

PROCESSAMENTO DE NANOPARTÍCULAS BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Lívia Fernandes Cóta

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Metalúrgica e de Materiais.

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Rio de Janeiro

Agosto de 2015

PROCESSAMENTO DE NANOPARTÍCULAS BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE
CÁLCIO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Lívia Fernandes Cóta

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO
LUIZ COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA
(COPPE) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE
DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
EM CIÊNCIAS EM ENGENHARIA METALÚRGICA E DE MATERIAIS.

Examinada por:

Prof. Luiz Carlos Pereira, D.Sc.

Dra. Marize Varella de Oliveira, D.Sc.

Prof^ª. Rossana Mara da Silva Moreira Thiré, D.Sc.

Dra. Juliana do Nascimento Lunz, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

AGOSTO DE 2015

Cóta, Livia Fernandes

Processamento de nanopartículas biocerâmicas de fosfato de cálcio para regeneração óssea. / Livia Fernandes Cóta. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2015.

XV, 110 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Dissertação (mestrado) – UFRJ/COPPE/Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 2015.

Referências Bibliográficas: p. 103-110.

1. Biomateriais. 2 Partículas Nanométricas. 3. Sonoquímico. I. Pereira, Luiz Carlos *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. III. Título.

*A Deus e a toda sua esplêndida criação.
Pois tudo o que fazemos é para melhor
compreensão dos teus pensamentos.*

Agradecimentos

A Deus e a Cristo Jesus. *"Porque os meus pensamentos não são os vossos pensamentos, nem os vossos caminhos, os meus caminhos, diz o Senhor, porque, assim como os céus são mais altos do que a terra, assim são os meus caminhos mais altos do que os vossos caminhos, e os meus pensamentos, mais altos do que os vossos pensamentos."* (Isaías 55:8-9).

A meu esposo Bruno Bergamin. *"Diante da vastidão do tempo e da imensidão do universo, é um imenso prazer para mim dividir um planeta e uma época com você."* (Carl Sagan). Amo-te.

Aos meus pais Lívio e Rosimeri eu vos agradeço pelas noites mal dormidas e por renunciarem às suas próprias vontades para realizar os meus sonhos. Sou grata pelo exemplo de caráter e honestidade e pelas orações a meu favor.

Ao meu irmão Eliseu. *"Ter um irmão é ter a culpa dividida. Ter um irmão é ter, pra sempre, a infância lembrada com segurança em outro coração."* (Tati Bernardi).

Aos amigos e mestres de graduação Marcus Neumann, William Chaia e Aurimar Andrade, que me incentivaram e me apoiaram em minha busca por conhecimento.

Ao mestre e orientador Luiz Carlos Pereira pelas instruções quanto a deveres acadêmicos e profissionais.

A minha co-orientadora Marize Varella e a toda sua equipe do LATEP/DPCM (INT) pela sabedoria em lidar com a multidisciplinaridade, acolhendo e compartilhando conhecimento com profissionais de diversas áreas.

Ao Laboratório de Recobrimentos Protetores do PEMM/COPE (UFRJ) pela realização dos ensaios de Nanoidentificação, em especial a ajuda prestada por Emanuel.

Ao Francisco Rangel do CENANO, ao Francisco Assis do CBPF e ao Laércio do TERMIC, agradeço pela paciência em cada análise e ensaio realizado.

Ao CNPQ e a FAPERJ pelo apoio financeiro para o desenvolvimento da pesquisa.

“Por trás das fórmulas complicadas, das tabelas de dados experimentais e da linguagem técnica, encontra-se uma pessoa tentando transcender as barreiras imediatas da vida diária, guiada por um insaciável desejo de adquirir um nível mais profundo de conhecimento e de realização própria. Sob esse prisma, o processo criativo científico não é assim tão diferente do processo criativo nas artes, isto é, um veículo de autodescoberta que se manifesta ao tentarmos capturar a nossa essência e lugar no Universo.”

- Marcelo Gleiser (A Dança do Universo)

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

PROCESSAMENTO DE NANOPARTÍCULAS BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA

Livia Fernandes Cóta

Agosto/2015

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

A presente pesquisa possui como objetivo o desenvolvimento de biocerâmicas bifásicas a base de nanopartículas de fosfato de cálcio sintetizadas com o emprego de radiação ultrassônica e seu processamento para a produção de peças densas e porosas. O pó sintetizado foi seco pelo processo de liofilização e caracterizado química e fisicamente. Seu processamento foi estudado a partir de 2 planejamentos de experimentos: PE-I e PE-II. O PE-I (2^{4-1}) analisou os efeitos da pressão de compactação, da temperatura de sinterização, da taxa de aquecimento e tempo de sinterização, na densidade das amostras; o PE-II (2^2) analisou os efeitos de pressão de compactação e da temperatura de sinterização. Um terceiro planejamento (PE-III) foi idealizado para o estudo de peças porosas e os parâmetros relacionados aos agentes formadores de poros utilizados. O PE-III (2^3) analisou o tipo do agente formador de poros (cera de polietileno e bicarbonato de amônio), a sua granulometria e fração volumétrica. As peças foram caracterizadas por DRX, FTIR, MEV/FEG, além de ensaios de dureza Vickers, nanoindentação para obtenção do módulo de elasticidade e resistência teórica à compressão. A temperatura foi a variável que apresentou maior efeito sobre a densidade e porosidade das peças, tanto no PE-I quanto no PE-II. Já no PE-III foi possível observar que a fração volumétrica do agente formador de poros foi a variável com maior efeito sobre a porosidade, seguido do tipo do agente utilizado.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

CALCIUM PHOSPHATE NANOPARTICLES BIO CERAMICS PROCESSING FOR
BONE REGENERATION

Livia Fernandes Cota

August/2015

Advisors: Luiz Carlos Pereira

Marize Varella de Oliveira

Department: Metallurgy and Materials Engineering

This research has as objective the development of biphasic bioceramics based on calcium phosphate nanoparticles synthesized with the ultrasonic radiation and processing for the production of dense and porous pieces. The synthesized powder was dried by lyophilization process and characterized chemically and physically. Processing was studied from two design of experiments: PE-I and PE-II. The PE-I (2^{4-1}) examined the effects of compaction pressure, sintering temperature, heating rate and time of sintering, the density of samples; PE-II (2^2) examined the effects of compaction pressure and the sintering temperature. A third design (PE-III) idealized for the study of porous pieces and the parameters related to the pore-forming agents used. PE-III (2^3) examined the kind of pore forming agent (polyethylene wax and ammonium bicarbonate), its particle size and volume fraction. The pieces were characterized by XRD, FTIR, SEM/FEG, and Vickers hardness tests, nanoindentation to obtain the theoretical elastic modulus and compressive strength. The temperature was the variable with the greatest effect on the density and porosity of the pieces, both in PE-I and in PE-II. Already in PE-III it was observed that the volume fraction of pore forming agent was the variable with the greatest effect on porosity, followed by the type of agent used.

SUMÁRIO

	Pág.
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. O TECIDO ÓSSEO	3
2.2. BIOMATERIAIS	5
2.3. FOSFATO DE CÁLCIO	6
2.3.1. HIDROXIAPATITA (HAp)	8
2.3.2. β FOSFATO TRICÁLCICO (β -TCP)	11
2.4. FOSFATOS DE CÁLCIO BIFÁSICO (BCP)	12
2.5. NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO	14
2.6. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PELO MÉTODO SONOQUÍMICO	16
2.7. PROCESSAMENTO DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO	18
2.7.1. BIOCERÂMICAS POROSAS	18
2.8. PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS (DOE)	20
3. OBJETIVOS	21
4. MATERIAIS E MÉTODOS	22
4.1. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO	22
4.2. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS DENSAS	25
4.3. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS POROSAS	27
4.4. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS, FORMADORES DE POROS E BIOCERÂMICAS	28
4.4.1. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	31

4.4.2.	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	33
4.4.3.	RAZÃO Ca/P	33
4.4.4.	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (TGA/DTG)	33
4.4.5.	ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (BET)	34
4.4.6.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV/FEG-EDS)	34
4.4.7.	DENSIDADE E POROSIDADE	35
4.4.8.	RETRAÇÃO LINEAR	36
4.4.9.	DUREZA VICKERS	36
4.4.10.	NANOINDENTAÇÃO	37
4.4.11.	MÓDULO DE ELASTICIDADE TEÓRICO	37
4.4.12.	RESISTÊNCIA TEÓRICA À COMPRESSÃO	38
5.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	39
5.1.	NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO	39
5.1.1.	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	39
5.1.2.	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	40
5.1.3.	RAZÃO Ca/P	41
5.1.4.	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (TGA/DTG)	44
5.1.5.	ÁREA SUPERFICIAL ESPECÍFICA (BET)	45
5.1.6.	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV/FEG- EDS)	46
5.2.	AGENTES POROGÊNICOS	48

5.2.1. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA E TERMOGRAVIMETRIA DERIVADA (TGA/DTG)	48
5.3. BIOCERÂMICAS DENSAS E POROSAS	49
5.3.1. DENSIDADE E POROSIDADE	49
5.3.2. DIFRAÇÃO DE RAIOS-X (DRX)	60
5.3.3. ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	65
5.3.4. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV/FEG-EDS)	69
5.3.5. RETRAÇÃO LINEAR	85
5.3.6. DUREZA VICKERS	87
5.3.7. NANODUREZA	88
5.3.8. MÓDULO DE ELASTICIDADE EXPERIMENTAL	91
5.3.9. MÓDULO DE ELASTICIDADE TEÓRICO	93
5.3.10. RESISTÊNCIA TEÓRICA À COMPRESSÃO	96
6. CONCLUSÕES	99
7. PROPOSTAS A FUTUROS TRABALHOS	101
8. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	103

LISTA DE FIGURAS

	Pág
FIGURA 1: Mecanismo físico de cavitação acústica, relacionado à sonoquímica	17
FIGURA 2: Fluxograma das etapas de síntese do pó	24
FIGURA 3: Difractograma de raio-X do pó de fosfato de cálcio.	39
FIGURA 4: Espectro de FTIR do pó de fosfato de cálcio	41
FIGURA 5: Curvas TGA e DTG do pó de fosfato de cálcio (HAp).	45
FIGURA 6: Imagens do pó de HAp obtidas através de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV/FEG)	47
FIGURA 7: Curvas TGA e DTG do Bicarbonato de Amônio, agente formador de poros.	48
FIGURA 8: TGA e DTG da Cera Licowax, agente formador de poros.	49
FIGURA 9: Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 4 variáveis no processamento das biocerâmicas.	50
FIGURA 10: Gráfico de Superfície para o PE-I da densidade em função da temperatura de sinterização e da pressão de compactação.	51
FIGURA 11: Gráficos dos efeitos principais para o PE-I em relação a densidade e porosidade do material.	52
FIGURA 12: Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 2 variáveis no processamento das biocerâmicas.	54
FIGURA 13: Gráfico de Superfície do PE-II da densidade em função da temperatura de sinterização e da pressão de compactação.	55
FIGURA 14: Gráfico arbitrário de densidade em função da temperatura de sinterização, formado por dados obtidos de ambos os planejamentos (PE-I e PE-II)	57
FIGURA 15: Diagrama de pareto mostrando os efeitos de 3 variáveis no processamento das biocerâmicas porosas.	59
FIGURA 16: Gráfico dos efeitos principais sobre a porosidade das peças biocerâmicas	60
FIGURA 17: Difractograma de raios-X da amostra densa D1	62

FIGURA 18:	Difractograma de raios-X da amostra densa D8	62
FIGURA 19:	Difractograma de raios-X da amostra densa D10	63
FIGURA 20:	Difractograma de raios-X da amostra porosa P7	63
FIGURA 21:	Difractograma de raio-X comparativo do pó sem tratamento térmico e das amostras densas, D1, D8, D10 e porosas, representadas pela amostra P7	64
FIGURA 22:	Espectro FTIR do da amostra D1.	66
FIGURA 23:	Espectro FTIR do da amostra D8.	67
FIGURA 24:	Espectro FTIR do da amostra D10.	67
FIGURA 25:	Espectro FTIR do da amostra P7.	68
FIGURA 26:	Espectro FTIR do pó e das amostras processadas: D1, D8, D10 e P7.	69
FIGURA 27:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-I sinterizadas à 900°C	70
FIGURA 28:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-I sinterizadas à 1100°C	71
FIGURA 29:	EDS de uma das amostras do PE-I	73
FIGURA 30:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-II	74
FIGURA 31:	Imagens de MEV/FEG das amostras DPC do PE-II com diferentes aumentos	75
FIGURA 32:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 10000X (P1, P2, P3 e P4)	76
FIGURA 33:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 10000X (P5, P6, P7 e P8)	77
FIGURA 34:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 50000X (P1, P2, P3 e P4)	78
FIGURA 35:	Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 50000X (P5, P6, P7 e P8)	79
FIGURA 36:	Análise de imagem de microscopia eletrônica para determinação do tamanho de grão.	81
FIGURA 37:	Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 3 variáveis no tamanho de grão.	83

FIGURA 38:	Gráficos dos efeitos principais para o PE-I em relação a densidade e porosidade do material.	84
FIGURA 39:	Nanodureza em função da densidade de amostras densas.	90
FIGURA 40:	Gráfico da nanodureza em função da carga utilizada para amostras densas.	91
FIGURA 41:	Gráfico do módulo de elasticidade em função da carga utilizada para amostras densas.	92
FIGURA 42:	Gráfico do módulo de elasticidade teórico em função da densidade.	95

LISTA DE TABELAS

	Pág.
TABELA 1: Anisotropia do osso nas regiões da diáfise e metáfise	4
TABELA 2: Fases de fosfatos de cálcio em ordem crescente de razão Ca/P	7
TABELA 3: Substitutos iônicos na apatita	9
TABELA 4: Biomateriais comercializados com diferentes proporções de HAp/ β -TCP	14
TABELA 5: Planejamento de Experimentos I - Peças Densas	25
TABELA 6: Planejamento de Experimentos II - Peças Densas	26
TABELA 7: Planejamento de Experimentos III - Peças Porosas	27
TABELA 8: Caracterizações e ensaios realizados e as respectivas técnicas e/ou métodos utilizados de acordo com o material obtido	30
TABELA 9: Razão Ca/P do Pó de HAp	42
TABELA 10: PE-I (24-1)	50
TABELA 11: PE-II (22 + 2 Pontos Centrais)	54
TABELA 12: PE-III (23)	58
TABELA 13: Relação de Intensidade Relativa	65
TABELA 14: Tamanho de Grão das amostras sinterizadas à 1100°C	72
TABELA 15: Tamanho de Grão das amostras de maior densidade (PE-I e PE-II)	82
TABELA 16: Retração Linear das amostras do PE I, II e III	86
TABELA 17: Ensaio de Dureza Vickers (HV10)	87
TABELA 18: Nanodureza, dureza Vickers, tamanho de grão e densidade de amostras densas.	89
TABELA 19: Módulo de elasticidade, nanodureza, dureza Vickers, tamanho de grão e densidade de amostras densas.	92
TABELA 20: Propriedades físicas e mecânicas das amostras (PE-I, PE-II e PE-III).	94
TABELA 21: Ensaio de Dureza Vickers (HV10)	97

1. INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é um dos mais dinâmicos tecidos do corpo. Devido a sua capacidade de remodelação, altera suas configurações e propriedades em resposta a demandas mecânicas e metabólicas integradas, que previne o acúmulo de danos microscópicos e minimiza a possibilidade de fratura. Possui a habilidade de se auto-regenerar, ou seja, caso o tecido seja lesionado, esse é substituído por um novo tecido idêntico ao anterior, com as mesmas propriedades metabólicas, diferente da pele, por exemplo, que quando lesionada é rapidamente substituída por um tecido rico em fibroblastos e altamente inespecífico, caracterizando uma cicatrização ou reparo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Porém, há situações onde, devido à remoção de tumores, defeitos congênitos, doenças degenerativas, atrofias ou mesmo uma solução de continuidade devido a fraturas graves, é necessário o uso de materiais que substituam, permanentemente ou temporariamente o tecido ósseo lesado. Para isso há a necessidade da fabricação de biomateriais, que são materiais desenvolvidos especificamente para entrar em contato com células, tecidos, órgãos e seus fluidos, sem serem detectados como corpos estranhos ao organismo (FARIA *et al.*, 2012).

É expressiva a criação de novos materiais que possam ser utilizados para substituição e regeneração óssea, de forma a atender a crescente demanda de pacientes na rede privada e, principalmente, na rede pública de saúde. A pesquisa nessa área possui caráter multidisciplinar, agregando conhecimentos da Engenharia e Ciência dos Materiais de forma a atender a Medicina Regenerativa, em uma área comum que denominamos Engenharia Tecidual, ou mesmo, Bioengenharia. Esse domínio científico é responsável pela geração de estruturas supramoleculares que fornecerão a organização espacial dos novos tecidos, de forma que ele seja funcional a partir da integração sistêmica com o organismo (BOROJEVIC, 2005).

Um dos ramos da Bioengenharia consiste na reconstrução do tecido ósseo a partir de biocerâmicas baseadas em fosfatos de cálcio que podem ser utilizadas como arcabouços porosos permitindo a formação de novo tecido ósseo em seu interior ao mesmo tempo em que é reabsorvida pelo organismo. O ideal é que com o passar do tempo haja novo osso formado e todo o biomaterial tenha sido absorvido ou devidamente eliminado do organismo (MOGHADAM, *et al.*, 2004)

O fosfato de cálcio e suas composições bifásicas são amplamente utilizados na fabricação dessas biocerâmicas por ser o componente mineral de tecidos duros do

corpo humano, tais como ossos, esmalte e dentina, em diferentes proporções. Esses materiais são promissores em aplicações cirúrgicas maxilofacial, na fixação de implantes, como elemento matricial na eliminação de defeitos, na reparação e reconstrução de tecidos ósseos perdidos e na liberação de medicamentos de forma controlada (VALLET-REGÍ e GONZÁLEZ-CALBET, 2004).,

Durante a revisão bibliográfica observou-se que a nanotecnologia vem sendo largamente utilizada no desenvolvimento de novas técnicas e métodos de síntese, manipulação e processamento de nanomateriais como as nanopartículas de fosfato de cálcio, e as biocerâmicas nanoestruturadas. O interesse crescente sobre esses materiais nanométricos pode estar relacionado às suas propriedades melhoradas, tais como biocompatibilidade, bioatividade, estrutura mineralógica e cristalográfica similares ao osso humano. A nanotecnologia desenvolve biomateriais em escala infracelular com objetivos voltados para a adesão, migração e interação celular com as estruturas tridimensionais do material utilizado como suporte acelular ou celular que será implantado. (BOROJEVIC, 2005)

Além disso, os enxertos de origem biológica, usualmente utilizados, possuem certas limitações, o que dificulta o acesso de grande parte da população a essa terapia. Essas limitações envolvem desde a escassez de doadores, transmissão de doenças, rejeição imunológica, maior morbidade, dentre outros problemas associados a enxertos provenientes de outras espécies, de outros indivíduos da mesma espécie, ou até mesmo do próprio paciente, pois, sendo ele doador e receptor, aumenta os riscos a infecção, trauma cirúrgico, e conseqüentemente a morbidade do pós-operatório (ORÉFICE *et al.*, 2006). Vemos, dentre as técnicas atualmente difundidas de transplantes e enxertos, a utilização de métodos com prognósticos não adequados, deixando uma lacuna que a cada nova pesquisa é preenchida pelos Biomateriais.

Dessa forma, esse trabalho consiste da síntese e caracterização de nanopartículas de Fosfato de Cálcio, e do processamento das nanopartículas para a obtenção de biocerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio e sua completa caracterização, para aplicações em Bioengenharia. Foi realizado um estudo das variáveis do processamento a partir da utilização de planejamento de experimentos, com o objetivo de avaliar a influência dos parâmetros de processamento utilizados nos resultados obtidos e contribuir para a continuidade da pesquisa.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. O TECIDO ÓSSEO

O tecido ósseo é um tecido conjuntivo especializado constituído por água (5 a 10%), uma matriz orgânica (20 a 40%), como o colágeno tipo I e por uma matriz extracelular inorgânica e calcificada (50 a 70%) com células especializadas, como os osteoblastos, osteoclastos e osteócitos. Os osteoblastos são células responsáveis pela formação óssea e os osteoclastos são células responsáveis pela reabsorção do osso antigo. Já os osteócitos tem a função de “sensor”, sinalizando a remodelação óssea como resposta a estímulos de forças externas (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). Os minerais que formam a matriz inorgânica são responsáveis pela dureza e pela rigidez do osso e a parte orgânica é responsável pela elasticidade e flexibilidade do osso (CLARKE, 2008).

Em uma avaliação macroscópica do tecido ósseo é possível observar a existência de duas estruturas diferentes coexistindo em uma mesma estrutura óssea: uma região de osso mais compacto ou denso, denominado cortical, e outra de aparência mais porosa, acusando a presença de um osso menos resistente, denominado trabecular. Cada osso do corpo possui diferentes proporções desses tipos ósseos, que irão variar de acordo com a idade, sexo, patologias sistêmicas ou locais, histórico de traumas, entre outros fatores. Apesar de 80% do esqueleto humano ser constituído por osso cortical e 20% por trabecular, isso está distribuído de formas diferentes por cada região, por exemplo, as vértebras são ossos da coluna que apresentam cerca de 25% de osso cortical e 75% trabecular, a cabeça do fêmur apresenta 50% de osso cortical e trabecular, e a diáfise femoral apresenta uma proporção de 95% de osso cortical para 5% de osso trabecular. Dessa forma, a resistência do osso é determinada por vários fatores como a geometria, a composição, a dimensão e a proporção do osso trabecular e do osso cortical (CLARKE, 2008). Alguns ossos apresentam uma distribuição anisotrópica, sendo as partes mais densas direcionadas no sentido das cargas mais elevadas, como por exemplo o fêmur (MARTÍNEZ-REINA *et al.*, 2009). Os valores de módulo de elasticidade (E) em diferentes regiões de um osso longo podem ser visualizados na tabela 1, demonstrando a diferença entre o E transversal e o longitudinal devido a Anisotropia.

TABELA 1: Anisotropia do osso nas regiões da diáfise e metáfise.

Região do osso	ρ (g/cm ³)	E Longitudinal (GPa)	E Transversal (Gpa)
Diáfise	1,95	17	11,5
Metáfise	1,62	9,65	5,47

Adaptado de FUNG, 1993.

A morfologia óssea tem sido sistematicamente descrita, no entanto, sua fisiologia é evasiva devido às limitações técnicas inerentes ao estudo de tecidos mineralizados. Em 1987, Frost propôs uma das primeiras abordagens teóricas ao funcionamento do osso, a denominada teoria do mecanostato originada pela lei de Wolff de 1886. A teoria tratava sobre a adaptação óssea frente às cargas mecânicas, como, por exemplo, modificações em sua massa, arquitetura interna e propriedades mecânicas, como dureza, módulo de elasticidade e resistência mecânica de forma geral. O modelo conceitual do mecanostato assume que as cargas mecânicas são detectadas pelo tecido ósseo e o comportamento de suas células é influenciado pelos estímulos biomecânicos gerando respostas (feedback), proporcionando tais alterações no tecido ósseo (FROST, 1987 e WOLFF, 1986).

O osso é a principal reserva de Ca do corpo humano, retendo cerca de 99 % desse mineral, que gera uma carga de 1000g a 1500g no corpo adulto, o que varia de acordo com gênero, idade, etnia etc (ILICH e KERSTETTER, 2000). O metabolismo do cálcio e sua manutenção em níveis séricos de cerca de 10mg/dL é um dos processos fisiológicos fundamentais de suporte à vida, sendo essencial para a condução nervosa e função muscular. Um nível sérico baixo pode levar a tetania e a morte, enquanto níveis séricos altos de cálcio (hipercalcemia) pode levar a cálculos renais e calcificação distrófica dos tecidos moles. Sua homeostasia o equilíbrio mineral é resultado de uma interação complexa de fatores metabólicos e biomecânicos a nível celular, que pode ocorrer em um processo instantâneo, onde em segundos há a transferência seletiva de íons Ca para fora do fluido ósseo, como pode durar de semanas a meses. Sob condições fisiológicas normais o corpo gasta cerca de 300mg de Ca por dia e a absorção pelo intestino é a principal forma de repor. Quando não há essa fonte exógena de Ca e é

necessário uma quantidade significativa de Ca para manter o nível sérico, a estrutura óssea é sacrificada (MISCH, 2009).

O Fósforo (P) é o segundo elemento mais abundante no tecido ósseo, podendo ser prejudicial em quantidades excessivas (ILICH e KERSTETTER, 2000). A mineralização óssea consiste na deposição de íons inorgânicos, principalmente Cálcio (Ca) e Fosfato (PO_3), na matriz orgânica. O cálcio e o fósforo são armazenados nos ossos sob a forma de hidroxiapatita sendo esse o mineral mais abundante do osso que contribui para a sua dureza (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

2.2. BIOMATERIAIS

Oficialmente, o termo biomaterial foi definido na Conferência do Instituto Nacional de Desenvolvimento de Consenso em Saúde em 1982 como “qualquer substância (outra que não droga) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo” (HELMUS e TWEDEN, 1995).

O termo “enxerto” engloba todas aquelas peças de tecidos de origem biológica, sejam elas vascularizadas - como no caso do autógeno ou não, como ocorre com os tecidos provenientes de bancos de ossos. Nos casos de materiais sintéticos ou naturais, mas que não são de origem biológica, como é o caso das biocerâmicas de fosfato de cálcio ou os compósitos provenientes da associação com polímeros, estas devem ser chamadas de “implantes”, semelhante à nomenclatura dada aos biomateriais metálicos à base de ligas de Titânio. Como dito, os enxertos autógenos possuem vascularização, pois são obtidos do próprio indivíduo. Já os enxertos obtidos de banco de ossos podem ser homogêneos, originados de espécies semelhantes a do receptor, ou até mesmo, heterógeno, obtidos de diferentes espécies, tais como bovinos, suínos e caprinos. Já os implantes, são de origem sintética ou natural, porém não biológica, podendo ser cerâmicos, metálicos ou poliméricos, os quais conhecemos por biomateriais (ORÉFICE *et al.*, 2006 e DE CARVALHO *et al.*, 2010).

2.3.FOSFATO DE CÁLCIO

As biocerâmicas de fosfato de cálcio atualmente formam um dos principais tipos de materiais estudados e empregados como biomaterial para reconstrução e formação de tecidos ósseos, fato que está relacionado em sua maior parte, as semelhanças mineralógicas que esses biomateriais apresentam em relação ao tecido ósseo. Além de apresentarem excelente bioatividade e biocompatibilidade, possuem taxas de dissolução e adsorção variáveis, o que permite sua ampla aplicação em casos onde é necessário processos de osseointegração do material ao tecido adjacente ou absorção do material concomitantemente ao processo de crescimento ósseo (BEST *et al.*, 2008).

Além das semelhanças mineralógicas com os tecidos calcificados do corpo, as cerâmicas à base de fosfatos de cálcio são biocompatíveis, não tóxicas, não são reconhecidas como corpos estranhos pelo organismo, apresentam bioatividade e se integram aos tecidos vivos pelo mesmo processo da remodelação óssea. Todas essas características permitem uma íntima ligação físico-química do implante com o osso, ligação denominada “osseointegração”. Fosfatos de cálcio também são conhecidos por serem osteocondutores, ou seja, fornecem um arcabouço ou modelo para a nova formação óssea, e dão suporte à adesão de osteoblastos e sua proliferação. Suas maiores limitações são suas propriedades mecânicas, são frágeis e possuem baixa resistência à fadiga. Essas limitações são evidenciadas em peças altamente porosas, com poros acima de 100 μ m, requisito para colonização celular e vascularização interna do material. Devido a isso, em aplicações biomédicas, as cerâmicas a base de fosfato de cálcio tem sido amplamente utilizadas para preenchimentos e revestimentos, não sendo indicadas para reparação de extensos defeitos ósseos. (DOROZHKIN, 2010)

Os fosfatos de cálcio são uma classe de biocerâmicas que podem ser sintetizados por diferentes métodos e técnicas, onde se produz um pó cristalino ou amorfo. Uma forma conveniente de classificar os fosfatos de cálcio é através da razão Ca/P molar entre os átomos de cálcio e fósforo (razão Ca/P), a qual pode variar de 0,5 a 2,0 (LEGEROS, 1991). A tabela 2 mostra as principais fases cristalinas dos fosfatos de cálcio organizados em ordem crescente de razão Ca/P.

TABELA 2: Fases de fosfatos de cálcio em ordem crescente de razão Ca/P

Nome	Fórmula	Ca/P	Solubilidade a 25°C (g/L)
Fosfato Monocálcico Monohidratado	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	~18
Fosfato Monocalcico Anidro	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	---
Fosfato Dicálcico Dihidratado (Brushita)	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$	1,0	~0,088
Fosfato Dicálcico Anidro (Monetita)	CaHPO_4	1,0	---
Fosfato Octacálcico	$\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4\text{H}_2\text{O}$	1,33	~0,0081
α -Fosfato Tricálcico	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0025
β -Fosfato Tricálcico	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5	~0,0005
Apatita com deficiência em cálcio	$\text{Ca}_{10-x}(\text{HPO}_4)_x(\text{PO}_4)_{6-x}(\text{OH})_{2-x}$ ($0 < x < 1$)	1,5-1,67	~0,0094
Fosfato de Cálcio Amorfo	$\text{Ca}_x(\text{PO}_4)_y\text{nH}_2\text{O}$	1,2-2,2	---
Hidroxiapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	~0,0003
Fluorapatita	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$	1,67	~0,0002
Fosfato Tetracálcico	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	~0,0007

Adaptado de SADAT-SHOJAI *et al.*, 2013 e DOROZHKIN, 2010.

2.3.1. Hidroxiapatita

Classificado como um material pode-se dizer que o osso é um compósito formado por um componente orgânico, predominantemente proteínas, e outro componente inorgânico, um mineral que possui cristais nanométricos e é um análogo biológico da *hidroxiapatita (HAp)*. Além do osso, estruturas dentárias como esmalte, cemento e dentina possuem esse mesmo mineral em diferentes proporções, o que lhes fornece diferentes propriedades (PASTERIS, *et al.*, 2008). Essa semelhança entre o mineral Hidroxiapatita e o tecido ósseo foi notado inicialmente em 1926 por De Jong, ao analisar o difractograma de raios X de ambos os materiais (DE JONG, 1926). Desde então, vários estudos vem sendo realizados e testados, em busca da compreensão dos processos de dissolução e de formação óssea de diferentes composições de fosfatos de cálcio.

A hidroxiapatita pertencente ao grupo das *apatitas* - minerais formados a partir de *fosfatos*, é amplamente conhecida pelos mineralogistas e geólogos por ser naturalmente encontrada no solo terrestre, possui como fórmula química fundamental $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$.

Sabe-se que diversas substituições podem ocorrer na fórmula supracitada: a composição da apatita é dependente das condições do meio em que se encontra e influenciada pela compensação de cargas que ocorre durante uma substituição entre íons de diferentes cargas comparadas à apatita ideal. A diversidade na composição altera propriedades químicas, como a solubilidade e físicas, como a densidade. A Tabela 3 ilustra essas possíveis substituições que podem ocorrer em cada um dos três sítios básicos das apatitas (TOLEDO e PEREIRA, 2001).

TABELA 3: Substitutos iônicos na apatita

SÍTIOS	SUBSTITUTOS IÔNICOS
Catiônico	Ca^{2+} , Na^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , Ba^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} , Ag^+ , U^{4+} , U^{6+} , K^+ , Cd^{2+} , TR^{2+} , TR^{3+} , Y^{3+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Be^{2+} , Al^{3+} , Pb^{2+} , Sn^{2+} , Zn^{2+} , Sc^{3+} , Bi^{3+}
Aniônico 1	PO_4^{3-} , CO_3^{2-} , SO_4^{4-} , VO_4^{3-} , AsO_4^{3-} , CrO_4^{2-} , AlO_2^- (Raramente: Nb, Ge, Se e Zr)
Aniônico 2	OH^- , F^- , Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , Br^- , I^-

Adaptado de TOLEDO e PEREIRA, 2001.

O nome “apatita”, que em grego significa “enganar”, “iludir” ou “lograr” advém da característica desse material de incorporar outros íons na sua rede cristalina o que, por vezes, a confunde com outras estruturas minerais do grupo dos fosfatos de cálcio. (VAZ, 2007)

A hidroxiapatita possui esse nome por ser uma apatita com um grupamento hidroxila ocupando o segundo sítio aniônico. Outros exemplos típicos são Clorapatita com fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{Cl}_2$ e Fluorapatita, representada por $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$. Porém, devido às várias substituições, essas composições simplificadas dificilmente serão alcançadas pela apatita natural. Já no que se refere ao primeiro sítio aniônico, até agora representado pelo grupamento fosfato PO_4^{3-} , temos o grupamento CO_3^{2-} como um dos principais substituintes o que da origem ao carbonato-hidroxiapatita ou apatita carbonatada, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4,\text{CO}_3)_6\text{OH}_2$, fórmula simplificada de um dos principais constituintes dos ossos e dentes. Ainda no que se refere à carbonatação, observou-se que o grupamento CO_3^{2-} ocupa tanto o primeiro sítio aniônico quanto o segundo. Caso o grupamento carbonato esteja no primeiro sítio aniônico, referente ao grupamento fosfato, temos uma carbonatação do Tipo B, caso a substituição ocorra no segundo sítio aniônico, referente ao grupamento hidroxila, temos o que chamamos de carbonatação Tipo A (TOLEDO e PEREIRA, 2001).

Em uma revisão sobre a variabilidade da composição da apatita, realizada em 2001, por Toledo e Pereira, encontrou-se relatos de que na apatita de origem biológica, para tecido dental humano, as duas substituições são viáveis, com predominância do tipo B. Porém, a presença de CO_3^{2-} possuiria um efeito desestabilizador na estrutura, modificando a cristalinidade e a morfologia dos cristalitos que ficariam menores, aumentando a superfície específica e, conseqüentemente, a velocidade de dissolução. Além disso, a substituição de PO_4^{3-} por CO_3^{2-} (carbonatação Tipo B) poderia induzir a deficiência em Ca^{2+} ou a incorporação de F^- ou OH^- como mecanismo de compensação de cargas (TOLEDO e PEREIRA, 2001).

Apesar da estrutura cristalina e razão Ca/P da apatita biológica se assemelhar a Hidroxiapatita, a fase mineral do tecido ósseo não possui uma composição muito bem definida, podendo apresentar íons de Na^+ , Mg^{2+} , CO_3^{2-} , citratos, K^+ , Cl^- e F^- , além de apresentar variações durante sua fase de maturação e envelhecimento (KAWACHI, *et al.*, 2000). Como tal, os tecidos mineralizados do corpo humano, como ossos e dentes, são responsáveis por fornecer estabilidade estrutural ao corpo, oferecendo sustentação aos tecidos moles, proteger órgãos vitais e servem como depósito regulador de íons (VALLET-REGI, 1997). Dessa forma, não só a hidroxiapatita, mas também outros fosfatos de cálcio passaram a despertar interesse significativo como possíveis materiais biocerâmicos. (KAWACHI, *et al.*, 2000).

Devido as semelhanças químicas e estruturais com a “apatita biológica”, formadora de ossos e dentes, Fosfatos de Cálcio, como a HAp, tem sido sintetizados em laboratórios. Na forma estequiométrica, a HAp apresenta estabilidade elevada em solução aquosa dentro de uma faixa de pH de 4,2-8,0 quando comparada com outras cerâmicas a base de fosfato de cálcio (BEST *et al.*, 2008). Possuem boa cristalinidade e cristais grandes quando produzidas em altas temperaturas. Já sua síntese em baixas temperaturas acarreta baixa cristalinidade e cristais menores, características similares às do tecido ósseo e dentário, tornando-as mais interessantes para aplicações biológicas (MAVROPOULOS, 1999).

Além disso, tais cerâmicas possuem biocompatibilidade e bioatividade, ou seja, se integram aos tecidos vivos através de um processo fisiológico de remodelação óssea, processo esse denominado osseointegração. Por este motivo, nos últimos anos há um visível aumento do interesse nesses materiais visando seu emprego como substituto ósseo na medicina regenerativa. Dentre estes biomateriais temos: cerâmicas, vitrocerâmicas, biovidros, cimentos ósseos e compósitos à base de fosfatos de cálcio,

fundamentalmente baseados em hidroxiapatita. Além disso, este mesmo material pode ser útil à indústria farmacêutica por ser utilizado para liberação controlada de fármacos (ZHOU e LEE, 2011).

2.3.2. β Fosfato Tricálcico

Existem diferentes tipos de fosfatos de cálcio, estes podem ser obtidos por diferentes métodos e técnicas de síntese. O mais conhecido e pesquisado atualmente, além da hidroxiapatita, é o *fosfato tricálcio (TCP)*, com uma razão Ca/P = 1,5 molar e fórmula química conforme a fórmula $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ (LASCART, *et al.*, 1998).

