bioativos preparados pelo processo sol-gel é que, além de exibirem uma elevada área superficial, que promove o aumento significativo de suas taxas de dissolução, acelerando os Estágios 1 e 2 do mecanismo proposto para a bioatividade, ela também pode ser funcionalizada por uma variedade de métodos químicos de superfície em função da alta concentração de grupos silanol existentes. A incorporação de grupos amina ( $-NH_2$ ), por exemplo, pode tornar a superfície desses materiais menos hidrofílica e ainda mais atrativa para a adesão de certas proteínas [81]. A funcionalização da superfície desses materiais também pode ser realizada diretamente com proteínas que apresentam atividade muito específica no organismo, além de antibióticos ou até mesmo a própolis, substância resinosa colhida nos rebentos das plantas pelas abelhas e que apresenta reconhecida atividade terapêutica [62, 82, 83].

Devido a todos esses motivos, o processo sol-gel tem sido amplamente utilizado na síntese de vidros bioativos desde sua proposta inicial. Isso pode ser verificado através de novos sistemas e composições que têm surgido, contendo em suas formulações elementos como Zn, Mg, Ag, Sr, Sm, dentre outros [84-92]. A elaboração dessas novas formulações tem sido uma área muito promissora, uma vez que possibilita a utilização desses materiais em aplicações muito específicas. Para exemplificar um caso, cabe citar novos sistemas com composições contendo estrôncio, elemento que apresenta efeito comprovado no tratamento não-hormonal da osteoporose [93, 94]. Outro segmento que também tem sido explorado é a obtenção de vitrocerâmicas a partir da cristalização desses vidros bioativos [95-100]. Da mesma forma, como foi mencionado anteriormente para as cerâmicas e vitrocerâmicas obtidas pela rota convencional, a introdução de cristalinidade nesses materiais também tem refletido em considerável perda na bioatividade, já que esta propriedade está relacionada com as fases cristalinas presentes no material. Entretanto, tem

sido observado que a formação de determinadas fases cristalinas tem ocorrido em temperaturas inferiores às que normalmente são observadas. Isso tem sido muito interessante, uma vez que permite o estudo de fases cristalinas que possam vir a apresentar elevada bioatividade em condições laboratoriais muito mais brandas [47].

Após os levantamentos realizados acima sobre a síntese de vidros e vitrocerâmicas bioativas pelo processo sol-gel, é de fundamental importância mencionar quais os precursores mais empregados para essa finalidade, uma vez que eles configuram um parâmetro muito importante na síntese. Os alcóxidos trietilfosfato (TEP,  $OP(OC_2H_5)_3$ ) e o TEOS são, sem dúvida, os precursores mais utilizados para fornecer ao sistema fósforo e silício, respectivamente. O oxigênio também é oriundo desses compostos. Como fonte de cálcio e de outros componentes para o sistema, normalmente são utilizados os nitratos [22, 76-79, 81, 82, 84, 87-92, 98-100]. No ano de 1994, Pereira *et al.* [101] demonstraram que, ao se fazer uso exclusivamente de alcóxidos para a síntese de vidros do sistema  $SiO_2-CaO-P_2O_5$ , torna-se possível a obtenção de materiais exibindo maior homogeneidade em relação a distribuição de cálcio no sistema. Corroborando esses resultados, em 2002 Ramila *et al.* [102] prepararam uma nova composição de vidro nesse mesmo sistema, demonstrando que, com o uso exclusivo dos alcóxidos, maior homogeneidade é alcançada, já que a etapa mais crítica envolvendo o uso de nitratos (que é em sua decomposição durante a conversão do gel polimérico em material cerâmico) não ocorre. Esses autores também mostraram através de testes de bioatividade *in vitro* que o crescimento da HA na superfície desse material se dá de maneira mais uniforme em relação ao material no qual as etapas de síntese envolveram o uso de nitrato de cálcio ( $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ ) [102].

Mesmo diante desses resultados, a utilização dos alcóxidos de cálcio não é difundida para a síntese de vidros e vitrocerâmicas bioativas, uma vez que esses precursores possuem altas taxas de hidrólise em condições ambientais, logo requerendo, para a síntese, condições especiais [101, 102]. Por outro lado, o nitrato de cálcio apresenta fácil manipulação e é altamente solúvel no meio reacional, proporcionando também a obtenção de materiais

com elevada bioatividade. É interessante notar que não somente a variação da composição reflete nas propriedades dos vidros e das vitrocerâmicas bioativas preparadas pelo processo sol-gel, mas também a natureza dos precursores utilizados. Outro exemplo pode ser verificado nos trabalhos de Łączka *et al.* (1997, 1999), nos quais é demonstrado que, somente pela variação dos precursores, diferentes fases cristalinas foram formadas para uma mesma condição de tratamento térmico, além de as temperaturas de cristalização ( $T_C$ ) dos sistemas estudados terem sido significativamente alteradas [95, 97]. Nesse mesmo contexto é, que o presente trabalho discorre sobre a síntese de pós bioativos dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , em que se propõe o uso de quatro diferentes precursores de fósforo, cuja escolha foi baseada em suas respectivas taxas de hidrólise.

Para finalizar, a síntese de vidros e vitrocerâmicas bioativas com o uso do processo sol-gel tem sido realizada exclusivamente através do método hidrolítico. Em princípio, não existe nenhum impedimento físico e químico para que a síntese desses materiais seja realizada também pelo método dos precursores poliméricos. Em recente revisão bibliográfica, foram encontrados vários tipos de materiais preparados pelo método dos precursores poliméricos destinados a um grande número de aplicações, no entanto somente o trabalho de Bertolini *et al.* (2005) descreve algo correlacionado aos nossos objetivos, devendo, portanto, tal fator ser considerado na tentativa de se fazer uso dele para a obtenção dos sistemas aqui pretendidos [103].

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Vidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

Pós bioativos vítreos e cristalinos do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel. Na Tabela 4.1 constam todos os reagentes empregados neste estudo. É importante frisar que os reagentes utilizados não sofreram qualquer tipo de tratamento prévio antes do uso.

Tabela 4.1: Reagentes utilizados para a síntese dos pós bioativos vítreos e cristalinos do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ .

Reagente	Fórmula molecular	Procedência	Pureza
Nitrato de cálcio	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Labsynth	PA
Tetraetoxissilano	$\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$	Sigma - Aldrich	PA
Trietilfosfato	$\text{OP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_3$	Merck	PA
Ácido fosfórico	$\text{H}_3\text{PO}_4$	Qhemis	PA
Etanol	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	Labsynth	PA
Óxido de fósforo	$\text{P}_2\text{O}_5$	J. T. Baker	PA
Ácido fítico	$\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$	Sigma - Aldrich	PA
Ácido nítrico	$\text{HNO}_3$	Qhemis	PA
Ácido cítrico	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Sigma - Aldrich	PA
Etileno glicol	$\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	F. Maia	PA

#### 4.1.1 Preparação dos géis precursores

A composição nominal estabelecida para a realização da síntese de todas as amostras do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  é mostrada na Tabela 4.2. Uma preparação típica dos géis envolveu reações de hidrólise e policondensação de quantidades estequiométricas do TEOS, TEP e  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  respeitando

a composição determinada na Tabela 4.2. A hidrólise do TEOS e do TEP foi catalisada por uma solução de  $\text{HNO}_3$   $0,1 \text{ molL}^{-1}$ , sendo usada a relação molar  $(\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}) / (\text{TEOS} + \text{TEP}) = 8$ . Partindo-se da hidrólise do TEOS, os demais reagentes foram sendo adicionados na sequência com intervalos de 60 minutos após a adição do anterior, permanecendo a mistura reacional sob constante agitação. Antes de atingir o ponto de gel, os sóis foram vertidos em tubos de teflon e mantidos em repouso por 3 dias. No término desse período, os géis formados foram secos em estufa por 7 dias, à temperatura de  $70 \text{ }^\circ\text{C}$ , com adicional de mais 2 dias na temperatura de  $130 \text{ }^\circ\text{C}$ . Finalizada a etapa de secagem, os géis foram triturados manualmente em almofariz de ágata, e pós com tamanho de partícula  $< 150 \mu\text{m}$  foram selecionados e submetidos à caracterização. Todas as amostras desse sistema, preparadas a partir do uso do TEP como precursor, foram identificadas como Bio1\_TEP.

Tabela 4.2: Composição nominal estabelecida para a síntese das amostras pertencentes ao sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ .

Componente	$\text{SiO}_2$	CaO	$\text{P}_2\text{O}_5$
Concentração	70 %	26 %	4 %

%: valor expresso em mol

O mesmo procedimento de síntese descrito acima foi adotado para a preparação dos géis envolvendo os demais precursores de fósforo (apesar de suas diferentes taxas de hidrólise). Assim, o segundo conjunto de amostras foi preparado a partir do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e identificado como Bio2\_AFos. Para a escolha dos outros dois precursores de fósforo e subsequente preparação dos géis, um critério foi estabelecido. Estudos anteriores mostraram que os precursores de fósforo com estrutura  $\text{PO}(\text{OH})_{3-x}(\text{OR})_x$  exibem reatividade química intermediária em relação a compostos do tipo  $\text{PO}(\text{OR})_3$  e  $\text{PO}(\text{OH})_3$ , propiciando a formação de géis funcionais apresentando alta concentração de fósforo com tempos de reação relativamente curtos [86, 104-106]. Desta forma, foram escolhidos dois precursores com estrutura  $\text{PO}(\text{OH})_{3-x}(\text{OR})_x$ , uma vez que o TEP e o  $\text{H}_3\text{PO}_4$  figuram espécies do tipo  $\text{PO}(\text{OR})_3$  e  $\text{PO}(\text{OH})_3$ , respectivamente.

Fundamentada a escolha dos novos precursores de fósforo, o primeiro foi obtido pela dissolução do óxido de fósforo em etanol conforme mostra a reação química simplificada abaixo:



na qual Et representa um grupo  $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ . Utilizando-se metodologia adaptada das referências [86, 105, 107], uma quantidade específica de  $\text{P}_2\text{O}_5$  foi adicionada lentamente em 50 mL de etanol, sendo a mistura reacional mantida sob constante agitação. Por se tratar de uma reação altamente exotérmica, ela foi processada em um recipiente contendo gelo para se minimizar perdas através da volatilização do etanol. Após a completa dissolução do  $\text{P}_2\text{O}_5$ , a solução resultante foi colocada em refluxo à temperatura de  $78,5\text{ }^\circ\text{C}$  (ponto de ebulição do etanol) durante 12 e 24 horas, a fim de se eliminarem frações do solvente que possam não ter reagido. O produto final foi, então, separado e analisado com o intuito de se verificar a formação do precursor de fósforo desejado. Na Figura 4.1, é demonstrado o sistema utilizado para a realização da síntese. Após ser confirmada a formação das espécies  $\text{PO(OH)}_{3-x}(\text{OR})_x$ , como será descrito detalhadamente na subseção 5.1.3, optou-se pela solução com tempo de refluxo de 24 horas para a preparação dos géis. As amostras resultantes da utilização desse precursor foram denominadas de Bio3\_EFos.

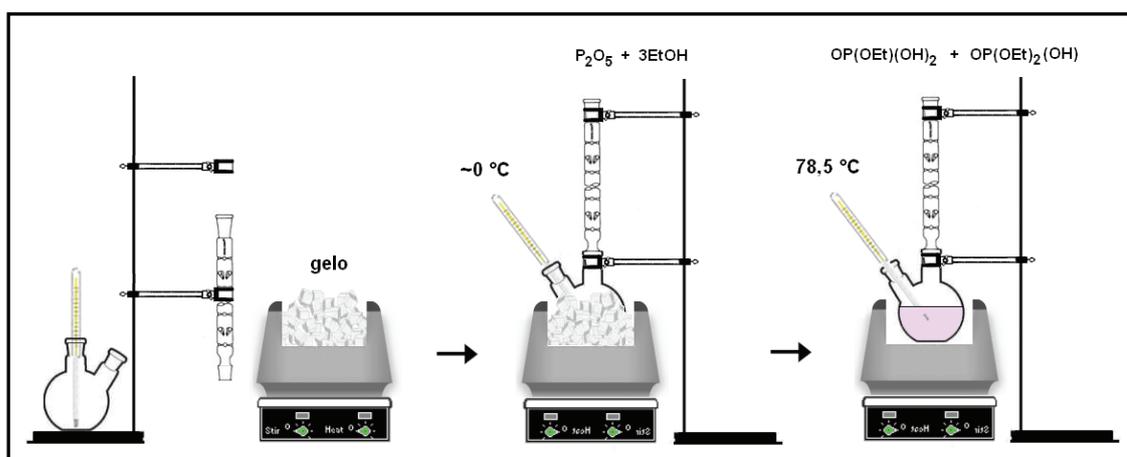


Figura 4.1: Aparato utilizado para a realização da síntese do novo precursor de fósforo a partir da mistura reacional contendo óxido de fósforo e etanol.

Para a síntese do último conjunto de amostras, foi proposto como fonte de fósforo o ácido fítico ( $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ), que é um composto orgânico natural, encontrado na maioria das sementes de leguminosas e cereais. É um forte agente complexante de minerais que apresentam grande importância para o meio fisiológico, tais como o zinco, cálcio, ferro, magnésio, entre outros. Por ser atóxico e apresentar características de reatividade química apreciáveis, o ácido fítico tem sido utilizado com sucesso na formulação de géis funcionais de sílica contendo baixos e também altos teores de fósforo [106, 108]. Desta forma, sua escolha neste trabalho se tornou muito conveniente. As amostras preparadas a partir do seu uso como precursor de fósforo foram identificadas como Bio4\_AFit.

Finalizando estas etapas iniciais, a Figura 4.2 mostra um fluxograma que esquematiza, de maneira geral, todos os procedimentos adotados para a preparação dos géis particulados, que posteriormente foram caracterizados e então submetidos a diferentes tratamentos térmicos, para a obtenção dos vidros e vitrocerâmicas bioativas do sistema  $SiO_2-CaO-P_2O_5$ .

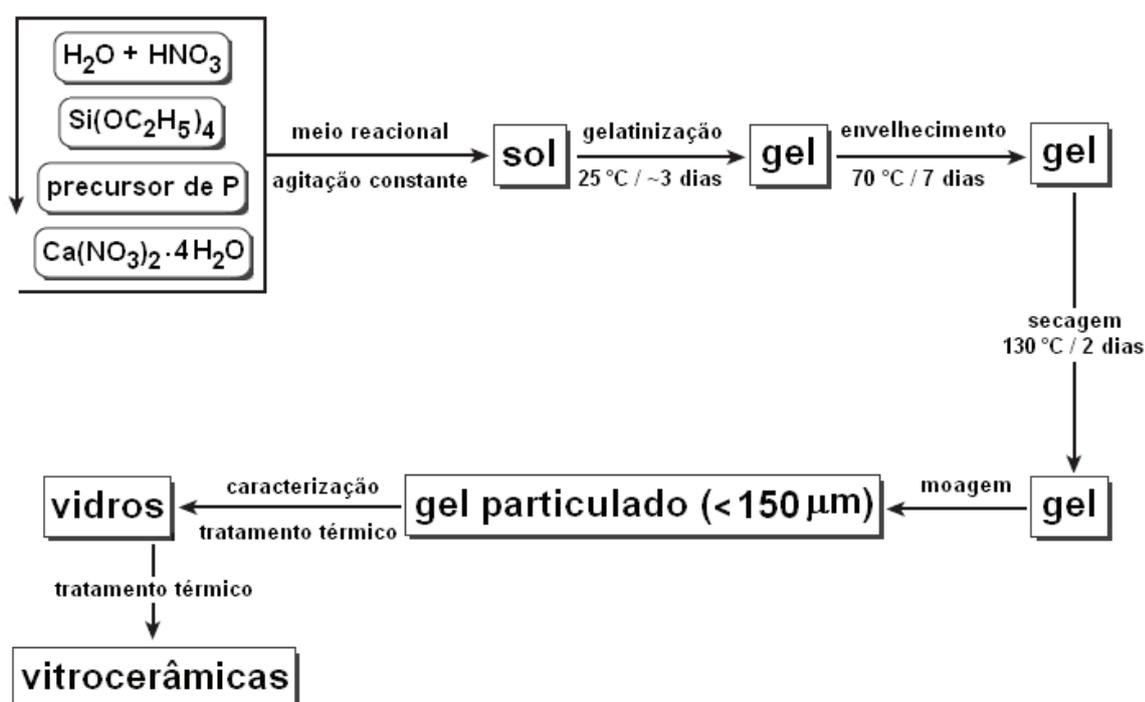


Figura 4.2: Fluxograma das etapas de síntese elaboradas para a obtenção dos géis particulados e sua posterior conversão em materiais cerâmicos.

#### 4.1.2 Conversão dos géis em materiais cerâmicos

Logo após a moagem, géis com tamanho de partícula menores que 150 µm foram selecionados e porções individuais contendo aproximadamente 20 g foram acondicionados em cadinhos de ZAS (cerâmica à base de zircônia, alumina e sílica) para os eventuais tratamentos térmicos. Os materiais contidos nos cadinhos de ZAS foram submetidos a tratamento térmico em forno elétrico de alta temperatura modelo *KKSK 88* sob atmosfera oxidante (ar). Para isso, foram utilizados programas de aquecimento estabelecidos em função dos resultados das análises de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG) dos géis de partida. Os programas de tratamento térmico estabelecidos contaram com uma taxa de aquecimento a 5 °C min<sup>-1</sup>, seguido de isoterma na temperatura final do tratamento, conforme os dados contidos na Tabela 4.3. O resfriamento das amostras foi natural.

Tabela 4.3: Programa de tratamento térmico realizado para conversão dos géis do grupo Bio1\_TEP em materiais cerâmicos.

<b>Amostra</b>	<b>Temperatura final de tratamento (°C)</b>	<b>Isoterma (minutos)</b>
Bio1.1_TEP	700	180
Bio1.2_TEP	800	180
Bio1.3_TEP	900	180
Bio1.4_TEP	1000	180
Bio1.5_TEP	1100	180
Bio1.6_TEP	1200	180

As amostras derivadas dos géis do grupo Bio2\_AFos e Bio3\_EFos foram submetidas ao mesmo programa de tratamento térmico que se encontra na Tabela 4.3. A nomenclatura dessas amostras também seguiu a mesma lógica, ou seja, as condições de tratamento térmico que foram impostas para as amostras Bio2.1\_AFos e Bio3.1\_EFos foram idênticas às condições de tratamento impostas para a amostra Bio1.1\_TEP, e assim sucessivamente

para o restante das amostras. Com a finalização dos tratamentos térmicos, os pós obtidos foram desaglomerados manualmente em almofariz de ágata. Pós com tamanho de partícula entre 25 e 75  $\mu\text{m}$  foram selecionados e submetidos a uma série de técnicas analíticas apropriadas a cada material específico.

#### 4.1.3 Obtenção do complexo P-AC

Para a síntese das amostras do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  utilizando-se o método dos precursores poliméricos, inicialmente foi necessário um estudo para se verificar a formação de um complexo estável entre o AC e algum dos precursores de fósforo. Além da estabilidade, é de fundamental importância que a estrutura do complexo ainda apresente grupos carboxílicos disponíveis para a reticulação do sistema, caso contrário o crescimento da estrutura não poderá ocorrer de modo a permitir que haja a formação de um polímero híbrido. É conhecido que tanto o TEOS como o nitrato de cálcio são capazes de formar complexos viáveis com o AC para a síntese de diferentes materiais empregando-se o método dos precursores poliméricos [64, 103, 109]. Por outro lado, relatos sobre a formação de complexos entre o AC e compostos de fósforo não foram encontrados na literatura, havendo, portanto, a necessidade de realização do estudo. Para isso, optamos pelo uso do trietilfosfato (TEP) como fonte de fósforo.

Determinado o precursor de fósforo, uma solução foi preparada a partir da adição de uma quantia específica de AC em 40 mL de etanol sob constante agitação. Após a completa dissolução do AC, foi adicionado o TEP, de forma a ser estabelecida uma relação molar de 3:1 entre o AC e o TEP. A mistura reacional foi mantida sob agitação constante por 384 horas, sendo 6 alíquotas retiradas para avaliação da formação do complexo P-AC. A primeira alíquota foi retirada imediatamente antes da adição do TEP, a segunda imediatamente após, e as outras 4 com intervalos de 96 horas entre cada uma delas. A análise individual do TEP também foi realizada, servindo de parâmetro para o acompanhamento da evolução das reações com o passar do tempo.

## 4.2 Vidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$

Pós bioativos vítreos e cristalinos do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  também foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel. Os reagentes usados neste estudo foram praticamente os mesmos que se encontram na Tabela 4.3, incluindo apenas o nitrato de sódio ( $\text{NaNO}_3$ ), com pureza de grau analítico (PA) e procedência da empresa Labsynth.

### 4.2.1 Preparação dos géis precursores

A preparação dos géis do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  foi realizada conforme a metodologia descrita na subseção 4.1.1. O conjunto de amostras envolvendo o TEP, o  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e o precursor de fósforo previamente sintetizado a partir da dissolução do  $\text{P}_2\text{O}_5$  em etanol foram identificados como Bio5\_TEP-Na, Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na, respectivamente. A composição nominal que foi definida para a realização deste estudo se encontra na região S do diagrama mostrado na Figura 3.3, cujos índices de bioatividade alcançados por vidros e vitrocerâmicas preparadas pela rota convencional de fusão e solidificação são os mais elevados [7, 8, 18, 29, 34, 41].

### 4.2.2 Conversão dos géis em materiais cerâmicos

A determinação do programa de tratamento térmico para a conversão dos géis do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  em materiais cerâmicos se deu de maneira similar ao descrito na subseção 4.1.2. Pelos resultados das análises de DSC e TG, a temperatura final do tratamento térmico mais rigoroso foi fixada em 1000 °C, sendo os demais parâmetros mantidos inalterados, como mostra a Tabela 4.4, para os géis do grupo Bio5\_TEP-Na. Amostras originadas dos grupos Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na foram submetidas a tratamentos térmicos idênticos, cuja identificação seguiu o mesmo critério.

Tabela 4.4: Programa de tratamento térmico realizado para conversão dos géis do grupo Bio5\_TEP-Na em materiais cerâmicos.

Amostra	Temperatura final de tratamento (°C)	Isoterma (minutos)
Bio5.1_TEP-Na	700	180
Bio5.2_TEP-Na	800	180
Bio5.3_TEP-Na	900	180
Bio5.4_TEP-Na	1000	180

### 4.3 Teste de bioatividade *in vitro*

No intuito de se avaliar a bioatividade dos materiais sintetizados, testes *in vitro* foram realizados, em conformidade com a metodologia descrita na norma internacional ISO 23317 aprovada no ano de 2007 [54]. A solução SBF empregada neste estudo foi preparada com a mesma concentração iônica demonstrada na Tabela 3.3 (SBF corrigida), com pH igual a 7,4. Na Tabela 4.5, constam todos os reagentes utilizados para essa finalidade.

Tabela 4.5: Reagentes utilizados para a preparação da solução SBF.

Reagente	Fórmula molecular	Procedência	Pureza
Cloreto de sódio	NaCl	J. T. Baker	PA
Hidrogeno carbonato de sódio	NaHCO <sub>3</sub>	J. T. Baker	PA
Cloreto de potássio	KCl	J. T. Baker	PA
Hidrogeno fosfato de potássio	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	J. T. Baker	PA
Cloreto de magnésio	MgCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	Mallinckrodt	PA
Ácido clorídrico	HCl	Labsynth	PA
Cloreto de cálcio	CaCl <sub>2</sub>	J. T. Baker	PA
Sulfato de sódio	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	J. T. Baker	PA
Tris(hidroximetil)aminometano	NH <sub>2</sub> C(CH <sub>2</sub> OH) <sub>3</sub>	J. T. Baker	PA

#### 4.3.1 Preparação das amostras

Para a realização dos testes de bioatividade *in vitro*, pós com tamanho de partícula entre 25 e 75  $\mu\text{m}$  e já previamente caracterizados foram conformados como pastilhas apresentando 10 mm de diâmetro e 2,30 mm de espessura, conforme é mostrado na Figura 4.3. Esse processo de conformação seguiu duas etapas. Na primeira, os pós foram conformados por prensagem uniaxial, sem adição de ligante, a uma pressão de 65 MPa, por 6 minutos. A segunda etapa foi realizada em prensa isostática aplicando-se pressão de 170 MPa durante 3 minutos.

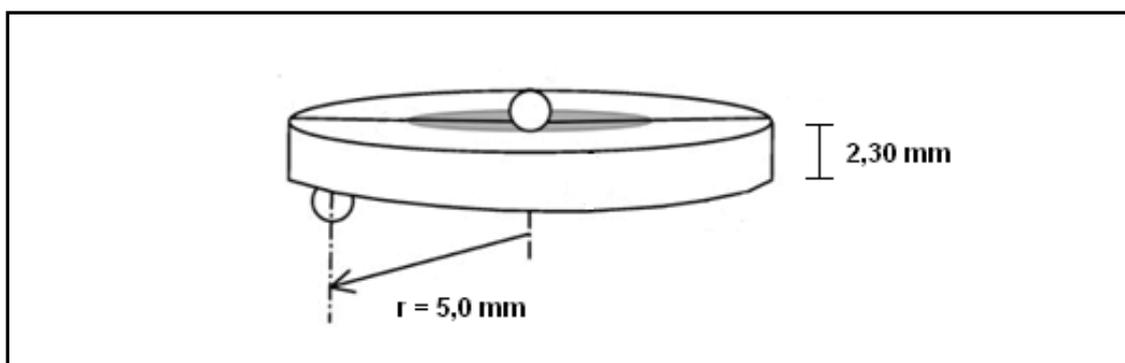


Figura 4.3: Dimensão das pastilhas conformadas para a realização dos testes de bioatividade *in vitro*.

