

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**  
**Escola Politécnica**

DENISE STOLLE DA LUZ WEISS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE VIDROS E VITROCERÂMICAS**  
**DO SISTEMA  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO-MgO PARA APLICAÇÕES**  
**BIOMÉDICAS**

**CURITIBA**  
**Novembro – 2019**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**  
**Escola Politécnica**

DENISE STOLLE DA LUZ WEISS

**SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE VIDROS E VITROCERÂMICAS**  
**DO SISTEMA  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO-MgO PARA APLICAÇÕES**  
**BIOMÉDICAS**

Tese apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Engenharia Mecânica, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Escola Politécnica, Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

**Orientador: Prof. Paulo C. Soares Júnior, Ph. D**

**CURITIBA**  
**Novembro – 2019**

Dados da Catalogação na Publicação  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR  
Biblioteca Central  
Pamela Travassos de Freitas – CRB 9/1960

Weiss, Denise Stolle da Luz

W429s      Síntese e caracterização de vidros e vitrocerâmicas do sistema  $P_2O_5$  -CaO-  
2019       $Na_2O$  -SrO-MgO para aplicações biomédicas / Denise Stolle da Luz Weiss ;  
orientador: Paulo César Soares Jr. ; co-orientadora: Luciane Sopchenski  
Santos Amorim. – 2019.

103 f. : il. ; 30 cm

Tese (doutorado) – Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba,  
2019

Bibliografia: f. 89-103

1. Engenharia mecânica. 2. Biomecânica. 3. Biomédica. 4. Materiais  
biocompatíveis. 5. Cerâmica (Tecnologia). 6. Vidro. I. Soares Jr., Paulo César.  
II. Amorim, Luciane Sopchenski Santos. III. Pontifícia Universidade Católica do  
Paraná Pós-Graduação em Engenharia de Mecânica. IV. Título.

CDD 20. ed. – 620.1



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Escola Politécnica  
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica

## TERMO DE APROVAÇÃO

**Denise Stolle da Luz Weiss**

### **Síntese e Caracterização de Vidros e Vitrocerâmicas do Sistema P2O5- CaO-Na2O-SrO-MgO para Aplicações Biomédicas**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de doutor no Curso de Doutorado em Engenharia Mecânica, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, da Escola Politécnica da Pontifícia Universidade Católica do Paraná, pela seguinte banca examinadora:

**Prof. Dr. Francisco Carlos Serbena**  
Universidade Estadual de Ponta Grossa, UEPG

**Prof. Dr. Carlos Maurício Lepiński**  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, UTFPR

**Prof.ª Dr.ª Selene Elifio -Espósito**  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PUCPR

**Prof. Dr. Ricardo Diego Torres**  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PUCPR

**Presidente: Prof. Dr. Paulo César Soares Junior**  
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, PUCPR, Orientador

Curitiba, 28 de novembro de 2019



Dedico este trabalho ao meu marido Helton Weiss e aos meus filhos Helena da Luz Weiss e João Guilherme da Luz Weiss por todo apoio e amor incondicional.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pela vida e oportunidades de cada dia.

Ao meu orientador Paulo César Soares Júnior e minha co-orientadora Luciane Sopchenski Santos, pelo incentivo, auxílio, paciência e apoio em todos os momentos da realização deste trabalho.

Ao professor Ricardo Diego Torres e Michelle Sostag Meruvia pelas discussões, sugestões e auxílio durante o desenvolvimento do trabalho.

Ao professor Francisco Serbena da Universidade Federal do Paraná, por vários auxílios durante o desenvolvimento desse trabalho, como fusão de vidro, método de ensaio B3B, etc.

A professora Selene Elifio-Espósito da Pontifícia Universidade Católica do Paraná por possibilitar a realização dos ensaios de bioatividade e discussão dos resultados.

Ao professor Ketul C. Popat por receber amostras e autorizar a realização dos ensaios de bioatividade.

Ao professor Sílvio Buchner da Universidade Federal do Rio Grande do Sul pelos ensaios realizados, como o espectro Raman e outros.

Aos colegas Roberta Sabino Maia e Rodrigo Amauri Nogoceke. pelos testes de bioatividade. E Evandro Martinho Ramos pelas imagens de MEV.

Aos meus pais, Jorge Luiz da Luz e Lourdes Marise Stolle da Luz e meu padrinho Waldenir Paulo Carneiro Ribas pelo apoio e incentivo.

Aos amigos Bruna Michele de Freitas, Blancaliz Higashino, Letícia Christina Muniz Bembem, Macieli Cristina Pegoretti, César Augusto Neitzke, Carlos Augusto Henning Laurindo, Sérgio Manenti pelos momentos de alegria e pelo auxílio em várias situações.

A Pontifícia Universidade Católica do Paraná pela qualidade e dedicação de todos os professores e funcionários envolvidos do curso de pós-graduação.

A todos que contribuíram de alguma forma para o desenvolvimento deste trabalho.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001.

## RESUMO

Biomateriais bioabsorvíveis são usados como implantes temporários visando principalmente a regeneração óssea, onde a dissolução completa do biomaterial deve ocorrer para dar espaço para o osso neoformado, eliminando a necessidade de uma segunda cirurgia para remover o implante. Vidros à base de fosfato (*PBG – phosphate based glasses*) têm propriedades que lhes permitem serem utilizados como substituto de tecidos ósseos, entretanto possuem propriedades mecânicas inferiores em comparação aos vidros silicatos. A adição de óxidos na composição dos vidros altera a estrutura química e conseqüentemente suas propriedades mecânicas, sendo então possível ajustar as propriedades desejadas através da alteração da composição vítrea. A incorporação de estrôncio nos *PBGs* tem sido estudada pelo fato de estimular a formação de tecido ósseo. Embora os vidros fosfatos com estrôncio tenham melhor resultado de proliferação celular, a sua taxa de dissolução é maior. Alguns estudos mostram que a adição de MgO reduz significativamente a taxa de degradação de vidros fosfatos solúveis. Além da modificação na composição química, a cristalização controlada dos vidros possibilita alterar as propriedades mecânicas, através da transformação do vidro em uma vitrocerâmica. O objetivo desta pesquisa foi avaliar o efeito da adição do óxido de magnésio (MgO) e a cristalização controlada dos vidros  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO no comportamento de degradação, dureza, módulo de elasticidade, tenacidade à fratura e bioatividade. A cristalização contribuiu positivamente para a melhora nas propriedades mecânicas das vitrocerâmicas em comparação aos vidros precursores, devido a presença de diferentes fases, tamanhos e formatos de cristais. Da mesma maneira afetou a taxa de dissolução, gerando uma variação entre as vitrocerâmicas, e sendo maior que os valores dos vidros precursores. E mesmo com uma taxa de dissolução mais alta, as vitrocerâmicas não apresentaram citotoxicidade, mas sim um comportamento bioativo. A adição de MgO não apresentou uma influência significativa nos vidros quando comparados, tanto na dureza, tenacidade a fratura e taxa de dissolução, pois a presença do  $Al_2O_3$ , acabou inibindo a ação do MgO, mas mesmo adições não intencionais do óxido de alumínio, não foi o suficiente para afetar o comportamento bioativo.

**Palavras-chave:** biovidros, vidros fosfatos, vitrocerâmicas, implantes temporários, propriedades mecânicas, dissolução, bioatividade.

## ABSTRACT

Bioabsorbable biomaterials are materials used as temporary implants, mainly in guided bone regeneration: a situation where the complete biomaterial resorption should occur in order to give place to the new formed bone, avoiding the need of a second surgery to remove the implant. Phosphate based glasses (PBG) has adequate properties to be used as temporary implants but presents mechanical properties inferior in comparison to silicate glasses. The addition of oxides in glasses changes its chemical structure and consequently its mechanical properties, so it is possible to tune PBG properties by changing its composition. Strontium incorporation in PBG has been investigated aiming to stimulate bone tissue formation since its incorporation increases cell proliferation, although it increases the dissolution rate. In other hand, some studies show the addition of MgO decreases the dissolution rate of PBG. The controlled crystallization can also be used to improve PBG mechanical properties through the transformation of glasses in glass-ceramic. The objective of this research was to evaluate the influence of MgO and the controlled crystallization on dissolution, hardness, elastic modulus, fracture toughness and bioactivity on a PBG  $P_2O_5$ -CaO-Na<sub>2</sub>O-SrO glass and glass-ceramics. The crystallization improved the mechanical properties of the glass-ceramics in comparison to the precursors glasses due to the presence of different crystalline phases, and crystal sizes and shapes. The dissolution rate increased after the controlled crystallization, and no cytotoxicity was observed. The MgO addition did not change the hardness, fracture toughness, and dissolution rate since the presence of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> inhibited the MgO influence. The unexpected presence of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> did not affect the bioactive behavior of the glasses and glass-ceramics.

**Keywords:** Bioglass, phosphate based glass, glass-ceramic, temporary implants, mechanical properties, bioactivity.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Representação esquemática bidimensional da estrutura de: (a) um composto cristalino; (b) a forma vítrea do mesmo composto.....	17
Figura 2. Efeito da temperatura no volume específico durante a formação de um vidro fundido.....	18
Figura 3. Representação esquemática de um vidro silicato de sódio.....	20
Figura 4. Nomenclatura e representação do tetraedro PO <sub>4</sub> com diferentes estruturas.....	23
Figura 5. Tetraedro de silicato (a) e fosfato (b).....	23
Figura 6. Taxa de nucleação (I) e crescimento de cristais (u) em função da temperatura.....	28
Figura 7. Ciclo de tratamento térmico em uma e em duas etapas, para a obtenção de uma vitrocerâmica.....	29
Figura 8. Curva esquemática de um sistema vítreo analisado por DTA, onde apresenta as seguintes temperaturas: temperatura de transição vítrea (T <sub>g</sub> ), temperatura de início de cristalização (T <sub>x</sub> ), temperatura de cristalização (T <sub>c</sub> ), temperatura de início de fusão (T <sub>m</sub> ) e temperatura de fusão (T <sub>f</sub> ).....	32
Figura 9. Ilustração esquemática mostrando os diferentes estágios e reações na superfície de uma vitrocerâmica bioativa em SBF (fluido simulado corporal) .....	35
Figura 10. Imagens de MEV dos túbulos dentinários antes do tratamento (a) e após o tratamento com pós de Biosilicato®.....	37
Figura 11. Diagrama de fases do sistema P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> -Na <sub>2</sub> O-CaO. Regiões de formação de vidro e cristais. O círculo representa a composição básica dos vidros estudados.....	46
Figura 12. Fluxograma do processo experimental de preparação de amostras vítreas.....	48
Figura 13. Imagens ilustrativas do preparo das amostras de vidro. (a) Vidro sendo retirado do forno no momento da fusão, (b) vidro sendo vertido no molde metálico, (c) vidro sendo resfriado rapidamente em molde pré-aquecido.....	49
Figura 14. Fluxograma das etapas do trabalho.....	50
Figura 15. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (200x) das amostras de vitrocerâmicas (a) VC-PCNSr e (b) VC-PCNSrMg. Ataque ácido HCl 0,5% por 300 s.....	52
Figura 16. (a) Micrografia eletrônica de um vidro após teste de indentação Vickers, mostrando as dimensões características da impressão residual (a) e do comprimento das trincas radiais primárias (c). (b) Sistema de formação das trincas: Hal-penny e Palmqvist.....	56
Figura 17. Análise macroscópicas das amostras de vidros e vitrocerâmicas obtidas.....	61