O fosfato tricálcio existe sob duas formas polimórficas, sendo que submetidos a tratamentos térmicos a baixas temperaturas (800°C a 1180°C) encontra-se na forma cristalográfica e alotrópica β -TCP, com densidade de 3,07g/cm³, o qual devido a sua alta taxa de absorção em meios biológicos, é mais utilizado na fabricação de substitutos ósseos por promover a neoformação e reconstituição dos tecidos ósseos. Em temperaturas acima de 1180°C ocorre a fase α -TCP, com densidade de 2,87g/cm³, que em 1430°C se transforma na terceira fase denominada super α ou α' (α' -TCP) (BIGNON, 2002).

Os fosfatos de cálcio podem ser encontrados na forma de pó, de gel e de grânulos microporosos, forma que favorece a molhabilidade do material e consequentemente a proliferação das células osteogênitoras nas interfaces e para o interior dos grânulos, através da microporosidade, assim contribuindo com o processo de osseointegração, de osseointegração e da formação do novo tecido ósseo (GUTIERREZ *et al.*, 2008).

O β -TCP, que pode ser obtido através da sinterização de hidroxiapatita cálcio-deficiente, é considerado uma fase reabsorvível permitindo a sua substituição gradual pelo tecido neoformado. Acredita-se que sua sinterização deva ser feita em temperaturas até 1120°C para obtenção da máxima resistência mecânica e caso não seja desejável o surgimento da fase α -TCP, à 1125°C (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

Cristalograficamente, a HAp possui maior similaridade ao osso quando comparado ao β -TCP. Porém, o β -TCP possui maior grau de reabsorção, pois enquanto a HAp permanece no sítio cirúrgico cerca de 3 a 4 anos após sua implantação, o β -TCP

desaparecerá em sua maior parte, dentro de 6 a 15 semanas. Todos esses valores variam de acordo com a estequiometria e cristalinidade da fase. No entanto, apenas a HAp e o dicálcio fosfato dihidratado (DCPD) são estáveis em condições fisiológicas de pH, pressão de oxigênio e temperatura. Nesse contexto o TCP é considerado uma fase transiente e um dos precursores da apatita biológica em meio fisiológico durante o ciclo de biomineralização (DELFINO *et al.*, 2010). O β -TCP apresenta boas características de dissolução quando aplicados em meios biológicos ou simulados, caso já observado por diferentes autores que constataram uma taxa de dissolução do TCP- β de 3-12 vezes mais rápida que a da hidroxiapatita estequiométrica (LIN *et al.*, 2001).

De forma geral, os fosfatos tricálcios apresentam baixas resistência mecânica, no máximo podendo chegar ao valor do osso trabecular, limitando sua aplicação em locais sujeitos a grandes solicitações mecânicas. Entretanto há a possibilidade de melhorar essas propriedades mecânicas através do desenvolvimento de composições bifásicas durante os processos de síntese dos biomateriais.

2.4. FOSFATOS DE CÁLCIO BIFÁSICO (BCP)

As composições de biocerâmicas bifásicas são formadas pela mistura de duas composições físicas de estruturas cristalinas ou amorfas diferentes, que formam um biomaterial compósito ou híbrido. O interesse na elaboração de composições bifásica se encontra na obtenção de composições com características diferenciadas dos biomateriais monofásicos convencionais procurando melhorar as suas características além de adaptá-los aos diferentes tipos de aplicações biomédicas. (NICOLAZO *et al.*, 2003, SUNARSO *et al.*, 2013, MITRI *et al.*, 2012).

As composições bifásicas formadas por diferentes fases de fosfatos de cálcio (BCP), como HAp/ β -TCP, apresentam diferentes características de microestrutura/nanoestrutura e condições de dissolução e absorção, com relação aos fosfatos de cálcio monofásicos. Quimicamente, HAp/ β -TCP é um sal de fosfato de cálcio bifásico com organização cristalina bastante complexa. Um estudo realizado por LeGeros *et al.*, em 2003, constatou que a formação desse sal bifásico ocorre após sinterização acima de 700° C de apatita sintética obtida por métodos de precipitação (LEGEROS *et al.*, 2003).

Tem sido realizados estudos *in vitro* e *in vivo* de composições bifásicas de HAp/ β -TCP na forma de granulados microporosos, os quais têm mostrado uma melhora na taxa de dissolução e de formação de tecido ósseo cortical, se comparado com os resultados obtidos somente com o material em fase única, de hidroxiapatita e de β -TCP ou α -TCP (BEHNAMGHADER *et al.*, 2008). Uma das vantagens do uso desses materiais bifásicos é o controle da absorção do material através do controle da razão de HA e β -TCP. Além disso, devido ao potencial hidrofílico e da microporosidade destas composições, elas podem ser embebidas com plaquetas e/ou colágeno, assim servindo como elemento matricial em aplicações de reconstituição de tecidos ósseos perdidos.

Geralmente, essa composição bifásica é usada na proporção de dois terços de HAp para um terço de β -TCP, com porosidade aberta entre 40% e 60%, condição que alguns autores consideram favoráveis aos processos de osseointegração, osseoindução e de absorção do biomaterial pelos tecidos adjacentes (LEGEROS, 1991).

Para o reparo de defeitos ósseos, a engenharia de tecidos busca a ativação de células osteogênicas por um material apropriado, estimulando a regeneração óssea. Células tronco mesenquimais humanas quando combinadas com fosfato de cálcio bifásico na proporção de 60% de hidroxiapatita e 40 % de β -TCP tem mostrado induzir a formação de osso em grandes defeitos de ossos longos. Entretanto a baixa remodelagem desse material levou Arinzeh *et al.*, 2003 a alterar essa relação de composição para 20% de HAp e 80% de TCP. Esse estudo demonstrou que essa nova relação estimula a diferenciação osteogênica das células tronco como determinado pela expressão do osteocálcio. (ARINZEH *et al.*, 2003)

Em uma breve revisão de literatura observou-se que o uso de HAp/ β -TCP em diferentes proporções já é uma tendência entre os pesquisadores da área, além de já existirem diversos produtos sendo comercializados com diferentes proporções de fases com o intuito de abranger cada vez mais as diversas aplicações biomédicas. Pode-se observar isso na tabela 4.

TABELA 4: Biomateriais comercializados com diferentes proporções de HAp/ β -TCP

Proporção HAp/ β TCP	Produto comercializado
60/40	MBCP® (Biomatrance, França)
20/80	MBCP2000® (Biomatrance, França)
20/80	Tribone 80® (Strycker Europa)
55/45	Eurocer 400® (FH Orthopedics França)
65/35	Eurocer 200® (FH Orthopedic França)
20/80	Osteosynt® (Einco Ltd, Brasil)
60/40	Osteosynt® (Einco Ltd, Brasil)
80/20	Osteosynt® (Einco Ltd, Brasil)
60/40	Triosite® (Zimmer, IN, EUA)
60/40	4Bone ® (MIS Israel)
60/40	SBS® (Expanscience França)
60/40	Kainos +® (Signus Alemanha)
60/40	OptiMX® (Exactech EUA)
65/35	BCP® (Medtronic)

Adaptada de BASU *et al.*, 2009.

2.5. NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO

Pós (ou partículas) nanométricas de fosfato de cálcio mimetiza as características estruturais da apatita óssea e possuem alto potencial bioativo. Isso ocorre devido a maior área superficial das partículas e consequentemente maior energia superficial, o que fomenta a adsorção de compostos orgânicos, bem como adesão, proliferação e diferenciação de células osteoblásticas, promovendo a formação de osso novo em menor tempo. Além disso, a partir dos pós nanométricos é possível a fabricação de produtos cerâmicos com propriedades mecânicas a nível ou, até mesmo, mais adequadas àquelas dos produtos convencionais, sem a utilização de altas temperaturas de processamento. Dessa forma o desenvolvimento de tecnologia para a síntese de nanocerâmicas é vista como uma alternativa promissora dentro da Engenharia Tecidual (ZHOU e LEE, 2011).

Quando falamos de fabricação de biocerâmicas é fundamental o entendimento sobre todas as etapas, isso porque envolve, essencialmente, dois

momentos: a síntese dos pós e o seu processamento. Cada etapa tem potencial para produzir falhas microestruturais indesejáveis, modificando suas propriedades e limitando sua confiabilidade. Por isso, atualmente, podemos notar o aumento do número de pesquisas voltadas à síntese de pós. Há uma grande gama de métodos disponíveis para a síntese de pós cerâmicos, entre eles encontramos técnicas mecânicas, baseadas na moagem e trituração de um material grosseiro para redução do tamanho; e métodos químicos, os quais envolvem reações químicas sob condições cuidadosamente controladas. Tais métodos tem sido cada vez mais utilizados devido a atenção atualmente dada à qualidade do pó. Todo esse cuidado se deve ao fato de que na produção de biocerâmicas o efeito de pequenas variações durante o processo de síntese acarreta em diferentes composições químicas e influencia na pureza do pó. O que pode ocorrer nos laboratórios é um controle insuficiente dessas condições, variações que por vezes passam sem registro ou sem serem detectadas, as quais terão efeitos significativos na microestrutura e propriedades do material (RAHAMAN e DEKKER, 1995).

Como dito anteriormente, observa-se a tendência no sentido de desenvolver métodos para preparação de pós muito finos, na ordem de nanômetros. Porém, quando o tamanho da partícula do pó se torna inferior a $1\mu\text{m}$, estas apresentam uma maior tendência a interagir e se aglomerar, o que determinará um empacotamento não homogêneo do corpo consolidado. Sendo assim, o uso de pós finos necessita de um controle adequado dos processos de síntese e manipulação, a fim de minimizar os efeitos deletérios que surgem na presença de aglomerados (RAHAMAN e DEKKER, 1995). Um dos problemas causados pelos aglomerados ocorre nos resultados do DRX que nos fornece dados que permitem o cálculo do tamanho da partícula do pó. Além disso, há uma variedade de termos encontrados como forma de descrever os pós, são eles (RAHAMAN e DEKKER, 1995, ONODA e HENCH, 1978):

- Partícula Primária: unidade discreta e de baixa porosidade, sendo seus poros isolados uns dos outros, podem ser um único cristal, uma partícula policristalina, ou um vidro. Esta estrutura não pode ser dividida em unidades menores sob agitação ultrassônica quando em solução, sendo assim, a menor unidade do pó, com superfície definida. No caso de partículas policristalina, os cristais têm sido referidos como *cristalitos* ou *grãos*.
- Aglomerados: agrupamento de partículas primárias que, devido às forças superficiais, são mantidas juntas. Normalmente porosos, possuem seus poros interligados e podem ser encontrados em dois tipos: macios e duros. Os aglomerados macios são mantidos unidos por fracas forças superficiais podendo ser divididos em partículas primárias pela

agitação ultrassônica quando em solução líquida. Já o aglomerado duro, consiste de partículas primárias que são ligadas quimicamente e, portanto não originam partículas primárias sob irradiação ultrassônica.

- Partículas: utiliza-se esse termo quando não é feita nenhuma distinção entre partículas primárias e aglomerados. As partículas podem ser consideradas como pequenas unidades que se movem como entidades separadas quando o pó é disperso por meio de agitação e pode consistir de partículas primárias, aglomerados, ou uma combinação dos dois. A maioria das técnicas de análise de tamanho de partícula se refere a estas partículas.

2.6. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO PELO MÉTODO SONOQUÍMICO

Dentre os diversos métodos utilizados na síntese de fosfatos de cálcio para aplicação em Bioengenharia temos: precipitação química por via úmida, sonoquímica, sol-gel, co-precipitação, hidrotérmica, mecanoquímica, indução de plasma por radiofrequência, processamento por microondas e reação em fase sólida.

O método sonoquímico consiste da utilização de radiação ultrassônica através de um sonificador para ativação de reações químicas, e até o momento tem sido reportado como um método eficaz para formação de nanomateriais. O mecanismo físico por trás desse método é a cavitação acústica em fase líquida, onde há a formação, crescimento e colapso de microbolhas. A teoria é que no momento do colapso dessas bolhas são obtidas altas temperaturas, em menos de 1 nanosegundo que logo vem acompanhado de um rápido resfriamento. Essa alta taxa de resfriamento não permite reorganização atômica do material. Dessa forma, os materiais formados quase sempre são nanopartículas de baixa cristalinidade (GEDANKEN, 2004). No primeiro quadro da figura 1 pode-se observar a adsorção de íons reativos na superfície da bolha acústica, que ao atingir um tamanho crítico, implode levando a colisão dos íons sobre alta temperatura e pressão no “hot spot”. O resultado pode ser visto no terceiro quadro com a formação de partículas do material disseminadas através de micro-jatos provenientes do colapso da bolha.

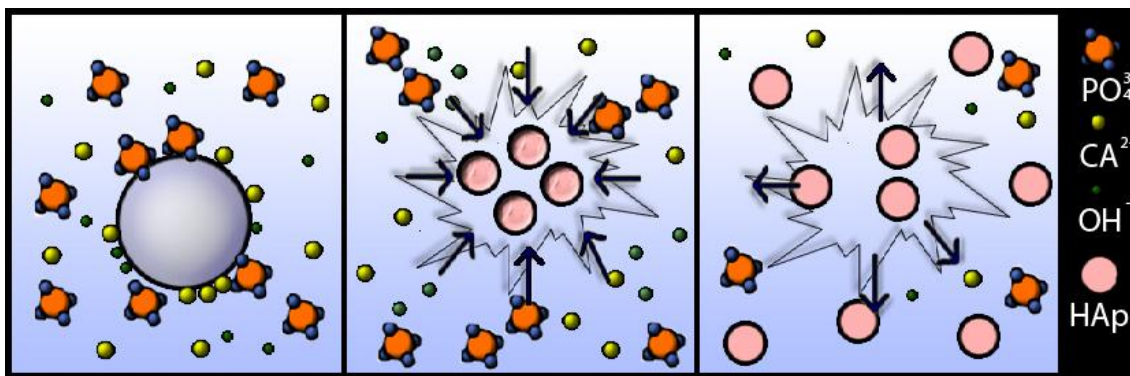


FIGURA 1: Mecanismo físico de cavitação acústica, relacionado à sonoquímica. Adaptado de SADAT-SHOJAI *et al.*, 2013.

As nanopartículas formadas nesse processo são menores quando comparadas àquelas produzidas por outros métodos e possuem maior uniformidade e grau de pureza, além de uma aglomeração mínima (BARANDEHFARD *et al.*, 2012, XU *et al.*, 2013, GEDANKEN, 2004, GOUVEIA, 2008, BARBOSA *et al.*, 2013, ZHANG *et al.*, 2009). Em outro estudo sobre os efeitos do sonificador sobre a síntese de fosfatos de cálcio foi concluído que uma fase única de HAp pode ser sintetizada após 60 minutos sob radiação ultrassônica (KIM e SAITO, 2001). Já em outra pesquisa realizada em 2010, o autor optou por realizar a técnica por apenas 15 min (28-34 kHz, 100W) a 37°C o que resultou em partículas esféricas de HAp pura, menores que aquelas sintetizadas sem a utilização do ultrassom (ROUHANI *et al.*, 2010). De acordo com um estudo realizado em 2012, com o aumento do tempo em que a solução está sob o efeito da radiação ultrassônica, a cristalinidade e o tamanho das partículas decrescem (GOPI, 2012).

O método sonoquímico possui potencial para síntese das partículas primárias nanométricas, como, por exemplo, esferas de 10nm a 1000nm, tubos e filamentos de 10nm a 150 μm (SADAT-SHOJAI *et al.*, 2013). Em geral, quando se trata da utilização de biomateriais ainda na forma de pó, o formato esférico é preferível quando comparado a formatos irregulares devido a melhoria nas propriedades reológicas, como, por exemplo, melhor adaptação ao sítio cirúrgico devido sua fluidez (WANG *et al.*, 2006) ou mesmo sua utilização para a produção de peças biocerâmicas com forma definida e revestimentos, permitindo melhores resultados (LIU, 1998). Isso talvez se deva ao fato do melhor empacotamento das partículas esféricas quando prensadas e da previsibilidade de seu comportamento, com relação a partículas de formato irregular.

Outro aspecto relacionado aos parâmetros do ultrassom, se refere à potência utilizada para a síntese de HAp. Alguns autores defendem a ideia de que potências menores que 300W não permitiriam a formação da fase única de HAp. Além disso, o autor também afirma que partículas esféricas podem ser obtidas com altas temperaturas de síntese 80°C, potência ultrassônica de 300W e alta razão Ca/P (2.0 a 2.5). O tamanho do cristalito de nanopartículas de HAp diminui com a diminuição de Ca^{2+} , aumento da temperatura de síntese e potência ultrassônica (LI-YUN *et al.*, 2006).

2.7.PROCESSAMENTO DE BIOCERÂMICAS DE FOSFATO DE CÁLCIO

O processamento das biocerâmicas, essencialmente, envolvem 2 etapas: a conformação do pó e a sinterização. A conformação está relacionada à compactação do pó cerâmico, que pode ser uniaxial ou isostático, a quente ou a frio, com o intuito de se obter uma geometria específica para a aplicação. Quando o pó cerâmico é conformado a frio, se faz necessário uma etapa de sinterização que consiste em tratamentos térmicos controlados a fim de se obter consolidação e densificação das partículas do compactado, que acarretarão em mudanças no tamanho e na forma das partículas e reações que promovem mudanças na composição química. Será observada a coalescência das partículas e a formação de pescoços, com o aumento da temperatura poderá ser visto a diminuição da porosidade entre as partículas e a formação de contornos de grãos. A microestrutura formada estará diretamente relacionada com o comportamento mecânico e biológico do material obtido (CHAMPION, 2013). Entender o comportamento das cerâmicas a base de fosfato de cálcio frente à sinterização permite o desenvolvimento de materiais com tamanho de grão, microestrutura e propriedades mecânicas controladas.

2.7.1. Biocerâmicas Porosas

Dentre as diversas aplicações das biocerâmicas, atualmente, nota-se o crescente interesse nos assuntos relacionados a implantes biocerâmicos porosos. Isso ocorre, pois esses implantes são projetados para serem biodegradáveis, atuando como um arcabouço ou mesmo uma matriz extracelular que irá garantir o espaço para a adesão e proliferação celular até a neoformação do tecido ósseo e concomitante reabsorção do material implantado (RATNER *et al.*, 2013). Para serem utilizados como tal, os materiais devem apresentar rugosidade superficial que facilite a adesão celular,

alta porosidade e tamanho de poros adequados para a migração celular e vascularização, resistência mecânica e biodegradabilidade controlada para que haja sua substituição pelo osso neoformado (DOROZHKIN (2010). O ideal é que o material apresente alta porosidade com diferentes tamanhos de poros, desde nanoporos (100nm), microporos (1 a 20µm) a macroporos (>100µm) e interconectividade, permitindo a adesão e proliferação de diversas proteínas e células e sua migração para o interior do material, a fim de preenchê-lo com o novo tecido (ZHU *et al.*, 2010, LI *et al.*, 2008).

Para que o material apresente essa estrutura porosa adequada, se faz necessário a utilização de agentes formadores de poros com granulometria conhecida, bem como, comportamento térmico à altas temperaturas. Esses agentes são misturados e conformados junto ao pó da biocerâmica e removidos com tratamento térmico. Nesse contexto serão apresentados 2 materiais, comumente utilizados como formadores de poros, a cera de polietileno e o bicarbonato de amônio.

- Cera: Licowax

Em uma pesquisa realizada em 2013, sobre caracterização de HAp biocerâmicas, densas e porosas, teve como parte de seus resultados a formação de grânulos de HAp com superfície lisa e regular para aquelas amostras confeccionadas sem o formador de poros, enquanto, as amostras confeccionadas com o formador de poros da Clariant – Licowax, permitiu a formação de grânulos de HAp com poros de tamanho médio de 355µm, compatível com o tamanho de partícula do formador de poros, além de apresentar superfície irregular. Somado a isso, este agente não alterou a estrutura cristalina da HAp. Por fim foram realizados testes *in vivo* onde foi possível observar a infiltração celular pelos poros do material, sugerindo que este funcionou como arcabouço para reconstrução tecidual (LUIZ, 2013).

- Bicarbonato de Amônio

Em uma pesquisa realizada pela equipe de trabalho do Laboratório de Pós do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) na área de metalurgia do pó, resultou na presença de poros de diferentes formatos e tamanhos em amostras de Titânio, devido à eliminação do bicarbonato de amônio usado como formador de poros. Os poros apresentaram morfologia aberta e interconectada o que possibilita o crescimento do tecido ósseo para o interior dos poros. Observou-se também que o formato dos poros

não manteve uma relação direta com o tamanho e geometria do material formador de poros que possui granulometria entre 355 e 425 μ m (ROCHA, 2010).

2.8. PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS (DOE)

O planejamento de experimentos (*DOE – Design of Experiments*) é a ferramenta ideal para se identificar, concomitantemente, a influência de variáveis em um determinado processo, ou seja, em um mesmo momento diversos parâmetros variam entre dois níveis (ou mais) e no final é possível obter a significância de cada parâmetro no processo.

Em 2012, Oliveira *et al*, utilizaram o planejamento de experimentos fatorial completo a partir do programa Minitab 15[®] para a análise de 4 variáveis em 2 níveis diferentes sobre a microdureza vickers e retração linear de pastilhas de β -TCP. As variáveis estudadas foram a pressão de compactação utilizada (28 ou 111 MPa), a calcinação do pó (se houve ou não), a temperatura de sinterização (900 ou 1150°C) e o tempo de sinterização (2 ou 4h). Como resultado do planejamento os autores encontraram com nível de confiança de 95% que para a microdureza as variáveis com significância são, em ordem decrescente, a temperatura de sinterização, a pressão e o efeito associado dessas duas, sendo que seus maiores níveis promoveram maiores resultados de microdureza. Para a retração linear os resultados encontrados possuem um sentido semelhante: a temperatura e o tempo de sinterização foram os efeitos principais que apresentaram significância e ambos, quando em seus maiores níveis (1150°C e 4 h, respectivamente), apresentavam maior retração do material, de até 20% (OLIVEIRA *et al.*, 2012).

3. OBJETIVO

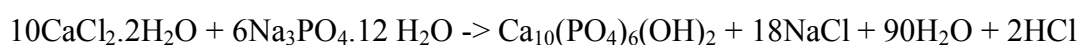
Essa pesquisa objetiva o desenvolvimento de metodologias para obtenção de biocerâmicas bifásicas nanoestruturadas a base de nanopartículas de fosfato de cálcio, sintetizadas a partir da técnica de precipitação por via úmida com emprego de radiação ultrassônica e processamento das nanopartículas para a produção de peças densas e porosas, para a aplicação em preenchimento de cavidades ósseas. Os objetivos específicos estão explicitados abaixo:

- Utilização do método sonoquímico para a produção de nanopartículas de fosfato de cálcio (HAp);
- Processamento das nanopartículas em peças densas e porosas;
- uso do planejamento de experimentos para estudo exploratório e inicial dos parâmetros de processamento;
- avaliação das propriedades mecânicas dos materiais produzidos e comparação com outros produtos em estudo ou já comercializados;
- comparação dos resultados das caracterizações com a literatura.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO

O pó de fosfato de cálcio foi sintetizado pelo método sonoquímico de acordo com pesquisa realizada anteriormente (LUNZ *et al.*, 2015). A síntese do pó foi realizada no LATEP/INT com o preparo de cada uma das soluções precursoras: cloreto de cálcio dihidratado ($10\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e fosfato de sódio dodecahidratado ($6\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$). A reação ocorreu de acordo com a reação descrita abaixo:



Para obtenção de uma solução de 150 mmol/L de Cloreto de Cálcio Dihidratado, pesou-se 22,053g de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, quantidade que foi diluída em pequena quantidade de água e posteriormente transferida para um balão volumétrico onde foi adicionado água destilada até alcançar 1L de solução. Para a obtenção de uma solução de 100 mmol/L de Fosfato de Sódio dodecahidratado, o mesmo foi feito, porém pesou-se 38,012g de $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$.

Após essa fase foi obtido 1L de cada solução que foram misturadas sob efeito de radiação ultrassônica, seguindo a razão 1:1. O procedimento de mistura foi dividido em 4 partes, sendo que em cada uma a mistura foi feita a partir de 250mL de cada solução da seguinte forma: em um Becker de no mínimo 600mL foi despejada a solução de cloreto de cálcio e conduzida à sonda ultrassônica Hielscher/UP400S de 400W, sobre essa solução adicionou-se, gota a gota, 250mL da solução de Fosfato de Sódio com o auxílio de uma bomba peristáltica Major Science/ MUD02 com taxa de 22 gotas/15 segundos.

Enquanto o precursor de fosfato era gotejado sobre o precursor de cálcio, uma nova solução foi formada, sendo possível visualizar a precipitação de um pó fino e branco no fundo do becker. Essa solução ficou sob o efeito de radiações ultrassônicas (potência de 60% do equipamento) emitidas em 6 ciclos de 10 minutos cada, com pausas de 5 minutos para resfriamento da solução nas quais era aferido a temperatura e o pH da solução assim que . O gotejamento foi encerrado ainda no quinto ciclo, sendo o sexto ciclo responsável apenas pela homogeneização final da mistura dos reagentes. Porém, observou-se a formação de um gel em torno do 3º ciclo de gotejamento, que só

foi diluído e voltou a forma de solução líquida no 6º ciclo, devido o efeito das ondas ultrassônicas, sem a interferência do gotejamento. Mais a frente, será discutida como a formação desse gel pode ter afetado a razão Ca/P do pó formado, bem como sua cristalinidade. Por fim, a temperatura da solução não ultrapassou o valor de 50°C enquanto o pH ficou em torno de 7,0.

A solução formada foi deixada em repouso durante 24 horas para precipitação das partículas em suspensão. Após esse tempo, o sobrenadante foi retirado e adicionada água destilada para iniciar o processo de lavagem e remoção dos subprodutos. Para realização desse procedimento a água foi trocada 3 vezes, sendo que a cada troca a solução era levada à centrífuga Hettich/Rotina 420R para rápida decantação das partículas, permitindo a remoção da água contaminada por subprodutos como HCl e NaCl e adição de nova água.

Após o processo de lavagem, toda a água possível foi removida e o produto obtido possuía a consistência pastosa e coloração branco-azulado. O produto seguiu protegido por filme de PVC para o congelamento por cerca de 24 horas, e de lá para o liofilizador Terroni/LS3000 onde permaneceu por aproximadamente 7 dias até completa secagem. O pó formado foi macerado com o objetivo de quebrar os aglomerados. Após a pesagem certificou-se que todo o procedimento de síntese permitiu a formação de aproximadamente 30 gramas de pó. O resumo da síntese pode ser acompanhado no fluxograma da figura 2.

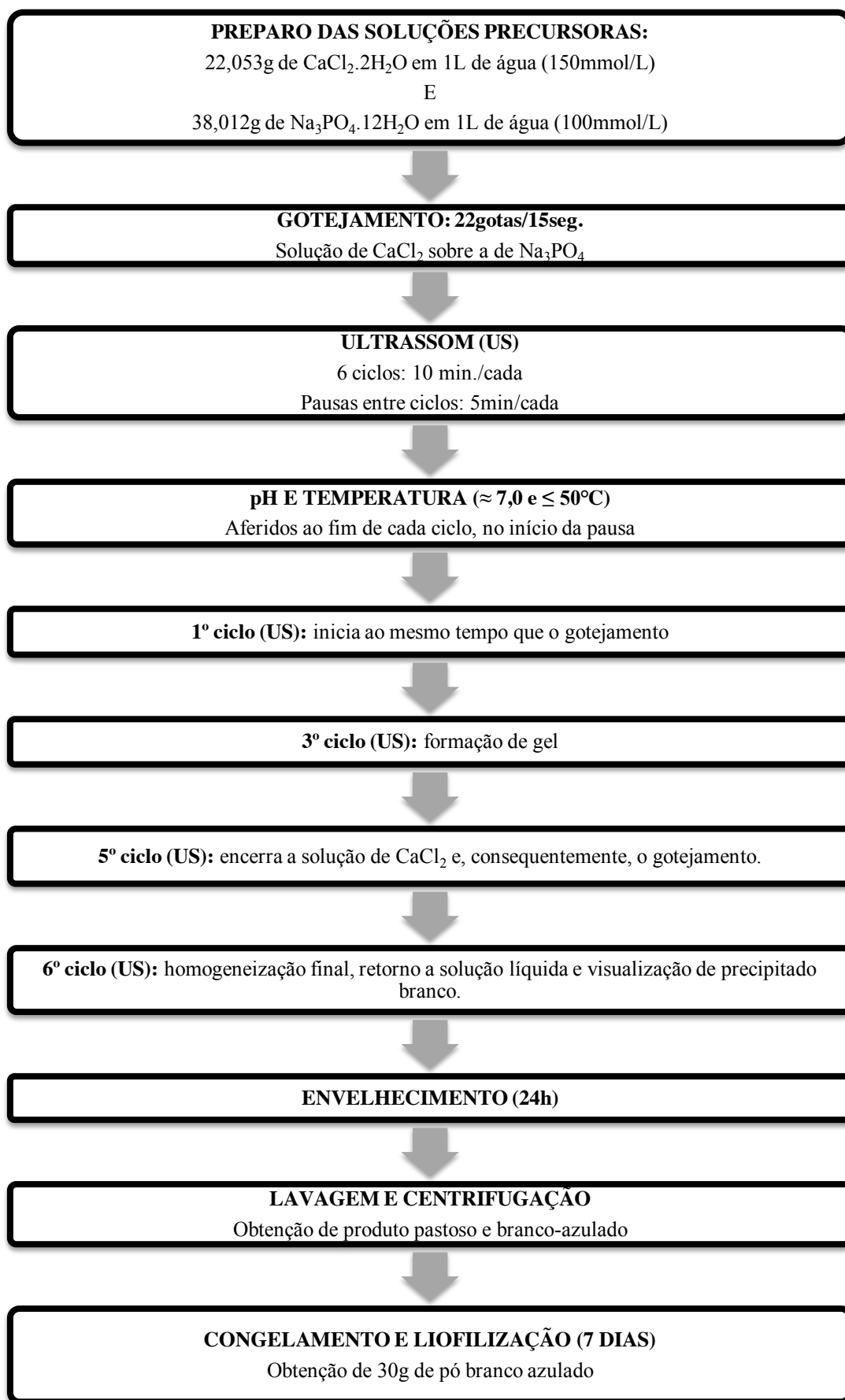


FIGURA 2: Fluxograma das etapas de síntese do pó.

4.2. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS DENSAS

Foi realizado um estudo do processamento do pó de nanopartículas de HAP objetivando a densificação das peças produzidas. Para isso, foram elaborados 2 Planejamentos de Experimentos, um Fatorial Fracionado (2^{4-1}), denominado PE-I, de caráter exploratório e um Fatorial Completo (2^2) com Pontos Centrais, denominado PE-II, baseado nas informações retiradas planejamento fracionado inicial, em continuidade ao estudo do processamentos das peças densas. Ambos tiveram seus parâmetros estudados variando em 2 níveis, um alto (+1) e outro baixo (-1) e são representados pelo número “2”. Os expoentes de cada planejamento mostram o número de fatores (parâmetros) que irão ser estudados. O PE-II possui 2 parâmetros para análise, resultando em 4 (2^2) amostras mais os 2 pontos centrais. O PE-I foi confeccionado para análise de 4 parâmetros, resultando em 16 (2^4) amostras caso fosse um planejamento completo, porém, em caráter fracionário foi possível a eliminação de 8 amostras sem que houvesse interferência no resultado, dessa forma, o PE-I (2^{4-1}) resultou em 8 amostras.

No PE-I a variáveis estudadas foram: pressão de compactação (200 e 400 MPa), taxa de aquecimento do forno durante o processo de sinterização (2 e 20 °C/min), temperatura máxima de sinterização (900 e 1100°C) e o tempo em que a peça ficou sob tal temperatura (2 e 4h). A tabela 5 mostra o PE-I, fatorial fracionado (2^{4-1}), planejado para estudo exploratório do processamento de peças densas.

TABELA 5: Planejamento de Experimentos I - Peças Densas

Peça	Compactação		Sinterização	
	Pressão (MPa)	Taxa (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
D1	200	2	900	2
D2	400	2	900	4
D3	200	20	900	4
D4	400	20	900	2
D5	200	2	1100	4
D6	400	2	1100	2
D7	200	20	1100	2
D8	400	20	1100	4

Após a obtenção e análise dos resultados do PE-I, observou-se a necessidade da continuidade do estudo, porém, modificando os valores dos níveis de algumas variáveis ou mesmo fixando-as. Na tabela 6 é possível verificar que as variáveis estudadas foram apenas 2: pressão de compactação (100 e 200 MPa) e temperatura de sinterização (100 e 1100 °C). A taxa de aquecimento foi mantida em 5°C/min. enquanto o tempo em 2 horas. A tabela 6 mostra o PE-II, fatorial completo (2²) com pontos centrais planejado para continuação do estudo do processamento de peças densas.

TABELA 6: Planejamento de Experimentos II - Peças Densas

Peça	Compactação	Sinterização		
	Pressão (MPa)	Taxa (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
D9	100	5	1000	2
D10	200		1100	
D11	100		1000	
D12	200		1100	
DPCI	150	5	1050	2
DPCII				

Em ambos os planejamentos, todas as peças foram compactadas uniaxialmente a frio em matrizes cilíndricas de aço-ferramenta, com 6,17 mm de diâmetro, com pré-carga de 17 MPa (500 N), em uma máquina universal de ensaios Emic (DL 3000) com célula de carga de 20 kN do LAMAP/INT. Para cada amostra utilizou-se cerca de 0,4g do pó de fosfato de cálcio sintetizado, o que permitiu a formação de corpos verdes de 6,5 a 9,5 mm de altura, variando de acordo com a pressão de compactação utilizada.

Para a etapa de sinterização das peças foi utilizado o forno JUNG - Modelo 0212, seguindo os parâmetros estipulados para cada amostra no PE-I e PE-II (Tabela 5 e 6).

4.3. PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS POROSAS

Para o processamento das peças porosas foi elaborado um Planejamento de Experimentos Fatorial Completo, PE-III (2^3), objetivando um estudo dos agentes formadores de poros selecionados, bem como de seus parâmetros quantitativos e qualitativos para avaliar a sua influência na porosidade do material produzido. Esse planejamento possui 3 variáveis com 2 níveis cada. São elas:

- Tipo de formador de poros: Bicarbonato de Amônio (BA) ou Cera de Polietileno da Licowax – Clariant (CL).

- Granulometria do formador de poros: o tamanho das partículas dos agentes se encontravam em duas faixas, uma de 106-125µm outra de 250-300µm.

- Fração Volumétrica: A quantidade de agente porogênico em relação a quantidade do pó de fosfato de cálcio, 20:80 e 40:60, respectivamente.

Nesse estudo as condições de compactação e sinterização não sofreram variações. A tabela 7 mostra o PE-III, fatorial completo (2^3) planejado para estudo do processamento de peças porosas

TABELA 7: Planejamento de Experimentos III - Peças Porosas

		Agente Porogênico		Compactação		Sinterização	
		Fração		Pressão (MPa)	Taxa (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo (h)
Peça	Tipo	Tamanho (µm)	Volumétrica (%)				
P1	BA	106-125	20	100	2	1000	2
P2	CL	106-125	20				
P3	BA	250-300	20				
P4	CL	250-300	20				
P5	BA	106-125	40				
P6	CL	106-125	40				
P7	BA	250-300	40				
P8	CL	250-300	40				

Todas as peças foram compactadas uniaxialmente a frio em matrizes cilíndricas de aço-ferramenta, com 6,17 mm de diâmetro, com pré-carga de 17 MPa

(500 N) em uma máquina universal de ensaios Emic (DL 3000) com célula de carga de 20 kN do LAMAP/INT. Para cada amostra utilizou-se cerca de 0,4g da mistura pó de fosfato de cálcio misturado ao agente formador de poros, seguindo a proporção estipulada no planejamento (Tabela 7), o que permitiu a formação de corpos verdes de 9,2 a 11,1 mm de altura, variando de acordo com a proporção de agente utilizado.

O forno utilizado para remoção do agente formador de poros e sinterização das peças foi o JUNG - Modelo 0212. Para a remoção de cada agente (BA ou CL), foram utilizados diferentes parâmetros. As peças com BA foram levadas ao forno em temperatura ambiente, com taxa de aquecimento de 0,5 °C/min. até o patamar de 170°C, onde permaneceram por 2 horas. Já as peças com CL, foram também levadas ao forno em temperatura ambiente e com taxa de aquecimento de 0,5°C/min. e ficaram 4 horas no patamar de 550°C. Após a remoção do agente formador de poros, todas as peças permaneceram no forno para a etapa de sinterização, de acordo com os parâmetros estipulados no PE-III (Tabela7).