Logo após a conformação das pastilhas, cada uma foi presa ao longo de sua circunferência por um fio de náilon de 0,10 mm a fim de mantê-las suspensas na solução SBF durante o ensaio. Essas amostras foram limpas em ultrassom por 15 segundos em acetona e, após completa secagem, submersas no interior de frascos de polietileno tereftalato (PET), de excelente vedação, contendo a solução SBF. O volume de solução SBF empregado nos testes de bioatividade depende da área superficial da amostra. De acordo com os procedimentos descritos na ISO 23317, para um material denso o volume adequado de solução a ser utilizado segue a seguinte relação:

$$V_s = S_a / 10$$

em que  $V_s$  representa o volume de solução SBF (mL) e  $S_a$ , a área geométrica total da amostra ( $\text{mm}^2$ ). Para materiais porosos, como é o caso das pastilhas obtidas neste estudo somente com a prensagem dos pós o autor sugere apenas a utilização de um volume superior ao calculado pela equação acima. Nessas circunstâncias, a seguinte padronização foi adotada neste trabalho: massa da amostra ( $m$ ) por volume de solução SBF ( $V_s$ ) igual a  $0,01 \text{ g mL}^{-1}$ , uma vez que  $m$  foi igual para a conformação de todas as pastilhas.

Durante a realização dos ensaios, as amostras ficaram em contato com a solução SBF por períodos de 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 e 144 horas, sendo a temperatura do sistema mantida em  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  através de um dispositivo de aquecimento, como mostra a Figura 4.4. Passado o tempo de ensaio necessário para cada amostra, elas foram retiradas de seus respectivos frascos e mergulhadas em acetona por 10 segundos, para a retirada da solução e paralisação das reações superficiais. Após a completa secagem, as amostras foram analisadas em ambas as superfícies paralelas a fim de se verificar a formação ou não de uma camada superficial de HA.

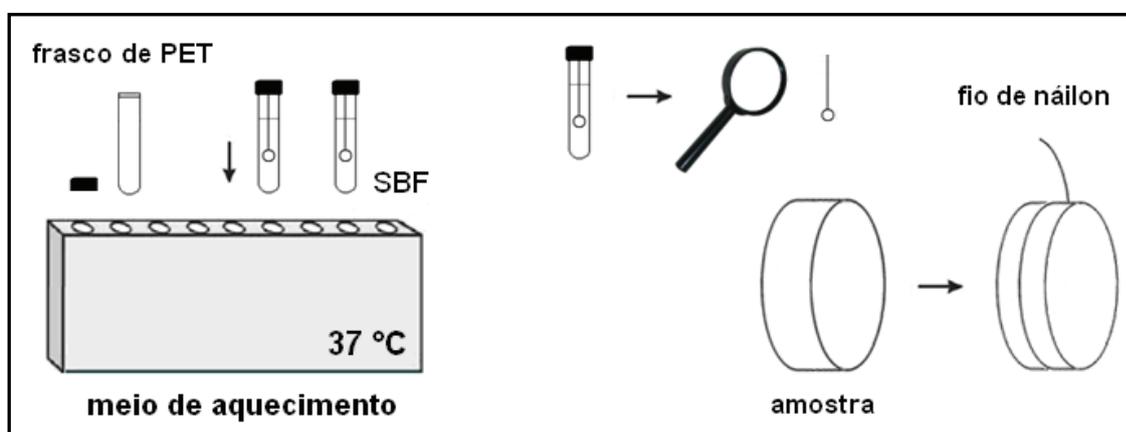


Figura 4.4: Aparato utilizado na realização dos testes de bioatividade *in vitro*.

#### 4.3.2 Avaliação da solubilidade das amostras em solução SBF

De forma a se avaliar o comportamento da solubilidade das amostras em solução SBF durante os testes de bioatividade, a concentração iônica das espécies  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$  foi analisada para cada tempo de ensaio.

As medidas de pH e  $[Ca^{2+}]$  foram realizadas empregando-se a técnica eletrodo íon-seletivo. Para as medidas da espécie  $[P-PO_4^{3-}]$ , foi utilizada espectrofotometria ultravioleta e visível (espectrofotometria UV-Vis), uma vez que o fosfato inorgânico em solução reage perante alguns compostos formando um cromóforo azul, cuja intensidade da cor é proporcional à sua concentração existente no meio. É importante frisar que os procedimentos descritos acima, incluindo desde a preparação da solução SBF até esse acompanhamento das concentrações iônicas da solução durante os testes, foram realizados em média três vezes para cada tempo de ensaio, proporcionando, desta forma, traçar uma tendência do comportamento de bioatividade *in vitro* das amostras.

#### 4.4 Procedimentos instrumentais de análise

##### 4.4.1 Calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria

As análises de DCS e TG foram realizadas num equipamento STA modelo 449 C da NETZSCH, sob atmosfera oxidante (ar sintético) com fluxo de gás de  $50 \text{ mL min}^{-1}$ . Análises típicas envolveram amostras de  $\sim 30 \text{ mg}$  e um programa de aquecimento com velocidade de  $5 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$  desde a temperatura ambiente até  $1200 \text{ }^\circ\text{C}$ , para se determinar a temperatura inicial de tratamento térmico e observar o início de ordenação das fases cristalinas no material.

##### 4.4.2 Difração de raios X

A caracterização das fases cristalinas resultantes dos tratamentos térmicos nos géis e, posteriormente, nos materiais vítreos foi realizada por difração de raios X dos pós. Para isso, foi usado um difratômetro Siemens modelo D5000, operando com radiação  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 0,15418 \text{ nm}$ ) e sistema de filtragem com monocromador secundário de grafite curvo. Os difratogramas foram obtidos na faixa de  $2\theta$  de  $10^\circ$  a  $70^\circ$ , em modo contínuo, a  $2^\circ \text{ min}^{-1}$ .

#### 4.4.3 Espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier

O acompanhamento das modificações superficiais das pastilhas nos testes de bioatividade *in vitro* foi realizado por espectroscopia infravermelho com transformada de Fourier (IVTF), utilizando-se um espectrômetro Perkin Elmer modelo Spectrum GX, operando no modo refletância com resolução de  $4\text{ cm}^{-1}$  na região de  $4000$  a  $400\text{ cm}^{-1}$ . Espectros de IVTF também foram obtidos no modo transmissão em pastilhas de KBr (brometo de potássio), que em conjunto com os espectros de ressonância magnética nuclear (RMN) serviram para uma melhor análise da solução resultante da reação entre o  $\text{P}_2\text{O}_5$  e o etanol, bem como no auxílio à verificação de formação do complexo P-AC.

#### 4.4.4 Ressonância magnética nuclear de $^1\text{H}$ , $^{13}\text{C}$ e $^{31}\text{P}$

Para se confirmar a formação das espécies  $\text{PO}(\text{OH})_{3-x}(\text{OR})_x$  após os tempos estabelecidos de reação entre o  $\text{P}_2\text{O}_5$  e o etanol, espectros de RMN do núcleo de  $^{31}\text{P}$  foram obtidos das soluções por meio de um espectrômetro Bruker modelo DRX 400 de 9,4 Tesla operando a 162 MHz. Como referência, foi usado  $\text{H}_3\text{PO}_4$  85%. Espectros de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$  também foram obtidos da mistura reacional envolvendo o TEP e o AC em diferentes tempos de reação, cuja finalidade foi verificar os tipos de interações existentes entre esses compostos, logo, a possível formação de um complexo viável para uso na síntese a partir do método dos precursores poliméricos. Nessas análises, o equipamento seguiu operando a 400 MHz para o núcleo de  $^1\text{H}$  e em 100 MHz para o núcleo de  $^{13}\text{C}$ , tendo como referência o TMS (tetrametilsilano).

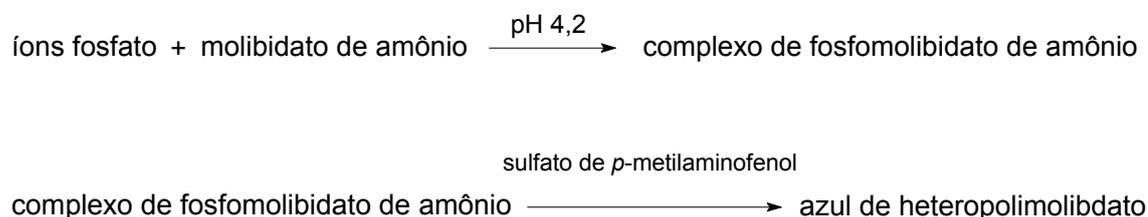
#### 4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura e microanálise

A caracterização morfológica das pastilhas a partir das modificações superficiais ocorridas durante os testes de bioatividade *in vitro* foi realizada

por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Um conjunto de amostras foi selecionado e analisado antes e após a imersão na solução SBF, nos diferentes tempos de ensaio. Para isso, as amostras foram recobertas pela vaporização de uma fina camada de ouro tornando a superfície condutora de elétrons, sendo posteriormente analisadas em um microscópio Phillips série FEG X-L30 acoplado a um sistema de análise espectroscópica por energia dispersiva de raios X (EDS), que auxiliou na caracterização superficial das amostras através de análise química qualitativa.

#### 4.4.6 Espectrofotometria ultravioleta e visível

O monitoramento da concentração das espécies  $P-PO_4^{3-}$  presente na solução SBF, no decorrer dos ensaios de bioatividade *in vitro*, foi baseado em suas reações com o molibdato de amônio  $((NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O)$  em meio ácido para originar um complexo de fosfomolibdato de amônio  $((NH_4)_3[P(Mo_3O_{10})_4])$ , conforme descrito por Fiske e Subbarow (1925) [110]. Quando em presença do sulfato de *p*-metilaminofenol  $(CH_3NHC_6H_4OH)_2 \cdot H_2SO_4$ , esse complexo é reduzido, dando origem a um cromóforo azul de elevada estabilidade, o heteropolimolibdênio  $([xMo_{12}O_{40}]^{n-})$ , cuja absorvância, medida em 660 nm, é diretamente proporcional à concentração de íons fósforo presente na amostra analisada [111]. De modo simplificado, segue abaixo a sequência de reações:



Desse modo, a concentração das espécies  $P-PO_4^{3-}$  pôde ser avaliada em função de cada tempo de ensaio estabelecido pela medida da intensidade da cor característica do complexo azul de heteropolimolibdênio, utilizando-se um equipamento de análise clínica Siemens modelo ADVIA® 1800.

#### 4.4.7 Eletrodo íon-seletivo

A medida da atividade iônica para as espécies  $H^+$  e  $Ca^{2+}$  foi realizada em um analisador de eletrólitos e gasometria Roche modelo Cobas b121, utilizando-se eletrodos íon-seletivo sensíveis a cada espécie de interesse.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Vidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

#### 5.1.1 Síntese e caracterização das amostras Bio1\_TEP

Os géis sintetizados envolvendo a utilização do TEP como precursor de fósforo apresentaram tempo de gelatinização de aproximadamente 69 horas. Foi considerado como tempo de gelatinização o tempo necessário para que a mistura reacional se tornasse rígida, não exibindo mais escoamento. Todos os géis obtidos após a secagem ficaram transparentes, incolores e opticamente homogêneos, como mostra a Figura 5.1.



Figura 5.1: Ilustração do gel Bio1\_TEP sintetizado com a utilização do TEP como precursor de fósforo.

Para a determinação dos programas de tratamento térmico, análises simultâneas de DSC e TG foram realizadas com uma fração do gel particulado. Os resultados obtidos nestes ensaios podem ser visualizados na Figura 5.2. De acordo com os dados obtidos, é possível observar que o gel apresentou três etapas de perda de massa distintas, tornando-se praticamente estável a partir de  $\sim 600$  °C. A primeira etapa de perda de massa aparece em  $\sim 128$  °C, estando associada ao processo endotérmico de dessorção de água e álcool fisicamente

adsorvido no material. A existência de álcool é inerente ao processo de síntese (ver subseção 3.2.1). Em  $\sim 270$  °C, ainda é observada volatilização de água, desta vez por um processo exotérmico referente à sua dessorção química. No intervalo de temperatura entre  $\sim 300$  e  $550$  °C, ocorreram as etapas de perda de massa mais acentuadas. De característica fortemente endotérmica, o primeiro processo centrado em  $370$  °C é atribuído à evolução de subprodutos resultantes da condensação incompleta dos precursores como, por exemplo, grupos alcóxido. O segundo processo localizado nessa região é o mais crítico, no qual ocorreu fluxo máximo de massa do sólido para a fase vapor, em  $451$  °C. Essa etapa de perda de massa corresponde à eliminação dos íons nitrato existentes no material através de sua decomposição em dióxido de nitrogênio ( $\text{NO}_2$ ). De natureza exotérmica, o último processo observado no gráfico situa-se em  $\sim 855$  °C e é relacionado com o início da cristalização do sistema [76, 78, 84, 95, 98].

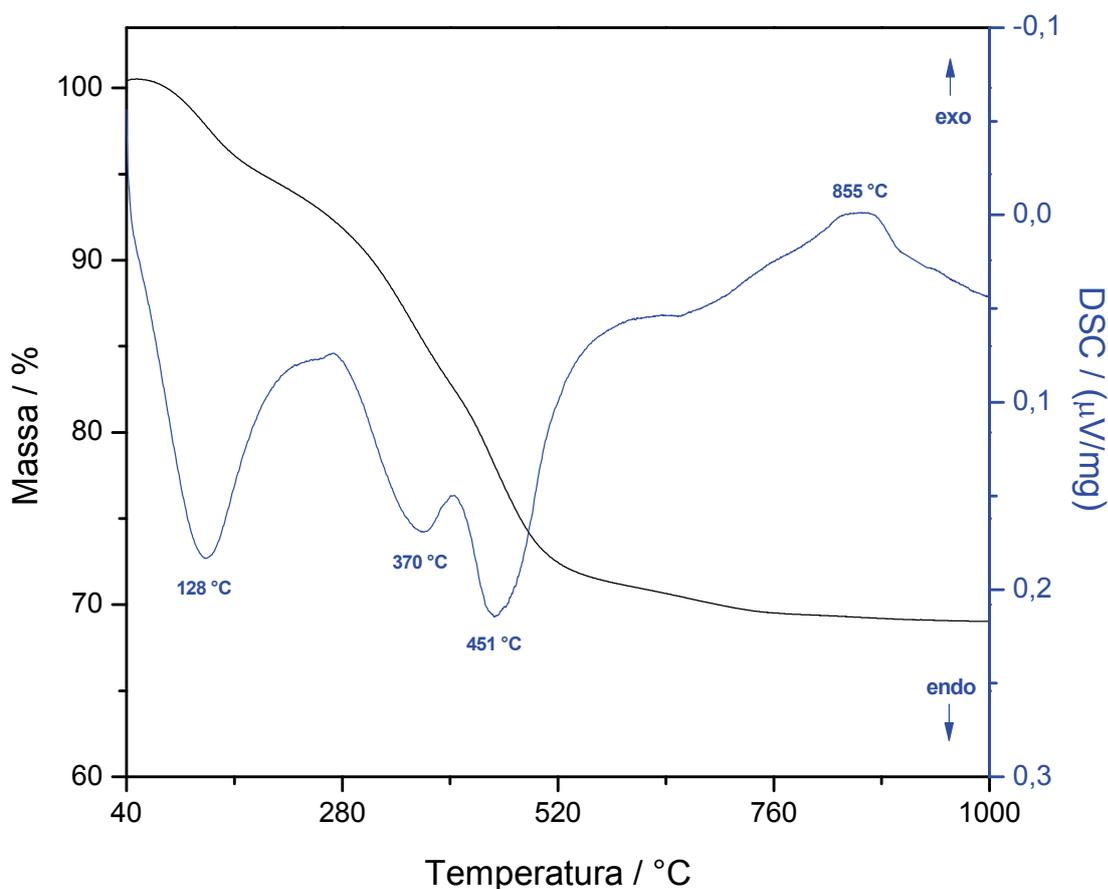


Figura 5.2: Curvas de DSC e TG do gel Bio1\_TEP.

Em função dos resultados obtidos com as análises de DSC e TG, a temperatura inicial de tratamento térmico foi fixada em 700 °C, com isoterma de 3 horas, sendo essa condição suficiente para a completa eliminação dos nitratos e, conseqüentemente, para a obtenção dos materiais vítreos, uma vez que a cristalização só pôde ser observada em ~855 °C. A Figura 5.3 mostra o difratograma de raios X da amostra submetida a esse tratamento térmico (Bio1.1\_TEP), na qual é possível observar apenas um alo amorfo centrado em ~25° (2 $\theta$ ), aspecto que é típico de materiais vítreos.

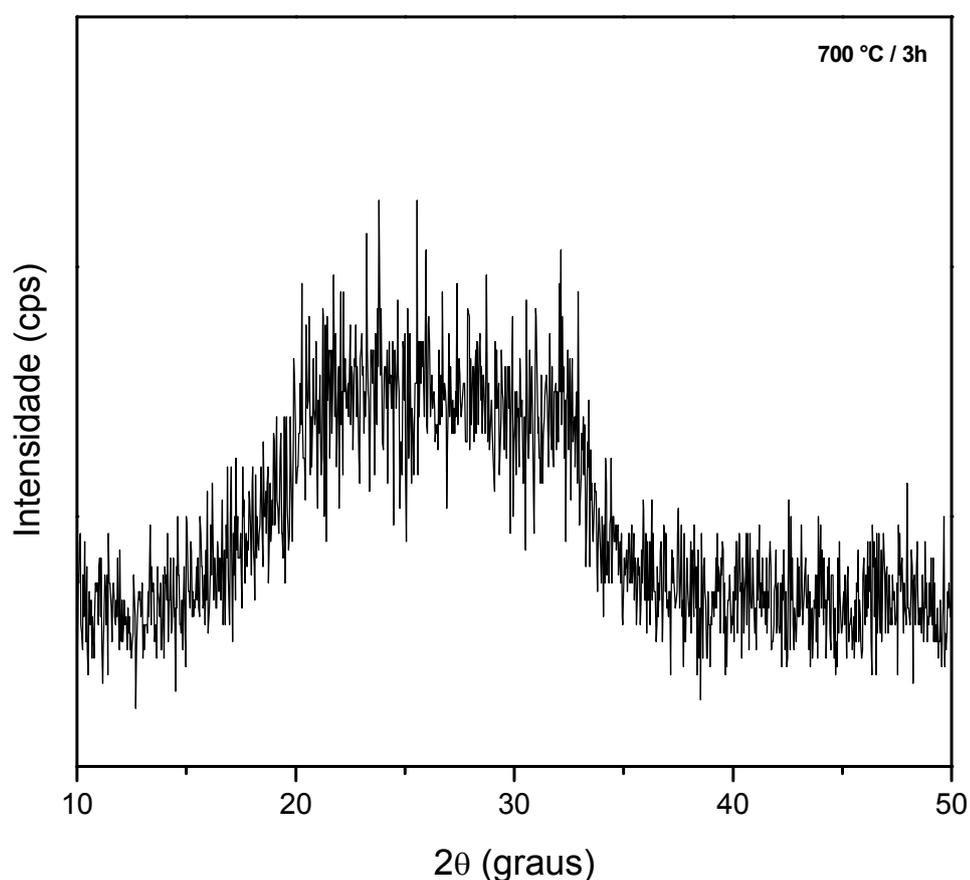


Figura 5.3: Difratograma de raios X da amostra Bio1.1\_TEP

Estabelecidas as condições necessárias para a obtenção dos materiais vítreos, o segundo passo foi determinar, de forma mais precisa, a temperatura de início do processo de cristalização do sistema para a escolha dos demais tratamentos térmicos e posterior preparação das vitrocerâmicas. Para isso, um ensaio de DSC foi realizado a partir do vidro Bio1.1\_TEP, cujo resultado é

mostrado na Figura 5.4. Por esse ensaio, foi possível observar três processos exotérmicos atribuídos à cristalização do sistema, em 855, 955 e 1075 °C, respectivamente. Outro processo exotérmico ainda pôde ser visualizado em ~1181 °C, porém bem menos pronunciado. O pico endotérmico localizado em 64 °C é associado à volatilização de água fisicamente adsorvida no material.

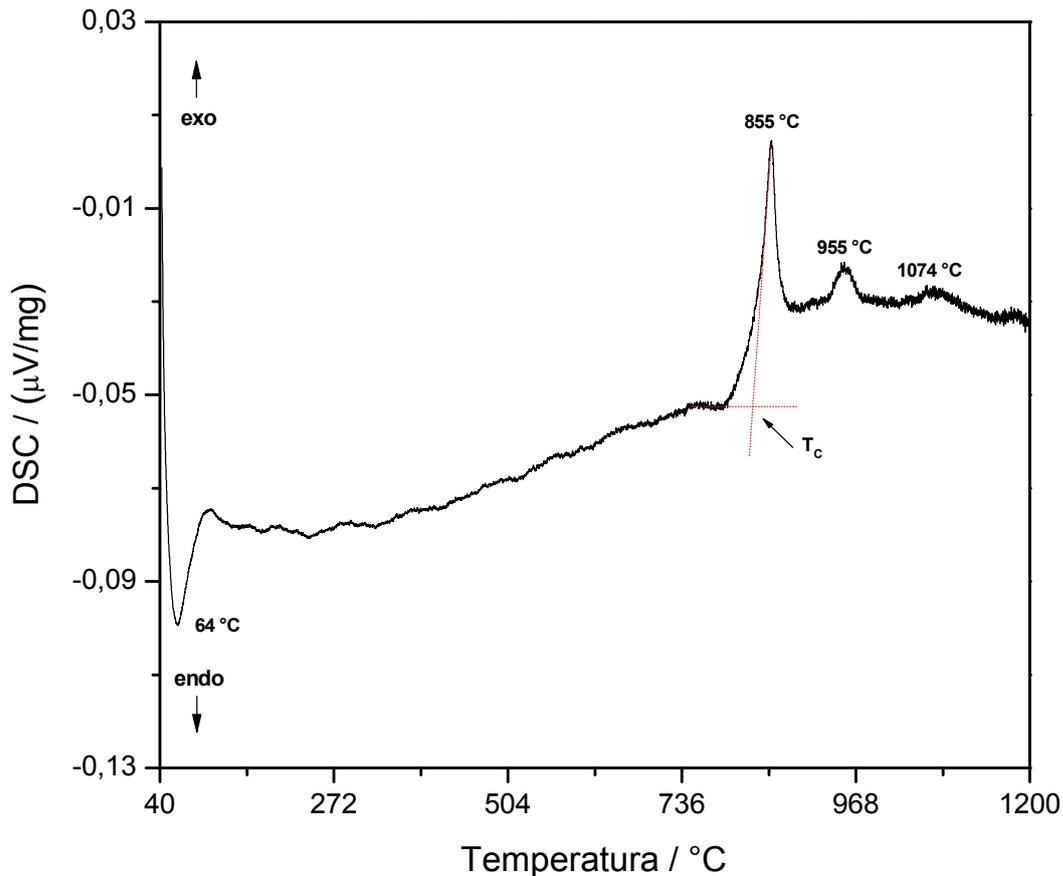


Figura 5.4: Curva de DSC da amostra Bio1.1\_TEP.

O início do processo de cristalização do vidro Bio1.1\_TEP é indicado no gráfico por  $T_c$  (temperatura de cristalização), e foi determinado pela interseção da linha que extrapola a linha de base com outra tangente à curva no ponto de inflexão do primeiro pico exotérmico, situado em 855 °C. O valor encontrado foi de 828,93 °C. Com base nesses dados, foram estipulados os tratamentos térmicos a 800, 900, 1000, 1100 e 1200 °C para a obtenção das vitrocerâmicas. Na Figura 5.5, são mostrados os difratogramas de raios X obtidos das amostras que foram expostas a esses tratamentos térmicos.

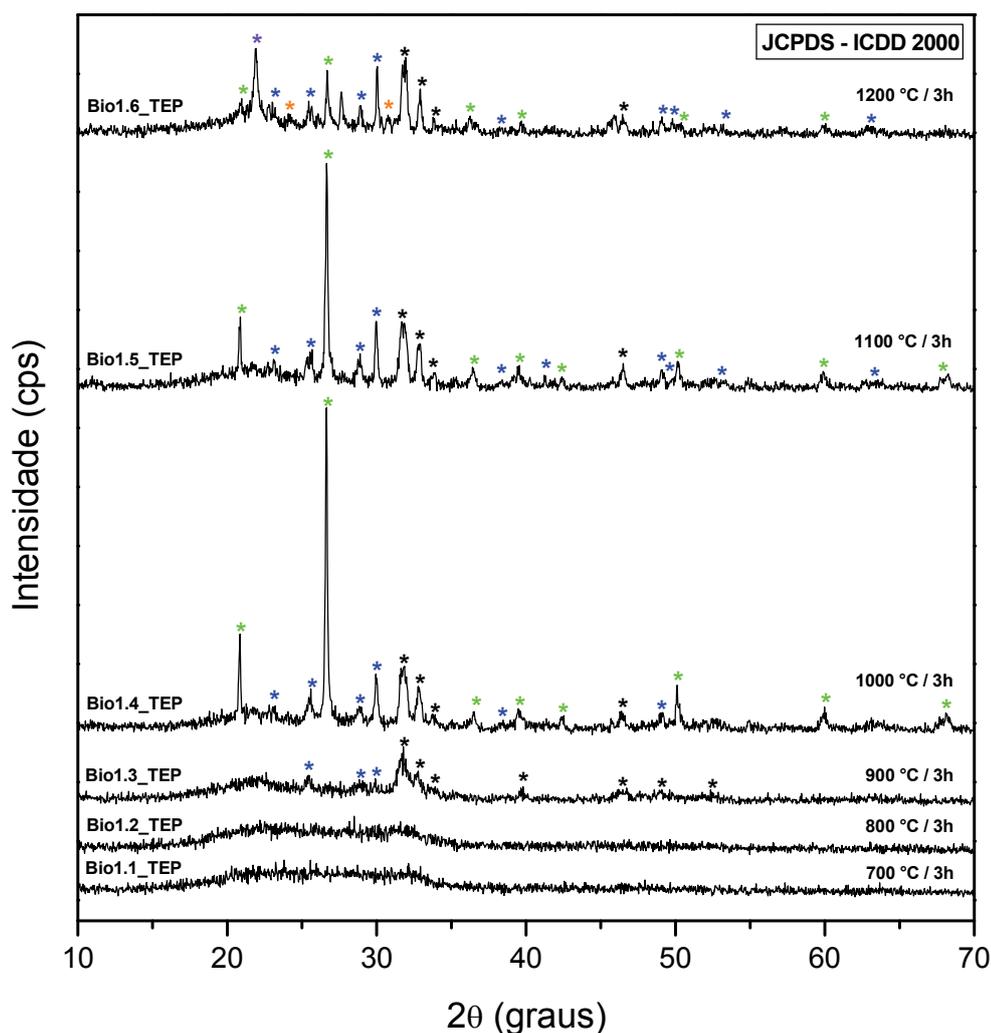


Figura 5.5: Difratoformas de raios X das amostras derivadas do gel Bio1\_TEP: \* = apatita; \* = wollastonita; \* = quartzo; \* = *alfa*-fosfato tricálcio; \* = cristobalita.