Figura 18. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (5Kx) das amostras de vidros (a, b), vitrocerâmicas sem ataque ácido (b, e) e vitrocerâmicas com ataque ácido (c, f) .....	62
Figura 19. Curva do DTA dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg indicando as regiões de Tg, Tc e Tf.....	63
Figura 20. Difratoogramas de raios-X obtidos para as amostras de vidros: V-PCNSr e V-PCNSrMg.....	66
Figura 21. Difratoogramas de raios-X obtidos para as amostras de vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PNSrMg.....	67
Figura 22. Espectros Raman obtidos para os vidros V-PCNSr, V-PCNSrMg e vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg.....	68
Figura 23. Variação de perda de massa em função do tempo de degradação para os vidros e vitrocerâmicas.....	70
Figura 24. Imagens de MEV (0,5Kx) após o teste de dissolução nos períodos de 7 a 42 dias para os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg.....	72
Figura 25. Imagens de MEV (2Kx) após o teste de dissolução nos períodos de 7 a 42 dias para as vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg.....	73
Figura 26. Difratoogramas obtidos para as amostras de vitro cerâmicas VC-PCNSr após a dissolução.....	74
Figura 27. Difratoogramas obtidos para as amostras de vitro cerâmicas VC-PNSrMg pós dissolução.....	75
Figura 28. Valores de dureza (GPa) dos vidros e vitrocerâmicas medidos por indentação Vickers (* indica uma diferença estatisticamente significante, $p < 0,05$ ) .....	76
Figura 29. Valores de módulo de elasticidade (GPa) medidos por nanoindentação (* indica uma diferença estatisticamente significante, $p < 0,05$ ) .....	77
Figura 30. Valores de tenacidade à fratura ( $\text{MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ ) medidos por indentação Vickers (* $p < 0,05$ ) .....	80
Figura 31. Propriedades mecânicas pós teste de dissolução para os vidros: a) dureza (GPa), b) módulo de elasticidade (GPa), c) tenacidade a fratura ( $\text{MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ ) .....	84
Figura 30. Imagens da solução e amostra após 21 dias de teste de dissolução.....	85
Figura 31. Viabilidade celular analisada à partir da porcentagem de alamarBlue <sup>TM</sup> reduzido após 1, 4 e 7 dias de cultivo dos fibroblastos em presença dos extratos de vidros e da vitrocerâmicas. *** $p < 0.001$ .....	86
Figura 32. Imagens de MEV após ensaio de alamarBlue <sup>TM</sup> para os vidros nos períodos de 1, 4 e 7 dias.....	86

Figura 33. Imagens de MEV após ensaio de alamarBlue™ para as vitrocerâmicas nos períodos de 1, 4 e 7 dias.....	87
Figura 34. Viabilidade celular analisada à partir da porcentagem de alamarBlue™ reduzido após 4 e 7 dias de cultivo de células (ADSC) na superfície dos vidros e vitrocerâmicas. (**) para $p < 0,01$ ; e (***) para $p < 0,001$ .....	88
Figura 35. Quantidade de Fosfatase Alcalina nas superfícies dos vidros e vitrocerâmica, durante a semana 1 e semana 3 da diferenciação celular. Diferença estatística representada por (*) $p < 0,05$ .....	89

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de usos comerciais de biovidros.....	23
Tabela 2. Relação do coeficiente de Avrami (n) e a morfologia dos cristais .....	33
Tabela 3. Mecanismo de formação da camada de HCA na superfície de um biomaterial.....	36
Tabela 4. Composições típicas de vidros e vitrocerâmicos bioativos comercializados .....	37
Tabela 5. Efeito dos íons no metabolismo ósseo humano e na angiogênese.....	40
Tabela 6. Valores típicos das propriedades mecânicas de vidros bioativos e dos ossos .....	43
Tabela 7. Nomenclatura definida, composição (% mol), quantidade (gramas) dos óxidos necessários para preparar 50 gramas de vidro.....	48
Tabela 8. Temperaturas e tempos que foram realizados os testes para definição do tratamento térmico dos vidros.....	52
Tabela 9. Temperaturas e tempos de nucleação e crescimento dos cristais, utilizadas para a cristalização das amostras de vidros.....	53
Tabela 10. Composição calculada (A) e experimental (B) (% em peso do óxido) para os vidros analisados.....	64
Tabela 11. Temperaturas características das amostras vítreas obtidas.....	66
Tabela 12. Valor médio das variações de perda de massa para os vidros ensaiados após período de imersão.....	72
Tabela 13. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura dos vidros e vitrocerâmicos analisados.....	81
Tabela 14. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura do vidro V-PCNSr analisado pós dissolução.....	82
Tabela 15. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura do vidro V-PCNSrMg analisado pós dissolução.....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

$\text{Al}_2\text{O}_3$	Óxido de alumínio
A-W	Apatita –Wolastonita
c	Comprimento da trinca radial após indentação
$\text{Ca}^{2+}$	Cálcio
CaO	Óxido de cálcio
d	Comprimento da trinca radial após indentação
EDS	Espectroscopia de energia dispersiva
E	Módulo de elasticidade
$\text{Fe}_2\text{O}_3$	Óxido de ferro
g	Gramas
HAP	Hidroxiapatita
HCl	Ácido clorídrico
$\text{K}^+$	Potássio
$\text{K}_2\text{O}$	Óxido de potássio
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
$\text{Mg}^{2+}$	Magnésio
MgO	Óxido de magnésio
$\text{Na}^+$	Sódio
$\text{Na}_2\text{O}$	Óxido de sódio
P	Carga aplicada
Pf	Peso final da amostra
PLGA	Poli (Ácido Láctico-Glicólico)
Pi	Peso inicial da amostra
PLA	Poli (ácido láctico)
$\text{P}_2\text{O}_5$	Pentóxido de fósforo
$\text{PO}_4$	Tetraedro de fósforo
$\text{Q}_0$	Tetraedro não ligado
$\text{Q}_1$	Tetraedro com uma ligação
$\text{Q}_2$	Tetraedro com duas ligações
$\text{Q}_3$	Tetraedro com três ligações
SBF	<i>Simulated body fluid</i>
SiC	Carbeto de silício

SiO <sub>2</sub>	Óxido de estrôncio
SiO <sub>4</sub>	Tetraedro de silica
Sr <sup>2+</sup>	Estrôncio
TCP	Fosfato tricálcico
T <sub>f</sub>	Temperatura de fusão
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea
TiO <sub>2</sub>	Óxido de titânio
ZrO <sub>2</sub>	Óxido de zircônia

## Sumário

1 INTRODUÇÃO.....	14
1.2 OBJETIVOS.....	16
<b>1.2.1 Objetivo Geral.....</b>	<b>16</b>
<b>1.2.2 Objetivos Específicos.....</b>	<b>16</b>
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1 VIDROS.....	17
<b>2.1.1 Elementos constituintes dos vidros.....</b>	<b>19</b>
2.2 BIOVIDROS.....	20
2.3 VIDROS À BASE DE FOSFATO (PBG) E SUAS APLICAÇÕES.....	22
<b>2.3.1 Estrutura dos vidros fosfatos.....</b>	<b>22</b>
2.4 VITROCERÂMICAS.....	25
<b>2.4.1 História e aplicações.....</b>	<b>25</b>
2.5 CRISTALIZAÇÃO DE VIDROS.....	25
<b>2.5.1 Nucleação.....</b>	<b>26</b>
<b>2.5.2 Crescimento dos cristais.....</b>	<b>27</b>
2.6 CINÉTICA DE CRISTALIZAÇÃO.....	29
2.7 VITROCERÂMICAS BIOATIVAS E SUA APLICAÇÕES.....	33
2.8 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÓXIDOS NOS VIDROS FOSFATOS.....	37
2.9 PROPRIEDADES DOS VIDROS E VITROCERÂMICOS À BASE DE FOSFATOS..	39
<b>2.9.1 Dissolução.....</b>	<b>39</b>
<b>2.9.2 Propriedades mecânicas.....</b>	<b>41</b>
<b>2.9.3 Bioatividade.....</b>	<b>43</b>
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE VIDRO.....	45
3.2 CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA.....	50
3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FASES CRISTALINAS.....	52
3.4 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	52
3.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	52
<b>3.5.1 Caracterização da microestrutura por espectroscopia raman.....</b>	<b>52</b>
3.6 CARACTERIZAÇÃO DA TAXA DE DISSOLUÇÃO.....	53
3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS.....	53
<b>3.7.1 Dureza e módulo de elasticidade.....</b>	<b>53</b>
<b>3.7.2 Tenacidade à fratura por indentação (K<sub>c</sub>).....</b>	<b>54</b>

3.8 AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE <i>IN VITRO</i> .....	56
<b>3.8.1 Preparação e esterilização das amostras .....</b>	<b>56</b>
<b>3.8.2 Análise da bioatividade dos produtos da dissolução .....</b>	<b>56</b>
<b>3.8.3 Análise da bioatividade superficial .....</b>	<b>58</b>
<b>3.8.4 Análise estatística.....</b>	<b>59</b>
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	60
4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS .....	60
4.2 ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL.....	62
4.3 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL .....	63
4.4 ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	65
4.5 TAXA DE DISSOLUÇÃO .....	67
4.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS VIDROS E VITROCERÂMICAS.....	74
4.7 BIOATIVIDADE DOS VIDROS E VITROCERÂMICAS .....	82
<b>4.7.1 Teste de bioatividade a partir da análise dos produtos da dissolução.....</b>	<b>82</b>
<b>4.7.2 Teste de bioatividade a partir da análise das superfícies.....</b>	<b>85</b>
5 CONCLUSÕES .....	88
6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	89
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	90

## 1 INTRODUÇÃO

O aumento na expectativa de vida da população mundial decorrente dos avanços tecnológicos da medicina, causa um aumento na incidência de fraturas em idosos, principalmente devido à osteoporose e a perda de massa óssea (Kawachi, et al., 2000). Nas últimas décadas ocorreu um aumento nos estudos sobre biomateriais, para que possam substituir de maneira apropriada a parte danificada em resposta ao alto número de problemas de estrutura óssea, originados por processos inflamatórios, acidentes ou osteoporose (Jones, 2015, Ratner et al., 2012).

Em novembro de 1982, foi definido durante a *National Institute of Health Consensus Development Conference* que um biomaterial é “qualquer substância (que não seja um medicamento) ou a combinação de substâncias, sintéticas ou naturais, que podem ser usadas durante qualquer período de tempo, integralmente ou como parte de um sistema que trata, melhora, ou substitui qualquer tecido, órgão, ou função do corpo” (Williams, 1987). Além disso, os biomateriais devem atender às exigências de biocompatibilidade, geralmente definida pela norma ISO 10993, ser atóxico, não trombogênico, não carcinogênico, não antigênico, e não mutagênico (Helmus et al., 2008, Ratner et al., 2012).

Em função do tipo de resposta dada pelo tecido em contato com o material, os biomateriais podem ser classificados em cinco diferentes classes, como: biotóxico, biotolerável, biocompatível, bioativo e bioabsorvível (Jones, 2015; Hench, 1998):

- a) Biotóxico: ocorrem mudanças patológicas ou rejeição do tecido próximo ao material resultante de processos químicos e galvânicos. Exemplos: certas ligas de Cádmiu, aços carbono, carbonetos, metil metacrilato.
- b) Biotolerável: convivência com o material sem alteração perceptível, formação de tecido fibroso entre o material e o tecido. Exemplos: aços inoxidáveis.
- c) Biocompatível: aceitação pelo organismo do material, sem resposta adversa do corpo. Exemplos: titânio, óxido de alumínio e de zircônia.
- d) Bioativo: induz a formação de ligações bioquímicas das células com a superfície do material. Exemplos: hidroxiapatita, fosfato tricálcico, certos biovidros.
- e) Bioabsorvível: dissolução gradual do material pelo organismo, sem toxicidade e rejeição. Exemplos: fosfato tricálcico, hidroxiapatita porosa, certos biovidros, PLA (ácido polilático), PLGA (poli (ácido láctico-glicólico) e ligas de magnésio.

Os biomateriais bioabsorvíveis despertam grande interesse devido à sua habilidade de serem absorvidos gradualmente pelo corpo (Wang & Yeung, 2017). A propriedade de degradação no ambiente biológico torna esses materiais particularmente apropriados para aplicações que são temporárias por natureza, evitando assim uma segunda cirurgia para sua remoção (Pietrzak et al., 1996). Além disso, os materiais bioabsorvíveis podem ser impregnados com medicamentos, e servem como sistemas de liberação controlada desses medicamentos (Tuil e Guerts, 2011).

Dentre os materiais cerâmicos, os biovidros são uma importante classe de biomateriais. Embora os biovidros à base de sílica tenham mostrado excelentes resultados clínicos em muitas aplicações dentárias e ortopédicas, sua insolubilidade faz com que sejam indicados para dispositivos com uso por um longo prazo. Além disso, a reação da sílica com o tecido circundante ainda é desconhecida (Franks et al., 2000, Abou Neel et al., 2007, Abou Neel et al., 2008/A, Crovace et al., 2016).

Consequentemente, vidros à base de fosfato de cálcio, sem sílica, tem atraído muito interesse devido às suas propriedades físico-químicas. Eles possuem uma taxa de dissolução mais controlada que os vidros contendo sílica, são mais simples e mais fáceis de serem produzidos, bioativos, osteocondutores, e bioabsorvíveis devido à sua habilidade de se dissolver completamente em um ambiente aquoso (Dubok, 2000 ; Elbatal et al., 2009, Kalita et al., 2007).