4.4. CARACTERIZAÇÃO DE NANOPARTÍCULAS, FORMADORES DE POROS E BIO CERÂMICAS

Para caracterização química do pó e/ou das peças biocerâmicas densas e porosas foram realizadas as análises de Difração de Raios-X (DRX) e Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR). Para essas análises foram escolhidas peças específicas e representativas de cada PE. Assim, as amostras selecionadas para o DRX foram também selecionadas para o FTIR com o intuito de comparar os resultados. São elas: D1, D8, D10 e P7. O critério de seleção foi baseado nas condições de sinterização do material. Dessa forma as amostras D1 e D8, representando o PE-I, foram selecionadas por serem processadas nas condições extremas do planejamento, ou seja, D1 com menores valores (-1) de Taxa, Temperatura e Tempo, enquanto a D8 possuía os maiores valores (+1). Para o PE-II foi selecionada apenas uma amostra: D10. É importante observar que se tratando apenas de condições de sinterização, as amostras D9 e D10 são semelhantes, bem como a D11 e D12, diferentes do PE-I onde cada amostra possui parâmetros de sinterização próprios e individuais. A escolha da amostra D10 (PE-II) foi baseada principalmente no parâmetro

“Temperatura” por possuir um valor que ainda não havia sido explorado no PE-I. Para o PE-III a amostra foi escolhida aleatoriamente, visto que todas elas possuem as mesmas condições de sinterização e as demais variáveis não possuem influência sobre os resultados de DRX e FTIR.

Para avaliação das propriedades mecânicas das peças fabricadas, foram realizados, basicamente, dois tipos de ensaios: indentação (Dureza Vickers) e nanoindentação (nanodureza e módulo de elasticidade). A tabela 8 mostra as caracterizações e ensaios realizados e as respectivas técnicas e/ou métodos utilizados de acordo com o material obtido.

TABELA 8: Caracterizações e ensaios realizados e as respectivas técnicas e/ou métodos utilizados de acordo com o material obtido.

Caracterizações	Técnica /Método	Pó	Amostras Densas	Amostras Porosas	Agente Porogênico
Presença de fases	DRX	✓	✓	✓	
Presença de fases	FTIR	✓	✓	✓	
Análise elementar semiquantitativa	EDS (MEV/FEG)		✓		
Análise termoquímica	TGA/DTG	✓			✓
Relação de fases	RIR% - DRX		✓	✓	
Razão Ca/P	Espectrometria de Absorção Atômica e Espectrofotometria na Região de UV/Visível	✓			
Análise de Superfície específica	BET	✓			
Tamanho de Partícula	Análise de imagem - MEV/FEG	✓			
Tamanho de Grão	Análise de imagem - MEV/FEG		✓		
Tamanho de Cristalito	Equação de Scherrer – DRX	✓			
Densidade/Porosidade	Método Geométrico		✓	✓	
Retração Linear	Método Geométrico		✓	✓	
Morfologia	Análise qualitativa - MEV/FEG		✓	✓	
Dureza	Indentação - HV10		✓		
Nanodureza	Nanoindentação		✓		
Módulo de Elasticidade	Nanoindentação		✓		
Módulo de Elasticidade	Teórico		✓	✓	

4.4.1. Difração de Raios-X (DRX)

Objetivando a identificação das fases cristalinas, suas relações, bem como pureza e a cristalinidade, tanto no pó de HAp, quanto nas amostras densas (D1, D8 e D10) e porosas (P7), foi realizada a análise de DRX no equipamento Philips, X'Pert, do LACCO/INT, com radiação $\text{CuK}\alpha$ gerada a 40 kV e 40mA, na faixa de $20^\circ < 2\theta < 80^\circ$, com uma velocidade de varredura de 2 (s/passos), sendo o tamanho do passo de $0,05^\circ$.

Por DRX é possível, também, determinar o tamanho médio dos cristalitos de um material em pó. Dessa forma, o tamanho médio dos cristalitos ao longo de determinado pico (de maior intensidade) pode ser determinada pela equação 1 de Debye-Scherrer (SCHERRER, 1918).

$$t = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (1)$$

Onde:

t : tamanho do cristalito na direção escolhida;

K : constante de proporcionalidade, relacionada à forma do cristalito (0,9);

λ : comprimento de onda da radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($1,5418\text{\AA} = 0,1542\text{ nm}$)

β : largura do pico de reflexão máxima a meia altura (FMWH: Full Width at Half Maximum)

θ : ângulo de Bragg. Posição angular do feixe difratado.

A constante K é uma função da forma geométrica da partícula que varia, para medidas da largura de pico a meia altura, de 0,84 e 0,89, dependendo da geometria. Quando se trata de cristalitos esféricos ou não se tem uma definição da forma dessas estruturas, admite-se uma geometria esféricas com valor de 0,9 para K .

Esse método comumente é utilizado para determinar o tamanho de partículas entre 2 e 50nm. Partículas maiores que 50nm apresentam picos de difração muito estreitos, o que dificulta a avaliação, em contrapartida, partículas menores que 2nm se caracterizam por possuírem picos de difração muito achatados, dificultando seu reconhecimento como picos. Outra problemática ao trabalhar com esse método é encontrar com precisão o valor de β , por ele ser composto por 2 fatores: B_C e B_L . Onde B_C é o alargamento do pico devido ao tamanho dos cristais e B_L é o alargamento

instrumental (CULLITY, 1978). Dessa forma e admitindo que os picos de difração podem ser representados na forma de curvas de Gauss, para realizarmos a correção instrumental cabe a aplicação da relação expressão na equação 2.

$$\beta^2 = B_C^2 - B_I^2 \quad (2)$$

Para o cálculo do alargamento instrumental (B_I) faz-se uma calibração com materiais que possuam dimensões entre 100 e 1000nm, sendo geralmente utilizado o quartzo. Porém, considerando que o parâmetro B_I é muito menor que B_C , e para fins de cálculo se faz uma aproximação onde $\beta = B_C$. Esse cálculo foi realizado para a amostra do pó verde (tamanho de partículas) e também para as amostras D e P que foram analisadas.

Apenas para as amostras D e P, por apresentaram segunda fase após o tratamento térmico, a análise do DRX foi utilizada, também, para calcular de forma semiquantitativa a fração volumétrica das fases presentes, a partir dos valores referentes aos picos mais intensos de cada fase. A quantificação foi realizada utilizando a relação de intensidade relativa – RIR (*Relative Intensity Ratio*) da HAp e do β -TCP de acordo com as Equações 3 e 4, respectivamente:

$$RIR_{HAp} = \frac{I_{HAp}}{(I_{\beta TCP} + I_{HAp})} \quad (3)$$

$$RIR_{\beta TCP} = \frac{I_{\beta TCP}}{(I_{\beta TCP} + I_{HAp})} \quad (4)$$

Onde I_{HAp} e $I_{\beta TCP}$ correspondem às intensidades dos maiores picos de cada fase cristalina, encontrados em $2\Theta = 31,774^\circ$ para HAp, de acordo com o padrão JCPDS #009-0432 e $2\Theta = 31,027^\circ$ para o β TCP, de acordo com o padrão JCPDS #009-0169 (VICTORIA e GNANAM, 2002).

4.4.2. Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR foi realizado no pó de fosfato de cálcio e nas amostras densas (D1, D8 e D10) e porosas (P7), para determinação das fases cristalinas, dando suporte aos resultados obtidos pela técnica DRX e fornecendo informações sobre grupos funcionais presentes e substituintes. A caracterização foi feita no laboratório LABIOMAT do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF). O equipamento utilizado foi o IR Prestige (Shimadzu). O espectro de varredura utilizado foi na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com 4 cm^{-1} de resolução e um total de 128 varreduras. As análises foram realizadas por transmissão utilizando pastilhas de KBr, onde 0,2 mg do pó de fosfato de cálcio e das amostras processadas D e P foram dispersos em 100 mg de KBr e compactados a 80kN por três minutos. Para isso, as amostras foram maceradas em graal.

4.4.3. Razão Ca/P

Para a determinação da quantidade dos constituintes Cálcio (Ca) e Fósforo (P) nas amostras, foram realizadas 2 análises químicas, uma para a determinação do Ca, denominada Espectrometria de Absorção Atômica e a outra para determinação do P, denominada Espectrofotometria na Região de UV/Visível.

4.4.4. Análise Termogravimétrica e Termogravimetria Derivada (TGA/DTG)

Essa análise térmica consiste em medir-se as propriedades físicas de um determinado material, enquanto este é aquecido. A termogravimetria analisa a variação da massa da amostra em função da temperatura e/ou tempo sob atmosfera ambiente ou controlada, permitindo avaliar quantitativamente a estabilidade térmica da amostra e dos produtos advindos do procedimento. Dessa forma, obtêm-se informações sobre processos de decomposição, oxidação e redução dos componentes da amostra. A DTG é a derivada primeira da TGA, ou seja, um arranjo matemático onde a derivada da variação da massa em relação ao tempo (dm/dt) é registrada em função da temperatura ou tempo.

4.4.5. Área superficial específica (BET)

A área superficial de pós pode ser determinada pelo método de Braunauer, Emmet e Teller (BET), a partir de isotermas de adsorção (BRUNAUER, EMMETT E TELLER, 1938). Essa técnica permite calcular a área superficial total da amostra (m) através do gás adsorvido (V) em função da pressão relativa (P/P_0). A área superficial medida é, então, dividida pelo peso total da amostra testada (g), se obtendo, assim, a área superficial específica (m/g).

Para essa análise foi utilizado o equipamento Micromeritics ASAP 2020 do LATEP (INT). O gás utilizado foi o Nitrogênio em uma faixa de vácuo de 0 a 950 mmHg.

4.4.6. Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo e Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios-X (MEV/FEG-EDS)

Por possuir baixa solubilidade, as partículas de Hidroxiapatita, após sintetizadas, foram dispersas em água destilada com o auxílio de banho ultrassônico por 10 minutos. Após esse tempo, foram colhidas alíquotas da solução e gotejadas em stubs preparados com placas de silício e tinta de prata. Após secagem à temperatura ambiente, em dessecador, da amostra sobre o stub, o conjunto foi recoberto por Platina (Pt), durante 1min e 30 seg. à 20mA pelo processo denominado Sputtering (Sputter Coater Marca EMITECH, modelo SC7620). Todo esse procedimento é necessário para a obtenção de imagens adequadas e com boa qualidade. Por fim as amostras foram analisadas pelo Microscópio Eletrônico de Varredura com Emissão de Campo (MEV/FEG), próprio para análise de materiais nanométricos, com o intuito de avaliar a morfologia e o tamanho de partícula do pó e o tamanho de grão (D5, D6, D7, D8, D11 e D12) e a composição química. Essa última foi analisada a partir da Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios X (EDS) associado ao MEV/FEG, porém, essa análise é realizada antes do material ser recoberto para que não haja interferência dos picos de Pt sobre o resultado. Essa análise química foi realizada apenas nas amostras do PE-I (D1 a D8). O equipamento utilizado foi um microscópio eletrônico de varredura FEI, modelo Inspect S, do Centro de Caracterização em Nanotecnologia (CENANO) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT).

4.4.7. Densidade e Porosidade

Para o cálculo de parâmetros relacionado às dimensões das amostras e modificações sofridas após o tratamento térmico, utilizou-se o método geométrico objetivando a determinação da Densidade, da Porosidade e da Retração Linear. A partir de um paquímetro digital Marathon Management (Modelo CO030150) foram realizadas três medidas de cada dimensão da amostra. Por se tratarem de amostras cilíndricas, as dimensões aferidas foram altura e diâmetro, o que permitiu o cálculo do volume do material a partir da equação 5, onde V é o volume, D é o diâmetro e h a altura da amostra.

$$V_{cilindro} = \pi \left(\frac{D}{2}\right)^2 h \quad (5)$$

O volume foi medido para que assim fosse possível aferir a densidade do material a partir da equação 6, onde d é a densidade da amostra, V o volume e m a massa, a qual foi determinada a partir de uma balança Shimadzu (Modelo AUY220).

$$d_{geométrica} = \frac{m}{V} \quad (6)$$

Para o cálculo da densidade relativa das amostras foi utilizada a equação 7.

$$d_{relativa} = \frac{d_{geométrica}}{d_{teórica}} \times 100 \quad (7)$$

A densidade teórica utilizada do material bifásico formado por Hidroxiapatita e β TCP, foi um valor ponderado das densidades teóricas de cada fase, de acordo com a fração volumétrica dessas fases nas amostras. A equação 8 foi utilizada para esse cálculo.

$$d_{teórica} = RIR_{HAp} d_{HAp} + RIR_{\beta TCP} d_{\beta TCP} \quad (8)$$

Onde RIR_{HAp} e $RIR_{\beta TCP}$ é a fração volumétrica de cada fase, calculada a partir dos picos de DRX (Equação 3 e 4). d_{HAp} e $d_{\beta TCP}$ são as densidades teóricas de cada fase, 3,16g/cm³ (padrão JCPDS #009 0432) e 3,07g/cm³ (padrão JCPDS #009 0169),

respectivamente. Também, a partir dos dados obtidos, foi possível calcular a fração volumétrica de poros presente em cada amostra a partir da equação 9.

$$P = 100 - d_{relativa} \quad (9)$$

4.4.8. Retração Linear

A Retração Linear foi calculada de acordo com a equação 10, onde s é o a retração linear do material expressa em %, L é o valor dimensão utilizada para o cálculo, antes (L_0) e após (L_F) o tratamento térmico. Para esse trabalho foi selecionado o diâmetro, inicial e final, para fins de cálculo por ser o que apresentou maior variação dimensional, quando comparado à altura.

$$s = \frac{(L_0 - L_F)}{L_0} \quad (10)$$

4.4.9. Dureza Vickers

O ensaio de Indentação foi realizado de acordo com a Norma ASTM C1327 – 15 “Standard Test Method for Vickers Indentation Hardness of Advanced Ceramics”. Para esse ensaio foi utilizado um Durômetro Otto Wolpert-Werker Diatestor 2 Rc do LAAMH/INT com indentador em formato piramidal e carga de 10KgF. As amostras utilizadas nesse ensaio foram aquelas que apresentaram densidade acima de 90% após a sinterização. São elas: D5, D6, D7, D8, D11 e D12. As amostras que apresentam alto grau de porosidade não podem ser submetidas ao ensaio devido à falta de continuidade do material na peça o que diminui significativamente a resistência mecânica do material. Para esse ensaio as amostras foram preparadas previamente em um processo de embutimento utilizando resina epóxi E1 (Bisfenol A + Glicidil éter alifático), onde para duas partes de resina foi utilizada uma parte de líquido autopolimerizante E2, além disso, foram utilizados moldes plásticos e o desmoldante D30.

A partir do ensaio de Dureza Vickers é possível extrair, basicamente, 3 informações: a dureza do material (H_v) e a Resistência Máxima à compressão ($\sigma_{máx}$). A dureza do material foi obtida de forma simples e direta a partir do ensaio de indentação onde o equipamento fornece de imediato a dureza do material baseado em um cálculo

feito a partir das diagonais formadas pelo indentador e a carga aplicada, como podemos ver na equação 11, onde Hv é a dureza vickers já em GPa, P é a carga aplicada em N ($10\text{KgF} = 98,07\text{N}$) e d é a média aritmética do comprimento das 2 diagonais. A Resistência teórica a compressão do material será vista no tópico 4.4.12.

$$Hv = 0,0018544 \times \left(\frac{P}{d^2}\right) \quad (11)$$

4.4.10. Nanoindentação

A nanoindentação consiste em um ensaio de dureza, porém em escala nanométrica. Este ensaio permite a obtenção de propriedades como a Nanodureza do material, bem como o seu Módulo de Elasticidade/Módulo de Young. Para este ensaio as mesmas amostras com densidade maiores de 90% foram utilizadas (D5, D6, D7, D8, D11 e D12). As amostras, embutidas em resina epóxi e lixadas, foram levadas ao Nanoindentador G-200 da Agilent (USA) do Laboratório de Recobrimentos Protetores do PEMM/COPPE/UFRJ, onde foram submetidas a cargas de 50, 100, 200 e 400 mN em 5 ciclos de carga e descarga, para cada carga utilizada, totalizando 20 indentações em cada amostra. O ensaio foi realizado por meio de um indentador Berkovich e os valores de nanodureza e módulo de elasticidade foram calculados como uma função da profundidade de penetração a partir do método de Oliver-Pharr (OLIVER e PHARR, 1992), intrínseco ao equipamento, onde o efeito de indentadores não perfeitamente rígidos é levado em consideração com a introdução do seu módulo de elasticidade e razão de Poisson a partir do próprio software.

4.4.11. Módulo de Elasticidade/Young Teórico (E_t)

Para as amostras com densidade abaixo de 90% que não puderam ser submetidas ao ensaio de nanoindentação, o módulo de elasticidade foi calculado a partir da equação 12 (WAGH *et al.*, 1991), bem como para as amostras com densidade maior que 90%, para fins de comparação com o módulo de elasticidade experimental.

$$E_t = E_0(1 - P)^m \quad (12)$$

Onde E_t é o módulo de elasticidade teórico a ser calculado, o valor de E_0 é o módulo de elasticidade do material com maior densidade, nesse caso utilizou-se para os cálculos o valor de 129,85 GPa referente ao E da amostra D8; P é a fração volumétrica de poros determinada na equação 9; o expoente m é referente a tortuosidade dos poros e geralmente lhe é atribuído o valor de 2. As amostras com densidade acima de 90% também foram utilizadas para realização desse cálculo e comparação com os resultados experimentais encontrados no ensaio de nanoindentação.

4.4.12. Resistência Teórica à compressão

A resistência mecânica das cerâmicas normalmente é avaliada por ensaios de compressão onde é possível obter a resistência máxima a compressão ($\sigma_{\text{máx}}$) dos materiais, diferente do que ocorre com o metais que tem sua resistência mecânica avaliada por ensaios de tração. Os materiais cerâmicos não podem ser avaliados quanto à resistência à tração, em contrapartida, cargas compressivas tendem a fechar os defeitos presentes no interior dos corpos cerâmicos. De acordo com Rice (1971) há uma relação aproximada dos valores de resistência máxima a compressão e os valores de Dureza Vickers. Tal relação é descrita na equação 13 a seguir e foi utilizada para calcular a σ_t das amostras que passaram pelo ensaio de Dureza Vickers (D5, D6, D7, D8, D11 e D12):

$$\sigma_t = \frac{Hv}{3} \quad (13)$$

Onde σ_t é a resistência teórica máxima à compressão e Hv é o valor em GPa de Dureza Vickers calculado a partir de um ensaio de Indentação. De acordo com esse autor, o valor teórico encontrado a partir dessa simples equação é um pouco maior, porém, próximo ao valor real aferido em ensaios de compressão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1. NANOPARTÍCULAS DE FOSFATO DE CÁLCIO

5.1.1. Difração de Raios-X (DRX)

Na figura 3 observa-se o difractograma do pó de fosfato de cálcio que demonstra a presença de uma única fase de HAp no material, de acordo com o padrão JCPDS (Committee on Powder Diffraction and Standards), ficha número 09-432. Observa-se, também, que o pó sintetizado possui baixa cristalinidade, fato observado pela extensa largura dos picos (VICTORIA e GNANAM, 2002)

Em 2003, Pang e Bao, sintetizaram HAp por precipitação química e testaram diversas temperaturas durante o processo de síntese, no que obtiveram espectros com picos largos e de baixa intensidade com as temperaturas de síntese de 15°C, 50°C até 70°C. O quadro se alterou nas temperaturas de 80°C, 90°C e 99°C, onde os picos eram estreitos e mais intensos, demonstrando que a temperatura de síntese influencia fortemente na cristalinidade do pó formado. Conclui-se que quanto maior a temperatura de síntese, mais cristalina será a amostra e mais estreitos serão os picos de difração de raios-X (PANG e BAO, 2003)..

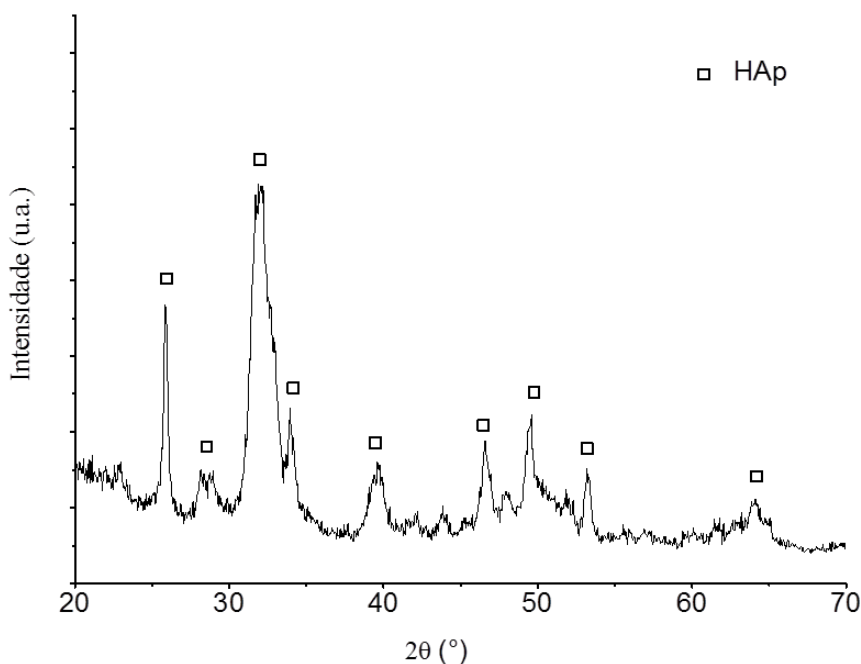


FIGURA 3: Difractograma de raio-X do pó de fosfato de cálcio.

A partir da equação de Debye-Scherrer e de informações retiradas do difractograma, o tamanho médio do cristalito da HAp foi mensurado. O valor de 5,2nm encontrado foi bem inferior aqueles encontrados por Pang e Bao, em 2003, que variavam de 20,8nm a 52,7nm para pó de HAp, não calcinada e sintetizada a 15°C e 99°C, respectivamente. Esse estudo mostrou que com o aumento da temperatura de síntese, há um aumento do tamanho do cristalito e, conseqüentemente, aumento da cristalinidade do material. Porém, foi observado que, se tratando de HAp não calcinadas, o aumento da cristalinidade com o aumento da temperatura não é linear. Pang e Bao notaram que a cristalinidade aumenta significativamente apenas a partir da síntese a 70 °C, abaixo dessa temperatura, o valor de cristalinidade sofre pequenas alterações. Baseado em um estudo anterior de Bouyer *et al.*, de 2000, os autores propõem que em síntese a 70°C se alcançou a “energia de ativação cristalina” da HAp (PANG e BAO, 2003, BOUYER *et al.*, 2000).

5.1.2. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR exposta na figura 4, apresenta espectros característicos de HAp. De 900cm⁻¹ a 1200cm⁻¹ há a formação de bandas, entre eles em 1031cm⁻¹ e 1095cm⁻¹, os quais representam deformações axiais de estiramento de grupamentos Fosfatos. Já em 603cm⁻¹, observa-se uma banda também relacionado ao íon fosfato, porém, reflete deformações angulares desse grupamento. Bandas em torno de 630cm⁻¹ e 3570cm⁻¹, referentes ao grupamento hidroxila, e em torno de 940cm⁻¹, referentes ao grupamento fosfato, tem seus valores de intensidade diretamente proporcionais a cristalinidade (PANG e BAO, 2003, LIM *et al.*, 1999), no presente trabalho nota-se a intensidade reduzida dessas bandas como indicado pelas setas, corroborando com os dados obtidos a partir do DRX, que revelaram ser esse um material de baixa cristalinidade. A banda 563cm⁻¹ também está relacionada ao grupamento fosfato (RIGO *et al.*, 2007). Pang e Bao (2003) também discutiram sobre a presença de uma extensa banda entre 2500cm⁻¹ e 3700cm⁻¹, com pico máximo em torno de 3400cm⁻¹, a qual seria reflexo da combinação de água com o pó de HAp. De acordo com os autores, a intensidade desse pico também estaria relacionada à cristalinidade do pó de HAp chegando a afirmar que a parte amorfa do pó de HAp é mais hidrofílica do que sua análoga cristalina.

Já as bandas localizadas em 1640cm^{-1} estariam relacionados a presença de H_2O e aquele em 1460cm^{-1} , seria referente a presença de carbonato (CO_3^{2-}). A incorporação mais efetiva dessas moléculas e grupamentos nos sítios de fosfato, seria favorecida em cristais de HAp de pequenos tamanhos (MIR *et al.*, 2012). A banda em 2920cm^{-1} e 2840cm^{-1} estaria relacionada com o estiramento da ligação C-H (DUAN *et al.*, 2012). A banda 2360cm^{-1} estaria relacionada com a presença de dióxido de carbono (CO_2) (TARASCHEWSKI *et al.*, 2005). E a banda 1415cm^{-1} sugere a presença de carbonatos, correlacionados com substituição do Tipo B, comumente encontrada na apatita biológica (RABELO NETO, 2009).

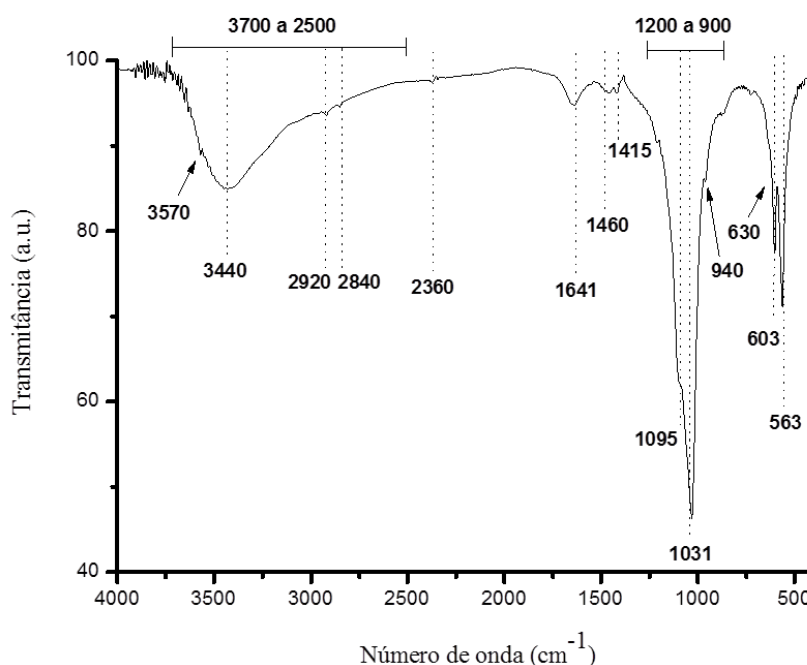


FIGURA 4: Espectro de FTIR do pó de fosfato de cálcio.

5.1.3. Razão Ca/P

Sabe-se que a microestrutura e as propriedades da suspensão de HAp resultante varia muito com pequenas modificações nos parâmetros de síntese. Variáveis como pH, temperatura, pureza da matéria-prima, bem como a mistura dos reagentes são fatores essenciais para a formação de determinada fase de fosfato de cálcio (PANG e BAO, 2003). A razão Ca/P do pó de fosfato de cálcio é um dos mais importantes parâmetros na determinação das propriedades e estabilidade térmica (FAVONICH e PORTO LOPEZ, 1998). As apatitas biológicas diferem da hidroxiapatita pura na

estequiometria, composição, propriedades físicas e mecânicas. As hidroxiapatitas puras e estequiométricas não estão presentes em sistemas biológicos. As hidroxiapatitas biológicas tem sido descritas como apatitas deficientes em cálcio, não estequiométricas, impuras, ou contendo carbonatos.

A tabela 9 mostra a razão Ca/P do pó de HAp, obtida após o pó ser apenas liofilizado, sem passar por tratamento térmico. Observa-se que a razão Ca/P está abaixo daquela proposta no início da síntese, 1,67. A causa desse fenômeno e suas consequências sobre o produto final serão discutidas a seguir.

TABELA 9: Razão Ca/P do Pó de HAp

%Ca	%P	Ca/P	Média
34,1	17,55	1,51	
33,6	17,07	1,53	1,50
33,7	17,8	1,47	

Em um estudo realizado em 2012, os autores discutem a relação Ca/P assumida no início da síntese e a razão Ca/P real, aquela determinada após a síntese do material e tratamento térmico. Os autores dizem que apesar de iniciar o processo de síntese com a distribuição uniforme de Ca^{2+} e PO_4^{3-} para promover a formação de uma HAp estequiométrica ($\text{Ca/P}=1.67$), durante a síntese, dependendo do método utilizado, é possível que a mistura a nível molecular não seja perfeitamente uniforme, principalmente se houver a formação de gel, como houve na atual pesquisa. O gel favorece a formação de regiões com íons Ca^{+2} isolados onde terá a produção de HAp não estequiométrica com razão Ca/P menor que 1,67, enquanto em regiões com íons Ca^{+2} aglomerados há a formação de HAp não estequiométrica, porém com razão Ca/P maior que 1,67. Como consequência, ocorre a decomposição da HAp não estequiométrica quando levada à altas temperaturas. No caso da razão Ca/P ser maior que 1,67, a decomposição promove o surgimento de CaO. Quando a razão Ca/P é menor que 1,67 o material se decompõe em TCP (DUAN, *et al.*, 2012).

O autor demonstrou esquematicamente que a rede formada pelo gel pode conter regiões com misturas estequiométricas e não estequiométricas. As regiões não estequiométricas podem ser aquelas com excesso e/ou falta de íons Ca^{+2} , por exemplo, que podem até ser compensatórias apresentando uma média final de razão Ca/P de 1,67.

Porém, quando em altas temperaturas, as regiões não estequiométricas, por não apresentarem estabilidade, sofrerão transformações de fases e apresentará CaO e TCP ao mesmo tempo. Conclui-se que toda fase estável é estequiométrica, pois teve seus reagentes uniformemente misturados durante sua síntese, porém nem toda mistura estequiométrica resulta em uma fase estável (DUAN *et al.*, 2012).

Nesse mesmo trabalho, o autor propôs a utilização de poliálcoois como a glicerina e o etilenoglicol para serem utilizados durante a síntese de HAp pelo método sol-gel, com o objetivo de estabilizar os íons de Ca^{+2} permitindo a mistura uniforme do PO_4^{3-} com o Ca^{2+} em nível molecular e portanto a formação de fases de fosfato de cálcio estáveis á altas temperaturas. O autor utilizou reagentes com alto nível de pureza e prepararam o produto com a relação Ca/P inicial de 1,67 na presença de etilenoglicol. Após calcinar à 1100°C a análise por DRX demonstrou a presença de um valor mínimo de TCP. O autor conclui que a razão Ca/P real obtida com a mistura dos reagentes é na verdade um pouco menor do que o valor assumido inicialmente de 1,67 o que promoveu o surgimento de uma pequena parcela de TCP e que, conseqüentemente, para ter um produto estequiométrico e puro com uma fase única de HAp é necessário realizar a síntese com um valor de razão Ca/P maior que 1,67. O autor também diz que qualquer outro valor real de razão Ca/P pode ser calculado a partir do momento que se assume uma relação proporcional entre o valor real da razão Ca/P e àquele assumido inicialmente (DUAN, *et al.*, 2012). Conclui-se que, se o pó sintetizado nesse trabalho de HAp deficiente em cálcio for levado a altas temperaturas, apresentará a formação de uma segunda fase de TCP, fato maximizado pela não utilização de poliálcoois durante a síntese e conseqüentemente, obtenção de uma razão Ca/P ainda menor e maiores transformações de HAp em TCP.

Mostafa, em 2005, alertou sobre a atenção que se deve dar às sínteses por métodos úmidos, em especial no que tange a razão Ca/P e a cristalinidade do material produzido. O autor afirma ser possível, a partir de métodos de precipitação por via úmida, a formação de HAp cálcio-deficiente, a qual seria decomposta em uma mistura de HAp e TCP sob tratamentos térmicos acima de 700°C. Isso permitiria a formação direta de cerâmicas bifásicas de fosfato de cálcio (HAp/TCP), sem a necessidade da etapa de mistura convencionalmente utilizada (MOSTAFA, 2005).

5.1.4. Análise Termogravimétrica e Termogravimetria Derivada (TGA/DTG)

Realizada a temperatura máxima de 1000°C, a análise foi efetuada em uma alíquota do pó de fosfato de cálcio (HAp) para comprovação de sua estabilidade térmica como material cerâmico, que ao fim do processo apresentou perda ínfima de 4,5% de sua massa total. Essa perda pode estar associada à desidratação do material, que poderia conter algumas moléculas de água combinadas à HAp, que não foram removidas durante a liofilização. Como visto na seção 5.1.2, a análise de FTIR acusou a presença de água, que a altas temperaturas provavelmente foi eliminada na análise TGA/DTG. Na literatura há relatos de pó de HAp calcinado à 650°C por 6h o qual, em análise, apresentou perda de massa de 1,5% . Comparado com o material sem calcinação, apenas seco em estufa à 70°C, este obteve até 8% de perda de massa (PANG e BAO, 2003).

A curva de TGA (figura 5) mostra uma contínua e lenta perda de massa com o constante aumento de temperatura. Na curva da derivada pode-se observar um acentuado pico em torno de 100°C que indica perda de umidade de forma rápida. Observa-se que a curva do TGA tem sua inclinação modificada o que sugere outro tipo de perda de massa. De acordo com LeGeros, 1978, entre 200°C e 400°C há a remoção da água estrutural, já entre 500°C e 900°C há o autor observou a perda de carbonato tanto em esmalte dental quanto na hidroxiapatita sintética (LEGEROS *et al.*, 1978).

Assim como no presente trabalho, Gouveia, em 2008, observou uma expressiva perda de massa até 400°C em todas as suas amostras de fosfato de cálcio advindas do pó de HAp sintetizada por diversas rotas. Essa perda foi associada a desidratação do material, onde entre 25°C e 200°C há a perda de toda a água adsorvida a superfície das partículas do pó termicamente instável. O autor ainda sugere que nessa temperatura, a perda de massa não altera os parâmetros de rede da estrutura cristalina. Entre 200°C e 400°C ocorreria a perda da água estrutural, a qual poderia afetar a rede cristalina. Outro importante pico observado por ele, em torno de 765°C, foi relacionado a transformação de fase pela decomposição da HAp em β -TCP. Ao final, as amostras apresentaram a formação de 10% de β -TCP, enquanto no presente estudo, a análise de TGA apresentou um pico maior do que aquele reportado por Gouveia, também em torno de 760°C, resultando em amostras com 80% de β -TCP (GOUVEIA, 2008).

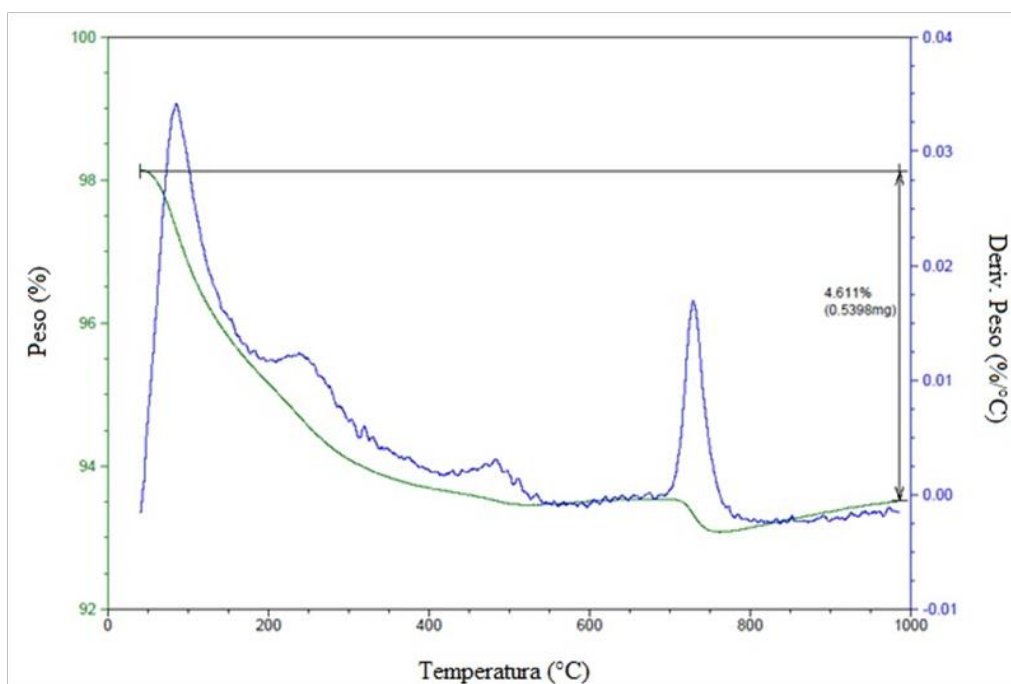


FIGURA 5: Curvas TGA e DTG do pó de fosfato de cálcio (HAp).

5.1.5. Área superficial específica (BET)

A área superficial específica do pó de HAp foi de $50\text{m}^2/\text{g}$ para um tamanho de partícula médio de aproximadamente $36,9 \pm 7,1\text{nm}$, como será visto no item 5.1.6.