De acordo com os resultados dos difratogramas de raios X, evidências de cristalização somente foram constatadas para os tratamentos térmicos realizados acima de 800 °C, o que está em conformidade com os dados adquiridos na análise de DSC do vidro Bio1.1\_TEP. Na temperatura de 900 °C, a principal fase identificada foi a apatita (podendo ser representada por  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ), e, de forma bem menos pronunciada, a fase wollastonita ( $\text{CaSiO}_3$ ). Em 1000 °C, foi observado um aumento considerável dessas fases, com destaque para a wollastonita e, ainda, para o surgimento de uma nova fase, o quartzo ( $\text{SiO}_2$ ). Os resultados obtidos com o tratamento térmico realizado a 1100 °C foram muito similares aos obtidos a partir do tratamento

efetuado a 1000 °C, sendo perceptível apenas o decréscimo das intensidades dos picos referentes ao quartzo. No último tratamento térmico realizado, a tendência de redução da fase quartzo foi mantida, além da formação de mais duas fases distintas, o *alfa*-fosfato tricálcio ( $\alpha$ -Ca<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>) e a cristobalita, que é um polimorfo do SiO<sub>2</sub>. É importante mencionar que, mesmo para as amostras Bio1.6\_TEP, obtidas com o tratamento térmico realizado a 1200 °C, ainda há existência de fase vítrea, fato que pode ser considerado tanto pela presença de um halo amorfo de baixa intensidade centrado em ~21° (2 $\theta$ ) como pelos resultados obtidos por Padilla *et al.* (2005) [99] em um estudo realizado com o mesmo sistema.

#### 5.1.2 Síntese e caracterização das amostras Bio2\_AFos

Os géis sintetizados com a utilização do H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> apresentaram tempo de gelatinização de ~51 horas. O aspecto dos géis obtidos após a secagem foi similar ao dos géis Bio1\_TEP, conforme é mostrado na Figura 5.6.



Figura 5.6: Ilustração do gel Bio2\_AFos sintetizado com a utilização do H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> como precursor de fósforo.

Depois da preparação dos géis particulados, o mesmo programa de tratamento térmico estabelecido anteriormente foi adotado, já sendo possível

observar as primeiras mudanças significativas no sistema com o uso desse novo precursor de fósforo. Os resultados das análises de difração de raios X dessas amostras podem ser acompanhados na Figura 5.7.

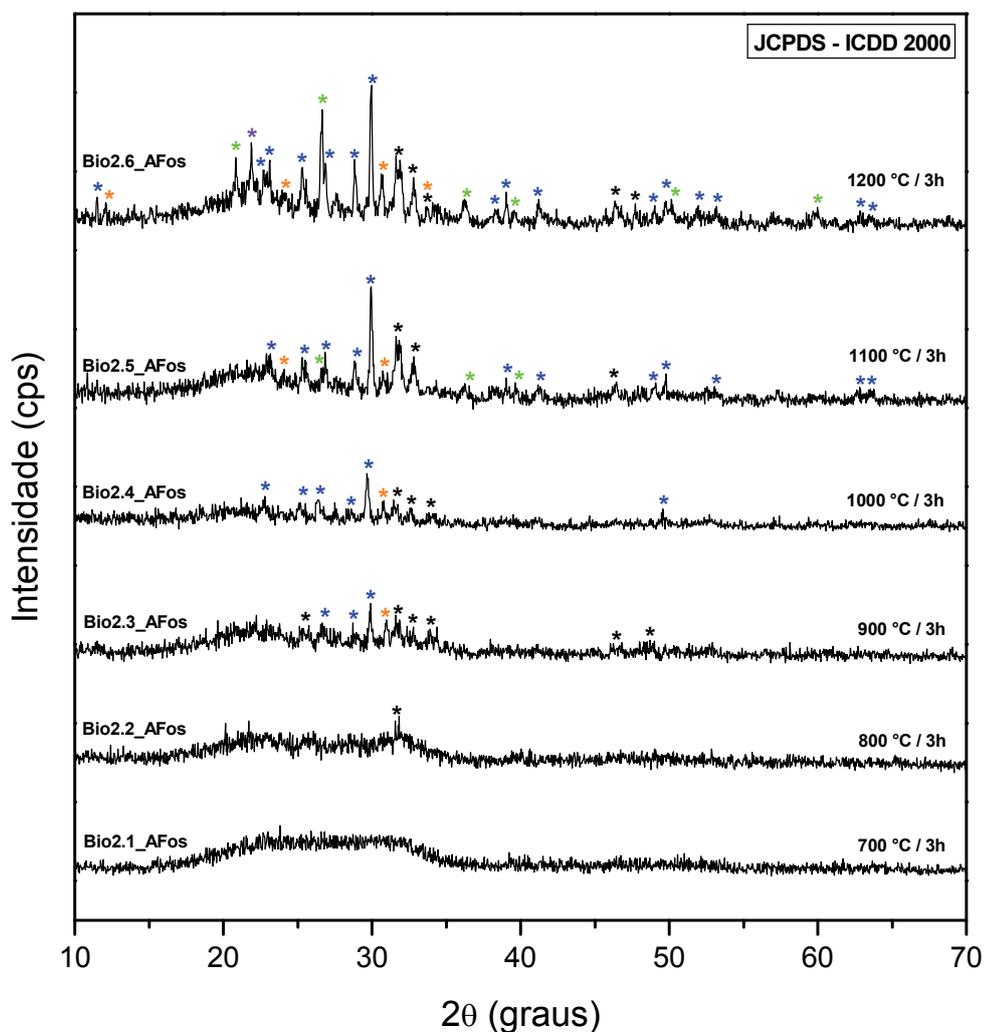


Figura 5.7: Difrátogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio2\_AFos: \* = apatita; \* = wollastonita; \* =  $\alpha$ -fosfato tricálcio; \* = quartzo; \* = cristobalita.

Os difratogramas de raios X das amostras tratadas a 700 e 800 °C foram típicos de materiais vítreos, no entanto para a amostra Bio2.2\_AFos já foi possível observar a presença de um pico largo centrado em aproximadamente 32° ( $2\theta$ ). Esse pico é atribuído à existência de apatita, cuja intensidade não é forte o suficiente para estabelecer a extensão de ordenação característica para essa fase [76, 99, 100]. A 900 °C, a presença da fase apatita se tornou bem

mais pronunciada, ocorrendo também a formação de wollastonita e *alfa*-fosfato tricálcio. Nos tratamentos térmicos realizados a 1000 e 1100 °C, foi verificado um aumento considerável dessas fases, bem como o surgimento de picos discretos referentes ao quartzo no tratamento efetuado a 1100 °C. Na temperatura de 1200 °C, destaque para a formação da fase cristobalita, além da manutenção da tendência de aumento nas intensidades dos picos relativos às fases já existentes, ou seja, em seus desenvolvimentos.

Esses resultados foram bastante diferentes daqueles obtidos com a cristalização das amostras originadas do gel Bio1\_TEP (Figura 5.5), na qual a formação de quartzo pôde ser evidenciada em temperaturas mais baixas e com picos bem mais intensos. Convém, ainda, frisar que o surgimento de *alfa*-fosfato tricálcio somente foi observado no tratamento térmico realizado a 1200 °C. Por outro lado, a remanência de fase vítrea após a realização dos tratamentos térmicos é uma característica comum a ambos os conjuntos de amostras, como pode ser observado nos difratogramas pela presença de um alo amorfo centrado em  $\sim 21^\circ$  ( $2\theta$ ).

### 5.1.3 Síntese e caracterização das amostras Bio3\_EFos

Para a síntese dos géis Bio3\_EFos, a primeira medida foi verificar a formação das espécies  $\text{PO}(\text{OH})_{3-x}(\text{OR})_x$  a partir da mistura reacional contendo o  $\text{P}_2\text{O}_5$  e o etanol. Passadas as 12 e 24 horas estipuladas para refluxo, as soluções resultantes apresentaram elevada viscosidade e coloração ligeiramente rósea. Os resultados das análises de RMN de  $^{31}\text{P}$  e IVTF são mostrados nas Figuras 5.8 e 5.9, respectivamente. Nos espectros de RMN, dois agrupamentos de picos puderam ser visualizados. O primeiro, em torno de 0 ppm, foi atribuído ao ácido fosfórico ( $\text{PO}(\text{OH})_3$ ,  $\sim 2,53$  ppm) e as espécies  $\text{PO}(\text{OH})_{3-x}(\text{OR})_x$  mono- ( $\text{PO}(\text{OH})_2(\text{OEt})$ ,  $\sim 1,29$  ppm), di- ( $\text{PO}(\text{OH})(\text{OEt})_2$ ,  $\sim 0,13$  ppm) e tri-substituídas ( $\text{PO}(\text{OEt})_3$ ,  $\sim -0,73$  ppm). Dessa forma, assumindo  $x$  os valores de 0, 1, 2 e 3. Pela intensidade dos picos, as frações das espécies  $\text{PO}(\text{OH})_2(\text{OEt})$  e  $\text{PO}(\text{OH})(\text{OEt})_2$  foram muito próximas, ao passo que o ácido

fosfórico e as espécies  $\text{PO}(\text{OEt})_3$  (no caso o TEP) exibiram frações mínimas, o que é o ideal. O segundo grupo de picos, localizado ao redor de  $-12$  ppm, corresponde a espécies condensadas de fosfato do tipo  $\text{Q}^1$ , sendo trimeros em  $\sim -11,68$  ppm e dímeros em  $\sim -12,65$  ppm. O aumento da concentração desses fosfatos condensados na solução foi bastante expressivo, quando o tempo de refluxo passou de 12 para 24 horas. Isso pode observado ao se comparar no espectro a intensidade dos picos que são referentes a essas espécies em cada uma das soluções que foram obtidas [86, 104, 105, 107].

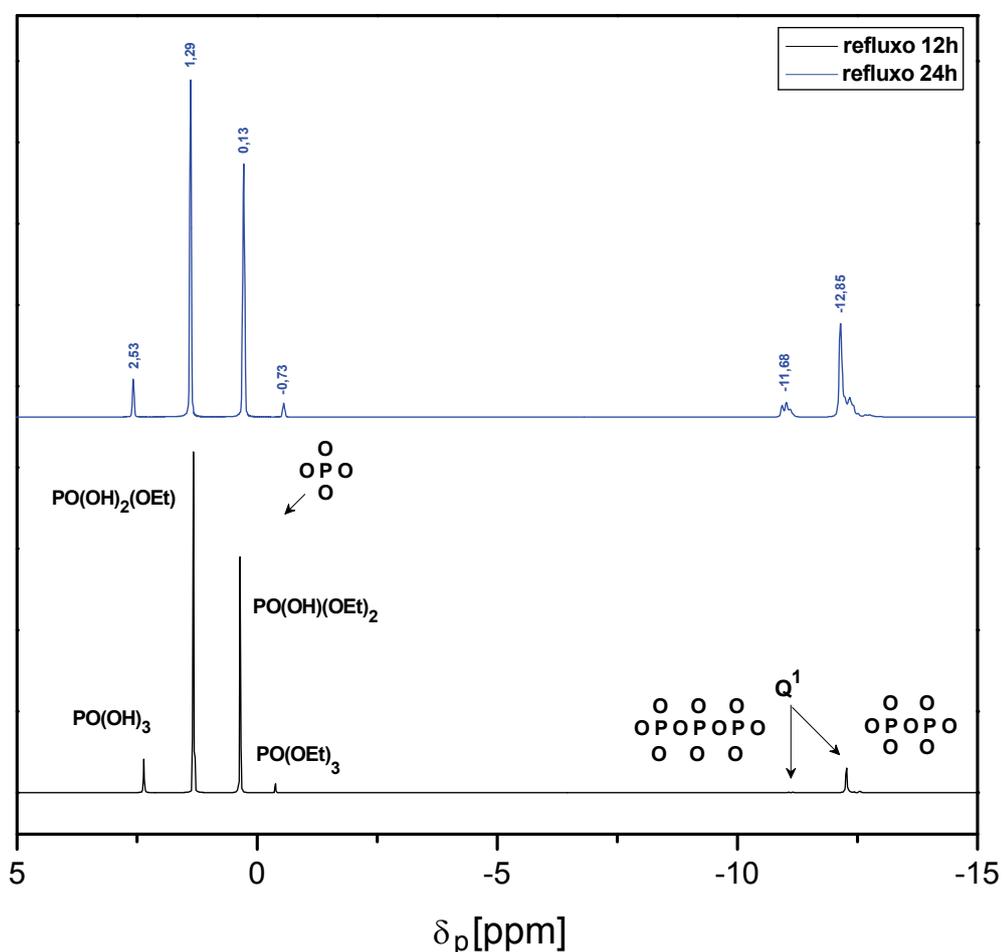


Figura 5.8: Espectros de RMN de  $^{31}\text{P}$  das soluções obtidas a partir da mistura reacional contendo  $\text{P}_2\text{O}_5$  e etanol.

Alterações significativas entre as soluções obtidas com os diferentes tempos de refluxo não foram perceptíveis através dos espectros de IVTF. O

que pôde ser verificado foi a presença de uma banda larga em  $\sim 3000\text{ cm}^{-1}$ , associada ao estiramento de ligações envolvendo os grupos  $-\text{OH}$ . Bandas referentes ao modo vibracional da ligação  $\nu\text{-CH}_3$  também foram observadas nessa mesma região. Outras bandas relacionadas às vibrações das ligações  $\delta\text{CH}_x$  e  $\rho\text{CH}_x$  ( $x = 2$  e  $3$ ) apareceram em  $\sim 1436\text{ cm}^{-1}$  e entre  $1218\text{ - }1084\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. A região nos espectros onde ocorreram as absorções mais intensas é situada em torno de  $\sim 1050\text{ cm}^{-1}$ , sendo atribuída ao estiramento das ligações  $\text{P-O}$  e  $\text{P=O}$ , além das ligações  $\text{P-O-C}$  e  $\text{O-P-O}$  referenciadas pelas bandas que se encontram localizadas entre  $\sim 907$  e  $750\text{ cm}^{-1}$ . Na região de  $\sim 490\text{ cm}^{-1}$ , outra banda bastante intensa ainda pôde ser visualizada nos espectros, atribuída ao modo de vibração da ligação  $\nu\text{P-O}$  [86, 105, 107].

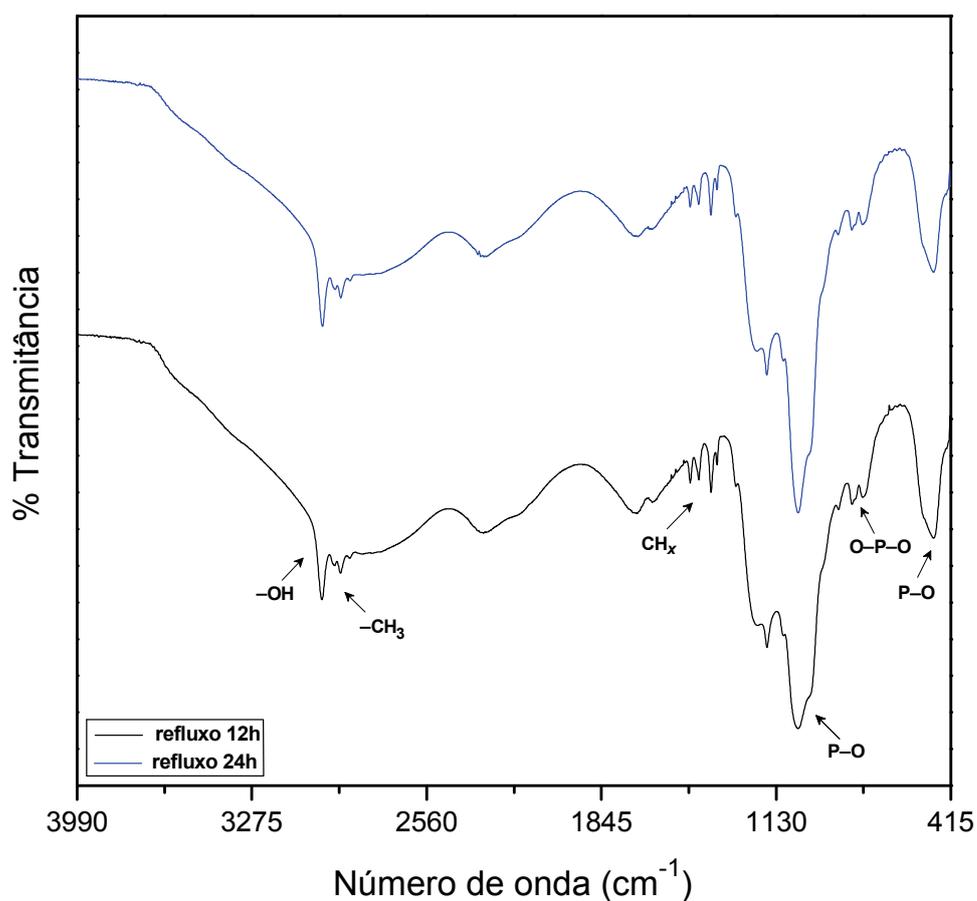


Figura 5.9: Espectros de IVTF das soluções obtidas a partir da mistura reacional contendo  $\text{P}_2\text{O}_5$  e etanol.

Uma vez confirmada a formação das espécies de interesse, optou-se pela solução com tempo de refluxo de 24 horas para a realização da síntese dos géis, já que a diferença entre elas consistiu basicamente na concentração existente de fosfatos condensados. De acordo com Ali *et al.* (1998), o aumento na concentração de fosfatos condensados na solução não corresponde a uma desvantagem para a realização de uma síntese via sol-gel, pois eles podem sofrer hidrólise e policondensação, vindo a auxiliar na reticulação do sistema. O caráter ácido dessas espécies ainda pode contribuir para as reações de hidrólise dos precursores monoméricos envolvidos na síntese, promovendo um mecanismo similar ao que é observado em uma catálise ácida [107]. Deste modo, ao se realizar a síntese a partir desse precursor, tempos de gelatinização mais curtos foram observados, com formação do gel em aproximadamente ~47 horas. Os géis obtidos após a secagem foram homogêneos, transparentes e com tom levemente amarelado, conforme mostra a Figura 5.10.

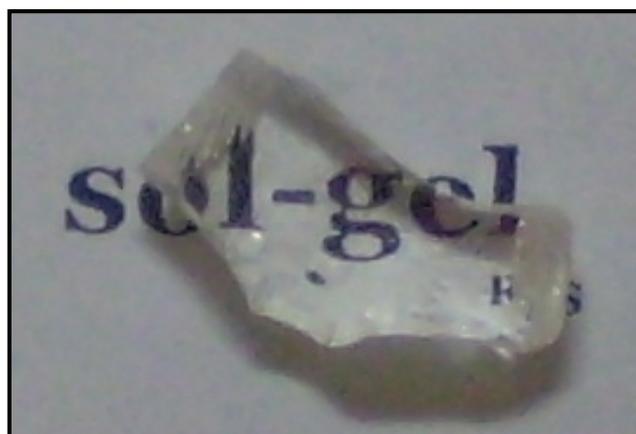


Figura 5.10: Ilustração do gel Bio3\_EFos sintetizado com a utilização do precursor de fósforo previamente elaborado a partir da dissolução do  $P_2O_5$  em etanol (refluxo 24h).

Os difratogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio3\_EFos logo após a realização dos tratamentos térmicos são mostrados na Figura 5.11. Analisando-se os difratogramas, é de se notar certa semelhança com os resultados obtidos na conversão das amostras derivadas do gel Bio1\_TEP em

materiais cerâmicos, os quais foram demonstrados na Figura 5.5. Para cada tratamento térmico, observou-se que as fases formadas foram as mesmas entre esses dois conjuntos de amostras, ficando a diferença restrita apenas ao desenvolvimento mais favorável de uma ou outra fase. Isso pode ser verificado pela intensidade dos picos referentes às fases presentes, principalmente naqueles que dizem respeito ao quartzo, cristobalita e wollastonita.

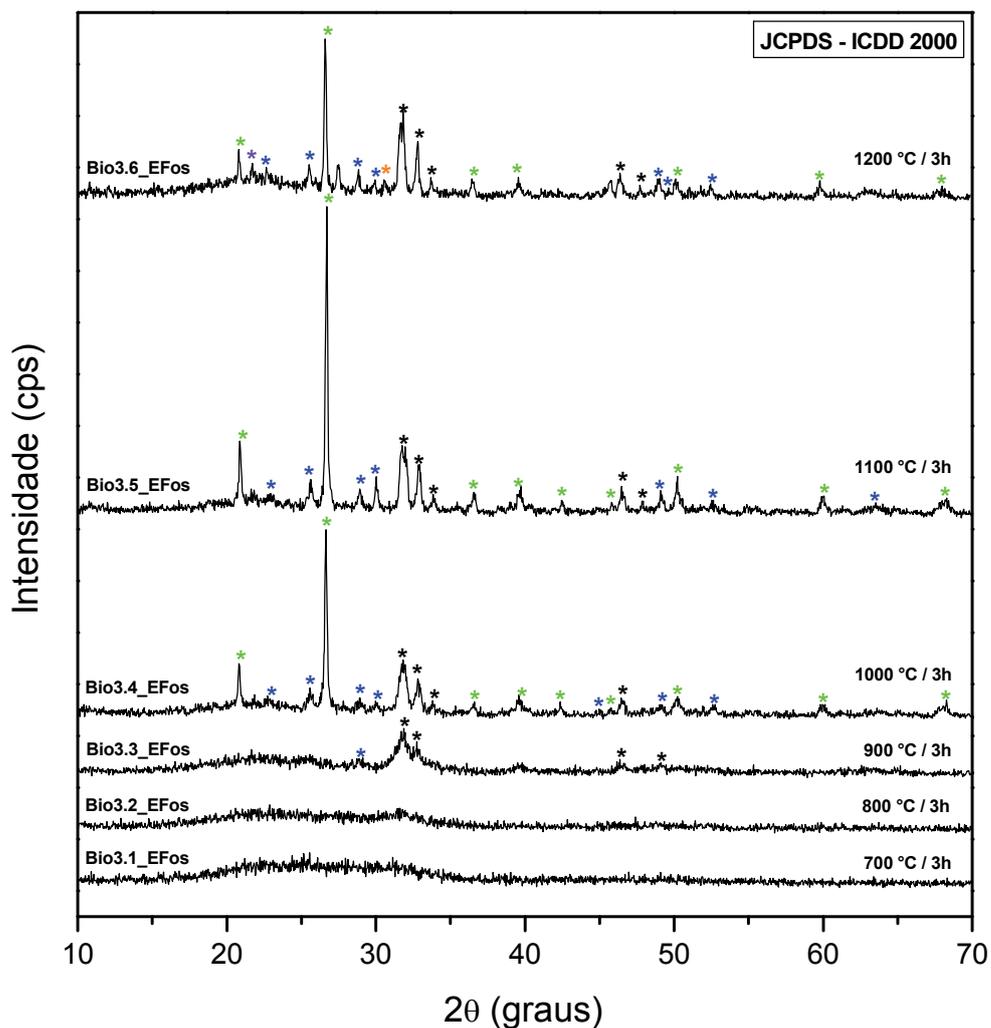


Figura 5.11: Difratomogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio3\_EFos : \* = apatita; \* = wollastonita; \* = quartzo; \* = *alfa*-fosfato tricálcio; \* = cristobalita.

Diferentemente do que foi observado nas amostras do gel Bio1\_TEP, houve evolução de quartzo com o aumento da temperatura de 1000 para

1100 °C. Redução significativa na intensidade dos picos referentes ao quartzo só foi verificada no tratamento térmico realizado a 1200 °C, o que pode estar relacionado com a formação da fase cristobalita, aqui identificada através do surgimento de um pico não muito acentuado. Em relação à wollastonita, o aumento na temperatura dos tratamentos térmicos realizados não promoveu influência tão significativa como nas amostras derivadas do gel Bio1\_TEP, em que foi possível observar um aumento nas intensidades dos picos relativos a essa fase de maneira bem mais contundente.

#### 5.1.4 Síntese e caracterização das amostras Bio4\_AFit

Os géis sintetizados a partir do uso do ácido fítico como precursor de fósforo apresentaram tempo de gelatinização em torno de 57 horas. Esses materiais foram transparentes e exibiram coloração âmbar, como é mostrado na Figura 5.12. No entanto, esses géis não foram homogêneos.



Figura 5.12: Ilustração do gel Bio4\_AFit sintetizado com a utilização do ácido fítico como precursor de fósforo.