A desvantagem desses vidros está relacionada às suas propriedades mecânicas, e consequentemente, não são usados em aplicações onde há uma exigência de sustentação de carga, como por exemplo pinos de fixação de fratura. Alguns estudos mostraram que a cristalização controlada dos vidros fosfatos de cálcio melhora suas propriedades mecânicas, porém compromete as propriedades de dissolução (Kasuga et al. 2007 e 2009).

Materiais vitrocerâmicos são materiais policristalinos obtidos através da cristalização controlada de vidros (McMillan, 1979). A cristalização é um tratamento térmico complexo que depende de parâmetros cinéticos e termodinâmicos, como coeficiente de difusão, volume molar, energia livre e energia interfacial entre a fase cristalina e a fase vítrea (Granasy, 1993). Geralmente é classificada como cristalização superficial ou volumétrica, dependendo se a fase cristalina cresce a partir da superfície ou de núcleos dentro do volume. No entanto, estes dois processos ocorrem simultaneamente e competitivamente, mas um deles será dominante e definirá o processo de cristalização. Diversos métodos utilizando análise térmica são apresentados na literatura para determinar o mecanismo dominante e os parâmetros cinéticos de cristalização (Ottoboni, 2009).

A partir da composição do vidro base e do tratamento térmico adotado, é possível obter um material vitrocerâmico com diferentes microestruturas, livre de poros e trincas, com porcentagens diferentes de fases cristalinas, microestrutura com cristais de diferentes formatos, gerando uma ampla gama de aplicações, como nas biomédicas (Topalovic et al., 2017).

Neste trabalho foi escolhido o vidro do sistema  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO, com e sem adição de óxido de magnésio, cuja função é o controle da taxa de dissolução. Em um estudo anterior (Weiss et al., 2014) analisou-se a estrutura vítrea do material, suas propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidade e tenacidade à fratura), sua taxa de dissolução e sua bioatividade através da nucleação de hidroxiapatita.

Esta tese aborda o efeito da cristalização sobre as propriedades mecânicas, bem como a análise da evolução das propriedades mecânicas com o processo de dissolução. A bioatividade dos vidros fosfatos também é analisada através do cultivo *in vitro* de células.

## 1.2 OBJETIVOS

### 1.2.1 Objetivo Geral

O objetivo deste trabalho é avaliar o efeito da cristalização e da adição de MgO nos vidros do sistema  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO-MgO, nas propriedades mecânicas, químicas e de bioatividade, para aplicações biomédicas.

### 1.2.2 Objetivos Específicos

Os objetivos específicos são:

1. Verificar as alterações estruturais realizadas pela adição do MgO nos vidros fosfatos.
2. Verificar o efeito da cristalização na taxa de dissolução dos vidros e vitrocerâmicas.
3. Verificar o efeito da adição de MgO na taxa de dissolução dos vidros e vitrocerâmicas.
4. Verificar o efeito da cristalização nas propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura) dos vidros e vitrocerâmicas.
5. Verificar o efeito da adição de MgO nas propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura) dos vidros e vitrocerâmicas.
6. Verificar o efeito da cristalização no comportamento biológico dos vidros e vitrocerâmicas.
7. Verificar o efeito da adição de MgO no comportamento biológico dos vidros e vitrocerâmicas.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo será apresentada uma revisão bibliográfica sobre os conceitos de estrutura de materiais vítreos e materiais cristalinos, biovidros fosfatos de cálcio e suas propriedades (dissolução, tenacidade à fratura e bioatividade) e os efeitos das adições do óxido de magnésio nas propriedades dos vidros e vitro cerâmicos.

### 2.1 VIDROS

Existem várias definições de vidros, mas para que um material seja considerado vidro, ele deve ser um sólido amorfo completamente desprovido de estrutura atômica de longo alcance e periódica, e exibir uma região de transição vítrea (Muller et al., 1993; Shelby, 1997).

De acordo com a teoria estrutural de Zachariasen (1932), o arranjo atômico dos vidros é caracterizado por uma rede tridimensional que apresenta ausência de simetria e periodicidade, conforme a figura 1 (b). A figura 1(a) ilustra a representação esquemática para um óxido cristalino.

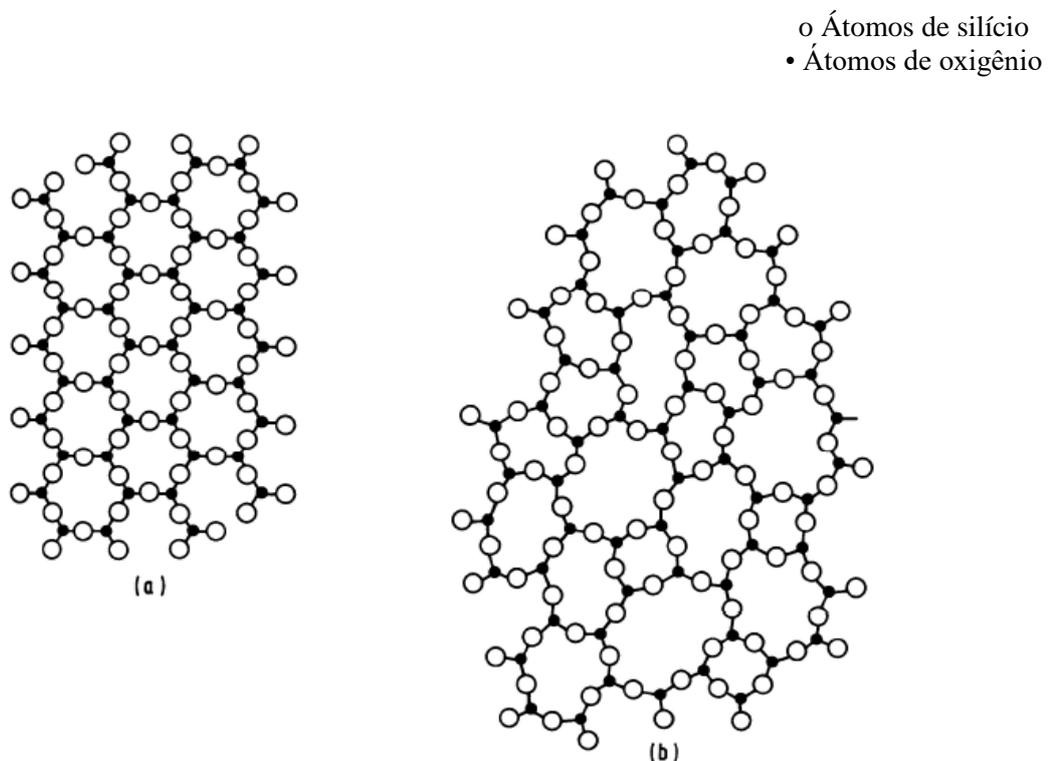


Figura 36. Representação esquemática bidimensional da estrutura de: (a) um composto cristalino; (b) a forma vítrea do mesmo composto.

Fonte: Adaptado de Zachariansen, 1932.

Materiais vítreos podem ser obtidos tanto por processos físicos quanto químicos. Usualmente o método de fusão e resfriamento rápido é utilizado, onde uma mistura de reagentes é fundida, normalmente em altas temperaturas, seguido de um resfriamento térmico rápido para obtenção do material amorfo.

Com base na análise do gráfico que relaciona o efeito da temperatura no volume específico durante a formação de um vidro fundido, conforme figura 2, é possível perceber que à medida que a temperatura diminui, ocorre uma redução no volume específico até a temperatura de fusão ( $T_f$ ). A partir de  $T_f$  existem duas maneiras possíveis de continuar o processo:

- (a) ocorre a cristalização e aparece uma descontinuidade na curva;
- (b) a cristalização é evitada e o líquido passa para um estado de super-resfriado.

No caso (a), após terminar a cristalização, a inclinação da curva se torna menor enquanto o sólido se contrai novamente. Se o líquido se transformar em um vidro, abaixo de  $T_f$  não há evidência de mudança no coeficiente de contração do líquido super-resfriado comparado ao líquido original.

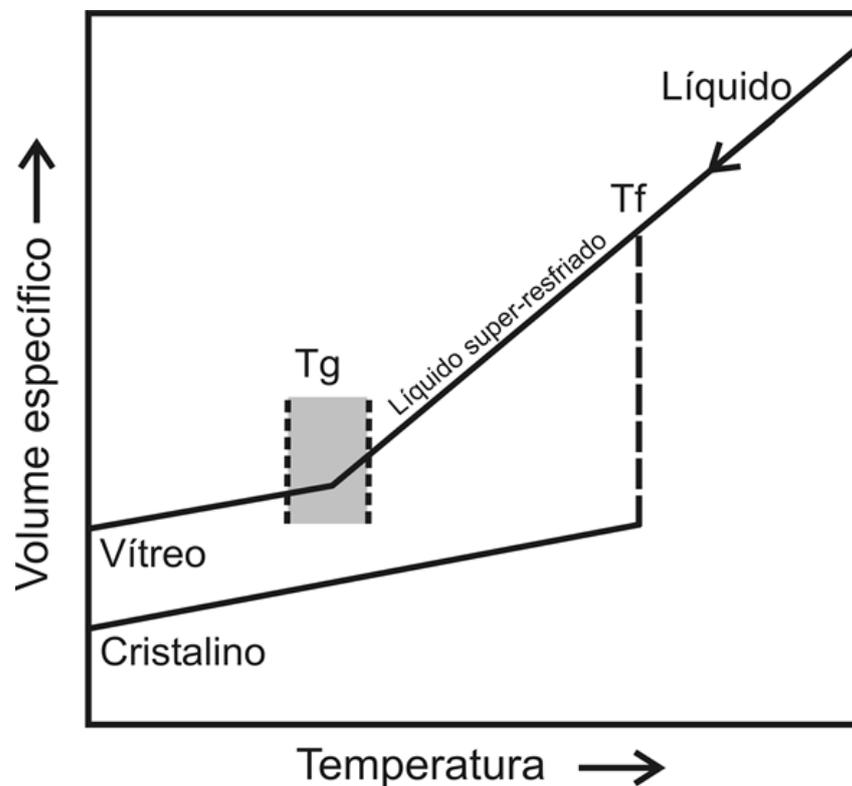


Figura 37. Efeito da temperatura no volume específico durante a formação de um vidro fundido.

Fonte: Adaptado de Höland e Beall (2002).

Após a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), a inclinação da curva se torna similar à do sólido cristalino. Esta temperatura marca a transição do líquido super-resfriado para o estado vítreo, que é uma função da taxa de resfriamento, dessa maneira é um intervalo de transição, onde os limites desse intervalo são identificados pela maior e menor taxa de resfriamento usada para determinar  $T_g$  (Zanotto, 1992; Avramov et al., 2003; e Warren e Biscop, 1938).

### 2.1.1 Elementos constituintes dos vidros

A estrutura vítrea é classificada em três categorias de óxidos constituintes: formadores, modificadores e intermediários.

Os formadores de rede são elementos que sozinhos são capazes de formar uma rede tridimensional, que é a estrutura básica do vidro. Exemplos são:  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{GeO}_2$ ,  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ ,  $\text{As}_2\text{O}_3$ ,  $\text{V}_2\text{O}_5$ .

Os modificadores de rede são óxidos que não participam da formação da rede e tendem a quebrá-la, como os óxidos de metais alcalinos e alcalinos terrosos. Esses óxidos quando adicionados quebram a ligação do oxigênio, podendo alterar propriedades físicas e químicas dos vidros. Exemplos são:  $\text{Li}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{K}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{BaO}$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{SrO}_2$ .

Os elementos intermediários podem atuar tanto quanto formadores como modificadores, pois mesmo não formando estruturas vítreas quando presente isoladamente, pode entrar na rede vítrea e substituir um formador de rede. Exemplo são:  $\text{B}_2\text{O}_3$ ,  $\text{PbO}$ ,  $\text{ZnO}$ ,  $\text{CdO}$ ,  $\text{TiO}_2$  (Coleman & Nicholson, 2006).

Na Figura 3 tem-se a representação do efeito da adição do modificador de rede  $\text{Na}^+$  na rede primitiva de  $\text{SiO}_2$ , e também a existência dos oxigênios ligantes ( $\text{BrO}$  – *bridging oxygens*), onde um oxigênio é ligado a dois silícios; e dos oxigênios não-ligantes ( $\text{NBrO}$  – *non-bridging oxygens*), onde um oxigênio é ligado a um silício.

