



SÍNTESE DE FOSFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO VIA SOL-GEL E
PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA APLICAÇÃO EM BIOENGENHARIA

Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena

Rio de Janeiro

Maio de 2015



SÍNTESE DE FOSFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO VIA SOL-GEL E
PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA APLICAÇÃO EM BIOENGENHARIA

Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Metalúrgica e de Materiais, 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

Alexandre Antunes Ribeiro

Rio de Janeiro

Mai de 2015

SÍNTESE DE FOSFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO VIA SOL-GEL E
PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA APLICAÇÃO EM BIOENGENHARIA

Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena

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.

Dr. Alexandre Antunes Ribeiro, D.Sc.

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

Prof^a. Magna Maria Monteiro Schaerer, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MAIO DE 2015

Balbuena, Omayra Beatriz Ferreiro

Síntese de fosfato de cálcio bifásico via sol-gel e processamento de amostras para aplicação em bioengenharia/
Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena. – Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2015.

XIII, 78 p.: il.; 29,7 cm.

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Alexandre Antunes Ribeiro

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

Referências Bibliográficas: p. 69-78.

1. Biomateriais. 2. Fosfato de cálcio bifásico. 3. Amostras micro e macroporosas. I. Pereira, Luiz Carlos *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Metalúrgica e de Materiais. III. Título.

À Deus, aos meus pais, às minhas irmãs.

Agradecimentos

Ao professor e orientador, Luiz Carlos Pereira, pela oportunidade de crescer profissionalmente, pela confiança, paciência e atenção.

Ao meu co-orientador, Alexandre Antunes Ribeiro, pelas correções e ensinamentos.

À Marize Varella de Oliveira pela oportunidade de trabalhar no Laboratório de Tecnologia de Pós (LATEP) da Divisão de Processamento e Caracterização de Materiais (DPCM) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT), por me deixar entrar numa área desconhecida e por toda a ajuda recebida e as parcerias realizadas que permitiram dar continuidade ao trabalho.

À Magna Monteiro por apoiar-me desde o início nesta aventura de estudar fora do meu país.

A toda a equipe do LATEP, em especial à Karla Licon, pela ajuda e amizade durante todo o desenvolvimento da dissertação.

À DPCM pela ajuda que permitiu o desenvolvimento da dissertação. Em especial, à Olivia e à Raquel do CENANO pela paciência e maravilhosas imagens de MEV. À Priscila do LACCO pelas análises de DRX.

Ao Francisco e à Silvia do Labiomat do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF), que permitiram as caracterizações de FTIR.

Ao PEMM/COPPE da UFRJ pela oportunidade de fazer o curso de Mestrado. A todos meus colegas e professores do curso, em especial à Lívia Cóta pela amizade, e à Prof^a. D.Sc. Rossana Thiré por sua ajuda no início do curso durante minha adaptação. Ao Laércio da TERMIC por toda a colaboração.

Ao Laboratório de Propriedades Mecânicas do PEMM/COPPE/UFRJ por permitir fazer as indentações das amostras para determinação da dureza.

Ao Laboratório de Recobrimentos Protetores do PEMM/COPPE/UFRJ do Prof. D.Sc. Sergio Camargo e em especial ao Emanuel pela ajuda.

À CAPES pelo apoio financeiro no primeiro ano do curso e à FAPERJ pela bolsa Nota10 no segundo ano.

Aos amigos que o Brasil me deu e aos que conheci através da minha estadia no país, em especial à Ana e ao Arturo.

Aos amigos do Paraguai que na distância sempre me alentaram nesta aventura.

A toda minha família, em especial aos meus pais Omar e Blanca, que na distância souberam me transmitir sempre o seu apoio para conseguir longe de casa cumprir meus sonhos e meu amadurecimento.

Às minhas irmãs Olivia e Ornella por estarem sempre presentes.

In memoriam à minha tia Ana, quem sempre transmitiu a sua alegria e foi um exemplo de luta por seus sonhos.

Ao Bernardo e sua família pela paciência e carinho.

A todos os que fizeram possível direta ou indiretamente este trabalho, muito obrigada!

¡Muchas gracias!

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

SÍNTESE DE FOSFATO DE CÁLCIO BIFÁSICO VIA SOL-GEL E
PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS PARA APLICAÇÃO EM BIOENGENHARIA

Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena

Maio/2015

Orientadores: Luiz Carlos Pereira

Alexandre Antunes Ribeiro

Programa: Engenharia Metalúrgica e de Materiais

A área de biomateriais procura desenvolver materiais que sejam capazes de substituir partes do corpo e desta forma melhorar a qualidade de vida dos indivíduos. Com este propósito, este trabalho apresenta uma rota de síntese sol-gel em meio alcoólico, utilizando como precursores nitrato de cálcio e fosfato ácido de amônio, para obter pó de fosfato de cálcio bifásico (BCP) composto por Hidroxiapatita e β -fosfato tricálcio, os quais possuem excelentes propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade, respectivamente. A partir deste pó de BCP, foram processadas amostras com diferentes níveis de porosidade por meio de técnicas de mistura, compactação, tratamento térmico em baixa temperatura e sinterização. Os parâmetros de processamento das amostras micro e macroporosas foram estudados com base em planejamentos de experimentos 2^3 e 2^{3-1} , os quais mostraram que a temperatura de sinterização é o parâmetro que mais influenciou na densidade relativa e tamanho de grãos nas amostras microporosas, e que os agentes formadores de poros não causaram um efeito significativo sobre a porosidade das amostras macroporosas. Tanto o pó de BCP como as amostras micro e macroporosas foram caracterizadas por técnicas de DRX, FTIR, MEV/EDS, estereoscopia, análise de tamanho de partículas e ensaios de indentação e nanoindentação. Os resultados mostraram que a síntese sol-gel em meio alcoólico foi eficiente na obtenção do pó de BCP e os parâmetros de processamento estudados permitiram obter amostras com diferentes níveis de porosidade e propriedades adequadas para aplicação na área médico-odontológica.

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

SYNTHESIS OF BIPHASIC CALCIUM PHOSPHATE VIA SOL-GEL AND
PROCESSING OF SAMPLES FOR BIOENGINEERING APPLICATIONS

Omayra Beatriz Ferreiro Balbuena

May/2015

Advisors: Luiz Carlos Pereira

Alexandre Antunes Ribeiro

Department: Metallurgy and Materials Engineering

Biomaterial area has developed materials which are able to replace body parts and thereby improve the people's quality of life. For this purpose, this study presented a sol-gel route in alcoholic medium, using calcium nitrate and ammonium acid phosphate as precursors for obtaining calcium phosphate biphasic powder (BCP) consisted of hydroxyapatite and β -tricalcium phosphate, which have excellent biocompatibility and biodegradability, respectively. From this BCP powder, samples with different porosity levels were prepared by mixing, compression, heat treatment at low temperature and sintering techniques. The processing parameters of micro and macroporous samples were studied based on 2^3 and 2^{3-1} design of experiments, which indicated that sintering temperature is the parameter that most influenced on the relative density and grain size of microporous samples, and the pore-former agents had no significant effect on the porosity of macroporous samples. BCP powder and micro and macroporous samples were characterized by XRD, FTIR, SEM/EDS, stereoscopy techniques, particle size analysis and nanoindentation and indentation tests. The results showed that the sol-gel process in alcoholic medium was effective in the BCP powder synthesis, and the studied processing parameters allowed gaining samples with different porosity levels and suitable properties for medical and dental applications.

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1	Biomateriais	3
2.2	Biocerâmicas.....	5
2.3	Biocerâmicas de fosfatos de cálcio	7
2.4	Fosfato de cálcio bifásico a base de HAp e β -TCP	9
2.5	Implantes porosos de fosfato de cálcio	12
3	OBJETIVOS.....	21
4	METODOLOGIA	22
4.1	Síntese de fosfato de cálcio bifásico pelo método sol-gel	23
4.2	Processamento de amostras.....	24
4.2.1	Amostras microporosas	24
4.2.2	Amostras macroporosas.....	27
4.3	Caracterizações	29
5	RESULTADOS E DISCUSÕES.....	39
5.1	Pó de Fosfato de Cálcio Bifásico.....	39
5.1.1	Difração de Raios X (DRX).	39
5.1.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).	39
5.1.3	Micrografia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios X (EDS).....	41
5.1.4	Análise de Tamanho de Partículas.....	42
5.2	Caracterização das Amostras Microporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2^3	43
5.2.1	Difração de Raios-X (DRX)	43
5.2.2	Densidade Relativa e Porosidade	44
5.3	Caracterização das Amostras Microporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2^{3-1}	47
5.3.1	Microscopia Eletrônica de Varredura.....	47
5.3.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	51
5.3.3	Determinação das propriedades mecânicas	53
5.4	Caracterização das Amostras Macroporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2^{3-1}	58

5.4.1	Difração de Raios X (DRX)	58
5.4.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	59
5.4.3	Porosidade	60
5.4.4	Estereoscopia	62
5.4.5	Microscopia Eletrônica de Varredura	63
6	CONCLUSÕES.....	67
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	68
8	BIBLIOGRAFIA.....	69

Lista de figuras

Figura 1. Desenho esquemático da medição dos diâmetros máximo, mínimo e médio.	32
Figura 2. Desenho esquemático da medição dos diâmetros Feret máximo, mínimo e médio.	33
Figura 3. Desenho esquemático de uma indentação produzida por um Indentador Vickers.....	36
Figura 4. Difractograma do pó de fosfato de cálcio bifásico.....	39
Figura 5. Espectro de FTIR do pó de fosfato de cálcio bifásico.	41
Figura 6. Partículas do pó de BCP: imagens de MEV (a,b,c) e espectro de EDS (d). ...	42
Figura 7. Curva de distribuição de tamanho de partículas do pó de BCP.	43
Figura 8. Difractogramas de raios-X das amostras microporosas.	44
Figura 9. Diagrama de Pareto: efeito dos parâmetros de sinterização na densidade relativa das amostras microporosas.	46
Figura 10. Gráfico da influência dos parâmetros de sinterização na densidade relativa das amostras microporosas.	46
Figura 11. Avaliação por MEV da microporosidade das amostras microporosas: 2Mi (a), 3Mi (b), 5Mi (c), 8Mi (d).	48
Figura 12. Avaliação por MEV da distribuição do tamanho de grãos das amostras microporosas: 2Mi (a), 3Mi (b), 5Mi (c), 8Mi (d).....	49
Figura 13. Processamento da imagem de MEV da amostra 8Mi por meio dos softwares ImagePro Plus® e ImageJ: imagem de MEV (a), filtros do software Image Pro (b), objetos utilizados nas medições (c), superposição entre 13a e 13c (d).	50
Figura 14. Diagrama de Pareto: efeito dos parâmetros de sinterização no Tamanho dos Grãos das amostras microporosas.	51
Figura 15. Espectro FTIR das amostras 2Mi, 3Mi, 5Mi, 8Mi.....	52
Figura 16. Nanodureza em função da variação da carga de nanoindentação das amostras microporosas 2Mi, 3Mi, 4Mi e 8Mi.	55
Figura 17. Módulo de elasticidade em função da variação da carga de nanoindentação das amostras microporosas 2Mi, 3Mi, 5Mi e 8Mi.....	56
Figura 18. Gráfico do módulo de elasticidade teórico em função da porosidade das amostras microporosas.	56
Figura 19. Difractogramas de raios-X das amostras macroporosas.	58
Figura 20. Espectro de FTIR das amostras macroporosas 1Ma, 2Ma e 3Ma.....	60
Figura 21. Gráfico da influência dos agentes formadores de poros na porosidade das amostras macroporosas.....	62
Figura 22. Imagens estereoscópicas das superfícies superior e lateral das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).	63

Figura 23. Imagens de MEV com aumentos de 50 e 200X das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).	65
Figura 24. Imagens de MEV com grandes aumentos das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).	66

Lista de tabelas

Tabela 1. Fosfatos de cálcio e suas principais propriedades (DOROZHKIN, 2012).....	8
Tabela 2. Resumo das características relacionadas ao uso de agentes formadores de poros por diversos autores.	18
Tabela 3. Quantidades e concentrações das soluções precursoras usadas na síntese do pó de BCP.....	24
Tabela 4. Variáveis do desenho de experimento fatorial completo de 2^3 sem réplicas para as amostras microporosas.	25
Tabela 5. Parâmetros usados no estudo da influência das condições de sinterização das amostras microporosas na variável resposta (densidade relativa).	26
Tabela 6. Parâmetros de sinterização utilizados no planejamento de experimentos 2^{3-1} .27	
Tabela 7. Variáveis do planejamento de experimentos fatorial fracionado (2^{3-1}) para amostras macroporosas.....	28
Tabela 8. Parâmetros utilizados para o estudo da porosidade das amostras macroporosas.	29
Tabela 9. Resumo das caracterizações necessárias para cada tipo de amostra.....	29
Tabela 10. Densidades relativas e porosidades das amostras microporosas estudadas no planejamento de experimentos 2^3	45
Tabela 11. Distribuição do tamanho de grãos das amostras microporosas obtida por análise de imagens de MEV.	51
Tabela 12. Bandas de absorção e tipos de vibrações a que estão relacionadas.	53
Tabela 13. Dureza Vickers e tenacidade à fratura das amostras microporosas.	54
Tabela 14. Módulo de elasticidade, nanodureza e módulo de elasticidade teórico das amostras microporosas.	57
Tabela 15. Parâmetros de processamento e porosidade das amostras macroporosas....	61
Tabela 16. Tamanho de poros das amostras macroporosas obtido por análise de imagens de MEV.	64

1 INTRODUÇÃO

O estudo da ciência e da engenharia de biomateriais vem direcionando grande parte dos seus esforços no desenvolvimento de materiais capazes de substituir partes do corpo, melhorando as condições de vida dos indivíduos. Porém, ainda é necessário desenvolver mais conhecimentos para tentar mimetizar as características da parte do corpo que se pretende substituir (DOROZHKIN, 2010; VALLET-REGÍ, 2010).

Na área de biomateriais, as biocerâmicas vêm sendo utilizadas para substituir tecido ósseo, entre essas os fosfatos de cálcio são os que apresentam composição química bastante similar a do osso. Na área da engenharia tecidual, estruturas tridimensionais porosas produzidas a partir de fosfatos de cálcio, denominadas implantes porosos biodegradáveis, são projetadas para atuar como uma matriz artificial extracelular que proporciona espaços que favorecem o crescimento das células e sua posterior reorganização tecidual (WILLIAMS, 2009; VALLET-REGÍ, 2010; DOROZHKIN, 2013; SALINAS E VALLET-REGÍ, 2013).

As biocerâmicas de Fosfato de Cálcio Bifásico (Biphasic Calcium Phosphates, BCP) são definidas pela mistura de cerâmicas bioativas onde se tem um balanço vantajoso de uma fase mais estável como a hidroxiapatita (HAp) e uma cerâmica mais reabsorvível como o β -fosfato tricálcico (β -TCP). Este tipo de material vem sendo desenvolvido para favorecer a formação óssea e a geração de poros como consequência da dissolução, e com isto contribuir para a fixação biológica do implante. Sendo a HAp menos solúvel no meio biológico, esta desempenha a função de suporte para o crescimento do novo tecido ósseo, enquanto que o β -TCP, por ser mais solúvel, promove a liberação dos íons cálcio e fosfato que favorece a osteogênese (DOROZHKIN, 2012).

O processamento de materiais biocerâmicos com diferentes níveis de porosidade permite a obtenção de implantes com diferentes microestruturas e propriedades mecânicas. Desta forma, o estudo das variáveis que influenciam em tais propriedades irá contribuir para o desenvolvimento de um material que se adeque as características do osso que será substituído.

Neste trabalho um fosfato de cálcio bifásico composto de HAp e β -TCP foi sintetizado pelo método sol-gel. A partir deste material foram processados produtos com micro e macroporosidades, com o objetivo de se obter um material adequado em termos de

microestrutura e propriedades mecânicas para aplicação como substituto ósseo. Para sua caracterização diversas técnicas (DRX, FTIR, MEV/EDS, entre outras) foram utilizadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biomateriais

Na ciência dos biomateriais são estudadas as estruturas e propriedades relacionadas aos mecanismos através dos quais os biomateriais interagem com sistemas biológicos e a resposta obtida durante o uso clínico e pós-clínico, desenvolvendo assim materiais que, quando implantados no corpo humano não provoquem reações biológicas adversas (VALLET-REGÍ, 2010; RATNER *et al.*, 2013).

Desde o surgimento dos biomateriais, várias definições foram propostas, com o objetivo de contemplar de forma mais geral o que vem a ser um biomaterial, a definição apresentada por WILLIAMS (2009) considera: “Biomaterial é uma substância que tem sido manipulada para assumir uma forma que, por si só ou como parte de um sistema complexo, é utilizada para direcionar, mediante controle de interações com componentes dos sistemas vivos, o curso de qualquer procedimento terapêutico ou diagnóstico”.

No desenvolvimento de qualquer material ou dispositivo, o objetivo é obter as melhores propriedades possíveis, que esses possam proporcionar, por meio de processos de síntese e fabricação, assegurando adequadas propriedades mecânicas, durabilidade e funcionalidade segundo a aplicação para o qual foi projetado. Em geral, estas propriedades estão determinadas pelo *bulk*. Isto não é diferente para os biomateriais, os quais devem apresentar outras características específicas (CALLISTER, 2012).

A superfície dos biomateriais serve de primeiro contato com o meio que rodeia o material, que no caso é um meio biológico complexo. Tanto a química como a estrutura superficial controlarão a resposta biológica. Segundo esta resposta, os biomateriais podem ser biotóxico, bioinerte, bioactivo e bioreabsorvível (ORÉFICE *et al.*, 2006; RATNER *et al.*, 2013). O tecido hospedeiro pode reagir com o implante ou dispositivo provocando uma erosão, que é um processo degradativo ou simples dissolução, o qual envolve tanto processos físicos como químicos. Sendo assim, um biomaterial não pode sofrer uma bioerosão com liberação de substâncias tóxicas, pois poderá causar reações imunes desde uma simples alergia até uma inflamação por rejeição séptica, com

consequências severas à saúde, inclusive a morte do tecido circundante (DOROZHKIN, 2010). Materiais que produzem estes tipos de reações são considerados biotóxicos.

Por outro lado, alguns materiais não induzem resposta alguma ao tecido hospedeiro, estes são considerados bioinertes (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). Os materiais bioinertes ou biotolerantes não liberam substâncias tóxicas, não apresentam interação positiva com o tecido vivo, porém, podem provocar uma resposta fisiológica na qual se forma uma cápsula fibrosa, isolando o material ou dispositivo implantado (DOROZHKIN, 2010).

No caso em que, a resposta do tecido hospedeiro induz uma ligação direta, aderente e forte entre o material implantado e o tecido circundante, se diz que o material é bioativo (WILLIAMS, 2008; DOROZHKIN, 2010; RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). As cerâmicas bioativas são degradadas durante o processo de regeneração do tecido natural e a velocidade de dissolução dependerá da composição e das fases presentes. As biocerâmicas são capazes de induzir a formação de uma camada superficial de apatita biológica antes da interconexão direta com o tecido (DEE *et al.*, 2002; RATNER *et al.*, 2013). Isto se dá com maior facilidade no caso dos fosfatos de cálcio, devido à similaridade com o componente mineral do osso e pela reabsorção feita pelos osteoclastos¹ (DEE *et al.*, 2002).

É importante levar em consideração que, geralmente, a distinção entre bioativo e bioreabsolvível está associada ao fator estrutural, sendo que um material denso e altamente cristalino pode permanecer no corpo sem mudanças por pelo menos 5-7 anos. No entanto, se o mesmo material for processado de modo a apresentar uma estrutura porosa, pode ser reabsorvido em menor tempo devido a sua maior área superficial específica (DOROZHKIN, 2010).

As interações entre o tecido hospedeiro e o biomaterial estão diretamente relacionadas com a propriedade de biocompatibilidade. Um material é considerado biocompatível se tem a capacidade de promover uma resposta apropriada ao hospedeiro em uma dada aplicação (DEE *et al.*, 2002; WILLIAMS, 2008). A resposta biológica do hospedeiro será influenciada por fatores como o tipo de material empregado, forma, resistência à

¹ Osteoclastos: célula multinuclear associada com a absorção e remodelação óssea (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010).

degradação, propriedades da superfície, de *bulk* e as mecânicas (TEMENOFF E MIKOS, 2008).

No caso da regeneração óssea, para que ocorra a ligação entre o osso hospedeiro e o material do implante são necessários três fatores importantes, a osteogênese, osteocondução e osteoindução, isto descreve o fenômeno da osteointegração (GIANNOUDIS *et al.*, 2005). O processo de desenvolvimento do tecido ósseo é denominado osteogênese. A osteocondução está associada com o crescimento de capilares e a migração de células formadoras de osso desde o hospedeiro para dentro da matriz 3D (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). E por último, a osteoindução é o processo de estimulação e ativação de células mesenquimais do hospedeiro induzido pelo implante, que permitirá a diferenciação em osteoblastos² formadores de osso (GIANNOUDIS *et al.*, 2005).

2.2 Biocerâmicas

Na década de 1960, as cerâmicas foram introduzidas como biomateriais. A alumina foi a primeira cerâmica utilizada e se caracteriza por ser quimicamente inerte. Já na década de 1980, a zircônia foi introduzida com o mesmo propósito. Estas são chamadas cerâmicas de primeira geração e correspondem às cerâmicas que foram utilizadas simplesmente para substituir o osso natural (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010; VALLET-REGÍ, 2010).

Foi na década de 1970 que, com o intuito de melhorar a ligação com o tecido, os biomateriais bioativos foram desenvolvidos (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). A partir de então, as pesquisas começaram a enfatizar a reação entre os implantes cerâmicos com o meio biológico e mimetizar as funções relativas à biomineralização, na formação do novo tecido ósseo. Neste sentido o método de processamento sol-gel tem desempenhado um papel importante na síntese de biocerâmicas com propriedades apropriadas para aplicações em regeneração óssea. A tendência atual tem a ver com pesquisas que visam à produção de produtos porosos denominados “scaffolds”, os quais podem ser à base de biocerâmicas de fosfato de cálcio. Estes sistemas servem de substratos para as células ósseas, lhes oferecendo um ambiente favorável ao desenvolvimento de seus processos naturais (VALLET-REGI, 2010). São as chamadas cerâmicas de terceira geração.

² Osteoblastos: células associadas à produção de osso (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010).

O uso das cerâmicas na área de biomateriais está direcionado ao reparo e substituição de tecidos conjuntivos rígidos do esqueleto, por exemplo, implantes de quadril, dentários, ouvido médio e válvulas cardíacas. Estes materiais são amplamente utilizados devido as suas propriedades de biocompatibilidade, hemocompatibilidade, fácil disponibilidade, conformação, esterilização, ausência de toxicidade, não imunogênicos e em geral inertes aos fluidos corpóreos (RATNER *et al.*, 2013). Apesar de todas estas vantagens, as biocerâmicas por serem duras, frágeis e de baixa resistência, possuem aplicações limitadas, por exemplo, ao preenchimento de pequenos defeitos ósseos e anomalias periodontais. Assim como qualquer material cerâmico, elas apresentam considerável resistência à compressão, com baixa ou quase nenhuma resistência à tração e flexão. Sendo assim, estas cerâmicas não podem ser utilizadas como implantes que estarão submetidos a carregamentos (SALINAS E VALLET-REGI, 2013). No entanto, como em todos os materiais, a determinação das propriedades mecânicas é indispensável para o desenvolvimento de biomateriais capazes de suportar carregamentos, pois falhas dentro do corpo humano poderão induzir respostas biológicas indesejáveis. Por exemplo, esses materiais poderiam liberar substâncias tóxicas (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010).

Quando implantadas, as biocerâmicas também podem ser classificadas de acordo com o tipo de fixação, tal como: inertes, porosas, bioativas e reabsorvíveis (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). Se um material quase inerte tem uma mínima interação com o tecido hospedeiro, o implante é coberto por um tecido fibroso não aderente, desta forma o hospedeiro tende a isolar-se do corpo estranho. Neste caso, a fixação implante-tecido hospedeiro é puramente mecânica e é conhecida como uma fixação morfológica. A fixação do implante poroso se dá por crescimento biológico do tecido hospedeiro no interior dos poros, determinando uma fixação biológica. Já as cerâmicas bioativas são capazes de promover fixação por meio de ligações químicas entre o implante e o tecido hospedeiro, enquanto que as cerâmicas reabsorvíveis são dissolvidas quimicamente ou removidas pelas células. Neste último caso, não há fixação do implante, só acontece uma substituição do implante pelo tecido biológico. Com relação aos sais de fosfato de cálcio, estes são considerados como cerâmicas reabsorvíveis desenvolvidas especificamente para serem substituídas lentamente por osso e podem ser densas ou porosas (RATNER *et al.*, 2013).

2.3 Biocerâmicas de fosfatos de cálcio

Os fosfatos de cálcio são cerâmicas amplamente utilizadas como biomateriais, por exibirem biocompatibilidade e bioatividade adequadas e uma boa osteointegração. Estas biocerâmicas são constituídas por um componente muito similar ao componente mineral do osso, sobretudo a hidroxiapatita, o que faz desses materiais ótimos para utilização na regeneração óssea. Os fosfatos de cálcio ocorrem naturalmente no corpo, mas também aparecem na natureza em rochas minerais e podem ser sintetizadas em laboratório (RATNER *et al.*, 2013). Os ossos, em particular dos mamíferos, são constituídos tipicamente de 25% (em peso) de água, 15% de materiais orgânicos (principalmente colágeno) e 60% de fases minerais. A fase mineral consiste principalmente de íons fosfatos e cálcio com traços de magnésio, carbonato, hidroxila, cloreto, fluoreto e citrato. Este sólido inorgânico é conhecido como hidroxiapatita carbonatada cálcio deficiente (CDHA), devido à perda de íons cálcio a partir da rede cristalina (AOKI, 1994).

A principal vantagem dos fosfatos de cálcio utilizados como biomateriais é que não são reconhecidos como materiais estranhos pelo corpo, uma vez implantados. Os fosfatos de cálcio exibem bioatividade e são osteocondutores, além de serem capazes de suportar a adesão e proliferação dos osteoblastos (DOROZHKIN, 2010). A relação cálcio/fósforo é frequentemente utilizada como parâmetro para diferenciar os diferentes fosfatos de cálcio, já que isto influenciará nas propriedades de cada um deles, e pode ser empregada como um indicativo para determinar se são adequados ou não para uso como biomateriais (RATNER *et al.*, 2013).

Assim, propriedades como a solubilidade e a taxa de hidrólise têm uma relação direta com a razão cálcio/fósforo (Ca/P). Estas propriedades se incrementam com o decréscimo da relação Ca/P, isto é, quanto menor é a relação Ca/P, maior será a acidez e solubilidade (Tabela 1) (RATNER *et al.*, 2013). Isto irá influenciar na decisão do uso de um determinado tipo de fosfato de cálcio. Esta relação varia de 0,5 a 2,0, porém fosfatos de cálcio com relação Ca/P menor que 1,0 não são utilizados como biomateriais devido às altas acidez e solubilidade (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). Para a preparação de fosfatos de cálcio com alta relação Ca/P, emprega-se uma solução alcalina, enquanto um fosfato de baixa relação Ca/P é precipitado em solução ácida (VALLET-REGÍ E GONZÁLEZ-CALBET, 2004).

Outra característica dos fosfatos de cálcio é que podem ser reabsorvidos ou biodegradados, promovendo a liberação de íons de cálcio e fosfato, que favorece a formação do osso. Além disso, geração de poros extras, como consequência da dissolução, facilitará a fixação do implante (SALINAS E VALLET-REGI, 2013). A reabsorção pode ocorrer por diversos métodos, a saber: uma dissolução fisiológica que dependerá da solubilidade do produto e do pH do ambiente e poderá induzir a formação de novas fases como ACP, DCPD, OCP ou HAp substituída por ânions, ou pode ocorrer uma desintegração física em pequenas partículas como resultado de um ataque químico aos contornos de grão, por último, algum fator biológico pode modificar o pH local, fazendo que o composto se torne instável (RATNER *et al.*, 2013).