Durante a realização da síntese, foi observada precipitação no meio reacional minutos depois da adição do  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ . Realizando-se uma nova síntese, logo após a formação do precipitado o sistema foi posto sob

centrifugação, sendo, dessa maneira, o sobrenadante separado e submetido à caracterização. Na Figura 5.13, são mostrados os resultados, em que se pode verificar o caráter amorfo dessa fase precipitada, bem como sua composição, basicamente cálcio e fósforo. Ao que tudo indica, deve-se tratar de um fosfato de cálcio amorfo.

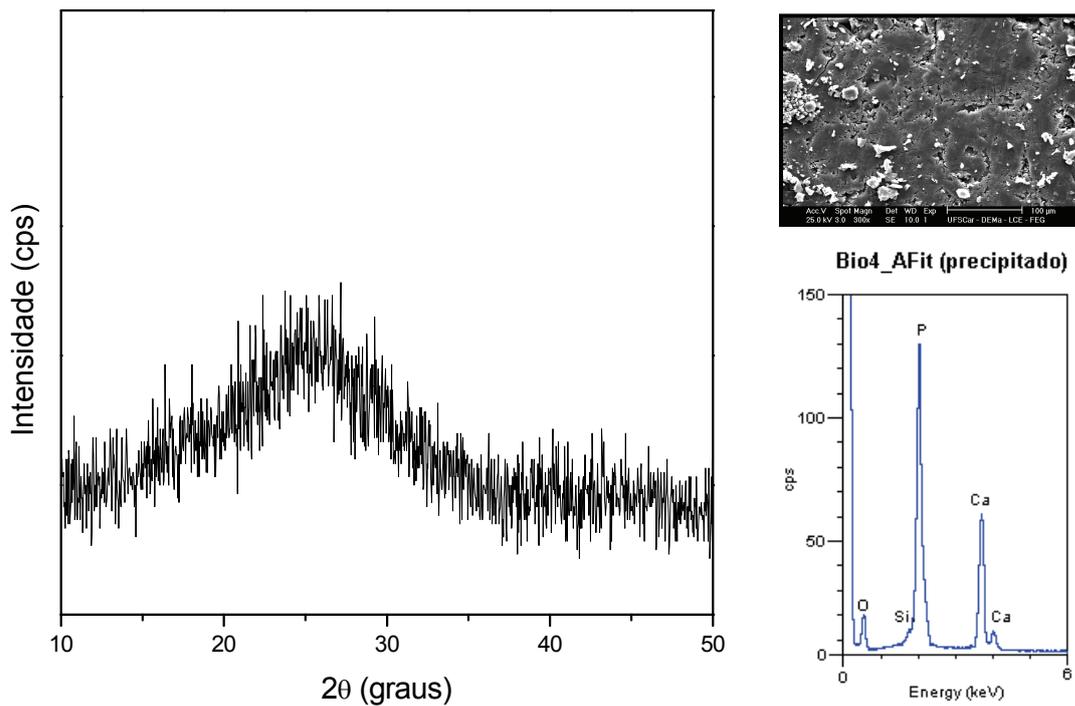


Figura 5.13: Difratoograma de raios X e espectro de EDS da fase precipitada durante a síntese dos géis Bio4\_AFit.

Diante das evidências, os estudos envolvendo o ácido fítico não prosseguiram, já que as condições de síntese estabelecidas não se mostraram adequadas para o emprego desse precursor.

### 5.1.5 Teste de bioatividade *in vitro*

A morfologia de algumas amostras originadas dos géis Bio1\_TEP, Bio2\_AFos e Bio3\_EFos e o resultado de suas respectivas análises químicas qualitativas, antes e após a exposição à solução SBF em diferentes tempos de ensaio, são mostradas nas Figuras 5.14 - 5.16. Com apenas 3 horas de ensaio, já foi possível observar a modificação superficial das amostras com a formação de uma camada constituída de partículas semiesféricas. Análises de EDS indicaram que as composições superficiais das pastilhas para esse tempo de ensaio foram similares às das amostras antes da exposição na solução SBF, no entanto com visível aumento na concentração de Ca e P em relação ao Si, o que é associado à migração crescente dessas espécies para a superfície do material. Depois de 24 horas de ensaio, todas as amostras vítreas apresentaram a morfologia típica da HA, como se pode ver nas Figuras 5.14 (itens c e d) e 5.15 (item b) [7, 24, 51, 59, 78, 79, 98, 99]. Essas morfologias correspondem ao Estágio 5 do mecanismo proposto para a bioatividade, em que a formação da HA já se encontra bem definida e cada vez mais densa conforme o tempo de ensaio é aumentado. Toda essa evolução pôde ser bem acompanhada pelos espectros de EDS, em que, para o tempo de ensaio de 144 horas, não foi mais possível observar a presença de Si na superfície das amostras, ou seja, toda ela já foi tomada pelo crescimento de HA.

Para todas as amostras cristalinas, também foi possível observar a presença dessa morfologia, que é típica da HA como é mostrado nos exemplos das Figuras 5.15 (item d) e 5.16. Pelos espectros de EDS das amostras Bio2.6\_AFos, que podem ser visualizados na Figura 5.15, observa-se a grande alteração composicional ocorrida em suas superfícies após a realização dos ensaios de 144 horas, cuja presença marcante dos elementos Ca e P reforçam a ocorrência de formação da HA. O início de formação da camada de HA na superfície dessas amostras não foi identificado, uma vez que só foram efetuados testes com duração de 144 horas para se verificar a bioatividade desses materiais, o que pôde ser comprovado.

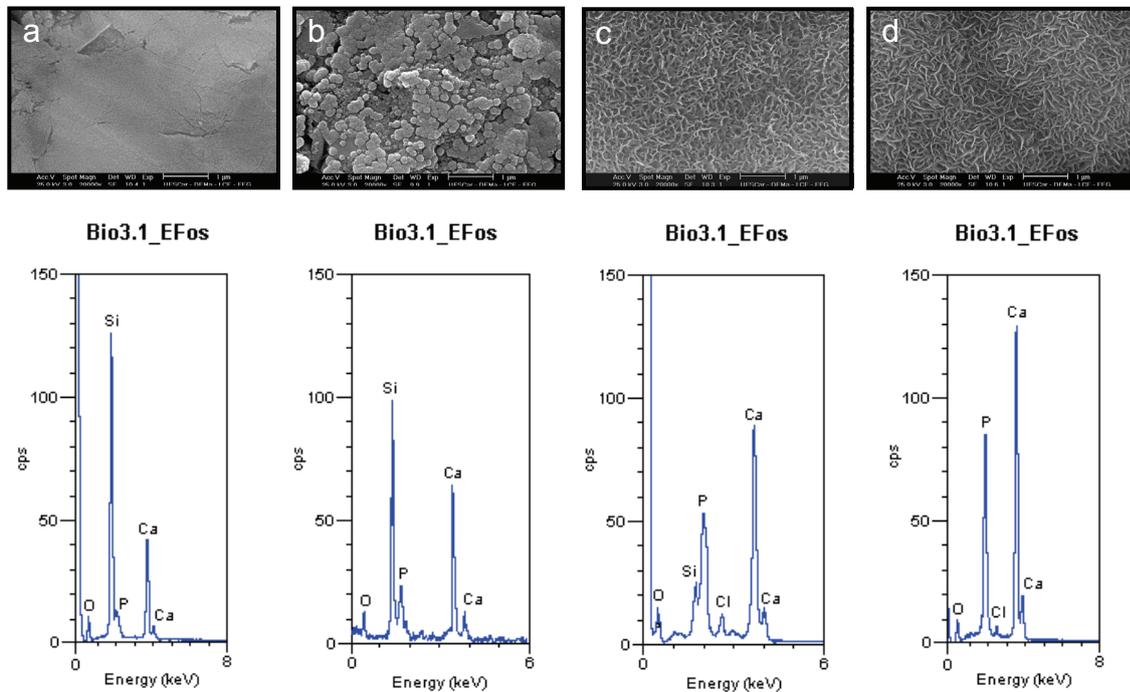
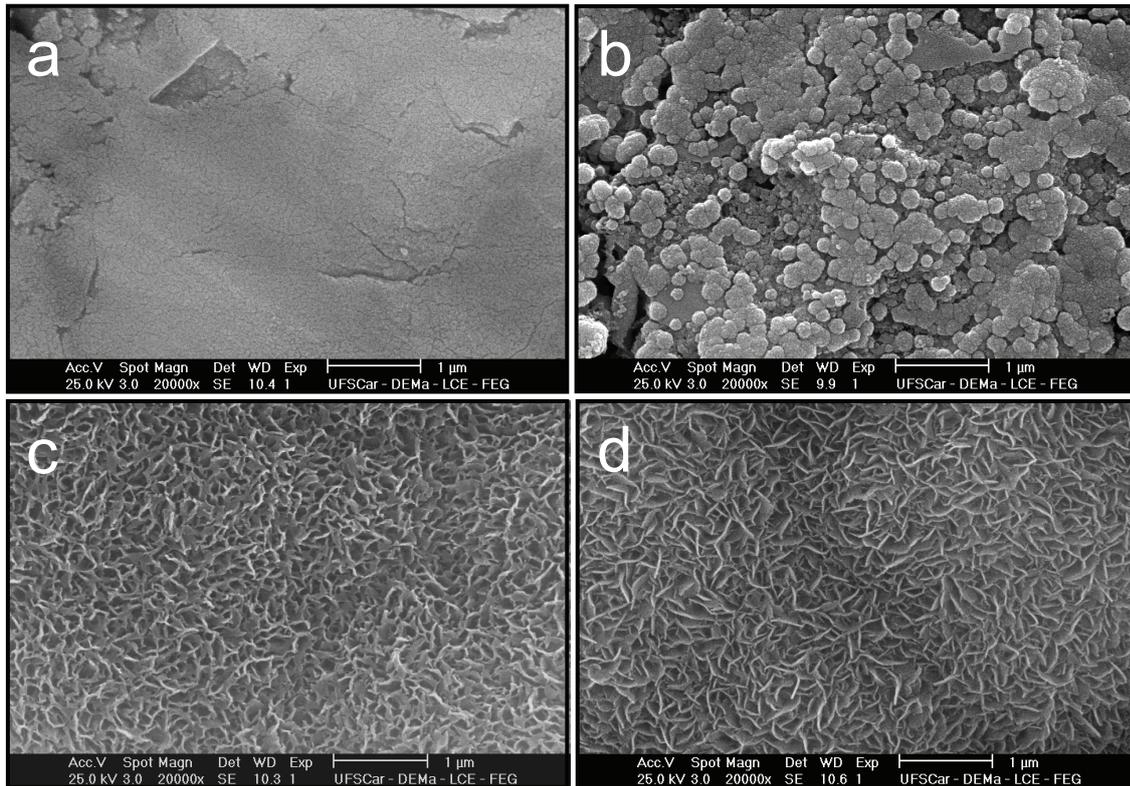


Figura 5.14: Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio3.1\_EFos, antes e após as realizações dos ensaios: (a) antes do ensaio; (b) após 3h; (c) após 24h; (d) após 144h.

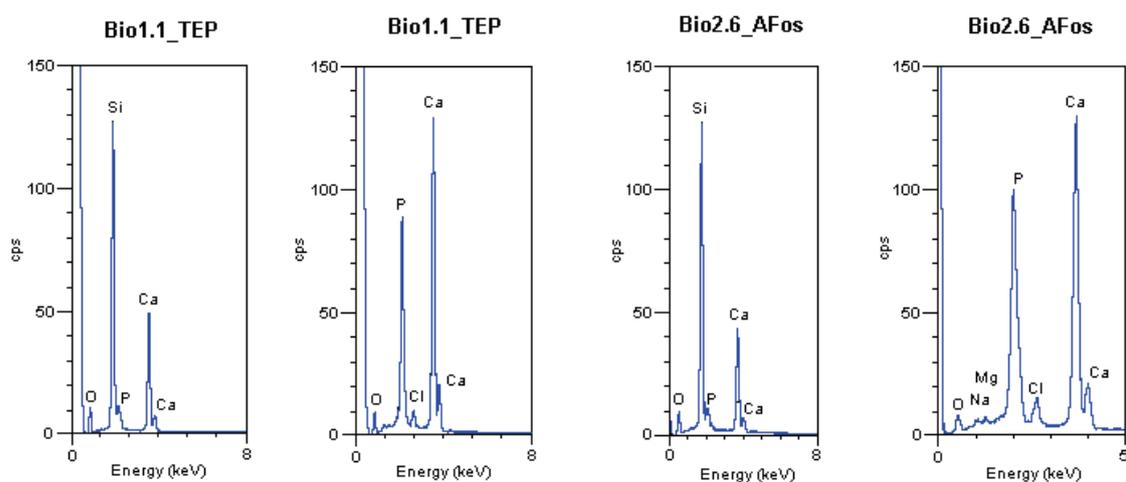
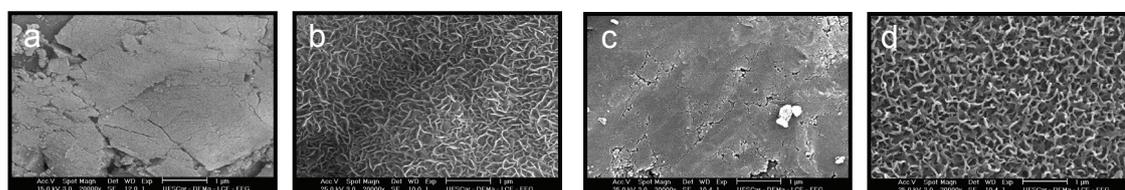
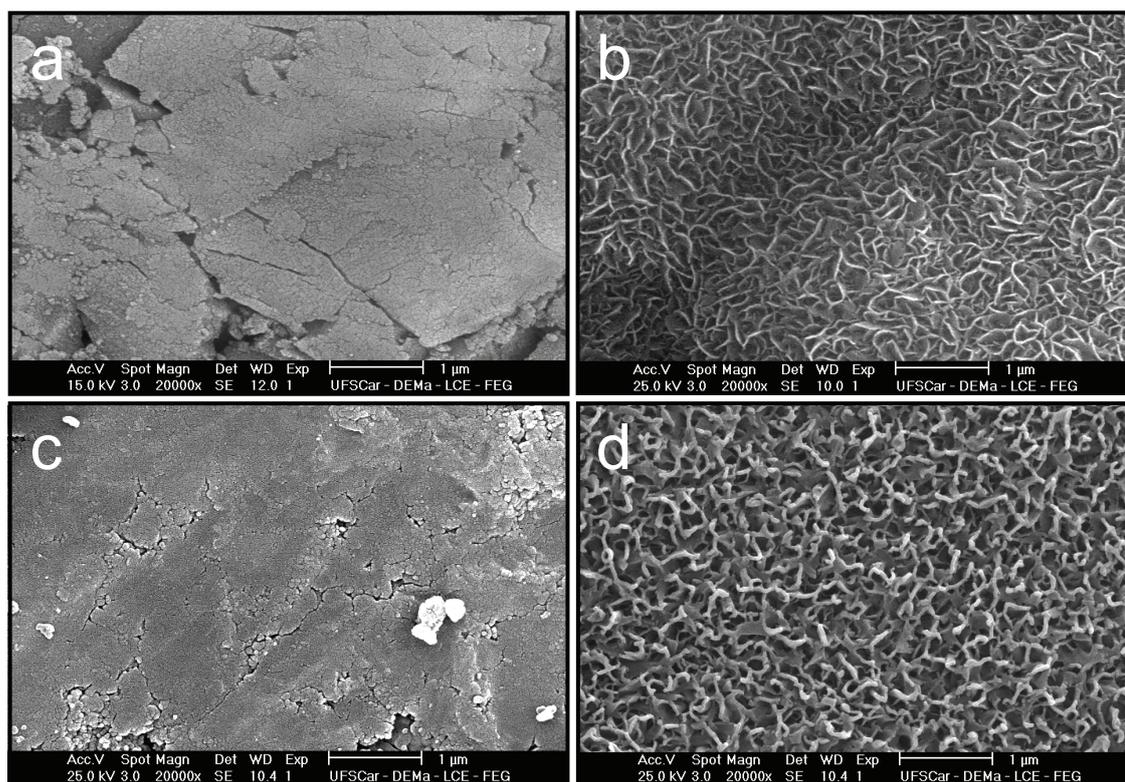


Figura 5.15: Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio1.1\_TEP e Bio2.6\_AFos, antes e após a realização do ensaio: (a) e (c) antes do ensaio; (b) e (d) após 144h.

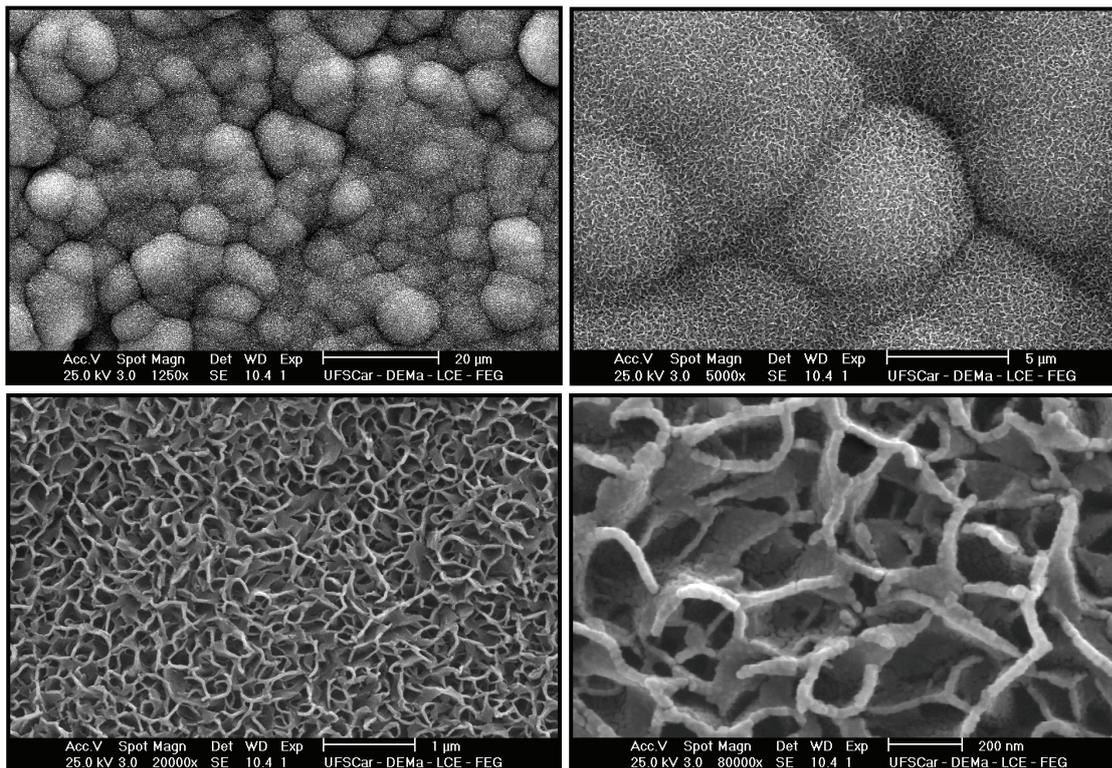


Figura 5.16: Micrografia eletrônica de varredura da superfície de uma amostra Bio1.5\_TEP após 144 horas de ensaio (diferentes aumentos).

De acordo com o que foi demonstrado nas micrografias e espectros de EDS, indícios de formação da HA na superfície das amostras só foram identificados para os tempos de exposição na solução SBF acima de 24 horas. Pelo acompanhamento realizado por IVTF, a formação da HA na superfície das amostras pôde ser confirmada neste período de tempo, como mostra a Figura 5.17, para os diferentes tempos de ensaio. A partir dos espectros das amostras imersas em solução SBF, é possível observar que, em 3 horas de ensaio, tem-se início à formação de uma camada rica em sílica na superfície das amostras, caracterizada pela deformação das bandas referentes às ligações Si–O–Si localizadas em aproximadamente  $1255$  e  $1115\text{ cm}^{-1}$ . Nesse mesmo período de tempo, em  $\sim 575\text{ cm}^{-1}$  surge uma banda larga associada ao modo vibracional das ligações  $\delta\text{P–O}$ , originadas pelo crescimento de fosfato de cálcio amorfo nesta superfície de sílica inicialmente formada. Essa banda se torna mais definida conforme o tempo de reação aumenta, sendo posteriormente dividida em dois modos vibracionais, a  $\sim 605$  e  $565\text{ cm}^{-1}$ , que são característicos da HA.

No espectro, ainda é possível observar o surgimento de duas novas bandas com a formação da HA, associadas aos modos de vibração das ligações  $\nu\text{P}=\text{O}$  e  $\nu\text{P}-\text{O}$  em  $\sim 1130$  e  $1055\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Após 24 horas de ensaio, os espectros de IVTF obtidos são análogos ao espectro da HA biológica exibindo, em função do tempo de ensaio, apenas alterações referentes à intensidade das bandas [7, 22, 24, 29, 35, 41, 48, 76, 78-80, 98, 101, 102]. Essas alterações indicam maior densificação da HA na superfície das amostras, com estágios já bem avançados de cristalização.

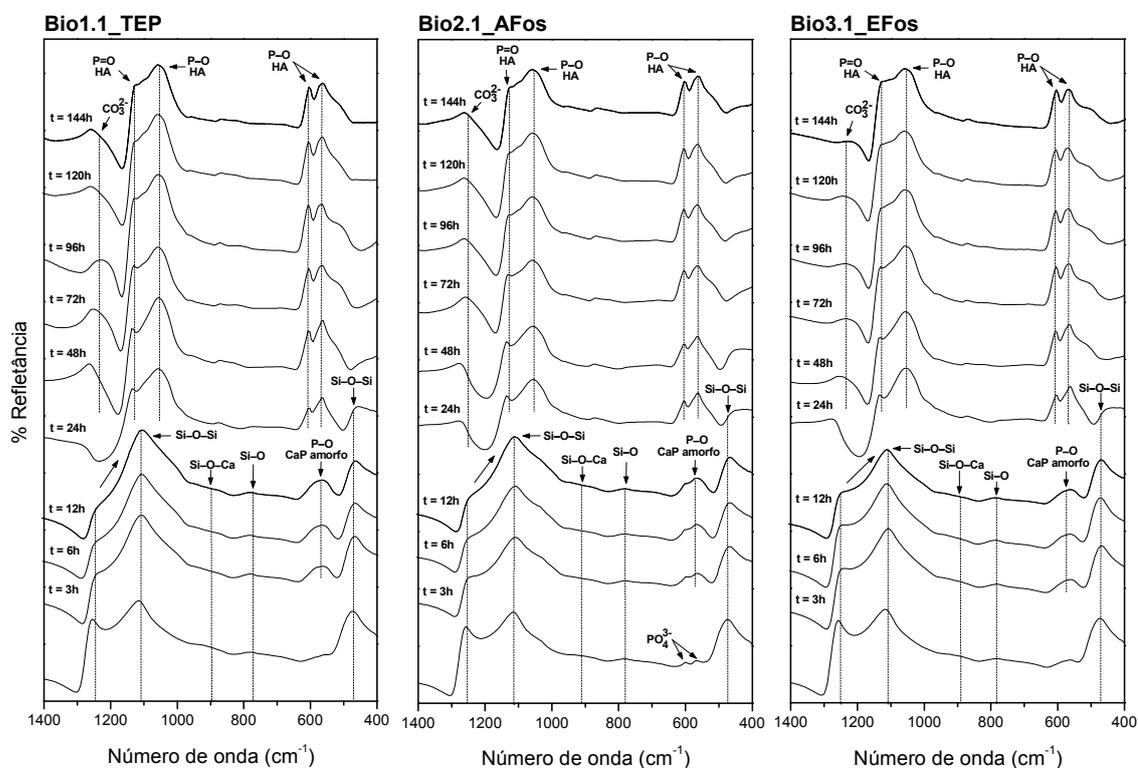


Figura 5.17: Espectros de IVTF da superfície das amostras vítreas antes, e após a imersão em solução SBF nos diferentes tempos de ensaio.

As amostras vítreas Bio1.1\_TEP, Bio2.1\_AFos e Bio3.1\_EFos, obtidas com o tratamento térmico realizado na temperatura de  $700\text{ }^{\circ}\text{C}$ , responderam de maneira semelhante aos testes de bioatividade *in vitro*, exibindo diferença apenas nos espectros adquiridos antes da realização dos ensaios, como se pode observar na Figura 5.17. Os espectros das amostras Bio1.1\_TEP e Bio3.1\_EFos foram praticamente idênticos, enquanto o espectro da amostra

Bio2.1\_AFos apresentou bandas adicionais em  $\sim 600$  e  $570 \text{ cm}^{-1}$ , atribuídas ao estiramento de ligações pertencentes a grupos fosfato [99]. Tais resultados sugerem a possível segregação de grupos  $\text{PO}_4^{3-}$  nos vidros originados dos géis Bio2\_AFos, sintetizados com o uso do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  como precursor de fósforo.

Os espectros de IVTF das amostras vítreas obtidas com o tratamento térmico realizado a  $800 \text{ }^\circ\text{C}$  e das demais amostras cristalizadas, antes e após a realização dos ensaios com duração de 144 horas, são mostrados na Figura 5.18. Por esses espectros, é possível observar que todas as amostras exibiram comportamento bioativo, ou seja, demonstraram a propriedade de formação da HA em suas superfícies, que foi identificada pelas bandas localizadas em  $\sim 1130$ ,  $1055$ ,  $605$  e  $565 \text{ cm}^{-1}$ . Bandas de baixa intensidade associadas ao quartzo e wollastonita também puderam ser identificadas em algumas amostras antes da exposição na solução SBF, situadas em  $\sim 800$  e  $780 \text{ cm}^{-1}$  e em  $\sim 1050$ ,  $940$ ,  $900$ ,  $720$ ,  $680$  e  $640 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente [98, 99].