Nasser Mostafa, em 2005, sintetizou HAp por 3 diferentes rotas, das quais obteve área superficial específica de $86\text{m}^2/\text{g}$, $48\text{m}^2/\text{g}$ e $19,5\text{m}^2/\text{g}$ para tamanhos de partículas, determinados por difração de laser, na faixa de $0,2$ a $1\mu\text{m}$, de $0,9$ a $45\mu\text{m}$ e de 7 a $100\mu\text{m}$, respectivamente (MOSTAFA, 2005). Para uma mesma área superficial em torno de $50\text{m}^2/\text{g}$, as menores partículas encontradas por Mostafa possuíam dimensões de $0,9\mu\text{m}$, equivalente à 900nm , enquanto que no presente trabalho o tamanho de partícula é de $36,9\text{nm}$. Essa diferença pode ser explicada pelo fato de que a análise de tamanho de partícula, realizada por Mostafa, foi por difração a laser, enquanto que o tamanho de partículas contabilizado nesse trabalho foi por meio de análise de micrografias e, como será visto no item 5.1.6, o próprio autor afirma que a técnica utilizada por ele para medir o tamanho de partículas apresenta um erro inerente à técnica que pode captar, ao invés de partículas primárias, aglomerados que possuem maiores dimensões. Quando medimos as partículas por meio de análise de imagens esse erro é minimizado.

Romero *et al.*, em 2013, encontrou área superficial específica para nanopartículas de HAp de $130\text{m}^2/\text{g}$ equivalente a tamanho de partículas entre 10 e 11nm (ROMERO *et al.*, 2013). As partículas são até 4 vezes menores do que aquelas sintetizadas no presente trabalho, por consequência, a área superficial é 2,5 vezes maior.

5.1.6. Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV/FEG)

A partir da análise de imagens das micrografias extraídas do MEV/FEG (Fig.6), foi possível realizar a avaliação do tamanho das partículas do pó de HAp. Com uma amostragem de 28 elementos, foi encontrado um tamanho médio de partículas de $36,9 \pm 7,1$ nm. Pang e Bao (2003) também estimaram o tamanho das partículas de HAp por meio da análise de imagens do MEV, encontrando dimensões de 20 a 300nm, em partículas com morfologia similar a de agulhas. De acordo com os autores, as partículas sintetizadas em maiores temperaturas, 70°C e 90°C, tendem a apresentar formato regular, contornos claros, partículas pouco aglomeradas e maior cristalinidade. O contrário ocorreria com uso de menores temperaturas de síntese (50°C a 15°C) (PANG e BAO, 2003)..No presente trabalho, as partículas de HAp foram sintetizadas a temperatura máxima de 50°C, porém com o auxílio de radiação ultrassônica que em trabalhos anteriores demonstrou ser eficaz na síntese de nanopartículas (LUNZ *et al.*, 2015)

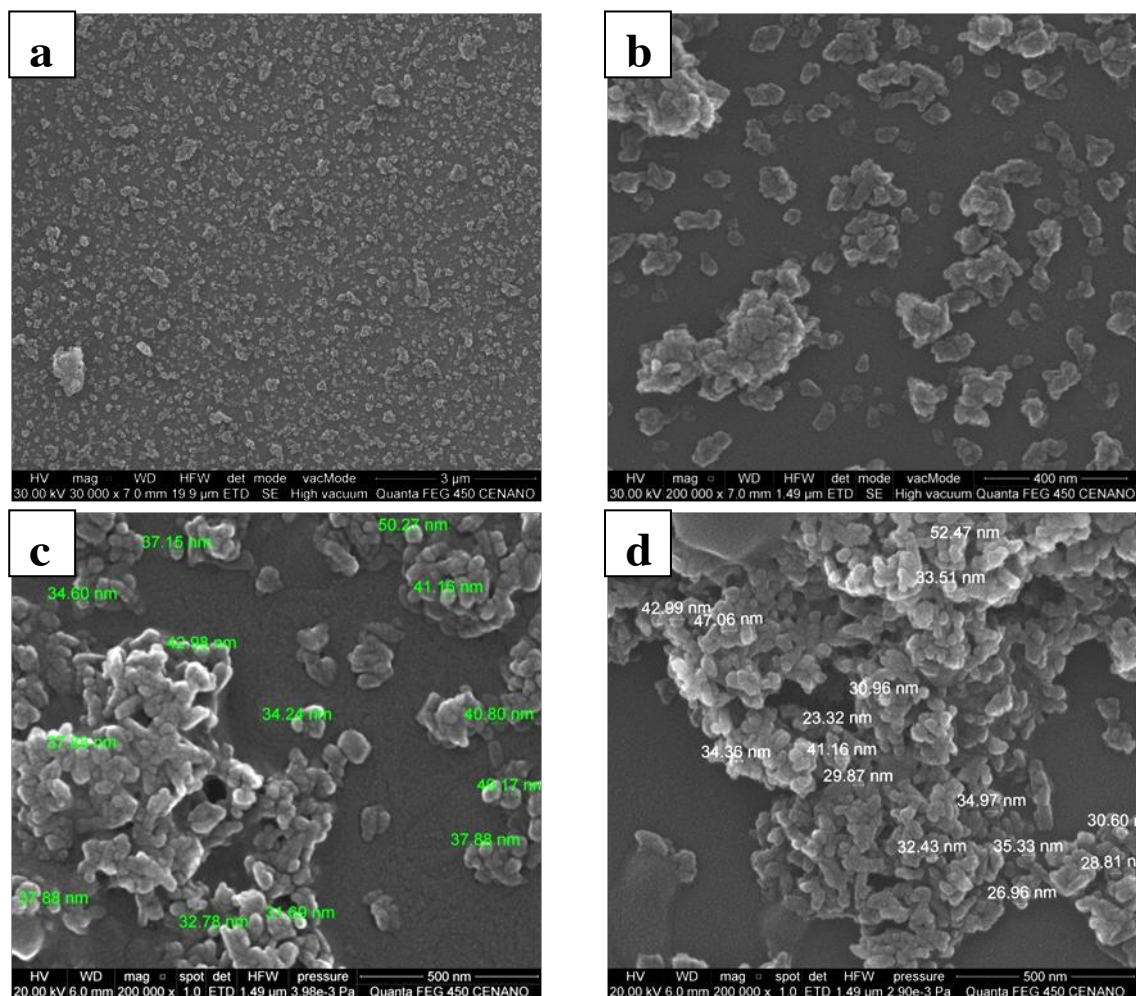


FIGURA 6: Imagens do pó de HAp obtidas através de Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV/FEG): (a) 30.000X; (b) 200.000X; (c) e (d) 200.000X com análise de tamanhos.

Mostafa, em 2005, escreveu que o tamanho de partícula obtido pela fórmula de Scherrer, a partir da análise de DRX, e aquele obtido por difração de laser irão apresentar diferenças. Esse fato ocorre, pois cada análise é baseada em definições diferentes e particulares do termo “tamanho de partícula”. Na difração de laser são medidos aglomerados sem distinção das reais partículas primárias. Enquanto que a fórmula de Scherrer está relacionada a domínios monocristalinos, o cristalito medido está presente em determinado plano cristalográfico (MOSTAFA, 2005). Da mesma maneira é possível traçar um paralelo com o tamanho de partículas obtido através de análise de imagens, onde se tenta estimar o valor a partir do desmembramento virtual dos aglomerados nas menores partículas visíveis, àquele aumento, e que possuam algum padrão de forma e organização que justifique sua seleção.

5.2. AGENTES POROGÊNICOS

5.2.1. Análise Termogravimétrica e Termogravimetria Derivada (TGA/DTG)

Na figura 7 é possível observar a curva referente ao comportamento térmico do Bicarbonato de Amônio, um dos agentes formadores de poros utilizados na pesquisa, na análise termogravimétrica e termogravimetria derivada. Nota-se que entre 150 e 175 C° há uma grande perda de massa do material, caracterizando sua decomposição. Da mesma forma podemos notar na figura 8, que o mesmo ocorre com a Cera de Polietileno, outro agente formador de poros utilizado, porém, à temperaturas mais elevadas, onde, na faixa de 550°C já quase toda sua massa foi perdida devido sua decomposição, o que condiz com a informação do fabricante (Clariant® - Licowax).

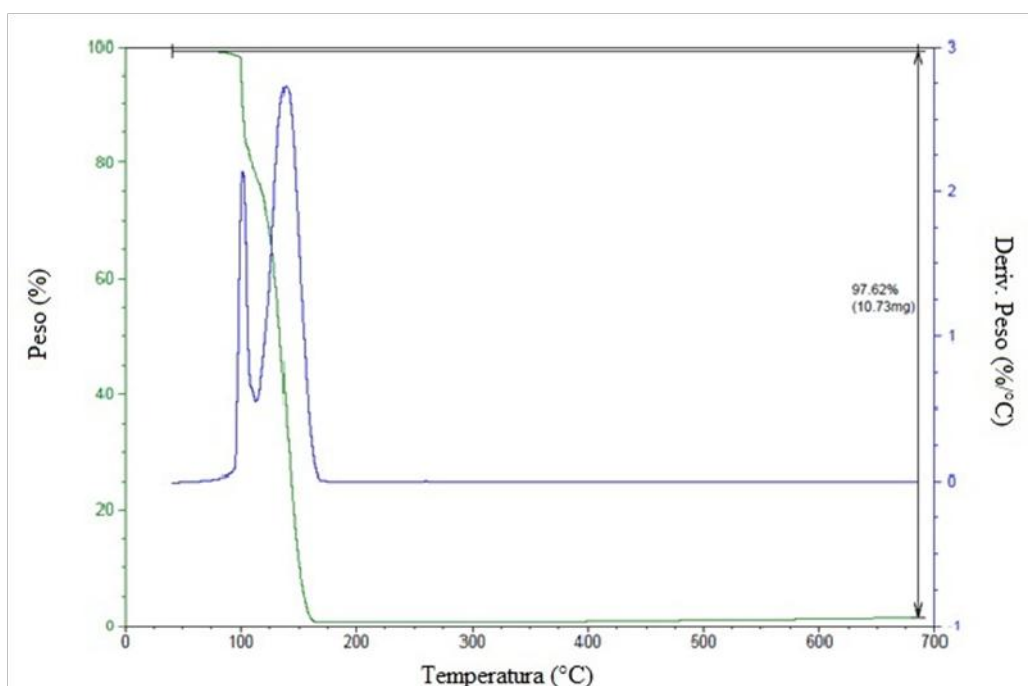


FIGURA 7: Curvas TGA e DTG do Bicarbonato de Amônio, agente formador de poros.

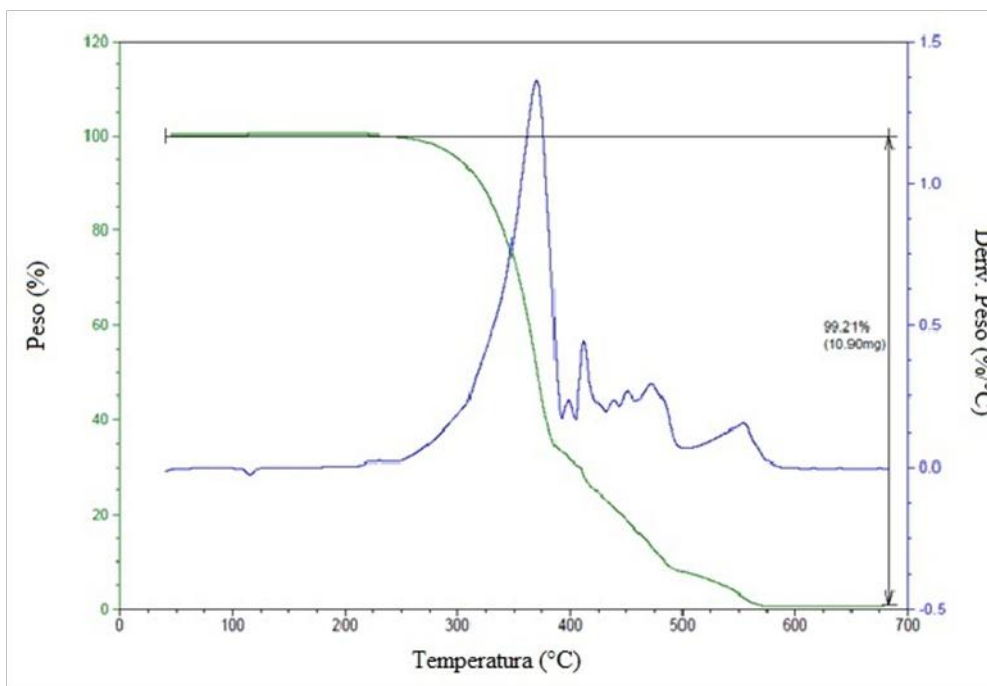


FIGURA 8: Curvas TGA e DTG da Cera Licowax, agente formador de poros.

5.3. *BIOCERÂMICAS DENSAS E POROSAS*

5.3.1. *Densidade e Porosidade*

Pode-se observar na tabela 10, os resultados de densidade e porosidade, das peças a verde e sinterizadas, D1 a D8, do Planejamento de Experimentos I (item 4.2). Observa-se que há um aumento evidente da densidade das peças sinterizadas com o aumento da temperatura e, conseqüentemente, uma diminuição da porosidade. O aumento da pressão também aumenta a densidade e reduz a porosidade, porém em menor escala. Como não houve adição de material (massa) às peças sinterizadas à 900°C (D1 a D4) e também não apresentaram contração após a sinterização, seu volume permaneceu praticamente constante, e por isso, as peças não demonstram aumento da densidade, após a sinterização.

TABELA 10: PE-I (2^{4-1})

Amostra	Pressão	Taxa	Temperatura	Tempo	Densidade		Porosidade	
	Mpa	°C/min	°C	h	Verde	Sinterizado	Verde	Sinterizado
D1	200	2	900	2	52,56	52,48	47,44	47,52
D2	400			4	61,61	60,45	38,39	39,55
D3	200	20			54,49	55,04	45,51	44,96
D4	400			2	63,25	60,75	36,75	39,25
D5	200	2	1100	4	55,23	93,51	44,77	6,49
D6	400			2	61,94	92,65	38,06	7,35
D7	200	20			53,79	96,93	46,21	3,07
D8	400			4	63,02	99,11	36,98	0,89

Devido à complexidade do planejamento experimental que possui 4 parâmetros, variando em 2 níveis, a análise dos seus resultados foi realizada através de um software específico (Minitab17[®]), que permite a análise dos efeitos de cada variável e de suas combinações através, por exemplo, do Digrama de Pareto, como pode ser visto na figura 9. Com nível de confiança de 99%, pode-se observar através do diagrama que o parâmetro com maior efeito sobre a variável resposta “densidade” foi, com grande diferença, a temperatura de sinterização.

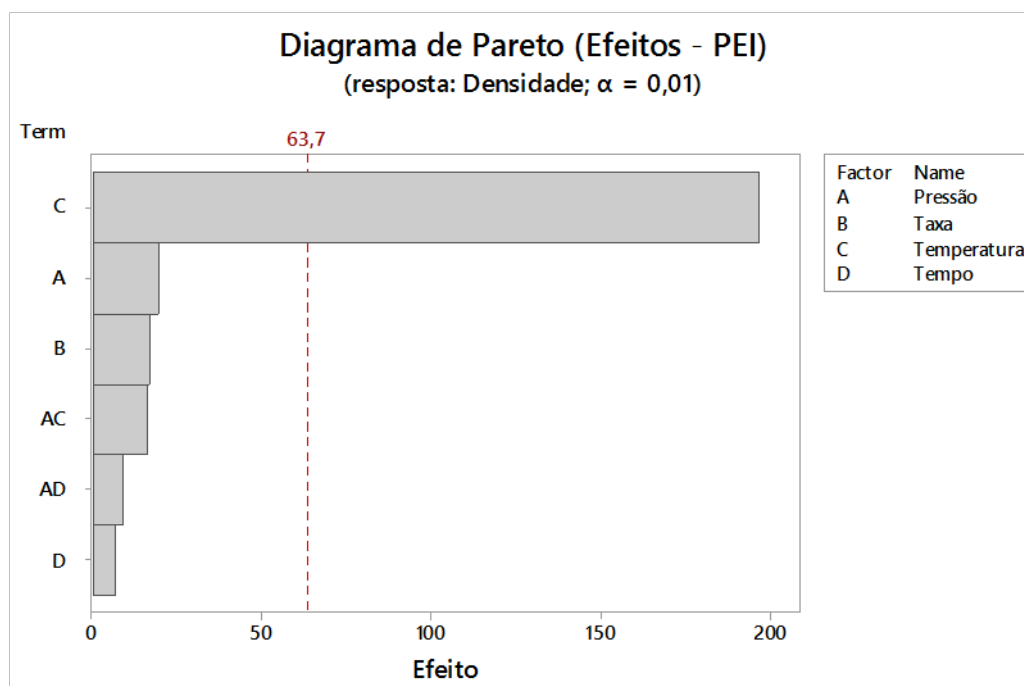


FIGURA 9: Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 4 variáveis no processamento das biocerâmicas.

A figura 10 é referente a um gráfico de superfície da densidade em função da temperatura de sinterização e da pressão, variável com segundo maior efeito, porém, ainda considerado sem significância para nível de confiança de 99%. Pelo gráfico, pode-se observar que a temperatura é a variável que permite a fabricação de peças com maiores densidades (>90%) quando em seu maior nível (1100°C), independente dos valores de pressão utilizados (200MPa ou 400MPa). Com a diminuição da temperatura para 900°C, com pressão de compactação de 200MPa as peças formadas tendem a ter densidade <60%, com o aumento da pressão para 400MPa à temperatura constante de 900°C, as peças tenderiam a apresentar densidade entre 60 e 70%. Pode-se dizer que a baixas temperaturas (900°C) a pressão de compactação tem maior influência sobre a densidade final do material, apesar disso, a diferença nos resultados de densidade das peças compactadas à 200MPa e à 400MPa não apresenta significância.

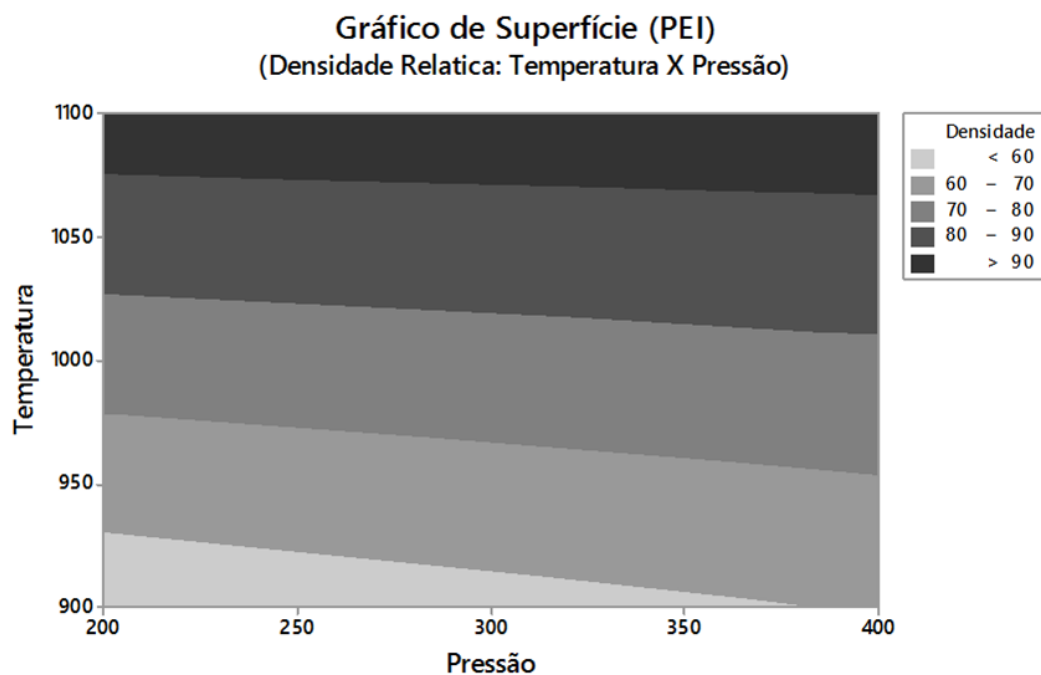


FIGURA 10: Gráfico de Superfície para o PE-I da densidade em função da temperatura de sinterização e da pressão de compactação.

A figura 11 mostra que os efeitos das variáveis sobre a porosidade e a densidade do material são de igual intensidade, porém, contrários. Ou seja, os níveis altos de todos os parâmetros tendem a aumentar a densidade do material, por isso diminuir sua porosidade. Por exemplo, observa-se que quanto maior for a temperatura

de sinterização, maior será a densidade da peça formada. Porém, se a variável resposta for a porosidade, tem-se a temperatura ainda como o parâmetro de maior efeito e significância, porém, quanto maior for a temperatura, menor será a porosidade. Isso ocorre devido o valor de porosidade relativa ser calculado através da subtração do valor da densidade de um total de 100% da amostra. Por exemplo, a amostra D8 apresenta densidade igual a 99,11% e, por isso, porosidade de 0,89%. Logo os efeitos das variáveis serão os mesmos, porém em sentidos contrários.

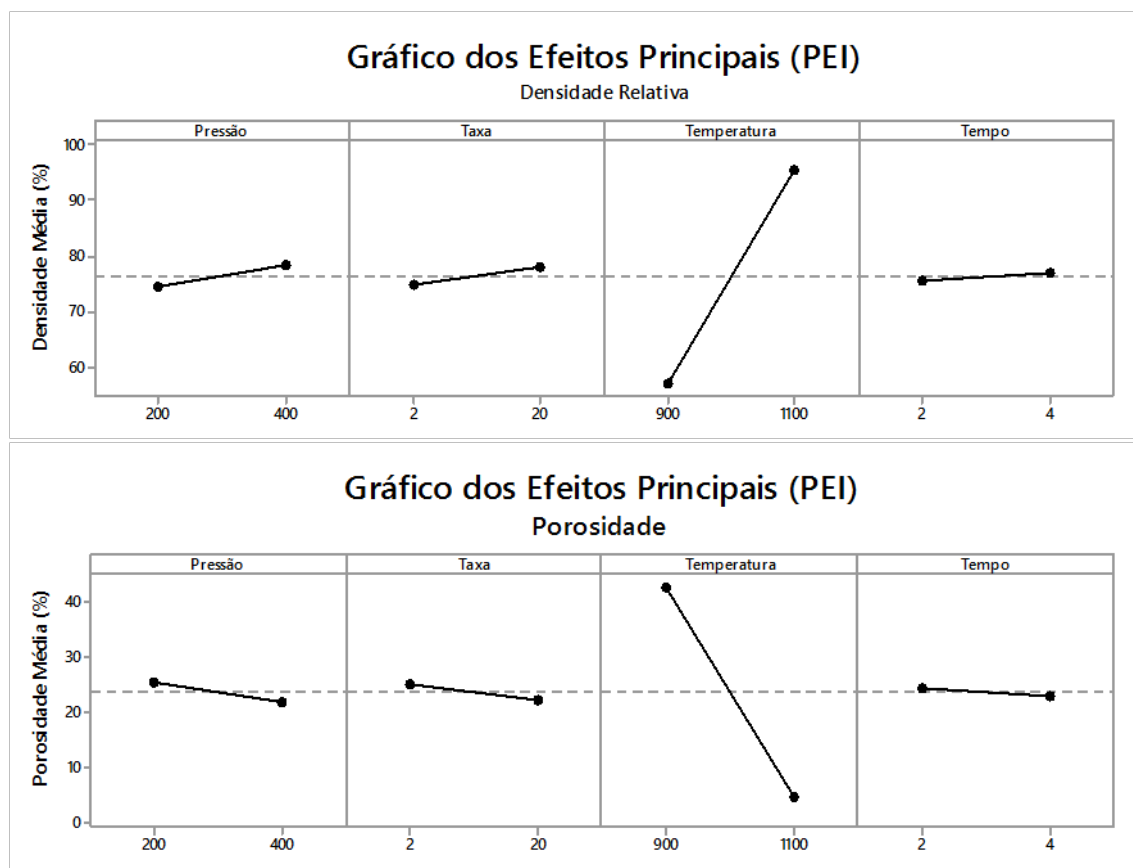


FIGURA 11: Gráficos dos efeitos principais para o PE-I em relação a densidade e porosidade do material.

Para o segundo planejamento de experimentos (PE-II), também voltado para amostras densas, as variáveis de menor significância apresentadas pelo PE-I foram fixadas, dessa forma o tempo de sinterização foi constante em 2h e a taxa de aquecimento foi alterada para 5°C/min. e fixada. Esses valores foram escolhidos baseados no princípio de menor gasto de energia para produção das peças. Uma vez que o tempo de sinterização não mostrou efeito significativo sobre a densidade/porosidade das peças, seria um gasto de energia desnecessário mantê-las no forno por 4h. Já a taxa

e aquecimento, quanto maior for, mais rápido ocorrerá o processo de sinterização, porém, sabe-se que taxas maiores que 5°C/min possuem risco potencial de formar trincas e defeitos no material, prejudicando suas propriedades mecânicas (PROKOPIEV e SEVOSTIANOV, 2006).

Na tabela 11 pode-se verificar os resultados de densidade e porosidade das peças a verde e sinterizadas, fabricadas de acordo com os parâmetros estipulados no PE-II, com apenas 2 parâmetros, temperatura e pressão, variando em 2 níveis cada, 1000°C/1100°C e 100MPa/200MPa. Os valores de temperatura e pressão foram selecionados baseados nos resultados obtidos do PE-I, onde a pressão não mostrou ser significativa e por isso foi analisada no PE-II com menores níveis e menor diferença entre esses níveis. A temperatura teve seu maior nível mantido em 1100°C de forma a evitar possíveis transformações de fase e, também, porque esse valor demonstrou ser suficiente para promover uma máxima densificação do material. O menor nível da temperatura explorado foi o de 1000°C, visto que 900°C (PE-I) não foi suficiente para aumentar a densidade do material como pode ser observado na tabela 10.

Observa-se também, na tabela 11 a presença de pontos centrais, ou seja, pontos onde todos os fatores (variáveis) são colocados à meia distância entre o nível alto (+1) e o baixo (-1). Dessa forma, no caso do PE-II onde temos como nível alto de temperatura e pressão, 1100°C e 200MPa e nível baixo, 1000°C e 100MPa, respectivamente, os pontos centrais é uma pequena amostragem compactada à 150MPa e sinterizada à 1050°C. Os pontos centrais são adicionados ao planejamento quando se quer estimar o grau de curvatura na resposta, isso porque o planejamento fatorial com 2 níveis supõe uma linearidade nos efeitos dos fatores, assim, com a adição dos pontos centrais, o modelo é capaz de representar alguma torção que haja no plano. A curvatura é detectada quando a média do resultado nos pontos centrais é significativamente maior ou menor que a média dos resultados com os fatores em seus níveis alto e baixo. Caso não exista uma curvatura, então a média dos resultados no ponto central será igual à média dos resultados nos níveis altos e baixos dos fatores, então os pontos centrais estariam no (ou próximo do) plano, passando através dos pontos do planejamento fatorial. Embora os pontos centrais permitam a detecção de curvatura, eles não fornecem informações suficientes para modelar a curvatura. Para modelagem da curvatura seria necessário termos quadráticos, os quais requerem a adição de mais pontos ao planejamento para verificar sua existência.

TABELA 11: PE-II ($2^2 + 2$ Pontos Centrais)

Amostra	Pressão Mpa	Temperatura °C	Densidade		Porosidade	
			Verde	Sinterizado	Verde	Sinterizado
D9	100	1000	45,76	55,20	54,24	44,80
D10	200		54,92	64,94	45,08	35,06
D11	100	1100	46,42	92,02	53,58	7,98
D12	200		54,69	95,38	45,31	4,62
DPCI	150	1050	49,52	68,59	50,48	31,41
DPCII			51,70	71,22	48,30	28,78

Na figura 12 pode-se observar o diagrama de Pareto para análise dos efeitos, com nível de confiança de 95%. Assim como no PE-I, a variável que demonstrou ter maior efeito sobre a densidade foi, novamente, a temperatura e a pressão permaneceu sendo uma variável não significativa. Comparado ao PE-I nota-se que o valor do efeito da temperatura foi bem inferior, em parte isso pode estar associado à diminuição do intervalo entre o nível alto e baixo, antes com 200°C de diferença, agora com 100°C.

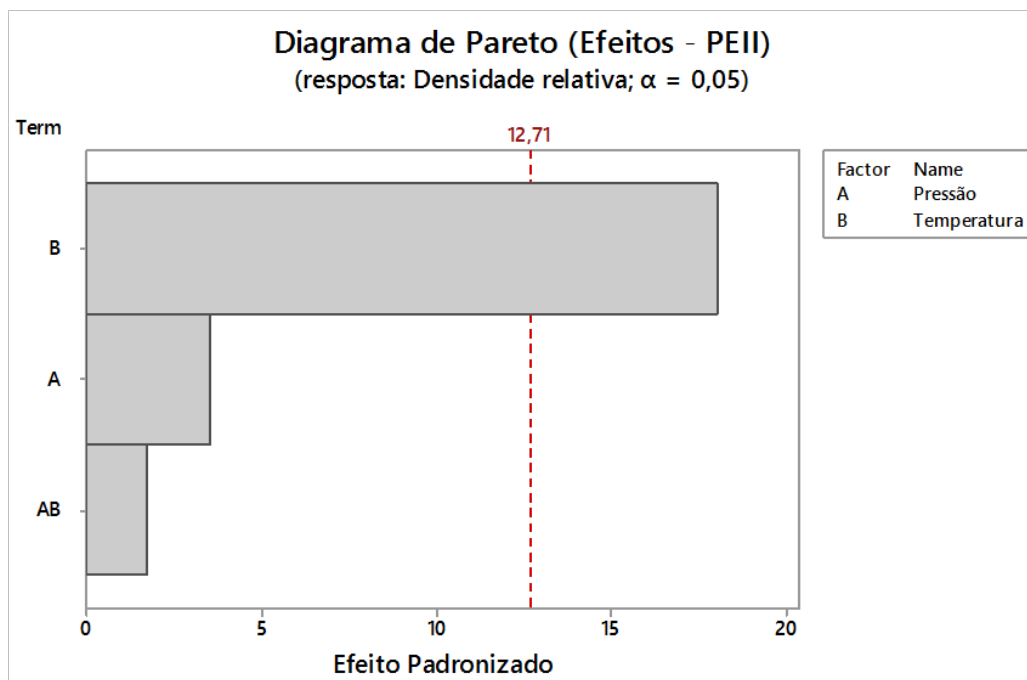


FIGURA 12: Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 2 variáveis no processamento das biocerâmicas.

Normalmente os pontos centrais são adicionados em casos onde se suspeita da linearidade dos resultados de acordo com os níveis das variáveis analisadas. Porém, o PE-II trata de variáveis como temperatura de sinterização e pressão de compactação que pelo senso comum, quanto maiores, mais denso será o material. Na figura 13 pode-se observar um gráfico de superfície que apresenta regiões de alta densidade, onde a temperatura é de 1100°C, independente da pressão utilizada. Porém, quando a temperatura é menor, 1000°C, a densidade sofre mais influencia da pressão de compactação, mas ainda assim, insignificante. Vale lembrar que o mesmo ocorre no PE-I (Fig. 11, gráfico de superfície PE-I). Observa-se também que à 1000°C ainda não foi possível alcançar a máxima densidade. Outro aspecto importante do gráfico de superfície é que ele nos permite a visualização dos resultados obtidos através dos pontos centrais. No centro do gráfico é possível notar uma região de menor densidade comparada àquela ao seu redor. As peças compactadas à 150MPa e sinterizadas à 1050°C, apesar de apresentarem menor densidade, não são suficientes para provar a falta de linearidade dos fatores do planejamento em função da densidade, pois seus resultados de densidade estão dentro da média dos demais, apesar do pequeno desvio.

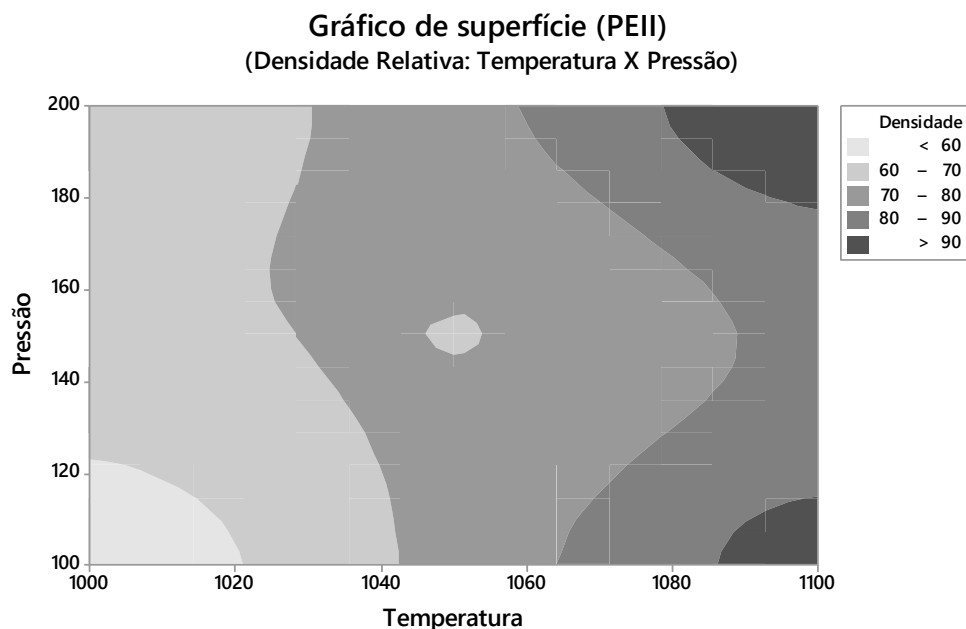


FIGURA 13: Gráfico de Superfície do PE-II da densidade em função da temperatura de sinterização e da pressão de compactação.

A temperatura foi a única variável que apresentou significância em ambos os planejamentos (PE-I e PE-II), dessa forma, foi possível observar a densificação do material frente ao aumento da temperatura de sinterização desconsiderando o efeito causado pelas demais variáveis, como pode-se observar no gráfico da figura 14. Os dados de densidade foram obtidos a partir das médias dos valores de densidade após sinterização de determinadas amostras dos planejamentos I e II. Observa-se, também, que o aumento da densidade se eleva em cada patamar, o que sugere que há uma “energia de ativação mínima” necessária para dar início ao processo de densificação. De acordo com Mostafa, 2005, é possível indentificar através das taxas de densificação do material os estágios de sinterização. De acordo com o autor, HAp deficientes em cálcio, como o caso do presente trabalho, apresentam o estágio inicial de sinterização, onde há coalescência de partículas e formação de pescoços, entre 900°C e 1000°C, onde quase há pouco ou quase nenhum aumento de densidade do material. A partir de 1000°C se inicia o segundo estágio da sinterização que corresponde ao começo, propriamente dito, da densificação marcada por uma acentuada mudança de inclinação na curva, demonstrando aumento de densidade. De acordo com Mostafa, a máxima densificação para HAp deficientes em cálcio ocorre entre 1050°C e 1150°C. Já em HAp estequiométricas esses estágios ocorrem em faixas de temperaturas até 100°C maiores. Como consequência, peças produzidas por HAp estequiométrica alcançam menores densidades que peças produzidas por HAp deficientes em cálcio, quando ambas forem sinterizadas à mesma temperatura.

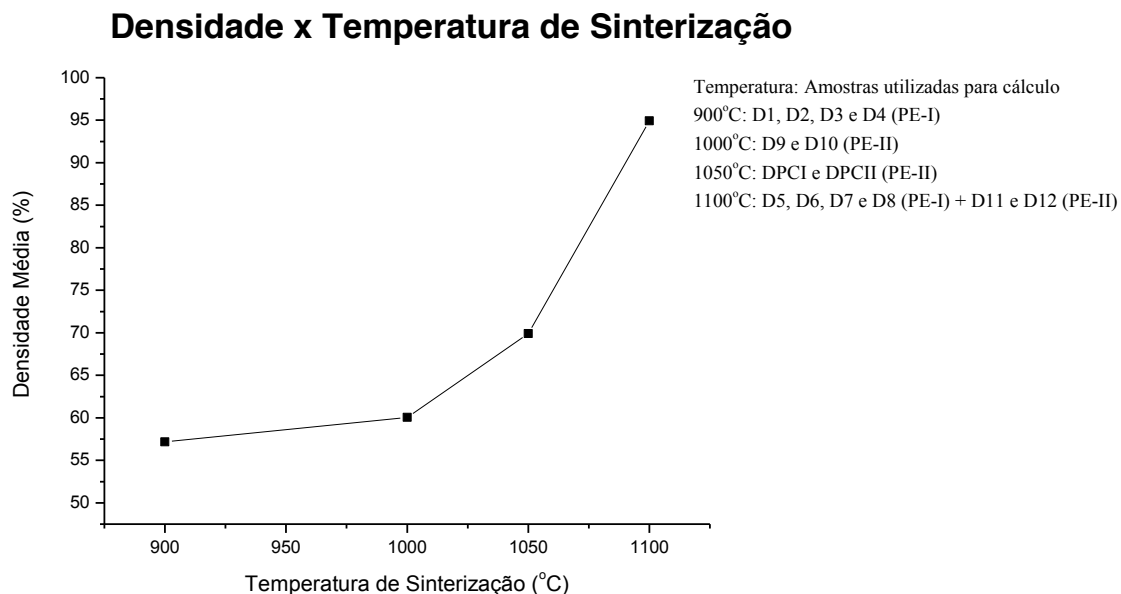


FIGURA 14: Gráfico arbitrário de densidade em função da temperatura de sinterização, formado por dados obtidos de ambos os planejamentos (PE-I e PE-II)

A tabela 12 mostra o planejamento fatorial completo realizado para estudo das variáveis relacionados aos agentes formadores de poros, icarbonato de amônio (BA) e cera de polietileno Licowax (CL), em peças biocerâmicas de fosfato de cálcio. Nesse planejamento foi inviável a aplicação de pontos centrais devido a presença de 2 variáveis qualitativas: tipo do agente formador de poros utilizado e faixa granulométrica. Sabe-se que, no estudo de variáveis por DOE, faixas de valores são reconhecidos como variáveis qualitativas, o que impõe determinados limites a análise, como a não utilização de pontos centrais e a impossibilidade de plotar gráficos de superfície.