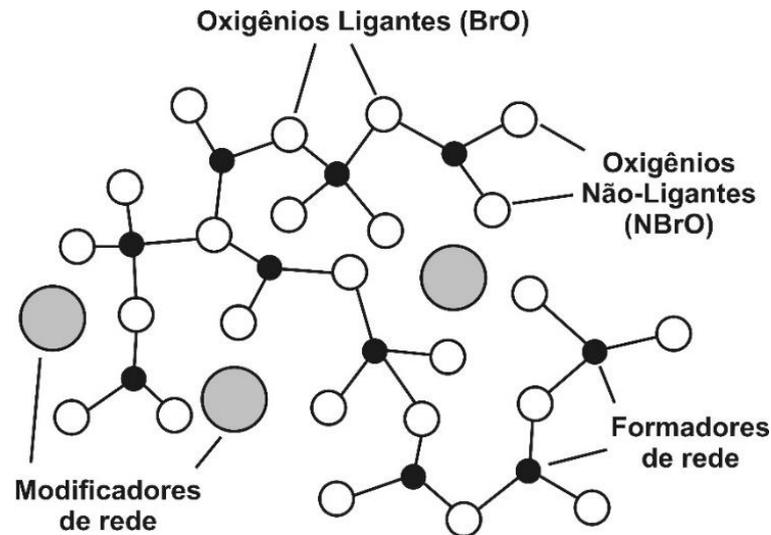


Figura 38. Representação esquemática de um vidro silicato de sódio.  
Fonte: Coleman & Nicholson, 2006.

## 2.2 BIOVIDROS

Os biovidros são uma importante classe de biomateriais que surgiram na década de 60 com estudos realizados por Larry Hench a pedidos do governo norte-americano, devido ao grande número de amputações ocorridas pela Guerra do Vietnã (Best et al., 2009). No início dos anos 70 foi definida a composição (% peso) do biovidro 45S5 (45%  $\text{SiO}_2$ , 24,5%  $\text{CaO}$ , 24,5%  $\text{Na}_2\text{O}$  e 6%  $\text{P}_2\text{O}_5$ ), conhecido como Bioglass®, e que atualmente é o vidro mais conhecido e comercializado em aplicações biomédicas.

A partir dessa composição, foram realizados vários estudos, sendo definido um índice de bioatividade e duas classes de materiais bioativos. A classe A são aqueles materiais que levam tanto à osteocondução (o implante apresenta compatibilidade biológica que permite a migração do tecido ósseo ao longo da interface osso-implante) e à osteoprodução (o implante estimula a produção de tecido ósseo na interface osso-implante). Na classe B ocorre apenas a osteocondução (Best et al., 2009).

O biovidro com a composição 45S5 tem sido usado como referência e demonstra sucesso nas aplicações clínicas, especialmente na área dental e ortopédica. No entanto, há algumas limitações como o efeito a longo prazo da sílica e a lenta degradação do biovidro (em torno de 1 a 2 anos para desaparecer do corpo humano), que levam à continuidade de pesquisas de novos materiais para aplicações biomédicas (Knowles et al., 2001). Outros estudos mostram que a sílica reduz a taxa de bioabsorção, ocasionando uma reação local não muito conhecida, levando a preocupações sobre o uso *in vivo* a longo prazo (Skelton et al., 2007).

Os biovidros e as biocerâmicas marcaram a segunda geração de desenvolvimento dos biomateriais, a evolução histórica dos biomateriais pode ser definida em quatro gerações. Na primeira geração (1960 e 1970) foi desenvolvido materiais bioinertes, com estudos focados para as propriedades mecânicas dos biomateriais. A segunda geração (1980) foi marcada pelo desenvolvimento de materiais bioativos e bioabsorvíveis, na qual se destacam os biovidros e as biocerâmicas. A terceira geração (1990) se destaca pelo desenvolvimento de biomateriais com boa dissolução e adsorção pelos tecidos ósseos, com o objetivo de promover a formação natural do tecido (Hench, 1998). Vidros e vitrocerâmicas bioativas se encontram nessa geração (Crovace, et al., 2016).

A partir do pioneiro 45S5, muitos outros vidros bioativos foram desenvolvidos (Tabela 1) conforme apresentados a seguir.

Tabela 16. Exemplos de usos comerciais de biovidros. Fonte: Baino, 2018.

Vidro	Produto
45S5	<p><b>NovaBone</b>: pasta injetável dentro de ossos e dentes</p> <p><b>NovaBone</b>: (partículas 90-710 µm) para uso ortopédico</p> <p><b>NovaBone</b>: Blocos porosos</p> <p><b>Perioglass</b>: (partículas 90-710 µm) para reparo do osso da mandíbula</p> <p><b>Biogran</b> (partículas 300-360 µm)</p> <p><b>NovaMin</b>: partículas e <b>BioMin</b> para prevenção da hipersensibilidade dental e remineralização dos esmaltes dos dentes</p>
S53P4	<b>BoneAlive</b> : partículas e placas personalizadas para reparo de fraturas de orbital
13-93	Implantes, fibras, discos, granulados e pó para reparo de osso
S55F5	Implantes, fibras, discos, granulados e pó
70S30C	Pó (sol-gel) para reparo de osso
Y <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> .Si <sub>2</sub> O	<b>(TheraSphere)</b> Micro esferas (20 ou 30 µm) para tratamento de câncer do fígado combinado com radioterapia.

## 2.3 VIDROS À BASE DE FOSFATO (PBG) E SUAS APLICAÇÕES

Vidros à base de fosfatos (*PBG – Phosphate Based Glass*) foram desenvolvidos para aplicações biomédicas por Burnie e Gilchrist (1981) na década de 80 e, segundo Skelton et al. (2007) e Knowles et al. (2001), esses vidros representam uma opção promissora como biomateriais devido à característica da bioabsorção. Com a adição de elementos modificadores de rede, como  $\text{Ca}^{2+}$  (cálcio),  $\text{Na}^+$  (sódio),  $\text{Mg}^{2+}$  (magnésio),  $\text{Sr}^{2+}$  (estrôncio) e  $\text{K}^+$  (potássio), é possível alterar a estrutura do vidro, a rede de fosfato, e consequentemente alterar as propriedades físico-químicas desses vidros.

Além disso, os vidros fosfatos de cálcio são possíveis candidatos a serem utilizados como biomateriais de reparo e regeneração óssea, pois o cálcio e o fósforo são os dois elementos principais do tecido ósseo, além de outros íons que podem estar presentes como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{F}^-$  (Zhang et al., 2011).

### 2.3.1 Estrutura dos vidros fosfatos

Vidros fosfatos consistem de uma estrutura tetraédrica regular baseada nos grupos  $\text{PO}_4$  (tetraedros de fosfatos – formadores de rede). A terminologia geralmente usada é o  $Q_n$ , sendo  $n$  representado pelo número de oxigênios ligados no tetraedro (Abou Neel, 2008/B).

A estrutura dos vidros fosfatos, pode ser classificada em função da unidade estrutural básica, que está relacionada com a configuração dos átomos de fósforo e oxigênio (Hoppe, 1996, Brow, 2000), conforme Figura 4 e pela quantidade de fosfato:

- ultrafosfatos: contém mais de 50% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , unidades com duplas ligações ( $Q_2$ ) e com três ligações ( $Q_3$ ). Estruturas  $Q_3$  tem três BrO e um NBrO por tetraedro de fosfato;
- polifosfatos: contém menos de 50% de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , unidades com uma única ligação ( $Q_1$ ) e duplas ligações ( $Q_2$ );
- metafosfatos: contém 50% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e unidades com duplas ligações ( $Q_2$ );
- pirofosfatos: contém 33% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e unidades com uma única ligação ( $Q_1$ );
- ortofosfatos: contém menos de 25% de  $\text{P}_2\text{O}_5$  e unidades não ligadas de  $\text{PO}_4$  ( $Q_0$ ).

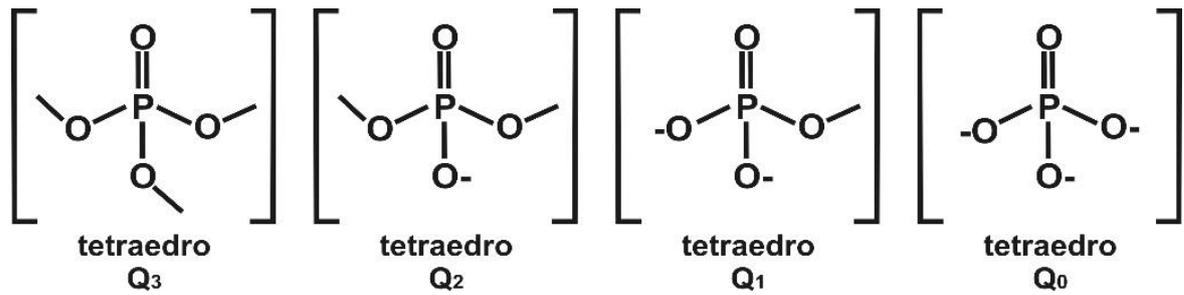


Figura 39. Nomenclatura e representação do tetraedro PO<sub>4</sub> com diferentes estruturas.  
Fonte: Brow, 2000.

O tetraedro básico de fosfatos forma longas cadeias e anéis que criam uma rede vítrea tridimensional. Essa pode ser interrompida por certos cátions, gerando oxigênios não-ligantes na estrutura do vidro. Certos íons modificadores podem criar ligações cruzadas entre os oxigênios não-ligantes de duas diferentes cadeias, dessa maneira reforçando a rede vítrea (Omrani, et al., 2015, Devi, et al., 2010).

Quando a estrutura de um vidro silicato é comparada com vidro fosfato (Figura 5) são observadas algumas semelhanças. Por exemplo, a forte afinidade do silício pelo oxigênio também ocorre entre o fósforo e o oxigênio. Porém, a unidade PO<sub>4</sub> é diferente da SiO<sub>4</sub> (tetraedros silicatos). Os tetraedros SiO<sub>4</sub> formam uma rede e podem compartilhar todos os quatro átomos de oxigênio. No caso do P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> os átomos de oxigênio que não são compartilhados, formam uma ligação dupla (Brow, 2000).

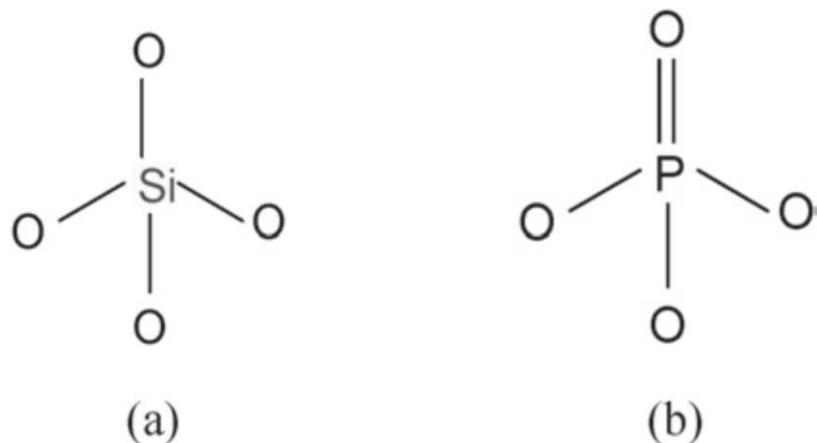


Figura 40. Tetraedro de silicato (a) e fosfato (b).  
Fonte: Abou Neel et al., 2008/A

Em comparação aos vidros silicatos, os vidros fosfatos são instáveis quimicamente, e a adição de óxidos metálicos melhora essa estabilidade. Os vidros fosfatos possuem propriedades únicas de dissolução em meio aquoso com taxas de degradação que variam de horas a alguns meses, em função da composição do vidro e da aplicação pretendida (Dias et al. 2003 e 2005; Vitale-Brovarone et al., 2011).

Com a adição de dopantes modificadores de rede, tais como  $\text{Na}_2\text{O}$  (óxido de sódio),  $\text{K}_2\text{O}$  (óxido de potássio),  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  (óxido de ferro),  $\text{Al}_2\text{O}_3$  (óxido de alumínio),  $\text{TiO}_2$  (óxido de titânio),  $\text{MgO}$  (óxido de magnésio) e  $\text{CaO}$  (óxido de cálcio), é possível controlar a taxa de degradação através da criação de oxigênios não-ligantes (NBrO) que resultam na despolimerização da rede de fosfato, e além disso, induzir uma resposta biológica específica e melhorar a biocompatibilidade (Knowles, 2001; Abou Neel, et al., 2005; Omrani, et al., 2015).