Tabela 1. Fosfatos de cálcio e suas principais propriedades (DOROZHKIN, 2012).

Relação molar Ca/P	Composto	Fórmula	Solubilidade a 25°C		pH de estabilidade
			$-\log K_s$	g L ⁻¹	
0,5	Fosfato monocalcico monohidrato (MCPM)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ .H ₂ O	1,14	~18	0,0-2,0
0,5	Fosfato monocalcico anhidro (MCPA ou MCP)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1,14	~17	a
1,0	Fosfato dicalcico dihidrato (DCPD), brushita	CaHPO ₄ .2H ₂ O	6,59	-0,088	2,0-6,0
1,0	Fosfato dicalcico anhidro (DCPA ou DCP), monetita	CaHPO ₄	6,90	-0,048	a
1,33	Fosfato octacalcico (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ .5H ₂ O	96,6	-0,0081	5,5-7,0
1,5	α-Fosfato tricalcico (α-TCP)	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	25,5	-0,0025	b
1,5	β-Fosfato tricalcico (β-TCP)	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	28,9	-0,0005	b
1,2-2,2	Fosfato de cálcio amorfo (ACP)	Ca _x H _y (PO ₄) _z .n H ₂ O n=3-4,5 15-20% H ₂ O	c	c	~5-12 ^d
1,5-1,67	Hidroxiapatita cálcio deficiente (CDHA)	Ca _(10-x) (PO ₄) _(6-x) (HPO ₄) _x (OH) _(2-x) (0<x<1)	~85	-0,0094	6,5-9,5
1,67	Hidroxiapatita (HA, HAp ou OHAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	116,8	-0,0003	9,5-12
1,67	Fluorapatita (FA ou FAp)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ F ₂	120,0	-0,0002	7-12
1,67	Oxiapatita (OA, OAp ou OXA) ^e	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ ^o	~69	-0,087	b
2,0	Fosfato tetracalcico (TTCP ou TetCP), hilgenstockita	Ca ₄ (PO ₄) ₂ ^o	38-44	-0,0007	b

^a Estável em temperaturas acima de 100°C

^b Estes compostos não precipitam a partir de soluções aquosas

^c Não é possível medir com precisão. A dissolução comparativa em tampão ácido é: ACP>>α-TCP>>β-TCP>CDHA>>HA>FA

^d Sempre metaestável

^e A existência do OA ainda é questionável

O desafio no desenho de materiais biodegradáveis é conseguir adaptar a cinética de degradação do material à cinética de formação de tecido vivo, a qual é usualmente lenta. A reabsorção acontece com diminuição das propriedades mecânicas. Por estas razões, é importante avaliar os fatores que influenciam a taxa de biodegradabilidade, assim esta propriedade incrementa-se com o aumento da área superficial (pó > sólidos porosos > sólidos densos), devido à maior energia superficial. O decréscimo da cristalinidade, da perfeição do cristal e o tamanho do grão e do cristal também incrementarão a taxa de biodegradabilidade.

2.4 Fosfato de cálcio bifásico a base de HAp e β -TCP

Pesquisas têm mostrado que a combinação de fases de fosfatos de cálcio, conhecidos como fosfatos de cálcio bifásicos (BCP, *biphasic calcium phosphates*), é uma alternativa promissora para o desenvolvimento de materiais com taxa de biodegradabilidade controlada, que são capazes de favorecer uma rápida formação óssea e uma melhor ligação com o osso (RAMAKRISHNA *et al.*, 2010). Por exemplo, em comparação com a biocerâmica de β -TCP, a hidroxiapatita é bastante estável em condições fisiológicas e menos solúvel em meio aquoso, daí a sua baixa cinética de reabsorção (DOROZHKIN, 2012). Assim, quanto maior a proporção de β -TCP em uma formulação bifásica contendo HAp e β -TCP, maior será a biodegradabilidade da biocerâmica (DOROZHKIN, 2012). A dissolução mais rápida do β -TCP em meio fisiológico facilita a precipitação de HAp carbonatada, similar ao osso biológico, na interface osso/implante (LUKIC *et al.*, 2011).

A biodegradabilidade dos fosfatos de cálcio não depende unicamente da solubilidade dos constituintes do material, mas também da morfologia, incluindo a porosidade e estrutura dos poros (KAMITAKAHARA *et al.*, 2008). Em materiais bioativos o tamanho da partícula também tem importância devido a sua alta reatividade superficial, fazendo com que a partícula se torne mais ou menos biodegradável (SALINAS E VALLET-REGI, 2013).

Na preparação da BCP formada pela mistura de hidroxiapatita e β -fosfato tricálcico a relação ótima entre HAp e β -TCP dependerá da aplicação particular. Assim, as condições de síntese a partir do precursor de fosfato de cálcio não estequiométrico influenciam na relação HAp/ β -TCP da biocerâmica bifásica (WU *et al.*, 2011). Já foi extensamente provado que as formulações de fosfatos de cálcio são biocompatíveis,

osteocondutivas e osteoindutivas. No caso de implantes a base de BCPs constituídas de HAp e β -TCP, uma microporosidade com poros menores a 10 μm e uma macroporosidade interconectada maior a 100 μm resulta em propriedades de alta osteocondutividade e osteoindutividade. Além disso, estas BCPs são seguras e com comportamento previsível tanto em testes *in vivo* e *in vitro*, como em modelos clínicos (DOROZHKIN, 2012).

A síntese e o processamento de biocerâmicas geralmente incluem três etapas: síntese do pó, moldagem e sinterização. A síntese acontece por meio de reações químicas, por exemplo: precipitação por via úmida e método sol-gel, e subsequente secagem do pó obtido. A moldagem está relacionada à conformação de pó cerâmico, que pode ser a quente ou a frio, por exemplo: compactação uniaxial a quente ou a frio, de forma a se obter um compactado no formato desejado. Quando o pó cerâmico é conformado a frio, uma etapa de sinterização é necessária, a qual consiste em tratamentos térmicos controlados a fim de se obter consolidação e densificação das partículas do compactado. Além disso, podem ocorrer mudanças no tamanho e na forma das partículas e reações que promovem mudanças na composição química. Esta etapa pode ser considerada uma das mais importantes, pois determinará a microestrutura e a composição química, das quais dependerão tanto o comportamento mecânico quanto o biológico do produto biocerâmico obtido (CHAMPION, 2013). Tanto o tempo de sinterização quanto a temperatura influenciam nas propriedades finais da cerâmica. Em altas temperaturas ocorre a densificação do compactado bifásico. Várias rotas são pesquisadas para produzir fosfatos de cálcio sintéticos diretamente ou por conversão de outros compostos de cálcio. Cada rota e condição de síntese irão influenciar nas propriedades físicas e químicas. Entre os métodos de síntese de hidroxiapatita aparecem os métodos secos e úmidos. Os métodos secos para a obtenção de fosfatos de cálcio têm a vantagem de que as condições de processamento não influenciarão fortemente no pó sintetizado. Porém, os pós obtidos por via seca, geralmente apresentam composição química heterogênea, devido ao baixo coeficiente de difusão no estado sólido. HO *et al.* (2013) utilizaram esta técnica para obter fosfatos de cálcio a partir da casca de ovos, obtendo um pó com várias fases.

No método úmido por precipitação ocorre uma reação de neutralização, que implica na reação de íons de cálcio e fosfato com estrito controle de pH, temperatura e relação Ca/P dos reagentes (VALLET-REGÍ E GONZÁLEZ-CALBET, 2004). Em geral o pó

resultante é menos cristalino que o pó obtido pelo método seco, devido às altas temperaturas empregadas no processo. Além disto, íons presentes na solução aquosa podem ser incorporados na estrutura cristalina introduzindo impurezas.

O pó obtido por precipitação usualmente é não estequiométrico e pobremente cristalino sem forma regular. No entanto, novas técnicas estão sendo utilizadas em combinação com método úmido por precipitação, por exemplo, a sonoquímica, melhorando desta forma as características do pó obtido (GOUVEIA, 2008; BARBOSA *et al.*, 2013). O método hidrotermal pode ser considerado como uma síntese por precipitação com uma etapa de envelhecimento conduzida a altas temperaturas em autoclave ou em vaso de pressão. A desvantagem deste método é a pobre capacidade de controlar a morfologia e a distribuição de tamanho de nanopartículas (SADAT-SHOJAI *et al.*, 2013)

Já no processo úmido por sol-gel, os precursores constituídos pelos elementos que farão parte do produto final são convertidos em partículas coloidais de tamanho nanométrico formando uma suspensão coloidal. Um processo convencional de preparação de fosfatos de cálcio pelo método sol-gel, inclui a mistura dos precursores em meio aquoso ou orgânico, por exemplo, etanol (FATHI *et al.*, 2008; CHEN *et al.*, 2011), seguido de um envelhecimento a temperatura ambiente, gelatinização, secagem em forno e finalmente a remoção de resíduos orgânicos por calcinação. O tratamento térmico é importante para a eliminação de resíduos orgânicos, produtos gasosos e moléculas de água.

Neste método de síntese, a etapa de envelhecimento é chave para a formação de uma fase de apatita pura (FATHI *et al.*, 2008), já que nesta etapa acontece a interação entre os precursores de cálcio e fósforo (NATARAJAN E RAJESWARI, 2008). Todos os parâmetros devem ser controlados para obter os produtos desejados. Um envelhecimento insuficiente, ou uma gelatinização ou um tratamento térmico sem controle podem gerar impurezas ou fases indesejadas.

A técnica sol-gel oferece vantagens quanto à mistura de reagentes a nível molecular, favorecendo a obtenção de um pó com boa homogeneidade química e alta pureza (DUAN *et al.*, 2012). Além da baixa temperatura de síntese, este método também apresenta a capacidade de gerar partículas de tamanho nano e micrométrico e pós nanocristalinos com uma distribuição de tamanho bem estreita e uma estrutura estequiométrica com grande área superficial. É utilizado equipamentos, em geral simples e de baixo custo de instalação, com boa relação custo-benefício (DUARTE, 2012; DUARTE *et al.*, 2012). As partículas podem ser irregulares, esféricas (micro e

nano), na forma de haste ou agulha, whiskers, fibras e filamentos. Além disso, é uma técnica adequada como método de deposição de HAp sobre outras superfícies (VALLET-REGÍ E GONZÁLEZ-CALBET, 2004; TREDWIN *et al.*, 2013).

As pesquisas sobre o método sol-gel se destacam os estudos quanto à variação do tempo e temperatura de envelhecimento e calcinação, emprego de diferentes precursores e adição de modificadores orgânicos para o controle de tamanho de partículas ou para funcionar como estabilizadores dos íons de cálcio na estrutura da rede do gel, por exemplo, glicerina e etileno glicol (DUAN *et al.*, 2012). Além disso, há também estudos com foco no meio reacional, que pode ser aquoso ou alcoólico. (FELLAH E LAYROLLE, 2009).

FATHI *et al.* (2008) reportaram a formulação de uma HAp sintetizada pelo método sol-gel com maior biodegradabilidade do que um pó convencional e muito similar à apresentada pela apatita biológica. FELLAH E LAYROLLE (2009) estudaram a variação de Ca/P dos reagentes utilizando o método sol-gel e determinaram os produtos obtidos; verificando que a composição química dos precipitados de fosfatos de cálcio foi facilmente controlada pela mudança da relação molar dos reagentes, obtendo uma biocerâmica BCP (β -TCP/HAp) com uma relação Ca/P inicial igual a 1,5. DUARTE (2012) estudou várias rotas de síntese de fosfatos de cálcio, utilizando o método sol-gel, modificando o meio de dissolução dos precursores e, além disso, avaliaram a influência do ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA – *Ethylenediamine tetraacetic acid*) na forma e nas fases resultantes. O autor descreveu uma rota simples para a obtenção de uma biocerâmica bifásica composta por β -TCP e HAp.

2.5 Implantes porosos de fosfato de cálcio

Os implantes porosos biodegradáveis são projetados para atuar como uma matriz artificial extracelular que fornece o espaço para o crescimento das células e sua posterior reorganização tecidual (RATNER *et al.*, 2004). Segundo DOROZHKIN (2010) os requisitos para um implante poroso biodegradável são: rugosidade superficial adequada para facilitar a fixação das células; resistência mecânica; alta porosidade e tamanho de poros apropriados para a migração, vascularização e difusão de nutrientes e ser produzido a partir de materiais com biodegradabilidade e/ou bioabsorção controlada para permitir que o novo osso eventualmente substitua o implante.

A fabricação de implantes porosos com materiais bioativos fornece estabilidade mecânica devido à ligação tecido-implante; e no caso de ser osseocondutivo, permite a fixação e proliferação das células (SALINAS E VALLET-REGI, 2013). Os materiais porosos possuem elevada área superficial. Isto garante uma fixação mecânica adequada e proporciona sítios que permitem ligações químicas biomaterial-osso. O método de conformação desses materiais deve ser tal que as peças processadas tenham porosidade interconectada e tamanho de poros na faixa de 2-400 μm . O tamanho dos poros está relacionado com a formação de osso, uma vez que proporciona superfície e adesão celular para o crescimento ósseo. Se os poros apresentarem interconexões ocorrerá uma melhora na migração e distribuição das células, assim como a formação de vasos sanguíneos no interior dos poros, favorecendo a sustentação do tecido novo que está sendo formado (WU *et al.*, 2011; SALINAS E VALLET-REGÍ, 2013).

Pode ser dito que são necessários três níveis de porosidade para satisfazer as diferentes funções fisiológicas. A presença de grandes poros visíveis a olho nú (150-450 μm ou maior), denominados macroporos, que servirão para promover a integração com os tecidos vivos, especialmente o osso em crescimento, e permitirão a colonização e vascularização de células, que proverão nutrientes ao novo tecido formado (VALLET-REGÍ, 2008). Os processos fisiológicos serão diretamente afetados pelo tamanho do macroporo e a relação de macroporosidade existente no material, assim como pela morfologia. Poros maiores que 200 μm serão eficientes para a osteoindução. LEW *et al.* (2012) referenciam que o tamanho ótimo de poros na hidroxiapatita é 300 μm para induzir a osteocondução.

HULBERT *et al.* (1971) reportaram que macroporos da ordem de 100 μm são necessários para hospedar os componentes celulares e extracelulares do osso e vasos sanguíneos. Dentro dos macroporos, pode existir microporosidade, que são poros da ordem de 20 μm . Os microporos são necessários para o crescimento capilar interno e a interação entre as células e a matriz, assim como para proporcionar uma grande área superficial, que favorece a adsorção de proteínas e a solubilidade. O terceiro nível corresponde aos nanoporos no intervalo de 2 a 50 nm, que permitem a fixação de moléculas com atividades biológicas (SALINAS E VALLET-REGI, 2013).

Geralmente são reportadas biocerâmicas com porosidade total de aproximadamente 70%. Uma alta área superficial específica e um alto volume de poros induzem a

aceleração dos processos biológicos de deposição de apatita, melhorando a bioatividade. Mas, uma porosidade alta diminuirá a resistência do implante (DOROZHKIN, 2010).

Os poros interconectados são introduzidos intencionalmente e de forma controlada por meio do emprego de agentes formadores de poros e são a chave do sucesso dos implantes porosos, já que permitem que a colonização e crescimento celular e formação de tecido, ou seja, atuem como canais de conexão entre os poros, favorecendo a penetração celular e vascular, assegurando o crescimento do osso no interior dos poros; inclusive essas interconexões podem ter maior influência no crescimento do tecido que o próprio tamanho do poro. As interconexões permitem um melhor transporte de oxigênio e nutrientes, uma maior taxa de invasão celular e vascularização para o início do crescimento do tecido e promovem uma grande área superficial interna que favorece a adesão entre o implante e o osso (RATNER *et al.*, 2004; CHEVALIER *et al.*, 2008; DOROZHKIN, 2010; LEW *et al.*, 2012).

GAUTHIER *et al.* (1998) estudaram o crescimento de osso quando BCP porosas foram implantadas em coelhos. Trabalharam mediante um planejamento experimental de 2² utilizando as variáveis: tamanho do poro e percentagem de macroporosidade. Assim, observaram em todos os implantes uma grande osteocondutividade. O osso cresceu nos poros periféricos do implante e alguns inclusive nos poros mais profundos. Enquanto que a percentagem de macroporosidade, nos níveis estudados, não afetou diretamente o crescimento do osso, ao contrário do tamanho de poros que apresentou uma influência direta. Os pesquisadores compararam tamanhos de poros da ordem de 565 µm e 300 µm, e concluíram que o primeiro apresentou um melhor desempenho com relação ao crescimento de tecido ósseo. Porém, ambos os tamanhos mostraram uma distribuição do neo-osso bastante homogênea, tanto nos macroporos centrais quanto nos periféricos.

Para a obtenção de biocerâmicas porosas podem ser utilizados processos sólidos (métodos secos), que consistem principalmente em técnicas de compactação ou extrusão. Os processos úmidos incluem a moldagem, nos quais uma suspensão (dispersão de pó de biocerâmica em líquido) ou uma pasta de cimento é moldada. Neste último caso, a etapa de sinterização não é necessária, e assim é considerado como um método direto (CHEVALIER *et al.*, 2008). A preparação de implantes porosos por meio de tais técnicas requer o uso de agentes formadores de poros ou espumas (processo de formação de espumas) (ALMIRALL *et al.*, 2004).

Os processos de formação de espumas requerem o uso de um agente que gere bolhas ou a utilização de uma esponja (método de replica ou da replica de esponja). Com esta última técnica tem resultado em cerâmicas com macroporos abertos, a fabricação requer a preparação de uma suspensão que seja capaz de cobrir/impregnar uniformemente uma esponja, geralmente de poliuretano, para facilitar a obtenção de uma rede/parede biocerâmica densa. A suspensão deve ser preparada de maneira que proporcione uma adequada resistência mecânica depois da secagem, para prevenir o colapso durante a etapa de volatilização da fase orgânica. Porém, é elevado o número de variáveis de controle relacionadas ao procedimento, para resultar em produtos com propriedades adequadas (TAMPIERI *et al.*, 2001; TIAN E TIAN, 2001; RAMAY E ZHANG, 2004; SAIZ *et al.*, 2007; SOPYAN *et al.*, 2007; FOOK *et al.*, 2010; SWAIN *et al.*, 2011; ZHANG *et al.*, 2012).

O uso de agentes formadores de poros permite obter produtos com porosidade controlada. O controle da porosidade se dá pela quantidade (proporção), tamanho e forma das partículas formadoras de poros. Estes agentes são partículas voláteis (formam gases a elevadas temperaturas) ou substâncias solúveis. Para ambos os casos, uma etapa para a remoção do material é necessária. Em se tratando de materiais voláteis, a remoção pode ser por técnicas como sublimação, evaporação, fusão e calcinação que são empregadas segundo as características do agente utilizado. Já para materiais solúveis a remoção consiste na dissolução do agente formador de poros (TADIC *et al.*, 2004). Idealmente este agente não deve ser tóxico e é removido completamente a baixas temperaturas.

No processamento de produtos porosos por meio de técnicas de compactação, que consiste em aplicar uma pressão uniaxial ou isostática em altas temperaturas ou temperatura ambiente, requer uma etapa de mistura do agente formador de poros com o pó de biocerâmica antes da compactação e sua posterior eliminação por tratamento térmico a baixa temperatura. No caso da compactação a frio (temperatura ambiente), após a etapa de remoção do agente, a biocerâmica porosa é submetida a uma etapa de sinterização para consolidação das partículas e para prover resistência mecânica (CHEVALIER *et al.*, 2008).

As condições de fabricação de produtos porosos a partir de agentes formadores de poros dependem do tipo de material utilizado, assim como das propriedades finais desejadas. Desta forma, pressões de compactação entre 20 e 350 MPa tem sido reportadas. As

variáveis geralmente consideradas no projeto de produtos porosos incluem tamanho de partículas do agente formador de poros, proporção agente/biocerâmica, pressão de compactação, temperatura e tempo de remoção do agente e sinterização da biocerâmica, assim como das trajetórias de aquecimento (temperatura/tempo). Todas essas variáveis poderão influenciar nas propriedades mecânicas do material, algumas em maior grau que outras (PRADO DA SILVA *et al.*, 2002; COLLIN *et al.*, 2005; SUNDER *et al.*, 2005; ZHANG E ZHU, 2007; FELLAH E LAYROLLE, 2009; RAKSUJARIT *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2011; SWAIN E BHATTACHARYYA, 2013). Além disso, os agentes formadores de poros influenciarão na macroporosidade, enquanto que as condições de sinterização afetarão a porcentagem de microporosidade. As altas temperaturas do processo de sinterização são capazes de diminuir a microporosidade e, portanto a superfície específica (LIU, 1997).

A obtenção de interconexões entre os macroporos depende principalmente da natureza do agente porogênico e também dos parâmetros do tratamento térmico utilizado para sua eliminação. Um dos principais problemas reportado com esta técnica é a falta de interconexão (FELLAH E LAYROLLE, 2009; RIBEIRO *et al.*, 2011). Porém, este inconveniente tem sido superado utilizando agentes porogênicos como sacarose e ceras de polietileno que fundem durante o tratamento térmico, formando caminhos que criam as interconexões entre os macroporos (FANG *et al.*, 1991; PRADO DA SILVA *et al.*, 2002; MITRI *et al.*, 2012). A modificação nos parâmetros do tratamento térmico de eliminação do agente formador de poros pode minimizar o inconveniente mencionado (ZHANG E ZHU, 2007; FELLAH E LAYROLLE, 2009).

Vários agentes formadores de poros têm sido reportados na literatura. Na Tabela 2 se resume alguns deles e as condições de processamento utilizadas por diversos autores.

Para a avaliação da citocompatibilidade de biomateriais densos e porosos, pesquisadores utilizaram células mesenquimais primárias de origem humana. As biocerâmicas porosas empregadas no estudo foram preparadas a partir de uma BCP HAp/ β -TCP em relação 60:40 e utilizando esferas de cera de polietileno (tamanho 355 μ m), em uma relação volumétrica de 75%. Uma pressão de compactação de 20 MPa seguida de tratamento térmico a 800°C por 10h e 1150°C por 8h (MITRI *et al.*, 2012). Os autores determinaram que o tratamento para a formação de poros não afetou a citocompatibilidade das amostras. Quanto a porosidade, esta foi maior na amostra de HAp quando comparada com a amostra de BCP. Isto pode ser explicado pela diferença

de sinterabilidade e microestrutura que se produz na BCP devido à presença das fases HAp e β -TCP (FANG *et al.*, 1991).

Tabela 2. Resumo das características relacionadas ao uso de agentes formadores de poros por diversos autores.

Agente formador de poros	Tamanho da partícula (µm)	Quantidade / Proporção	Condições de trabalho	Porosidade de total	Tamanho de poro	Intercnexões	Referência
Ácido esteárico	150-600	85%	Compactação uniaxial (340MPa). TT 400°C (1°C/min, 1h) e 1100C (1°C/min, 3h)		1000	Sim	WU <i>et al.</i> , 2011
Carbonato de amônia monohidratado			Prensado 140 MPa. Sinterização em forno micro-ondas	84%		Sim	FANG <i>et al.</i> , 1991
Esferas de cera de polietileno		40-60%	Prensado uniaxial (44 MPa). TT: a 500°C (0,5°C/min, 1h) e 1300°C (4°C/min 1h)	65%		Sim	PRADO DA SILVA <i>et al.</i> , 2002
Esferas de cera de polietileno		75%	Prensa (20-100MPa). TT: 800°C (10h), 1150°C (8h)	62%		Sim	MITRI <i>et al.</i> , 2012
Farinha	40 a 200 e 100 a 200	25-37%	Prensado uniaxial, seguido de prensado isostático em frio até 350 MPa	46%			ŚLÓSARCZYK <i>et al.</i> , 1999
Farinha		10-40%	Prensado em prensa hidráulica (80 MPa). TT: 1000°C (2h)		20		SUNDER <i>et al.</i> , 2005
Gelatina	400-600		Prensa uniaxial (10-100MPa). TT: 1200°C, 1h	67%	5-140	Sim	KOMLEV E BARINOV, 2002

Tabela 2. Resumo das características relacionadas ao uso de agentes formadores de poros por diversos autores (continuação).

Agente formador de poros	Tamanho da partícula (μm)	Quantidade / Proporção	Condições de trabalho	Porosidade total	Tamanho de poro	Intercnexões	Referência
Naftaleno	400	45%	Prensado isostático em frio (140MPa). TT: 80°C, 1h a 400°C, sinterização 3 a 8h em T entre 950 a 1100°C	45%			TANCRET <i>et al.</i> , 2006
Naftaleno	200-600		Prensado isostático em frio (140MPa), TT 80°C, 48h; 350°C (1°C/min, 3h), 850-1250°C (5°C/min, 8h)				PECQUEUX <i>et al.</i> , 2010
Naftaleno	400	30-60%	Prensa isostática. TT: 550°C (em atmosfera de N ₂ , 120 min), 900-1100°C (em ar, 500 min)		100-500		BOULER <i>et al.</i> , 1996
Naftaleno e naftaleno em benzeno		30-50%	Prensado a 4,5 ton. TT: 1250°C (3°C/min, 8h)	N: 45% NB: 60%	125		SWAIN E BHATTACHAR YYA, 2013
Polimetilmetacrilato	30-260	3-50%	TT: 100°C, 1h; 200°C, 3h; 400°C, 5h; 1000°C, 1h	50%	100-300	Sim	UCHIDA <i>et al.</i> , 1984
Polimetil metacrilato	120-150		Prensado uniaxial (30 MPa), prensado isostático (100 MPa). TT: 550°C (0,5°C/min) e 1200°C (5°C/min, 2h)				YAO <i>et al.</i> , 2005
Polivinil acrilato		40%	Prensado uniaxial. TT: 1200°C	64%		Sim	RAKSUJARIT <i>et al.</i> , 2010

Tabela 2. Resumo das características relacionadas ao uso de agentes formadores de poros por diversos autores (continuação).

Agente formador de poros	Tamanho da partícula (μm)	Quantidade / Proporção	Condições de trabalho	Porosidade total	Tamanho de poro	Interconeções	Referência
Sacarose	< 500	1:5 e 1:1 (sacarose/vidro)	Prensado uniaxial (15-20 MPa) seguido de prensado em quente (15-20 MPa, 170 °C). TT: 780-850°C	90%	30-600	Sim	WANG <i>et al.</i> , 2005
Sacarose	400-630	35-55%	Compactação isostática (1400 bar). TT: 1050°C	80%		Sim	COLLIN <i>et al.</i> , 2005
Sacarose			Prensado a 200 MPa. TT: 180C (2°C/min, 240min), 560°C (300min), 1050°C (3°C/min, 300 min)	82%			LE RAY <i>et al.</i> , 2010
Ureia	200	65 a 83%	Prensa uniaxial 50 MPa. TT: 500°C (0,2°C/min), 1200°C (1C/min, 2h)	98%	120	Sim	ZHANG E ZHU, 2007
Ureia			Prensa isostática (140 MPa) TT. 1100°C, 5h		700-1200	limitada	FELLAHE LAYROLLE, 2009

TT: Tratamento térmico; T: temperatura; N: Naftaleno; NB: Naftaleno em benzeno

3 OBJETIVOS

De acordo com o exposto, o presente trabalho tem como objetivo geral estudar a processabilidade de biocerâmica de fosfato de cálcio bifásica sintetizada pelo método sol-gel, para a utilização como implante biodegradável.