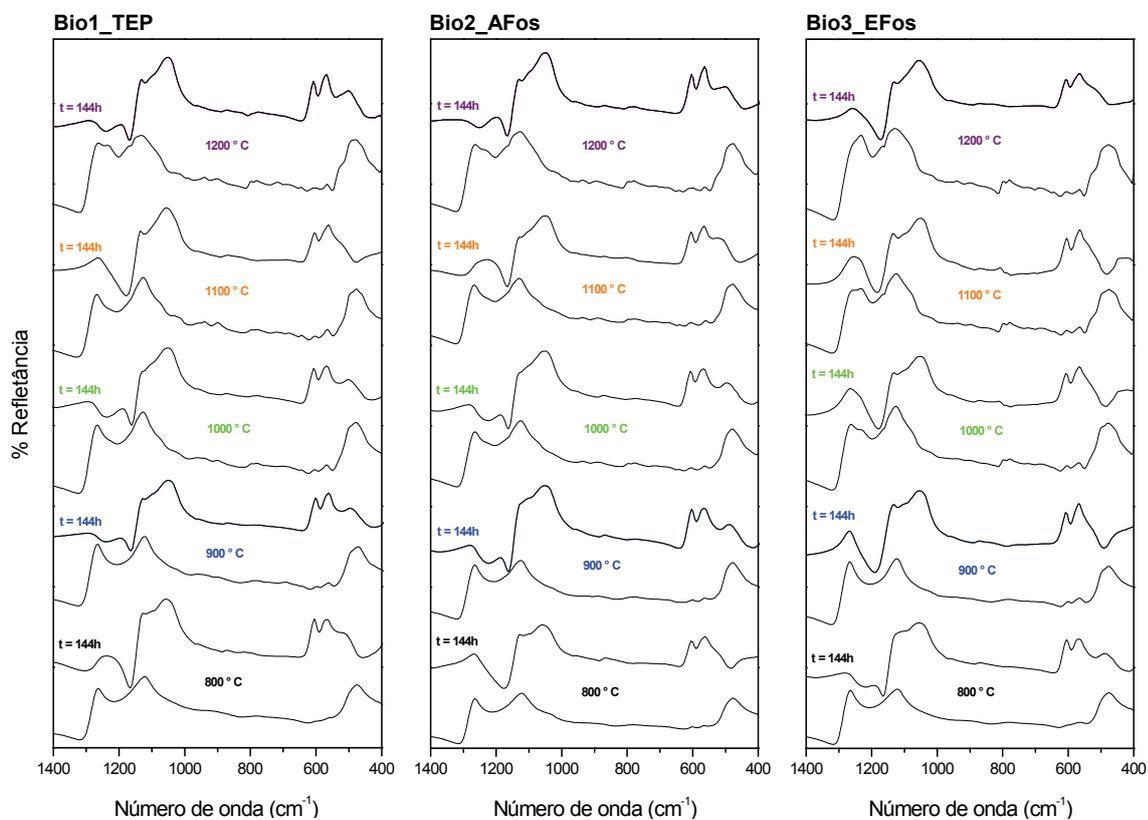


Figura 5.18: Espectros de IVTF da superfície das amostras cristalinas, antes e após 144 horas de imersão em solução SBF.

A variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo em função do tempo de exposição das amostras à solução SBF é apresentada na Figura 5.19. Esse monitoramento da solução é um dos critérios adotados para auxiliar na identificação da formação de fosfatos de cálcio na superfície dos materiais durante a realização dos testes de bioatividade *in vitro*, permitindo acompanhar o quão rápido espécies, como o  $\text{Ca}^{2+}$  e o  $\text{P-PO}_4^{3-}$ , são consumidas em função do desenvolvimento dessa camada superficial de fosfato de cálcio. Desta forma, servindo de parâmetro para se avaliar o grau de reatividade dos materiais que são submetidos ao teste.

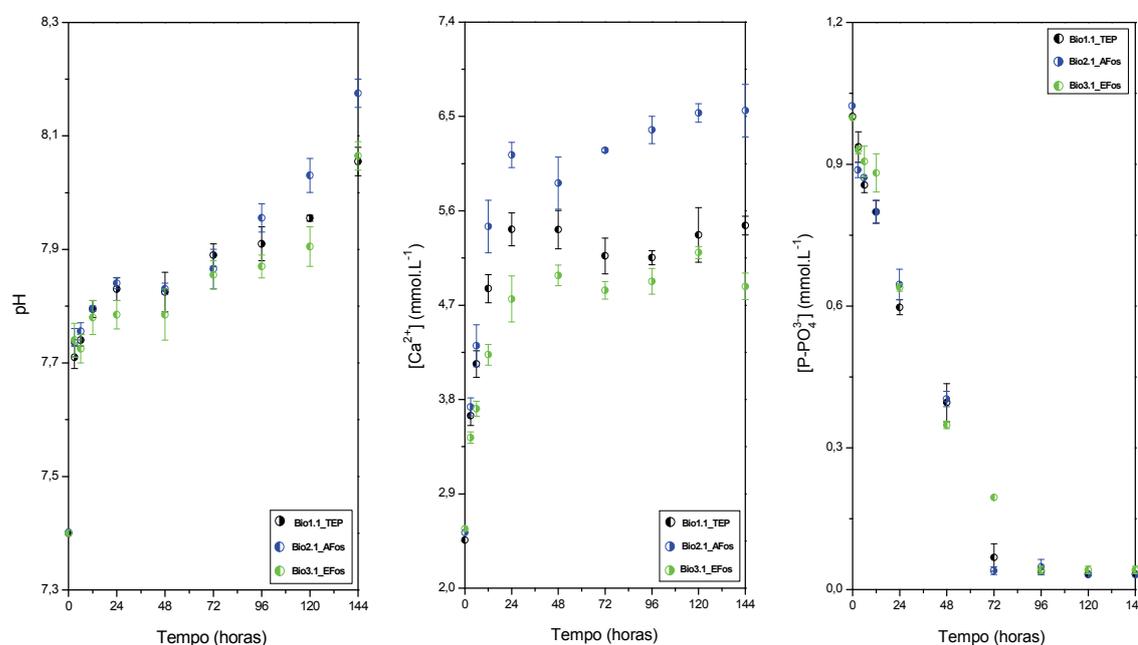


Figura 5.19: Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo em função do tempo de exposição das amostras vítreas à solução SBF.

De acordo com as análises realizadas, é possível observar que, nas primeiras 24 horas de ensaio, ocorre um aumento significativo do pH do meio, passando de 7,4 para ~7,8. Essa elevação do pH está diretamente relacionada com o aumento da concentração de íons  $\text{Ca}^{2+}$  na solução, que são oriundos da rápida dissolução do material. Nesse período de tempo, a concentração de  $\text{Ca}^{2+}$  apresentou variação de ~2,9  $\text{mmol.L}^{-1}$ . É importante mencionar que o pH do meio aumenta em função da troca iônica existente entre os íons  $\text{Ca}^{2+}$

provenientes da dissolução do material com os íons  $H^+$  presentes na solução. A partir de 24 horas de ensaio, é observada uma flutuação na concentração dos íons  $Ca^{2+}$ , com tendência global de diminuição, excetuando para as amostras Bio2.1\_AFos. Em se tratando das espécies  $P-PO_4^{3-}$ , observa-se que a sua concentração na solução cai consideravelmente a partir de 3 horas, chegando praticamente ao esgotamento nos tempos de ensaio acima de 72 horas. Esse consumo se deve ao início de formação da camada de fosfato de cálcio amorfo na superfície dos materiais e sua posterior evolução à HA (ver Figura 5.17). Essas etapas dependeram, quase que exclusivamente, do fósforo fornecido pela solução, uma vez que não foi possível detectar, nos tempos estabelecidos de ensaio, o aumento dessas espécies no meio proveniente das amostras. Embora todos os conjuntos de amostras tenham apresentado comportamento similar nos ensaios, convém mencionar a maior tendência à solubilidade das amostras Bio2.1\_AFos, indicando que a segregação de unidades  $PO_4^{3-}$  no vidro não apresentou efeito adverso na bioatividade desse material.

Na Figura 5.20, é mostrada, de modo comparativo, a variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo após 144h de exposição das amostras vítreas e cristalinas (obtidas em diferentes temperaturas) à solução SBF.

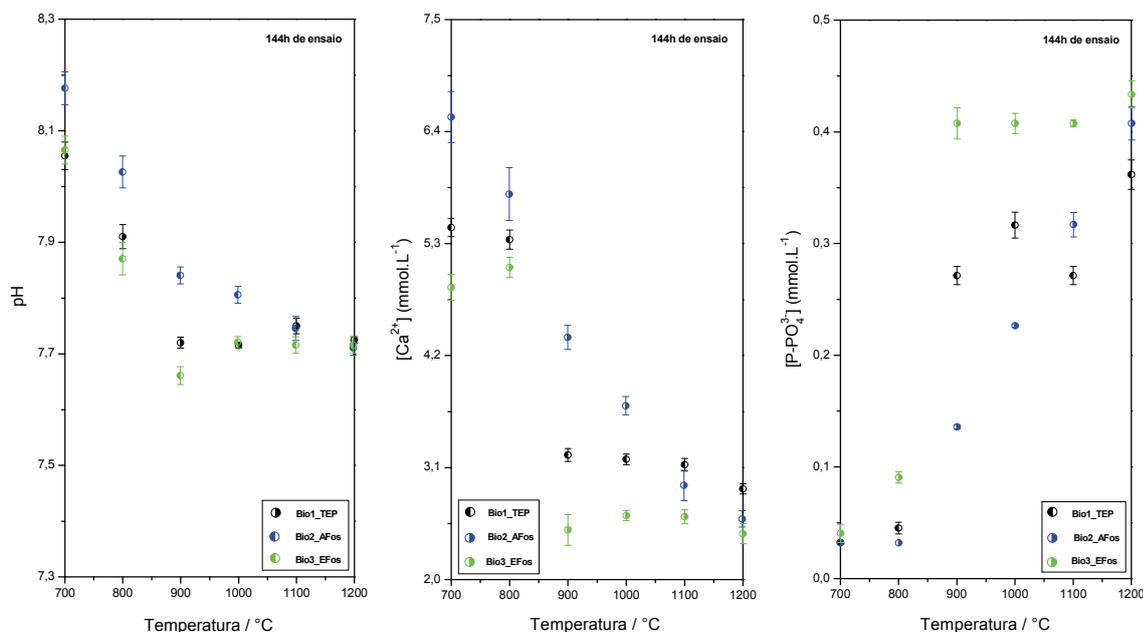


Figura 5.20: Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo após 144 horas de exposição das amostras vítreas e cristalinas à solução SBF.

Pelos resultados obtidos, verifica-se uma diminuição na reatividade de todos os materiais em decorrência do aumento da temperatura de tratamento térmico efetuado, principalmente naqueles acima de 900 °C, situação em que as amostras já se encontram cristalizadas. Com a introdução de cristalinidade nos materiais, a bioatividade passa a ser governada pelas fases cristalinas presentes e também por suas respectivas frações existentes. Isso pode ser bem observado ao se relacionar as amostras derivadas dos géis Bio1\_TEP e Bio3\_EFos, cujos difratogramas de raios X mostram um comportamento muito semelhante na cristalização, com divergência apenas nas intensidades dos picos referentes a cada fase formada após os tratamentos térmicos realizados. Por outro lado, as reatividades dessas amostras se mostraram distintas quando imersas em solução SBF por um período de tempo de 144 horas.

Uma vez que, nos difratogramas de raios X, a intensidade dos picos para uma dada fase é proporcional a sua fração existente, tornou-se muito clara a importância da fase wollastonita na bioatividade desses materiais. A mesma relevância já não pôde ser observada para a fase apatita. Para as amostras originadas do gel Bio3\_EFos, das quais a formação e evolução da fase wollastonita não foram significativamente favorecidas com os tratamentos térmicos realizados, ao contrário da apatita, quase não se observa variação de  $\text{Ca}^{2+}$  na solução SBF e, conseqüentemente, maiores alterações no pH do meio. A variação na concentração das espécies  $\text{P-PO}_4^{3-}$  também não foi expressiva, ficando em torno de  $0,56 \text{ mmolL}^{-1}$  contra os  $0,71 \text{ mmolL}^{-1}$  observado para as amostras Bio1\_TEP. Esses valores são referentes à redução das espécies  $\text{P-PO}_4^{3-}$  na solução; logo, ao compará-los com o valor obtido para as amostras vítreas ( $\sim 0,97 \text{ mmolL}^{-1}$ ), é razoável dizer que o tempo necessário para a formação da HA na superfície desses materiais será menor para as amostras vítreas, seguido pelo das amostras cristalinas Bio1\_TEP e Bio3\_EFos.

Em se tratando das amostras cristalinas derivadas do gel Bio2\_AFos, suas reatividades foram superiores às das amostras Bio1\_TEP e Bio3\_EFos como pode ser verificado na Figura 5.20 pela maior atividade das espécies  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$ . Isso pode ser associado tanto ao menor grau de cristalinidade como também à presença das fases wollastonita e *alfa*-fosfato tricálcio, ambas

existentes nestas amostras desde o tratamento térmico realizado a 900 °C. Vale reforçar que a fase *alfa*-fosfato tricálcio só foi evidenciada nas amostras Bio1\_TEP e Bio3\_EFos após a realização do tratamento a 1200 °C conforme foi demonstrado nos difratogramas das Figuras 5.5 e 5.11, respectivamente. Os materiais mais estáveis frente à solução SBF durante a realização dos testes de bioatividade *in vitro* foram aqueles obtidos a partir dos tratamentos térmicos realizados a 1100 e 1200 °C. Essa grande estabilidade é atribuída às fases quartzo e cristobalita, que se fizeram presentes em todos os conjuntos de amostras submetidos a esses tratamentos. No caso da cristobalita, somente para as amostras submetidas ao tratamento térmico de 1200 °C.

#### 5.1.6 Formação do complexo P-AC

Os resultados obtidos através das análises de RMN de  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ , e também dos ensaios complementares de IVTF (espectros não ilustrados) indicaram a ocorrência de reações de complexação do P devido ao surgimento de novos sinais quando o TEP foi adicionado na solução alcoólica contendo o AC, porém a natureza das associações e a estrutura do composto formado não puderam ser plenamente identificadas para os tempos de reação que foram estabelecidos. Assim, a realização de maiores estudos se fazem necessários, de modo a permitir uma melhor identificação do possível complexo formado e, conseqüentemente, sua viabilidade para emprego na síntese de materiais do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  a partir do método dos precursores poliméricos.

#### 5.1.7 Considerações finais para o sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$

Pós bioativos vítreos e cristalinos do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel a partir de diferentes precursores de fósforo. Pôde ser observado que a simples mudança desses precursores teve grande influência nos materiais finais, começando pelo tempo de formação dos géis. O tempo de gelatinização mais longo foi observado para os géis

preparados com o uso do TEP, aproximadamente 69 horas. Isso vai ao encontro de sua taxa de hidrólise, que é a mais lenta dentre os precursores utilizados. O tempo mais curto era esperado com o emprego do ácido fosfórico; no entanto, ele foi verificado para a formação dos géis sintetizados com o precursor de fósforo previamente elaborado a partir da dissolução do  $P_2O_5$  em etanol. A formação desses géis se deu em ~47 horas, o que pode estar associado com a presença dos fosfatos condensados que foram identificados nos espectros de RMN de  $^{31}P$ , já que apresentam caráter ácido e podem vir a contribuir para as reações iniciais de hidrólise do sistema. Os tempos de gelatinização intermediários de ~51 e 57 horas foram observados para o ácido fosfórico e o ácido fítico, respectivamente.

A principal influência dos precursores de fósforo utilizados, sem dúvida, foi verificada na conversão dos géis em materiais cerâmicos. Isso se torna bem evidente pelos gráficos da Figura 5.21, em que é demonstrado de maneira qualitativa o comportamento de mineralização dos géis Bio1\_TEP, Bio2\_AFos e Bio3\_EFos frente aos tratamentos térmicos realizados.

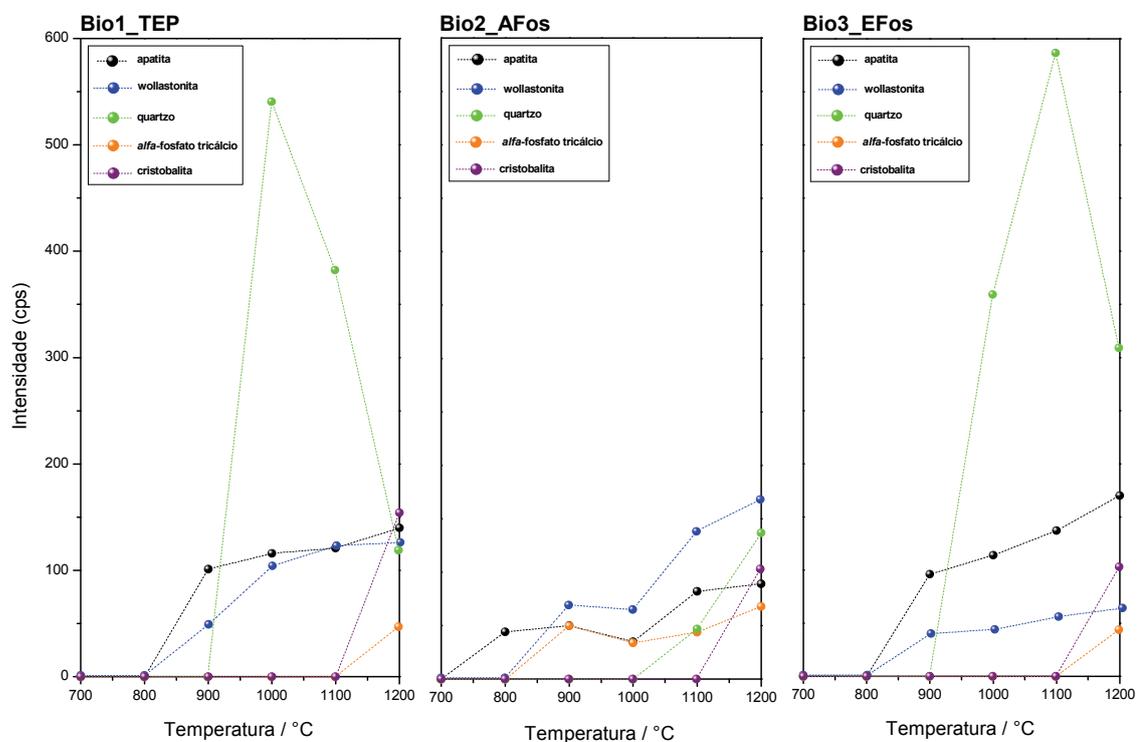


Figura 5.21: Comportamento de mineralização dos géis Bio1\_TEP, Bio2\_AFos e Bio3\_EFos em função das temperaturas de tratamento térmico.

Amostras derivadas do gel sintetizado com o uso do ácido fítico (Bio4\_AFit) não foram correlacionadas, já que os procedimentos de síntese adotados se mostraram inadequados para o emprego desse precursor. A ocorrência de precipitação de um fosfato de cálcio amorfo no meio reacional, minutos após a adição do  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , sugere que mais estudos ainda são necessários para a realização dessa síntese.

É importante deixar claro que os gráficos mostrados na Figura 5.21 foram construídos pelo monitorando do primeiro pico mais intenso de cada fase cristalina identificada nos difratogramas de raios X, que foram demonstrados nas Figuras 5.5, 5.7 e 5.11. Uma vez que as intensidades desses picos se relacionam diretamente com a fração das fases existentes, foi possível o acompanhamento da tendência de aumento ou decréscimo dessas fases no material, em função da temperatura de tratamento térmico realizado. Logo, intensidade equivalente a 0 corresponde à não existência da fase cristalina no material. Para as amostras Bio2\_AFos, preparadas com o uso do ácido fosfórico, observou-se o comportamento de mineralização mais diferenciado, em que a temperatura de formação de quartzo é deslocada para valores mais altos e não atinge a intensidade máxima, que é observada para as amostras Bio1\_TEP e Bio3\_EFos. Ainda é possível verificar que a temperatura de formação de apatita e *alfa*-fosfato tricálcio é pronunciadamente mais baixa nessas amostras, de modo que as composições das vitrocerâmicas obtidas a 800, 900 e 1100 °C são completamente diferentes das composições das vitrocerâmicas Bio1\_TEP e Bio3\_EFos preparadas nas mesmas temperaturas. Ao se comparar os grupos de amostras Bio1\_TEP e Bio3\_EFos, é possível verificar um comportamento muito similar entre ambos perante o aumento da temperatura de tratamento térmico, podendo ser destacada como diferença mais significativa a propensão de evolução conjunta de apatita e wollastonita nas amostras Bio1\_TEP. Para as amostras do grupo Bio3\_EFos, somente o desenvolvimento de apatita foi mais fortemente favorecido.

Em relação aos testes de bioatividade *in vitro*, foi possível demonstrar que todos os materiais sintetizados foram bioativos, ou seja, desenvolveram em suas superfícies uma camada de HA. De um modo geral, observou-se a

tendência de redução na reatividade desses materiais em função do aumento da temperatura de tratamento térmico realizado. Isso ocorreu, uma vez que os materiais cristalizados se mostraram mais estáveis na solução SBF, sendo nesses casos a bioatividade dependente das fases cristalinas presentes bem como de suas respectivas frações contidas no material. Esse motivo explica o porquê das diferentes reatividades observadas para as amostras cristalinas dos grupos Bio1\_TEP, Bio2\_AFos e Bio3\_EFos, obtidas nas mesmas condições de tratamento térmico. Para essas amostras, tanto as fases cristalinas como suas respectivas frações existentes foram consideravelmente distintas, como mostra a Figura 5.21; o que, logo, refletiu em suas distintas reatividades. Nesse sentido foi possível verificar a grande importância das fases wollastonita e *alfa*-fosfato tricálcio para a bioatividade dos materiais estudados. A fase apatita também se mostrou favorável à bioatividade, porém de forma bem menos expressiva que as fases wollastonita e *alfa*-fosfato tricálcio. Por outro lado, as fases quartzo e cristobalita se mostraram altamente estáveis, sendo, portanto, suas presenças no material desfavoráveis à bioatividade.

Para finalizar, os procedimentos de síntese dos materiais no sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  a partir do método dos precursores poliméricos não puderam avançar, uma vez que a identificação de formação de um complexo viável entre o AC e o TEP não se tornou possível através da realização desses estudos preliminares. Desta forma, as atividades que foram programadas para essa finalidade devem ser reformuladas e (possivelmente) retomadas futuramente.

## **5.2 Vidros e vitrocerâmicas do sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$**

### **5.2.1 Síntese e caracterização das amostras Bio5\_TEP-Na**

Os géis do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  sintetizados com a utilização do TEP como precursor de fósforo apresentaram tempo de gelatinização em torno de 53 horas. Os géis obtidos foram transparentes, incolores e opticamente homogêneos, como mostra a Figura 5.22.



Figura 5.22: Ilustração do gel Bio5\_TEP-Na sintetizado com a utilização do TEP como precursor de fósforo.

Os dados das análises simultâneas de DSC e TG realizadas com uma fração do gel particulado Bio5\_TEP-Na são apresentados na Figura 5.23.

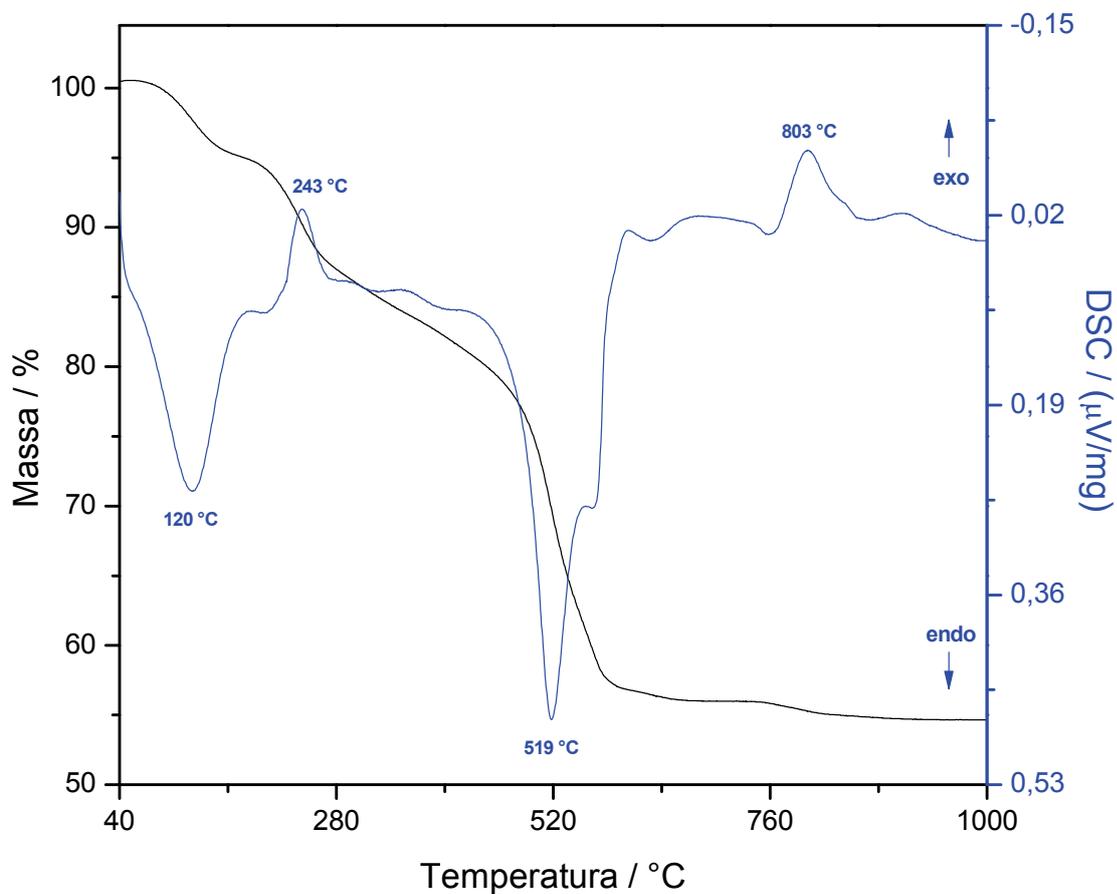


Figura 5.23: Curvas de DSC e TG do gel Bio5\_TEP-Na.