Os vidros fosfatos são fortes candidatos à diversas aplicações, devido a facilidade de fabricação, com temperaturas de trabalho relativamente baixas. A partir dos vidros fosfatos é possível produzir diferentes formas, como discos, microtubos, microesferas e fibras. Tais, formas ganharam interesse pela área de biomateriais, devido a similaridade da composição química dos vidros fosfatos a fase mineral do osso, pela capacidade de absorção em fluido coporal, boa biocompatibilidade e não citotoxicidade (Intawin et al., 2018). Estudos realizados por Frank et al. (2001), mostram que vidros fosfatos com 45% (mol) de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , são facilmente fundidos e apresentam bons resultados de biocompatibilidade in vitro (Thonglem et al., 2013).

Em estudo prévio (Weiss et al., 2014) mostramos que a adição de estrôncio no vidro fosfato aumentou a taxa de dissolução, mas com a adição de  $\text{MgO}$  e  $\text{TiO}_2$ , essa taxa pode ser controlada. Com a adição de  $\text{MgO}$ , a taxa de dissolução diminui, pois esse age como um elemento modificador de rede, já o  $\text{TiO}_2$  quando adicionado gerou uma diminuição maior ainda, pois esse age como um elemento intermediário, ou seja, ele age como elemento modificador, mas também como formador de rede.

## 2.4 VITROCERÂMICAS

### 2.4.1 História e aplicações

Vitrocerâmicas são materiais policristalinos obtidos pela cristalização controlada de materiais vítreos. Esses materiais são normalmente processados em duas etapas: a primeira etapa é a fusão e conformação do produto vítreo no formato desejado; e a segunda é a transformação do vidro num material policristalino (mono ou multifásico), através dos mecanismos de nucleação e crescimento dos cristais. O número de cristais, a taxa de crescimento e o tamanho dos cristais podem ser controlados pelo tempo e temperatura do tratamento térmico (McMillan, 1979, Deubener et al., 2018).

Uma tentativa inicial de obter um material vitrocerâmico foi feita por Reaumur, um químico, que descobriu que, se as garrafas de vidro fossem embaladas em uma mistura de areia e gesso, depois submetidos a calor intenso por vários dias, elas seriam transformadas em objetos opacos. No entanto, ele não conseguiu controlar a cristalização (Stokey, 1960).

Em 1959, aproximadamente 200 anos após a experiência de Reaumur, um pesquisador da empresa Corning Glass (Donald Stokey), realizava pesquisas com vidros fotocromáticos. Acidentalmente deixou um pedaço de dissilicato de lítio com partículas de prata precipitados no forno. Quando após certo tempo, percebeu que o vidro se tornou opaco, cristalizado totalmente, se transformando em um outro material. A partir disso, Stokey havia descoberto uma nova classe de materiais (Zanotto, 2010; Deubener et al., 2018).

Essa classe de materiais apresenta vantagens, pois em função da composição e dos tratamentos térmicos adotados é possível controlar a microestrutura com ausência de poros e trincas, obtendo propriedades interessantes como por exemplo, propriedades mecânicas, térmicas, químicas, dielétricas e biológicas que são geralmente superiores aos metais e polímeros em muitas aplicações (Serbena et al., 2015).

Atualmente é possível encontrar vitrocerâmicas em diferentes aplicações, como utensílios domésticos e aplicações biomédicas (Pernot, et al., 1993).

## 2.5 CRISTALIZAÇÃO DE VIDROS

A cristalização é um processo onde é obtida uma estrutura ordenada a partir de uma estrutura amorfa, menos ordenada. Em vidros, a cristalização envolve um tratamento térmico controlado, que pode ocorrer em uma ou duas etapas, a nucleação e o crescimento de cristais (McMillan, 1979).

O tratamento térmico é realizado em uma faixa de temperatura entre a temperatura de fusão e temperatura de transição vítrea do vidro, onde a viscosidade é suficientemente baixa para permitir o movimento atômico e, portanto, a cristalização (McMillan, 1979).

Na etapa de nucleação, surge uma nova fase, mais ordenada chamada de embrião. Estes embriões apresentam variações constantes no tamanho, são criados e dissolvidos conforme existam mudanças estruturais devido à agitação térmica. A partir de determinado tamanho crítico, os embriões não serão dissolvidos e formarão uma nova fase cristalina, o núcleo. A velocidade na qual esse processo ocorre é denominado taxa de nucleação (Höland, 2002).

Na etapa de crescimento de cristais, que pode ocorrer em outra temperatura, esses núcleos crescem. A quantidade e o tamanho dos cristais podem ser controlados pela taxa de nucleação e crescimento, respectivamente. Ou seja, se o tempo na temperatura de nucleação for controlado pode-se controlar o número de cristais, mas se o tempo de tratamento na temperatura de crescimento for controlado pode-se controlar o tamanho dos grãos cristalinos e a fração da fase cristalina (Muller et al., 2000).

### 2.5.1 Nucleação

A Teoria Clássica de Nucleação mostra que um material vítreo quando submetido a um tratamento térmico entre a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ) e a temperatura máxima de cristalização ( $T_c$ ), tende ao estado de menor energia, o estado cristalino (Shelby, 1997; Avramov et al., 2000).

A nucleação se inicia na matriz vítrea a partir de embriões que tenham a possibilidade de crescer, acima de um tamanho crítico, passando a um núcleo estável. Para um embrião esférico de raio  $r$ , a variação da energia livre ( $\Delta G$ ), é dada pela expressão 1:

$$\Delta G = -\left(\frac{4}{3}\right)\pi^3 \Delta G_V + 4\pi r^2 \sigma \quad (1)$$

Onde:

$\Delta G$  é a variação de energia livre

$\Delta G_V$  é a variação de energia pelo volume

$4\pi r^2$  é a energia superficial

$\sigma$  é a energia interface com a área.

Para a formação de um núcleo existem duas barreiras para serem vencidas, a termodinâmica e a cinética. A barreira termodinâmica ( $W^*$ ) envolve a mudança na energia livre do sistema quando um núcleo é formado e a barreira cinética ( $\Delta G_D$ ) envolve a necessidade do transporte da massa para o crescimento de uma nova fase, a partir de um líquido desordenado. A taxa de nucleação ( $I$ ) significa o número de núcleos por unidade de volume e por unidade de tempo, dado pela equação 2.

$$I = A \exp \left[ -\frac{(\Delta G_D + W^*)}{KT} \right] \quad (2)$$

Onde:

A é um fator pré-exponencial

$\Delta G_D$  é a barreira cinética (transporte de massa para crescer a nova fase)

$W^*$  é a barreira termodinâmica para nucleação (mudança de energia livre do sistema)

K é a constante de Boltzmann

T é a temperatura de nucleação

Portanto, a nucleação é um processo que leva à formação de núcleos. Existem dois tipos de nucleação:

- Homogênea: ocorre de forma aleatória, sem sítios preferenciais de crescimento e os núcleos tem a mesma composição química dos cristais formados.

- Heterogênea: ocorre a partir da presença de sítios ativos oriundos de impurezas e/ou defeitos presentes no material, preferencialmente através das interfaces vidro/sítios ativos.

## 2.5.2 Crescimento dos cristais

A etapa de crescimento dos cristais é dependente da formação dos núcleos. Após esses se formarem e ultrapassarem um raio crítico ( $r^*$ ), os cristais tenderão a crescer.

A taxa de crescimento dos cristais é dada pela equação 3:

$$U = a_0 v \exp \left( \frac{\Delta G'}{RT} \right) \left\{ 1 - \exp \frac{\Delta G}{RT} \right\} \quad (3)$$

Onde:

$a_0$  é a distância da separação interatômica

$\nu$  é a frequência vibracional

$\Delta G'$  é a barreira cinética

$\Delta G$  é a barreira termodinâmica

Segundo Fokin et al. (2005), existem três modelos utilizados para descrever o processo de crescimento de cristais, baseados no tipo de interface líquido-cristal. Que são: crescimento normal (ou contínuo), crescimento por discordâncias em espiral, crescimento por nucleação superficial.

O processo de cristalização pode ser controlado pelas taxas de nucleação (I) e crescimento (U), conforme mostrado na Figura 6. A taxa de nucleação (I) ocorre entre a temperatura  $T_1$  e  $T_3$ , e a taxa de crescimento dos cristais (U) ocorre entre a temperatura  $T_2$  e  $T_f$ . A partir da temperatura  $T_1$  a nucleação inicia até certo valor de temperatura, o crescimento dos cristais ocorre na região entre  $T_2$  e  $T_f$ , dessa maneira tem-se um tratamento duplo, onde a cristalização ocorre em duas etapas. Contudo, pode ser realizado em uma única etapa, entre  $T_2$  e  $T_3$ , em que a nucleação e o crescimento dos cristais ocorrem simultaneamente. A cristalização depende da maneira de como as curvas I e U se superpõem. Se a região entre o intervalo  $T_1$  e  $T_2$  for pequena, não ocorrerá a cristalização e o sistema permanece no estado vítreo. Se as taxas I e U forem grandes e houver superposição entre as curvas, haverá possivelmente uma cristalização completa. As curvas para I e U podem ser determinadas experimentalmente e por análise térmica como o DSC ou DTA (Araújo, 1998).

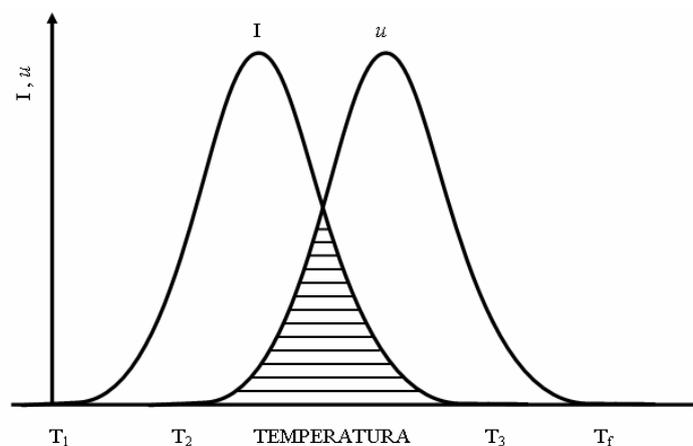


Figura 41. Taxa de nucleação (I) e crescimento de cristais (u) em função da temperatura.  
Fonte: Adaptado de Araújo, 1998.

A cristalização ocorre a partir de um tratamento térmico no material vítreo, onde o ciclo térmico pode ser em duas ou em uma etapa, como observado na figura 7. Ocorrendo primeiramente a nucleação numa dada temperatura por determinado tempo, após ocorre o crescimento dos cristais numa temperatura maior em um determinado tempo (Barsoum, 1997).

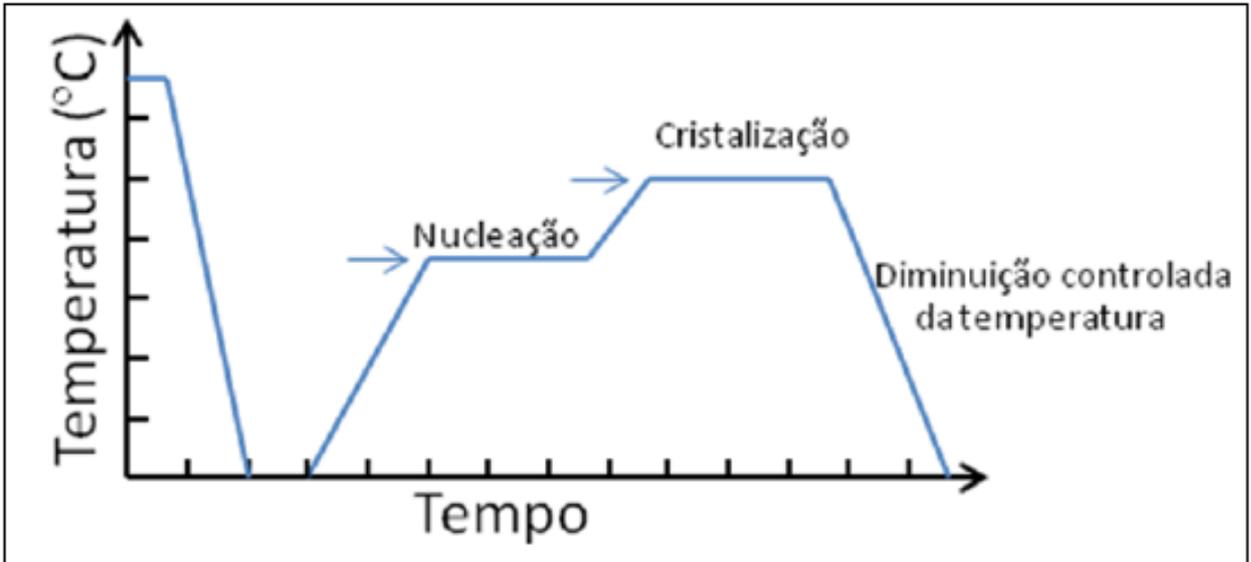


Figura 42. Ciclo de tratamento térmico em uma e em duas etapas, para a obtenção de uma vitrocerâmica.