Com relação aos objetivos específicos, os mesmos estão explicitados abaixo:

- Sintetizar uma biocerâmica de fosfato de cálcio bifásica (BCP) constituída por HAp e β -TCP utilizando o método sol-gel.
- Obter produtos com diferentes níveis de porosidades a partir da BCP sintetizada.
- Produzir amostras cerâmicas microporosas e estudar a influência dos parâmetros de processamento na densidade relativa do material, tais como: taxa de aquecimento, temperatura e tempo de sinterização.
- Verificar a influência da adição de agentes formadores de poros para obter amostras macroporosas com adequada porosidade para sua utilização como implante poroso.
- Caracterizar os pós de BCP calcinados e os produtos micro e macroporosos.

4 METODOLOGIA

Inicialmente foi testada uma metodologia sol-gel em meio aquoso, onde as soluções aquosas precursoras de nitrato de cálcio tetra-hidratado e fosfato ácido de amônio com pH 9,0 foram misturadas sob agitação contínua e temperatura ambiente. Após a mistura das soluções precursoras, a mistura reacional foi envelhecida por três dias em temperatura ambiente e o pó obtido foi seco a 200°C/2 horas e calcinado a 800°C/2 horas. Esta técnica foi desenvolvida pelo grupo de pesquisa do LATEP/INT em parceria com a Facultad Politécnica da Universidad Nacional de Asunción. O objetivo foi testar a reprodutibilidade da técnica descrita por DUARTE (2012). Por meio dessa síntese foi obtido um fosfato de cálcio bifásico composto de HAp e β -TCP, contudo, foi detectada a presença de uma terceira fase de pirofosfato de cálcio. Os resultados da caracterização deste pó foram apresentados no COLAOB 2014 (FERREIRO *et al.*, 2014).

As biocerâmicas processadas a partir do material bifásico com presença da fase de pirofosfato de cálcio apresentaram baixa resistência mecânica, esfarelando com facilidade ao serem manuseadas. A baixa resistência mecânica pode estar ligada à falta de coalescência das partículas, devido à diferença nos coeficientes térmicos das fases presentes. Além disso, RAYNAUD *et al.* (2002) indicaram que o grau de densificação e a microestrutura resultante também dependem da proporção das fases presentes e que a presença de outros componentes afeta a sinterabilidade do β -TCP. Apesar da HAp afetar apenas ligeiramente, a presença de pirofosfato de cálcio pode reduzir a densificação e induzir um rápido e anormal crescimento de grãos (DESCAMPS *et al.*, 2007).

Devido aos problemas apresentados acima, o objetivo de se obter um fosfato de cálcio bifásico formado unicamente por HAp e β -TCP não foi alcançado. Desta forma, outros parâmetros de síntese foram testados, tais como, temperatura e tempo de secagem e calcinação, porém, sem sucesso. A partir de uma busca na literatura, uma síntese em meio alcoólico foi testada e se mostrou eficiente (BIGI *et al.*, 2004; KURIAKOSE *et al.*, 2004; VIJAYALAKSHMI E RAJESWARI, 2012; SADAT-SHOJAI *et al.*, 2013). No entanto, otimizações na metodologia foram necessárias devido às especificações técnicas dos equipamentos disponíveis, por exemplo, mudança na temperatura de envelhecimento da mistura reacional.

Nesta nova síntese, a solução precursora de nitrato de cálcio tetra-hidratado foi preparada em meio alcoólico e a de fosfato ácido de amônio em meio aquoso. A mistura das soluções precursoras foi realizada a 40°C, sob agitação contínua e sem controle do pH. A mistura reacional foi envelhecida por 24 horas a 60°C e o pó obtido foi seco a 200°C/2 horas e calcinado a 800°C/2 horas. A descrição detalhada da técnica sol-gel em meio alcoólico é apresentada no item 4.1.

Após o sucesso na síntese do pó de fosfato de cálcio bifásico obtido pela técnica alcoólica, constituído somente das fases HAp e β -TCP, foi realizado um estudo sobre o processamento de amostras micro e macroporosas a partir do referido material. No caso das amostras microporosas, foi avaliado o efeito das condições de sinterização (taxa de aquecimento, temperatura e tempo de sinterização) na densidade final das amostras. Com relação às amostras macroporosas, foi estudada a influencia do tipo, tamanho e quantidade do agente formador de poros nos parâmetros de porosidade (distribuição e tamanho de poros). O tempo de mistura do agente porogênico com o pó de fosfato de cálcio bifásico também foi avaliado.

4.1 Síntese de fosfato de cálcio bifásico pelo método sol-gel

A síntese dos pós de fosfato de cálcio bifásico foi realizada no Laboratório de Tecnologia de Pós (LATEP) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT). O método sol-gel utilizado consistiu da preparação de uma solução de nitrato de cálcio tetra-hidratado ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) de 1,67 M em meio alcoólico e uma solução de fosfato ácido de amônio ($(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$) de 1 M em meio aquoso. A concentração de cada solução foi tal que na mistura reacional a relação molar Ca/P foi assegurada em 1,67.

A solução de nitrato de cálcio tetra-hidratado foi preparada pesando 19,706 g do reagente, que foi dissolvido em 50 mL de álcool etílico. Já a solução de fosfato ácido de amônio foi preparada pesando 6,6 g do reagente, que foi dissolvido em 50 mL de água destilada. Para cada síntese realizada foi utilizada uma alíquota de 25 mL de cada solução precursora. Na Tabela 3 se resumem as concentrações e as alíquotas das soluções precursoras usadas na síntese do pó de BCP.

Tabela 3. Quantidades e concentrações das soluções precursoras usadas na síntese do pó de BCP.

Reagente	Marca	Meio de dissolução	Alíquotas	Concentração
Nitrato de cálcio	MERCK®	Etanol	25 mL	1,67 M
Fosfato ácido de amônio	MERCK®	Água	25 mL	1 M

As soluções precursoras foram misturadas por gotejamento utilizando uma bomba peristáltica (EasyLoad MasterFlex, modelo 7518-00), com uma taxa de gotejamento de 5 mL/min. O volume de 25 mL da solução alcoólica de nitrato de cálcio foi gotejado em 25 mL da solução aquosa de fosfato ácido de amônio, mantida sob agitação constante a 40°C. Após a completa adição da solução de nitrato de cálcio, a mistura reacional permaneceu em agitação nessa temperatura por 30 min. No processo não houve controle do pH. Um gel branco foi obtido, o qual foi envelhecido a 60°C por 24 horas. O pó sintetizado foi tratado termicamente a 200°C/2 horas para eliminação de água e resíduos orgânicos, e posteriormente foi calcinado a 800°C/2 horas. Em ambos os casos, foi utilizada uma taxa de aquecimento de 10°C/min. e atmosfera de ar (Forno EDG, Modelo F-1800, com controlador 3P-S).

O pó calcinado, nomeado como BCP calcinado, foi macerado e peneirado passando por uma malha de 500 µm para a remoção de aglomerados.

4.2 Processamento de amostras

As amostras de BCP com diferentes níveis de porosidade foram processadas no LATEP/INT.

4.2.1 Amostras microporosas

As amostras microporosas foram processadas por meio de compactação uniaxial em prensa hidráulica elétrica de 20 toneladas, modelo MA098/20EL e matriz cilíndrica de aço ferramenta de 6,17 mm de diâmetro. Foi utilizado ácido oleico para lubrificar a parede interna da matriz, com o intuito de facilitar a remoção do compactado.

As amostras foram compactadas a uma pressão de 300 MPa, a qual foi determinada por meio de uma curva de compressibilidade, que indicou que pressões maiores fragilizam o material. Assim, a pressão escolhida permitiu obter compactados sem falhas. Após a compactação, as amostras foram sinterizadas seguindo um planejamento de

experimentos, o qual possibilitou o estudo dos efeitos das variáveis: temperatura e tempo de sinterização e taxa de aquecimento na densidade do material (variável resposta).

4.2.1.1 Planejamento de experimentos 2^3

O planejamento fatorial é amplamente aplicado em experimentos que envolvem muitas variáveis, onde é necessário o estudo do efeito conjunto dos fatores na variável resposta. Desenhos fatoriais nos quais se trabalha com dois níveis de variáveis são muito comuns. Neste caso, três variáveis foram estudadas, em um desenho fatorial completo 2^3 , sem replica. Assim, são necessárias oito amostras para avaliar o efeito de cada variável na resposta. Porém, desenhos fatoriais fracionários também têm sido utilizados, com a vantagem de diminuir o número de amostras permitindo, mesmo assim, determinar o efeito de cada variável (MONTGOMERY, 2011). A análise estatística dos resultados foi feita com ajuda do software Minitab® 17.

As variáveis e os níveis escolhidos estão resumidos na Tabela 4. Para este estudo foi feito um experimento completo de 2^3 sem réplicas.

Tabela 4. Variáveis do desenho de experimento fatorial completo de 2^3 sem réplicas para as amostras microporosas.

Variáveis	Níveis	
	Baixo -1	Alto +1
Temperatura de sinterização (°C)	1070	1130
Taxa de aquecimento (°C/min)	5	10
Tempo de sinterização (h)	2	6

Na literatura são reportadas taxas de aquecimento de 2°C/min até 20°C/min (VELJOVIĆ *et al.*, 2010a e 2010b; RYU *et al.*, 2002; LUKIC *et al.*, 2012). Para avaliar o efeito da taxa de aquecimento na densidade dos materiais foram feitos experimentos com 5°C/min e 10°C/min. Não foram utilizadas taxas maiores devido às especificações técnicas limitantes dos fornos disponíveis no laboratório, uma vez que taxas muito altas podem danificar as resistências.

A temperatura de sinterização foi escolhida levando em consideração que em temperaturas no intervalo de 1120 a 1170°C (CHAMPION, 2013) ocorre a transformação de β -TCP em α -TCP e com isso podem ocorrer trincas dentro do material, devido aos diferentes coeficientes de dilatação térmica (BROWN, *et al.*, 2010; DESCAMPS *et al.*, 2013). Com base nessa informação, a temperatura superior limite

escolhida foi de 1130°C. Também foi estudado o efeito do tempo de sinterização nas variáveis resposta, e assim foram escolhidos tempos de sinterização de duas e seis horas. Tempos maiores foram evitados devido à tendência de crescimento dos grãos e ao fato da transformação de β -TCP à α -TCP que tende a ocorrer em tempos de sinterização prolongados, mesmo em presença de aditivos utilizados para evitar esta transformação (RYU *et al.*, 2002).

Todos os experimentos foram realizados seguindo uma ordem aleatória, para evitar erros estocásticos. As sinterizações foram feitas no forno EDG, Modelo F-1800, com controlador 3P-S. Na tabela 5 podem ser observados os parâmetros usados em cada experimento. As amostras microporosas foram codificadas com o número correspondente ao experimento seguido da sigla Mi. Foram compactadas 16 amostras, as quais apresentaram uma densidade relativa do corpo verde de $54,4 \pm 2,2\%$. As amostras compactadas foram separadas em pares e posteriormente submetidas à sinterização visando a consolidação do material.

Tabela 5. Parâmetros usados no estudo da influência das condições de sinterização das amostras microporosas na variável resposta (densidade relativa).

Amostras	Taxa °C/min	Temperatura °C	Tempo h
1Mi	5	1070	2
2Mi	10	1070	2
3Mi	5	1130	2
4Mi	10	1130	2
5Mi	5	1070	6
6Mi	10	1070	6
7Mi	5	1130	6
8Mi	10	1130	6

Mi: microporosa

As amostras microporosas sinterizadas foram analisadas por Difração de Raios-X (DRX), para determinar se houve mudança nas fases cristalinas, e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), para avaliar o tamanho dos grãos. Além disso, as densidades relativas foram determinadas por meio do Método Geométrico.

4.2.1.2 Planejamento de experimentos 2^{3-1}

Com base nas caracterizações referentes ao planejamento completo de experimentos (2^3) observou-se que os resultados foram similares para todas as amostras. Então a partir desta constatação, optou-se por reduzir a quantidade de amostras a serem analisadas nas

etapas subsequentes do trabalho. A redução do número de amostras foi baseada em um planejamento de experimentos fraccionário do tipo 2^{3-1} , onde foram necessários apenas quatro experimentos para estudar a variável resposta. Na Tabela 6 são apresentadas as amostras estudadas e as condições nas quais foram sinterizadas. As amostras foram caracterizadas pelas técnicas descritas no item 4.3.

Tabela 6. Parâmetros de sinterização utilizados no planejamento de experimentos 2^{3-1} .

Amostra	Taxa °C/min	Temperatura °C	Tempo h
2Mi	10	1070	2
3Mi	5	1130	2
5Mi	5	1070	6
8Mi	10	1130	6

4.2.2 Amostras macroporosas

Para a preparação das amostras macroporosas foi adicionado um agente formador de poros ao pó de BCP sintetizado. No presente trabalho foram estudados dois agentes formadores de poros, cera de polietileno e o bicarbonato de amônio. A cera tem sido referenciada como uma opção que vem dando bons resultados em relação aos parâmetros de porosidade, permitindo obter alta porosidade e poros interconectados (PRADO DA SILVA *et al.*, 2002; MITRI *et al.*, 2012). Porém, estes estudos não referenciam resultados relativos às propriedades mecânicas. Já o bicarbonato de amônio não tem sido amplamente reportado como agente formador de poros em biocerâmicas de fosfato de cálcio. No entanto, pesquisadores do Laboratório de Tecnologia de Pós (LATEP) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT) vêm estudando este material como formador de poros em implantes de titânio porosos, obtendo resultados promissores em relação aos parâmetros de porosidade (OLIVEIRA *et al.*, 2009; BALESTRA *et al.*, 2012; BALESTRA *et al.*, 2013; RIBEIRO *et al.*, 2013).

Neste trabalho um planejamento de experimentos da ordem 2^{3-1} foi feito para avaliar a influência do tipo, tamanho e proporção do agente formador de poros na porosidade e nas propriedades mecânicas do material macroporoso.

Visando o sucesso do planejamento de experimentos fraccionário utilizado nas amostras microporosas, optou-se também por usar este planejamento no estudo das amostras macroporosas.

A Tabela 7 mostra as variáveis que foram consideradas, tais como: o tipo, a proporção e o tamanho de partículas do agente formador de poros; a proporção do agente e por último o tamanho de partículas dos formadores de poros, escolhido com base nos valores encontrados na literatura (BOULER *et al.*, 1996; ŚLÓŠARCZYK *et al.*, 1999; WANG *et al.*, 2005; ZHANG E ZHU, 2007; WU *et al.*, 2011).

Tabela 7. Variáveis do planejamento de experimentos fatorial fracionado (2^{3-1}) para amostras macroporosas.

Variáveis	Níveis	
	Baixo -1	Alto +1
Agente formador de poros	Cera de polietileno	Bicarbonato de amônio
Tamanho das partículas do formador de poros (μm)	106-125	250-300
Proporção do agente (% em peso)	25	40

A BCP sintetizada foi misturada por 20 minutos com cada um dos agentes formadores de poros no misturador Turbula da marca Glen Millis Inc., com cada um dos agentes formadores de poros e compactada a 300 MPa em prensa hidráulica elétrica de 20 toneladas, MARCONI/modelo MA098/20EL e matriz cilíndrica de aço ferramenta de 6,17 mm de diâmetro. O tempo de mistura foi determinado mediante experimentos prévios, nos quais foram estudados tempos de cinco, quinze e vinte minutos, determinando-se que tempos menores a 20 minutos não são suficientes para permitir a homogeneização do agente formador de poros e do pó de BCP. As proporções dos agentes formadores de poros e pó de BCP também foram estudadas nos experimentos prévios. Inicialmente foram utilizadas as porcentagens em peso de 15 e 30% dos agentes porogênicos, observando que com 15% não ocorreu uma boa distribuição de poros e com 30% ainda era possível alcançar níveis maiores de porosidade. Para o experimento definitivo optou-se por aumentar as quantidades dos agentes formadores de poros para 25 e 40% em peso.

As amostras preparadas com a cera de polietileno foram submetidas a um tratamento térmico a 550°C por 4h, com uma taxa de aquecimento de 0,5°C/min, no forno JUNG (Modelo 0212), para eliminar o agente porogênico (PRADO DA SILVA *et al.*, 2002). Por último, as mesmas foram sinterizadas a 1070°C por 2 horas, com taxa de aquecimento de 5°C/min.

As amostras preparadas com bicarbonato de amônio foram tratadas termicamente a 170°C por 2h, com taxa de aquecimento de 0,5°C/min, no forno JUNG (Modelo 0212), para eliminar o agente porogênico (MOREIRA, 2013). Posteriormente, elas foram sinterizadas nas mesmas condições que as amostras preparadas com cera de polietileno (1070°C, 2h, 5°C/min.).

A temperatura de sinterização das amostras macroporosas foi definida com base no planejamento de experimento completo 2³ (item 4.2.1.1.) onde observou-se que na temperatura de sinterização de 1070°C a consolidação das partículas foi adequada e a porosidade não foi afetada significativamente.

As amostras foram codificadas com o número do experimento seguido da sigla Ma e caracterizadas pelas técnicas descritas no item 4.3. Na Tabela 8 são mostrados os parâmetros utilizados para o estudo da porosidade das amostras macroporosas.

Tabela 8. Parâmetros utilizados para o estudo da porosidade das amostras macroporosas.

Codificação das amostras	Agente formador de poros	Tamanho das partículas µm	Tempo de mistura min.	Proporção agente/BCP (%)
1Ma	Bicarbonato de amônio	106-125	20	25
2Ma	Bicarbonato de amônio	250-300		40
3Ma	Cera de polietileno	106-125		40
4Ma	Cera de polietileno	250-300		25

Ma: macroporosa

4.3 Caracterizações

Na Tabela 9 são resumidas as caracterizações que foram feitas em cada amostra micro e macroporosa. Os parâmetros de cada análise são detalhados a seguir.

Tabela 9. Resumo das caracterizações necessárias para cada tipo de amostra.

Caracterizações	Pó de BCP	Amostras	
		Microporosa (Mi)	Macroporosa (Ma)
DRX	X	X	X
FTIR	X	X	X
MEV/FEG	X	X	X
Análise de tamanho de partículas	X		
Ceramografia		X	
Densidade geométrica		X	
Densidade aparente			X
Propriedades mecânicas		X	

Difração de Raios-X (DRX)

Esta caracterização foi realizada para avaliar as fases cristalinas presentes nos materiais obtidos e determinar a pureza, cristalinidade e relação de fases. A análise dos picos mais intensos de cada fase, em cada padrão de difração, foi utilizada para determinar de forma semiquantitativa as frações volumétricas das fases.

A fase de β -TCP foi quantificada utilizando a relação de intensidade relativa (RIR, pelas siglas em inglês *Relative Intensity Ratio*) da HAp e do β -TCP. As intensidades mais altas de cada fase foram empregadas para calcular este valor, segundo a Equação 1:

$$RIR_{\beta\text{-TCP}} = \frac{I_{\beta\text{-TCP}}}{I_{\text{HAp}} + I_{\beta\text{-TCP}}} \quad (1)$$

onde I_{HAp} e $I_{\beta\text{-TCP}}$ correspondem aos picos de maior intensidade de cada fase cristalina, onde temos para a HAp: $2\Theta = 31,8^\circ$, β -TCP: $2\Theta = 31^\circ$ (VICTORIA E GNANAM, 2002).

Para esta caracterização foi usado o equipamento Philips, X'Pert, pertencente ao LACCO/INT, que possui 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 $0,05^\circ$.

Espectroscopia no infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises de FTIR foram realizadas no pó de BCP e nas amostras micro e macroporosas do planejamento de experimentos 2³⁻¹ (item 4.2.1.2), cujos resultados deram suporte aos dados obtidos pela técnica DRX e forneceram informações sobre as fases adicionais e substituintes, grupos funcionais presentes (MEE, 2014). A caracterização foi realizada no laboratório Labiomat do Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas (CBPF). O equipamento utilizado foi o IR Prestige da marca Shimadzu.

O espectro de varredura 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 BCP e das amostras micro e macroporosas foram dispersos em 100 mg de KBr e compactados a 80kN por três minutos. Para isso, as amostras micro e macroporosas sinterizadas foram maceradas em graal. O KBr é empregado em análises de FTIR porque não interfere na faixa de trabalho.

Estereoscopia

Imagens das amostras macroporosas, com aumento de 10X, foram feitas utilizando uma lupa estereoscópica NIKON (modelo SMZ645), pertencente ao Laboratório TERMIC do PEMM/COPPE/UFRJ.

Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

O pó de BCP e as amostras micro e macroporosas foram analisadas por MEV/EDS para determinação da morfologia, microestrutura, topografia e composição química. As análises foram conduzidas em microscópio eletrônico de varredura FEI, modelo Inspect S, pertencente ao Centro de Caracterização em Nanotecnologia (CENANO) do Instituto Nacional de Tecnologia (INT).

As partículas do pó de BCP foram dispersas em etanol usando um banho ultrassônico por 10 minutos, devido à baixa solubilidade neste meio, uma vez que o β -TCP é menos estável em meio fisiológico e mais solúvel em meio aquoso quando comparado com a HAp (KAMITAKAHARA *et al.*, 2008; DOROZHKIN, 2012). Em seguida, uma alíquota foi gotejada em fita condutora de carbono e deixada secar em dessecador por aproximadamente 1 hora. No caso das amostras micro e macroporosas, as mesmas foram fixadas diretamente na fita condutora de carbono. A fim de tornarem-se condutoras, as partículas secas e as amostras micro e macroporosas foram recobertas com ouro (Au) em atmosfera de argônio pelo processo de “sputtering” (Sputter Coater Marca EMITECH, modelo SC7620).

Análise de Tamanho de Partículas

A distribuição do tamanho de partículas do pó de fosfato de cálcio bifásico calcinado foi realizada no analisador de tamanho de partículas à laser da marca CILAS modelo 1064 L/T, pertencente ao Laboratório de Tecnologia de Pós do INT. O meio de dispersão utilizado foi álcool isopropílico e a faixa de análise foi de 0,04 a 500 μ m. Na análise todas as partículas foram consideradas como esféricas.

Determinação da Distribuição do Tamanho de Grãos por Análise de Imagens

As micrografias obtidas por MEV das amostras microporosas com aumento de 10000X foram utilizadas para determinar a distribuição de tamanho de grãos, por meio dos softwares Image-Pro® Plus 6.0 da Media Cybernetics e ImageJ (software livre).

Para determinar o tamanho de grão, primeiramente foram definidas as unidades de medição mediante a calibração dos pixels equivalentes a unidade definida na imagem. O tratamento das imagens consistiu no melhoramento do brilho e contraste, aplicação de filtros para eliminar ruídos (Filtros Median e Local Equalization do tipo Standard Deviation) utilizando o software Image Pro®, a aplicação da função Find Edges foi feita no software ImageJ, a segmentação da imagem e por último a quantificação da área dos grãos foram feitas no Image Pro®. O uso dos dois softwares está baseado nas ferramentas que cada um proporciona para a binarização das imagens.

A área foi limitada a uma faixa de 0,2 a 10 μm^2 . Além deste parâmetro, foram medidos os diâmetros máximo e mínimo, assim como o diâmetro médio e os diâmetros de Feret máximo, mínimo e médio.

O diâmetro máximo é definido no software Image-Pro® como o comprimento da maior linha que une dois pontos da borda do objeto e que passa através do centroide. Assim, o diâmetro mínimo é o comprimento da linha mais curta que une dois pontos da borda do objeto e que passa através do centroide e o diâmetro médio é a média das linhas de diâmetros medidos em intervalos de dois graus e passando pelo centroide do objeto (Figura 1).

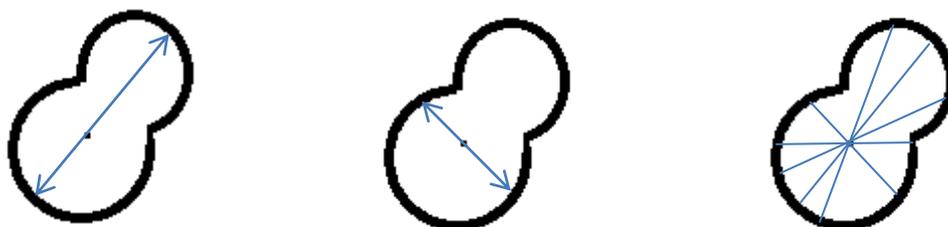


Figura 1. Desenho esquemático da medição dos diâmetros máximo, mínimo e médio.

O diâmetro Feret é mais amplamente utilizado na caracterização de cerâmicas (GARCÍA-PALENCIA *et al.*, 2010). O diâmetro Feret é definido como a distância entre duas linhas paralelas, as quais são tangenciais ao contorno da projeção da partícula. Podem ser determinados vários diâmetros de Feret, segundo a direção em que são traçadas as tangenciais (Figura 2).

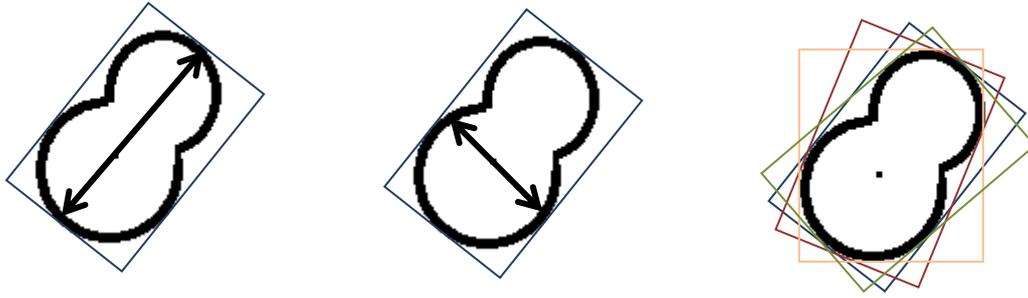


Figura 2. Desenho esquemático da medição dos diâmetros Feret máximo, mínimo e médio.

Antes de dar início ao processamento digital de imagens foi necessário calibrar o número de pixels da imagem a um número correspondente de μm . As imagens obtidas por MEV foram processadas primeiramente no software Image Pro, um ajuste do contraste e brilho foi necessário, posteriormente foi aplicada a ferramenta de filtro Flatten para reduzir a intensidade das variações dos pixels do background. O filtro Median foi aplicado para reduzir o ruído da imagem e para substituir o pixel central com o valor médio dos pixels da vizinhança. Por último foi aplicado o filtro Local equalization na função Standard Deviation e com isto foi possível revelar digitalmente os contornos. No entanto, para conseguir uma melhor diferenciação dos grãos e contornos, no software Image J foi aplicada a função Find Edges. Voltando ao software Image Pro, foi feita a binarização da imagem utilizando a função Threshold. Na imagem binarizada foi usada a ferramenta Count/Size para medir a área dos objetos, os diâmetros e os Feret máximo, mínimo e médio. A faixa limite de área considerada foi de 0,2 a 12 μm^2 . Os dados foram exportados e analisados em uma planilha eletrônica MS Excel®.

A maior dificuldade no processamento digital de imagem foi conseguir transformar todos os contornos dos grãos em objetos e obter uma medição exata das características do material sem perder detalhes.

Determinação da densidade relativa e porosidade pelo Método Geométrico

Neste caso, três medidas de cada dimensão (altura e diâmetro) das amostras cilíndricas foram obtidas por paquímetro digital Marathon Management Modelo CO030150. Com estes dados, foi calculado o volume do material (Equação 2):

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

onde V é o volume, D e h são o diâmetro e altura do corpo, respectivamente.

Além disso, o corpo foi pesado em balança SHIMADZU Modelo AUY220 para determinação da massa e a densidade foi calculada utilizando a Equação 3:

$$d_{\text{geométrica}} = \frac{m}{V} \quad (3)$$

onde d é a densidade geométrica do material, m a massa e V o volume.