Neste planejamento as variáveis estudadas foram aquelas com relação ao agente formador de poros. Os parâmetros relacionados à compactação e sinterização das peças, foram fixados de acordo com dados da literatura e com os resultados dos planejamentos de peças densas (PE-I e PE-II). A pressão de compactação utilizada nas peças foi de 100MPa, por se tratar do menor valor utilizado em testes prévios que permitiu a conformação e manipulação da peça até a etapa de sinterização. Para essa etapa utilizou-se uma taxa de aquecimento de 2°C/min, para diminuir a possibilidade de formação de trincas no material, já fragilizado pela presença de poros. A temperatura máxima de sinterização foi de 1000°C, suficiente para densificação inicial do material

sem eliminação da porosidade formada. Por fim, as peças permaneceram nessa temperatura por 2h, tempo mínimo estudado nos planejamentos anteriores para sinterização.

Pode-se observar que a porosidade de todas as peças ficou entre 55,5% e 72,7%, valores normalmente citados na literatura para biocerâmicas porosas aplicadas em reconstruções ósseas (DOROZHKIN, 2010).

TABELA 12: PE-III (2³)

Amostra	Tipo do Agente	Granulometria μm	Proporção % em peso	Densidade		Porosidade	
				Verde	Sinterizado	Verde	Sinterizado
P1	BA	106-125	20	47,05	44,49	52,95	55,51
P2	CL			42,67	37,73	57,33	62,27
P3	BA	250-300		46,09	43,77	53,91	56,23
P4	CL			41,94	37,47	58,06	62,53
P5	BA	106-125	40	46,89	33,34	53,11	66,66
P6	CL			38,60	27,23	61,40	72,77
P7	BA	250-300		46,42	32,19	53,58	67,81
P8	CL			39,15	27,93	60,85	72,07

Para este planejamento também foi possível realizar a análise dos efeitos através do diagrama de pareto, como pode ser visto na figura 15. Com nível de confiança de 95% os fatores que apresentaram significância sobre a porosidade do material foram, em ordem decrescente de intensidade, a fração volumétrica do agente formador de poros (proporção) e o tipo do agente utilizado. A granulometria do agente formador de poros não se mostrou significativa sobre o resultado de porosidade das peças, provavelmente porque as faixas utilizadas não possuem diferença de tamanho significativa.

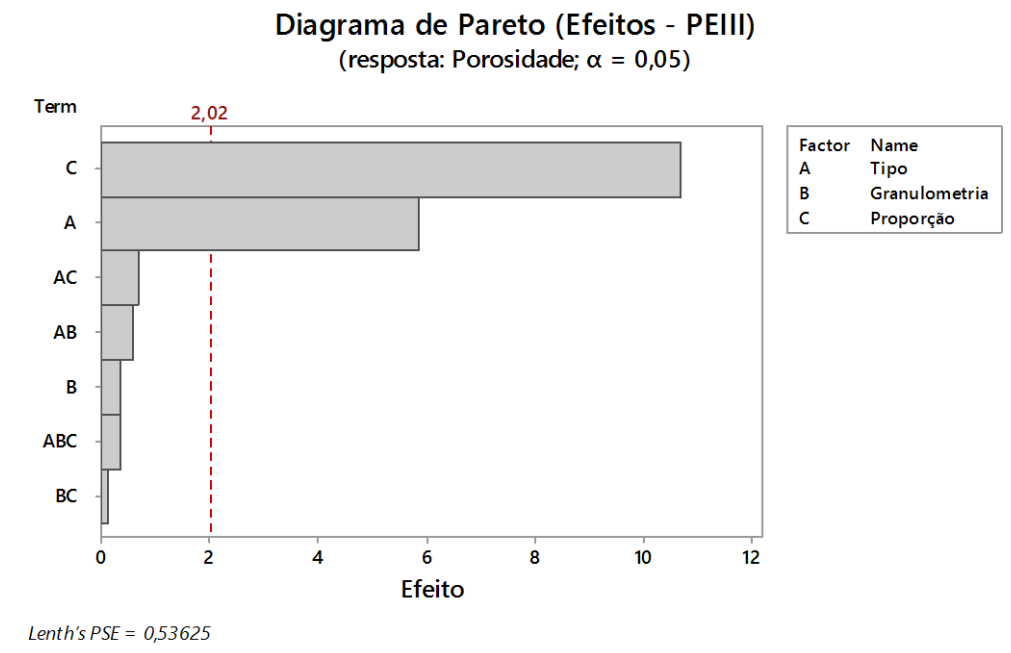


FIGURA 15: Diagrama de pareto mostrando os efeitos de 3 variáveis no processamento das biocerâmicas porosas.

Outra forma de visualização dos efeitos de cada variável principal, sem as interações, é através do gráfico mostrado na figura 16. Nele é possível observar que apesar de todos os efeitos terem o mesmo sentido, o nível alto (+1) proporciona maiores porosidades, se tratando de variáveis qualitativas, esse fato se torna apenas um acaso no planejamento. Por exemplo, o nível alto (+1) da variável “tipo de agente” é a cera de polietileno Licowax, que, no início do planejamento, poderia ter ocupado o menor nível (-1) e teríamos nesse gráfico um efeito de sentido contrário e mesma intensidade. Porém, também se percebe no gráfico, a intensidade do efeito da proporção e do tipo, bem acima daquele efeito causado pela granulometria do material, corroborando com o diagrama de Pareto.

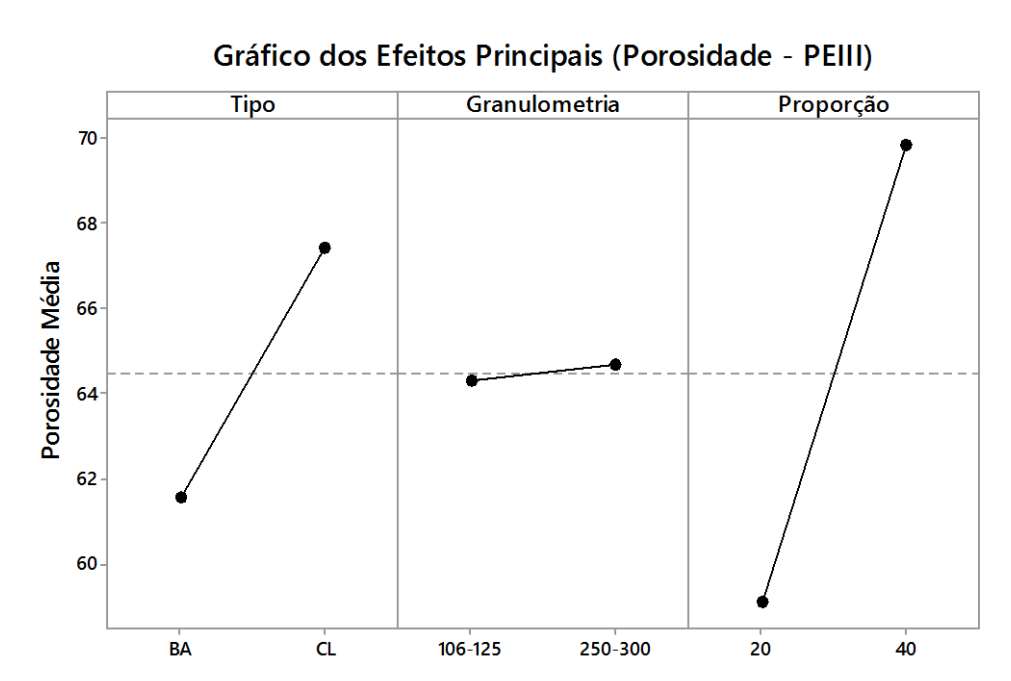


FIGURA 16: Gráfico dos efeitos principais sobre a porosidade das peças biocerâmicas.

5.3.2. Difração de Raios-X (DRX)

Como discutido na secção 5.1.3, sobre a baixa razão Ca/P do pó de fosfato de cálcio, a HAp não estequiométrica, com razão Ca/P diferente de 1,67 é instável em altas temperaturas, se decompondo acima de 700°C. Quando a razão Ca/P é maior que 1,67 a decomposição promove o surgimento de CaO. Quando a razão Ca/P é menor que 1,67 o material se decompõe em TCP. Por outro lado, a fase da HAp estequiométrica, com razão Ca/P de 1,67 pode ser estável em altas temperaturas, podendo chegar à 1100°C e a 1200°C ainda como HAp pura (DUAN *et al.*, 2012).

Para verificar a relação existente entre a razão Ca/P assumida para síntese e a razão real do material obtido, Duan *et al.*, em 2012, realizaram diversas sínteses com polióis com diferentes razões assumidas de Ca/P (1,67; 1,675; 1,68; 1,685; 1,69 e 1,72) e todas foram tratadas a 1100°C. A razão Ca/P de 1,685 foi o divisor de águas: àquelas sintetizadas com razão menor que 1,685 apresentaram picos de TCP com intensidade inversamente proporcional a razão Ca/P; já aquelas com razão maior que 1,685 apresentaram picos de CaO com intensidade diretamente proporcional à razão Ca/P. Já a que apresentava razão igual a 1,685 à 1100°C permaneceu em fase única e pura de HAp, demonstrando estabilidade inerente à HAp estequiométrica (Ca/P=1,67). Observa-se que o autor utilizou diversas razões Ca/P iniciais maiores que 1,67, somado à utilização

de polióis. Com isso, concluiu que, com a utilização de polióis, a razão mais próxima que permitiu a obtenção de HAp pura após tratamento térmico à 1100 °C, foi aquela de 1,685.

Uma análise similar foi realizada no mesmo trabalho, para avaliar a estabilidade da fase β -TCP que, quando estequiométrica, possui razão Ca/P de 1,5. Para isso sintetizaram uma amostra com polióis e outra sem. Porém, assumindo uma razão Ca/P inicial de 1,514 para ambas que também foram aquecidas a 700°C e 1100°C. A amostra livre de poliol permaneceu como HAp à 700°C e à 1100°C transformou-se parte em BTCP, com uma pequena quantidade de HAp. Já a amostra sintetizada com poliol iniciou sua transformação em BTCP ainda em 700°C e quando em 1100°C estava completamente transformada em BTCP demonstrando estabilidade. Conclui-se que a utilização do poliol foi vital para a quase perfeita uniformidade da mistura entre os reagentes e, consequentemente, estabilidade térmica das fases pretendidas (DUAN *et al.*, 2012).

As figuras 17, 18, 19 e 20, mostram os difratogramas de raios-X obtidos das amostras D1, D8, D10 e P7 sinterizadas à 900°C, 1100°C, 1000°C e 1000°C, respectivamente. Como visto anteriormente no detalhamento dos planejamentos, as amostras permaneceram por diferentes tempos no forno, com diferentes taxas de aquecimento. Independente de todas as variáveis empregadas, para a análise de fases por DRX, o que se pode notar é a formação de uma segunda fase de β -TCP junto à fase de HAp. Isso já era esperado devido a baixa razão Ca/P do pó inicial, o que promoveu a decomposição de parte da HAp em β -TCP, fato observado por diversos autores (DUAN *et al.*, 2012, MOSTAFA, 2005, PANG e BAO, 2003, OLIVEIRA *et al.*, 2012).

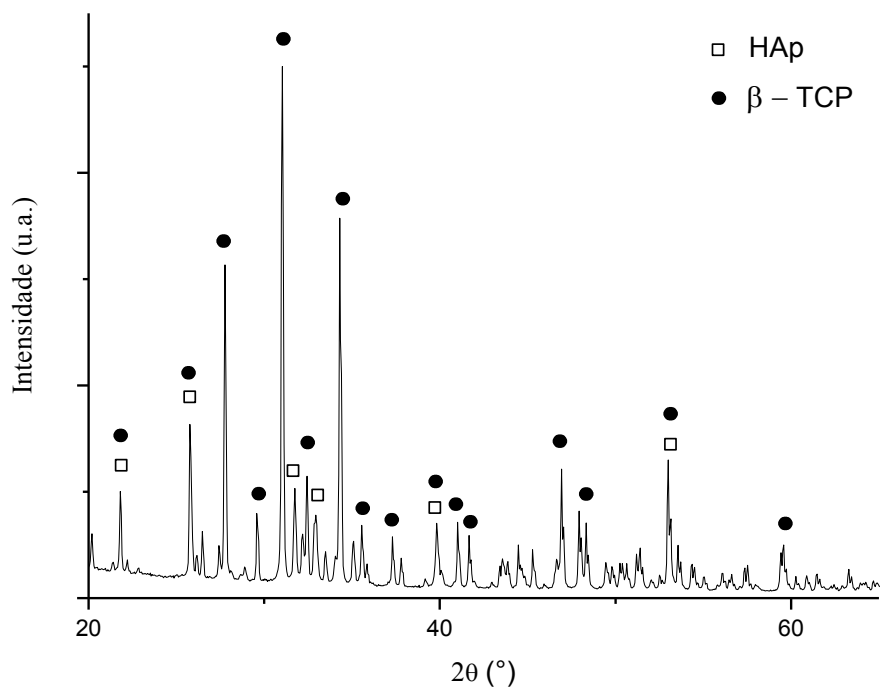


FIGURA 17: Difratograma de raios-X da amostra densa D1.

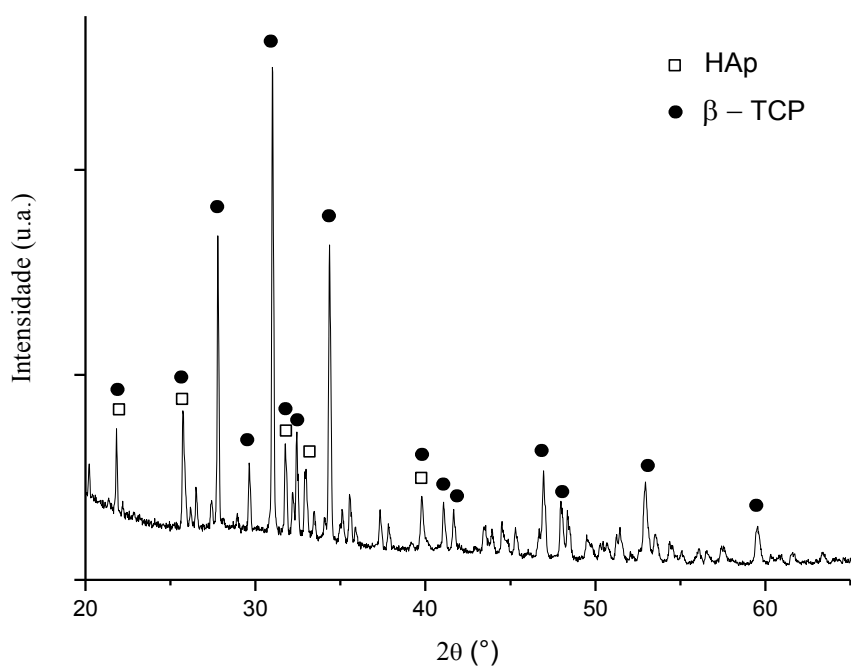


FIGURA 18: Difratograma de raios-X da amostra densa D8.

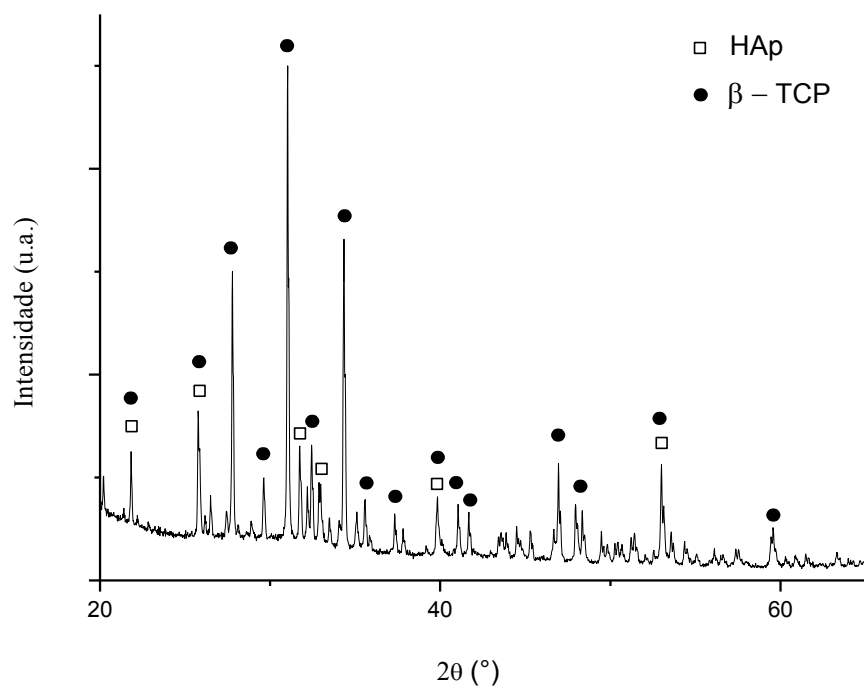


FIGURA 19: Difratograma de raios-X da amostra densa D10.

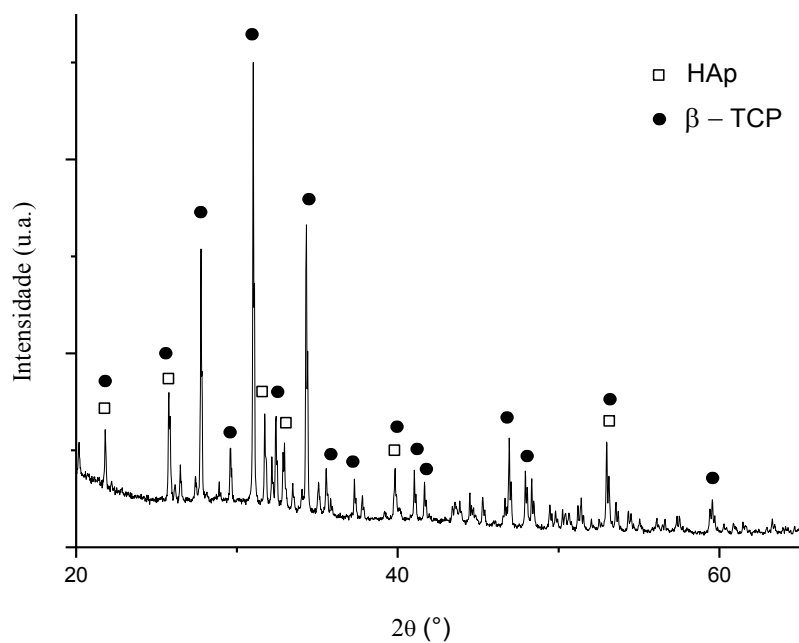


FIGURA 20: Difratograma de raios-X da amostra Porosa P7.

Considerando a temperatura foi eleita como o parâmetro de maior significância para a densidade/porosidade, no caso da análise de fases não foi possível realizar essa verificação, o que demandaria um longo estudo com análises de fases de todas as amostras envolvidas no planejamento, bem como a quantificação acurada da relação de fases. Por enquanto, o que se pode notar na figura 21 são os difratogramas agrupados das amostras supracitadas para fins de comparação. É possível observar que apesar de todas as diferenças relacionadas aos parâmetros de síntese existente entre as amostras, não foi verificada nenhuma diferença significativa em relação às fases das peças. Todas apresentaram picos de β -TCP associados a HAp.

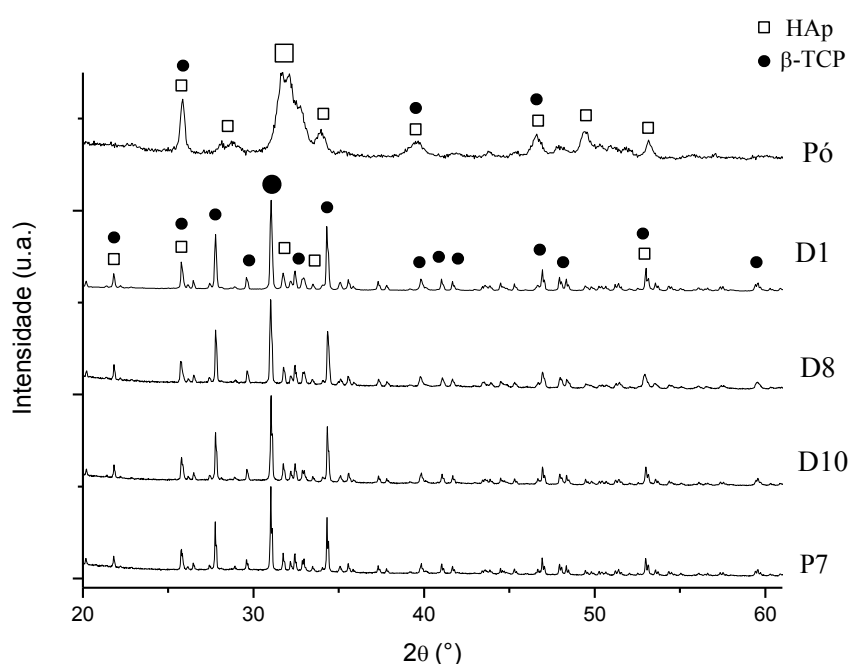


FIGURA 21: Difratograma de raio-X comparativo do pó sem tratamento térmico e das amostras densas, D1, D8, D10 e porosas, representadas pela amostra P7

A partir de informações extraídas da análise de DRX foi possível obter a relação de fases das amostras D1, D8, D10 e P7, como mostrado na tabela 13 com a Relação de Intensidade Relativa da HAp e do TCP das peças analisadas, extraídas a partir das equações 6 e 7 e expressa em %. Comparado com os valores de relação de fases HAp/ β -TCP da tabela 4 do tópico 2.4, notar-se-á que essas amostras apresentam nível similar de relação de fases ao utilizado na fabricação de biocerâmicas.

TABELA 13: Relação de Intensidade Relativa

Amostra	RIR HAp	RIR BTCP
D1	17%	83%
D8	21%	79%
D10	21%	79%
P7	21%	79%

5.3.3. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR)

As figuras 22, 23, 24 e 25 mostram a análise de FTIR das amostras D1, D8, D10 e P7, respectivamente. A amostra D1 (PE-I) foi sinterizada à 900°C (2°C/min por 2h), já a amostra D8 (PE-I) foi sinterizada à 1100°C (20°C/min por 4h). As amostras D10 e P7 foram sinterizadas à 1000°C, com taxas de 5°C/min. e 2°C/min, respectivamente, ambas por 2h. A presença e relação de fases não foi uma variável resposta estudada no planejamento. Dessa forma, não é possível estabelecer comparações entre as amostras sinterizadas no tocante presença de fases, visto que cada amostra foi tratada com diferentes parâmetros e não se sabe qual estaria relacionado a cada resultado encontrado. No entanto, a identificação dos picos foi realizada e pode ser comparada àquela realizada no pó de HAp, matéria-prima de todas as peças fabricadas.

A banda 3570cm⁻¹ identificada nas amostras D8, D10 e P7, corresponde ao grupamento hidroxila e está associada a maior cristalinidade do material. Essa mesma banda não foi encontrada na amostra do pó de HAp, como visto no tópico 5.1.2. figura 4. A hidroxila também está relacionada a toda a extensão entre a banda 2500cm⁻¹ a 3700cm⁻¹, encontrada na amostra do pó e que nas amostras sinterizadas se apresenta menor, de 3100cm⁻¹ a 3600cm⁻¹, como visto na amostra D1 e igualmente observada nas demais. Normalmente essa extensa banda possui um pico de maior intensidade, que na amostra D1 e P7 está em torno de 3430cm⁻¹, na amostra D8 está em 3440cm⁻¹ e na amostra D10 em 3460 (PANG e BAO, 2003, LIM *et al.*, 1999).

Nas amostras D1 e P7 é possível observar a presença de uma banda em torno de 2930cm⁻¹ que na amostra D10 está deslocado para 2920cm⁻¹ e praticamente ausente na amostra D8. De acordo com Duan, 2012, essa banda é característica de CH₃. Já a amostra D1 e P7 apresentam a banda 2840cm⁻¹, relacionada ao estiramento da ligação

C-H, que na amostra D10 está deslocada para 2850cm^{-1} e ausente na amostra D8 (DUAN *et al.*, 2012).

A amostra D8 foi a única a apresentar duas bandas em torno de 2000cm^{-1} e 2070cm^{-1} que estão relacionadas ao PO_4^{3-} , também mencionada por Giraldo-Betancur *et al.*, em 2013, sobre uma amostra de HAp de origem bovina após passar por um tratamento térmico para remoção de matéria orgânica e depois ser mantida à 900°C por 3h (GIRALDO-BETANCUR *et al.*, 2013).

A amostra D1 apresenta a banda 1630cm^{-1} , característica de deformação por estiramento de OH, ausente em todas as outras amostras (DUAN *et al.*, 2012). Já a amostra P7 também é a única a apresentar a banda 1540cm^{-1} correspondente ao grupamento CO_3^{2-} (RABELO NETO, 2009).

De acordo com Pang e Bao (2003) as bandas encontradas dentro da faixa entre 900cm^{-1} e 1200cm^{-1} são característicos de grupamentos fosfatos. Essa faixa pode ser visualizada nas amostras D1 e P7 e com maior extensão nas amostras D10 e principalmente D8. Dentro dessa faixa é possível encontrar a banda 940cm^{-1} que está relacionada com a cristalinidade do material de acordo com o mesmo autor.

As bandas $600\text{cm}^{-1}/610\text{cm}^{-1}$ e $540\text{cm}^{-1}/550\text{cm}^{-1}$ estão relacionadas com a presença de grupamento fosfato e podem ser encontradas em todas as amostras analisadas (RABELO NETO, 2009, OLIVEIRA, *et al.*, 2012).

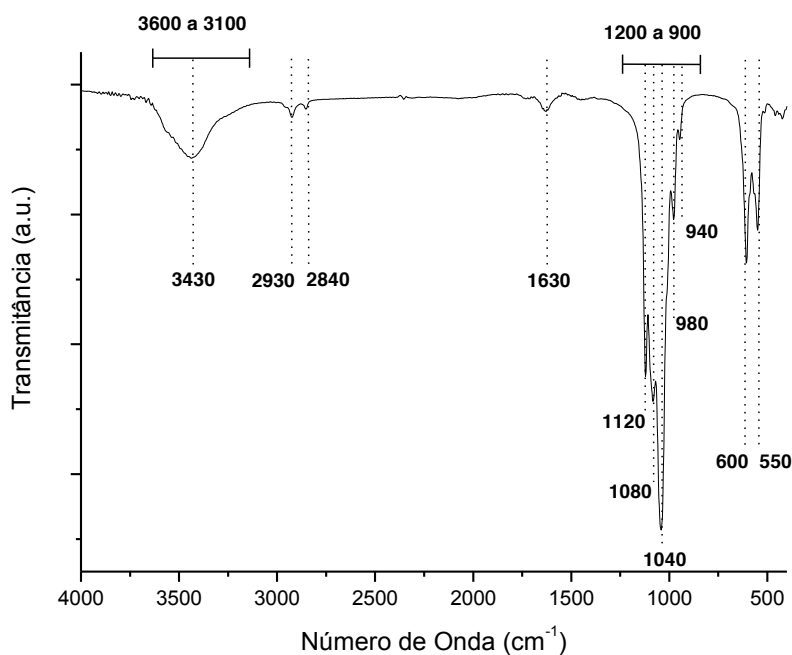


FIGURA 22: Espectro FTIR do da amostra D1.

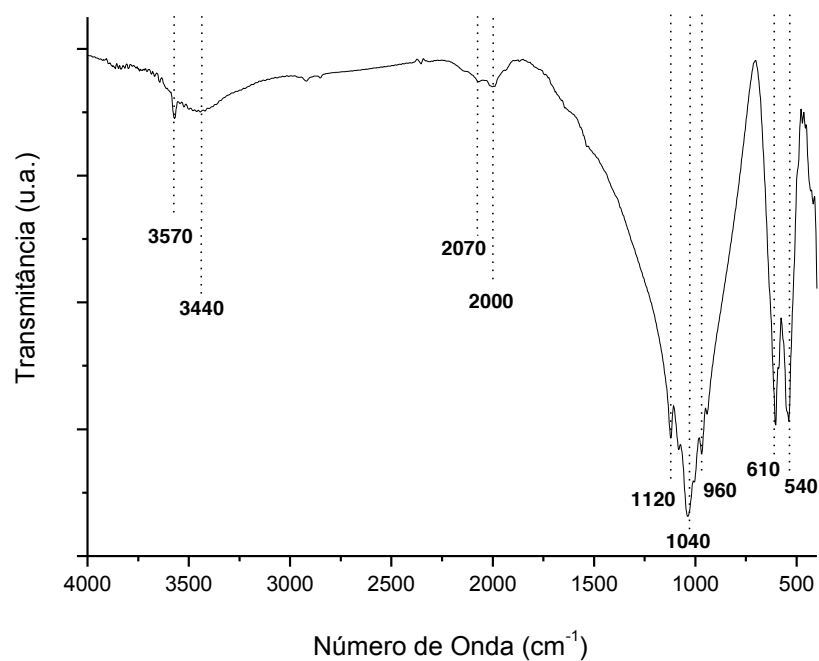


FIGURA 23: Espectro FTIR do da amostra D8.

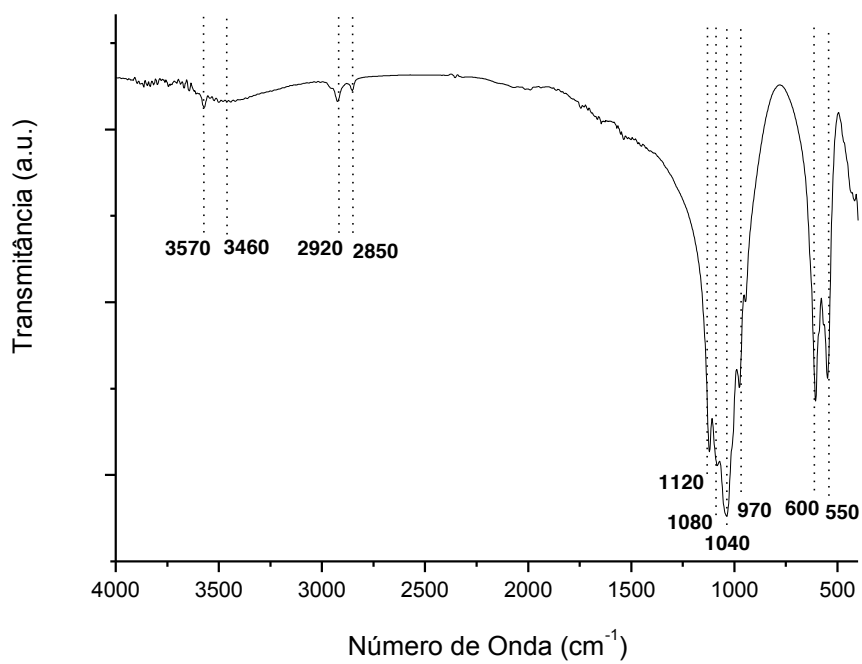


FIGURA 24: Espectro FTIR do da amostra D10.

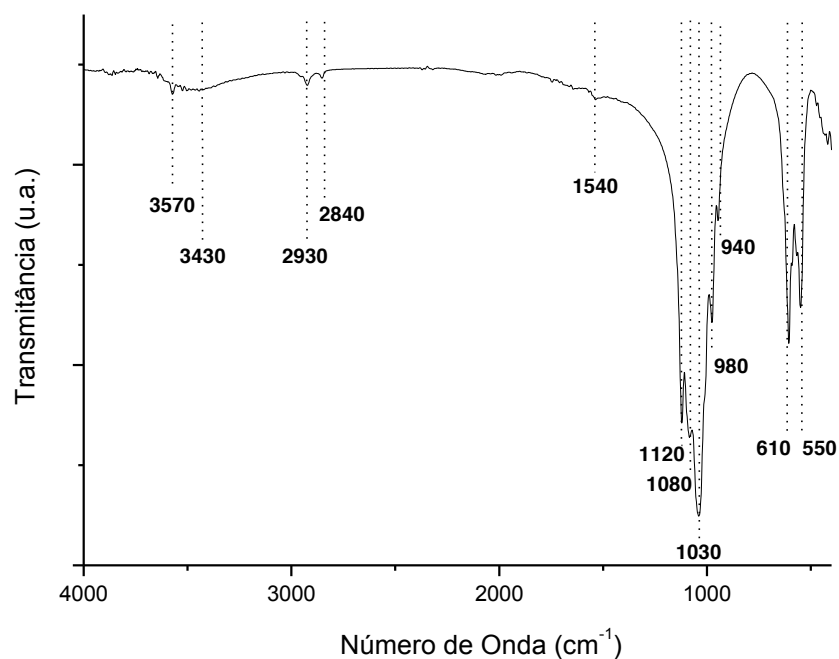


FIGURA 25: Espectro FTIR do da amostra P7.

Na figura 26 estão agrupados todos os espectros das amostras supracitadas para fins de comparação. É possível observar que apesar de todas as diferenças relacionadas aos parâmetros de síntese existente entre as amostras, não foi verificada nenhuma presença de grupamento diferente da composição bifásica de β -TCP/HAp.

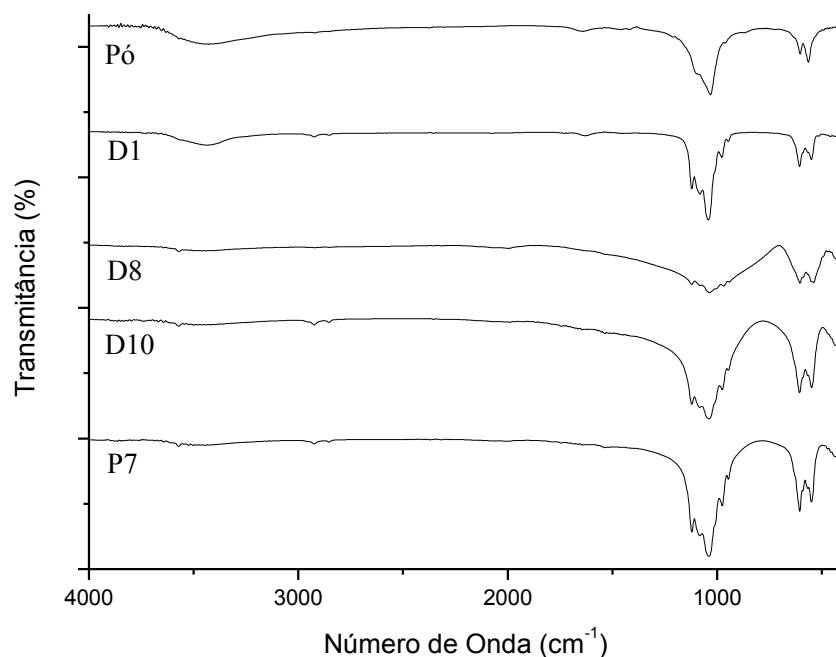


Figura 26: Espectro FTIR do pó e das amostras processadas: D1, D8, D10 e P7.