Fonte: Adaptado de Mingarro et al., 1993.

A fração cristalina pode ser determinada por técnicas de análise térmica (DTA e DSC) ou por método experimental através da análise por microscopia óptica, onde é possível obter a taxa de nucleação (I) e de crescimento dos cristais (U) para um determinado vidro (Fokin, et al., 2010).

## 2.6 CINÉTICA DE CRISTALIZAÇÃO

A partir do estudo da cinética de cristalização é possível controlar a formação de novas fases cristalinas com composições e morfologias específicas. Esse estudo pode ocorrer através de métodos cinéticos desenvolvidos a partir da teoria proposta por Avrami (1939, 1940, 1941), utilizando dados gerados nas medidas de análise térmica (DTA ou DSC). Avrami definiu uma relação válida para situações isotérmicas, mas os estudos cinéticos feitos a partir de DTA/DSC são estudos não isotérmicos (Cheng, 1999).

Johnson, Mehl, Avrami e Kolmogorov (JMAK) desenvolveram um modelo para interpretar a cinética de cristalização a partir do crescimento de núcleos (Cabral et al., 2003). Este modelo cinético pode ser aplicado tanto em condições isotérmicas quanto em condições não isotérmicas (Leyliane e Cabral, 2014). A partir deste modelo sob condições isotérmicas, a fração cristalizada é escrita como uma função do tempo e possui a seguinte relação, conforme equação 5:

$$x(t) = 1 - e^{(-Kt)^n} \quad (5)$$

Onde:

x é a fração cristalizada;

t é o tempo;

n é o coeficiente de Avrami (descreve o mecanismo de cristalização e fornece informação qualitativa sobre a natureza dos processos de nucleação e crescimento dos cristais);

K: é uma constante cinética dependente da temperatura, expressa pela equação do tipo de Arrhenius), sendo expressa pela equação 6:

$$K = K_0 \exp\left(\frac{-E}{RT}\right) \quad (6)$$

Sendo que:

$K_0$  é o fator de frequência;

E é a energia de ativação (barreira energética a ser vencida para que a transformação ocorra);

R é a constante de gás ideal = 8,31 J/mol.K;

T é a temperatura.

O coeficiente K inclui a taxa de nucleação (I) e a taxa de crescimento (U), a relação da equação (5) com I e U é dada pela equação 6:

$$x(t) = 1 - \exp\left[-g \int_0^t I(t') \left[\int_{t'}^t U(t'') dt''\right] dt'\right] \quad (7)$$

Onde g é um parâmetro cujo valor está relacionado a forma do cristal formado, t' e t'' são os tempos relacionados a nucleação e ao crescimento dos cristais, respectivamente (Schmelzer, 2005).

Aplicando a primeira derivada da fração cristalizada (x) em função do tempo (t), e eliminando o tempo (t) através da equação 5, tem-se a equação para taxa de cristalização dada pela equação (8):

$$\frac{dx}{dt} = Kn (1 - x) [-\ln (1 - x)]^{\frac{n-1}{n}} \quad (8)$$

A validade da equação de JMAK é dada para seguintes situações:

- Condições isotérmicas de cristalização;
- Nucleação homogênea ou heterogênea, porém distribuída de forma aleatória;
- Velocidade de crescimento da nova fase, dependente da temperatura, mas independentemente do tempo.

É possível, a uma dada temperatura, determinar os valores de  $n$  e  $k$  por meio do gráfico de  $\ln[-\ln(1-x)]$  versus  $\ln t$ . As constantes serão, respectivamente, os coeficientes angular e linear da reta obtida. Para isso, aplica-se o logaritmo neperiano, a fim de obter a equação 9:

$$\ln [-\ln(1 - x)] = n \ln k + n \ln t \quad (9)$$

O coeficiente de Avrami pode ser relacionado com fatores que regem as velocidades das transformações de fases, tais como interface, difusão e geometria das partículas resultantes, além do mecanismo de cristalização e da morfologia dos cristais, conforme tabela 2.

Tabela 17. Relação do coeficiente de Avrami ( $n$ ) e a morfologia dos cristais. Fonte: Avrami, 1941.

Mecanismos de Cristalização		Constante de Avrami	Morfologia dos cristais
Esferas	Homogêneo	4	Tridimensional
	Heterogêneo	3	Tridimensional
Discos	Homogêneo	3	Bidimensional
	Heterogêneo	2	Bidimensional
Cilindros	Homogêneo	2	Unidimensional
	Heterogêneo	1	Unidimensional

A teoria de Avrami foi desenvolvida assumindo que os núcleos são distribuídos aleatoriamente pela matriz e a taxa de crescimento é dependente da temperatura sobre condições isotérmicas.

Para os métodos não isotérmicos, são utilizadas técnicas de análise térmica, como a análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria diferencial de varredura (DSC). Vários trabalhos indicam o uso dessa ferramenta no estudo da cinética de transformações de fases e de reações químicas. Para materiais vítreos, podem ser utilizadas para investigar a capacidade de um material formar vidro, a estabilidade para a cristalização, se a nucleação será volumétrica ou superficial. Vários artigos indicam o uso de curvas como uma ferramenta útil e simples para obter informações sobre a nucleação e o crescimento de cristais em matrizes vítreas (Fokin, et al. 2010; Marotta, et al. 1981; Ray 1997).

Na figura 8 é possível obter informações sobre os parâmetros de cristalização como: a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de início de cristalização ( $T_x$ ), temperatura de pico de cristalização ( $T_c$ ).

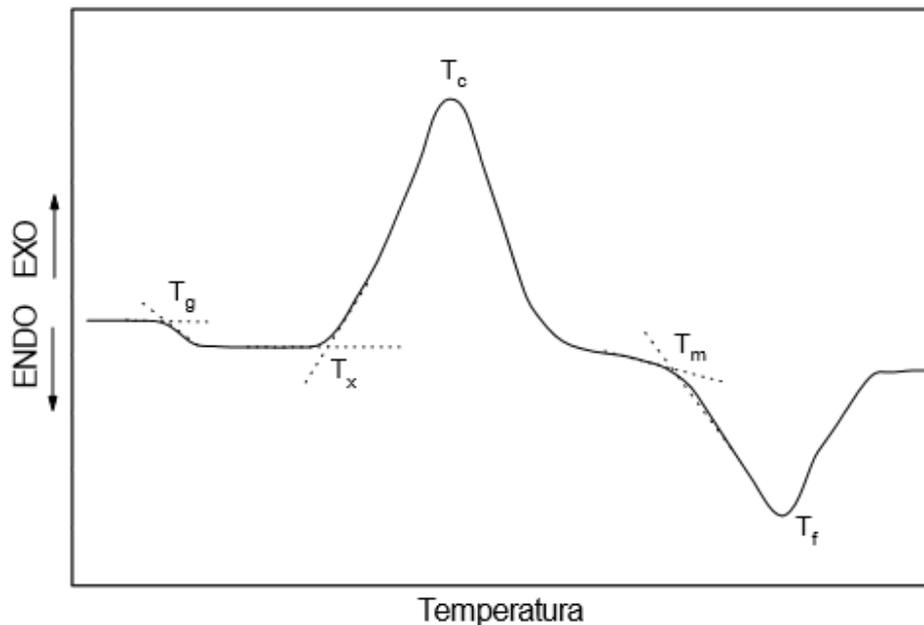


Figura 43. Curva esquemática de um sistema vítreo analisado por DTA, onde apresenta as seguintes temperaturas: temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), temperatura de início de cristalização ( $T_x$ ), temperatura de cristalização ( $T_c$ ), temperatura de início de fusão ( $T_m$ ) e temperatura de fusão ( $T_f$ ).

Fonte: Hruby, 1972.

A partir dos dados gerados nos ensaios de DTA é possível utilizar o método de Kissinger para estudar a cinética de cristalização em condições não isotérmicas (Kissinger, 1957). Este modelo permite calcular a energia de ativação para a cristalização, sendo a equação 10 a seguinte:

$$\ln\left(\frac{\beta}{T_c^2}\right) = -\frac{E}{RT_c} + C \quad (10)$$

Sendo que:

$\beta$  é a taxa de aquecimento;

$T_c$  é a temperatura de pico de cristalização;

$E$  é a energia de ativação

$C$  é uma constante, que representa:  $\ln(K_0.E/R)$

É possível obter a energia de ativação, pela inclinação da reta gerada pelo gráfico de  $\ln(\beta/T_c^2)$  versus  $1/T_c$ .

A partir do valor de energia de ativação ( $E$ ) obtido através do método de Kissinger e utilizando o modelo de Augis – Bennet (Augis et al., 1978) é possível determinar o valor do índice de Avrami ( $n$ ), que pode ser calculado a partir da equação 11:

$$n = \frac{2,5}{\Delta T} \cdot \frac{T_c^2}{\left(\frac{E}{R}\right)} \quad (11)$$

Sendo que:

$\Delta T$  é um intervalo de temperatura que corresponde a largura do pico de cristalização na metade da sua altura;

$E$  é a energia de ativação;

$R$  é a constante de Boltzman;

$n$  é o coeficiente de Avrami, para pico largo ( $\Delta T$  grande e  $n$  pequeno) tem-se uma cristalização superficial e um pico de cristalização estreito ( $\Delta T$  pequeno e  $n$  grande), implica numa cristalização volumétrica (Ray e Day, 1990).

Se o valor de  $n$  foi igual a 1, a cristalização é superficial, se os valores de  $n$  forem iguais ou próximos de 3, a cristalização é volumétrica. (Ray et al., 1997).

## 2.7 VITROCERÂMICAS BIOATIVAS E SUA APLICAÇÕES

As vitrocerâmicas bioativas são biomateriais desejáveis pela possibilidade de controlar as propriedades finais desejadas, a partir do controle das fases cristalinas e do tamanho dos cristais, em função de mudanças na composição e na estrutura do vidro base (Hench, 1991; Holand et al., 2002).

Materiais bioativos são aqueles capazes de formar uma resposta biológica entre o tecido e o implante, através de uma ligação química (osteointegração). Devido à similaridade química e estrutural entre os materiais bioativos e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam aos materiais, gerando a osteocondução por meio de recobrimento das células ósseas (Kokubo et al., 1990; Kokubo, 1992; Kokubo, 1998).

Um método de classificação de bioatividade de materiais de cerâmicos foi desenvolvido por Kokubo et al. (1990), através de uma solução de íons de composição similar à do plasma do sangue humano, conhecida como SBF (*simulated body fluid*). Após a imersão de amostras em SBF, se o material bioativo, ocorrerá a formação de uma camada de hidroxicarbonato de apatita (HCA) em sua superfície.

O mecanismo de formação da camada de HCA tem sido estudado *in vitro* e *in vivo*. Esse processo envolve cinco estágios (conforme tabela 3 e figura 9) e foi descrito no trabalho de Peitl et al. (2012). Para materiais com altos níveis de bioatividade esses estágios ocorrem de forma muito rápida.

Tabela 18. Mecanismo de formação da camada de HCA na superfície de um biomaterial.

Fonte: Adaptado de Peitl et al., 2012.

Estágio	Reação
I	Ocorre uma rápida troca de íons $\text{Na}^+$ ou $\text{K}^+$ com $\text{H}^+$ ou $\text{H}_3\text{O}^+$ da solução
II	Ocorre perda de sílica solúvel na forma de $\text{Si}(\text{OH})_4$ na solução resultante da quebra de ligações Si-O-Si e formação contínua de grupos silanol (Si-OH) na interface do material.
III	Ocorre a condensação e repolimerização de uma camada rica em $\text{SiO}_2$ na superfície que está carente de cátions alcalinos e alcalinos terrosos.
IV	Ocorre migração de grupos $\text{Ca}^{2+}$ e $\text{PO}_4^{3-}$ para a superfície através da camada rica em $\text{SiO}_2$ , seguido pelo crescimento de um filme rico em $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ amorfo por incorporação de cálcio e fosfato solúveis a partir da solução.
V	Ocorre a cristalização do filme de $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ amorfo pela incorporação dos ânions $\text{OH}^-$ e $\text{CO}_3^{2-}$ a partir da solução.