A densidade relativa foi calculada levando em consideração a densidade teórica da BCP (Equação 4). No caso de materiais bifásicos a densidade teórica deve ser ponderada segundo a fração volumétrica de cada fase na amostra (Equação 5).

$$d_{\text{relativa}} = \frac{d_{\text{geométrica}}}{d_{\text{teórica}}} \times 100 \quad (4)$$

$$d_{\text{teórica}} = x_1 d_{t1} + x_2 d_{t2} \quad (5)$$

onde x é a fração volumétrica de cada fase e d_t é a densidade teórica da fase. A densidade teórica da HAp utilizado neste trabalho é de $3,16 \text{ g/cm}^3$ e do β -TCP $3,07 \text{ g/cm}^3$, de acordo com as fichas da biblioteca informatizada JCPDS #9-432 e #9-169 (JCPDS – *Join Commitee on Powder Diffraction Standart*).

Com relação à porosidade, o cálculo foi feito por meio da Equação 6:

$$P = 100 - d_{\text{relativa}} \quad (6)$$

onde P é a porosidade.

A determinação da densidade relativa e porosidade foi realizada nas amostras microporosas sinterizadas.

Determinação da densidade aparente pelo Método de Arquimedes e Porosidade

A densidade aparente do material corresponde ao volume ocupado por uma determinada massa de sólido, incluindo a porosidade, e pode ser determinada pela Equação 7:

$$d_{\text{aparente}} = \frac{m_{\text{seca}}}{(m_{\text{úmida}} - m_{\text{imersa}})} \times d_{\text{meio de imersão}} \quad (7)$$

Para determinar a densidade aparente das amostras macroporosas utilizou-se uma balança analítica com kit de densidade (SHIMADZU modelo AUY220). Primeiramente mediu-se a massa seca e em seguida as massas imersa e úmida. Antes de efetuar as medidas das massas imersa e úmida, foi necessário imergi-las em água destilada a $100^\circ\text{C}/1 \text{ hora}$, de forma a assegurar que todos os poros abertos foram preenchidos com

o meio de imersão. Posteriormente, as amostras foram resfriadas em água destilada até a temperatura do ensaio (temperatura ambiente). A massa úmida consiste em retirar o excesso de água da superfície com o auxílio de um tecido ou papel absorvente. A densidade do meio de imersão (água) deve corresponder àquela da temperatura do ensaio. O procedimento foi realizado em triplicata.

Para o cálculo da porosidade, utilizou-se a Equação 8:

$$P = (1 - d_{\text{aparente}}) \times 100 \quad (8)$$

Ceramografia

A ceramografia consiste na análise de imagens da amostra preparada por embutimento, lixamento e a captura de imagens em microscópio óptico e por último a análise das imagens em software apropriado.

Nas amostras microporosas, o embutimento foi realizado utilizando resina epóxi E1 da marca Arotec® (Bisfenol A + Glicidil éter alifático). Para duas partes de resina foi utilizada uma parte de líquido autopolimerizante E2, também da marca Arotec®. Foram utilizados moldes plásticos e o desmoldante D30 (Arotec®) para facilitar a retirada dos embutimentos.

O lixamento foi realizado com lixas de SiC na sequência de 400, 800, 1200, 2000 e 4000. O polimento não foi realizado, uma vez que as partículas da pasta de diamante incrustaram nos poros do material.

As amostras foram observadas por microscopia, utilizando o microscópio ótico da marca OLYMPUS, Modelo Bx60M, e as imagens foram analisadas com o auxílio do software SCOPE IMAGE 9.0®. Este procedimento foi realizado no Laboratório TERMIC do PEMM/COPPE/UF RJ.

As amostras macroporosas também foram preparadas por ceramografia para o estudo das características dos poros, porém este estudo não foi possível devido a que a resina utilizada é transparente e não se conseguiu o contraste necessário para a análise sendo a cerâmica branca.

Propriedades mecânicas.

- Ensaio por Indentação

Esta técnica permite a determinação de propriedades como a dureza, tenacidade à fratura e o módulo de elasticidade. Os ensaios foram feitos seguindo a Norma ASTM C1327 – 15 “Standard Test Method for Vickers Indentation Hardness of Advanced Ceramics”. Esta caracterização foi realizada no Laboratório de Propriedades Mecânicas do PEMM/COPPE/UFRJ utilizando o durômetro ZWICK/ROELL modelo 8187.5.

As amostras microporosas foram preparadas como descrito na seção de ceramografia e submetidas a um ensaio prévio com indentações obtidas com cargas na faixa de 1 a 10 kgf, para determinação da carga mais adequada. O estudo prévio mostrou que a carga adequada para o ensaio foi de 3 kgf, levando em consideração que o critério de aceitação das indentações foi que todas as trincas emanassem dos cantos das indentações sem lascas e ramificar. A partir deste resultado, os ensaios subsequentes foram realizados com a carga de 3Kgf e número de indentações de 4 a 8, para dar suporte ao estudo estatístico. As imagens das marcas das indentações e as trincas produzidas durante o ensaio foram capturadas por microscópio ótico em vários aumentos. As trincas são indicativas das propriedades de fratura dos materiais (ROCHA, 2004).

A dureza é a resistência do material de formar uma impressão permanente na superfície por um indentador (GREEN, 1998). A Figura 3 mostra um desenho esquemático de indentação para geometria Vickers. As dimensões características “a” e “c” correspondem à impressão plástica e a trinca radial/mediana, respectivamente. Estes valores estão diretamente relacionados com a dureza (H_v) e a tenacidade à fratura (K_{IC}).

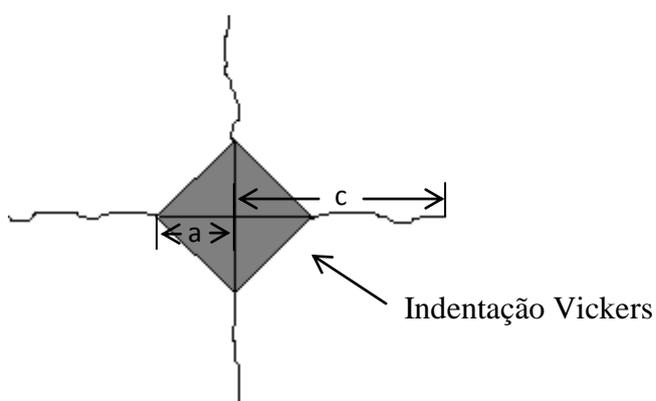


Figura 3. Desenho esquemático de uma indentação produzida por um Indentador Vickers.

As medições tanto dos comprimentos das diagonais ($2a$) como das trincas (c) foram realizadas utilizando o software livre ImageJ. Posteriormente, a análise dos dados foi

processada fazendo-se uso da planilha eletrônica MS-Excel. A dureza foi determinada utilizando a Equação 9:

$$H_v = \frac{1,8544 \times P}{(2a)^2} \quad (9)$$

onde, H_v é a dureza Vickers, P é a carga utilizada na indentação em kgf e $2a$ é a diagonal da marca de indentação em mm (PADILHA, 2000). A dureza Vickers também pode ser expressada em GPa segundo a Equação 10:

$$H_v = \frac{1,8544 \times P}{(2a)^2} \times 0,0098 \text{ (GPa)} \quad (10)$$

Vários modelos são apresentados na literatura para a determinação da tenacidade à fratura, neste trabalho foi utilizada a expressão de Liang, mostrada na Equação 11 (ROCHA, 2004):

$$\left(\frac{K_{IC} \Phi}{H_v a^{0,5}} \right) \left(\frac{H_v}{E \Phi} \right)^{0,4} \alpha = \left(\frac{c}{a} \right)^{(c/18a) - 1,51} \quad (11)$$

$$\alpha = 14 \left[1 - 8 \left(\frac{4\nu - 0,5}{1 + \nu} \right)^4 \right]$$

onde α é uma constante adimensional relacionada à razão de Poisson (ν), Φ é um fator de limitação (estabelecido por Liang como 3), E é o módulo de Young (determinado por nanoindentação), H_v é a dureza Vickers da amostra.

- Nanoindentação

O experimento de nanoindentação foi feito no Nanoindentador G-200 da Agilent (USA) do Laboratório de Recobrimentos Protetores do PEMM/COPPE/UFRJ. As amostras microporosas embutidas e lixadas, seguindo o procedimento descrito na seção de ceramografia, foram utilizadas para este ensaio.

Curvas de força-deslocamento com ciclos de carga e descarga foram obtidas para cada amostra microporosa, empregando cargas máximas de 50, 100, 200 e 400 mN, por meio do uso de um nanoindentador do tipo Berkovich. Para cada carga, cinco indentações foram feitas. Usando o método de Oliver-Pharr, foram calculados a nanodureza e o módulo de elasticidade como uma função da profundidade de penetração, para cada

indentação. A relação de Poisson utilizada para todos os cálculos foi de 0,25 (HE *et al.*, 2008).

O módulo de elasticidade teórico foi estimado utilizando a Equação 12 (WAGH *et al.*, 1991):

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

onde o valor de E_0 é o módulo de Young do material denso e P a fração volumétrica de poros (determinada pela Equação 6); o expoente m depende da tortuosidade dos poros e usualmente é 2. O valor de E_0 utilizado neste trabalho foi determinado por RUSESKA *et al.* (2006) e corresponde a uma BCP com 50% de cada fase sinterizada a 1150°C.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Pó de Fosfato de Cálcio Bifásico.

5.1.1 Difração de Raios X (DRX).

A figura 4 mostra o difractograma de raios-X do pó de fosfato de cálcio bifásico sinterizado pela técnica sol-gel descrita na seção 4.1. Observa-se que o pó apresentou somente picos característicos das fases cristalinas de Hidroxiapatita (HAp) e β -fosfato tricálcico (β -TCP) de acordo com as fichas da biblioteca informatizada JCPDS #9-432 e #9-169 (JCPDS – *Join Commitee on Powder Diffraction Standart*), respectivamente, indicando que a metodologia empregada foi bem sucedida. Além disso, por meio da equação 1 determinou-se a porcentagem de cada fase cristalina, cujo resultado mostrou que o pó calcinado é composto por 57% de HAp e 43% de β -TCP.

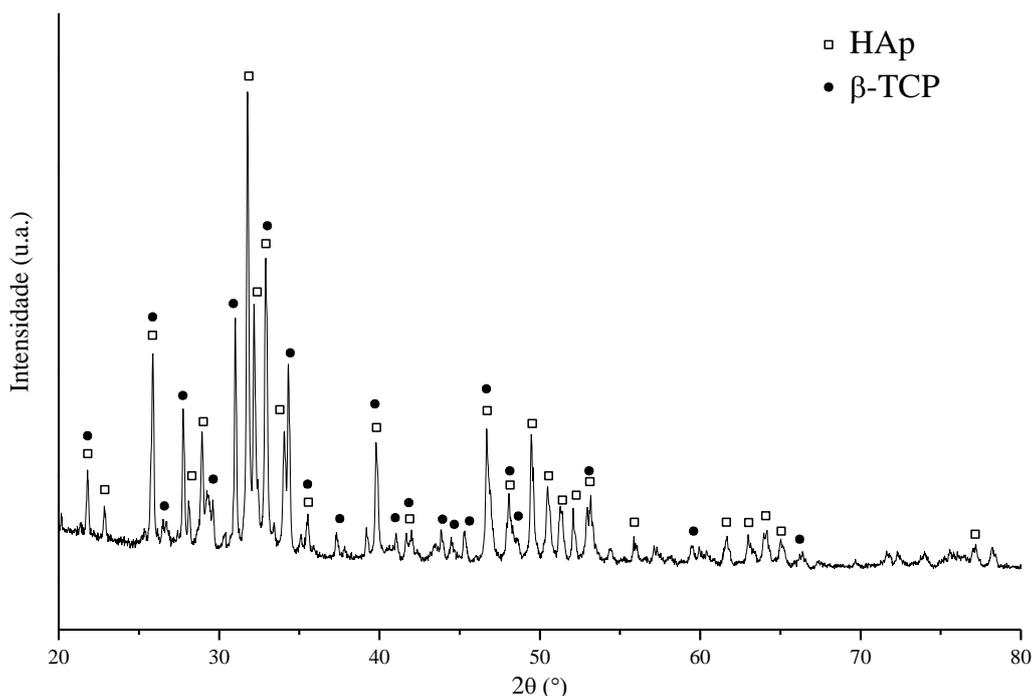


Figura 4. Difractograma do pó de fosfato de cálcio bifásico.

5.1.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR).

O pó de fosfato de cálcio bifásico foi analisado por FTIR, cujo espectro típico das fases β -TCP e HAp é mostrado na Figura 5.

A banda de absorção da hidroxila (OH^-) em 3572 cm^{-1} é característica da HAp cristalina. Pode ocorrer que esta bandas esteja ausente no espectro FTIR ou apresente baixa intensidade. Alguns autores atribuem esta ausência devido às vibrações da hidroxila na superfície da apatita causando perturbações nas pontes de hidrogênio das moléculas de água aos íons OH^- da superfície. Já a baixa intensidade está relacionada com a presença da fase β -TCP. As bandas em 3440 e 1641 cm^{-1} indicam vibrações H-O-H devido à presença de água (STOCH *et. al.*, 1999; LAYROLLE *et. al.*, 2009; VANI *et al.*, 2009 e BOILET *et al.*, 2013). Uma banda adicional de hidroxila (OH^-) aparece a 3640 cm^{-1} , a qual pode estar relacionada com a presença de hidróxido de cálcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) devido a uma reação incompleta dos precursores, que causou a formação de óxido de cálcio (CaO). O óxido de cálcio, que não foi detectado por DRX (Figura 4), quando entra em contato com o vapor de água absorvida da atmosfera (ar) pelo material, se transforma em $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Porém, quando o material é reaquecido a temperaturas acima de 650°C , ou seja, acima da temperatura de desidratação do $\text{Ca}(\text{OH})_2$, a banda de absorção do grupo (OH^-) relacionada a esta vibração desaparece (ŚLÓŠARCZYK, A, *et al.*, 1997; BERZINA-CIMDINA E BORODAJENKO, 2012).

As bandas em 1415 e 873 cm^{-1} correspondem às substituições de íons PO_4^{3-} por íons CO_3^{2-} na estrutura da HAp (STOCH *et. al.*, 1999 e LAYROLLE *et. al.*, 2009). Tais substituições podem ocorrer devido ao dióxido de carbono (CO_2) proveniente da atmosfera, que combina com a estrutura cristalina da HAp durante os processos de dissolução, agitação, reação e calcinação (OLIVEIRA *et al.*, 2008a e CHEN *et al.*, 2011). A presença de carbonatos em materiais à base de fosfato de cálcio não é prejudicial, uma vez que carbonatos são constituintes das estruturas ósseas e eles podem melhorar a biocompatibilidade de materiais sintéticos (BAKAN *et al.*, 2013).

Os grupos fosfato (PO_4^{3-}) são caracterizados pelas bandas em 1089 , 1041 , 962 , 632 , 600 e 560 cm^{-1} , as quais são perturbadas pelas diferenças dos grupos espaciais na HAp e β -TCP, resultando em bandas de íon PO_4^{3-} com diferentes características de absorção (LAYROLLE *et. al.*, 2009 e BOILET *et al.*, 2013). Por exemplo, as bandas em 1089 e 1041 cm^{-1} indicam estiramento assimétrico de PO_4^{3-} ou estiramento PO_3 em HPO_4^{2-} . Em 962 cm^{-1} , a absorção corresponde ao íon HPO_4^{2-} na fase β -TCP (FARZADI *et al.*, 2011). As bandas 632 , 600 e 560 cm^{-1} são características da vibração O-P-O referente ao íon PO_4^{3-} ou vibração O-P-O do íon HPO_4^{2-} (OLIVEIRA *et al.*, 2008a).

Como foi mencionado no item 4, o pó sintetizado pelo método sol-gel em meio aquoso exibiu uma terceira fase de pirofosfato de cálcio (CPP) e exigiu um longo tempo de envelhecimento da mistura reacional para a formação do gel, o qual não foi suficiente para completar a reação e um precipitado foi formado (FERREIRO *et al.*, 2014). Assim, a partir dos resultados de DRX (item 5.1) e FTIR do pó sintetizado pela técnica em meio alcoólico, é possível observar que a metodologia empregada foi eficaz na obtenção de um fosfato de cálcio bifásico puro, formado por HAp e β -TCP, sem a presença de fases indesejáveis.

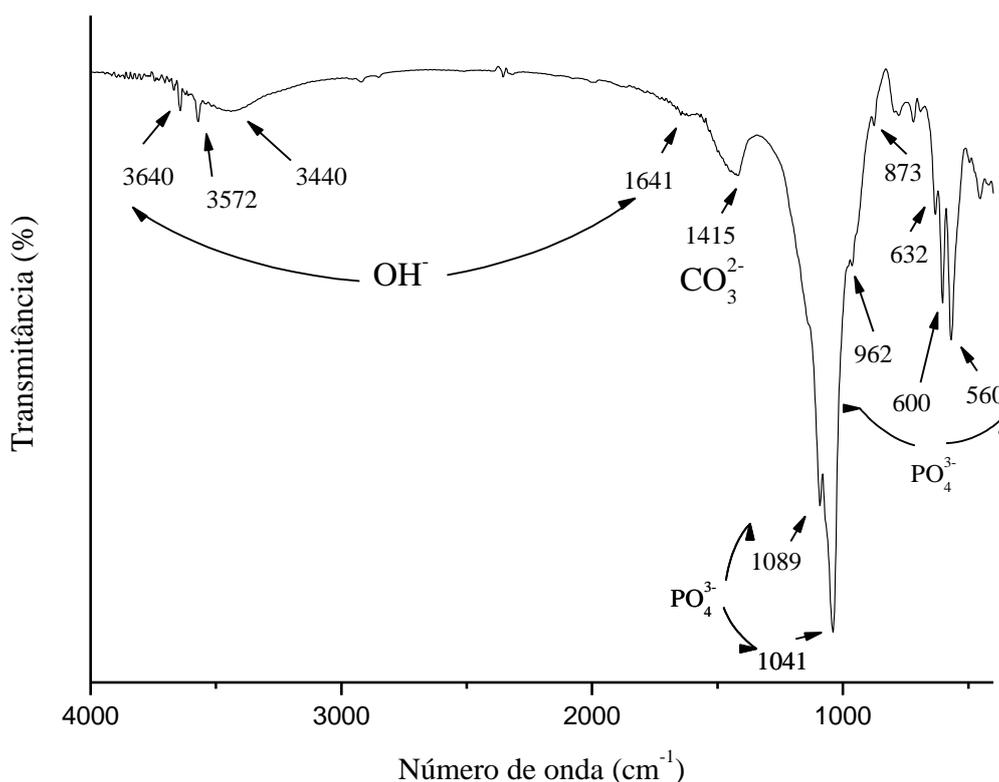


Figura 5. Espectro de FTIR do pó de fosfato de cálcio bifásico.

5.1.3 Micrografia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrometria por Energia Dispersiva de Raios X (EDS)

A Figura 6 apresenta os resultados de MEV/EDS do pó de fosfato de cálcio bifásico (BCP). Pode ser observado na Figura 6a que o material é formado por partículas ou aglomerados ovais ou esféricos com tamanhos variando entre 20 e 100 μm . Em aumentos maiores (Figura 6b e 6c), pode ser visto que as partículas ou aglomerados mostram rugosidade e alta microporosidade. Estes parâmetros são importantes, uma vez que a rugosidade superficial permitirá a fixação das células e o tamanho, morfologia e a microporosidade influenciarão na solubilidade da biocerâmica no meio fisiológico

(KAMITAKAHARA *et al.*, 2008; DOROZHKIN, 2010; DOROZHKIN, 2012; SALINAS E VALLET-REGI, 2013).

Na Figura 6d, o espectro de EDS exibe picos de cálcio (Ca) e fósforo (P), indicando a formação de fosfato de cálcio (CaP). Porém, não foi possível determinar a razão molar Ca/P, porque os picos de P e Au são coincidentes ao redor de 2.00 keV.

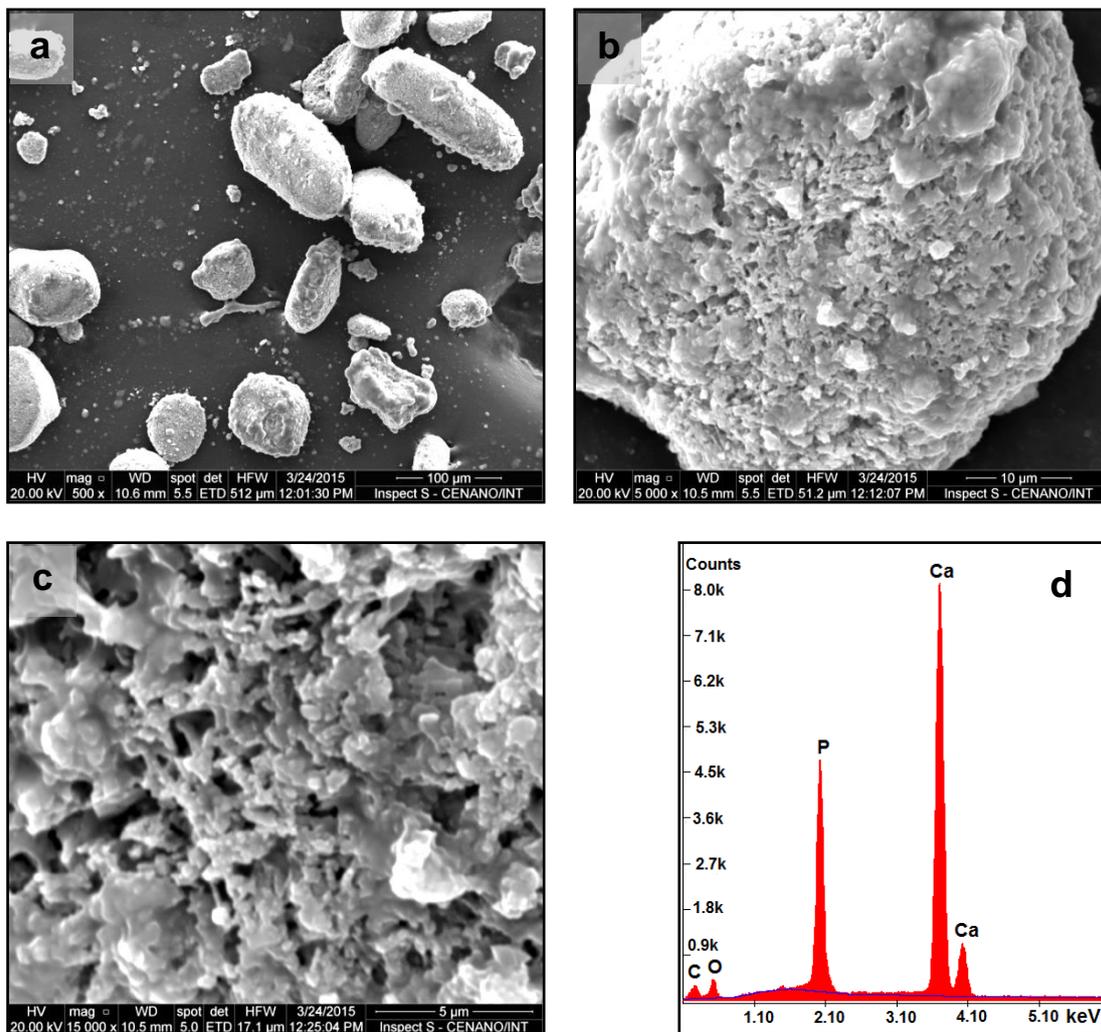


Figura 6. Partículas do pó de BCP: imagens de MEV (a,b,c) e espectro de EDS (d).

5.1.4 Análise de Tamanho de Partículas

A curva de distribuição obtida por análise de tamanho de partículas do pó de BCP pode ser visualizada na Figura 7. A análise indicou tamanho de partículas na faixa de 0,2 a 400 μm , cujo diâmetro médio foi de 115,53 μm . Para os valores acumulados, os tamanhos foram os seguintes: 22,32 μm (10%), 105,50 μm (50%) e 217,53 μm (90%). Em comparação com os dados do item 5.1.3, nota-se que tais resultados estão de acordo

com os valores de tamanho de partículas ou aglomerados medidos por análise de imagens de MEV.

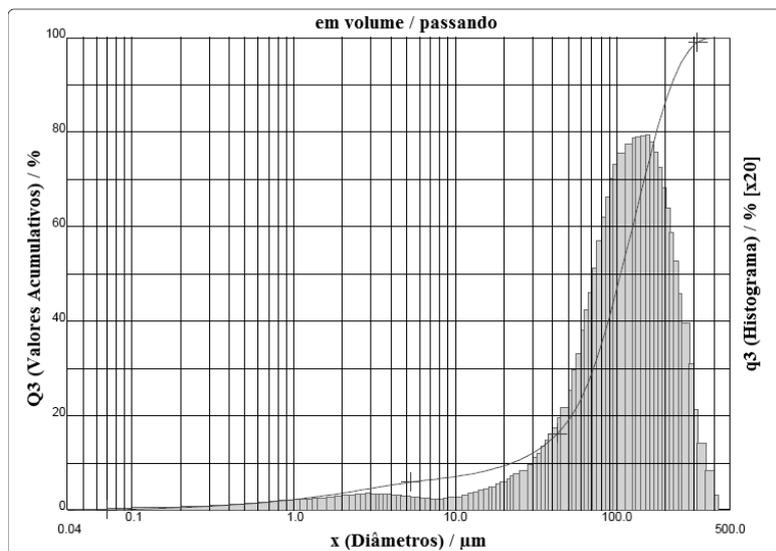


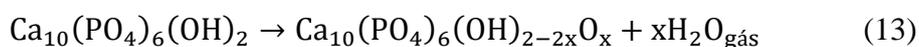
Figura 7. Curva de distribuição de tamanho de partículas do pó de BCP.

5.2 Caracterização das Amostras Microporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2³

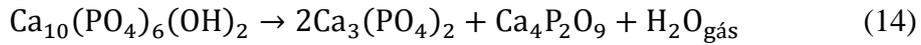
5.2.1 Difração de Raios-X (DRX)

A Figura 8 apresenta os difratogramas de raios-X das amostras microporosas estudadas no planejamento de experimentos 2³. Como pode ser visto, somente picos característicos da HAp e β -TCP foram observados, indicando que não houve mudanças nas fases cristalinas e que as condições de sinterização foram adequadas. Com relação à proporção das fases HAp: β -TCP, todas as amostras mostraram uma proporção de 49:51, diferente daquela apresentada pelo pó de BCP (57:43). Isso significa que as condições de sinterização estudadas proporcionam um aumento na quantidade de β -TCP o que está de acordo como o encontrado por outros autores (RAMESH *et al.*, 2007; BROWN *et al.*, 2010; LUKIĆ *et al.*, 2012; DESCAMPS *et al.*, 2013).

RAMESH *et al.* (2008) indicaram que a sinterização da HAp pode conduzir a uma decomposição térmica parcial da biocerâmica em TCP e/ou TTCP (fosfato de tetracálcio). A decomposição térmica é feita em duas etapas: a dehidroxilação e a decomposição propriamente dita. A dehidroxilação até oxihidroxiapatita acontece em temperaturas de 850-900°C segunda a Equação 13:



A decomposição de TCP e TTCP ocorre em temperaturas maiores que 900°C, segundo a reação dada na Equação 14 (HOEPFNER E CASE, 2003; RAMESH *et al.*, 2008):



Ambas as reações têm água na forma de vapor como produto e a taxa com que acontecerão dependerá da pressão parcial de água na atmosfera do forno.