Pelos resultados obtidos, é possível observar que o gel apresentou três etapas de perda de massa, tornando-se praticamente estável a partir de ~605 °C. A primeira etapa de perda de massa, na região de ~120 °C é associada ao processo endotérmico de dessorção de água e álcool fisicamente adsorvido no material. A segunda, na região de aproximadamente 243 °C, também está relacionada com volatilização de água, desta vez através de um processo exotérmico referente à sua dessorção química. A terceira etapa de perda de massa, compreendida entre ~415 e 580 °C, foi a mais intensa e está relacionada à evolução de subprodutos resultantes da condensação incompleta dos precursores e, principalmente, à eliminação de íons nitrato, provenientes do  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{NaNO}_3$  utilizados na preparação dos géis. Outro dado importante foi o pico exotérmico de máximo em 803 °C, atribuído ao início de cristalização do sistema [76, 78, 84, 95, 98].

De acordo com os resultados obtidos nas análises de DSC e TG, o tratamento térmico inicial a 700 °C, com isoterma de 3 horas nessa temperatura, foi determinado para a obtenção dos materiais vítreos, uma vez que o início de cristalização do sistema só foi evidenciado em ~803 °C. Além disso, para essa temperatura já se observa a estabilidade do material, que teve sua última etapa de perda de massa associada à eliminação de nitratos, tendo fluxo máximo de massa do sólido para a fase vapor na temperatura de 519 °C. No entanto, mesmo com a escolha cuidadosa da temperatura inicial de tratamento térmico para a conversão dos géis em materiais vítreos, eles já se mostraram cristalinos ao serem submetidos a essas condições. Desta forma, os demais tratamentos térmicos realizados tiveram como intuito apenas acompanhar o comportamento das fases formadas em função do aumento da temperatura, tal como é mostrado nos difratogramas de raios X da Figura 5.24. Para tanto, não foram utilizados tratamentos térmicos acima de 1000 °C, uma vez que esses materiais apresentaram fusão em aproximadamente 1069 °C (gráfico não ilustrado).

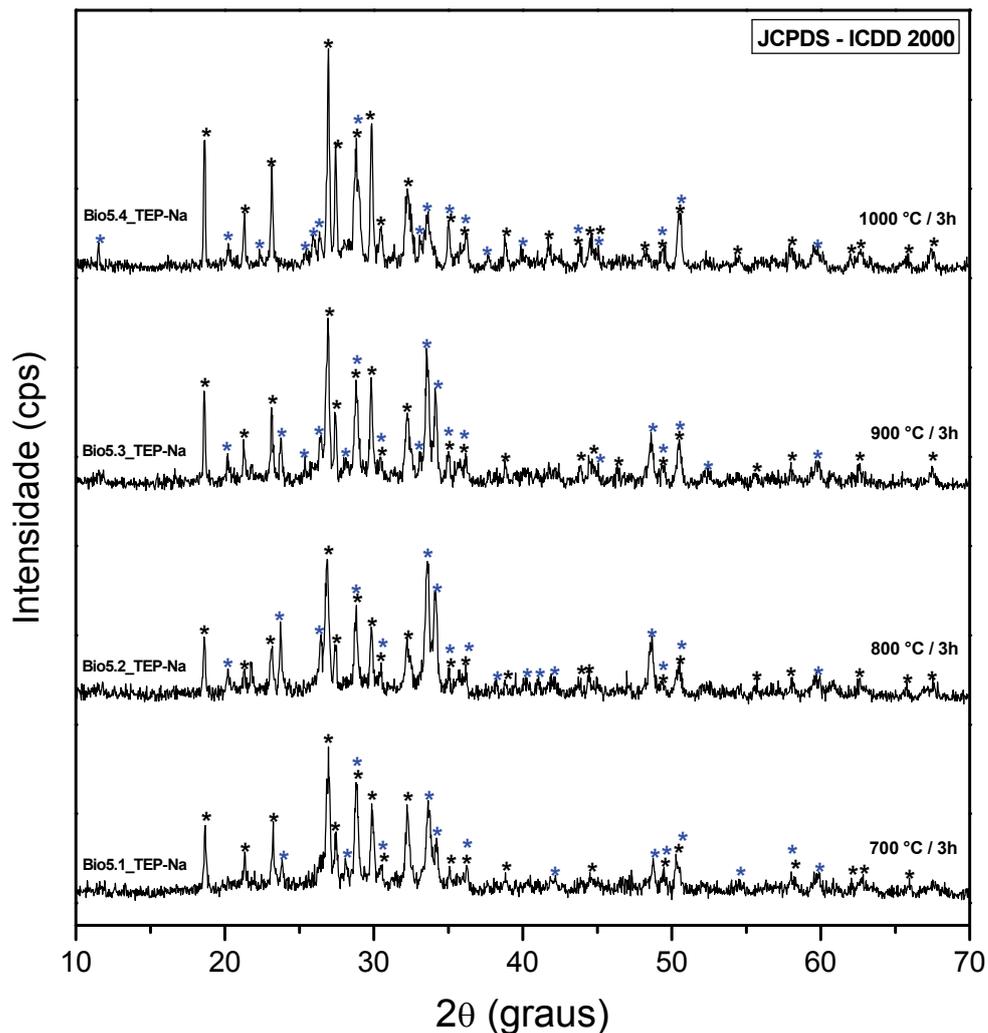


Figura 5.24: Difratogramas de raios X das amostras derivadas do gel Bio5\_TEP-Na: \* =  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ ; \* =  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ .

Depois da realização dos tratamentos térmicos, foi possível observar que todas as amostras apresentaram a formação dos silicatos de sódio e cálcio  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  e  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , permanecendo o fósforo como solução sólida, já que nenhuma outra fase foi evidenciada nos difratogramas de raios X contendo esse elemento. Com o aumento da temperatura de tratamento térmico, a fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  teve seu desenvolvimento favorecido conforme pode ser verificado pela intensidade dos picos referentes a essa fase nos difratogramas. Por outro lado, o desenvolvimento da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  só foi verificado ao se passar da temperatura de 700 para 800 °C. Acima dessa temperatura, os picos relativos a essa fase tiveram suas intensidades consideravelmente diminuídas.

### 5.2.2 Síntese e caracterização das amostras Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na

Ambos os géis Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na apresentaram tempo de gelatinização em torno de 46 horas, exibindo boa homogeneidade e aspecto transparente. As amostras Bio6\_AFos-Na se mostraram incolores, enquanto as amostras Bio7\_EFos-Na tiveram um tom levemente amarelado, como pode ser visualizado na Figura 5.24. Finalizadas as etapas de síntese, esses géis foram submetidos ao mesmo programa de tratamento térmico das amostras Bio5\_TEP-NA para suas respectivas conversões em materiais cerâmicos.



Figura 5.25: Ilustração dos géis Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na sintetizados com a utilização do  $H_3PO_4$  e do precursor de fósforo previamente elaborado a partir da dissolução do  $P_2O_5$  em etanol (refluxo 24h), respectivamente.

Na Figura 5.26, são mostrados os difratogramas de raios X das amostras Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na após a realização dos tratamentos térmicos. Como se pode observar nos difratogramas, os resultados foram bastante semelhantes aos obtidos para as amostras derivadas do gel Bio5\_TEP-Na, havendo formação dos silicatos de sódio e cálcio  $Na_2Ca_3Si_6O_{16}$  e  $Na_2Ca_2Si_3O_9$  com o fósforo mantido em suas estruturas cristalinas como solução sólida. A tendência de evolução da fase  $Na_2Ca_3Si_6O_{16}$  em detrimento da fase  $Na_2Ca_2Si_3O_9$  com o aumento da temperatura de tratamento térmico realizado também ficou muito evidente. Entretanto, um fato bem interessante pode ser destacado para as amostras Bio6\_AFos-Na, que, diferentemente das

demais, apresentou, como resultado do tratamento térmico realizado a 700 °C, a formação preferencial da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ . A intensidade dos picos relativos a essa fase teve um ligeiro aumento na temperatura de 800 °C, exibindo, no entanto, expressiva diminuição nos subsequentes tratamentos que foram realizados a temperaturas mais elevadas.

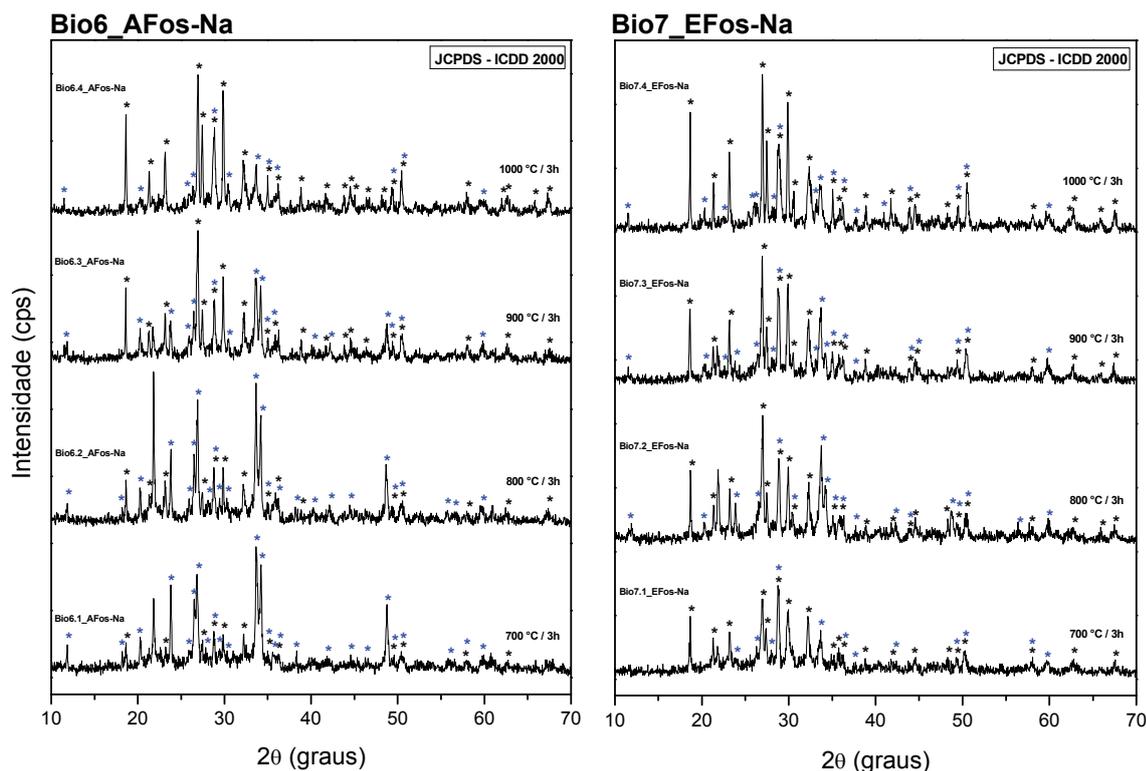


Figura 5.26: Difratomogramas de raios X das amostras derivadas dos géis Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na: \* =  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ ; \* =  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ .

### 5.2.3 Teste de bioatividade *in vitro*

A morfologia de algumas amostras e o resultado de suas respectivas análises químicas qualitativas, antes e após a exposição à solução SBF em diferentes tempos de ensaio, são mostrados nas Figuras 5.27 - 5.29. Mudanças superficiais significativas em relação à morfologia e composição química das amostras com tempo de ensaio de 3 horas não foram observadas como mostra os exemplos da Figura 5.28 itens a e b. Nos espectros de EDS apresentados

para essas amostras, antes e depois da realização desse ensaio, somente a presença de Cl pode ser destacada, sendo ele proveniente da solução SBF. Com 48 horas de ensaio, todas as amostras apresentaram morfologia característica da HA em estágio já bem avançado, porém com grânulos um pouco espaçados e não recobrimdo toda a extensão da superfície das amostras [7, 24, 51, 59, 78, 79, 98, 99]. Isso pode ser muito bem observado nas Figuras 5.27 (item b), 5.28 (item c) e 5.29. Analisando-se os espectros de EDS das amostras Bio5.3\_TEP-Na e Bio7.4\_EFos-Na, que podem ser visualizados respectivamente nas Figuras 5.27 e 5.28, verifica-se a expressiva mudança composicional ocasionada em suas superfícies após as 48 horas de ensaio. Mesmo com a crescente migração dos elementos Ca e P para a superfície dessas amostras, a presença do Si ainda é bastante evidente, o que pode ser explicado pela baixa densidade da camada de HA formada, permitindo, assim, a detecção do Si existente na superfície das pastilhas imediatamente abaixo dessa camada. Na Figura 5.29, isso pode ser exemplificado de maneira muito clara para a amostra Bio7.4\_EFos-Na, ocasião em que foi possível a realização de uma análise química qualitativa pontual em uma região que ainda não havia sido recoberta pela camada de HA.

Nas Figuras 5.27 e 5.28 (itens d), são evidenciadas as morfologias das amostras imersas em solução SBF, com tempo de duração de 144 horas. Para essas amostras, é possível observar que a camada de HA formada se encontra disposta de forma mais homogênea e exibe grânulos bem maiores do que aqueles formados nas amostras com tempo de ensaio de 48 horas. Esse desenvolvimento da HA formada na superfície desses materiais, em função do tempo de ensaio, fica mais evidente ao se analisar os espectros de EDS, em que se verifica a presença quase que exclusiva de Ca e P nas amostras expostas à solução SBF por 144 horas. Desta forma, é razoável dizer que, para esse tempo de ensaio, todas as amostras já se encontram completamente recobertas por uma camada de HA.

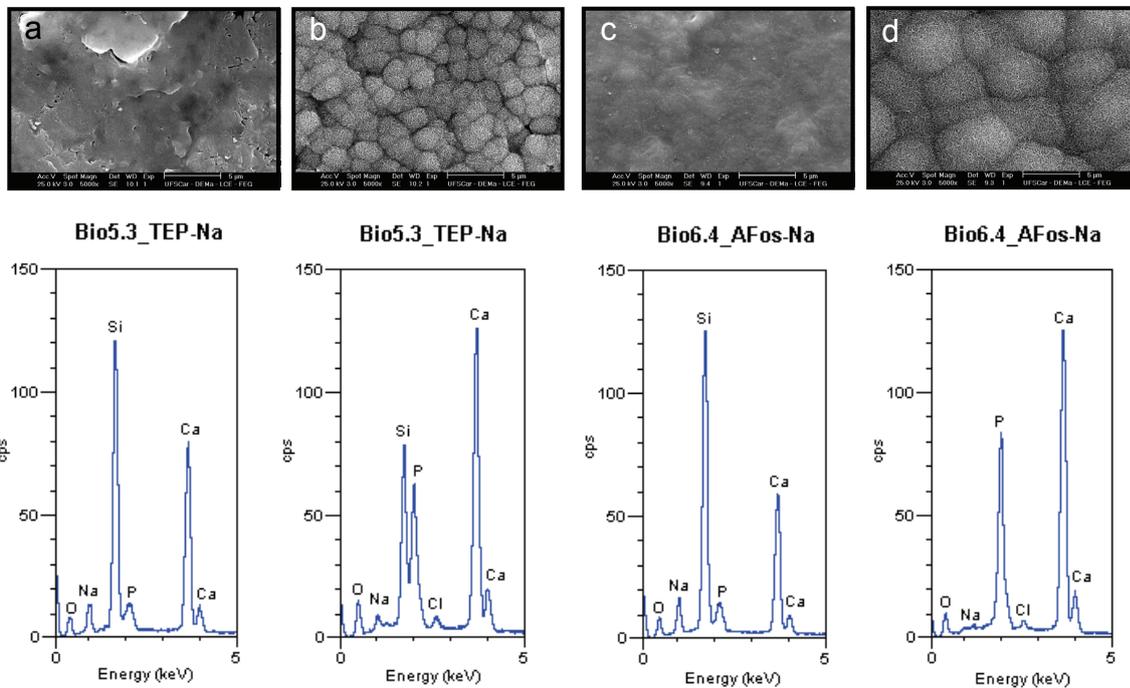
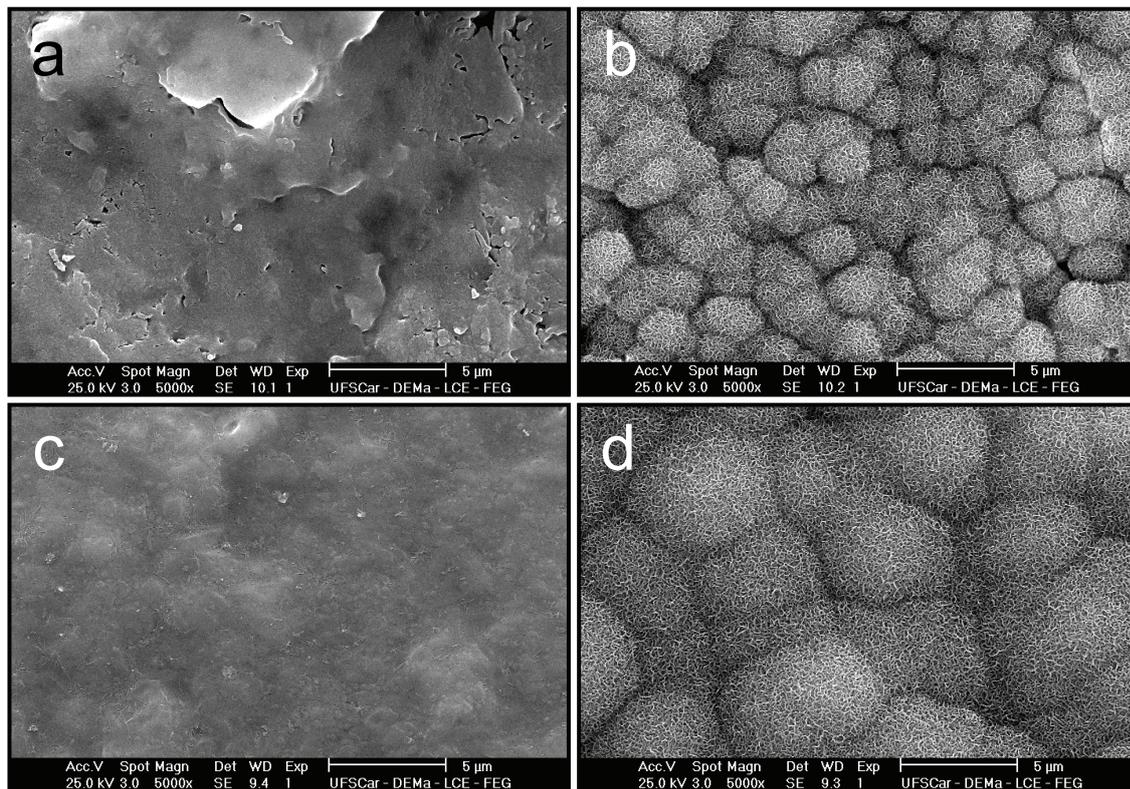


Figura 5.27: Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de uma amostra Bio5.3\_TEP-Na e Bio6.4\_AFos-Na, antes e após as realizações dos ensaios: (a) e (c) antes do ensaio; (b) após 48h; (d) após 144h.

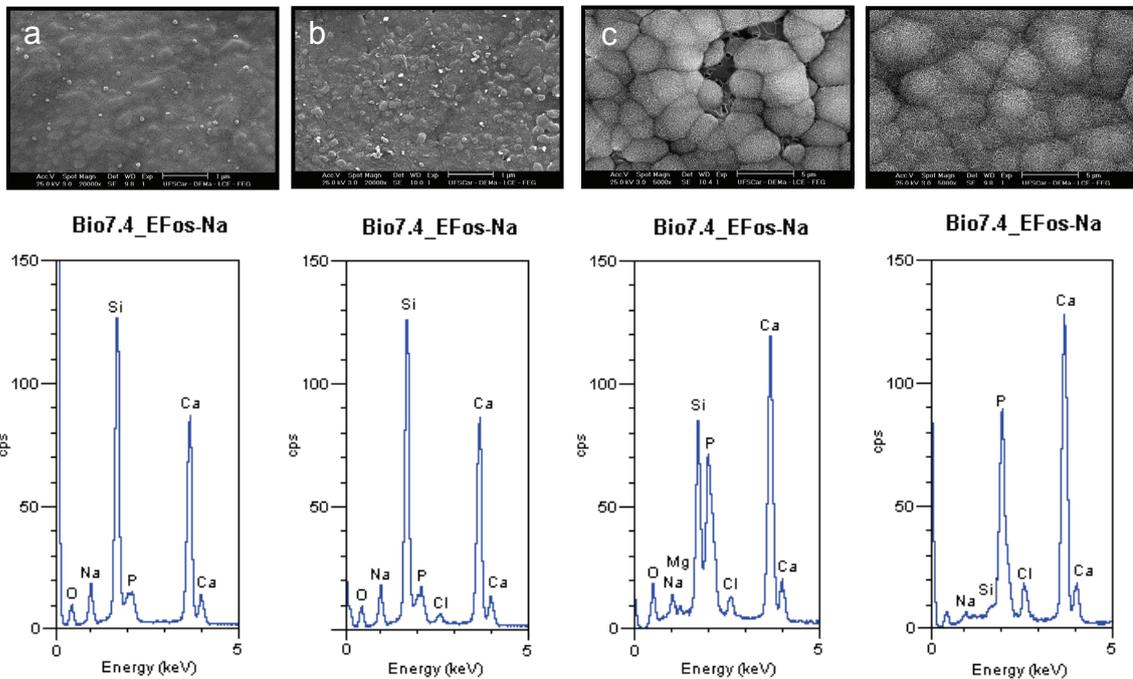
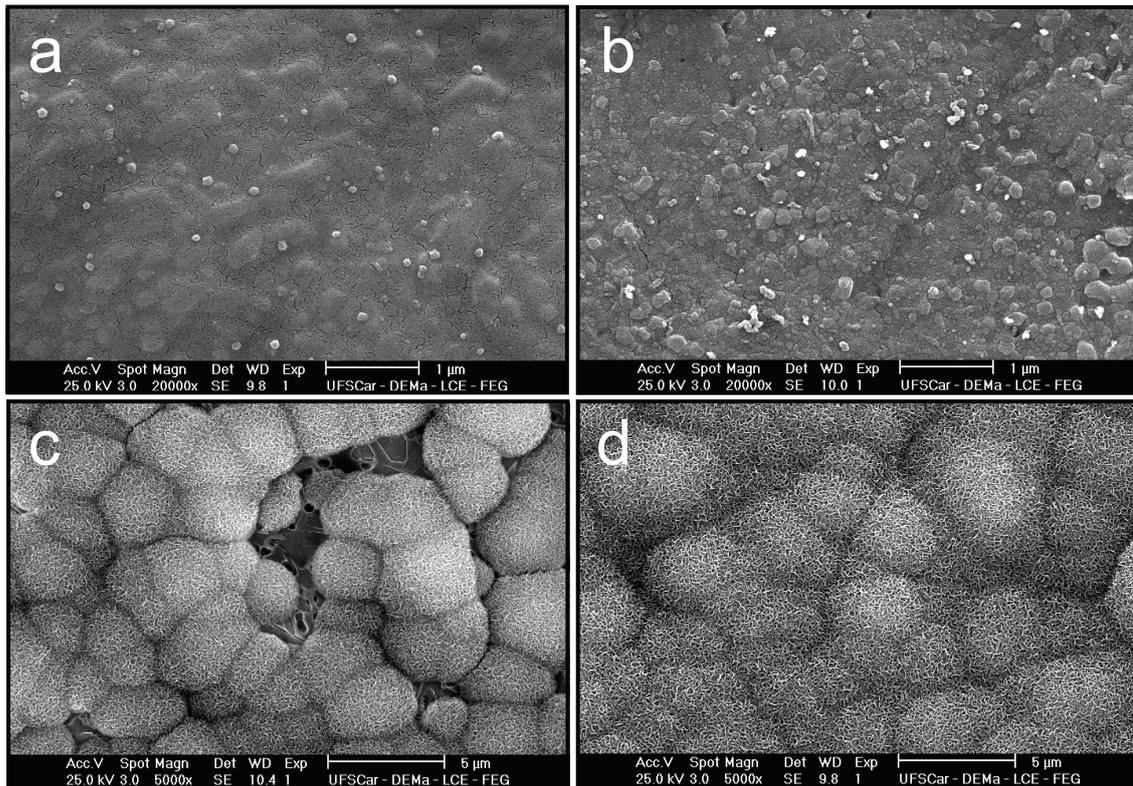


Figura 5.28: Micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS da superfície de amostras Bio7.4\_EFos-Na, antes e após as realizações dos ensaios: (a) antes do ensaio; (b) após 3h; (c) após 48h; (d) após 144h.

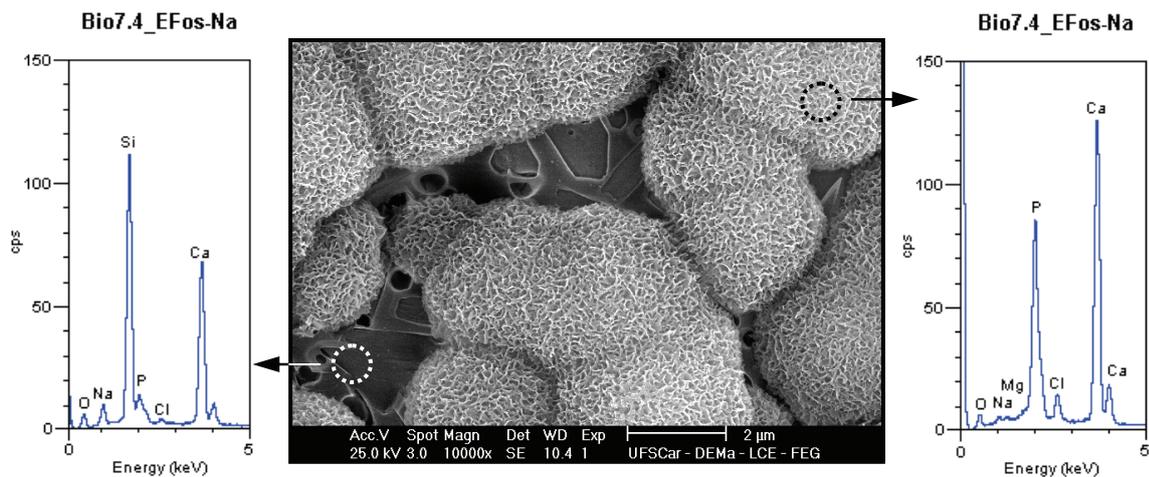


Figura 5.29: Micrografia eletrônica de varredura e espectros de EDS da superfície de uma amostra Bio7.4\_EFos-Na após 48 horas de ensaio.