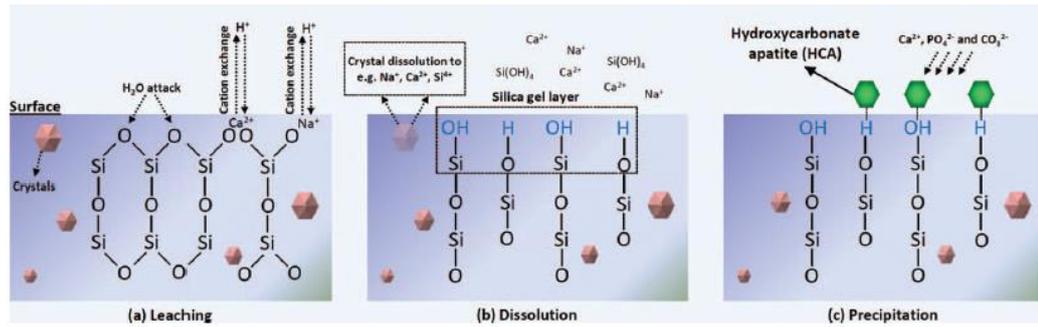


Figura 44. Ilustração esquemática mostrando os diferentes estágios e reações na superfície de uma vitrocerâmica bioativa em SBF (fluido simulado corporal).

Fonte: Boccaccini et. al,2016.

Os vidros e vitrocerâmicas bioativas possuem melhores propriedades osteocondutoras, osteoindutivas e alta taxa de dissolução em comparação às cerâmicas à base de fosfato de cálcio, devido a taxa de formação da camada de HCA na superfície do material. Quanto mais rápido a formação da camada de HCA, mais rápido o material se ligará ao osso (Renno et al., 2013).

Vitrocerâmicas bioativas à base de fosfatos são fortes candidatas para aplicações biomédicas, pelo fato de possuírem algumas vantagens, como a alta taxa de dissolução nos fluidos fisiológicos e a biocompatibilidade (Topalovic et al., 2017).

Várias composições de vitrocerâmicas bioativas foram desenvolvidas para melhorar as propriedades dos vidros bioativos, algumas composições conseguiram sucesso comercial, conforme tabela 4.

Tabela 19. Composições típicas de vidros e vitrocerâmicos bioativos comercializados.

Fonte: Boccaccini et al, 2016.

% mol	Ceravital	Cerabone A/W	Bioverit I	Bioverit II	Bioverit III
SiO <sub>2</sub>	46,1	34,0	30,5	44,5	-
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	18,3	16,2	11,4	0,2	51,4
CaO	27,4	44,7	14,4	0,2	16,0
MgO	2,9	4,6	14,8	11,8	-
Na <sub>2</sub> O	4,8	-	2,3	4,4	14,6
K <sub>2</sub> O	0,4	-	5,8	4,9	-
Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-	-	15,9	29,7	9,0
CaF <sub>2</sub>	-	0,5	-	-	-
F	-	-	4,9	4,2	1,8
Cl	-	-	-	0,1	-
ZrO <sub>2</sub>	-	-	-	-	4,5
TiO <sub>2</sub>	-	-	-	-	2,7

As primeiras vitrocerâmicas bioativas de uso clínico surgiram na metade da década de 70, desenvolvida por Brüner et al., designada como Ceravital. Na década de 80 foi desenvolvido o Bioverit I e II, os quais apresentam magnésio em sua composição e possuem a vantagem de serem usináveis. Os mesmos pesquisadores desenvolveram o Bioverit III, uma vitrocerâmica sem silicato, com alta porcentagem de fosfato.

Na década de 80, o Cerabone A/W, descoberto por Yamamuro e Kokubo se tornou o mais conhecido por suas melhores propriedades mecânicas, e tem sido utilizado com sucesso para substituição vertebral e reparo da crista ilíaca (Park, 2008).

Na década de 90, uma vitrocerâmica bioativa foi desenvolvida com o objetivo de agrupar as boas características de bioatividade do vidro 45S5 com as propriedades mecânicas da vitrocerâmica Cerabone A/W. Após vários estudos e modificações surgiu o Biosilicato® com a composição (% wt) de (23,75 Na<sub>2</sub>O - 23,75 CaO - 48,5 SiO<sub>2</sub> - 4P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>), a partir de um tratamento térmico duplo pode ser obtido, uma fase cristalina, a silicato de sódio-cálcio (Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>); ou duas fases, a silicato de sódio-cálcio (Na<sub>2</sub>CaSi<sub>2</sub>O<sub>6</sub>) e fosfato de cálcio-sódio (NaCaPO<sub>4</sub>) (Crovace et al., 2016).

A primeira aplicação do Biosilicato® foi em forma de pó para o tratamento de hipersensibilidade dentinária. Quando em contato com a dentina exposta (figura 10-a), as partículas do Biosilicato® reagem com o tecido gerando a oclusão (figura 10-b).

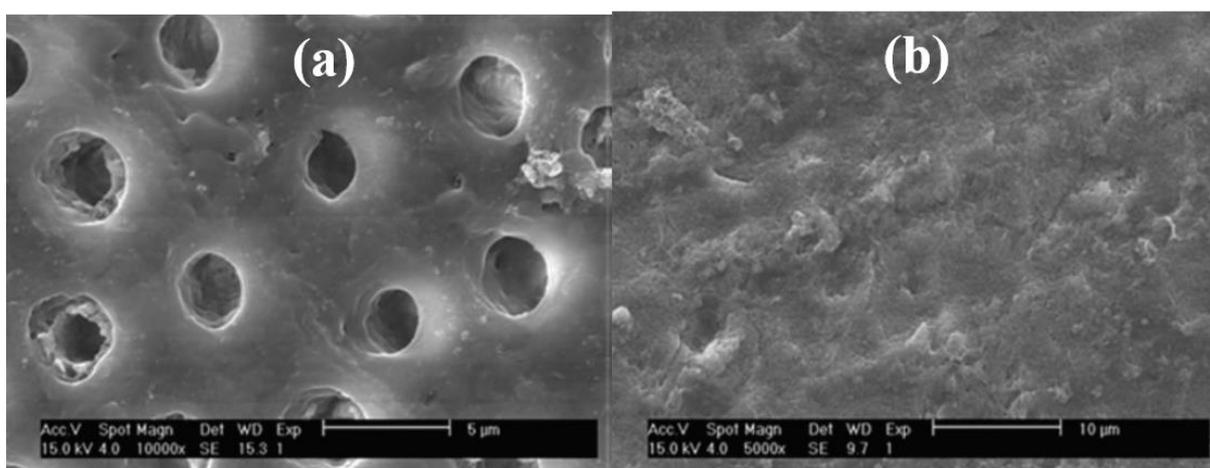


Figura 45. Imagens de MEV dos túbulos dentinários antes do tratamento (a) e após o tratamento com pós de Biosilicato®.

Fonte: Adaptado de Tirapelli et al., 2010.

Estudos realizados por Intawin et al. (2018) demonstraram que as vitrocerâmicas do sistema ( $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ ) sofrem influência da temperatura de tratamento, que geram diferentes mecanismos de cristalização, com diferentes formatos de cristais ocorrendo um aumento na tenacidade à fratura, mas uma diminuição na dureza e no módulo de elasticidade. Contudo, as fases cristalinas obtidas ( $Ca_2P_2O_7$  e  $Na_{1,8}Ca_{1,1}P_6O_{17}$ ) não apresentaram citotoxicidade, mas sim boas propriedades de bioatividade.

Outro estudo realizado por Zhang e Santos (2000) mostra a obtenção das fases  $Ca_2P_2O_7$ ,  $Na_2CaP_2O_7$  e  $Na_2Mg(PO_3)_4$  após a cristalização de vidros fosfatos com adições de  $Na_2O$ ,  $MgO$ ,  $TiO_2$ , e  $ZrO_2$ . Estudos indicam que fases cristalinas de vitrocerâmicas de fosfatos contendo  $Na^+$  e  $Mg^{2+}$  são bioabsorvíveis e tem uma alta taxa de degradação em meio fisiológico, o que é desejado para aplicações em que se busca uma estrutura porosa, e a porosidade pode ser controlada pelo tamanho dos cristais e pela distribuição das fases (Vogel et al., 1997; Muller et al., 1997).

## 2.8 INFLUÊNCIA DA ADIÇÃO DE ÓXIDOS NOS VIDROS FOSFATOS

Os vidros fosfatos (PBG) apresentam grande interesse em aplicações como implantes temporários devido à alta taxa de solubilidade, que pode ser adaptada em função da composição, e pela similaridade química da fase inorgânica do osso humano. Além disso, os vidros fosfatos não são tóxicos e produzem uma resposta adequada para testes com células osteoblásticas (Hoppe et al., 2011).

Para aplicações biomédicas, normalmente são utilizados vidros fosfatos como estrutura principal, com modificações a partir de adições de outros óxidos como, por exemplo, o  $Na_2O$ ,  $CaO$ ,  $SrO_2$ ,  $MgO$  e  $Ti_2O$  (Rajendran et al., 2007). Portanto, conhecer os elementos da dissolução iônica dos vidros é fundamental para entender o comportamento destes *in vitro* e *in vivo*. Na tabela 5, tem-se as respostas biológicas devido à dissolução iônica de vidros bioativos.

Tabela 20. Efeito dos íons no metabolismo ósseo humano e na angiogênese.  
Fonte: Hoppe et al., 2011.

Íon	Resposta biológica in vivo e in vitro
Ca	<ul style="list-style-type: none"> <li>• favorece proliferação de osteoblastos, diferenciação e mineralização da matriz extracelular (ECM)</li> <li>• ativa receptores de Ca em células osteoblásticas, aumenta a expressão de fatores de crescimento (IGF-I ou IGF-II)</li> </ul>
P	<ul style="list-style-type: none"> <li>• estimula a expressão da matriz de proteína (MGP), um regulador importante na formação óssea</li> </ul>
Mg	<ul style="list-style-type: none"> <li>• estimula a formação de osso novo</li> <li>• aumenta a adesão e estabilidade das células ósseas</li> </ul>
Sr	<ul style="list-style-type: none"> <li>• estimula a formação óssea</li> <li>• agente promissor para o tratamento da osteoporose</li> </ul>

O estrôncio (Sr) é um elemento que possui a capacidade de estimular a formação óssea e a reduzir a reabsorção óssea (Abou Neel et al., 2005). Um dos mecanismos de incorporação de estrôncio no osso envolve a troca iônica com o cálcio do osso. Fisiologicamente, estrôncio e cálcio são elementos similares, pois são absorvidos pelo trato gastrointestinal, concentrados nos ossos e excretados principalmente pela urina (Wren et al., 2008). Devido a essas semelhanças, o estrôncio é usado atualmente em terapias ósseas (Llinas et al., 2006). Por exemplo, o ranelato de estrôncio é comercializado para tratar osteoporose, gerando o fortalecimento ósseo, diminuição na possibilidade de fratura óssea, aumento da massa e densidade óssea. Esses fatores são explicados pelo fato do corpo humano absorver estrôncio da mesma maneira que o cálcio e por esse apresentar maior peso atômico (O'Donnell et al., 2010; Zreiqat et al., 2010).

A partir de adições de Sr nos vidros de fosfato cálcio é possível aumentar a bioatividade dos biomateriais e estimular a formação do osso (Zhang et al., 2011; Bose et al., 2011). Estudos realizado por Abou Neel et al. (2009), demonstram a modificação da taxa de dissolução de vidros fosfatos pela adição de óxidos como,  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ,  $\text{CuO}$ ,  $\text{SrO}$ . Com adições de 1 a 5% em mol de  $\text{SrO}$ , ocorre um aumento na taxa de dissolução do vidro e sem afetar a bioatividade.

Estudos anteriores (Weiss et al., 2014) mostram que a adição de estrôncio no vidro fosfato aumenta a taxa de dissolução, pelo fato do estrôncio ser um elemento modificador de rede, que altera a estrutura vítrea através da formação de oxigênios não ligantes. Outros estudos realizados por Brar et al. (2012) em ligas de Sr-Mg e Sr-Mg-Zn para aplicações biomédicas, mostraram que o estrôncio tende a aumentar a taxa de dissolução enquanto que o magnésio diminui a taxa de dissolução.