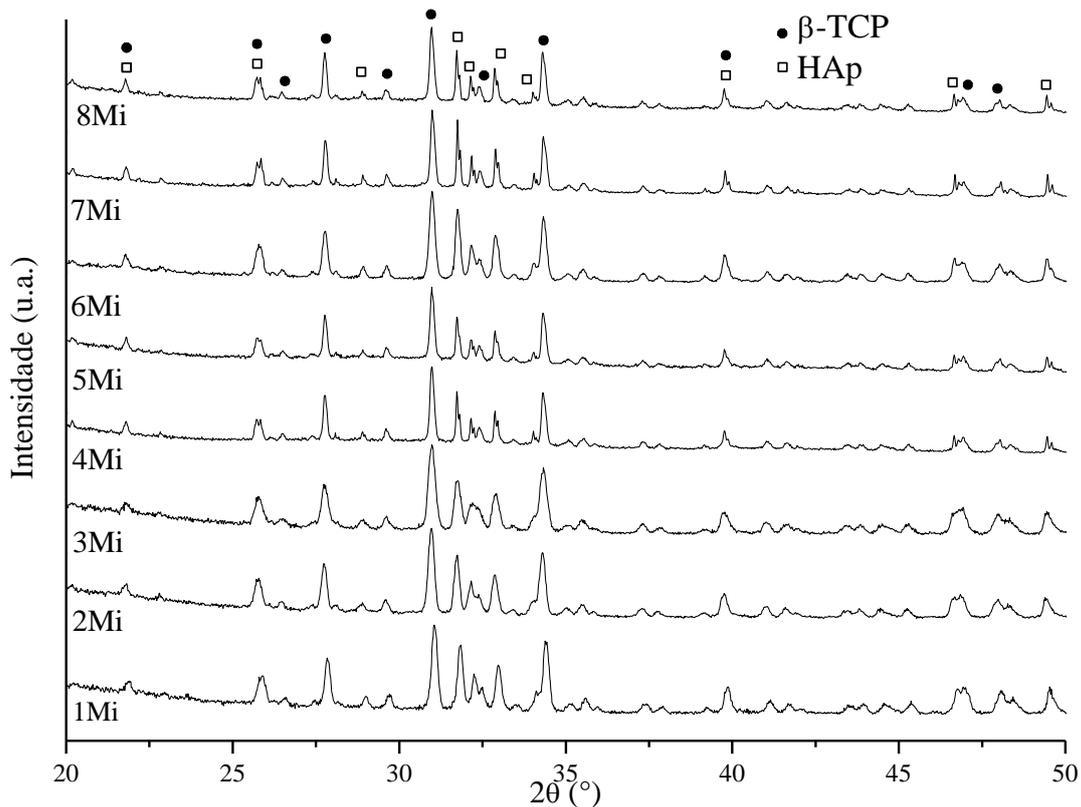


Figura 8. Difractogramas de raios-X das amostras microporosas.

5.2.2 Densidade Relativa e Porosidade

A densidade relativa e a porosidade de cada amostra foram determinadas por meio do método geométrico. No entanto, a variável resposta do planejamento de experimentos 2³ foi a densidade relativa, com os resultados apresentados na Tabela 10. As densidades correspondem à média das medidas das dimensões de duas amostras sinterizadas em cada condição.

Como pode ser visto na Tabela 10, as amostras sinterizadas a 1130°C apresentam maior densidade relativa que as sinterizadas a 1070°C, o que indica uma forte dependência da densidade com a temperatura. Por outro lado, em nenhuma das condições de sinterização foi possível obter uma densidade relativa maior do que 80%, devido

provavelmente à natureza microporosa das partículas do pó de BCP (Figura 6c) dificultando a densificação. As baixas densidades também podem estar relacionadas com a diferença entre os coeficientes de expansão térmica das fases de HAp e β -TCP, que em altas temperaturas cria espaços na estrutura; isto levará a um decréscimo na densidade final e proporciona uma maior porosidade (MITRI *et al.*, 2012). Além disso, CHAMPION (2013) relatou que capacidade de sinterização da cerâmica BCP é menor que a HAp ou β -TCP puros e que não existe evidência de uma sinterização mútua de HAp e TCP, uma vez que os materiais constituídos de ambas as fases podem ser vistos como compósitos bifásicos. Nestes compósitos a fase em menor proporção atua como uma fase dispersa na matriz formada pela fase presente em maior quantidade. A fase dispersa atua como um inibidor da matriz, influenciando na sinterabilidade e consequentemente na densidade final do material.

Tabela 10. Densidades relativas e porosidades das amostras microporosas estudadas no planejamento de experimentos 2^3 .

Amostra	Taxa °C/min.	Temperatura °C	Tempo h	Densidade Relativa %	Porosidade %
1Mi	5	1070	2	65,0	35,0
2Mi	10	1070	2	69,0	31,0
3Mi	5	1130	2	79,0	21,0
4Mi	10	1130	2	74,0	26,0
5Mi	5	1070	6	70,0	30,0
6Mi	10	1070	6	71,0	29,0
7Mi	5	1130	6	80,0	20,0
8Mi	10	1130	6	80,0	20,0

Seguindo o planejamento de experimentos 2^3 e mediante o uso do software Minitab 17® foi determinado que o parâmetro que tem maior influência na densidade relativa é a temperatura (Figura 9). Porém, este parâmetro está limitado a uma faixa de valores, devido à possibilidade de formar α -TCP (CHAMPION, 2013).

Na Figura 10 pode ser verificada a influência de cada parâmetro na densidade relativa. A taxa de aquecimento teve um efeito negativo, ou seja, quanto maior a taxa, menor a densidade. Isto difere dos dados encontrados por LUKIĆ *et al.* (2012), que relataram que taxas de aquecimento altas em hidroxiapatita cálcio deficiente, resultam em maior densificação devido provavelmente ao processo de densificação em si e a formação de β -TCP, que acontece durante o aquecimento e interfere na sinterização. Porém, o efeito deste parâmetro nos limites deste estudo não foi significativo. Com relação ao tempo de

sinterização, este apresentou uma influência positiva, tanto que aumentando o tempo aumentou a densidade relativa, porém, o efeito também não foi significativo.

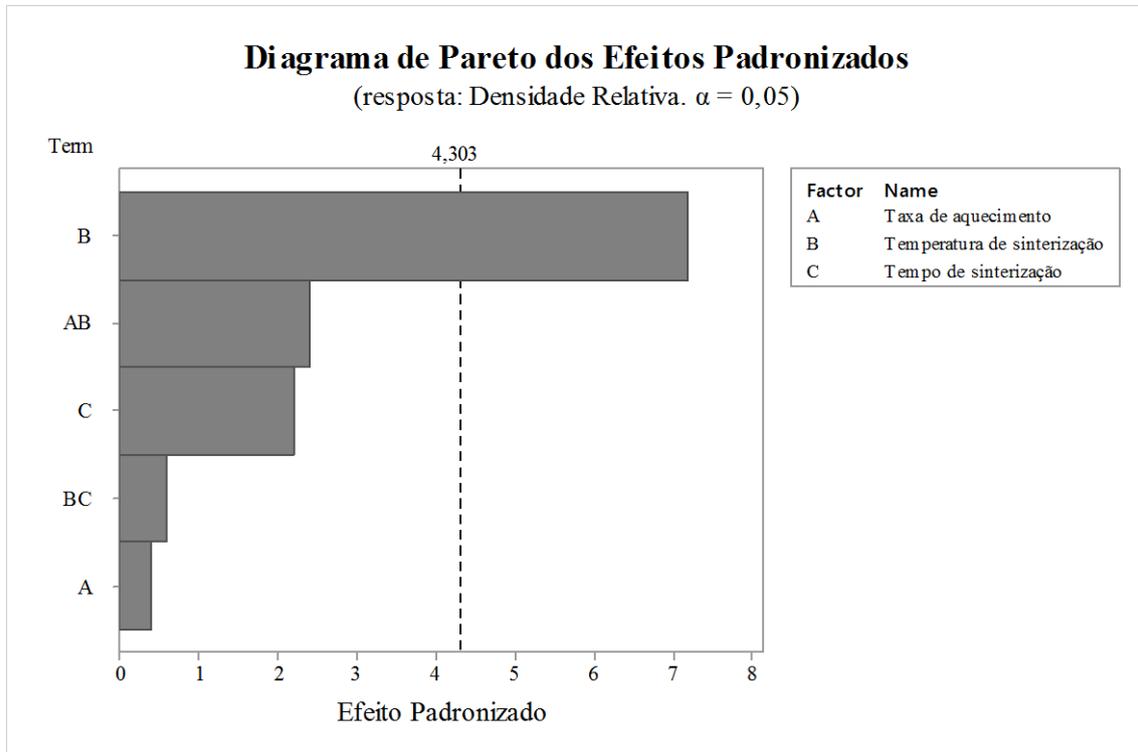


Figura 9. Diagrama de Pareto: efeito dos parâmetros de sinterização na densidade relativa das amostras microporosas.

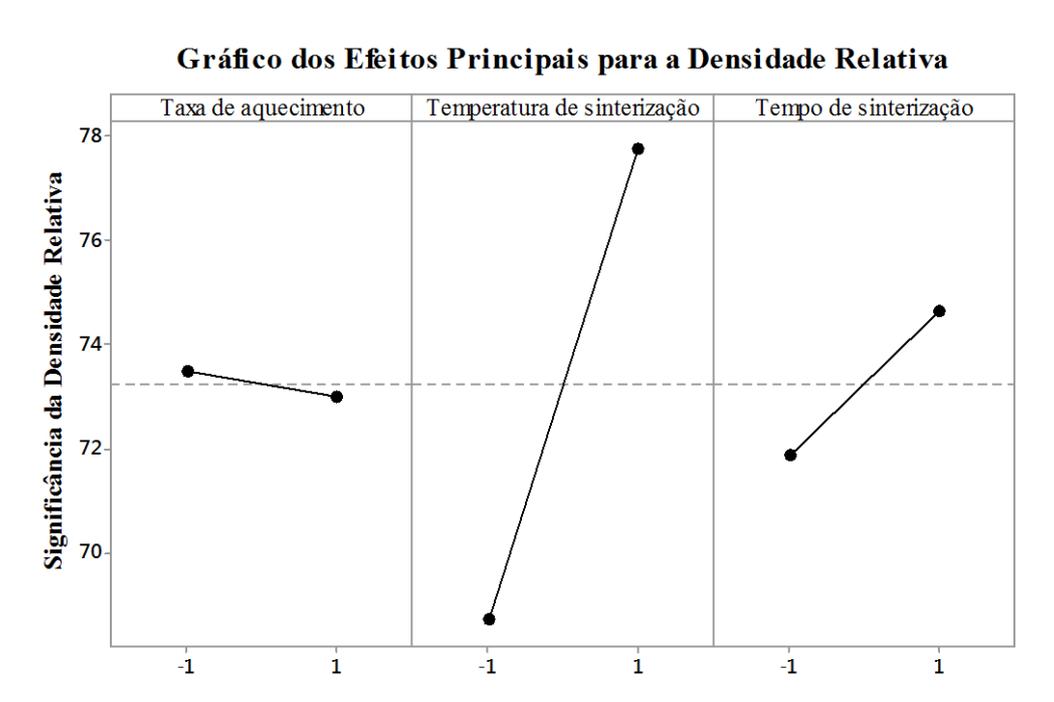


Figura 10. Gráfico da influência dos parâmetros de sinterização na densidade relativa das amostras microporosas.

Quanto à temperatura de sinterização, este foi o parâmetro que mostrou maior influência positiva, ou seja, aumentando a temperatura aumenta-se a densidade relativa. No caso do material estudado, a temperatura de sinterização ficou limitada a 1130°C, para evitar a transformação de β -TCP para α -TCP, que pode ocasionar a formação de trincas no interior do material devido aos diferentes coeficientes de dilatação térmica (BROWN, *et al.*, 2010; .DESCAMPS *et al.*, 2013).

5.3 Caracterização das Amostras Microporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2^{3-1}

Como foi descrito na metodologia, a partir desta etapa a quantidade de amostras analisadas foi reduzida para quatro, uma vez que o planejamento 2^{3-1} apresentou resultados (densidade relativa e composição química) similares aos encontrados no planejamento completo 2^3 . Além disso, em ambos os planejamentos a temperatura de sinterização mostrou ser o parâmetro com maior significância; a taxa de aquecimento e o tempo tiveram pouca influência.

5.3.1 Microscopia Eletrônica de Varredura

5.3.1.1 Microporosidade

A Figura 11 apresenta as imagens de MEV das amostras microporosas estudadas no planejamento de experimentos 2^{3-1} . A partir das imagens, é possível observar que a consolidação das partículas foi adequada em todas as amostras, com formação de pescoços, indicando que os parâmetros de sinterização foram apropriados para o pó de BCP. Além disso, os resultados sugerem que a temperatura de 1070°C foi suficiente para promover a consolidação das partículas do referido material.

Qualitativamente pode ser verificado nas Figuras 11a e 11c, que as amostras 2Mi e 5Mi sinterizadas em temperatura mais baixa (1070 °C) apresentaram maior proporção de microporos. Por outro lado, as amostras 3Mi (Figura 11b) e 8Mi (Figura 11d), sinterizadas a 1130°C, exibiram um nível de porosidade menor. Além disso, a microporosidade de todas as amostras pode ser considerada fechada e inerente ao processamento das cerâmicas. Tais observações estão de acordo com os resultados de densidade relativa apresentados na Tabela 10.

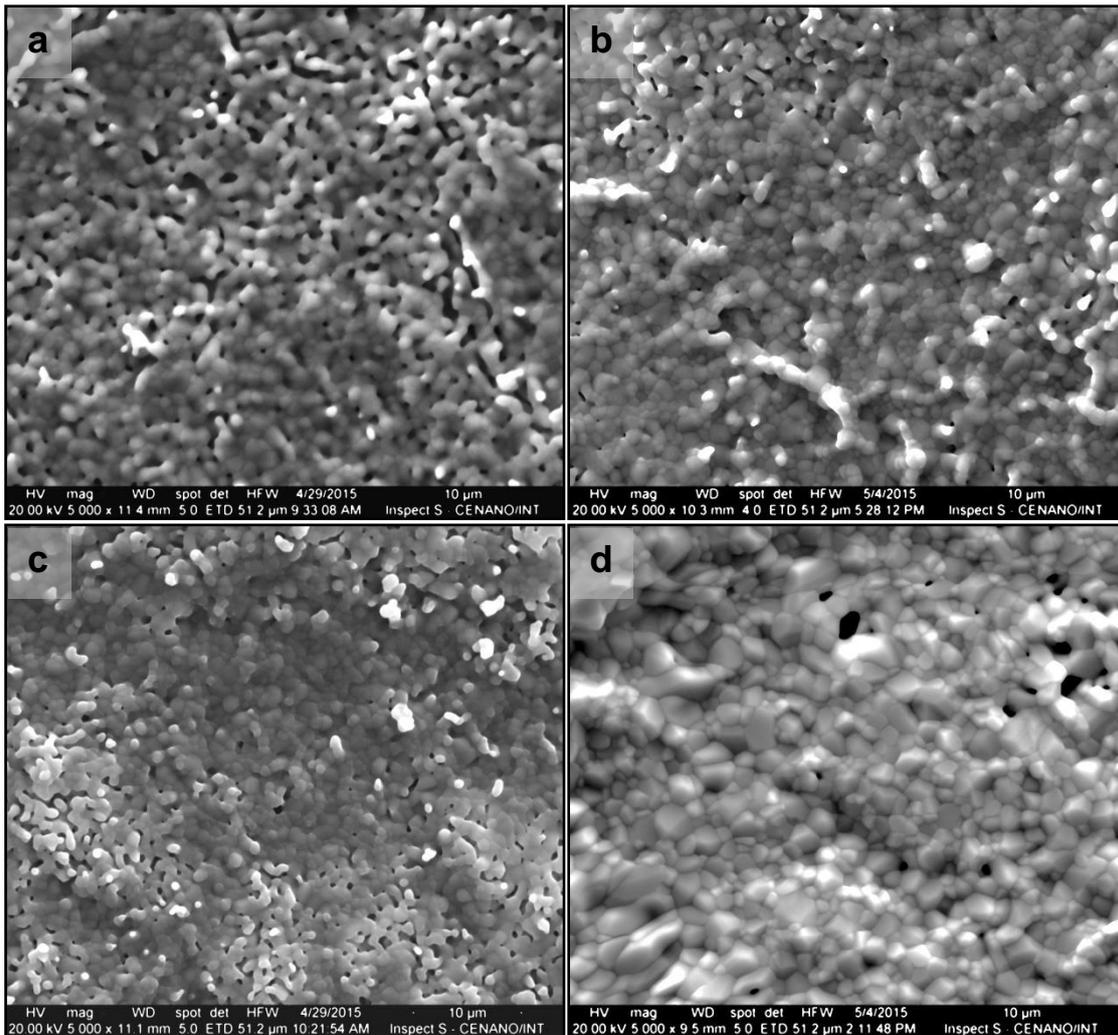


Figura 11. Avaliação por MEV da microporosidade das amostras microporosas: 2Mi (a), 3Mi (b), 5Mi (c), 8Mi (d).

5.3.1.2 Tamanho de grão

A Figura 12 mostra as imagens de MEV das amostras microporosas do planejamento de experimentos 2^{3-1} com aumento de 10.000X. Na Figura 13 é apresentado o processamento da imagem de MEV da amostra 8Mi (Figuras 12d e 13a) por meio dos softwares ImagePro Plus® e ImageJ, para determinar a distribuição de tamanho de grãos pela medida do diâmetro e Feret (máximo, mínimo e médio), como descrito na seção 4.3. Tal procedimento é estendido às amostras 2Mi (Figura 12a), 3Mi (Figura 12b) e 5Mi (Figura 12c). O processamento da imagem usando os filtros do software Image Pro é exibido na Figura 13b. A Figura 13c mostra os objetos utilizados na medição da área, dos diâmetros e dos Feret. Já a Figura 13d mostra a imagem de MEV da amostra 8Mi superposta com a Figura 13c. O parâmetro utilizado para comparar os

tamanhos de grãos foi o diâmetro máximo de Feret, o qual é amplamente utilizado em cerâmicas (GARCÍA-PALENCIA *et al.*, 2010).

Como pode ser visto na Tabela 11, quanto maior a temperatura de sinterização, maior o tamanho dos grãos. Este comportamento era esperado, pois de acordo com a literatura, a taxa de crescimento dos grãos cresce exponencialmente com a temperatura (CARTER E NORTON, 2007). Outra tendência encontrada é que, quanto maior o tempo de permanência no forno (incluindo a taxa de aquecimento e o tempo de sinterização), maior o tamanho dos grãos. Este fenômeno pode estar associado com o processo de ativação térmica do crescimento de grão (RAMESH *et al.*, 2007). Ao contrário da temperatura e do tempo, o aumento na taxa de aquecimento causou um menor aumento no tamanho dos grãos (Figura 14). Segundo LUKIĆ *et al.* (2012), o aumento na taxa de aquecimento promove um refinamento microestrutural.

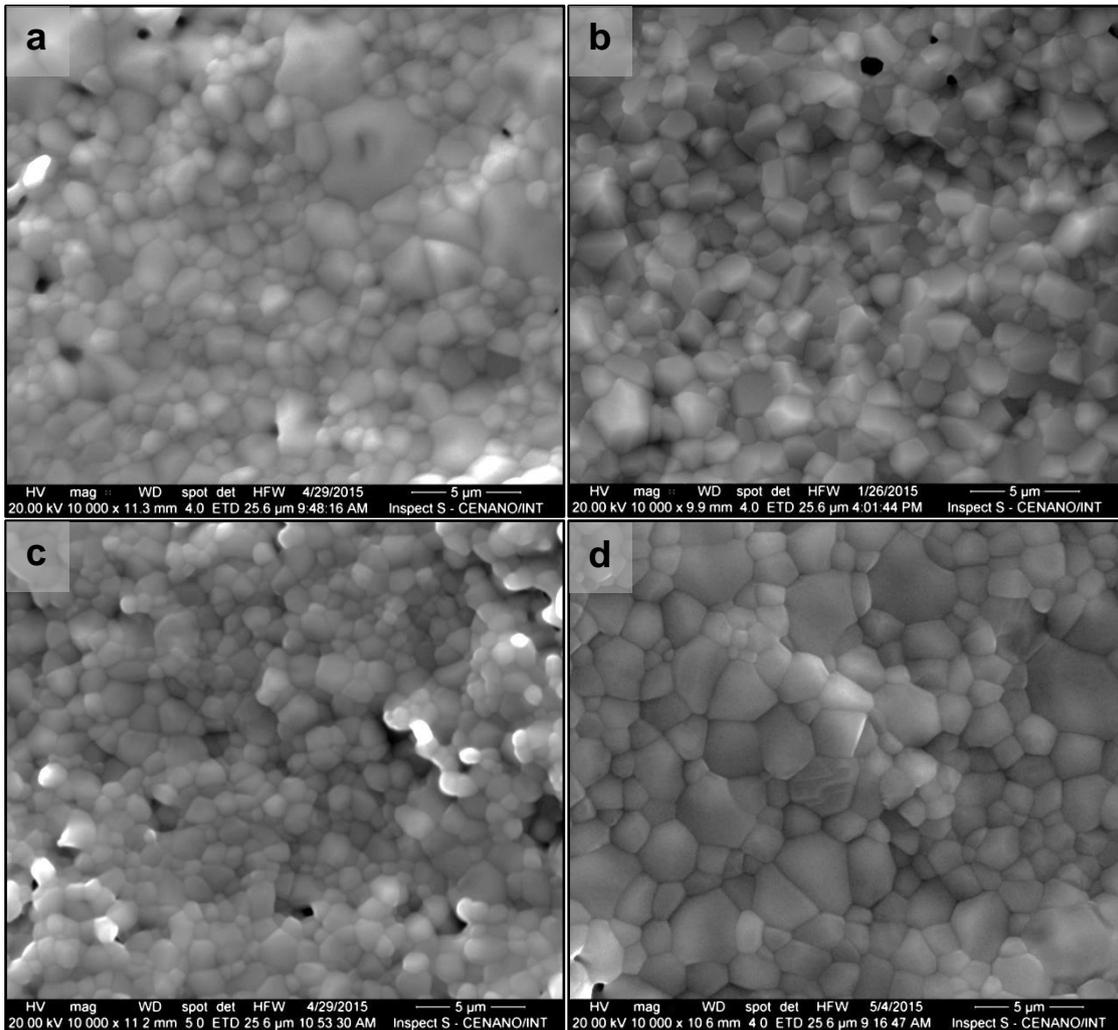


Figura 12. Avaliação por MEV da distribuição do tamanho de grãos das amostras microporosas: 2Mi (a), 3Mi (b), 5Mi (c), 8Mi (d).

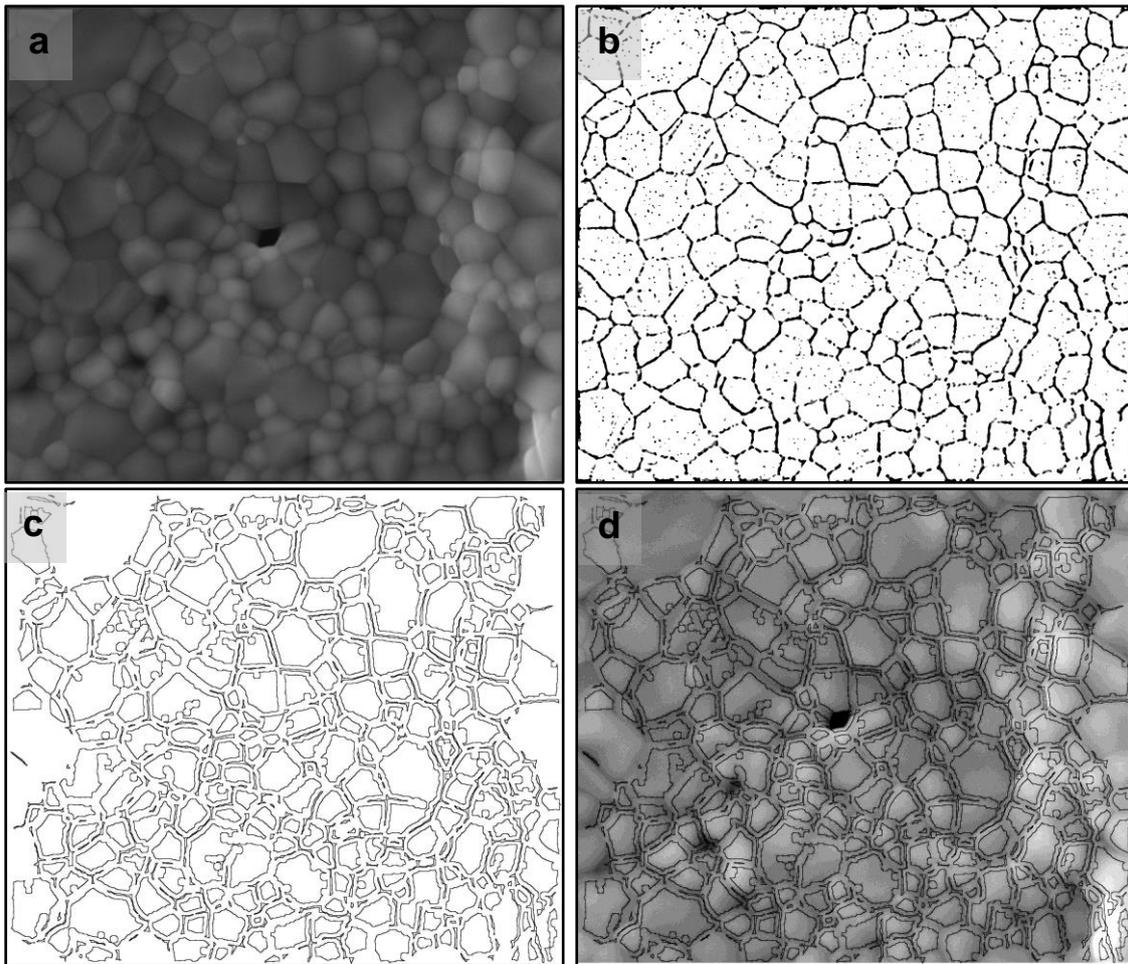


Figura 13. Processamento da imagem de MEV da amostra 8Mi por meio dos softwares ImagePro Plus® e ImageJ: imagem de MEV (a), filtros do software Image Pro (b), objetos utilizados nas medições (c), superposição entre 13a e 13c (d).

A Figura 14 complementa a interpretação dos resultados da Tabela 11, onde é possível verificar a influência de cada parâmetro de sinterização no tamanho de grão. A taxa de aquecimento teve um efeito inverso, ou seja, quanto maior a taxa, menor o tamanho dos grãos. Porém, o efeito deste parâmetro nos limites deste estudo não foi significativo. Com relação à temperatura e tempo de sinterização, estes apresentaram uma influência positiva e significativa, uma vez que aumentando a temperatura e/ou o tempo, o tamanho dos grãos aumentou.

Para todas as amostras, o tamanho de grãos foi significativamente inferior ao tamanho de partículas do pó de BCP (Figuras 6 e 7), o que sugere que o pó sintetizado é composto principalmente de aglomerados de pequenas partículas. Além disso, dentre as amostras estudadas, a amostra 2Mi (Figura 13a) foi a que apresentou o menor tamanho de grãos, o que pode influenciar de forma positiva na resistência do material, de acordo

com RICE (1998). No entanto, esta mesma amostra também mostrou maior grau de microporosidade (Figura 11a), que pode afetar negativamente a resistência mecânica.

Tabela 11. Distribuição do tamanho de grãos das amostras microporosas obtida por análise de imagens de MEV.