5.3.4. Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo e Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios-X (MEV/FEG-EDS)

As imagens apresentadas na figura 27 (a, b, c e d) são referentes a micrografias obtidas pela análise de MEV/FEG das amostras D1, D2, D3 e D4 (PE-I), respectivamente. O único parâmetro comum a todas as amostras é a temperatura de sinterização de 900°C. A densidade apresentada após a sinterização variou de 52,5% a 60,8%, valores não muito diferentes daqueles encontrados nas peças ainda verdes, o que poderia levar a suspeita da sinterização incompleta das peças. Porém, ao analisar as imagens de MEV/FEG nota-se que as partículas do pó não apresentam contornos bem definidos, devido à coalescência e formação de pescoços, caracterizando o primeiro estágio da sinterização. Mostafa, em 2005, relacionou esse fato com a razão Ca/P do pó. O autor sintetizou HAp por diferentes rotas, formando um pó deficiente em cálcio e outro estequiométrico. Aquele deficiente em cálcio apresentou as características referentes o primeiro estágio da sinterização entre 900°C e 1000°C, enquanto que o pó estequiométrico apresentou as mesmas características apenas na faixa de temperatura

entre 1000°C e 1050°C. O autor concluiu que a coalescência entre as partículas ocorre em temperatura mais baixa com pós com baixa razão Ca/P (MOSTAFA, 2005).

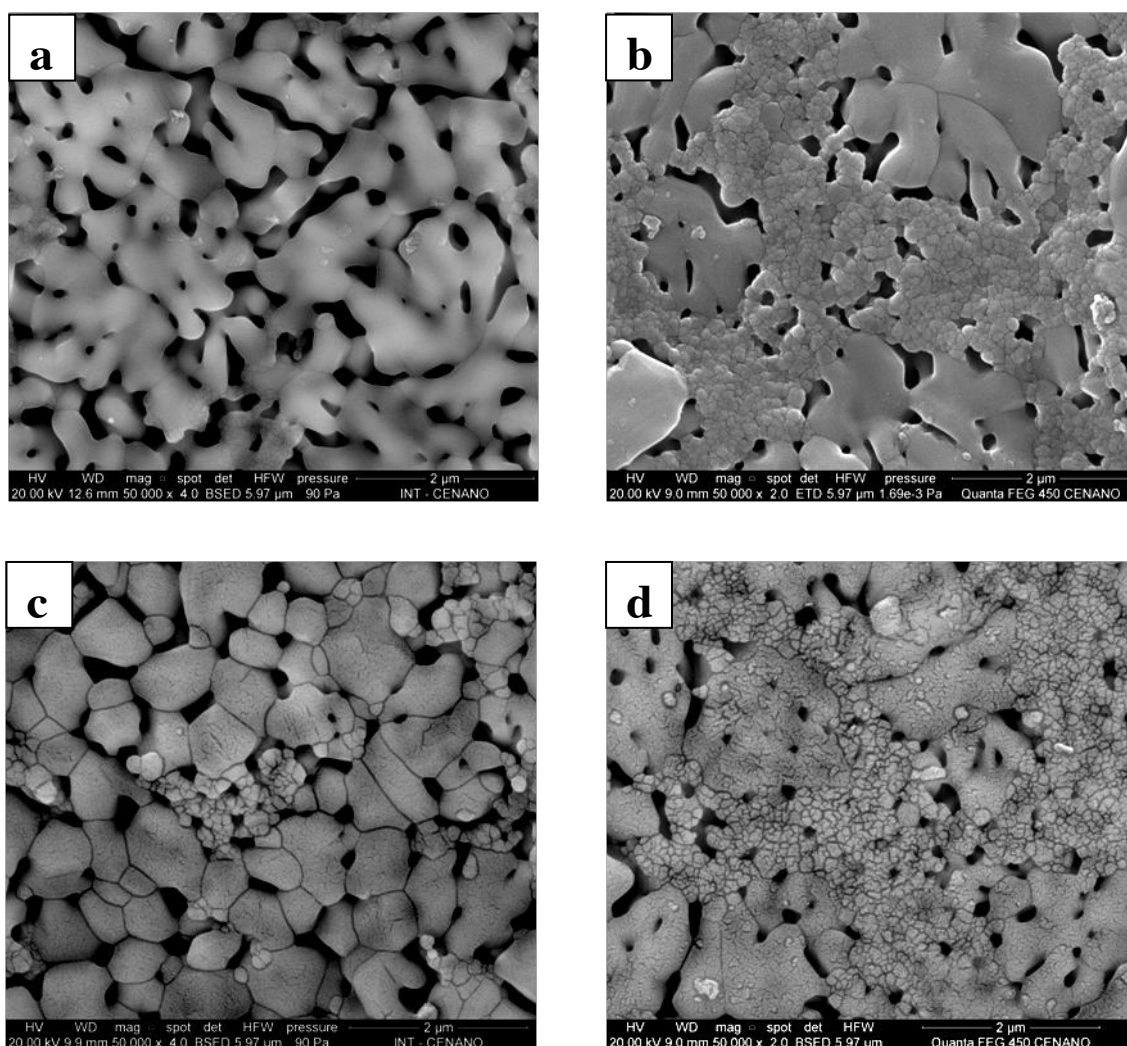


FIGURA 27: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-I sinterizadas à 900°C: (a) D1; (b) D2; (c) D3; (d) D4.

A figura 28 (a, b, c e d) apresenta as micrografias das amostras D5, D6, D7 e D8 (PE-I), respectivamente, as quais também possuem em comum a temperatura de sinterização de 1100°C. Devido a maior temperatura a densidade dessas peças aumentou em até 43% após a sinterização, apresentando densidade final entre 92,7% e 99,1%. O acentuado aumento da densidade que ocorreu nessa temperatura caracteriza o segundo estágio da sinterização, a densificação (MOSTAFA, 2005).

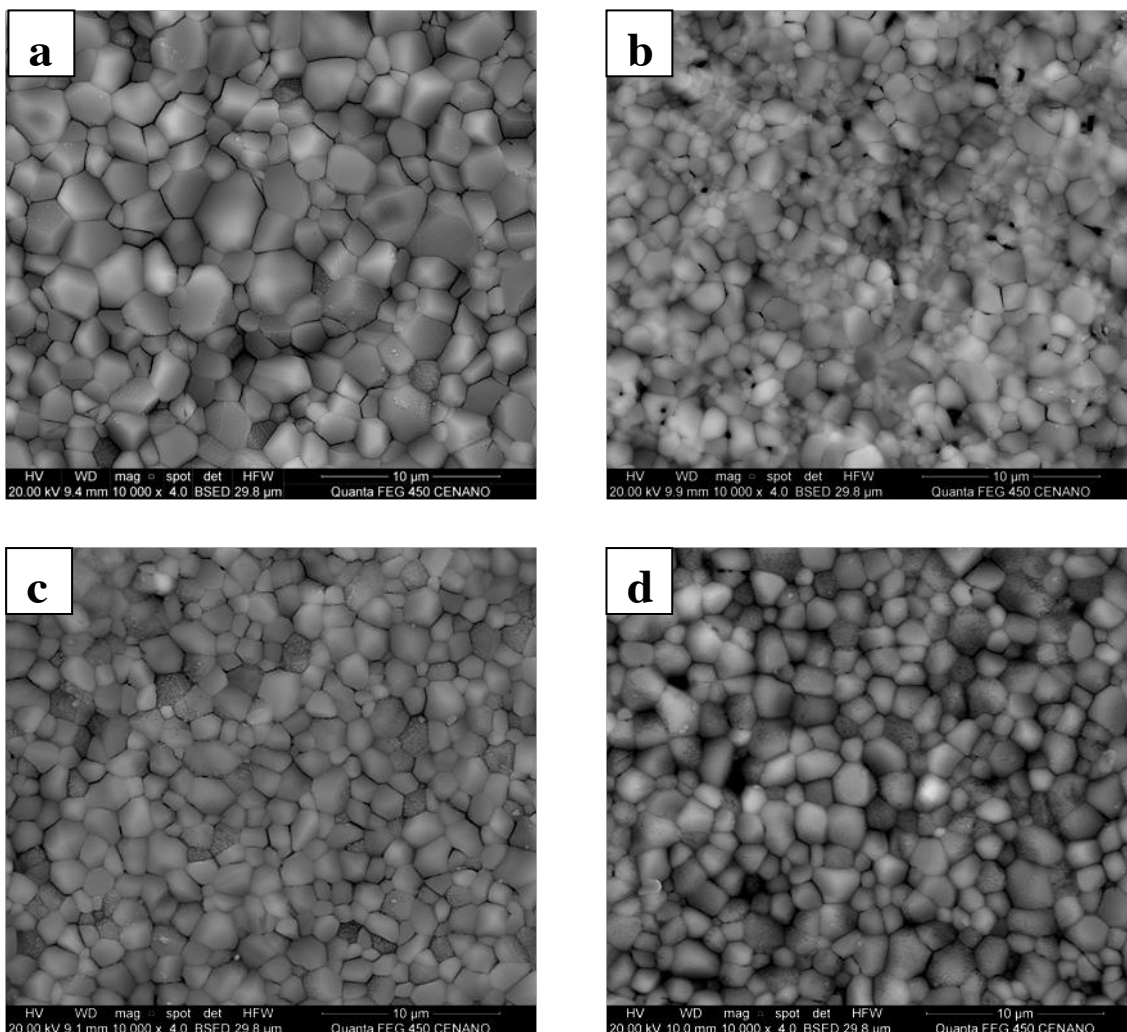


FIGURA 28: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-I sinterizadas à 1100°C: (a) D5; (b) D6; (c) D7; (d) D8.

Outro importante aspecto analisado nas micrografias diz respeito a pressão de compactação. Apesar de não ter sido um parâmetro que apresentou efeito significativo sobre a densidade das peças, foi possível observar um padrão entre as amostras compactadas à 200MPa e aquelas compactadas à 400MPa. Dentro do primeiro grupo de amostras, sinterizadas à 900°C e representados na figura 28, nota-se que as amostras D1 e D3, compactadas à 200MPa, possuem maior homogeneidade do que as amostras D2 e D4, compactadas à 400MPa e que apresentam ilhotas de pequenos grãos espalhadas por toda a superfície. Como podemos ver na tabela 14 o mesmo ocorre quando comparamos as amostras D5 e D7, compactadas à 200MPa, com D6 e D8, compactadas à 400MPa e todas sinterizadas à 1100°C,

TABELA 14: Tamanho de Grão das amostras sinterizadas à 1100°C

Amostra	Tamanho de Grão (μm)
D5	$1,53 \pm 0,05$
D6	$1,07 \pm 0,08$
D7	$1,28 \pm 0,02$
D8	$1,30 \pm 0,03$

A partir de análise de imagens foi possível verificar o tamanho de grão das amostras, indicado na tabela 14 com nível de confiança de 95%. Esses valores sugerem que as amostras D5 e D7 possuem maior tamanho médio de grão quando comparadas ao grupo de amostras D6 e D8. Esse resultado segue a tendência das amostras D1 a D4, de apresentar uma granulação nas amostras compactadas a maiores pressões. A hipótese para esse fenômeno é que altas energias de compactação seriam responsáveis pela quebra de partículas em estruturas menores e mais irregulares, que no início da sinterização (amostras D2 e D4), são bem visíveis dando um aspecto granulado ao material, e quando sinterizadas à maiores temperaturas, amostras D6 e D8, coalescem formando grãos menores do que aqueles formado pelo material compactado à 200MPa. A quebra das partículas do pó pelo processo de compactação dá origem a partículas menores e como consequência o tamanho do grão resultante é menor.

Se compararmos individualmente as amostras D7, compactada a 200MPa, e D8, compactada a 400MPa, não teremos evidência dessa diferença no tamanho de grão. Certamente, isso ocorre devido o tempo de sinterização. Enquanto a amostra D7 ficou apenas 2h sob a temperatura de 1100°C, a amostra D8 que deveria apresentar menores tamanhos de grãos de acordo com a teoria supracitada, permaneceu sob a ação da temperatura por 4h, o que pode ter compensado o efeito, permitindo o crescimento dos grãos.

A figura 29 representa o EDS de uma das amostras D1 a D8, que apresentaram grande semelhança com picos mais acentuados de fósforo, cálcio e oxigênio, característicos do material. O carbono pode indicar a presença de carbonatos na estrutura causando substituições em pequena escala, ou mesmo devido à atmosfera circundante. Já o sódio pode estar relacionado a resquícios de subprodutos (NaCl) da reação de síntese.

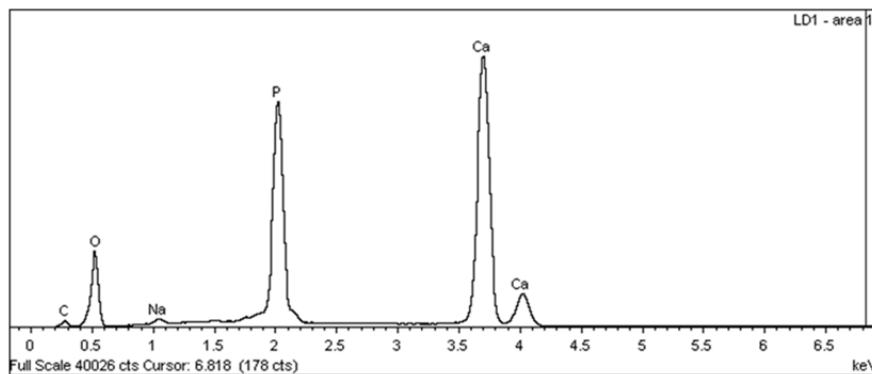


FIGURA 29: EDS de uma das amostras do PE-I.

A figura 30 (a, b, c e d) apresenta as micrografias das amostras do PE-II, D9, D10, D11 e D12, respectivamente. Assim como no PE-I é possível notar que as amostras sinterizadas à 1100°C foram quase que completamente densificadas, apresentando densidade de 92% (D11) e 95,4% (D12). Acredita-se que a diminuição da pressão de compactação do PE-I para o PE-II, onde o nível alto (+1) desse parâmetro foi de 400MPa para 200MPa, foi a responsável pela diminuição da densidade máxima que antes havia sido de 99,1%. Porém, como a pressão de compactação não se mostrou significativa para o processo de densificação, a busca pela maior densidade do material, quando necessária, deve ser feita com o aumento da temperatura de sinterização e não pelo aumento da pressão de compactação, que deve ser o suficiente apenas para a conformação do material e permitir sua manipulação até a etapa de sinterização. A ideia é maximizada pelas micrografias das amostras D9 e D10, compactadas à 100 e 200MPa, respectivamente, que não apresentam aquela granulação das amostras compactadas a pressões de 400MPa (D2 e D4).

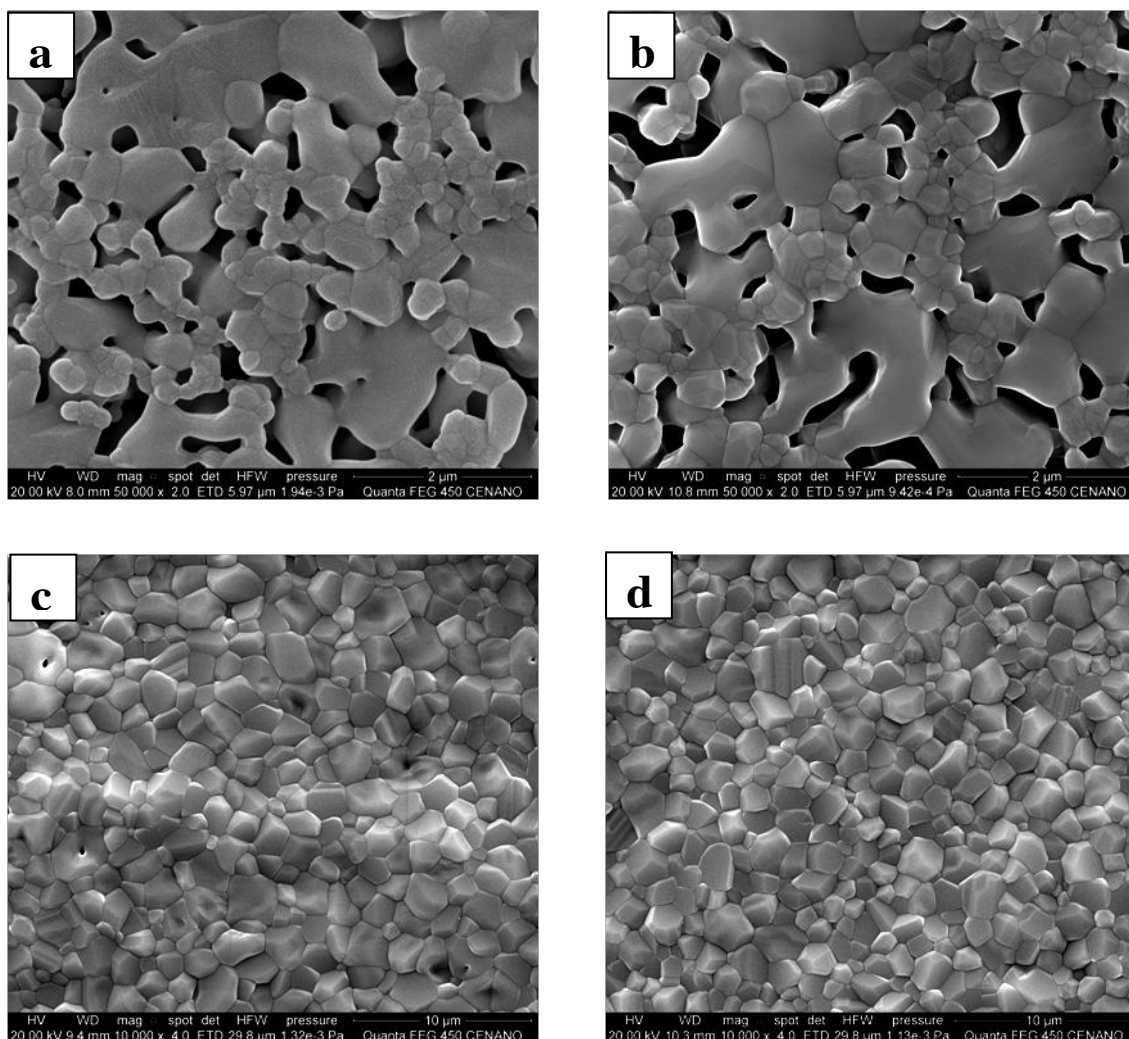


FIGURA 30: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-II: (a) D9; (b) D10; (c) D11; (d) D12.

A figura 31 apresenta as amostras de pontos centrais do PE-II compactadas e sinterizadas à 150MPa e 1050°C, respectivamente. É possível observar uma densificação intermediária do material, como era esperado, quando comparadas às imagens das amostras D9 a D12. Como foi visto na seção 5.3.1, figura 14 à 1050°C é quando se inicia o estágio de sinterização onde há maior densificação do material. E isso pode ser observado pelo fato de que essas amostras sinterizadas à 1050°C apresentavam densidade em torno de 70%, com o aumento da temperatura para 1100°C (amostras D5 ao D8), com apenas 50°C de diferença, as densidades das amostras aumentam para 92,7%, 93,5%, 96,9% e 99,1%, respectivamente.

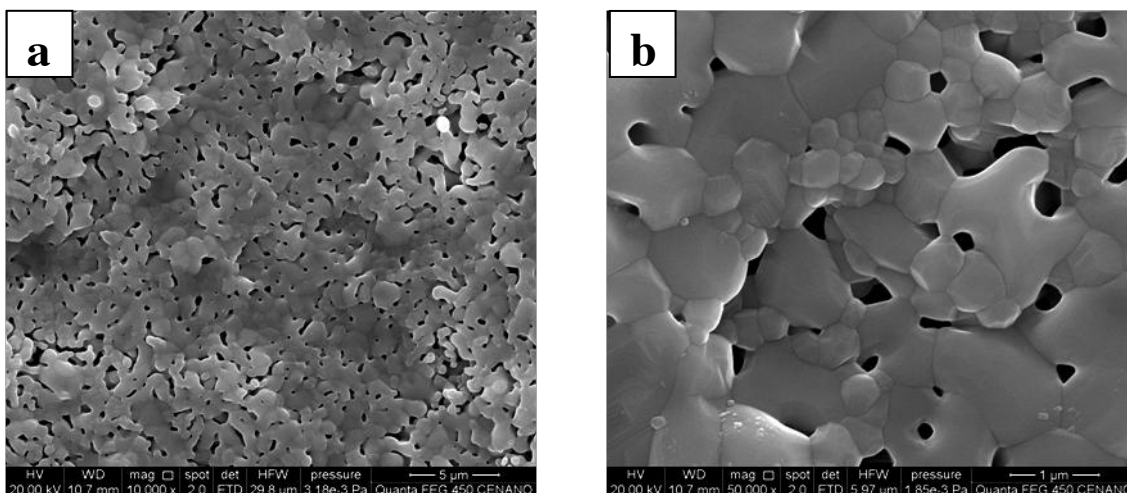


FIGURA 31: Imagens de MEV/FEG das amostras DPC do PE-II com diferentes aumentos: (a) 10000X; (b) 50000X.

As figuras 32 e 33 apresentam as micrografias com aumento de 10000X das amostras referentes ao PE-III, onde se estudou a significância das variáveis relacionadas ao agente formador de poros sobre a porosidade do material. As micrografias foram separadas em 2 grupos de acordo com a fração volumétrica de formador de poros utilizado, como visto no tópico 5.3.1 essa foi a variável que demonstrou maior significância na porosidade final do material. O primeiro grupo (fig. 32) engloba as amostras P1, P2, P3 e P4 que possuem 20% de formador de poros. Já o segundo grupo (fig. 33) é formado pelas amostras P5, P6, P7 e P8, que possuem 40% de formador de poros.

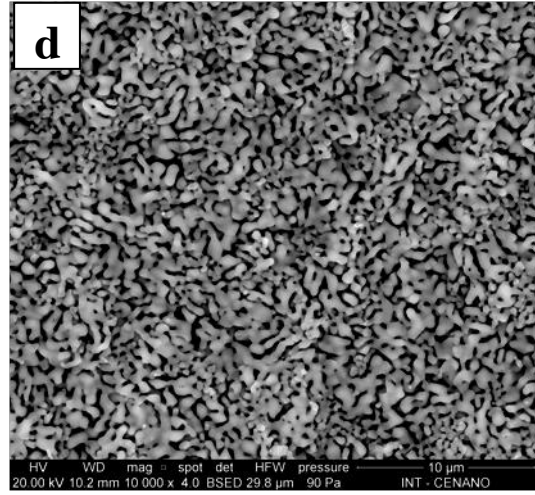
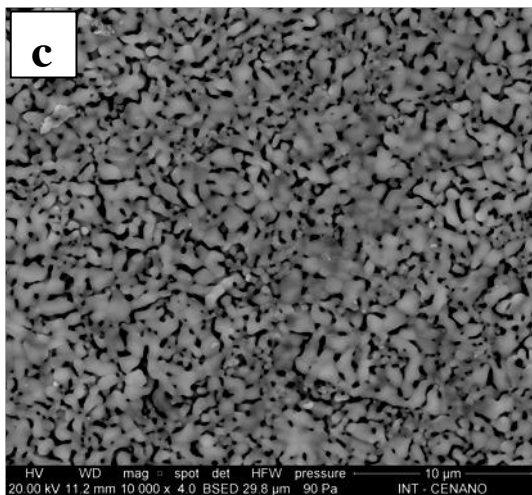
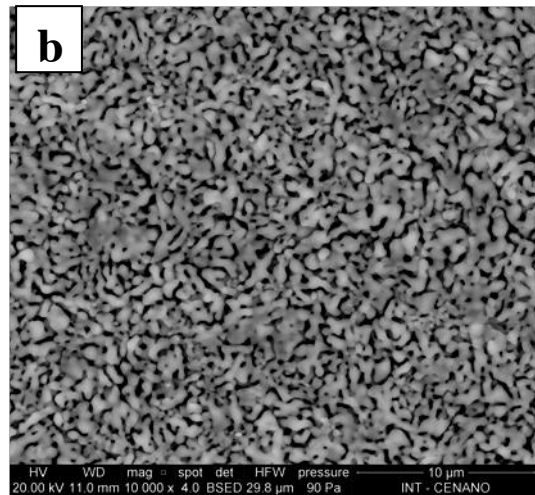
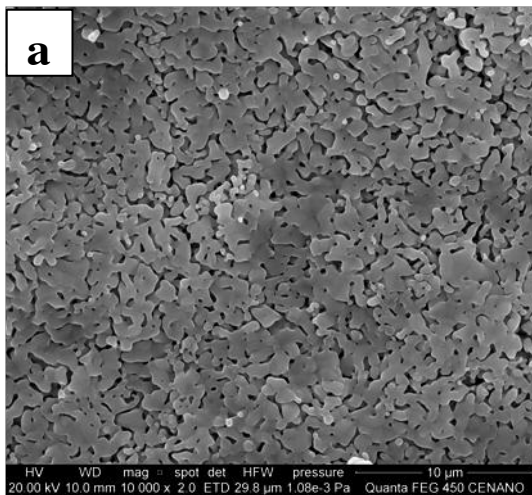


FIGURA 32: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 10000X:
(a) P1; (b) P2; (c) P3; (d) P4.

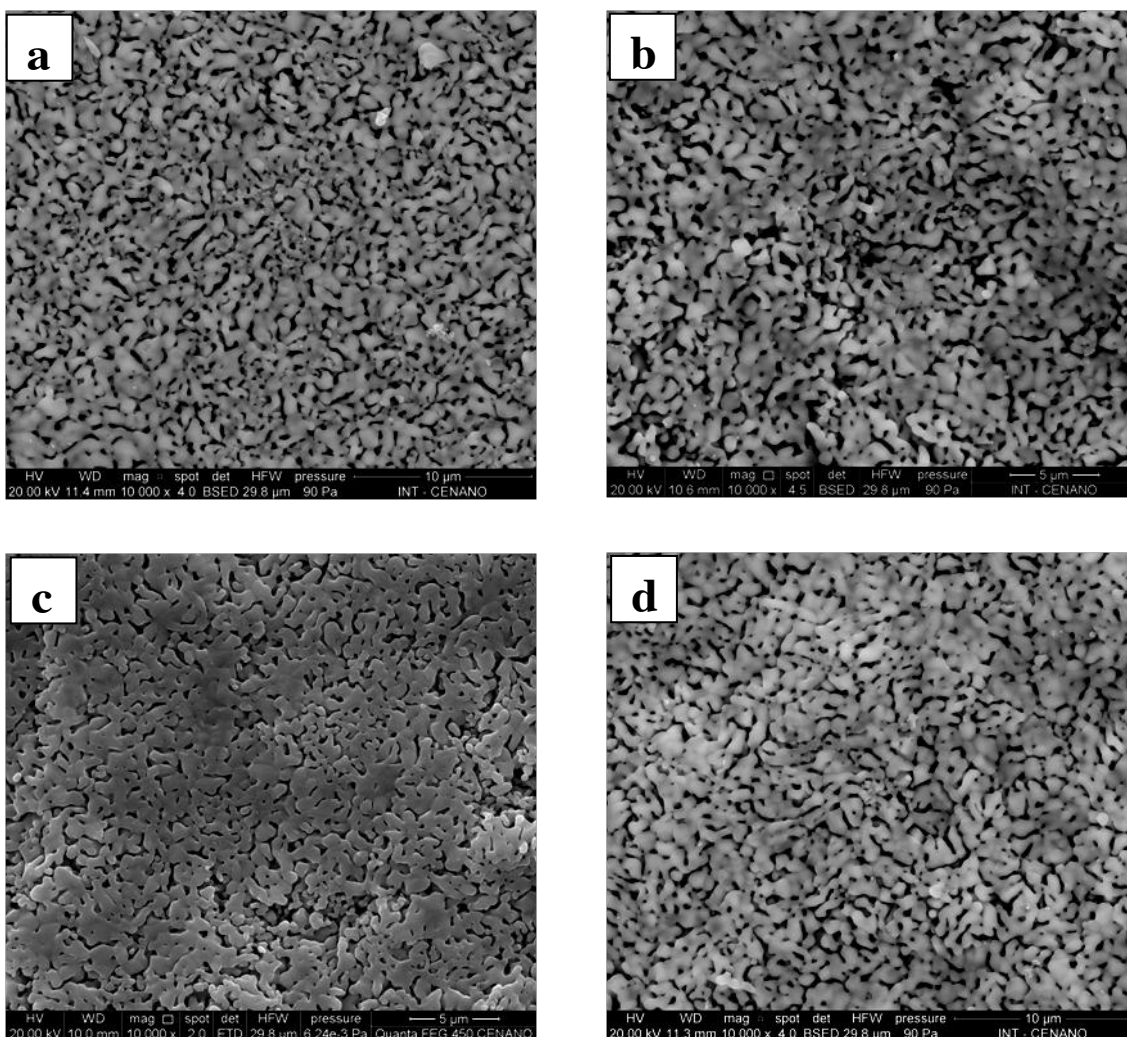


FIGURA 33: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 10000X:
(a) P5; (b) P6; (c) P7; (d) P8.

As figuras 34 e 35 são referentes as mesmas amostras (P1 a P8), porém com aumento de 50000X. Foram igualmente separadas nos 2 grupos de amostras de acordo com a fração volumétrica de formador de poros utilizado. Esses grupos ainda podem ser subdivididos e analisados de acordo com o tipo de formador de poros utilizado: a esquerda de cada grupo estão as amostras processadas com bicarbonato de amônio (BA) e a direita as amostras processadas com a cera de polietileno (CL).

Observa-se que as microestruturas das amostras são similares em ambos os aumentos, apresentando distribuição uniforme de tamanho de poros. Observa-se que a amostra P1 apresenta menor porosidade, o que corresponde ao valor da porosidade apresentado na tabela 13. As amostras P2, P4 e P6, obtidas com CL como formador de poros parecem apresentar maior interconectividade dos poros, provavelmente devido à

menor volatilização da CL com relação ao BA, que mantém por mais tempo sua forma e tamanho durante o processamento.

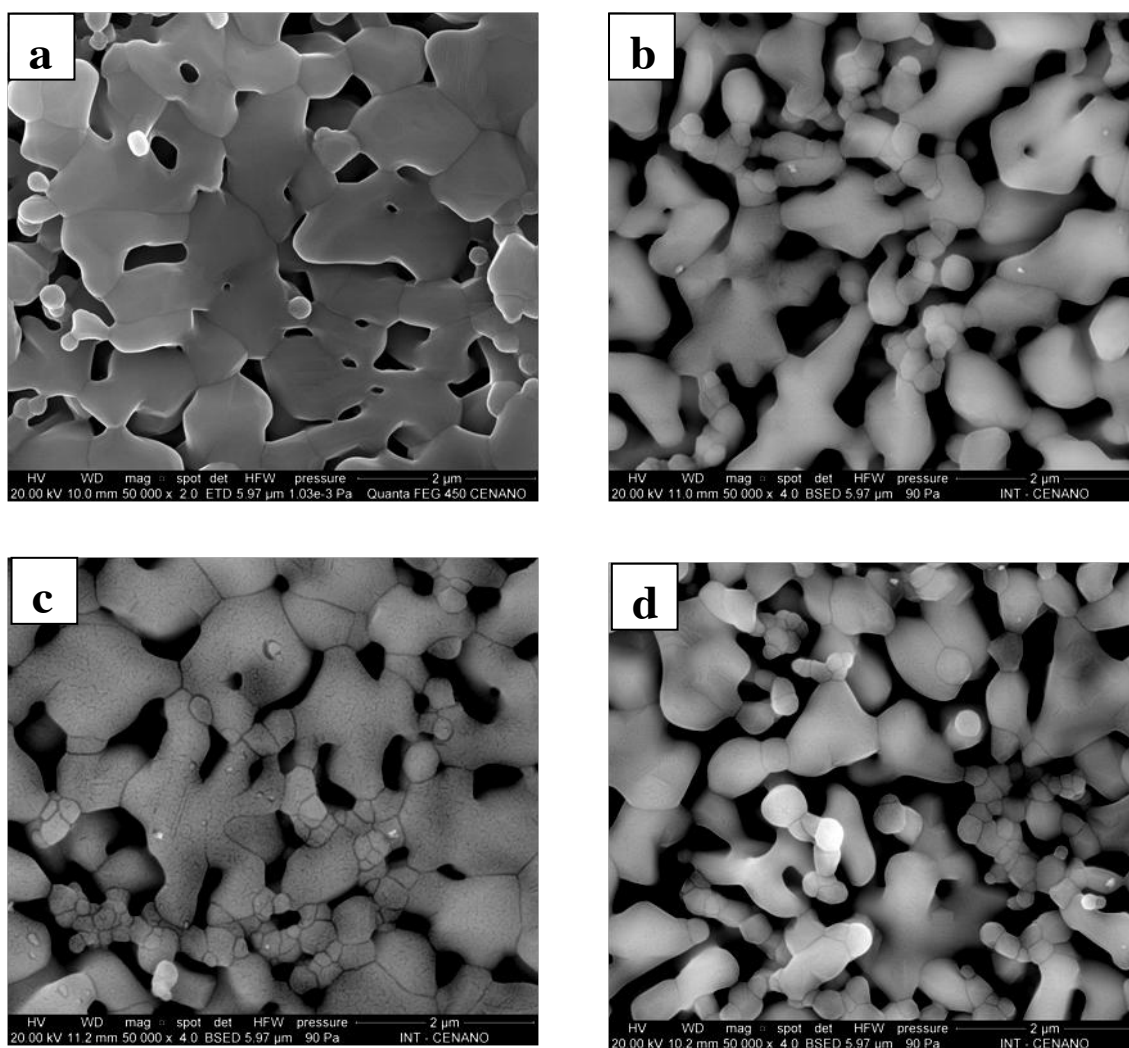


FIGURA 34: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 50000X:

(a) P1; (b) P2; (c) P3; (d) P4.

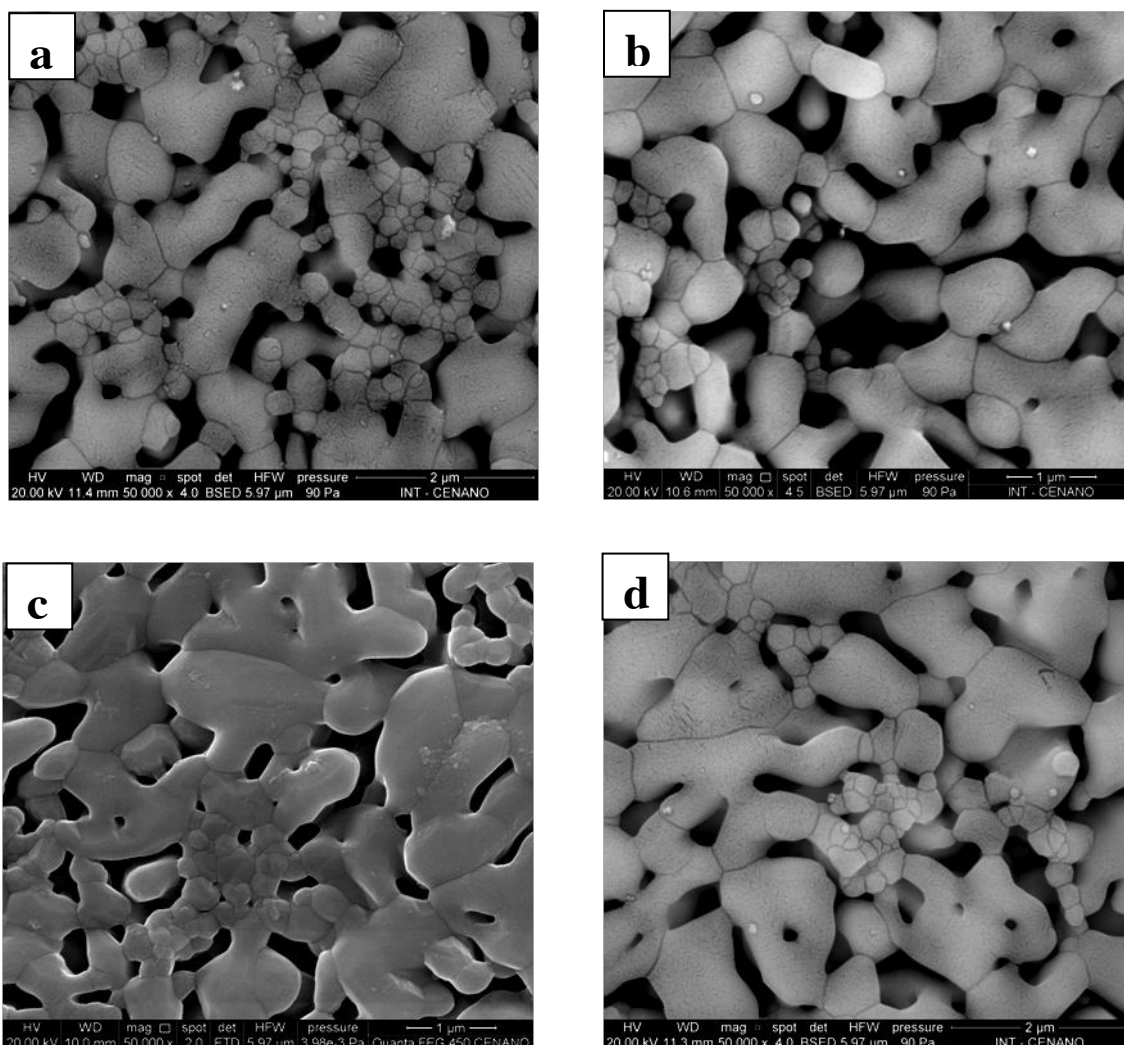


FIGURA 35: Imagens de MEV/FEG das amostras do PE-III com aumento de 50000X:
(a) P5; (b) P6; (c) P7; (d) P8.