De modo a auxiliar nesta primeira análise de formação da camada de HA na superfície das amostras após os tempos de ensaio de 3, 48 e 144 horas, seguem abaixo os respectivos espectros de IVTF.

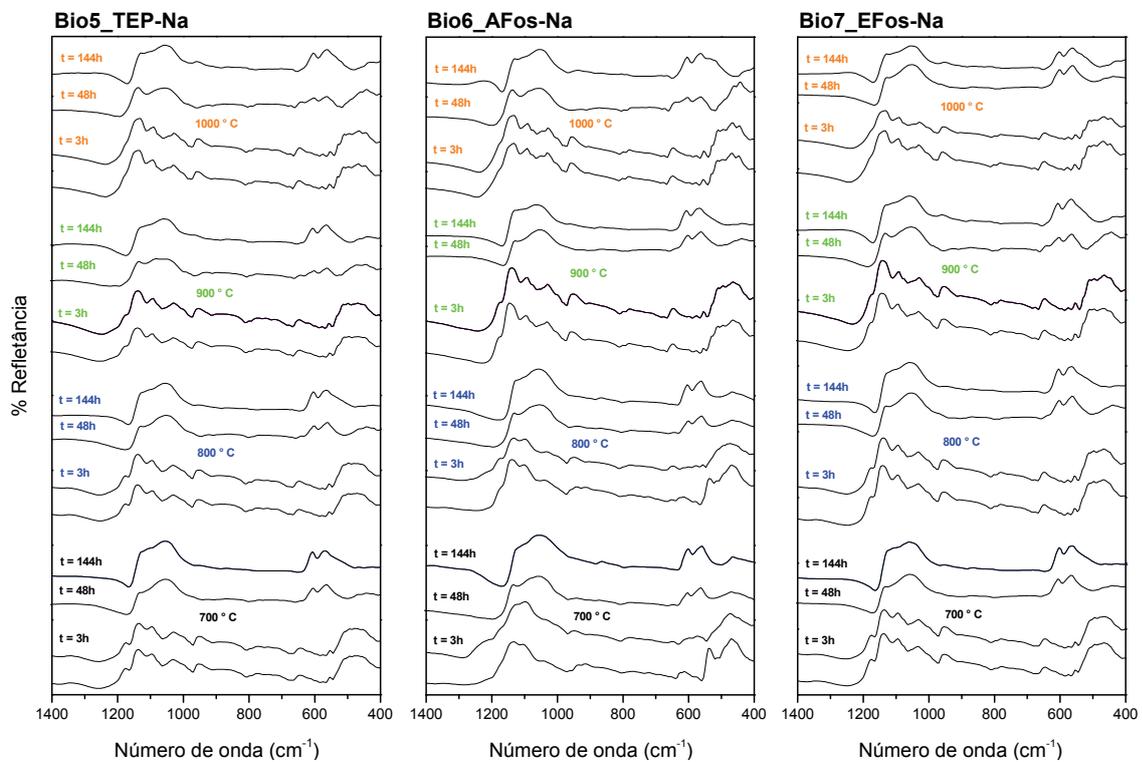


Figura 5.30: Espectros de IVTF da superfície das amostras contendo sódio, antes e após a imersão em solução SBF nos diferentes tempos de ensaio.

Todas as amostras antes da realização dos ensaios apresentaram espectros caracterizados pela presença das bandas na região entre  $\sim 1180$  e  $940\text{ cm}^{-1}$ , associadas ao modo vibracional das ligações  $\nu\text{Si-O}$ . Bandas referentes às vibrações das ligações  $\delta\text{Si-O-Si}$  também foram identificadas, estando situadas nas regiões de  $\sim 643$ ,  $555$  e  $485\text{ cm}^{-1}$ , sendo esta última mais intensa. Uma vez que foi observada a presença das mesmas fases cristalinas em todos os conjuntos de amostras, era de se esperar uma semelhança entre os espectros de IVTF; no entanto, um fato chama a atenção: os espectros das amostras Bio6.1\_AFos-Na e Bio6.2\_AFos-Na, obtidas a partir dos tratamentos térmicos realizados nas temperaturas de  $700$  e  $800\text{ }^\circ\text{C}$ , respectivamente, exibiram a banda localizada em aproximadamente  $555\text{ cm}^{-1}$  de uma forma mais intensa. A configuração assumida por esses espectros é característica da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , indo de encontro com o que foi observado nos difratogramas de raios X demonstrados na Figura 5.26, nos quais foi evidenciada a formação preferencial dessa fase em  $700$  e  $800\text{ }^\circ\text{C}$  [35, 41, 47, 48].

De acordo com os espectros de IVTF das amostras imersas na solução SBF, é possível observar que, em 3 horas de ensaio, alteração significativa só ocorreu na superfície das amostras Bio6.1\_AFos-Na e Bio6.2\_AFos-Na, sendo caracterizada pela deformação das bandas referentes às ligações  $\text{Si-O}$  e  $\text{Si-O-Si}$  situadas na região de  $\sim 1060$  e  $555\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Essas alterações no espectro podem ser atribuídas aos Estágios 1 e 2 do mecanismo proposto para a bioatividade, dos quais culmina a formação de uma camada rica em sílica na superfície das amostras. Essas modificações iniciais que foram verificadas na superfície destas amostras certamente ocorreram para todas as outras, no entanto, com tempos superiores a 3 horas. É importante mencionar que essa observação, por si só, já é um indicativo de que a fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  é mais estável, uma vez que ela se faz presente nestas demais amostras de forma muito mais significativa do que nas amostras Bio6.1\_AFos-Na e Bio6.2\_AFos-Na. A partir dos ensaios com duração de 48 horas, todos os espectros obtidos foram análogos ao espectro da HA, exibindo, em função do tempo de ensaio, somente alterações referentes à intensidade das bandas características da HA, que se encontram situadas

em  $\sim 1130$ ,  $1055$ ,  $605$  e  $565 \text{ cm}^{-1}$ . O aumento que foi observado da intensidade dessas bandas é associado à maior densificação da camada de HA formada na superfície das amostras. Isso também pôde ser muito bem acompanhado pelas micrografias eletrônicas de varredura e espectros de EDS que foram demonstrados nas Figuras 5.27, 5.28 e 5.29.

O monitoramento da variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo na solução SBF após a realização dos ensaios com duração de 144 horas é mostrado na Figura 5.31, em função da temperatura de tratamento térmico ao qual as amostras foram submetidas.

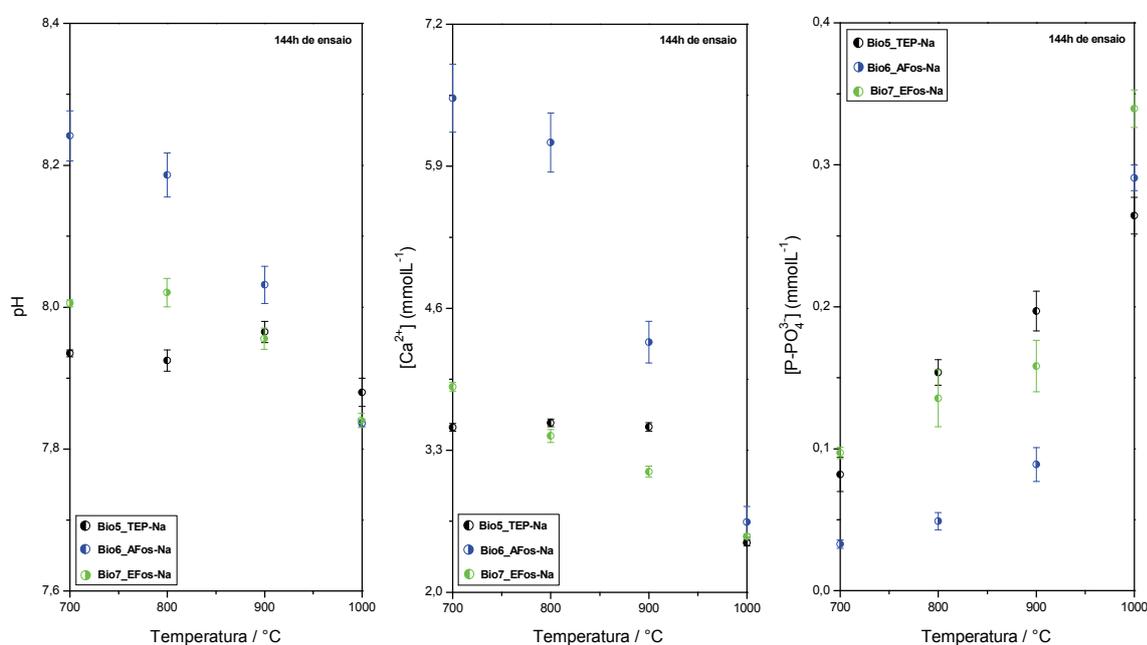


Figura 5.31: Variação do pH e das concentrações de cálcio e fósforo após 144 horas de exposição das amostras contendo sódio à solução SBF.

De um modo geral, todos os materiais obtidos apresentaram maior estabilidade na solução SBF, em decorrência do aumento da temperatura de tratamento térmico aos quais foram submetidos. Uma vez que a reatividade desses materiais está relacionada com as fases cristalinas existentes, pode-se dizer que a fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  confere a esses materiais maior estabilidade, já que sua fração contida nas amostras preparadas a temperaturas mais elevadas foi superior à da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , que é reconhecida e relatada na literatura

por sua elevada bioatividade [35, 36, 41-48]. Para as amostras obtidas a 1000 °C, cuja formação da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  foi preferencial, observa-se que a variação da concentração das espécies  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$  na solução SBF não foi muito acentuada, quando comparada às demais amostras, ficando em torno de 0,24 e 0,70  $\text{mmolL}^{-1}$ , respectivamente. O pH da solução seguiu a mesma tendência, já que sua variação é dada pela troca iônica das espécies  $\text{H}^+$  por  $\text{Ca}^{2+}$ . Como não houve aumento significativo da concentração dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  na solução, pela baixa solubilidade das amostras, o pH também não variou muito.

Por outro lado, as amostras obtidas nas temperaturas de 700, 800 e 900 °C se mostraram muito mais reativas, principalmente aquelas derivadas do gel Bio6\_AFos-Na, cuja síntese envolveu a utilização do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  como precursor de fósforo. Para essas amostras, a maior atividade das espécies  $\text{H}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{P-PO}_4^{3-}$  pode ser relacionada à presença da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , da qual foi possível observar, nos difratogramas de raios X (Figuras 5.24 e 5.26), picos com intensidades equivalentes aos da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ . No caso específico das amostras Bio6.1\_AFos-Na e Bio6.2\_AFos-Na, em que a formação da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  se deu de maneira preferencial, verifica-se a ocorrência da maior alteração na concentração da solução SBF, com o pH assumindo valores em torno de 8,2. A variação da concentração dos íons  $\text{Ca}^{2+}$  foi de  $\sim 3,77 \text{ mmolL}^{-1}$ , enquanto a das espécies  $\text{P-PO}_4^{3-}$ , que é dada por sua diminuição na solução em decorrência da formação da HA, ficou em torno de  $\sim 0,96 \text{ mmolL}^{-1}$ . Esse valor corresponde à quase totalidade do consumo das espécies  $\text{P-PO}_4^{3-}$ , uma vez que a solução SBF utilizada nos ensaios continha como concentração inicial  $1,0 \text{ mmolL}^{-1}$  (ver Tabela 3.3 – solução SBF corrigida).

#### 5.2.4 Considerações finais para o sistema $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$

Pós bioativos cristalinos do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel a partir de diferentes precursores de fósforo. Apenas com a alternância desses precursores, foi possível observar que as etapas de síntese foram significativamente influenciadas, começando

pelo tempo de formação dos géis. Os géis preparados com o uso do  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e do precursor de fósforo, previamente elaborado a partir da dissolução do  $\text{P}_2\text{O}_5$  em etanol, apresentaram tempos de gelatinização muito próximos, em torno de 46 horas. O tempo de gelatinização mais longo foi observado para os géis preparados com o uso do TEP, aproximadamente 53 horas. Isso pode ser explicado pela taxa de hidrólise do TEP, que, ao ser comparada com a dos demais precursores de fósforo, é tida como a mais lenta, fazendo que seja necessário maior tempo para a ocorrência da reticulação do sistema.

A influência mais marcante dos diferentes precursores de fósforo no processo de síntese pôde ser verificada na conversão dos géis em materiais cerâmicos. Adotando-se o mesmo procedimento descrito na subseção 5.1.7 para as amostras do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ , na Figura 5.32 é demonstrado o comportamento de mineralização dos géis Bio5\_TEP-Na, Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na a partir dos tratamentos térmicos realizados.

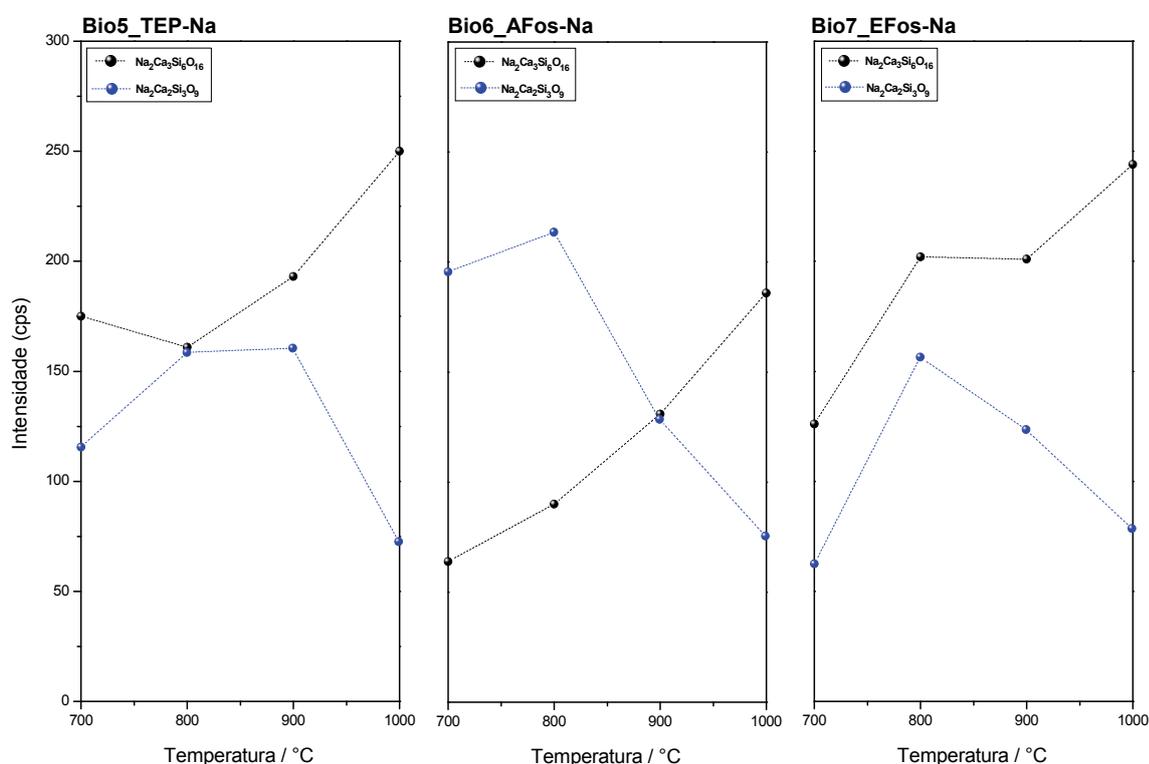


Figura 5.32: Comportamento de mineralização dos géis Bio5\_TEP-Na, Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na em função das temperaturas de tratamento térmico.

De um modo geral, observa-se para os três grupos de amostras que a fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  tem desenvolvimento fortemente favorecido com o aumento da temperatura de tratamento térmico, ao passo que o desenvolvimento da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  só é observado até 800 °C, exibindo significativo retrocesso a partir dessa temperatura. Outro dado que chama atenção nos gráficos da Figura 5.32 é a formação preferencial da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  nos tratamentos térmicos realizados a 700 e 800 °C para as amostras do grupo Bio6\_AFos-Na. O comportamento dessas amostras é completamente diferente do observado para as amostras Bio5\_TEP-Na e Bio7\_EFos-Na, cuja fase preferencialmente formada nestas temperaturas é o silicato de sódio e cálcio  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ . Isso, sem dúvida, revela um resultado muito importante, uma vez que a obtenção dessa fase em vitrocerâmicas pelo método convencional exige temperatura e tempo muito elevados. Só para se ter uma ideia, temperaturas próximas a 1300 °C são necessárias para a fusão das matérias-primas e obtenção dos materiais vítreos. Nos subseqüentes tratamentos térmicos realizados para a cristalização controlada destes materiais, tempos de aproximadamente 100h são requeridos para a nucleação e crescimento dos cristais de  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ . Através da metodologia estabelecida neste trabalho, foi possível demonstrar a obtenção dessa fase em condições bem mais brandas (700 °C / 3h), embora não tenha sido de forma isolada.

De acordo com os resultados obtidos com a conversão dos géis em materiais cerâmicos, ficou claro que a escolha do primeiro tratamento térmico a 700 °C a partir das análises simultâneas de DSC e TG (Figura 5.23) não foi adequada, já que a intenção inicial era a obtenção dos materiais no estado vítreo. Em princípio, uma faixa de temperatura bastante extensa poderia ter sido escolhida para essa finalidade, já que esses materiais se apresentaram estáveis a partir de ~605 °C, sendo o início de cristalização evidenciado em ~803 °C. Nesse sentido, um único tratamento térmico foi realizado a 610 °C para se avaliar o comportamento das amostras Bio5\_TEP-Na, Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na frente a essa temperatura. Na Figura 5.33, são mostrados os difratogramas de raios X dos produtos cerâmicos obtidos.

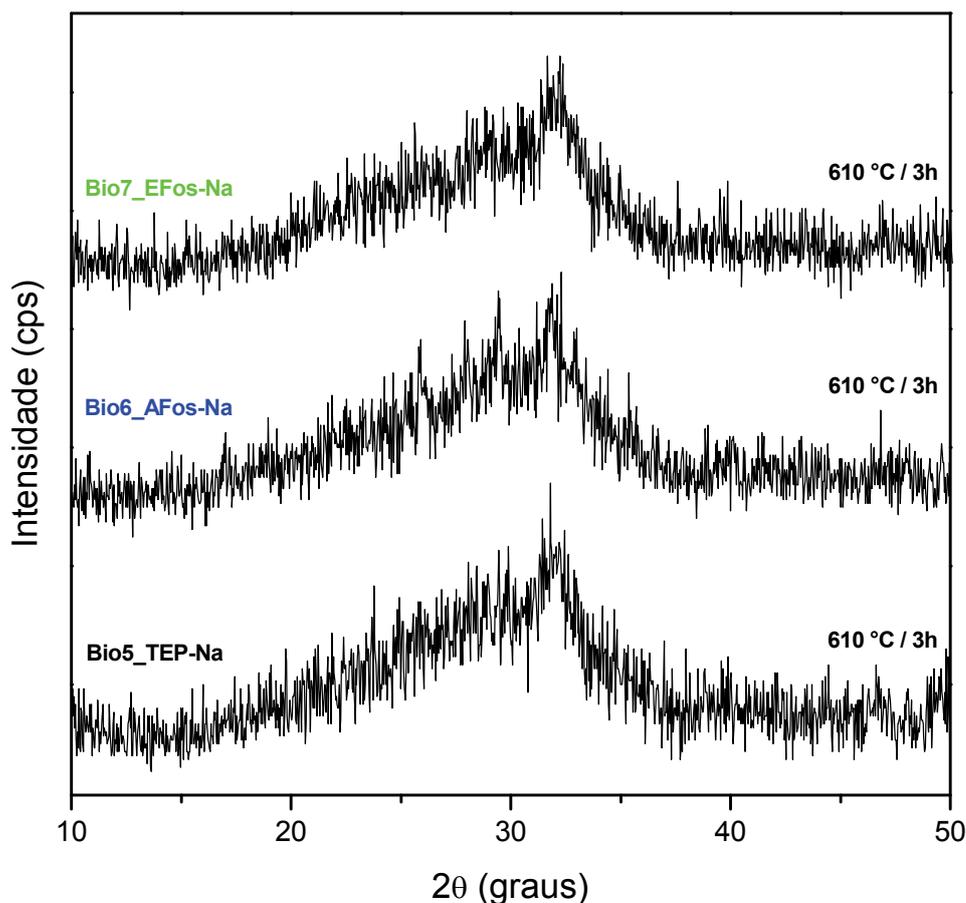


Figura 5.33: Difratogramas de raios X das amostras Bio5\_TEP-Na, Bio6\_AFos-Na e Bio7\_EFos-Na submetidas ao tratamento térmico de 610 °C.

Pelos difratogramas, é possível observar que os produtos cerâmicos obtidos após o tratamento térmico dos géis a 610 °C exibiram caráter amorfo, porém já podendo ser verificado o início de cristalização do sistema. Esses resultados preliminares indicam a possibilidade de obtenção desses materiais no estado vítreo, bem como a busca pelo isolamento da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , que se mostrou altamente favorável à bioatividade do sistema. Para tanto, devendo ser trabalhados sistematicamente a temperatura e o tempo de tratamento aos quais as amostras deverão ser submetidas.

Em relação aos testes de bioatividade *in vitro*, foi possível demonstrar que todos os materiais sintetizados foram bioativos, apresentando formação de HA em suas superfícies a partir dos ensaios com duração de 48 horas. As amostras obtidas em temperaturas mais elevadas exibiram maior estabilidade

na solução SBF, fato que pode ser atribuído à presença da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ . Uma vez que a reatividade dessas amostras está relacionada com as fases cristalinas existentes, pode-se dizer que a fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  confere a esses materiais maior estabilidade, pois sua fração contida nas amostras preparadas a temperaturas mais elevadas foi superior à da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , que já é reconhecida e reportada na literatura, por sua elevada bioatividade tanto *in vitro* como *in vivo*. Isso ficou bem evidenciado após a caracterização das amostras submetidas aos testes de bioatividade com tempos de 3, 48 e 144 horas, em que as condições mais favoráveis para o desenvolvimento da HA foi verificado para as amostras derivadas do gel Bio6\_AFos-Na, obtidas nas temperaturas de 700 e 800 °C. Para essas amostras, a formação da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  se deu de maneira preferencial à fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$ , o que explica suas maiores reatividades em comparação às demais.



## 6 CONCLUSÕES

Pós bioativos vítreos e cristalinos dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  foram sintetizados utilizando-se o processo sol-gel a partir de diferentes precursores de fósforo. Sínteses foram realizadas com sucesso com o uso de trietilfosfato, ácido fosfórico e um precursor elaborado pela dissolução de óxido de fósforo em etanol. Por outro lado, elas não foram bem sucedidas com o uso de ácido fítico, indicando que a metodologia estabelecida não foi adequada para o emprego desse precursor. Para as sínteses realizadas com êxito, a simples alternância de precursores exerceu significativa influência nos materiais resultantes, principalmente no que diz respeito ao comportamento de mineralização dos géis durante as etapas de tratamento térmico.

Em testes de bioatividade *in vitro*, foi possível demonstrar que todos os materiais sintetizados foram bioativos, ou seja, desenvolveram em suas superfícies uma camada de hidroxiapatita durante os ensaios. Uma tendência de redução na bioatividade desses materiais foi observada em função do aumento da temperatura de tratamento térmico ao qual eles foram submetidos. Para os materiais vítreos, a bioatividade diminuiu com a temperatura de estabilização dos géis. Em se tratando dos materiais cristalinos, as amostras preparadas com a utilização do ácido fosfórico foram as que exibiram o melhor desempenho. Para o sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$ , isso pôde ser relacionado à presença das fases wollastonita e *alfa*-fosfato tricálcio, bem como ao menor grau de cristalinidade exibido por essas amostras. Já para as amostras do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$ , isso foi atribuído à formação preferencial do silicato de sódio e cálcio  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  nas temperaturas de 700 e 800 °C. É importante dizer que a obtenção da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  nessas condições revela um resultado muito significativo, uma vez que, para a sua obtenção em vitrocerâmicas utilizando-se o método convencional, são exigidos tempo e temperatura muito elevados. Através da metodologia estabelecida neste trabalho, foi possível mostrar pela primeira vez a sua obtenção em condições bem mais brandas, embora não tenha sido de forma isolada.



## 7 SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS

➤ Realização de um estudo detalhado sobre a ocorrência de formação de um complexo viável envolvendo o ácido cítrico e um precursor de fósforo para que a síntese dos materiais do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  através do método dos precursores poliméricos possa ser efetuada.

➤ Estudo da estrutura vítrea dos materiais do sistema  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  obtidos a partir dos diferentes precursores de fósforo, tendo como objetivo a elucidação do comportamento distinto de cristalização observado para esses materiais, que, em princípio, foi associado apenas à natureza destes precursores.