Amostra	Taxa °C/min	T °C	t h	Diâmetro (µm)			Ferret (µm)		
				máximo	mínimo	médio	mínimo	máximo	médio
2Mi	10	1070	2	1,086	0,290	0,621	0,592	1,146	0,908
				±0,996	±0,276	±0,477	±0,640	±1,049	±0,854
3Mi	5	1130	2	1,720	0,642	1,067	1,061	1,781	1,466
				±0,947	±0,351	±0,424	±0,002	±0,517	±1,001
5Mi	5	1070	6	1,589	0,569	0,985	0,979	1,635	1,349
				±0,997	±0,297	±0,402	±0,519	±1,030	±0,791
8Mi	10	1130	6	1,775	0,697	1,154	1,158	1,829	1,534
				±0,869	±0,408	±0,468	±0,577	±0,885	±0,721

T: temperatura; t: tempo

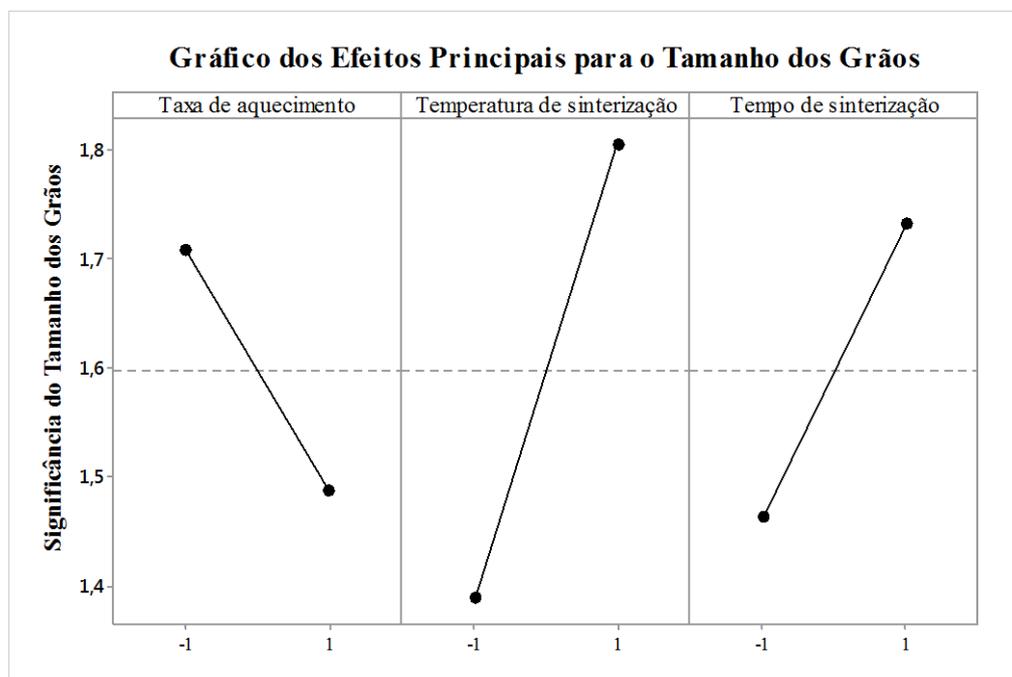


Figura 14. Diagrama de Pareto: efeito dos parâmetros de sinterização no Tamanho dos Grãos das amostras microporosas.

5.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras microporosas do planejamento de experimentos 2^{3-1} foram analisadas por FTIR, cujos espectros são exibidos na Figura 15, de forma a complementar os resultados de DRX (Figura 8), que indicaram que todas as amostras são constituídas de fases cristalinas de HAp e β -TCP.

A partir da Figura 14, é observado que todas as amostras apresentaram espectros similares ao do pó de BCP (Figura 5), com bandas de absorção características de fosfato (PO_4^{3-}). Além disso, tais informações confirmam os dados de DRX (Figura 8), onde foi notado que os parâmetros de sinterização estudados não causaram mudança nas fases de HAp e β -TCP.

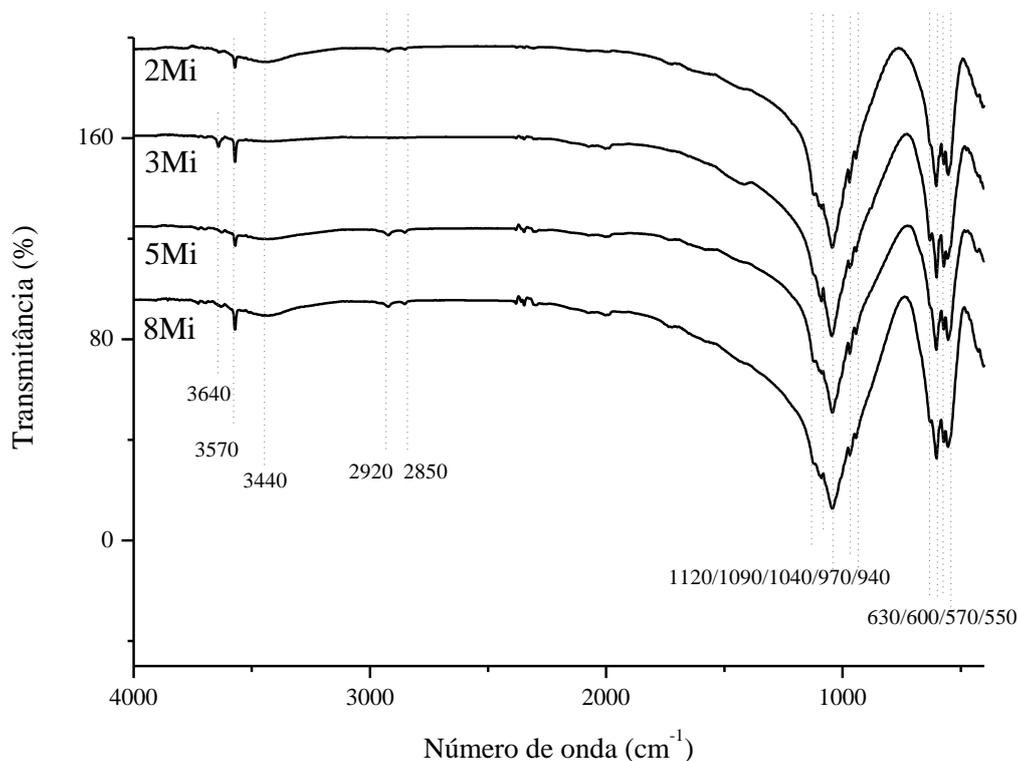


Figura 15. Espectro FTIR das amostras 2Mi, 3Mi, 5Mi, 8Mi.

A Tabela 12 mostra a identificação de todas as bandas presentes nos espectros. Sendo que, as bandas a 2920 e 2850 cm^{-1} correspondem às vibrações simétricas e assimétricas do grupo CH_2 que podem ser atribuídas à presença de material orgânico contaminante, incorporado ao pó provavelmente na confecção das pastilhas de KBr (OLIVEIRA *et al.*, 2008b). Da mesma forma que o pó de BCP (Figura 5), no espectro da amostra 3Mi é observada uma banda adicional de (OH) em 3640 cm^{-1} referente à presença de Ca(OH)_2 . Nos espectros das outras amostras (2Mi, 5Mi, 8Mi) esta banda já não aparece, devido à desidratação do Ca(OH)_2 em temperaturas acima de 650°C , conforme indicaram ŚLÓŠARCZYK *et al.* (1997).

Tabela 12. Bandas de absorção e tipos de vibrações a que estão relacionadas.

Bandas (cm ⁻¹)	Tipo de vibração assignada
3570	Estiramento OH ⁻ da hidroxila (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2008a)
3440	Deformação de H-O-H devido à presença de água (VANI <i>et al.</i> , 2009)
2920 – 2850	Vibrações assimétricas e simétricas de CH ₂ (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2008b)
1120/1095/1047	Estiramento assimétrico de PO ₄ ³⁻ ou estiramento PO ₃ em HPO ₄ ²⁻ (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2008a; FAZARDI <i>et al.</i> , 2011)
970 – 940	HPO ₄ ²⁻ na fase β-TCP (FARZADI <i>et al.</i> , 2011).
630/600/570/550	Deformação O-P-O em de PO ₄ ³⁻ ou deformação O-P-O em HPO ₄ ²⁻ (OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2008a).

5.3.3 Determinação das propriedades mecânicas

5.3.3.1 Dureza Vickers e Tenacidade à Fratura

A Tabela 13 apresenta os resultados de dureza Vickers e tenacidade à fratura das amostras 2Mi, 3Mi, 5Mi e 8Mi. A tenacidade à fratura foi calculada utilizando a Equação 11. É observado que a dureza tende a aumentar com o aumento da densidade relativa (Tabela 10) e do tamanho de grãos (Tabela 11). Este comportamento já era esperado, uma vez que a dureza diminui com o incremento da fração volumétrica de poros (HOEPFNER e CASE, 2003), como pode ser visto para a amostra 2Mi (Figuras 11a e 12a), que apresentou o menor tamanho de grãos, porém, o maior grau de porosidade. No entanto, os valores encontrados para as amostras estudadas foram inferiores aos exibidos por outros autores, o que pode estar relacionado com a baixa densidade dos materiais, (MURALITHRAN e RAMESH, 2000; VELJOVIĆ *et al.*, 2010b; LUKIĆ *et al.*, 2011; DESCAMPS *et al.*, 2013; SCALERA *et al.*, 2013).

A tenacidade à fratura também tende a aumentar com o aumento da densidade relativa e diminui com o aumento do tamanho de grãos para amostras com densidades relativas próximas. Porém, quando se comparam as amostras 3Mi e 8Mi, é possível notar que o aumento no tamanho de grãos reduziu a tenacidade à fratura, que está de acordo com RAMESH *et al* (2001). Já com relação as amostras 2Mi e 5Mi, este comportamento não se confirmou, pois quanto maior o grau de porosidade, maior a dificuldade de se medir com precisão o tamanho da trinca, que pode parar em um poro ou seguir a sua propagação em outra direção.

Outro detalhe apresentado na Tabela 13 é que, quanto maior a dureza menor a tenacidade à fratura, como pode ser observado pela comparação das amostras 3Mi e 8Mi. No entanto, tal observação não se aplica para amostras 2Mi e 5Mi, uma vez que as medidas podem ter sido prejudicadas pelo maior grau de porosidade. Segundo HABIBE *et al.* (2008), cerâmicas com maior tenacidade à fratura, minimizam a sua fragilidade.

Tabela 13. Dureza Vickers e tenacidade à fratura das amostras microporosas.

Amostra	Hv (GPa)	K_{IC} MPa m^{1/2}	Tamanho de grãos µm	Porosidade %
2Mi	1,509±0,201	1,100	1,146	31,0
3Mi	1,844±0,449	1,735	1,781	21,0
5Mi	1,810±0,196	1,053	1,635	30,0
8Mi	2,103±0,353	1,441	1,829	20,0

Hv: dureza Vickers; K_{IC}: tenacidade à fratura.

5.3.3.2 Nanodureza e Módulo de Elasticidade

As Figuras 16 e 17 mostram a nanodureza e o módulo de elasticidade das amostras microporosas 2Mi, 3Mi, 5Mi e 8Mi, em função da variação da carga de nanoindentação, respectivamente. Considerando-se o conjunto de amostras de um mesmo grupo (condições de processamento) observa-se que há um decréscimo da nanodureza (Figura 16) e do módulo de elasticidade (Figura 17) com o aumento da carga. Porém, na Figura 16, nota-se que esse decréscimo da nanodureza com o aumento da carga para os ensaios das amostras 5Mi não foi significativo, sugerindo uma uniformidade dessa propriedade na superfície e nas camadas inferiores. Além disso, observa-se que o desvio padrão das medidas de ambas as propriedades diminuiu com o aumento da carga.

Esta tendência também foi relatada por HE *et al.* (2008), os quais sugeriram que a variação da nanodureza e do módulo de elasticidade com o aumento da carga, é devido ao processo de lixamento na preparação das amostras, que promove a formação de uma camada densificada na superfície, com menos poros do que as camadas inferiores. Ademais, as camadas inferiores não apresentam a tensão residual proveniente desse lixamento. Desta forma, a camada superficial densificada, pode exibir valores maiores de nanodureza e módulo de elasticidade do que as camadas inferiores, que ocorre com o

aumento da profundidade das penetrações (aumento da carga). Outro detalhe é que, o maior desvio padrão observado para as cargas mais baixas, o que reflete a heterogeneidade das propriedades na superfície. Assim, para o cálculo da tenacidade à fratura (Tabela 13) utilizou-se o módulo de elasticidade obtido com a carga de 400 mN, uma vez que as propriedades obtidas em altas cargas reflete com mais fidelidade as características do material.

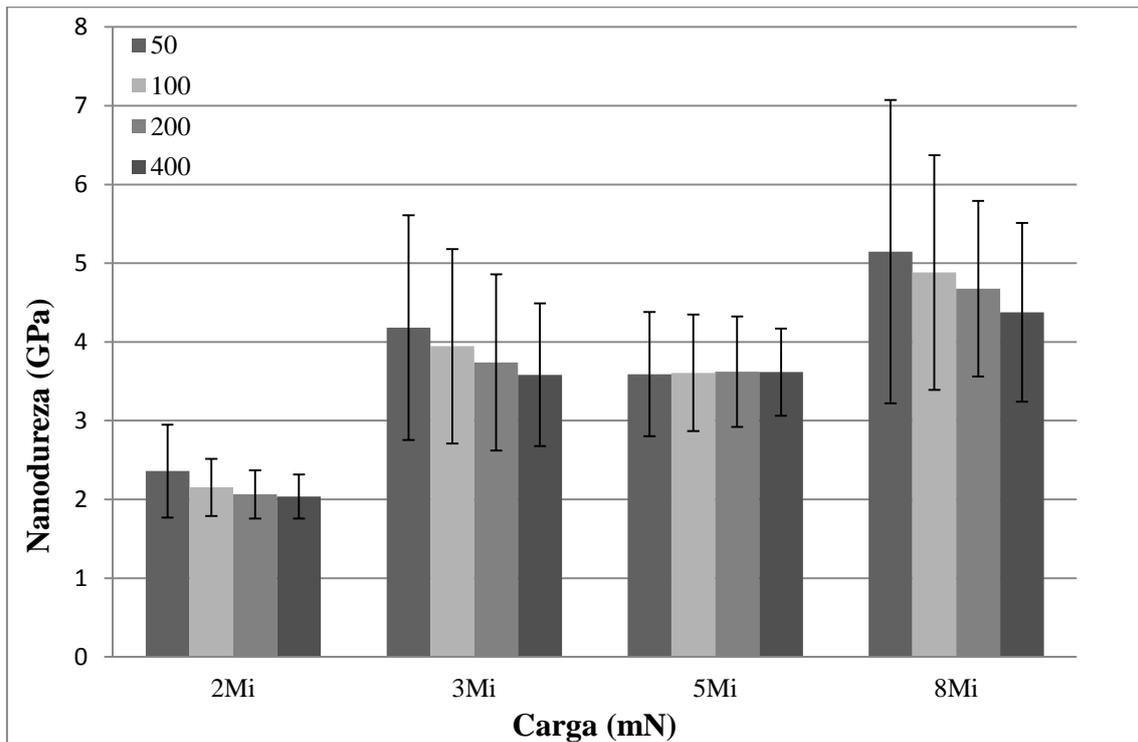


Figura 16. Nanodureza em função da variação da carga de nanoindentação das amostras microporosas 2Mi, 3Mi, 4Mi e 8Mi.

Com os dados obtidos por nanoindentação foi feita uma análise de variância (ANOVA) no software Minitab® para determinar se as médias das medidas são afetadas pelas diferentes cargas utilizadas. Foi verificado que para cada amostra pode ser dito que, com um 99% de confiabilidade, não há diferença significativa nas médias das medidas quando a carga de indentação utilizada no ensaio foi aumentada. Sendo assim, qualquer um dos valores poderia ter sido utilizado para a determinação da tenacidade à fratura. Contudo, com base nos argumentos apresentados anteriormente, optou-se por utilizar a carga de 400mN, na tentativa de evitar a influência da heterogeneidade da superfície.

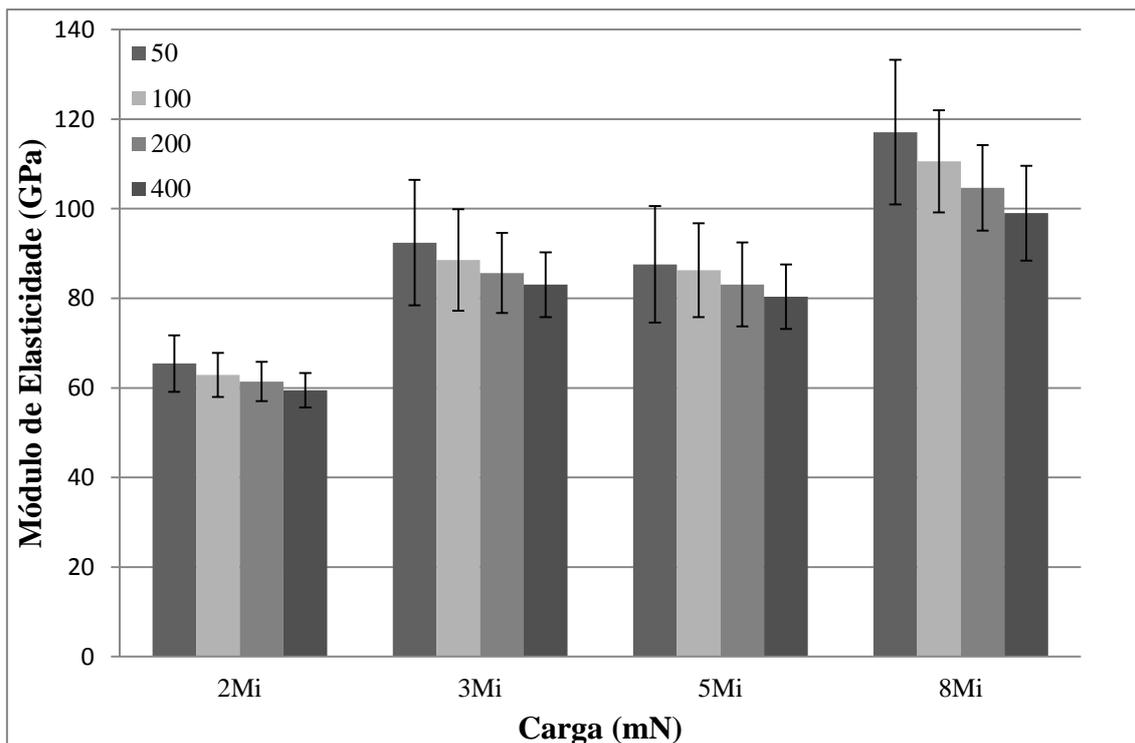


Figura 17. Módulo de elasticidade em função da variação da carga de nanoindentação das amostras microporosas 2Mi, 3Mi, 5Mi e 8Mi.

A Figura 18 mostra o comportamento do módulo de elasticidade teórico (E_t), calculado pela equação 11, em função da porosidade das amostras microporosas (Tabela 10). Nota-se que, o E_t diminuiu linearmente com o aumento da porosidade, sugerindo que o modelo teórico proposto por WAGH *et al.* (1991) foi adequado para estimar o E_t em função do grau de porosidade, uma vez que o aumento da porosidade provoca uma redução do módulo de elasticidade dos materiais.

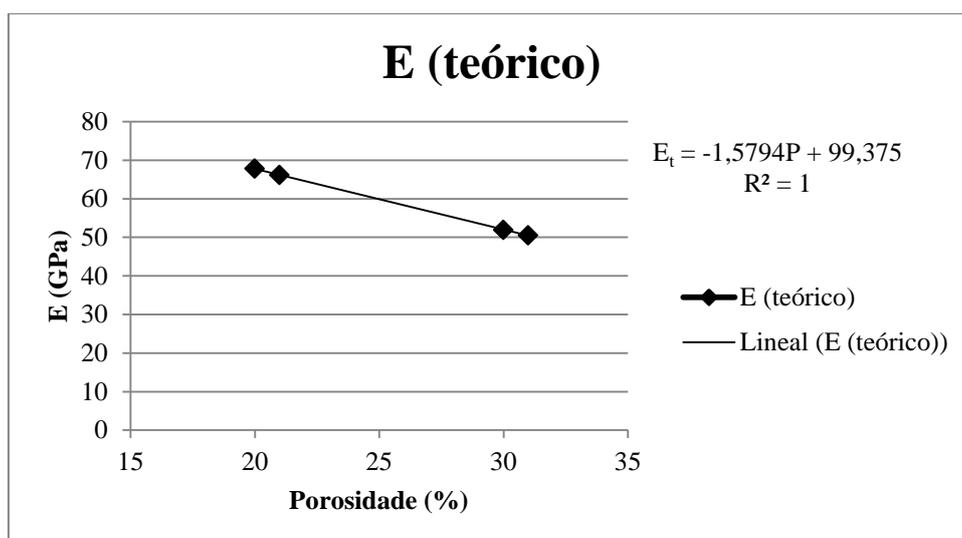


Figura 18. Gráfico do módulo de elasticidade teórico em função da porosidade das amostras microporosas.

A Tabela 14 exibe os valores de nanodureza, módulo de elasticidade (E) e módulo de elasticidade teórico (E_t) das amostras 2Mi, 3Mi, 5Mi, 8Mi. É observado que tais propriedades tenderam a aumentar com o aumento da densidade relativa (Tabela 10) e do tamanho de grãos (Tabela 11). Como foi dito anteriormente, o incremento da fração volumétrica de poros causa uma diminuição nos valores de dureza e módulo elástico. No entanto, se compararmos as mostras 2Mi e 5Mi, as quais apresentaram níveis de porosidade similares, nota-se que esta observação não se confirma, pois diferentemente da dureza Vickers, no ensaio de nanoindentação a porosidade tem uma influência menor sobre as penetrações, o que favorece uma maior confiabilidade nos resultados. A menor influência da porosidade pode ser claramente notada na comparação entre as amostras 3Mi e 5Mi, as quais apresentaram níveis de porosidade diferentes, porém, valores aproximados de nanodureza e módulo de elasticidade. Já com relação as amostras 3Mi e 8Mi, que também mostraram níveis de porosidades similares, verifica-se que a amostra com maior tamanho de grãos exibiu maiores valores das propriedades, indicando que quanto maior o tamanho grão menor a influência da porosidade (HOSFORD, 2005; HE *et al.*, 2008. MONTEIRO, *et al.*, 2010; TRICOTEAUX *et al.*, 2011; PASAND *et al.*, 2012).

Tabela 14. Módulo de elasticidade, nanodureza e módulo de elasticidade teórico das amostras microporosas.

Amostra	Nanoindentação		Teórico
	E GPa	H GPa	E_t GPa
2Mi	59,473	2,037	50,467
3Mi	83,052	3,583	66,155
5Mi	80,350	3,616	51,940
8Mi	99,005	4,376	67,840

E: módulo de elasticidade;

H: nanodureza;

E_t : módulo de elasticidade teórico.

Outro detalhe observado na Tabela 14 é que, os valores de E obtidos pelo ensaio de nanoindentação foram diferentes daqueles calculados pela equação 11 (E_t). Isso pode ter ocorrido devido à porosidade ter sido determinada pelo método geométrico, que traz

uma incerteza muito grande nessas medidas, por considerar apenas a geometria e a massa das amostras. TANCRET *et al.* (2006) e PECQUEUX *et al.* (2010) se basearam nos trabalhos de WAGH *et al.* (1991) e introduziram modificações na equação 12, permitindo ter o efeito tanto da micro como da macroporosidade do material. Para a aplicação destas modificações precisa-se da determinação exata da porosidade do material, o que seria possível a partir de técnicas de análises microtomográficas. Neste trabalho não foi possível realizar estas determinações, devido à indisponibilidade do equipamento de microtomografia.

5.4 Caracterização das Amostras Macroporosas Estudadas no Planejamento de Experimentos 2^{3-1}

5.4.1 Difração de Raios X (DRX)

A Figura 19 apresenta os difratogramas de raios-X das amostras macroporosas 1Ma, 2Ma, 3Ma e 4Ma. Como pode ser visto, somente picos característicos da HAp e β -TCP foram observados, indicando que os formadores de poros não induziram mudanças nas fases cristalinas e que as condições do tratamento térmico para eliminação dos agentes e sinterização foram adequadas.

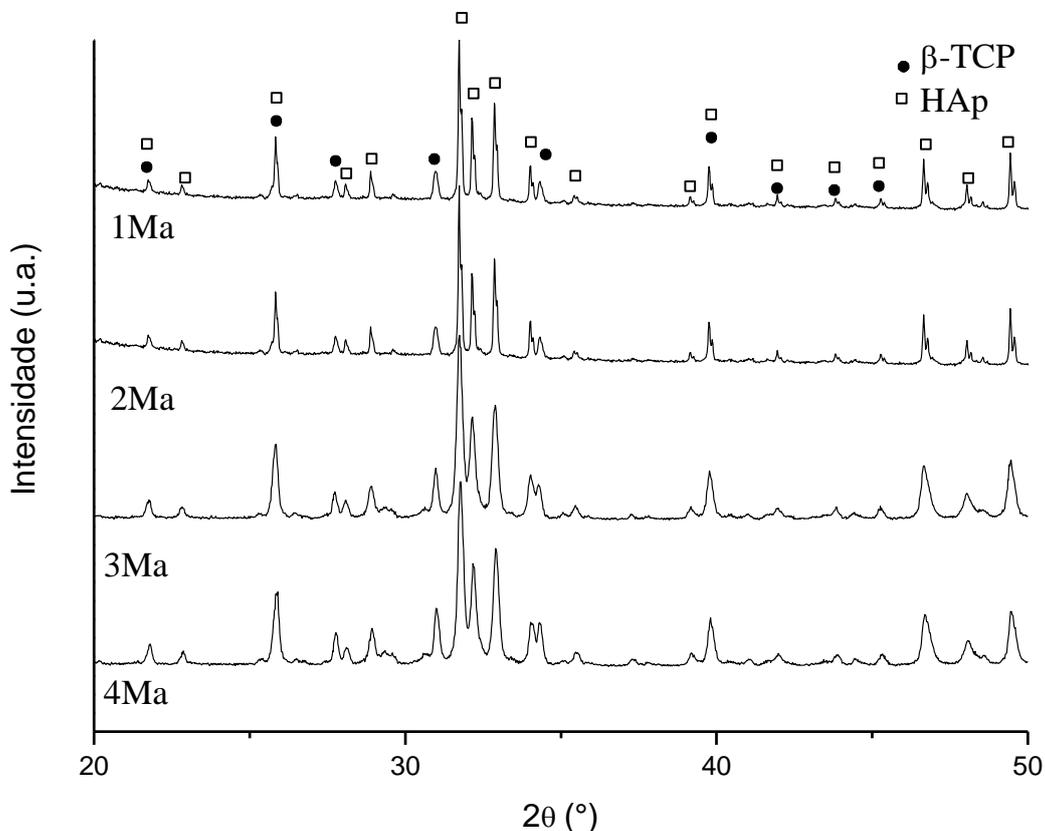


Figura 19. Difratogramas de raios-X das amostras macroporosas.

Com relação à proporção das fases HAp:β-TCP, todas as amostras mostraram uma proporção de 60:40, similar à apresentada pelo pó de BCP (57:43).

5.4.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das amostras 1Ma, 2Ma, 3Ma e 4Ma são apresentados na Figura 20. Observa-se que as bandas características do íon fosfato (PO_4^{3-}) são similares às daquelas do pó de BCP (Figura 5), com absorções em 1120, 1090, 1035 cm^{-1} referentes às vibrações HPO_4^{2-} na fase HAp, 960 cm^{-1} como vibrações HPO_4^{2-} na fase β-TCP; 630, 600 e 570 cm^{-1} relacionadas às vibrações O-P-O no íon PO_4^{3-} ou no íon HPO_4^{2-} . As bandas em 1450 e 870 cm^{-1} correspondem às substituições de íons PO_4^{3-} por íons CO_3^{2-} na estrutura da HAp (STOCH *et al.*, 1999; OLIVEIRA *et al.*, 2008a; LAYROLLE *et al.*, 2009; CHEN *et al.*, 2011; FARZADI *et al.*, 2011; BAKAN *et al.*, 2013; BOILET *et al.*, 2013).

A banda de absorção da hidroxila (OH^-) em 3570 cm^{-1} é característica da HAp cristalina. Já as bandas em 3440 e 1630 cm^{-1} referem à presença de água fisicamente adsorvida (STOCH *et al.*, 1999; LAYROLLE *et al.*, 2009; VANI *et al.*, 2009; BERZINA-CIMDINA e BORODAJENKO, 2012; BOILET *et al.*, 2013).