É possível observar as amostras D1 a D4 do PE-I e D9 e D10 do PE-II, apresentaram microporos ($<10\mu\text{m}$). Igualmente, as amostras P1 a P8 do PE-III apresentaram microporos. As amostras D5, D7 e D8 do PE-I e D11 e D12 do PE-II não apresentaram microporos visíveis em aumento de 10.000X e a amostra D6 do PE-I apresenta pequena quantidade de microporos, cuja porosidade pode ser considerada residual. Esse resultado é condizente com a densidade dessas amostras que é superior a 92%. Não é possível observar a presença de macroporos ($>100\mu\text{m}$) em todas as amostras nos aumentos observados. É possível que a granulometria do agente formador de poros fosse significativa se as amostras fossem analisadas em baixos aumentos e o tamanho dos macroporos fosse tomado como variável resposta.

A presença de microporos aumenta a área superficial específica, melhorando adsorção de proteínas no material. Zhu *et al* sugerem que uma distribuição de microporos nas paredes dos macroporos é importante para a adsorção de proteínas com baixo peso molecular, como TGF- β 1 (fator de crescimento tumoral). Os autores demonstraram, também, que em HAp e β -TCP a alta porosidade associada a tamanhos de maiores que 20nm, favoreceu a adsorção de insulina e fibrogênio, comparado a materiais de baixa porosidade (ZHU *et al.*, 2010). Li *et al.* reportou que em discos de BCP com alta área superficial específica e quase 50% do volume de microporos, há maior adsorção de proteínas comparado aqueles com baixa área superficial específica e 24% volume de poros (LI *et al.*, 2008). Quando há alta microporosidade a adsorção de proteínas independe do tamanho de poros quando esses são maiores que 20nm.

Outro aspecto importante em relação a influência da presença de formadores de poros pode ser observado quando se compara a amostra D9 do PE-II, com o grupo de amostras do PE-III. Assim como as amostras com formador de poros (PE-III), a amostra D9, foi compactada e sinterizada à 100MPa e 1000°C por 2h, respectivamente. Fora a taxa de aquecimento, que não possui significância na porosidade, a única diferença entre a amostra D9 e as amostras P é a presença do formador de poros nas amostras P, ausentes na D9. Como resultado de porosidade a amostra D9 apresenta 44,80%, após a sinterização, contra uma faixa que vai de 55,5% a 72,8% das amostras P, evidenciando a participação dos agentes formadores de poros.

A partir as imagens obtidas da análise por MEV/FEG, foi possível a quantificação do tamanho de grão das amostras por análise de imagens. As amostras selecionadas para análise foram D5, D6, D7 e D8 do PE-I e D11 e D12, do PE-II, por apresentarem a formação de grão em sua microestrutura. Além disso, devido suas densidades mais elevadas, algumas dessas amostras passaram por ensaios mecânicos o que possibilitou a análise desses resultados em função do tamanho de grão e estudar uma possível relação entre eles.

Para a análise das imagens obtidas utilizou-se o software Image-Pro[®] Plus 6.0, no qual a imagem original foi tratada por filtros para remoção de ruídos e evidenciação de bordas e então binarizada para contagem dos elementos (grãos). A metodologia pode ser vista na figura 36, onde (a) representa a imagem original obtida no MEV/FEG, (b) a imagem binarizada após tratamento onde é possível observar, dentro dos grãos a serem contados, resquícios de ruídos, os quais não interferiram na contagem por não estarem dentro da faixa de tamanho estipulada pelo usuário; (c)

apresenta em vermelho os elementos contabilizados e medidos pelo software automaticamente e os elementos brancos, nas bordas da figura e incompletos, propositalmente eliminados da contagem; (d) imagem esquemática da forma como foi medida o diâmetro dos grãos pelo software: média das linhas com distância de 2 graus que unem as bordas e passam pelo centróide do objeto. O resultado da análise é apresentado na tabela 15.

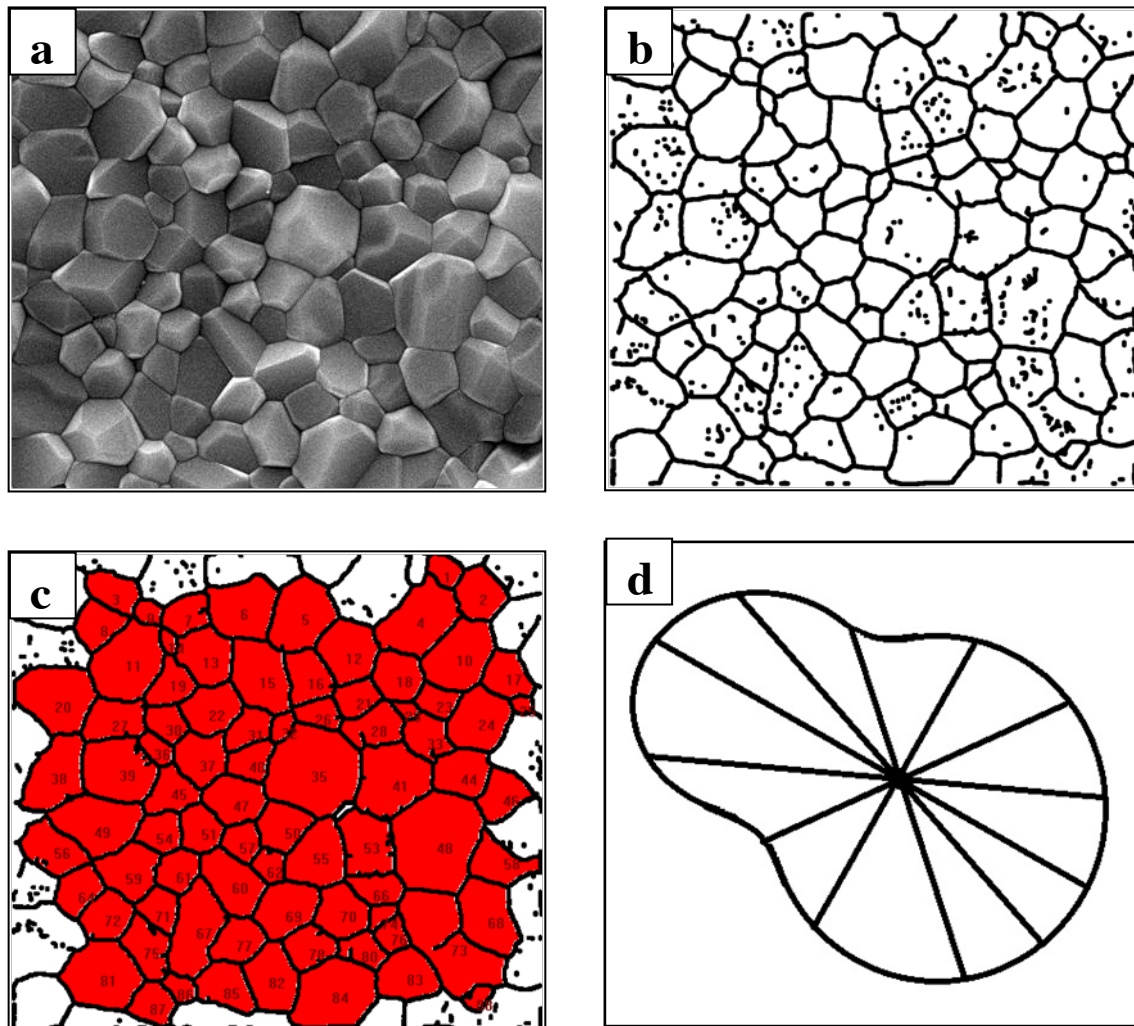


FIGURA 36: Análise de imagem de microscopia eletrônica para determinação do tamanho de grão. (a) imagem original; (b) imagem binarizada; (c) grãos identificados e medidos em vermelho; (d) imagem esquemática da forma como o software mede o diâmetro dos grãos.

TABELA 15: Tamanho de Grão das amostras de maior densidade (PE-I e PE-II)

Amostras	Tamanho de grão (μm)
D5	1,53 $\pm$ 0,05
D6	1,07 $\pm$ 0,08
D7	1,28 $\pm$ 0,02
D8	1,30 $\pm$ 0,03
D11	1,37 $\pm$ 0,03
D12	1,25 $\pm$ 0,06

Todas as amostras analisadas foram sinterizadas à 1100°C. Porém, devido a variação dos outros parâmetros de síntese, não é possível a observação de padrão lógico sobre o resultado encontrado. Dessa forma, recorreu-se a utilização do Minitab17[®] para análise dos efeitos dos parâmetros sobre o tamanho de grão. Contudo, essa nova análise só pode ser realizada em amostras do mesmo planejamento, não sendo possível uma análise cruzada do PE-I com o PE-II. Outro fator importante a ser considerado nessa nova análise foi a temperatura de sinterização que anteriormente era um parâmetro variável, e nesse caso possui caráter fixo. Dessa forma, os planejamentos perdem um fator, o PE-I que era um fatorial fracionário 2^{4-1} passou a ser um 2^{3-1} e o PE-II que era um fatorial completo 2^2 já possuía o mínimo de fatores e não poderia ter nenhum fator eliminado, então foi descartado dessa nova análise. Com isso as únicas amostras analisadas foram D5, D6, D7 e D8. Sendo um 2^{3-1} , o PE-I passou a ter apenas 3 parâmetros para análise de seus efeitos: pressão (200MPa e 400MPa), taxa (2C/min e 20°C/min) e tempo (2h e 4h).

A figura 37 apresenta o diagrama de pareto dos efeitos dos parâmetros sobre o tamanho de grão. Nota-se que mesmo com nível de confiança de 90%, nenhum parâmetro se mostrou significativo. Certamente, caso fosse realizado um estudo levando em consideração a temperatura, essa apresentaria significância. Porém, é possível notar uma grande diferença entre os valores do efeito da pressão e do tempo em relação à taxa que, apesar do grande intervalo entre seus níveis (2°C/min e 20°C/min) apresentou um efeito irrisório.

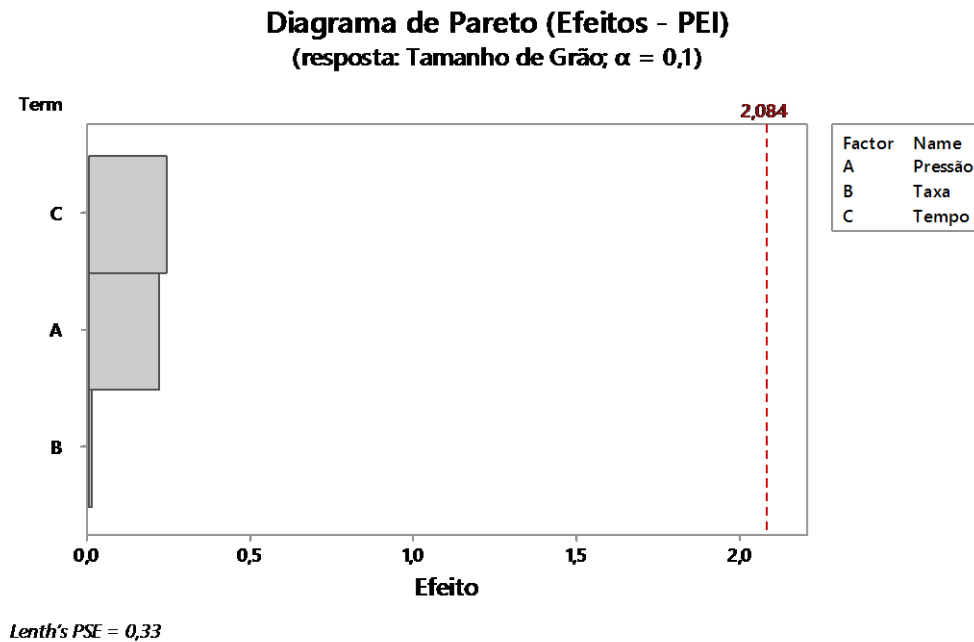


FIGURA 37: Diagrama de Pareto mostrando os efeitos de 3 variáveis no tamanho de grão.

A teoria que se segue a essa observação é que, quanto maior o tempo do material no forno sob altas temperaturas, maior será o tamanho de grão. Isso ocorre porquê a biocerâmica é um sólido cristalino e em altas temperaturas o material tende a se reorganizar atômicamente, buscando uma configuração de menor energia. Quanto mais tempo for o tratamento térmico, mais esse fenômeno irá ocorrer. Já a pressão, estaria relacionada ao que foi discutido anteriormente sobre a quebra das partículas. Sob alta pressão de compactação, as partículas do material seriam quebradas e após a sinterização apresentaram a formação de grãos menores que aqueles das amostras compactadas a pressões de menor magnitude.

Essa teoria foi confirmada quando analisado o gráfico dos efeitos principais (fig. 38) que mostra o tempo e a pressão com efeitos de sentidos contrários. De acordo com o gráfico, quanto maior a pressão de compactação menor serão os grãos formados, porém, com o aumento do tempo de sinterização, maiores serão os grãos.

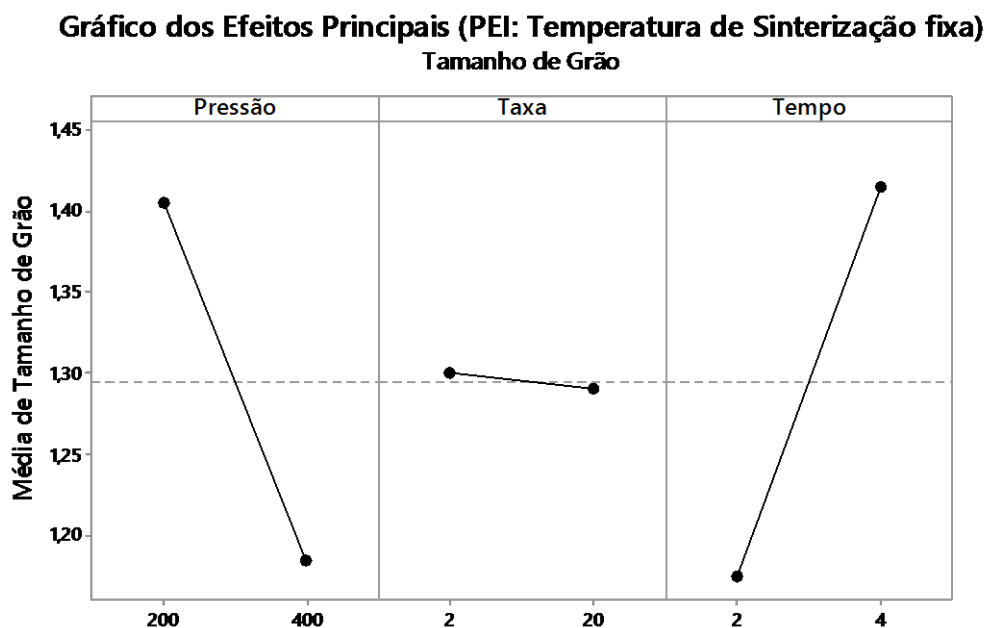


FIGURA 38: Gráficos dos efeitos principais para o PE-I em relação a densidade e porosidade do material.

Sabe-se que o tamanho de grão é uma das características sobre a qual os pesquisadores buscam o controle, devido a sua influência sobre as propriedades mecânicas do material. Em um estudo utilizando-se peças de β -TCP prensadas à 300MPa pelo método isostático e sinterizadas à diferentes temperaturas (1100°C, 1160°C, 1200°C e 1250°C) por 3h, os resultados de dureza Vickers foram de 0,72GPa, 0,90GPa, 0,88GPa e 0,50GPa, para tamanhos de grãos da ordem de 3 μ m, 7 μ m, 11 μ m e 12 μ m, respectivamente (LAASRI *et al.*, 2012). Em um outro estudo realizado por He *et al.*, sobre peças de HAp, com diferentes porosidades (1,6%, 15,8%, 33,8% e 53,5%) o autor obteve tamanho de grão de 0,84 μ m, 0,61 μ m, 0,45 μ m e 0,17 μ m, respectivamente. Quando avaliados mecanicamente, as peças apresentaram valores de dureza de 8,25GPa, 3,84GPa, 1,34GPa e 0,79GPa e de módulo de elasticidade 137GPa, 81GPa, 36GPa e 20GPa, em sequência (HE *et al.*, 2009). Dessa forma, é possível observar uma tendência no primeiro trabalho em relação ao aumento do grão e diminuição da dureza Vickers. Porém, no segundo estudo percebe-se a forte influência da porosidade sobre as propriedades mecânicas, tornando o tamanho de grão menos significativo. Concomitante a esses resultados, em um estudo realizado em 2003 sobre a influência da microestrutura sobre as propriedades mecânicas de HAp sinterizada, o autor correlaciona o resultado de tamanho de grão e porosidade de 50 amostras com sua dureza (TIMOTHY *et al.*, 2003).

Os resultados encontrados sugerem que a porosidade é realmente significativa para as propriedades mecânicas, porém o tamanho de grão não demonstra ser proporcional aos resultados de dureza, provavelmente devido a alta porosidade que inibe o efeito do tamanho de grão.

5.3.5. *Retração Linear*

A tabela 16 mostra os resultados de retração linear de todas as amostras referentes aos 3 planejamentos (PE I, II e III), respectivamente, calculadas a partir da contração no diâmetro da peça cerâmica após a sinterização. As amostras que apresentaram maior retração linear foram aquelas sinterizadas à 1100°C (D5 a D8, D11 e D12), pois quanto maior a temperatura, maior a coalescência das partículas e densificação do material. Dentro desse grupo de amostras, nota-se que a amostra D11 apresentou a maior retração, devido a pressão de compactação utilizada (100MPa). A explicação desse fenômeno é que quanto menor a pressão de compactação, menor será a densidade do corpo verde. Dessa forma, o processo de sinterização será responsável por quase toda a densificação do material. Corroborando a teoria, nota-se que a amostra com menor retração linear foi aquela compactada a maior pressão (400MPa) e sinterizada a menor temperatura (900°C) – amostra D4. Sua densidade logo após a compactação era de 63,25% e após a sinterização a baixa temperatura, sua densidade foi para 60,75%.

A medição da retração linear é essencial para a fabricação de peças cerâmicas, uma vez que o controle dimensional e a reprodutibilidade são importantes. Sabe-se que as cerâmicas a base de fosfato de cálcio sofrem contração após serem sinterizadas. Dessa forma, o comum é que ocorra um aumento de densidade, já que sua massa permanece constante e seu volume diminui. Porém, o que ocorreu nas amostras D1, D2 e D4 foi uma possível perda de material durante a manipulação das peças entre as etapas de compactação e sinterização. Ou seja, houve diminuição da densidade devido a perda de massa ser maior que a redução de volume sofrida pelo material. Além disso, a retração linear foi aferida através dos valores do diâmetro da amostra e não da densidade.

As amostras porosas (P) apesar de terem sido compactadas à baixa pressão (100MPa), a temperatura de sinterização não foi tão alta quanto a utilizada nas amostras D9 e D11, também compactadas a mesma pressão. Dessa forma, as amostras porosas

apresentaram retração linear intermediária. Deve se considerar também o efeito da porosidade que altera a dimensão das amostras.

TABELA 16: Retração Linear das amostras do PE I, II e III

Amostras	Pressão de Compactação (MPa)	Tempreatura de Sinterização (°C)	Densidade relativa (%)		RL (%)
			corpo verde	sinterizado	
D1	200	900	52,56	52,48	3,21
D2	400	900	61,61	60,45	3,03
D3	200	900	54,49	55,04	4,80
D4	400	900	63,25	60,75	2,74
D5	200	1100	55,23	93,51	19,74
D6	400	1100	61,94	92,65	16,45
D7	200	1100	53,79	96,93	21,35
D8	400	1100	63,02	99,11	17,60
D9	100	1000	45,76	55,20	9,49
D10	200	1000	54,92	64,94	8,77
D11	100	1100	46,42	92,02	24,12
D12	200	1100	54,69	95,38	20,32
DPCI	150	1050	49,52	68,59	13,32
DPCII	150	1050	51,70	71,22	13,57
P1	100	1000	47,05	44,49	8,87
P2	100	1000	42,67	37,73	6,32
P3	100	1000	46,09	43,77	8,72
P4	100	1000	41,94	37,47	6,80
P5	100	1000	46,89	33,34	9,19
P6	100	1000	38,60	27,23	8,91
P7	100	1000	46,42	32,19	8,87
P8	100	1000	39,15	27,93	9,25

5.3.6. Dureza Vickers

A tabela 17 mostra os resultados do ensaio de dureza Vickers que foi realizado nas amostras com maior densidade do PE-I, D5, D6, D7 e D8. Devido a uma fratura, a amostra D8 não pode ser avaliada. Pode-se observar que o tamanho de grão e a dureza Vickers (Hv) não apresentaram linearidade como ocorre com os metais. Contudo, a comparação se torna difícil pelo fato da diferença entre os valores de tamanho de grão ser muito pequena, bem como entre os valores de dureza. O mesmo ocorreu com relação à dureza em função da densidade, que também não apresentou uma relação linear. Porém, é possível notar que a densidade das amostras D5 e D6 foram bem próximas, diferença de 1,1%, para uma diferença de Hv de 0,4GPa, por outro lado, comparando a amostra D6 com a D7 houve um aumento de 4,3% de densidade e quase 0,6 de Hv, o que poderia estar relacionado a uma tendência no aumento dessa propriedade mecânica com o aumento da densidade do material. Portanto, é necessária uma maior amostragem para confirmação de linearidade. De acordo com Sergey, 2010, a dureza Vickers de biocerâmicas à base de HAp está na faixa de 3 a 7GPa, fato que corrobora os resultados encontrados (DOROZHKIN, 2010).

TABELA 17: Ensaio de Dureza Vickers (HV10)

Amostras	Hv (GPa)	Tamanho de Grão (μm)	Densidade (%)
D5	3,27 $\pm$ 0,04	1,53 $\pm$ 0,05	93,51
D6	3,70 $\pm$ 0,03	1,07 $\pm$ 0,08	92,65
D7	4,28 $\pm$ 0,04	1,28 $\pm$ 0,02	96,93
D8	---	1,30 $\pm$ 0,03	99,11

Em 2003, Nicolazo *et al.*, utilizaram a compactação dinâmica para densificar pós cerâmicos de apatita deficiente em cálcio e avaliou suas propriedades mecânicas. Essa técnica promove a densificação a partir do impacto de um projétil acelerado por gás comprimido a diferentes pressões. Esse impacto produz uma onda de compressão que se propagada pelo pó. Essa onda deforma as partículas de pó tão rapidamente que elas se fundem sem precisar de nenhum tratamento térmico. O autor realizou ensaios de microdureza Vickers (carga de 1N) e testes de compressão. Como resultado do ensaio de microdureza ele obteve valores que variaram de 0,17 a 0,25GPa sendo diretamente

proporcional à pressão de gás utilizada (NICOLAZO *et al.*, 2003). Os resultados referentes ao ensaio de resistência à compressão foram expostos no tópico 5.3.10.

Outro estudo utilizou peças de β -TCP prensadas uniaxialmente a 60MPa e posteriormente à 300MPa pelo método isostático e sinterizadas à diferentes temperaturas (1100°C, 1160°C, 1200°C e 1250°C) por 3h à uma taxa de aquecimento de 5°C/min. para avaliação de suas propriedades mecânicas. Os resultados de dureza Vickers para as amostras sinterizadas de acordo com a sequência supracitada foram de 0,72GPa, 0,90GPa, 0,88GPa e 0,50GPa. Essas amostras apresentavam, respectivamente, densidade de 97%, 98%, 97% e 95% e tamanho de grão de 3 μ m, 7 μ m, 11 μ m e 12 μ m (LAASRI *et al.*, 2012). Nesse trabalho não foi possível verificar se há ou não relação do tamanho de grão com a dureza, porém, Sergey afirma que mesmo que uma biocerâmica apresente elevada densidade, a dureza começa a diminuir quando alcança um determinado tamanho crítico de grão (DOROZHKIN, 2010). Isso significa que até que esse tamanho crítico seja alcançado a dureza possui uma relação proporcional direta com o tamanho de grão. Dessa forma, observando a pesquisa sobre peças de β -TCP, é possível notar que há um aumento do tamanho de grão com o aumento da temperatura de sinterização. E também nota-se que pelo menos 3 das 4 amostras apresentaram uma tendência de diminuição da dureza com o aumento do grão. O tamanho máximo de grão encontrado foi de 12 μ m relacionado a uma dureza de 0,5GPa. No presente trabalho, os valores de dureza encontrados foram de 3 a 4GPa, relativos a tamanhos de grão da ordem de 1 a 2 μ m, o que é considerado um bom resultado.

5.3.7. Nanodureza

Para o ensaio de nanoidentação foi utilizado 4 cargas diferentes (50, 100, 200 e 400) para avaliação da nanodureza e módulo de elasticidade das amostras que apresentaram alta densidade, D5 a D8 do PE-I e D11 e D12 do PE-II, todas sinterizadas à 1100°C. Os resultados podem ser acompanhados na tabela 18, em comparação aos resultados de dureza Vickers, densidade e tamanho de grão, obtidos no presente trabalho. É possível observar que os valores de dureza Vickers são inferiores aqueles encontrados no ensaio de nanoidentação. Esse fenômeno pode ser explicado pelas cargas utilizadas. Na nanoidentação a carga máxima foi de 400mN, equivalente à 0,04Kg que, comparado à carga de 10Kg aplicada para o ensaio de dureza Vickers, deixa claro que a área indentada, bem como a profundidade de penetração é menor em

ensaios de nanoindentação. Consequentemente, a tendência é que menos poros presentes na estrutura do material sejam atingidos pelo ensaio, o que resultaria em maiores valores de dureza, como pode ser observado.

TABELA 18: Nanodureza, dureza Vickers, tamanho de grão e densidade de amostras densas.

Amostras	H _{it} (GPa)	Hv (GPa)	Tamanho de Grão (μm)	Densidade (%)
D5	5,05 ± 0,12	3,27±0,04	1,53±0,05	93,51
D6	5,23 ± 0,11	3,70±0,03	1,07±0,08	92,65
D7	6,19 ± 0,37	4,28±0,04	1,28±0,02	96,93
D8	6,49 ± 0,04	---	1,30±0,03	99,11
D11	5,25 ± 0,49	---	1,37±0,03	92,02
D12	6,18 ± 0,33	---	1,25±0,06	95,38

A figura 39 apresenta um gráfico plotado com os valores de nanodureza em função da densidade. As amostras foram identificadas de 1 a 6 em ordem crescente de densidade. A única amostra que não acompanhou o comportamento das demais foi a amostra D5, representada pelo ponto 3. Contudo, como a diferença entre os pontos 2 e 3 é da ordem de décimos, a mesma se insere na margem de erro do ensaio de nanoindentação.

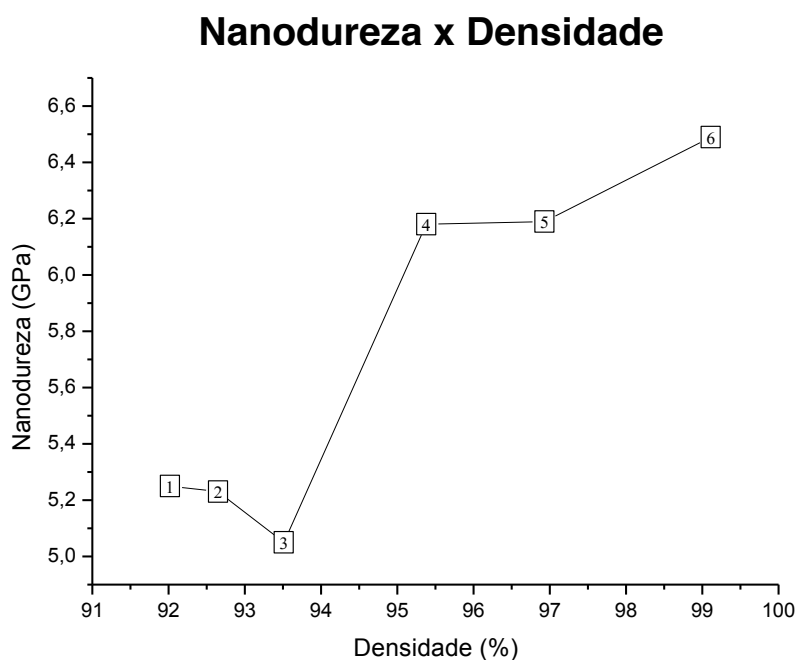


FIGURA 39: Nanodureza em função da densidade de amostras densas.

Em 2008, HE *et al.*, compactou uniaxialmente à 100MPa pó de HAp comercial de alta pureza, com partículas primárias na faixa de 50 a 100nm. As peças compactadas foram sinterizadas durante 2h à diferentes temperaturas, 900°C, 1100°C, 1200°C e 1250°C e sequencialmente nomeadas como A, B, C e D. A amostra B, em comparação com as amostras apresentadas na tabela 19, sinterizadas também à 1100°C, apresentou 84,2% de densidade, com tamanho de grão de 0,6µm, o que resultou em nanodureza de 3,84GPa. Todas as amostras apresentaram linearidade dos resultados de nanodureza e tamanho de grão.

Os valores de nanodureza das amostras D5, D6, D7, D8, D11 e D12 foram plotados em função das cargas utilizadas no ensaio de nanoindentação como mostra a figura 40. De forma geral, observa-se o aumento dos valores de nanodureza, independente da carga utilizada, a partir das amostras D5 até a D8, certamente, devido o aumento de densidade, e no outro grupo D11 e D12 ocorre o mesmo. É possível observar em pelo menos 3 das 6 mostras analisadas (D7, D11 e D12) uma tendência da diminuição dos valores de nanodureza com o aumento da carga utilizada. Esse fenômeno é citado por HE *et al.*, em 2008, como uma consequência da preparação superficial dado às amostras durante o processo de lixamento, que criaria uma camada superficial com maior densidade, diminuindo a quantidade de poros na superfície e

aumentando a tensão residual. Com o aumento da carga de ensaio, há um aumento na profundidade das penetrações e sabe-se que as camadas mais internas do material não apresentam essas características observadas na superfície, por isso apresentam menores valores de dureza. Outro aspecto observado nas amostras D5, D7, D8 e D12 é a diminuição do desvio padrão com o aumento da carga. Esse fato demonstra a maior homogeneidade das propriedades do material, comparado aos valores mais dispersos encontrados na superfície.

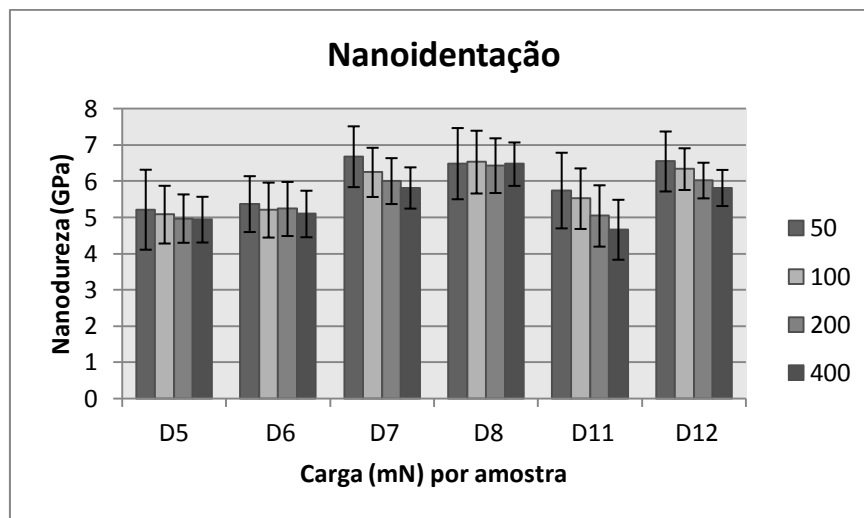


FIGURA 40: Gráfico da nanodureza em função da carga utilizada para amostras densas.

Para cada carga/amostra foram realizadas diversas identações das quais foi extraída uma média e seu desvio padrão como mostrado no gráfico acima. Porém, os valores de nanodureza plotados na tabela 18 são referentes à média dos 4 valores de nanodureza, referentes às 4 cargas, para cada amostra. E consequentemente, o desvio padrão foi calculado baseado nesses 4 valores para cada amostra. Com isso observa-se que o desvio é menor nas amostras D5, D6 e D8, devido a uniformidade dos 4 valores que pode ser observado na figura 40 e maior nas amostras D7, D11 e D12.

5.3.8. Módulo de Elasticidade Experimental

De acordo com Dorozhkin, 2010, o módulo de elasticidade de biocerâmicas densas varia de 35 a 120GPa, enquanto os tecidos naturais calcificados apresentam valores de 74GPa para esmalte dentário, 21GPa para dentina e 18 a 22GPa para o osso compacto. Os resultados do módulo de elasticidade experimental podem ser vistos na

tabela 19, porém, o tema foi discutido e relacionado às demais variáveis no item 5.3.9, juntamente aos demais resultados teóricos de módulo de elasticidade de todas as amostras dos 3 planejamentos.

TABELA 19: Módulo de elasticidade, nanodureza, dureza Vickers, tamanho de grão e densidade de amostras densas.

Amostras	E (GPa)	H _{it} (GPa)	Hv (GPa)	Tamanho de Grão (μm)	Densidade (%)
D5	114,1 ± 3,73	5,05 ± 0,12	3,27±0,04	1,53±0,05	93,51
D6	113,29 ± 2,83	5,23 ± 0,11	3,70±0,03	1,07±0,08	92,65
D7	124,73 ± 3,35	6,19 ± 0,37	4,28±0,04	1,28±0,02	96,93
D8	129,85 ± 3,49	6,49 ± 0,04	---	1,30±0,03	99,11
D11	108,87 ± 6,93	5,25 ± 0,49	---	1,37±0,03	92,02
D12	117,45 ± 7,3	6,18 ± 0,33	---	1,25±0,06	95,38

A figura 41 apresenta o gráfico de correlação do módulo de elasticidade com as cargas utilizadas no ensaio de nanoindentação para cada amostra.

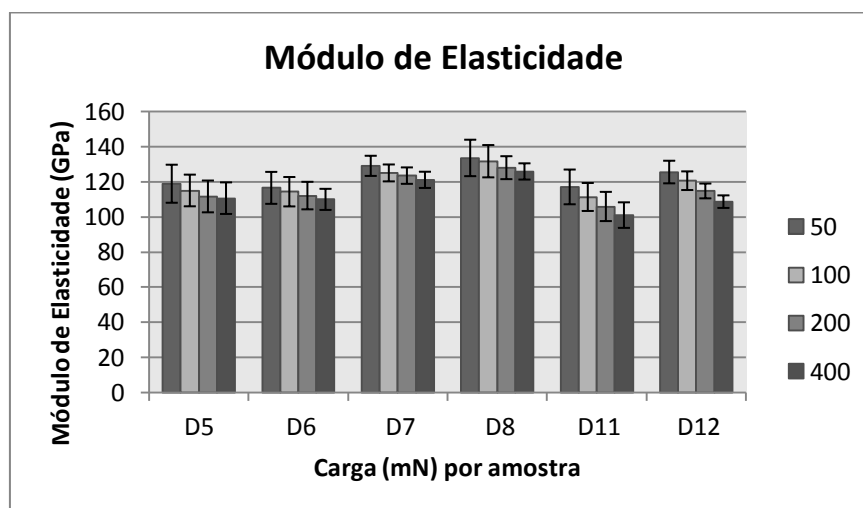


FIGURA 41: Gráfico do módulo de elasticidade em função da carga utilizada para amostras densas.

Nesse gráfico é possível notar uma pronunciada tendência em todas as amostras da diminuição do módulo de elasticidade com o aumento da carga utilizada. O fenômeno foi discutido no item 5.3.7 como sendo consequência da preparação superficial de lixamento dado às amostras, o qual criaria uma camada superficial de

maior densidade e por isso de maior dureza e maior módulo de elasticidade, enquanto que no seu interior a estrutura continua inalterada e original, e suas propriedades são reveladas com o aumento da carga aplicada e profundidade de penetração. Além disso, a tendência do aumento do módulo de elasticidade com o aumento da densidade também pode ser observada nessa imagem, com base nos valores de densidades. Porém, essa relação será melhor observada no item 5.3.9.

5.3.9. Módulo de Elasticidade Teórico

A obtenção do módulo de elasticidade das amostras densas pelo ensaio de nanoindentação, possibilitou estimar os valores teóricos de módulo de elasticidade para todas as demais amostras dos 3 planejamento. Na tabela 20 é possível observar os resultados obtidos e comparar o módulo teórico (E_t) com o experimental (E) das amostras densas.

TABELA 20: Propriedades físicas e mecânicas das amostras (PE-I, PE-II e PE-III).