➤ Aprimoramento do processo de síntese dos materiais do sistema quaternário  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  na tentativa de se obtê-los no estado vítreo e também monofásicos, com o possível isolamento da fase  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  nas etapas de cristalização, tanto por suas reconhecidas propriedades de osteocondução e osteoindução como pelo fato de o silicato de sódio e cálcio  $\text{Na}_2\text{Ca}_3\text{Si}_6\text{O}_{16}$  ter se mostrado desfavorável à bioatividade do sistema.

➤ Desenvolvimento de uma metodologia para a elaboração de dispositivos tridimensionais envolvendo as vitrocerâmicas dos sistemas  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  e  $\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5$  para emprego na engenharia de tecidos, introduzindo a estrutura de poros interconectados no sistema através de espumas produzidas *in situ* na solução sol-gel, com a adição de um surfactante.



## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] – WONG, J. Y.; BRONZINO, J. D. **Biomaterials**. London: CRC Press, 2007.
- [2] – NEWSOM, S. W. B. Pioneers in infection control - Joseph Lister. **Journal of Hospital Infection**, v. 55, n. 4, p. 246-253, 2003.
- [3] – DEE, K. C.; PULEO, D. A.; BIZIOS, R. **An introduction to tissue-biomaterial interactions**. Hoboken: John Wiley & Sons, 2002.
- [4] – WILLIAMS, D. F. On the mechanisms of biocompatibility. **Biomaterials**, v. 29, n. 20, p. 2941-2953, 2008.
- [5] – WILLIAMS, D. F. **Definitions in biomaterials**. Amsterdam: Elsevier, 1987.
- [6] – WILLIAMS, D. F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, n. 30, p. 5897-5909, 2009.
- [7] – KOKUBO, T. **Bioceramics and their clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 2008.
- [8] – HENCH, L. L. Bioceramics, **Journal of the American Ceramic Society**, v. 81, n. 7, p. 1705-1128, 1998.
- [9] – HERTZ, A.; BRUCE, I. J. Inorganic materials for bone repair or replacement applications. **Nanomedicine**, v. 2, n. 6, p. 899-918, 2007.
- [10] – PASTERIS, J. D.; WOPENKA, B.; VALSAMI-JONES, E. Bone and tooth mineralization: why apatite? **Elements**, v. 4, n. 2, p. 97-104, 2008.
- [11] – LEGEROS, R. Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. **Chemical Reviews**, v. 108, n. 11, p. 4742-4753, 2008.

[12] – SUCHANEK, W.; YOSHIMURA, M. Processing and properties of hydroxyapatite-based biomaterials for use as hard tissue replacement implants. **Journal of Materials Research**, v. 13, n. 1, p. 94-117, 1998.

[13] – NARASARAJU, T. S. B.; PHEBE, D. E. Some physico-chemical aspects of hydroxylapatite. **Journal of Materials Science**, v. 31, n. 1, p. 1-21, 1996.

[14] – DE JONG, W. F. La substance minerale dans le os. **Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas et de la Belgique**, v. 45, n.1, p. 445-448, 1926.

[15] – CHEVALIER, J.; GREMILLARD, L. Ceramics for medical applications: A picture for the next 20 years. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 7, p. 1245-1255, 2009.

[16] – ALBEE, F. H.; MORRISON, H. F. Studies in bone growth: triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. **Annals of Surgery**, v. 71, n. 1, p. 32-39, 1920.

[17] – NERY, E. B.; LYNCH, K. L.; HIRTHE, W. M.; MUELLER, K. H. Preliminary clinical studies of bioceramics in periodontal osseous defects. **Journal of Periodontology**, v. 49, n. 10, p. 523-527, 1978.

[18] – HENCH, L. L. The story of Bioglass®. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 17, n. 11, p. 967-978, 2006.

[19] – HING, K. A. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? **Philosophical Transactions of the Royal Society A**, v. 362, n. 1825, p. 2821-2850, 2004.

[20] – KAWACHI, E. Y.; BERTRAN, C. A.; REIS, R. R.; ALVES, O. L. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 518-522, 2000.

[21] – LEE, K-Y.; PARK, M.; KIM, H-M.; LIM, Y-J.; CHUN, H-J.; KIM, H.; MOON, S-H. Ceramic bioactivity: progresses, challenges and perspectives. **Biomedical Materials**, v. 1, n. 2, p. R31-R37, 2006.

[22] – VALLET-REGÍ, M.; RANGEL, V. R.; SALINAS, A. J. Glasses with medical applications. **European Journal of Inorganic Chemistry**, v. 2003, n. 6, p. 1029-1042, 2003.

[23] – DE AZA, P. N.; DE AZA, A. H.; PENA, P.; DE AZA, S. Bioactive glasses and glass-ceramics. **Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio**, v. 46, n. 2, p. 45-55, 2007.

[24] – KOKUBO, T.; KIM, H. M.; KAWASHITA, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. **Biomaterials**, v. 24, n. 13, p. 2161-2175, 2003.

[25] – KOKUBO, T.; KIM, H.M.; KAWASHITA, M.; NAKAMURA, T. Bioactive metals: preparation and properties. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 15, n. 2, p. 99-107, 2004.

[26] – HENCH, L. L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, n. 16, p. 1419-1423, 1998.

[27] – GROSS, U.; STRUNZ, V. The interface of various glasses and glass ceramics with a bony implantation bed. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 19, n. 3, p. 251-271, 1985.

[28] – WILSON, J.; PIGOTT, G. H.; SCHOEN, F. J.; HENCH, L. L. Toxicology and biocompatibility of bioglasses. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 15, n. 6, p. 805-817, 1981.

[29] – YAMAMURO, T.; HENCH, L. L.; WILSON, J. **Handbook of bioactive ceramics**. 1. ed. Boca Raton: CRC Press, 1990.

[30] – VALÉRIO, P.; PEREIRA, M. M.; GOES, A. M.; LEITE, M. F. The effect of ionic products from bioactive glass dissolution on osteoblast proliferation and collagen production. **Biomaterials**, v. 25, n. 15, p. 2941-2948, 2004.

[31] – BOSETTI, M.; CANNAS, M. The effect of bioactive glasses on bone marrow stromal cells differentiation. **Biomaterials**, v. 26, n. 18, p. 3873-3879, 2005.

[32] – HENCH, L. L. Genetic design of bioactive glass. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 29, n. 7, p. 1257-1265, 2009.

[33] – TSIGKOU, O; JONES, J. R.; POLAK, J. M.; STEVENS, M. M. Differentiation of fetal osteoblasts and formation of mineralized bone nodules by 45S5 Bioglass conditioned medium in the absence of osteogenic supplements. **Biomaterials**, v. 30, n. 21, p. 3542-3550, 2009.

[34] – JONES, J. R.; GENTLEMAN, E.; POLAK, J. Bioactive glass scaffolds for bone regeneration. **Elements**, v. 3, n. 6, p. 393-399, 2007.

[35] – NETO, J. M. **Osteogênese *in vitro* sobre uma nova vitrocerâmica bioativa 100% cristalina (Biosilicato®)**. 2006. 85 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial) – Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

[36] – GRANITO, R. N. **Potencial osteogênico *in vivo* de uma nova vitrocerâmica bioativa (Biosilicato®)**. 2009. 127 p. Tese (Doutorado em Fisioterapia) – Departamento de Fisioterapia, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

[37] – PEITL FILHO, O. **Vitro-cerâmica bioativa de alto desempenho mecânico**. 1995. 370 p. Tese (Doutorado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 1995.

[38] – USBIOMATERIALS CORPORATION (US/FL); UNIVERSITY OF FLORIDA RESEARCH FOUNDATION, INC (US/FL). PEITL FILHO, O.; ZANOTTO, E. D.; LA TORRE, G.; HENCH, L. L. **Bioactive ceramics and method of preparing bioactive ceramics**. International Publication Number WO/1997/041079, November 06, 1997.

[39] – RAVAGNANI, C. **Biosilicato para promoção da saúde oral**. 2003. 161 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2003.

[40] – FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (BR/SP); UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (BR/SP). RAVAGNANI, C.; PEITL FILHO, O.; LARA, E. H. G.; PANZERI, H.; ZANOTTO, E. D. **Processo de preparação de biosilicatos particulados bioativos e reabsorvíveis, composições para preparar ditos biosilicatos, biosilicatos particulados bioativos e reabsorvíveis e uso dos mesmos no tratamento de afecções bucais**. Publicação Nacional Número INPI/2004/PI0300644-1, 16 de Novembro, 2004.

[41] – FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS (BR/SP); UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO (BR/SP). RAVAGNANI, C.; PEITL FILHO, O.; LARA, E. H. G.; PANZERI, H.; ZANOTTO, E. D. **Process and compositions for preparing particulate, bioactive or resorbable biosilicates for use in the treatment of oral ailments**. International Publication Number WO/2004/074199, September 02, 2004.

[42] – TIRAPELLI, C. **Avaliação da eficácia de um biomaterial e conhecidos agentes dessensibilizantes no tratamento da hipersensibilidade dentinária - estudo *in vitro* e *in vivo***. 2007. 96 p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Departamento de Materiais Dentários e Prótese, Universidade de São Paulo, Ribeirão preto, 2007.

[43] – FAGUNDES, T. C. **Propriedades e adesão de cimentos de ionômero de vidro modificados por resina e vitrocerâmicas bioativas**. 2009. 157 p. Tese (Doutorado em Dentística) – Departamento de Dentística, Endodontia e Materiais Dentários, Universidade de São Paulo, Bauru, 2009.

[44] – RORIZ, V. M. **Avaliação clínica, histológica e histomorfométrica de alvéolos dentários de cães preenchidos com biovidro ou Biosilicato<sup>®</sup>, que posteriormente receberam implantes osseointegráveis**. 2006. 110 p. Tese (Doutorado em Odontologia) – Departamento de Materiais Dentários e Prótese, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2006.

[45] – JABUR, R. O. **Avaliação clínica, histológica e histomorfométrica do reparo de defeitos ósseos criados em mandíbula de cães preenchidos com Bioglass<sup>®</sup> 45S5 ou Biosilicato<sup>®</sup> após a colocação de implantes osseointegráveis**. 2008. 88 p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia Buco-Maxilo-Facial) – Departamento de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial e Periodontia, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

[46] – TANAKA, E. M. **Avaliação do otosilicato como prótese de orelha média**. 2007. 62 p. Tese (Doutorado em Ciências Médicas) – Departamento de Oftalmologia, Otorrinolaringologia e Cirurgia de Cabeça e Pescoço, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

[47] – SIQUEIRA, R. L.; PEITL FILHO, O.; ZANOTTO, E. D. Síntese e caracterização do Biosilicato<sup>®</sup> via processos químicos. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS, 18., 2008, Porto de Galinhas. **Resumos...** Porto de Galinhas: 18° CBECiMat, 2008. p. 25.

[48] – CROVACE, M. C. **Obtenção de estruturas porosas altamente bioativas via sinterização do Biosilicato<sup>®</sup>**. 2009. 144 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Departamento de Engenharia de Materiais, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2009.

[49] – PANTANO JR., C. G.; CLARK JR., A. E.; HENCH, L. L. Multilayer corrosion films on bioglass surface. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 57, n. 9, p. 412- 413, 1974.

[50] – KITSUGI, T.; NAKAMURA, T.; YAMAMURO, T.; KOKUBO, T.; SHIBUYA, T.; TAKAGI, M. SEM-EPMA observation of three types of apatite-containing glass ceramics implanted in bone: the variance of a Ca, P-rich layer. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 21, n. 10, p. 1255-1271, 1987.

[51] – KOKUBO, T.; TAKADAMA, H. How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, n. 15, p. 2907-2915, 2006.

[52] – KIM, H-M.; MIYAZAKI, T.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. Revised simulated body fluid. **Key Engineering Materials**, v. 192-195, n. 1, p. 47-50, 2001.

[53] – TAKADAMA, H.; HASHIMOTO, M.; MIZUNO, M.; KOKUBO, T. Round-robin test of SBF for *in vitro* measurement of apatite-forming ability of synthetic materials. **Phosphorus Research Bulletin**, v. 17, n. 1, p. 119-125, 2004.

[54] – INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION (ISO). **ISO 23317**: implants for surgery: *in vitro* evaluation for apatite-forming ability of implant materials. Geneva, 2007. 13 p.

[55] – COLEMAN, N. J.; NICHOLSON, J. W. Glass bones. **Education in Chemistry**, v. 43, n. 1, p. 156-160, 2006.

[56] – BOHNER, M.; LEMAITRE, J. Can bioactivity be tested *in vitro* with SBF solution? **Biomaterials**, v. 30, n. 12, p. 2175-2179, 2009.

[57] – FUJIBAYASHI, S.; NEO, M.; KIM, H-M.; KOKUBO, T.; NAKAMURA, T. A comparative study between *in vivo* bone in growth and *in vitro* apatite formation on Na<sub>2</sub>O–CaO–SiO<sub>2</sub> glasses. **Biomaterials**, v. 24, n. 8, p. 1349-56, 2003.

[58] – LUSVARDI, G.; ZAFFE, D.; MENABUE, L.; BERTOLDI, C.; MALAVASI, G.; CONSOLO, U. *In vitro* and *in vivo* behaviour of zinc-doped phosphosilicate glasses. **Acta Biomaterialia**, v. 5, n. 1, p. 419-428, 2009.

[59] – XIN, R.; LENG, Y.; CHEN, J.; ZHANG, Q. A comparative study of calcium phosphate formation on bioceramics *in vitro* and *in vivo*. **Biomaterials**, v. 26, n. 33, p. 6477-6486, 2005.

[60] – SAKKA, S. **Handbook of sol-gel science and technology**: processing, characterization and applications. New York: Kluwer Academic Publishers, 2005. v. 3 (Applications of sol-gel technology).

[61] – CHAUDHURY, N. K.; GUPTA, R.; GULIA, S. Sol-gel technology for sensor applications. **Defence Science Journal**, v. 57, n. 3, p. 241-253, 2007.

[62] – GUPTA, R.; KUMAR, A. Bioactive materials for biomedical applications using sol-gel technology. **Biomedical Materials**, v. 3, n. 3, p. 1-15, 2008.

[63] – BRINKER, C. J.; SCHERER, G. W. **Sol-gel science**: the physics and chemistry of sol-gel processing. San Diego: Academic Press, 1990.

[64] – SAKKA, S. **Handbook of sol-gel science and technology**: processing, characterization and applications. New York: Kluwer Academic Publishers, 2005. v. 1 (Sol-gel processing).

[65] – HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. **Chemical Reviews**, v. 90, n. 1, p. 33-72, 1990.

[66] – DIMITRIEV, Y.; IVANOVA, Y.; IORDANOVA, R. History of sol-gel science and technology (review). **Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy**, v. 43, n. 2, p. 181-192, 2008.

[67] – KISTLER, S. S. Coherent expanded aerogels and jellies. **Nature**, v. 127, n. 3211, p. 741-741, 1931.

[68] – KISTLER, S. S. Coherent expanded-aerogels. **The Journal of Physical Chemistry**, v. 36, n. 1, p 52-64, 1932.

[69] – JENAER GLASWERK SCHOTT & GEN (DE/TH). GEFFCKEN, W.; BERGER, E. **Verfahren zur aenderung des reflexionsvermoegens optischer glaeser**. National Publication Number, DE/736.411, May, 1939.

[70] – AIROLDI, C.; FARIA, R. F. Alcóxidos como precursores na síntese de novos materiais através do processo sol-gel. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 84-88, 2004.

[71] – SPRAGUE ELECTRIC COMPANY (US/MA). PECHINI, M. P. **Method of preparing lead and alkaline earth titanates and niobates and coating method using the same form a capacitor**. National Publication Number US/3.330.697, July 11, 1967.

[72] – LESSING, P. A. Mixed-cation oxide powders via polymeric precursors. **Ceramic Bulletin**, v. 68, n. 5, p. 1002-1007, 1989.

[73] – SEGAL, D. Chemical synthesis of ceramic materials. **Journal of Materials Chemistry**, v. 7, n. 8. p.1297-1305, 1997.

[74] – KAKIHANA, M.; YOSHIMURA, M. Synthesis and characteristics of complex multicomponent oxides prepared by polymer complex method. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 72, n. 7, p. 1427-1443, 1999.

[75] – BARBOSA, L. C. A. **Introdução à química orgânica**. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2004.

[76] – LI, R. **Sol-gel processing of bioactive glass powders**. 1991. 216 p. Dissertation (Doctor of Philosophy) – Department of Materials Science and Engineering, University of Florida, Gainesville, 1991.

[77] – UNIVERSITY OF FLORIDA (US/FL). LI, R.; CLARK, A. E.; HENCH, L. L. **Alkali-free bioactive sol-gel compositions**. International Publication Number WO1991/017965, November 28, 1991.

[78] – IZQUIERDO-BARBA, I.; SALINAS, A. J.; VALLET-REGÍ, M. *In vitro* calcium phosphate layer formation on sol-gel glasses of the CaO-SiO<sub>2</sub> system. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 47, n. 2, p. 243-250, 1999.

[79] – VALLET-REGÍ, M.; IZQUIERDO-BARBA, I.; SALINAS, A. J. Influence of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> on crystallinity of apatite formed *in vitro* on surface of bioactive glasses. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 46, n. 4, p. 560-565, 1999.

[80] – OHTSUKI, C.; KOKUBO, T.; YAMAMURO, T. Mechanism of apatite formation on CaO–SiO<sub>2</sub>–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses in a simulated body fluid. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 143, n. 1, p. 84-92, 1992.

[81] – LENZA, R. F. S.; VASCONCELOS, W. L.; JONES, J. R.; HENCH, L. L. Surface-modified 3D scaffolds for tissue engineering. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 13, n. 9, p. 837-842, 2002.

[82] – LENZA, R. F. S.; JONES, J. R.; VASCONCELOS, W. L.; HENCH, L. L. *In vitro* release kinetics of proteins from bioactive foams. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 67, n. 1, p. 121-129, 2003.

[83] – ANDRADE, A. L.; MANZI, D.; DOMINGUES, R. Tetracycline and propolis incorporation and release by bioactive glassy compounds. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 352, n. 32-35, p. 3502-3507, 2006.

[84] – OKI, A.; PARVEEN, B.; HOSSAIN, S.; ADENIJI, S.; DONAHUE, H. Preparation and *in vitro* bioactivity of zinc containing sol-gel-derived bioglass materials. **Journal of Biomedical Materials Research Part A**, v. 69, n. 2, p. 216-221, 2003.

[85] – ROBERTO, W. S.; PEREIRA, M. M.; CAMPOS, T. P. R., Analysis of bioactive glasses obtained by sol-gel processing for radioactive implants. **Materials Research**, v. 6, n. 2, p. 123-127, 2003.

[86] – CARTA, D.; PICKUP, D. M.; KNOWLES, J. C.; SMITH, M. E.; NEWPORTA, R. J. Sol-gel synthesis of the P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>–CaO–Na<sub>2</sub>O–SiO<sub>2</sub> system as a novel bioresorbable glass. **Journal of Materials Chemistry**, v. 15, n. 21, p. 2134-2140, 2005.

[87] – BALAMURUGAN, A.; BALOSSIER, G.; KANNAN, S.; MICHEL, J.; REBELO, A. H. S.; FERREIRA, J. M. F. Development and *in vitro* characterization of sol-gel derived  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2\text{-ZnO}$  bioglass. **Acta Biomaterialia**, v. 3, n. 2, p. 255-262, 2007.

[88] – BALAMURUGAN, A.; BALOSSIER, G.; MICHEL, J.; KANNAN, S.; BENHAYOUNE, H.; REBELO, A. H. S.; FERREIRA, J. M. F. Sol-gel derived  $\text{SiO}_2\text{-CaO-MgO-P}_2\text{O}_5$  bioglass system-preparation and *in vitro* characterization. **Journal of Biomedical Materials Research Part B**, v. 83, n. 2, p. 546-553, 2007.

[89] – LAO, J.; JALLOT, E.; NEDELEC, J-M. Strontium-delivering glasses with enhanced bioactivity: a new biomaterial for antiosteoporotic applications? **Chemistry of Materials**, v. 20, n. 15, p. 4969-4973, 2008.

[90] – BALAMURUGAN, A.; BALOSSIER, G.; LAURENT-MAQUIN, D.; PINA, S.; REBELO, A. H. S.; FAURE, J.; FERREIRA, J. M. F. An *in vitro* biological and anti-bacterial study on a sol-gel derived silver-incorporated bioglass system. **Dental Materials**, v. 24, n. 10, p. 1343-1351, 2008.

[91] – SABOORI, A.; RABIEE, M.; MOZTARZADEH, F.; SHEIKHI, M.; TAHRIRI, M.; KARIMI, M. Synthesis, characterization and *in vitro* bioactivity of sol-gel-derived  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5\text{-MgO}$  bioglass. **Materials Science and Engineering C**, v. 29, n. 1, 335-340, 2009.

[92] – ŁĄCZKA, M.; CHOLEWA-KOWALSKA, K.; ŁĄCZKA-OSYCZKA, A.; TWORZYDŁO, M.; TURZYNA, B. Gel-derived materials of a  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$  system modified by boron, sodium, magnesium, aluminum, and fluorine compounds. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 52, n. 4, p. 601-612, 2000.

[93] – RIZZOLI, R. Osteoporosis: non-hormonal treatment. **Climacteric**, v. 10, n. s2, p. 74-78, 2007.

[94] – MARIE, J. P. Strontium ranelate: new insights into its dual mode of action. **Bone**, v. 40, n. 5, p. S5-S8, 2007.

[95] – ŁĄCZKA, M.; CHOLEWA, K.; MOZGAWA, W. Glass-crystalline materials of the  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$  system obtained by the sol-gel method. **Journal of Materials Science Letters**, v. 14, n. 20, p. 1417-1420, 1995.

[96] – ŁĄCZKA, M.; CHOLEWA, K.; ŁĄCZKA-OSYCZKA. Gel-derived powders of  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$  system as a starting material to production of bioactive ceramics. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 248, n. 1-2, p. 42-51, 1997

[97] – ŁĄCZKA, M.; CHOLEWA-KOWALSKA, K.; KULGAWCZYK, K.; KLISCH, M.; MOZGAWA, W. Structural examinations of gel-derived materials of the  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$  system. **Journal of Molecular Structure**, v. 511-512, n. 1, p. 223-231, 1999.

[98] – ROMÁN, J.; PADILLA, S.; VALLET-REGÍ, M. Sol-gel glasses as precursors of bioactive glass ceramics. **Chemistry of Materials**, v. 15, n. 3, p. 798-806, 2003.

[99] – PADILLA, S.; ROMÁN, J.; CARENAS, A.; VALLET-REGÍ, M. The influence of the phosphorus content on the bioactivity of sol-gel glass ceramics. **Biomaterials**, v. 26, n. 5, p. 475-483, 2005.

[100] – VALLET-REGÍ, M.; ROMÁN, J.; PADILLA, S.; DOADRIO, J. C.; GIL, F. J. Bioactivity and mechanical properties of  $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$  glass-ceramics, **Journal of Material Chemistry**, v. 15, n. 13, p. 1353-1359, 2005.

[101] – PEREIRA, M. M.; CLARK, A. E.; HENCH, L. L. Homogeneity of bioactive sol-gel derived glasses in the system  $\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$ . **Journal of Materials and Processing**, v. 2, n. 3, p. 189-195, 1994.

[102] – RAMILA, A.; BALAS, F.; VALLET-REGÍ, M. Synthesis routes for bioactive sol-gel glasses: alkoxides versus nitrates. **Chemistry of Materials**, v. 14, n. 2, p. 542-548, 2002.

[103] – BERTOLINI, M. J.; ZAGHETE, M. A.; GIMENES, R.; PAIVA-SANTOS, C. O. Caracterização de cimento odontológico obtido a partir de um vidro preparado pelo método dos precursores poliméricos. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 813-816, 2005.

[104] – LIVAGE, J.; BARBOUX, P.; VANDENBORRE, M. T.; SCHMUTZ, C.; TAULELLE, F. Sol-gel synthesis of phosphates. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 147-148, n. 1, p. 18-23, 1992.

[105] – LEE, B. I.; SAMUELS, W. D.; WANG, L-Q.; EXARHOS, G. J. Sol-gel synthesis of phosphate ceramic composites I. **Journal of Materials Research**, v. 11, n. 1, p. 134-143, 1996.

[106] – QIU, D.; GUERRY, P.; KNOWLES, J. C.; SMITH, M. E.; NEWPORT, R. J. Formation of functional phosphosilicate gels from phytic acid and tetraethyl orthosilicate. **Journal of Sol-Gel Science and Technology**, v. 48, n. 3, p. 378-383, 2008.

[107] – ALI, A. F.; MUSTARELLI, P.; MAGISTRIS, A. Optimal synthesis of organo-phosphate precursors for sol-gel preparations. **Materials Research Bulletin**, v. 33, n. 5, p. 697-710, 1998.

[108] – SAMBA-FOUALA, C.; MOSSOYAN, J-C.; MOSSOYAN-DENEUX, M.; BENLIAN, D.; CHANEAC, C.; BABONNEAU, F. Preparation and properties of silica hybrid gels containing phytic acid. **Journal of Material Chemistry**, v. 10, n. 2, p. 387-393, 2000.

[109] – LEITE, E. R.; CARREÑO, N. L. V.; LONGO, E.; PONTES, F. M.; BARISON, A.; FERREIRA, A. G.; MANIETTE, Y.; VARELA, J. A. Development of metal-SiO<sub>2</sub> nanocomposites in a single-step process by the polymerizable complex method. **Chemistry of Materials**, v. 14, n. 9, p 3722-3729, 2002.

[110] – FISKE, C. H.; SUBBAROW, Y. The colorimetric determination of phosphorus. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 66, n. 2, p. 375-400, 1925.

[111] – GOMORI, G. A modification of the colorimetric phosphorus determination for use with the photoelectric colorimeter. **The Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 21, n. 6, p. 955-960, 1942.