Os resultados de FTIR sugerem que tanto o bicarbonato de amônio quanto a cera de polietileno não induziram a formação de outras fases e nem reagiram com a BCP. Além disso, indicam que os parâmetros de tratamento térmico para eliminação dos formadores de poros foram adequados, com a remoção total dos agentes. No entanto, as amostras 3Ma e 4Ma exibiram a presença de pirofosfato (P_2O_7) com bandas de absorção em 1210 e 720 cm^{-1} , o qual está associado com a transformação da hidroxiapatita cálcio deficiente em pirofosfato de cálcio, que acontece segundo a Equação 15 (DESTAINVILLE *et al.*, 2003):



Esta reação pode ter acontecido durante a etapa de tratamento térmico para eliminação da cera de polietileno, que foi feita a 550°C/4 horas. O longo tempo nessa temperatura pode ter induzido a formação de pirofosfato de cálcio (CPP).

Ainda nos espectros das amostras 3Ma e 4Ma, são verificadas bandas de absorção em 1735cm^{-1} , que segundo CHIPELLINI, *et al.* (2006), está relacionada com a oxidação da cera de polietileno, que gera vibrações C=O no espectro de FTIR.

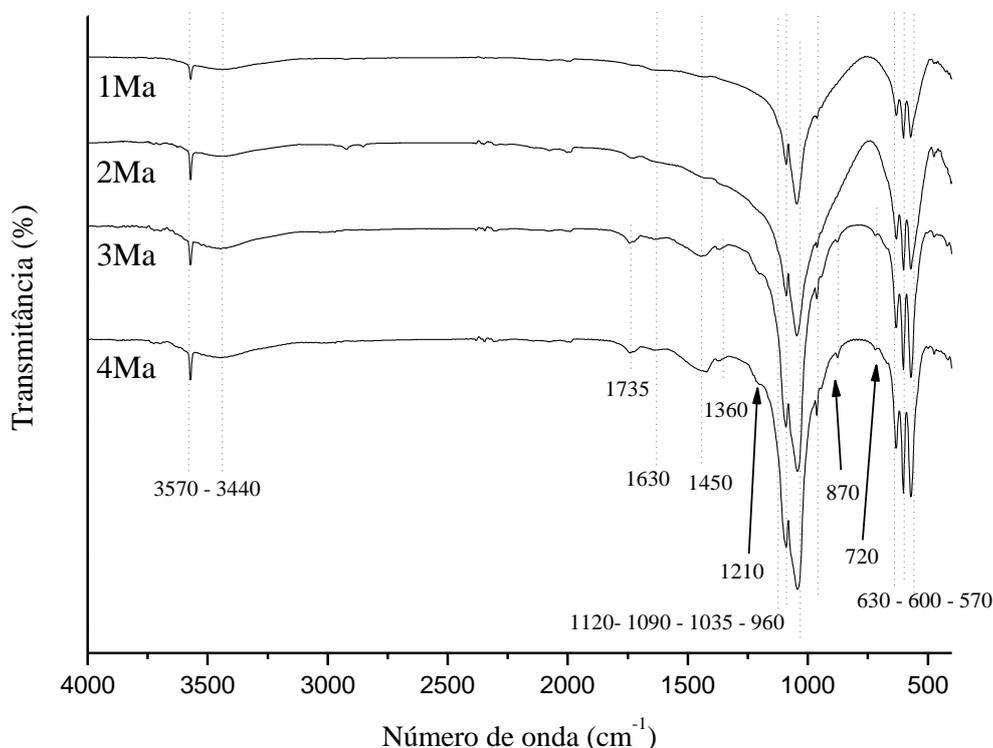


Figura 20. Espectro de FTIR das amostras macroporosas 1Ma, 2Ma e 3Ma.

5.4.3 Porosidade

A Tabela 15 exibe os parâmetros de processamento e valores de porosidade das amostras macroporosas 1Ma, 2Ma e 3Ma, obtidos por médio da Equação 8. A porosidade da amostra 4Ma não foi possível de ser determinada, porque a mesma quebrou ao ser retirada do forno. A amostra pode ter quebrado por falta de coalescência das partículas de BCP durante a etapa de sinterização, uma vez que na preparação foi utilizada a cera de polietileno na faixa de $250\text{-}300\ \mu\text{m}$, a qual é maior que o tamanho médio das partículas de BCP ($115,53\ \mu\text{m}$). Isso pode ter dificultado a coalescência das partículas cerâmicas, fazendo com que o material apresentasse uma baixa resistência mecânica.

Observa-se que, para as amostras 1Ma e 2Ma, a porosidade aumentou com o aumento da proporção e tamanho de partículas do bicarbonato de amônio. Já para as amostras 2Ma e 3Ma, a cera de polietileno promoveu um nível de porosidade ligeiramente maior do que o bicarbonato de amônio, porém, os valores foram relativamente próximos. Isso significa que, a cera, com menor tamanho de partículas, foi capaz de gerar um nível de

porosidade similar ao bicarbonato de amônio, que possuía uma faixa de tamanho de partículas maior.

No entanto, de acordo com a Figura 20, o bicarbonato se mostrou mais vantajoso no sentido em que ele pode ser eliminado em menor tempo e temperatura mais baixa, não induzindo a formação de fases indesejáveis.

Tabela 15. Parâmetros de processamento e porosidade das amostras macroporosas.

Amostras	Tipo	Agente formador de poros		
		Tamanho das partículas µm	Proporção agente/BCP % em peso	Porosidade %
1Ma	Bicarbonato	106 – 125	25	43
2Ma	Bicarbonato	250 – 300	40	57
3Ma	Cera	106 – 125	40	61
4Ma*	Cera	250 – 300	25	----

4Ma*: quebrou ao ser retirada do forno.

Uma avaliação qualitativa da influência dos agentes formadores de poros na porosidade das amostras macroporosas é mostrada na Figura 21. Por meio da análise estatística no Minitab 17®, encontrou-se que nenhum dos parâmetros relacionados aos agentes formadores de poros (tipo, tamanho de partículas e proporção) nas faixas estudadas neste trabalho, teve um efeito significativo sobre a porosidade. Sendo os agentes porogênicos parâmetros qualitativos, no software eles são representados quantitativamente como -1 (cera) e +1 (bicarbonato de amônio). Assim, encontrou-se que a cera foi o agente que promoveu o maior nível de porosidade. Quanto ao tamanho dos agentes, como era esperado, uma faixa de tamanhos maior, gerou um maior grau de porosidade no material. A tendência da proporção agente:BCP, que na Figura 21 aparece com o fundo cinza, não foi possível determinar devido à ausência dos resultados da amostra 4Ma. Porém, pode ser observado que o efeito segue como esperado, quanto maior a proporção de agente maior é a porosidade.

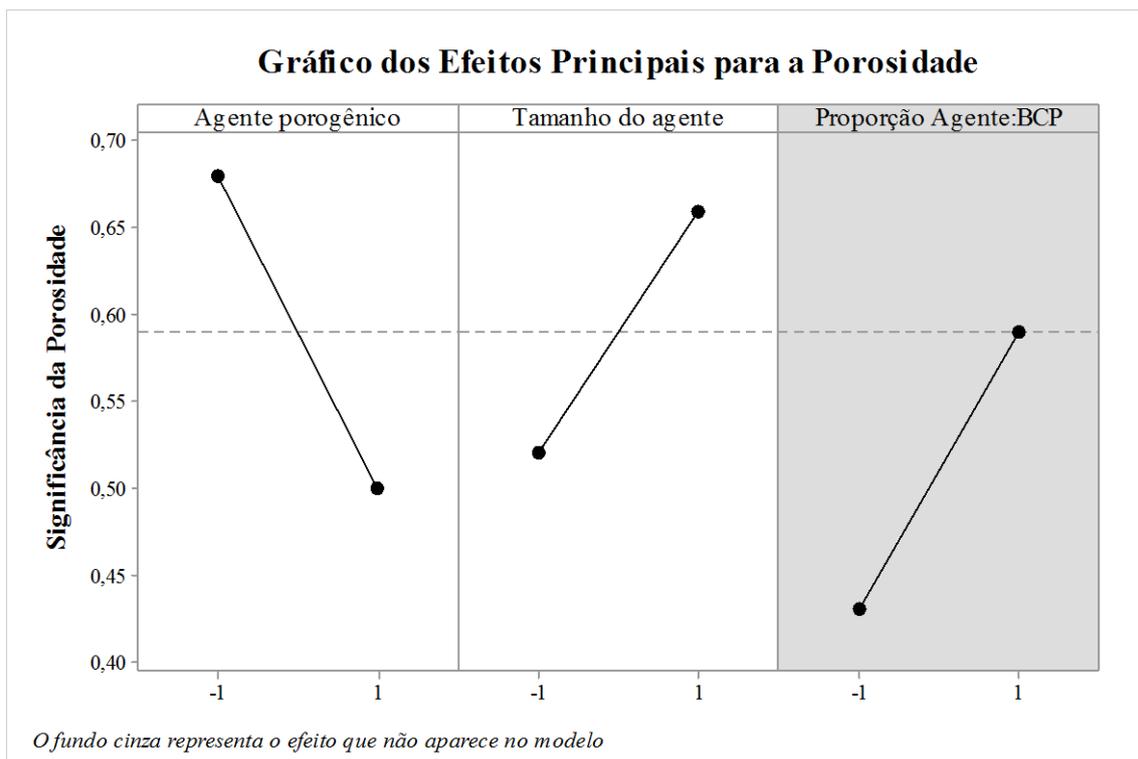


Figura 21. Gráfico da influência dos agentes formadores de poros na porosidade das amostras macroporosas.

5.4.4 Estereoscopia

Na Figura 22 são apresentadas as imagens estereoscópicas das superfícies superior e lateral das amostras macroporosas 1Ma, 2Ma e 3 Ma, onde é possível observar em baixo aumento (10X) a macroporosidade.

Para as amostras 1Ma (Figura 22a e 22b) e 2Ma (Figura 22c e 22d), nota-se que a macroporosidade aumentou com o aumento da proporção e tamanho de partículas do bicarbonato de amônio, concordando com os resultados da Tabela 15. Além disso, as Figuras 22c e 22d mostram um maior tamanho de poros para a amostra 2Ma, o que confirma o efeito da maior faixa de tamanho de partículas do formador de poros sobre a macroporosidade.

Em relação à amostra 3Ma, as imagens das Figuras 22e e 22f sugerem que a cera de polietileno gerou uma macroporosidade mais uniformemente distribuída, quando comparadas com as imagens das amostras 1Ma (Figura 22a e 22b) e 2Ma (Figura 22c e 22d). Esse detalhe será melhor estudado por análise de imagens de MEV com maiores aumentos na seção 5.4.5.

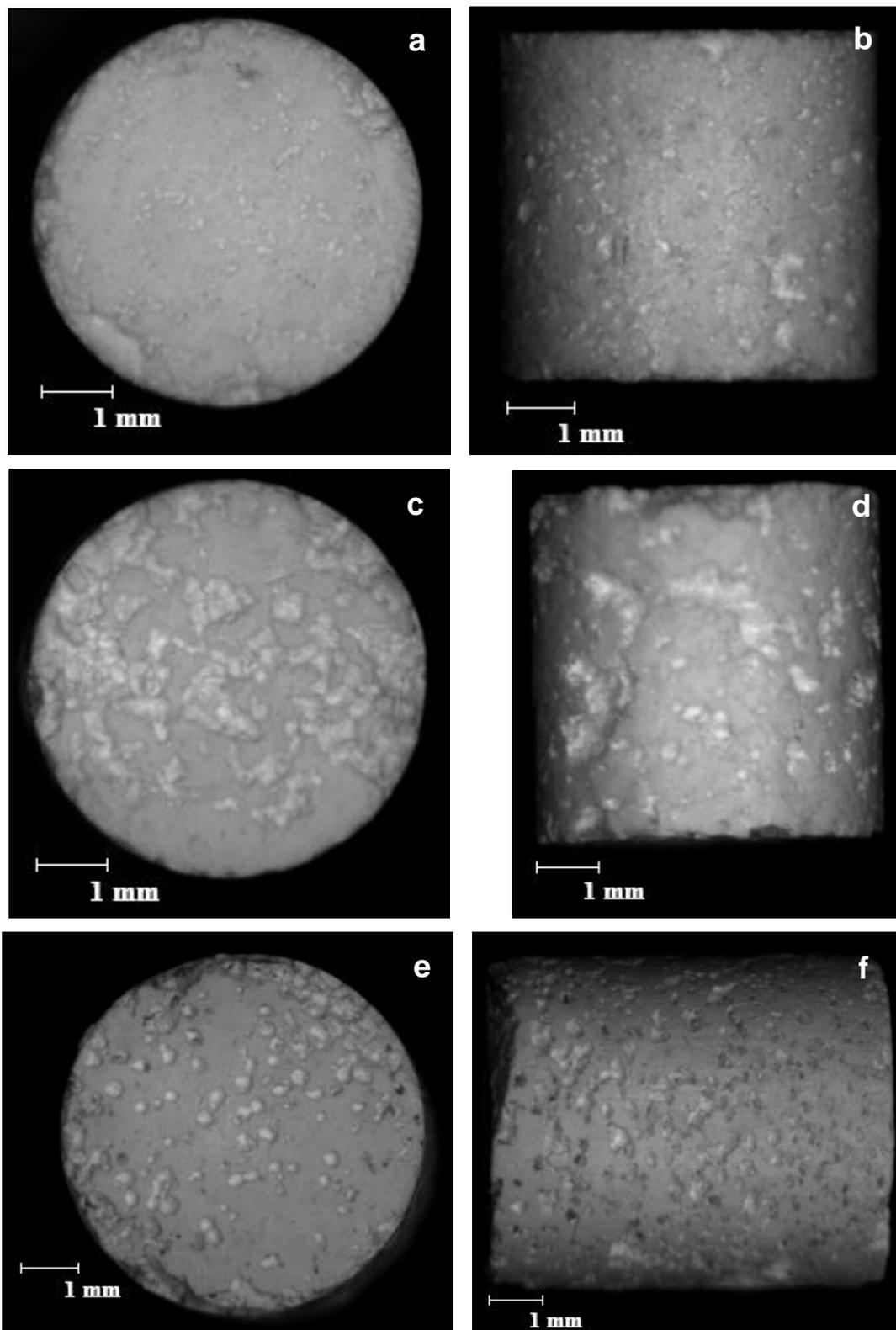


Figura 22. Imagens estereoscópicas das superfícies superior e lateral das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).

5.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura

A partir das imagens de MEV com aumentos de 50X e 200X, Figura 23, foi possível avaliar por análise de imagens o tamanho de poros das amostras macroporosas. 1Ma,

2Ma e 3Ma, cujos valores são mostrados na Tabela 16. Para as amostras 1Ma (Figura 23a e 23b) e 2Ma (Figuras 23c e 23d), verifica-se uma ampliação na faixa de tamanho de poros com o aumento da proporção, confirmando o maior grau de porosidade da amostra 2Ma. No entanto, a variação na faixa de tamanho de partículas do bicarbonato de amônio não afetou de forma significativa o tamanho de poros.

Já a amostra 3Ma (Figuras 23e e 23f) exibiu uma faixa de tamanho de poros similar a da amostra 2Ma, porém, não tão uniformemente distribuída como observado nas imagens das Figuras 22e e 22f. Ademais, a macroporosidade da amostra 3Ma mostrou-se ser esférica.

Tabela 16. Tamanho de poros das amostras macroporosas obtido por análise de imagens de MEV.

Amostras	Agente formador de poros	Tamanho de partículas. μm	Proporção % em peso	Tamanho de poros μm
1Ma	Bicarbonato	106 – 125	25	234-650
3Ma	Bicarbonato	250 – 300	40	87-700
5Ma	Cera	106 – 125	40	88-610

A Figura 24 apresenta as imagens de MEV com grandes aumentos das amostras macroporosas com a finalidade de avaliar a microestrutura das paredes dos poros. Nas Figuras 24a e 24b, é observado que a microestrutura das paredes dos poros da amostra 1Ma é formada por uma superfície irregular com rugosidade e microporosidade. Já para amostra 2Ma, Figuras 24c e 24d, as imagens indicam uma microestrutura regular com microporosidade uniformemente distribuída e baixa rugosidade. Além disso, é possível notar nas Figuras 24b e 24d que os parâmetros de sinterização foram eficientes na consolidação das partículas, uma vez que é evidenciado a formação de pescoços. Ainda na Figura 24d, verifica-se que a microestrutura é formada por grãos com tamanhos significativamente menores do que as partículas do pó de BCP (Figuras 6 e 7), o que reforça a tese de que o pó sintetizado é composto principalmente por aglomerados de pequenas partículas. Em relação à amostra 3Ma, Figuras 24e e 24f, nota-se uma superfície irregular com rugosidade, porém, com menor nível de microporosidade.

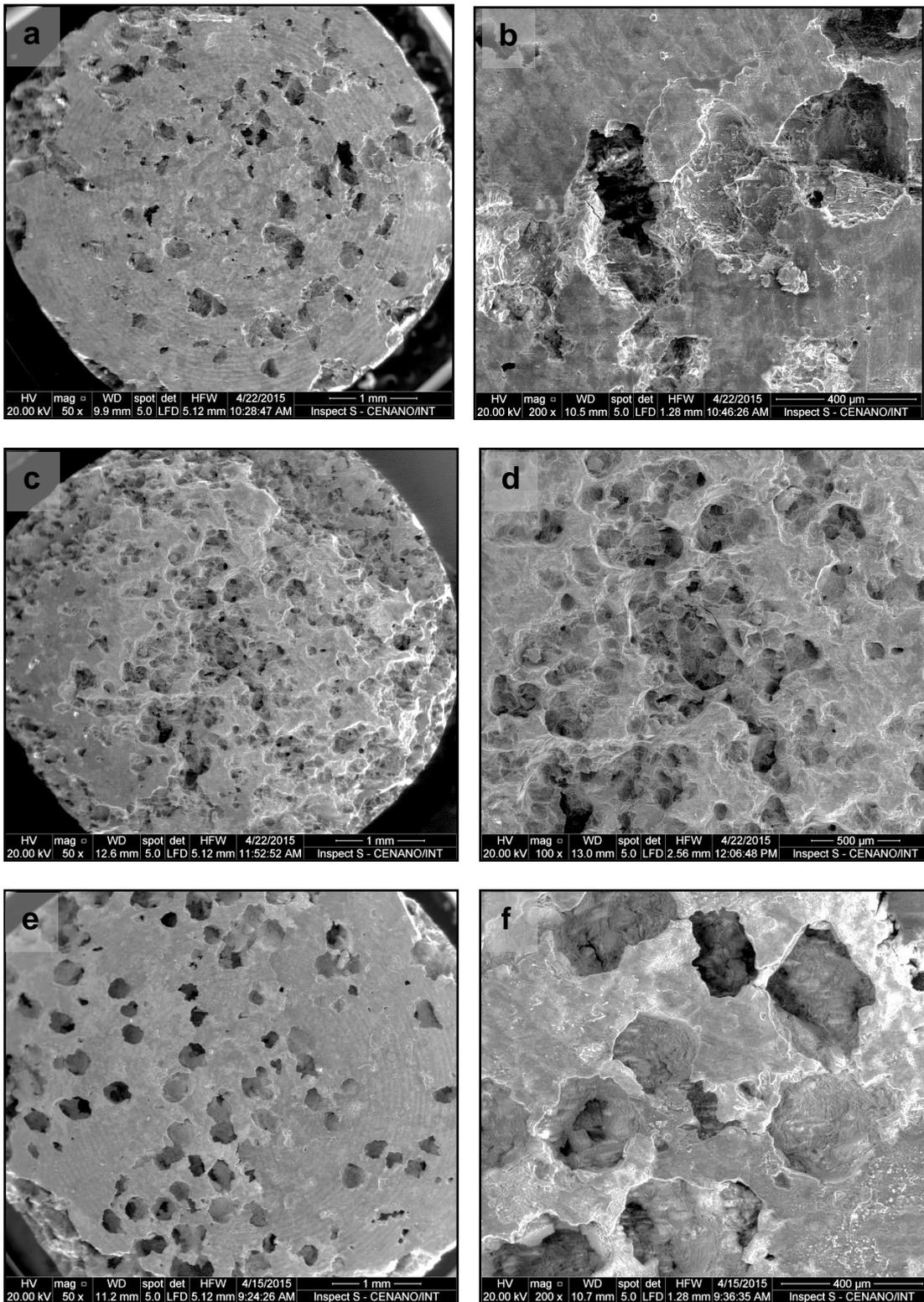


Figura 23. Imagens de MEV com aumentos de 50 e 200X das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).

Neste trabalho a rugosidade não foi medida, mas as imagens de MEV apresentadas dão uma ideia do nível de rugosidade, assim como da porosidade dos materiais, sugerindo que o bicarbonato de amônio foi mais eficaz e vantajoso no processamento de amostras

macroporosas a base de BCP, uma vez que não induziu a formação de fases indesejáveis e promoveu um maior grau de microporosidade nas paredes dos poros.

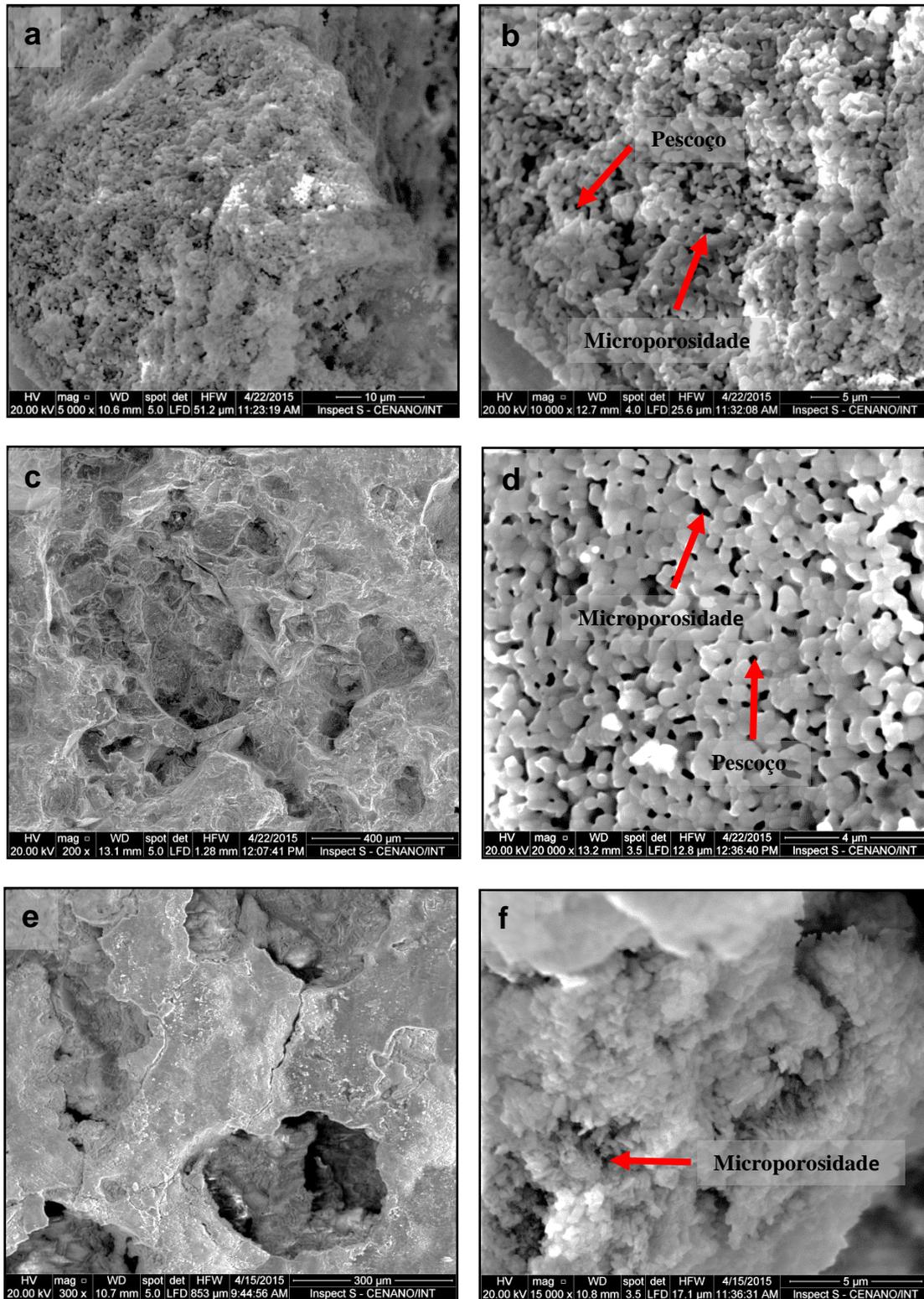


Figura 24. Imagens de MEV com grandes aumentos das amostras macroporosas: 1Ma (a,b), 2Ma (c,d), 3Ma (e,f).

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, referentes às caracterizações do pó de fosfato de cálcio bifásico (BCP) e das amostras micro e macroporosas, pode ser concluído que:

- A técnica sol-gel em meio alcoólico sugerida neste trabalho mostrou ser adequada para obter pó biocerâmico de fosfato de cálcio bifásico (BCP) composto por hidroxiapatita (HAp) e β -fosfato tricálcico (β -TCP) em uma proporção de 57:43.
- Os planejamentos de experimentos 2^3 e 2^{3-1} apresentaram-se úteis no estudo dos parâmetros de processamento de amostras micro e macroporosas a partir do pó de BCP e na definição do número de amostras.
- Por meio do planejamento de experimentos, determinou-se que a temperatura de sinterização foi o parâmetro que mais influenciou na densidade relativa das amostras microporosas, com uma tendência positiva. Já tempo de sinterização e a taxa de aquecimento mostraram uma tendência positiva e negativa, respectivamente, porém, com influência não significativa sobre a densidade relativa dentro dos limites deste estudo.
- As amostras macroporosas obtidas pela adição de agentes formadores de poros (cera de polietileno e bicarbonato de amônio) mostraram que estes materiais não induziram mudanças nas fases cristalinas e que as condições do tratamento térmico para eliminação dos agentes e sinterização foram adequadas. Quanto aos parâmetros de processamento das amostras macroporosas, sendo o tipo, tamanho das partículas e a proporção utilizada dos agentes formadores de poros, estes não influenciaram de forma significativa na porosidade do material.
- Os parâmetros de processamento estudados permitiram obter amostras com diferentes níveis de porosidade e propriedades adequadas para aplicação na área médico-odontológica.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Obter pó de Fosfato de Cálcio Bifásico em proporções de HAp: β -TCP diferentes daquela obtida neste trabalho.
- Otimizar os parâmetros de síntese para obter pós com partículas isoladas, sem aglomerados; ou menores.
- Estudar o efeito da moagem na sinterabilidade das partículas de BCP, com a eliminação de aglomerados.
- Modificar os parâmetros de processamento para a obtenção de amostras densas.
- Estudar a porosidade das amostras processadas utilizando metodologias mais precisas como a microtomografia computadorizada.
- Determinar módulo de elasticidade das amostras processadas utilizando a técnica de propagação de onda de ultrassom.
- Otimizar os parâmetros de tratamento térmico de eliminação da cera de polietileno para evitar a formação de fases indesejáveis.
- Estudar outros possíveis agentes formadores de poros.
- Estudar a biodegradabilidade do pó e das amostras micro e macroporosas por meio de ensaios *in vitro*.
- Estudar a biocompatibilidade do pó de BCP e das amostras micro e macroporosas por meio de ensaios de cultura de células e/ou *in vivo*.