Amostras	E_t (GPa)	E (GPa)	H_{it} (GPa)	H_v (GPa)	Tamanho de Grão (μm)	Densidade (%)
D1	35,76	---	---	---	---	52,48
D2	47,45	---	---	---	---	60,45
D3	39,34	---	---	---	---	55,04
D4	47,92	---	---	---	---	60,75
D5	113,54	$114,1 \pm 3,73$	$5,05 \pm 0,12$	$3,27 \pm 0,04$	$1,53 \pm 0,05$	93,51
D6	111,46	$113,29 \pm 2,83$	$5,23 \pm 0,11$	$3,70 \pm 0,03$	$1,07 \pm 0,08$	92,65
D7	122,00	$124,73 \pm 3,35$	$6,19 \pm 0,37$	$4,28 \pm 0,04$	$1,28 \pm 0,02$	96,93
D8*	127,55	$129,85 \pm 3,49$	$6,49 \pm 0,04$		$1,30 \pm 0,03$	99,11
D9	39,57	---	---	---	---	55,20
D10	54,76	---	---	---	---	64,94
D11	109,95	$108,87 \pm 6,93$	$5,25 \pm 0,49$	---	$1,37 \pm 0,03$	92,02
D12	118,13	$117,45 \pm 7,3$	$6,18 \pm 0,33$	---	$1,25 \pm 0,06$	95,38
DPCI	61,09	---	---	---	---	68,59
DPCII	65,86	---	---	---	---	71,22
P1	25,70	---	---	---	---	44,49
P2	18,48	---	---	---	---	37,73
P3	24,88	---	---	---	---	43,77
P4	18,23	---	---	---	---	37,47
P5	14,43	---	---	---	---	33,34
P6	9,63	---	---	---	---	27,23
P7	13,46	---	---	---	---	32,19
P8	10,13	---	---	---	---	27,93

* A amostra D8 foi o padrão utilizado como amostra de maior densidade (99%) para o cálculo teórico.

A partir dos resultados teóricos obtidos de todas as amostras fabricadas no presente trabalho, foi possível observar o comportamento do módulo de Young em função da densidade (Fig. 42). No gráfico é possível observar claramente o comportamento linear entre as duas variáveis. Quanto maior a densidade, maior o módulo de elasticidade. Como discutido anteriormente, tal comportamento é suposto

para as demais propriedades físicas e mecânicas. Outro aspecto observado no gráfico é a pequena curvatura que indica que em menores densidades o aumento do módulo de elasticidade é menor, porém, seu aumento é maior em densidades maiores. Para a amostra D8 de maior densidade (99%) o E_t foi de 127GPa enquanto que para as amostras do PE-III, fabricadas com a utilização de formador de poros, os valores de E_t variaram entre 9,6GPa a 25,7GPa.

Observa-se que as biocerâmicas densas e porosas estudadas podem apresentar aplicabilidade para diversos tipos de implantes, conforme a demanda de propriedades mecânicas e absorção no local da implantação.

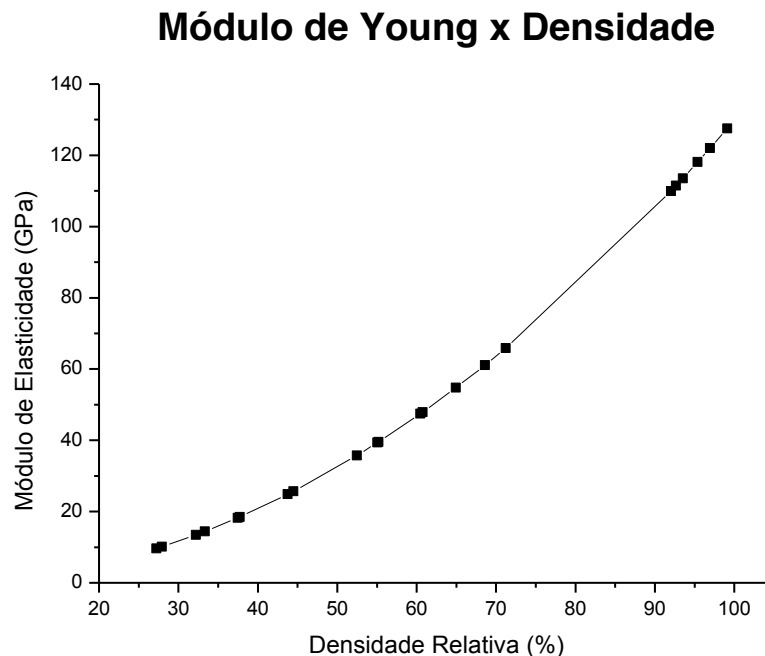


FIGURA 42: Gráfico do módulo de elasticidade teórico em função da densidade.

Em uma pesquisa realizada em 2012 sobre as propriedades mecânicas de peças biocerâmicas de β -TCP puro, os autores compactaram isostaticamente o pó de fosfato de cálcio com 300MPa e sinterizaram as peças durante 3h em diferentes temperaturas (1100°C, 1160°C, 1200°C e 1250°C). Como resultado, obteve-se 97%, 98%, 97% e 95% de densidade e módulo de elasticidade de 95GPa, 98GPa, 94GPa e 89GPa, respectivamente (LAASRI *et al.*, 2012). Os autores justificaram a diminuição da densidade, bem como do módulo de elasticidade após 1160°C com o alcance da temperatura de ativação do crescimento de grãos o que iniciou a queda dos valores

relacionados às propriedades mecânicas. Comparando às amostras do presente trabalho, a amostra D8, sinterizada à 1100°C, apresentou densidade de 99% e E_t de 127,5GPa. Uma das causas dessa diferença pode ser a presença de 20% de HAp na composição dessa e das demais amostras, a qual é conhecida por sua maior resistência mecânica, quando comparada a peças de β -TCP pura.

Biomateriais cerâmicos e metálicos geralmente possuem um alto módulo de elasticidade, o qual aumenta o risco de ocorrer o fenômeno denominado de “stress-shielding” resultado de solicitações de carga irregulares em torno do osso. As cerâmicas sintéticas são essencialmente mais duras que o osso. Os valores de resistência à flexão das cerâmicas sintéticas são semelhantes ao do osso. Porém os valores de resistência à compressão são bem maiores. Kokubo diz que embora alta resistência mecânica de cerâmicas seja apropriada para a função de suporte do osso em nosso corpo, altas resistências mecânicas permitem altos módulos de elasticidade. Dessa forma, o desenvolvimento de biomateriais com baixo módulo de elasticidade e alta deformação é algo desejado em materiais com performance mecânica apropriada para substituições ósseas (KOKUBO, 2008).

A fabricação de biocerâmicas porosas (scaffolds) para regeneração óssea é amplamente estudada. He, em 2008, estudou o comportamento mecânico de peças de HAp porosas. Aquelas com porosidade em torno de 33% apresentaram módulo elástico de 36GPa enquanto que aquelas com porosidade em torno de 53%, houve uma diminuição do módulo de elasticidade para 20GPa.

5.3.10. Resistência Teórica à Compressão

A tabela 21 expõe os resultados da resistência teórica à compressão ($\sigma_{m\acute{a}x}$) das amostras D5, D6 e D7 estimados a partir dos valores de dureza Vickers (Hv). De acordo com Rice (1971) a resistência à compressão equivale aproximadamente à 1/3 da dureza vickers (Hv). Comparado ao valor real de resistência à compressão obtido por meio de ensaios de compressão, o valor teórico tende a ser um pouco maior. Em uma revisão realizada por Dorozhkin, em 2010, o autor relata que biocerâmicas porosas à base de HAp apresentam resistência à compressão na faixa de 2 a 100MPa, enquanto que os valores de resistência à flexão e à tração são bem menores, na faixa de 2 a 11MPa e 3MPa, respectivamente. Em comparação, biocerâmicas densas à base de HAp

apresentam resistência à compressão na faixa de 120MPa a 900MPa, enquanto que os valores de resistência à flexão e à tração ficam na faixa de 38-250MPa e 38-300MPa, respectivamente. Dessa forma, observa-se que, os valores de resistência à compressão encontrados para as amostras D5, D6 e D7 estão próximos ao reportado na literatura para peças densas (máximo de 900MPa), podendo ser atribuído valores mais altos, conforme reportado por Rice, em 1971. Mesmo considerando um possível erro, os valores estimados para as amostras D5, D6 e D7 são altos, quando comparados com dados da literatura, provavelmente devido aos baixos valores de tamanho de grão e baixa porosidade.

TABELA 21: Ensaio de Dureza Vickers (HV10)

Amostras	Hv (GPa)	$\sigma_{\text{máx}}$ (MPa)	Tamanho de Grão (μm)	Densidade (%)
D5	3,27 $\pm$ 0,04	1090	1,53 $\pm$ 0,05	93,51
D6	3,70 $\pm$ 0,03	1230	1,07 $\pm$ 0,08	92,65
D7	4,28 $\pm$ 0,04	1430	1,28 $\pm$ 0,02	96,93
D8	---	---	1,30 $\pm$ 0,03	99,11

Outros autores, como o Deville *et al.*, 2006, apresentaram peças biocerâmicas a base de HAp, sinterizadas à 1300°C com resistência a compressão de 16MPa, 65MPa e 145MPa para amostras com porosidade >60%, 56% e 47%, respectivamente. Já Ma *et al.*, 2003, para HAp sinterizada à 1200°C por 2h, com 20% de porosidade, encontrou resistência máxima à compressão de 860MPa (DEVILLE *et al.*, 2006). Esse resultado é comparável à amostra D5 do presente trabalho, com 6,5% de porosidade e 1090MPa de resistência teórica.

De acordo com uma revisão realizada em 2006, por Sopyan *et al.*, a resistência à compressão apresentada pelo osso cortical humano varia entre 100 e 230MPa, enquanto o osso esponjoso varia de 2 a 12MPa. Já peças porosas de HAp artificial variam de 1,3 a 16MPa, porém, o autor encontrou relatos de aumento da resistência mecânica do implante de 2 para 20 MPa após 3 meses da implantação (SOPYAN *et al.*, 2007).

Devido aos recentes estudos de biocerâmicas porosas para produção de scaffolds, há certa dificuldade em encontrar na literatura atual trabalhos sobre propriedades mecânicas de biocerâmicas densas. Com isso, os altos valores de

resistência à compressão encontrados nesse trabalho ficariam sem respaldo bibliográfico. Porém, em uma pesquisa de 1981 de Akao, Aoki e Kato, os autores encontraram valores de resistência a compressão em torno de 308MPa, 415MPa, 465MPa e 509MPa, para amostras de HAp sinterizadas à 1150°C, 1200°C, 1250°C e 1300°C, respectivamente, por 3h. As amostras apresentaram baixa porosidade, variando de 3% a 20%, dependendo da temperatura de sinterização. O tamanho de grão também foi medido e os valores encontrados variaram de 1,04µm a 3,40µm, diretamente proporcionais a temperatura e, conseqüentemente, aos valores de resistência à compressão (AKAO *et al.*, 1981).

6. CONCLUSÕES

Na presente pesquisa a síntese de partículas de HAp deficiente em cálcio com baixa cristalinidade, pelo método sonoquímico foi eficaz. A técnica permitiu que as partículas formadas apresentassem dimensões nanométricas, em torno de $36,9 \pm 7,1$ nm, com área superficial específica de $50 \text{ m}^2/\text{g}$ e formato arredondado.

O planejamento de experimento I demonstrou com 99% de confiança que a temperatura de sinterização foi o único parâmetro significativo quando as variáveis resposta estudadas são a densidade e a porosidade, sendo que com o aumento da temperatura, há o aumento da densidade e diminuição da porosidade. A pressão de compactação, a taxa de aquecimento e o tempo, não demonstraram efeitos significativos, levando-se em consideração os níveis (+1/-1) utilizados. O mesmo resultado foi encontrado para a retração linear.

O planejamento de experimentos II demonstrou com 95% de confiança que a temperatura de sinterização foi o único parâmetro significativo quando as variáveis resposta estudadas são a densidade e a porosidade. A Pressão de compactação não demonstrou efeito significativo, nos níveis estudados. Os pontos centrais demonstraram que não há curvatura nos resultados, ou seja, que eles apresentam linearidade, o aumento de temperatura leva a maior densidade.

No planejamento de experimentos III para avaliação dos parâmetros relacionados ao agente formador de poros, foi demonstrado com 95% de confiança que a fração volumétrica e o tipo do agente utilizado, foram os parâmetros que apresentaram significância, sendo a fração volumétrica a de maior efeito, sendo que, quanto maior ela for, maior será a porosidade do material. A granulometria do agente não se mostrou significativa, talvez pela faixa utilizada. O agente que permitiu uma maior formação de poros foi a cera de polietileno.

Todas as peças apresentaram cerâmica bifásica compostas de HAp e β -TCP. A presença de β -TCP foi observada no DRX em uma proporção de cerca de 80% para 20% HAp.

Nas micrografias das peças densas (PE-I e PE-II) foi possível observar microestrutura contendo microporos residuais que variaram de acordo com a temperatura de sinterização e, conseqüentemente com a sua densidade. O tamanho de grão obtido das amostras sinterizadas à 1100°C variou de $1,07 \mu\text{m}$ a $1,53 \mu\text{m}$.

As micrografias das peças porosas, fabricadas a partir da utilização de formador de poros (PE-III) demonstraram maior homogeneidade da microestrutura entre as peças sinterizadas com cera de polietileno, do que aquelas sinterizadas com bicarbonato de amônio, não sendo possível observar real diferença entre as peças com diferentes frações volumétricas e granulometria do agente formador de poros. Todas as peças do PE-III foram sinterizadas à 1000°C/2h e apresentaram maior porosidade (55,5% e 72,8%) quando comparadas às peças do PE-II sinterizadas à mesma temperatura e tempo (35% e 45%) demonstrando a influência da presença do formador de poros.

A análise das propriedades mecânicas das peças mostrou que a dureza Vickers aumentou com o aumento da densidade, porém sem apresentar linearidade com o tamanho de grão. Similar a dureza, a nanodureza apresentou crescimento com o aumento da densidade, porém seus valores foram maiores do que aqueles obtidos no ensaio de dureza Vickers. O módulo de elasticidade apresentou ser diretamente proporcional à densidade e a resistência máxima à compressão apresentou altos valores que variaram de 1090MPa à 1430MPa de acordo com a Hv e densidade.

Observa-se que as biocerâmicas densas e porosas estudadas, devido as suas características, podem apresentar aplicabilidade para diversos tipos de implantes, conforme a demanda de propriedades mecânicas e absorção no local da implantação.

7. PROPOSTAS A FUTUROS TRABALHOS

7.1. Propostas de continuidade a esse estudo:

- a) Realizar a análise de TGA/DTG do pó de fosfato de cálcio formado até temperaturas maiores que 1000°C, para acompanhar a decomposição do material e a formação de novas fases;
- b) Análise de DRX de todas as peças dos 3 planejamentos (PE I, II e III) e cálculo do grau de cristalinidade;
- c) Realizar a medida das trincas das indentações de dureza para o cálculo de tenacidade à fratura das peças;
- d) Realizar medida do módulo de elasticidade pelo método de ultra som;
- e) Realizar medida quantitativa de fases pelo Método de Rietveld;
- f) Análise da macroporosidade, forma dos poros e interconectividade;
- g) Ensaios *in vitro* e *in vivo* para avaliação da adesão, proliferação e crescimento celular, bem como da vascularização.

7.2. Proposta para estudos paralelos:

- a) Estudo da razão Ca/P (assumida e final): realizar a síntese das partículas a partir de diferentes razões Ca/P (assumida) e observar como ela se modifica após o término da síntese (final);
- b) Estudo dos parâmetros de síntese do pó: após estudo da razão Ca/P, realizar DOE (2⁴⁻¹) para estudo da síntese do pó de fosfato de cálcio, com os seguintes parâmetros: razão Ca/P (final), pH, temperatura e tempo de envelhecimento. Para variáveis respostas tais como: tamanho de cristalito, relação de fases, grau de cristalinidade (todas obtidas através de análise por DRX) e tamanho de partícula (por difração a laser e análise de imagem);
- c) Estudo do comportamento térmico do pó: Tratamento térmico do pó à diferentes temperaturas, de 100°C à 1300°C, com intervalo de 50°C ou 100°C. Realizar, em cada condição, caracterizações como tamanho de partícula, tamanho de cristalito, área superficial específica, relação de fases, razão Ca/P. Realizar TGA/DTG na mesma faixa para comparação;
- d) Estudo da linearidade do tamanho de grão em relação à pressão de compactação utilizada: Conformação de diversas peças a diferentes pressões de compactação, 20MPa à 780MPa, análise por microscopia eletrônica para verificação de possíveis quebras de

partículas, sinterização em mesmas condições e verificação do tamanho de grão por análise de imagens de microscopia;

e) Estudo do comportamento térmico das peças: tratamento térmico de peças de mesma composição a diferentes temperaturas, de 100°C à 1300°C, com intervalo de 50°C ou 100°C. Realizar, em cada condição, caracterizações como: densidade/porosidade, análise de microestrutura para observação da nucleação e crescimento de grãos;

f) Estudo da linearidade das propriedades mecânicas em relação ao tamanho de grão: realizar estudo com peças de mesma composição, porém, com diferentes tamanhos de grãos e verificar sua relação com propriedades mecânicas como módulo de elasticidade, dureza, resistência à compressão e tenacidade à fratura.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAO, M., AOKI, H., KATO, K., 1981, “Mechanical properties of sintered of hydroxyapatite for prosthetic applications”, *Journal of Materials Science*, v. 16, pp. 809-812.

ARINZEH, T.L., PETER, S.J., ARCHAMBAULT, M.P., VAN DES BOS, C., GORDON, S., KRAUS, K., SMITH, A., KADIYALA, S., 2003, “Allogeneic mesenchymal stem cells regenerate bone in a critical-sized canine segmental defect”, *J Bone Joint Surg Am.*, v. 85, pp. 1927-1935.

BARANDEHFARD, F., KEYANPOUR-RAD, M., HOSSEINNIA, A., KAZEMZADEH, A.M., VAEZI, M.R., HASSANJANI-ROSHAN, A., 2012, “Sonochemical synthesis of hydroxyapatite and fluoroapatite nanosized bioceramics”, *Journal of Ceramic Processing Research*, v. 13, pp. 437-440.

BARBOSA, M.C., MESSMER, N.R., BRAZIL, T.R., MARCIANO, F.R., LOBO, A.O., 2013, “The effect of ultrasonic irradiation on the crystallinity of nano-hydroxyapatite produced via the wet chemical method”, *Materials Science & Engineering C-Materials For Biological Applications*, v. 33, pp. 2620-2625.

BASU, B. KATTI, D.S., KUMAR, A. Advanced Biomaterials: Fundamentals, Processing and Applications. 1ed. New Jersey. Wiley. 2009.

BEHNAMGHADER, A., BAGHERI, N., RAISSI, B., MOZTARZADEH, F., 2008, “Phase development and sintering behaviour of biphasic HA-TCP calcium phosphate materials prepared from hydroxyapatite and bioactive glass”, *Journal Material Science: Material Medical*. v. 19, pp.197–201.

BEST, S.M., PORTER, A.E., THIAN, E.S., HUANG, J., 2008, “Bioceramics: past, present and for the future”, *J. Eur. Ceram. Soc.*, v. 28, pp. 1319-1327.

BIGNON, A. Optimisation de la structure poreuse d'implants en phosphate de calcium pour application de complement osseux et relargage in situ d'un principe actif. Tese de doutorado. Institut National des Sciences Appliquées de Lyon (França), p. 23-26, 2002.

BOROJEVIC, R. Medicina regenerativa: terapias celulares, bioengenharia e biomimética. Seminários temáticos para a 3ª Conferência Nacional de C, T & I. Parcerias Estratégicas 20 (2005) 1639-1647. Disponível em: http://www.cgee.org.br/arquivos/p_20_5.pdf.

BRUNAUER, S., EMMETT, P.H., TELLER, E., 1938, “Adsorption of gases in mulmolecular layers”, *Journal American Chemical Society*, v. 60, pp. 309-319.

BOUYER, E., GITZHOFFER, F. e BOULOS, M.I., 2000, “Morphological study of hydroxyapatite nanocrystal suspension”, *J. Mater. Sci. Mater.Med.*, v. 11, pp. 523-531.

CHAMPION, E., 2013, “Sintering of calcium phosphate bioceramics”, *Acta Biomaterialia*, v. 9, pp. 5855-5875.

CLARKE, B., 2008, “Normal bone anatomy and physiology”, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, v. 3, pp. 131–139.

CULLITY, B.D. Elements of X-ray diffraction. Addison-Wesley Publishing Company, USA, 1978.

DE JONG, W.F. 1926. “La substance mineral dans le os”, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*, v. 4, pp. 445–448.

DE CARVALHO, P.S.P., ROSA, A.L., BASSI, A.P.F., PEREIRA, L.A.V.D., 2010, “Biomateriais aplicados a Implantodontia”, *Revista Implantnews*, v. 7, pp. 56-65.

DE JONG, W.F. 1926. “La substance mineral dans le os”, *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas.*, v. 4, pp. 445–448.

DELFINO, C.S., RIBEIRO, C., VIEIRA, G.F., BRESSIANI, A.H.A., TURBINO, M.L., 2010, “Uso de novos materiais para o capeamento pulpar (hidroxiapatita – HAp e fosfato tricálcico – β -TCP)”, *Cerâmica*, v. 56, pp. 381-388.

DEVILLE, S., SAIZ, E., TOMSIA, A.P., 2006, “Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering”, *Biomaterials*, v. 27, pp. 5480-5489.

DOROZHUKIN, S.V., 2010, “Bioceramics of calcium orthophosphates”, *Biomaterials*, v. 31, pp. 1465-1485.

DUAN, C., WANG, J., ZHOU, S., FENG, B., XIONG, L., WENJ, J. (2012), “Study on phase transformation and controllable synthesis of calcium phosphate using sol-gel approach”, *Journal Sol-Gel Science Technology*, v. 63, pp. 126-134.

FANOVICH, M.A., PORTO LOPEZ, J.M., 1998, “Influence of temperature and additives on the microstructure and sintering behavior of hydroxyapatite with different Ca/P ratios”, *Journal Material Science: Material Medical*, v. 9, pp. 53-60.

FARIA, M. H. A.; SILVA, G.; LAMAS, W. Q. Estudo da Necessidade de Desenvolvimento de Materiais para Implantes Ósseos de Baixo Custo Econômico. In: International Congress on University Industry Cooperation The 4th International Congress on University Industry Cooperation, 2012, Taubaté.

FROST, H.M., 1987, “Vital biomechanics. Proposed general concepts for skeletal adaptation to mechanical usage”, *Calcified Tissue International*, v. 45.

FUNG, Y. C., Biomechanics: Mechanical Properties of Living Tissues. 1ed. Springer-Verlag, New York, 1993.

GEDANKEN, A., 2004, “Using sonochemistry for the fabrication of nanomaterials”, *Ultrasonics Sonochemistry*, v. 11, pp. 47-55.

GIRALDO-BETANCUR, A.L., ESPINOSA-ARBELAEZ, D.G., DEL REAL-LÓPEZ, A., MILLAN-MALO, B.M., RIVERA-MUNOZ, E.M., GUTIERREZ-CORTEZ, E., PINEDA-GOMEZ, P., JIMENEZ-SANDOVAL, S., RODRIGUEZ-GARCÍA, M.E., 2013, “Comparison of physicochemical properties of bio and commercial hydroxyapatite”, *Current Applied Physics*, v. 13, pp. 1383-1390.

GOPI, D., INDIRA, J., KAVITHA, L., SEKAR, M., MUDALI, U.K., 2012, “Synthesis of hydroxyapatite nanoparticles by a novel ultrasonic assisted with mixed hollow sphere template method”, *Spectrochimica Acta A*, v. 93, pp. 131–134.

GOUVEIA, D. S. Obtenção de pós nanométricos de hidroxiapatita sintetizados com magnésio utilizando ultra-som. 130 f. Tese (Doutorado em Ciências na área de tecnologia nuclear – materiais) – IPEN, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

GUTIERREZ, M.C., JOBBAGY, M., FERRER, M.L., DEL MONTE, F., 2008, “Enzymatic synthesis of amorphous calcium phosphate – chitosan nanocomposites and their processing into hierarchical structures”, *Chem. Mater.*, v. 20, pp. 11-13.

HELMUS, M.N. e TWEDEN, K., 1995, “Materials Selection”. In: *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, Part A, v. 2, p.1429-1463.

HE, L., STANDARD, O., HUANG, T., LATELLA, B., SWAIN, M., 2009, “Mechanical behaviour of porous hydroxyapatite”, *Acta Biomaterialia*, v. 4, pp. 577-586.

ILICH, J.Z. e KERSTETTER, J.E., 2000, “Nutrition in bone health revisited: a story beyond calcium”, *J. Am. Coll. Nutr.*, v. 19, pp. 715-737.

JUNQUEIRA, L.C. E CARNEIRO, J. Histologia Básica. 10ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2004.

KAWACHI, E.Y., BERTRAN, C.A., DOS REIS, R.R., ALVES, O.L., 2000, “Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar”, *Química Nova*, v. 4, pp. 518-522.

KIM, W., SAITO, F., 2001, “Sonochemical synthesis of hydroxyapatite from H₃PO₄ solution with Ca(OH)₂”, *Ultrason. Sonochem.*, v. 8; pp. 85-88.

KOKUBO, T. Bioceramics and their clinical applications. 1ed. 2008.

LASCART, T., FAVARD, L., BURDIN, P., TRAORE, O., 1998, “Utilisation du phosphate tricalcique dans les osteotomies tibiales de valgisation par addition interne”, *Ann Orthopediques de L’Ouest*, v. 30, pp. 137-141.

LAASRI, S., TAHA, M., HLIL, E.K., LAGHZIZIL, A., HAJJAJI, A., 2012, “Manufacturing and mechanical properties of calcium phosphate biomaterials”, *C. R. Mecanique*, v. 340, pp. 715-720.

LEGEROS, R.Z., BONEL, G., LEGROS, R., 1978, “Types of “H₂O in human enamel and in precipitated apatites”, *Calcif. Tiss. Res.*, v. 26, pp. 111-118.

LEGEROS, R.Z., 1991, “Calcium phosphates in oral biology and medicine”, *Monogra. Oral Sci.*, v. 15, pp.1-201.

LEGEROS, R.Z., LINS, S., ROHANIZADEH, R., MIJARES, D., LEGEROS, J.P., 2003, “Biphasic calcium phosphate bioceramics: preparation, properties and applications”, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, v. 14, pp. 201-209.

LI, X., VAN BLITTERSWIJK, C.A., FENG, Q., CUI, F., WATARI, F., 2008, “The effect of calcium phosphate microstructure on bone-related cells in vitro”, *Biomaterials*, v. 29, pp. 3606-3616.

LIM, G. K., WANG, J., NG, S.C. e GAN, L.M., 1999, “Nanosized hydroxyapatite powders from microemulsions and emulsions stabilized by a biodegradable surfactant”, *J. Mater.Chem.*, v. 9, pp. 1635-1639.

LIN, F.H., LIAO, C.J., CHEN, K.S., SU, J.S., LIN, C.P., 2001, “Petal-like apatie formed on the surface of tricalcium phosphate ceramic after soaking in distilled water”. *Biomaterials*, v. 22, pp. 2981-2992.

LIU, D.M., 1998, “Preparation and characterization of porous hydroxyapatite bioceramics via a slip-casting route”, *Ceram. Int.* v. 24, pp. 441–446.

LI-YUN, C., CHUAN-BO, Z., JIAN-FENG, H., 2005, “Influence of temperature, [Ca²⁺], Ca/P ratio and ultrasonic power on the crystallinity and morphology of hydroxyapatite nanoparticles prepared with a novel ultrasonic precipitation method”, *Materials Letters*, v. 59, pp. 1902-1906.

LUIZ, F. F. M. Caracterização físico-química e avaliação *in vitro* e *in vivo* de grânulos de HAp e HAp-BTCP. 183 f. Tese (Doutorado em Ciências Médicas), Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2013.

LUNZ, J.N., LICONA, K.P.M., RIBEIRO, A.A., MENOCAL, J. A. D. G., ALONSO, L.M., OLIVEIRA, M.V., 2015, “Effect of sonochemical technique on the

morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles”, *Materials Science Forum (Online)*, v. 820, p. 287-292.

MARTINEZ-REINA, J., GARCIA-AZNAR, J. M., DOMINGUEZ, J., DOBLARE, M., 2009, “A bone remodelling model including the directional activity of BMUs”, *Biomech Model Mechanobiol*, v. 8, pp. 111-127.

MAVROPOULOS, E., A hidroxiapatita como removedora de chumbo. Dissertação (Mestrado). Fundação Oswaldo Cruz. Escola Nacional de Saúde Pública e Toxicologia. Rio de Janeiro, 1999.

MIR, M., LEITE, F.L., HERRMANN JUNIOR, P.S.P., PISSETTI, F.L., ROSSI, A.M., MOREIRA, E.L., MASCAENHAS, Y.P., 2012, “XRD, AFM, IR and TGA study of nanostructures hydroxyapatite”, *Materials Research*, v.15, pp. 622-627.

MISCH, C. Implantes Dentais Contemporâneos. 3ed. Rio de Janeiro. Elsevier. 2009.

MITRI, F., ALVES, G., FERNANDES, G., KONIG, B., ROSSI, A.J. e GRANJEIRO, J., 2012, “Cytocompatibility of porous biphasic calcium phosphate granules with human mesenchymal cells by a multiparametric assay”, *Artificial Organs*, v. 36, pp. 535-542.

MOGHADAM, G.H., SÁNDOR, B.K.G., HOLMES, I.H.H., CLOKIE, L.M.C., 2004, “Histomorphometric evaluation of bone regeneration using allogenic and alloplastic bone substitutes”, *J Oral Maxillofac Surg.*, v. 62, pp.202-213.

MOSTAFA, N.Y. (2005), “Characterization, thermal stability and sintering of hydroxyapatite powders prepared by different routes”, *Materials Chemistry and Physics*, v. 94, pp. 333-341.

NICOLAZO, C., GAUTIER, H., BRANDAO, M.-J., DACULSI, G., MERLE, C., 2003, “Compactibility study of calcium phosphate biomaterials”, *Biomaterials*, v. 24, pp. 255-262.

OLIVER, W.C e PHARR, G.M., 1992, “An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments” *J. Mat.*,v. 7, pp. 1564-1583.

OLIVEIRA, R.N., ALENCASTRO, F.S., SOARES, G.D.A., 2012, “Estudo da significância de variáveis de compactação e sinterização de pastilhas de β -TCP utilizando planejamento de experimentos”, *Cerâmica*, v. 58, pp. 357-362.

ONODA, G.Y. e HENCH, L.L. Ceramic Processing Before Firing. New York, John Wiley, 1978.

ORÉFICE, R.L., PEREIRA, M.M., MANSUR, H.S. Biomateriais fundamentos e aplicações. 1ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006.

PASTERIS, J.D.; WOPENKA, B.; VALSAMI-JONES, E., 2008, “Bone and tooth mineralization: Why apatite?”, *Elements*, v. 4, pp. 97-104.

PANG, Y. e BAO, X., 2003, “Influence of temperature, ripening time and calcination on the morphology and crystallinity of hydroxyapatite nanoparticles”, *Journal of the European Ceramic Society*, v. 23, pp. 1697-1704.

PROKOPIEV, O., SEVOSTIANOV, I., 2006, “Dependence of the mechanical properties of sintered hydroxyapatite on the sintering temperature”, *Materials Science and Engineering A*, v. 431, pp. 218-277.

RABELO NETO, J.S. Hidroxiapatita sintética nanoestruturada e esmalte dental aquecidos e irradiados por laser de Er,Cr:YSGG. Caracterização por FTIR e por DRX. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências na Área de Tecnologia Nuclear), IPEN, São Paulo, 2009.

RAHAMAN, M.N, DEKKER, M. Ceramic Processing and Sintering. 2ed. Nova Iorque. 1995.

RATNER, B., HOFFMAN, A., SCHOEN, F., LEMONS, J., 2013, *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine*. 3 ed. California , Academic Press.

RICE, R.W., 1971, “The compressive strength of ceramics”, *Materials Science Research*, v. 5, pp. 195-229.

RIGO, E.C.S., GEHRKE, A.A., CARBONARI, M., 2007, “Síntese e caracterização de hidroxiapatita obtida pelo método de precipitação”, *Revista Dental Press de Periodontia e Implantologia*, v. 1, pp. 39-50.

ROMERO, H.A.M., RUACHO, J.M., PÉREZ, C.A.M., CASILLAS, P.E.G., 2013, “Synthesis of Hydroxyapatite Nanoparticles in Presence of a Linear Polysaccharide”, *Journal of Materials*, v. 2013, pp. 1-5.

ROUHANI, P., TAGHAVINIA, N., ROUHANI, S., 2010, “Rapid growth of hydroxyapatite nanoparticles using ultrasonic irradiation”, *Ultrason Sonochem.*, v. 17, pp. 853–856.

ROCHA, M. N. Estudo de revestimento de fosfato de cálcio em substratos de Titânio denso e poroso. 169 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Metalúrgica e de Materiais) PEMM, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010.

SADAT-SHOJAI, M., Khorasani, M., Dinpanah-Khoshdargi, E., Jamshidi, A., 2013, "Synthesis methods for nanosized hydroxyapatite with diverse structures", *Acta Biomaterialia*, v. 9, pp. 7591-7621.

SCHERRER, P., 1918, "Röntgenstrahlen Bestimmung der Grösse und der Inneren Struktur von Kolloidteilchen Mittels Röntgenstrahlen, Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften, Göttingen," *Mathematisch-Physikalische Klasse*, v. 2, pp. 98-100.

SOPYAN, I., MEL, M., RAMESH, S., KHALID, K.A., 2007, "Porous hydroxyapatite for artificial bone applications", *Science and Technology of Advanced Materials*, v. 8, pp. 116-123.

SUNARSO, NOOR, A.F.M., KASIM, S.R., OTHMAN, R., ANA, I.D., ISHIKAWA, K., 2013, "Synthesis of biphasic calcium phosphate by hydrothermal route and conversion to porous sintered scaffolds", *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, v. 4, pp. 273-278.

TARASCHEWSKI, M., CAMMENG, H.K., TUCKERMANN, R., BAUERECKER, S., 2005, "FTIR study of CO₂ and H₂O/CO₂ nanoparticles and their temporal evolution at 80K", *The Journal of Physical Chemistry A*, v. 109, pp. 3337-3343.

TOLEDO, M.C.M. e PEREIRA, V.P., 2001, "A variabilidade de composição da apatita associada a carbonatitos", *Rev. Inst. Geol.* v.22, pp. 27-64.

TIMOTHY, P., HOEPFNER, CASE, E.D., 2003, "The influence of the microstructure on the hardness of sintered hydroxyapatite", *Ceramics. International*, v.29, pp. 599-724.

WANG, X., YE, J., WANG, H., 2006, "Effects of additives on the rheological properties and injectability of a calcium phosphate bone substitute material", *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.*, v. 78, pp. 259-264.

WAGH, A.S., POEPPPEL, R.B., SINGH, J.P., 1991, "Open pore description of mechanical properties", *Journal of Materials Science*, v. 26, pp. 3862-3868.

WOLFF, J., 1986, "The Law of Bone Remodeling (translation of the German 1892 edition)". Springer, Berlin: s.n.

VALLET-REGI, M., 1997, "Introduction to the world of biomaterials", *Anal. Quim. Int. Ed.*, v 93, pp. S6 – S14.

VALLET-REGÍ, M., GONZÁLEZ-CALBET, J.M., 2004, "Calcium phosphates as substitution of bone tissues", *Progress in Solid State Chemistry*, v. 32, pp. 1-31.

VAZ, G.J.O. Propriedades de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio obtidas com matérias-primas de origem orgânica e sintética. 92 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto. Rede Temática em Engenharia de Materiais. Belo Horizonte, 2007.

VICTORIA, E., GNANAM, F., 2002, “Synthesis and Characterisation of Biphasic Calcium Phosphate”, *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, v. 16, pp. 12-14.

XU, H.; ZEIGER, B.; SUSLICK, K., 2013, “Sonochemical synthesis of nanomaterials”, *Chemical Society Reviews*, v. 42, pp. 2555-2567.

ZHOU, H., e LEE, J., 2011, “Nanoscale hydroxyapatite particles for bone tissue engineering”, *Acta Biomaterialia*, v. 7, pp. 2769-2781.

ZHANG, J., ZHAN, X., WEN, X., SONG, B., MA, L., PENG, W., 2009, “Effects of ultrasonic and dispersants on shape and composition of hydroxyapatite by reflux method”, *Inorganic Materials*, v. 45, pp.1362-1365.

ZHU, X.D., ZHANG, H.J., FAN, H.S., LI, W., ZHANG, X.D., 2010, “Effect of phase composition and microstructure of calcium phosphate ceramic particles on protein adsorption”, *Acta Biomater.*, v. 6, pp. 1536-1541.