8 BIBLIOGRAFIA

- ALMIRALL, A., LARRECQ, G., DELGADO, J., MARTÍNEZ, S., PLANELL, J., GINEBRA, M., 2004, “Fabrication of low temperature macroporous hydroxyapatite scaffolds by foaming and hydrolysis of an alpha-TCP paste”, *Biomaterials*, v. 25, n. 17, pp. 3671-3680.
- AOKI, H., 1994, *Medical Applications of Hydroxyapatite*. 1 ed., Tokyo, Ishiyaku EuroAmerica Inc.
- ASTM, 2015, C1327-15 Standard Test Method for Vickers Indentation Hardness of Advanced *Ceramics*, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2015, Disponível em: www.astm.org.
- BAKAN, F., LAÇIN, O., SARAC, H., 2013, “A novel low temperature sol-gel synthesis process for thermally stable nano crystalline hydroxyapatite”, *Powder Technology*, v. 233, pp. 295-302.
- BALESTRA, R., RIBEIRO, A., ANDRADE, M., PEREIRA, L., OLIVEIRA, M., 2012, “Study of titanium surface topography influence on biomimetic coating deposition”. *Materials Science Forum*, v. 727-728, pp. 1622-1627.
- BALESTRA, R., RIBEIRO, A., OLIVEIRA, M., CAVALEIRO, A., OLIVEIRA, M., 2013, “Study of titanium substrate surfaces coated with hydroxyapatite by magnetron sputtering”. *57° Congresso Brasileiro de Cerâmica - 5° Congresso Iberoamericano de Cerâmica*. Natal, RN, Brasil.
- BARBOSA, M., MESSMER, N., BRAZIL, T., MARCIANO, F., LOBO, A., 2013, “The effect of ultrasonic irradiation on the crystallinity of nano-hydroxyapatite produced via the wet chemical method”, *Materials Science and Engineering*, v. C33, pp. 2620-2625.
- BERZINA-CIMDINA, L., BORODAJENKO, N., 2012, “Research of Calcium Phosphates Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy”, *Infrared Spectroscopy – Materials Science, Engineering and Technology*, Prof. Theophanides Theophile (Ed.), InTech. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/infrared-spectroscopy-materials-science-engineering-andtechnology/research-of-calcium-phosphates-using-fourier-transformation-infrared-spectroscopy>
- BIGI, A., BOANINI, E., RUBINI, K., 2004, “Hydroxyapatite gels and nanocrystals prepared through a sol-gel process”, *Journal of Solid State Chemistry*, v. 177, pp. 3092-3098.
- BOILET, L., DESCAMPS, M., RGUITI, E., TRICOTEAUX, A., LU, J., PETIT, F., LARDOT, V., CAMBIER, F., LERICHE, A., 2013, “Processing and properties of transparent hydroxyapatite and β tricalcium phosphate obtained by HIP process”, *Ceramics International*, v. 39, pp. 283-288.

- BOULER, J., TRÉCANT, M., DELÉRIN, J., ROYER, J., PASSUTI, N., DACULSI, G., 1996, “Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: Influence of five synthesis parameters on compressive strength”. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 32, n. 4, pp. 603-609.
- BROWN, O., McAFEE, M., CLARKE, S., BUCHANAN, F., 2010, “Sintering of biphasic calcium phosphates”, *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 21, n. 8, pp. 2271-2279.
- CALLISTER, W., RETHWISH, D., 2012, *Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução*. 8 ed. LTC.
- CARTER, C., NORTON, B., 2007, “*Ceramic Materials: Science and Engineering*”, 1 ed., Springer.
- CHAMPION, E., 2013, “Sintering of calcium phosphate bioceramics”, *Acta Biomaterialia*, v. 9, pp. 5855-5875.
- CHEN, J., WANG, Y., CHEN, X., REN, L., LAI, C., HE, W., ZHANG, Q., 2011, “A simple sol-gel technique for synthesis of nanostructured hydroxyapatite, tricalcium phosphate and biphasic powders”, *Materials Letters*, v. 65, pp. 1923-1926.
- CHEVALIER, E., CHULIA, D., POUGET, C., VIANA, M., 2008, “Fabrication of Porous Substrates: A Review of Processes Using Pore Forming Agents in the Biomaterial Field”, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 97, n. 3, pp. 1135-1154.
- CHIELLINI, E., CORTI, A., D’ANTONE, S., BACIU, R., 2006, “Oxo-biodegradable carbon backbone polymers – Oxidative degradation of polyethylene under accelerated test conditions”, *Polymer Degradation and Stability*, v. 91, pp. 2739-2747.
- COLLIN, I., LAMY, B., GAUTHIER, O., BOULER, J., 2005, “Improvement of macroporous biphasic phosphocalcic ceramics for the filling of bone defects”. *ITBM-RBM*, v. 26, n. 4, pp. 247-248.
- DEE, K., PULEO, D., BIZIOS, R., 2002, *An Introduction to Tissue-Biomaterial Interactions*. 1 ed., Willey.
- DESCAMPS, M., BOILET, L., MOREAU, G., TRICOTEAUX, A., LU, J., LERICHE, A., LARDOT, V., CAMBIER, F., 2013, “Processing and properties of biphasic calcium phosphates bioceramics obtained by pressureless sintering and hot isostatic pressing”, *Journal of the European Ceramic Society*, v. 33, pp. 1263-1270.
- DESCAMPS, M., HORNEZ, J.C., LERICHE, A., 2007, “Effects of powder stoichiometry on the sintering of β -tricalcium phosphate”, *Journal of the European Ceramic Society*, v. 27, pp. 2401-2406.

- DESTAINVILLE, A., CHAMPION, E., BERNACHE-ASSOLLANT, D., LABORDE, E., 2003, "Synthesis, characterization and thermal activation behavior of apatitic tricalcium phosphate", *Materials Chemistry and Physics*, v. 80, n. 1, pp. 269-277.
- DOROZHKIN, S., 2010, "Bioceramics of calcium orthophosphates", *Biomaterials*, v. 31, pp. 1465-1485.
- DOROZHKIN, S., 2012, "Biphasic, triphasic and multiphasic calcium orthophosphates", *Acta Biomaterialia*, v. 8, pp. 963-977.
- DOROZHKIN, S., 2013, "A detailed history of calcium orthophosphates from 1770s till 1950", *Materials Science and Engineering C-Materials For Biological Applications*, v.33, pp. 3085-3110.
- DUAN, C., WANG, J., ZHOU, S., FENG, B., LU, X., WENG, J., 2012, "Study on phase transformation and controllable synthesis of calcium phosphate using a sol-gel approach", *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 63, n. 1, pp. 126-134.
- DUARTE, S., 2012, *Síntesis y Caracterización de Fosfatos de Calcio por el Método Sol-gel*. Dissertação de M.Sc., FP/UNA, San Lorenzo, Central, Paraguay.
- DUARTE, S., BALESTRA, R., NASCIMENTO, S., OLIVEIRA, M., MONTEIRO, M., 2012, "Different routes for obtaining hydroxyapatite by sol-gel". *7º Congresso Latino Americano de Órgãos Artificiais e Biomateriais*, Natal, RN, Brasil.
- FANG, Y., AGRAWAL, D., ROY, D., ROY, R., 1991, "Fabrication of porous hydroxyapatite ceramics by microwave processing", *Journal of Materials Research*, v. 7, n. 2, pp. 490-494.
- FARZADI, A., SOLATI-HASHJIN, M., BAKHSHI, F., AMINIAN, A., 2011, "Synthesis and characterization of hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate nanocomposites using microwave irradiation", *Ceramics International*, v. 37, pp. 65-71.
- FATHI, M., HANIFI, A., MORAZAVI, V., 2008, "Preparation and bioactivity evaluation of bone-like hydroxyapatite nanopowder", *Journal of Materials Processing Technology*, v. 202, pp. 536-542.
- FELLAH, B., LAYROLLE, P., 2009, "Sol-gel synthesis and characterization of macroporous calcium phosphate bioceramics containing microporosity", *Acta Biomaterialia*, v. 5, pp. 735-742.
- FERREIRO, O., LICONA, K.P.M., LUNZ, J.N., MONTEIRO, M.M., OLIVEIRA M.V., RIBEIRO, A.A., PEREIRA, L.C., 2014, "Synthesis of biphasic calcium phosphate obtained by sol-gel for bone regeneration", *8º Congreso Latinoamericano de Órganos Artificiales, Biomateriales e Ingeniería de Tejidos*, Rosario, Argentina.
- FOOK, A., APARECIDA, A., FOOK, M., 2010, "Development of hydroxyapatite porous bioceramics for use as scaffolds for bone regeneration". *Materia*, v. 15, n. 3, pp. 392-399.

- GARCÍA-PALENCIA, O., PENCUE, L., VILLACREZ-PASTAS, C., 2010, “Determinación de la microestructura cerámica mediante procesamiento óptico-digital de imágenes MEB”, *Ingeniería y Ciencia*, v. 6, n. 11, pp. 57-73.
- GAUTHIER, O, BOULER, J., AGUADO, E., PILET, P., DACULSI, G., 1998, “Macroporous biphasic calcium phosphate ceramics: influence of macropore diameter and macroporosity percentage on bone ingrowth”, *Biomaterials*, v. 19, n. 1-3, pp. 133-139.
- GIANNOUDIS, P., DINOPOULOS, H., TSIRIDIS, E., 2005, “Bone substitutes: An update”, *Injury – International Journal of the Care of the Injured*, v. 36S, pp. S20-S27.
- GOUVEIA, D., 2008, *Obtenção de Pós Nanométricos de Hidroxiapatita Sintetizados com Magnésio Utilizando Ultra-som*. Tese de D.Sc., IPEN/USP, São Paulo, SP, Brasil.
- GREEN, D.J., 1998, *An introduction to the mechanical properties of ceramics*, 1 ed., Cambridge University Press.
- HABIBE, A. F., SOUZA, R. C., MAEDA, L. D., BICALHO, L. A., BARBOZA, M. J. R., SANTOS, C., 2008, “Bicerâmicas à base de ZrO₂-tetragonal obtidas por sinterização via fase líquida”, *Tecnologia em Metalurgia e Materiais*, v. 4, n. 3, pp. 23-29. Disponível em: <http://tecnologiammm.com.br/files/v4n3/v4n3a05.pdf>
- HE, L., STANDARD, O., HUANG, T., LATELLA, B., SWAIN, M., 2009, “Mechanical behaviour of porous hydroxyapatite”, *Acta Biomaterialia*, v. 4, pp. 577-586.
- HO, W., HSU, H., HSU, S., HUNG, C., WU, S., 2013, “Calcium phosphate bioceramics synthesized from eggshell powders through a solid state reaction”, *Ceramics International*, v. 39, pp. 6467-6473.
- HOEPFNER, T., CASE, E., 2003, “The influence of the microstructure on the hardness of sintered hydroxyapatite”, *Ceramics International*, v. 29, pp. 699-706.
- HOSFORD, W., 2005, *Mechanical Behavior of Materials*, 1 ed., Cambridge.
- HULBERT, S., MORRISON, S., KLAWITTER, J., 1971, “Compatibility of porous ceramics with soft tissue; application to tracheal prostheses”, *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 5, n. 6, pp. 269-279.
- KAMITAKAHARA, M., OHTSUKI, C., MIYAZAKI, T., 2008, “Review Paper: Behavior of Ceramic Biomaterials Derived from Tricalcium Phosphate in Physiological Condition”, *Journal of Biomaterials Applications*, v. 23, n. 3, pp. 197-212.
- KOMLEV, V., BARINOV, S., 2002, “Porous hydroxyapatite ceramics of bi-modal pore size distribution”. *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, v. 13, n. 3, pp. 295-299.

- KURIAKOSE, T., KALKURA, S., PALANICHAMY, M., ARIVUOLI, D., DIERKS, K., BOCELLI, G., BETZEL, C., 2004, "Synthesis of stoichiometric nano crystalline hydroxyapatite by ethanol-based sol-gel technique at low temperature", *Journal of Crystal Growth*, v. 263, pp. 517-523.
- LAYROLLE, P., DACULSI, G., 2009, "Physicochemistry of apatite and its related calcium phosphates". In: LÉON, B.; JASEN, J.A. (eds.), *Thin calcium phosphate coatings for medical implants*, 1 ed., chapter 2, New York: Springer Science + Business Media.
- LE RAY, A., GAUTIER, H., BOULER, J., WEISS, P., MERLE, C., 2010, "A new technological procedure using sucrose as porogen compound to manufacture porous biphasic calcium phosphate ceramics of appropriate micro- and macrostructure". *Ceramics International*, v. 36, n. 1, pp. 93-101.
- LEW, K. OTHMAN, R., ISHIKAWA, K., YEOH, F., 2012, "Macroporous bioceramics: A remarkable material for bone regeneration", *Journal of Biomaterials Applications*, v. 27, n. 3, pp. 345-358.
- LIU, D., 1997, "Fabrication of hydroxyapatite ceramic with controlled porosity". *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, v. 8, n. 4, pp. 227-232.
- LUKIĆ, M., STOJANOVIĆ, Z., ŠKAPIN, S., MAČEK-KRŽMANC, M., MITRIĆ, M., MARKOVIĆ, S., USKOKOVIĆ, D., 2011, "Dense fine-grained biphasic calcium phosphate (BCP) bioceramics designed by two-step sintering", *Journal of the European Ceramic Society*, v. 31, pp. 19-27.
- LUKIĆ, M., VESELINOVIĆ, L., STOJANOVIĆ, Z., MAČEK-KRŽMANC, M., BRAČKO, I., ŠKAPIN, S., MARKOVIĆ, S., USKOKOVIĆ, D., 2012, "Peculiarities in sintering behavior of Ca-deficient hydroxyapatite nanopowders", *Materials Letters*, v. 68, pp. 331-335.
- MEE, 2014, *Handbook of Analytical Methods For Materials*. 1 ed., Materials Evaluation and Engineering, Plymouth, MN, England.
- MITRI, F., ALVES, G., FERNANDES, G., KÖNIG, B., ROSSI, A., GRANJEIRO, J., 2012, "Cytocompatibility of Porous Biphasic Calcium Phosphate Granules With Human Mesenchymal Cells by a Multiparametric Assay". *Artificial Organs*, v. 36, n. 6, pp. 535-542.
- MONTEIRO, M., LIMA, W., OLIVEIRA, M., ROSSI, A., 2010, "Characterization of sintered hydroxyapatite samples by nanoindentation", *6º Latin American Congresso of Artificial Organs and Biomaterials*, Gramado, RS, Brasil.
- MONTGOMERY, D., RUNGER, G., HUBELE, N., 2011, *Engineering Statistics*. 5 ed., Wiley.

- MOREIRA, A. C., 2013, *Análise da Influência da morfologia porosa de implantes de titânio no processo de crescimento ósseo*. Tese de D.Sc., UFSC, Florianópolis, Brasil.
- MURALITHRAN, G., RAMESH, S., 2000, “The effects of sintering temperature on the properties of hydroxyapatite”, *Ceramics International*, v. 26, pp. 221-230.
- NATARAJAN, U., RAJESWARI, S., 2008, “Influence of calcium precursors on the morphology and crystallinity of sol-gel-derived hydroxyapatite nanoparticles”, *Journal of Crystal Growth*, v. 310, n. 21, pp. 4601-4611.
- OLIVEIRA, M., PEREIRA, R., PEREIRA, L., 2009, “Porosity Evaluation of Ti Scaffolds with Different Pore Morphologies”. *22° European Conference on Biomaterials*, Lausanne, Switzerland.
- OLIVEIRA, S., MEDEIROS, K., LIMA, R., ARAUJO, E., FOOK, M., 2008a, “Caracterização de Biocerâmicas de Fosfato de Cálcio para Aplicações como Biomateriais”, *18° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, Porto de Galinhas, PE, Brasil.
- OLIVEIRA, S., MEDEIROS, K., LIMA, R., ARAUJO, E., RAMOS, S., FOOK, M., 2008b, “Estudo das biocerâmicas em forma de pó para aplicações clínicas”, *18° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais*, Porto de Galinhas, PE, Brasil.
- ORÉFICE, R., PEREIRA, M., MANSUR, H., 2006, *Biomateriais: Fundamentos e Aplicações*. 1 ed. Guanabara Koogan.
- PADILHA, A., 2000, *Materiais de Engenharia: Microestrutura e Propriedades*. 1 ed., Hemus Livraria.
- PASAND, E., NEMATİ, A., SOLATI-HASHJIN, M., ARZANI, K., FARZADI, A., 2012, “Microwave assisted synthesis and properties of nano HA-TCP biphasic calcium phosphate”, *International Journal of Minerals, Metallurgy and Materials*, v. 19, n. 5, pp. 441-445.
- PECQUEUX, F., TANCRET, F., PAYRAUDEAU, N., BOULER, J., 2010, “Influence of microporosity and macroporosity on the mechanical properties of biphasic calcium phosphate bioceramics: Modelling and experiment”, *Journal of the European Ceramic Society*, v. 30, pp. 819-829.
- PRADO DA SILVA, M., LEMOS, A., GIBSON, I., FERREIRA, J., SANTOS, J., 2002, “Porous glass reinforced hydroxyapatite materials produced with different organic additives”, *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 304, n. 1-3, pp. 286-292.
- RAKSUJARIT, A., PENGPAT, K., RUJIANAGUL, G., TUNKASIRI, T., 2010, “Processing and properties of nanoporous hydroxyapatite ceramics”. *Materials & Design*, v. 31, n. 4, pp. 1658-1660.
- RAMAKRISHNA, S., RAMALINGAM, M., KUMAR, T., SOBOYEJO, W., 2010, *Biomaterials: A Nano Approach*. 1 ed. CRC Press.

- RAMAY, H., ZHANG, M., 2004, “Biphasic calcium phosphate nanocomposite porous scaffolds for load-bearing bone tissue engineering”. *Biomaterials*, v. 25, n. 21, pp. 5171-5180.
- RAMESH, S., TAN, C., SOPYAN, I., HAMDI, M., TENG, W., 2007, “Consolidation of nanocrystalline hydroxyapatite powder”, *Science and Technology of Advanced Materials*, v. 8, pp. 124-130.
- RATNER, B., HOFFMAN, A., SCHOEN, F., LEMONS, J., 2013, *Biomaterials Science: An introduction to Materials in Medicine*. 3 ed. California , Academic Press.
- RAYNAUD, S., CHAMPION, E., BERNACHE-ASSOLLANT, D., 2002, “Calcium phosphate apatites with variable Ca/P atomic ratio II. Calcination and sintering”, *Biomaterials*, v. 23, n. 4, pp. 1073-1080.
- RIBEIRO, A., BALESTRA, R., ROCHA, M., PERIPOLLI, S., ANDRADE, M., PEREIRA, L., OLIVEIRA, M., 2013, “Dense and porous titanium substrates with a biomimetic calcium phosphate coating”, *Applied Surface Science*, v. 265, n. 0, pp. 250-256.
- RIBEIRO, G., TROMMER, R., SANTOS, L., BERGMANN, C., 2011, “Novel method to produce β -TCP scaffolds”, *Materials Letters*, v. 65, pp. 275-277.
- RICE, R., 1998, *Porosity of Ceramics*, 1^o ed, Marcel Dekker, United States.
- ROCHA, C. V., 2004, *Correlação entre a microestrutura e a tenacidade à fratura do nitreto de silício sob diferentes condições de sinterização*. Tese de D.Sc. COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- RUSESKA, G., FIDANCEVSKA, E., BOSSERT, J., 2006, “Mechanical and Thermal-Expansion Characteristics of $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ Composites”, *Science of Sintering*, v. 38, pp. 245-253.
- RYU, H., YOUN, H., HONG, K., CHANG, B., LEE, C., CHUNG, S., 2002, “An improvement in sintering property of β -tricalcium phosphate by addition of calcium pyrophosphate”, *Biomaterials*, v. 23, pp. 909-914.
- 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.
- SAIZ, E., GREMILLARD, L., MENENDEZ, G., MIRANDA, P., GRYN, K., TOMSIA, A., 2007, “Preparation of porous hydroxyapatite scaffolds”. *Materials Science & Engineering C-Biomimetic and Supramolecular Systems*, v. 27, n. 3, pp. 546-550.
- SALINAS, A., VALLET-REGÍ, M., 2013, “Bioactive ceramics: from bone grafts to tissue engineering”, *RSC Advances*, v. 3, pp. 11116-11131.

- SCALERA, F., GERVASO, F., SANOSH, K., SANNINO, A., LICCIULLI, A., 2013, "Influence of the calcination temperature on morphological and mechanical properties of highly porous hydroxyapatite scaffolds", *Ceramics International*, v. 39, pp. 4839-4846.
- ŚLÓSARCZYK, A., PALUSZKIEWICZ, C., GAWLICKI, M., PASZKIEWICZ, Z., 1997, "The FTIR Spectroscopy and QXRD Studies of Calcium Phosphate Based Materials Produced from the Powder Precursors with Different Ca/P Ratios", *Ceramics International*, v.23, pp. 297-304.
- ŚLÓSARCZYK, A., STOBIERSKA, E., PASZKIEWICZ, Z., 1999, "Porous hydroxyapatite ceramics", *Journal of Materials Science Letters*, v. 18, pp. 1163-1165.
- SOPYAN, I., MEL, M., RAMESH, S., KHALID, K., 2007, "Porous hydroxyapatite for artificial bone applications", *Science and Technology of Advanced Materials*, v. 8, n. 1-2, pp. 116-123.
- STOCH, A., JASTRZEBSKI, W., BROZEK, A., TRYBALSKA, B., CICHOCINSKA, M., SZARAWARA, E., 1999, "FTIR monitoring of the growth of the carbonate containing apatite layers from simulated and natural body fluids", *Journal of Molecular Structure*, v.511-512, pp. 287-294.
- SUNDER, M., BABU, N., VICTOR, S., KUMAR, K., KUMAR, T., 2005, "Biphasic calcium phosphates for antibiotic release". *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, v. 18, pp. 213-218.
- SWAIN, S., BHATTACHARYYA, S., 2013, "Preparation of high strength macroporous hydroxyapatite scaffold". *Materials Science & Engineering C-Materials For Biological Applications*, v. 33, n. 1, pp. 67-71.
- SWAIN, S., BHATTACHARYYA, S., SARKAR, D., 2011, "Preparation of porous scaffold from hydroxyapatite powders". *Materials Science & Engineering C-Materials For Biological Applications*, v. 31, n. 6, pp. 1240-1244.
- TADIC, D., BECKMANN, F., SCHWARZ, K., EPPLE, M., 2004, "A novel method to produce hydroxyapatite objects with interconnecting porosity that avoids sintering", *Biomaterials*, v. 25, n. 16, pp. 3335-3340.
- TAMPIERI, A., CELOTTI, G., SPRIO, S., DELCOGLIANO, A., FRANZESE, S., 2001, "Porosity-graded hydroxyapatite ceramics to replace natural bone", *Biomaterials*, v. 22, n. 11, pp. 1365-1370.
- TANCRET, F., BOULER, J., CHAMOUSSET, J., MINOIS, L., 2006, "Modelling the mechanical properties of microporous and macroporous biphasic calcium phosphate bioceramics". *Journal of the European Ceramic Society*, v. 26, n. 16, pp. 3647-3656.
- TEMENOFF, J., MIKOS, A., 2008, *Biomaterials: The Intersection of Biology and Materials Science*. 1 ed. Prentice Hall.

- TIAN, J., TIAN, J., 2001, "Preparation of porous hydroxyapatite materials". *Journal of Materials Science*, v. 36, pp. 3061-3066.
- TREDWIN, C., GEORGIU, G., KIM, H., KNOWLES, J., 2013, "Hydroxyapatite, fluor-hydroxyapatite and fluorapatite produced via the sol-gel method: Bonding to titanium and scanning electron microscopy", *Dental Materials*, v. 29, pp. 521-529.
- TRICOTEAUX, A., RGUITI, E., CHICOT, D., BOILET, L., DESCAMPS, M., LERICHE, A., LESAGE, J., 2011, "Influence of porosity on the mechanical properties of microporous β -TCP bioceramics by usual and instrumented Vickers microindentation", *Journal of the European Ceramic Society*, v. 31, pp. 1361-1369.
- UCHIDA, A., NADE, S., McCARTNEY, E., CHING, W., 1984, "The use of ceramics for bone-replacement: a comparative-study of three different porous ceramics". *Journal of Bone and Joint Surgery*, v. 66, n. 2, pp. 269-275.
- VALLET-REGI, M., 2008, "Current trends on porous inorganic materials for biomedical applications", *Chemical Engineering Journal*, v. 137, n. 1, pp. 1-3.
- VALLET-REGÍ, M., 2010, "Evolution of bioceramics within the field of biomaterials", *Comptes Rendus Chimie*, v. 13, pp. 174-185.
- VALLET-REGÍ, M., GONZÁLEZ-CALBET, J., 2004, "Calcium phosphates as substitution of bone tissues", *Progress in Solid State Chemistry*, v. 32, pp. 1-31.
- VANI, R., GIRIJA, E., ELAYARAJA, K., PARTHIBAM, S., KESAVAMOORTHY, R., KALKURA, S., 2009, "Hydrothermal synthesis of porous triphasic hydroxyapatite/(α and β) tricalcium phosphate", *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 20, pp. S43-S48.
- VELJOVIĆ, D., PALCEVSKIS, E., DINDUNE, A., PUTIĆ, S., BALAĆ, I., PETROVIĆ, R., JANAČKOVIĆ, D., 2010a, "Microwave sintering improves the mechanical properties of biphasic calcium phosphates from hydroxyapatite microspheres produced from hydrothermal processing", *Journal of Materials Science*, v.45, pp. 3175-3183.
- VELJOVIĆ, D., ZALITE, I., PALCEVSKIS, E., SMICIKLAS, I., PETROVIĆ, R., JANAČKOVIĆ, D., 2010b, "Microwave sintering of fine grained HAP and HAP/TCP bioceramics", *Ceramics International*, v. 36, pp. 595-603.
- VICTORIA, E.; GNANAM, F., 2002, "Synthesis and Characterisation of Biphasic Calcium Phosphate", *Trends in Biomaterials and Artificial Organs*, v. 16, n. 1, pp. 12-14.
- VIJAYALAKSHMI, U., RAJESWARI, S., 2012, "Influence of process parameters on the sol-gel synthesis of nano hydroxyapatite using various phosphorus precursors", *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 63, pp. 45-55.

- WAGH, A.S., POEPEL, R.B., SINGH, J.P., 1991, "Open pore description of mechanical properties", *Journal of Materials Science*, v. 26, pp. 3862-3868.
- WANG, C., KASUGA, T., NOGAMI, M., 2005, "Macroporous calcium phosphate glass-ceramic prepared by two-step pressing technique and using sucrose as a pore former". *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, v. 16, n. 8, pp. 739-744.
- WILLIAMS, D., 2008, "On the mechanism of biocompatibility", *Biomaterials*, v. 29, pp. 2941-2953.
- WILLIAMS, D., 2009, "On the nature of biomaterials", *Biomaterials*, v. 30, pp. 5897-5909.
- WU, S., HSU, H., HSU, S., WANG, W., HO, W., 2011, "Preparation and characterization of four different compositions of calcium phosphate scaffolds for bone tissue engineering", *Materials Characterization*, v. 62, pp. 526-534.
- YAO, X., TAN, S., JIANG, D., 2005, "Improving the properties of porous hydroxyapatite ceramics by fabricating methods". *Journal of Materials Science*, v. 40, n. 18, pp. 4939-4942.
- ZHANG, H.; ZHU, Q., 2007, "Preparation of porous hydroxyapatite with interconnected pore architecture". *Journal of Materials Science-Materials in Medicine*, v. 18, n. 9, pp. 1825-1829.
- ZHANG, Y., KONG, D., YOKOGAWA, Y., FENG, X., TAO, Y., QIU, T., 2012, "Fabrication of Porous Hydroxyapatite Ceramic Scaffolds with High Flexural Strength Through the Double Slip-Casting Method Using Fine Powders", *Journal of the American Ceramic Society*, v. 95, n. 1, pp. 147-152.