O magnésio (Mg) é essencial para o metabolismo mineral e tem demonstrado ter efeitos estimulantes na formação de ossos novos. Estudos sugerem que o Mg interage com as integritas de células osteoblásticas, que são responsáveis pela adesão e estabilidade celular. Segundo Webler et al. (2015) o magnésio é um elemento essencial para o corpo humano, sendo que a maior parte do elemento está nos ossos e desempenha papel importante na atividade de muitas co-enzimas e em reações que dependem da ATP (nucleotídeo responsável pelo armazenamento de energia em suas ligações químicas). A falta de magnésio no corpo humano pode desencadear anemias, anorexias, fraqueza e osteoporose.

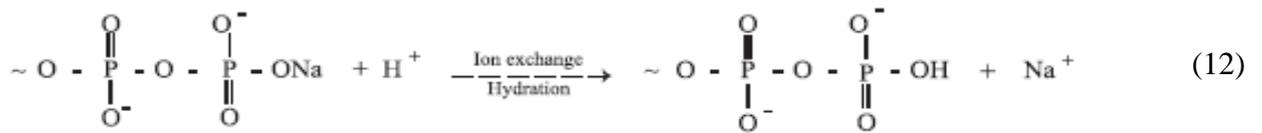
Conforme Bose et al. (2011), a adição do magnésio nos vidros de fosfato de cálcio tem um papel importante, devido às mudanças qualitativas na matriz óssea, influenciando o metabolismo mineral, promovendo reações catalíticas e controlando funções biológicas. Franks et al. (2002) evidenciaram que o efeito do magnésio sobre a solubilidade de um vidro fosfato de cálcio pode causar uma pequena redução na taxa de dissolução.

## 2.9 PROPRIEDADES DOS VIDROS E VITROCERÂMICOS À BASE DE FOSFATOS

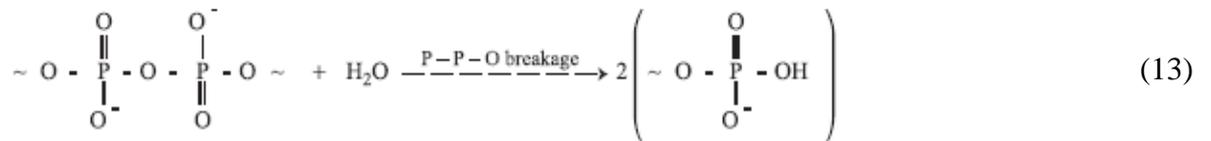
### 2.9.1 Dissolução

Segundo Fernandez et al. (1999), Hench (1977) e Isard et al. (1982), a dissolução dos vidros fosfatos em meios aquosos ocorre em duas etapas independentes conforme descrito abaixo (equações 12 e 13), sendo similar para vidros silicatos (Gao et al., 2004).

Estudos sobre a dissolução de vidros de fosfato de cálcio realizados por Bunker et al. (1984) identificaram que a substituição de sódio por cálcio aumentou a taxa de dissolução. De acordo com os autores, a reação principal de dissolução é a reação de hidratação, em que a água se difunde na superfície do vidro até as cadeias de polifosfato. Porém, Liu et al. (1996) sugere que a reação principal é a reação de hidrólise.



Na etapa 1 (equação 12) ocorre a troca iônica do íon de sódio por íon de hidrogênio, resultando na formação de uma camada hidratada na superfície do vidro.



Na etapa 2 (equação 13) ocorre a quebra da rede devido ao contato dos íons de hidrogênio e moléculas de água, hidratando até que as ligações P-O-P se rompem, destruindo a rede vítrea e liberando cadeias de fosfatos com diferentes estruturas.

A dissolução dos materiais à base de fosfato de cálcio, são influenciadas por alguns fatores como:

- 1) dissolução físico-química, que depende do produto da dissolução e do pH do meio;
- 2) desintegração em pequenas partículas, devido ao ataque químico nos contornos de grãos.

De modo geral, a taxa de dissolução dos materiais de fosfatos de cálcio depende da composição química dos mesmos. Como por exemplo, a taxa de dissolução do  $\alpha$ -fosfato tricálcio é maior do que a do  $\beta$ -fosfato tricálcio, e ambas maiores do que a hidroxiapatita (Legeros, 1993).

A taxa de dissolução das vitrocerâmicas são influenciadas por alguns fatores como: composição química da fase cristalina, estrutura e tamanho dos cristais, rugosidade superficial, fração cristalina e da quantidade de vidro residual (Dias et al., 2007).

A incorporação de alguns íons, que atuam como agentes nucleantes no vidro, também podem interferir nas propriedades de solubilidade, bioatividade e propriedade mecânica. Cai et al. (2011) analisaram a interferência do Sr e do Mg na solubilidade e bioatividade de vitrocerâmicos de fosfato cálcio, a partir de diferentes temperaturas de tratamento térmico e observaram que a quantidade de vidro residual na vitrocerâmica afeta fortemente a dissolução e a bioatividade, dessa maneira a vitrocerâmica que apresentou a taxa de dissolução compatível com o crescimento e diferenciação celular foi a que apresentou menor quantidade de vidro residual.

Abou Neel et al. (2009) sugerem que a substituição do óxido de sódio pela adição de óxido de estrôncio em vidros fosfatos aumenta a taxa de dissolução. Em estudo prévio (Weiss et al., 2012) em vidros fosfatos de cálcio, observamos que a estrutura vítrea é afetada pela adição de MgO e o TiO<sub>2</sub>, que atuam como modificadores de rede, sendo que o titânio também age como formador, tornando a estrutura mais rígida. Esse aumento da rigidez da estrutura diminui a solubilidade do vidro.

## 2.9.2 Propriedades mecânicas

Dureza, tenacidade à fratura e módulo de elasticidade são algumas das principais propriedades mecânicas dos materiais cerâmicos. A tabela 6 apresenta os valores típicos das propriedades mecânicas dos ossos, vidros e vitrocerâmicas.

Tabela 21. Valores típicos das propriedades mecânicas de vidros bioativos e dos ossos humanos. Fonte: Boccaccini et al., 2017.

Material	Dureza Vickers (HV)	Resistência à compressão (MPa)	Módulo de elasticidade (GPa)	Tenacidade à fratura (MPa.m <sup>1/2</sup> )
Vidro 45S5 (V)	458	500	30-35	0,5-1
Ceravital (VC)	-	500	100-150	-
A-W Cerabone (VC)	680	1080	218	2,0
Bioverit I e II (VC)	500-800	500	70-88	1,2-2,1
Bioverit III (VC)	-	-	45	0,6
Osso esponjoso	-	2-12	0,05-0,5	-
Osso cortical	-	100-180	7-30	2-12

A dureza não é uma propriedade intrínseca do material, pois seus valores dependem das diferentes técnicas de medição (Zhang et al., 2011). Quando um penetrador é carregado sobre um vidro, uma impressão superficial é observada após a descarga e a dureza do material é estimada a partir da área da impressão. Ou seja, a dureza de um material é a resistência à penetração ou deformação permanente da sua superfície (Quinn, 2007).

O módulo de elasticidade é a medida da tensão necessária para produzir uma unidade de deslocamento de dois átomos sem ocorrer a ruptura da ligação. É uma medida indireta da força de ligação interatômica.

A tenacidade determina todos os aspectos do comportamento mecânico de materiais frágeis, e é a capacidade de resistir à propagação de trincas (Lawn e Wilshaw, 1975). Assim, o conhecimento da tenacidade à fratura dos vidros torna-se fundamental para aplicações como implantes que estejam submetidos a solicitações mecânicas (Sakar-Deliormanli e Gu, 2004).

Por serem os vidros materiais frágeis e dessa forma estarem susceptíveis à formação de trincas, apresentam valores de tenacidade à fratura menores que  $1 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ . Para melhorar os valores de tenacidade à fratura dos vidros, alguns métodos são empregados como: obtenção de fases a partir da cristalização controlada, reforço da matriz com fibras, e adição de partículas de titânio e zircônia (Hu et al., 2008 e Margha et al., 2009).

Os valores de dureza dos vidros fosfatos são afetados pela adição de agentes modificadores de rede, que alteram a estrutura do vidro (Salama e El-Batal, 1994). Estudos de Shelby (1997) indicam que o aumento de oxigênios não-ligantes (NBrO), reduz a conectividade da rede vítrea, que por sua vez diminui o módulo de elasticidade do vidro.

Outros estudos mostram que com a cristalização controlada é possível afetar as propriedades mecânicas, como os realizados por Peitl et al. (2012), em vidros do sistema  $\text{P}_2\text{O}_5\cdot\text{Na}_2\text{O}\cdot\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$  a partir do aumento da fração cristalina ocorreu um aumento nas propriedades mecânicas sem afetar o comportamento de bioatividade do sistema vítreo (Serbena et al., 2015). Massardo (2011) também encontrou maiores valores de módulo de elasticidade para amostras de vitrocerâmicos de dissilicato de lítio totalmente cristalizadas, na faixa de 119 GPa e para amostras no estado vítreo 80 GPa. Estudos realizados por Kapoor et al. (2013) mostram a melhora nas propriedades mecânicas a partir de adições de Zn e Sr em vidros do sistema  $(\text{CaO}\cdot\text{SrO}\cdot\text{ZnO}\cdot\text{Na}_2\text{O}\cdot\text{SiO}_2)$ .

Vários autores investigaram a influência da microestrutura desenvolvida durante a cristalização nas propriedades mecânica das vitrocerâmicas, sendo afetadas pelas fases cristalinas, fração e homogeneidade da fase cristalina, tamanho do grão, forma e orientação dos cristais obtidos (Jha et al., 2015; Holand e Beall, 2002).

Hallmanna et al. (2018) analisaram o efeito da microestrutura nas propriedades mecânicas de vitrocerâmicas de disilicato de lítio e verificaram que diferentes fatores interferem na microestrutura como: composição química, agentes nucleantes, aditivos, temperatura e tempo de tratamento térmico. Os agentes nucleantes desempenham um papel importante no desenvolvimento da microestrutura e conseqüentemente nas propriedades mecânicas das vitrocerâmicas obtidas. Na vitrocerâmica de disilicato de lítio, o  $\text{P}_2\text{O}_5$  agiu como agente nucleante, facilitando a cristalização no volume, gerando melhora nas propriedades mecânicas.

### 2.9.3 Bioatividade

Materiais bioativos são aqueles capazes de formar uma resposta biológica específica entre o tecido e o implante, através de uma ligação química (osteointegração). Devido à similaridade química e estrutural entre os materiais bioativos e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam aos materiais através da osteocondução, dando origem ao osso neoformado sobre a superfície do material (Kokubo et al., 1990; Kokubo, 1992; Kokubo, 1998).

Os vidros e vitrocerâmicas bioativas possuem melhores propriedades osteocondutoras, osteoindutivas e alta taxa de dissolução em comparação às cerâmicas a base de fosfato de cálcio, devido à taxa de formação da camada de HCA na superfície do material. Quanto mais rápido a formação da camada de HCA, mais rápido o material se ligará ao osso (Renno et al., 2013).

Segundo Abou Neel et al. (2014), o principal fator contribuinte para a bioatividade dos vidros fosfatos, está relacionado com os íons gerados pela dissolução dos mesmos (fósforo, cálcio e sódio) estarem presentes na fase inorgânica dos ossos. Esses íons podem promover uma resposta celular benéfica, conforme apresentado na tabela 4 (Hoppe et al., 2011, Rabiee et al., 2015).

A adição de elementos modificadores de rede (Ca, Na, Mg, K) nos vidros fosfatos promove a formação de oxigênio não ligantes (NBO), gerando uma desordem na rede vítrea, provocando uma alta reatividade dos vidros em soluções aquosas, sendo importante na formação da camada de hidroxiapatita, que é necessária nas aplicações de reparo ósseo (Mundstock, 2010). Estudos realizados por Satyanarayana et al. (2017) evidenciam que a adição de estrôncio nos vidros e vitrocerâmicos de fosfatos de cálcio do sistema ( $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ - $K_2O$ -SrO) aumenta a bioatividade dos mesmos, pois a adição do estrôncio gera uma desordem na rede vítrea, gerando modificações estruturais, o estrôncio ficará disponível localmente para a absorção óssea.

A investigação de novas composições de vidros e vitrocerâmicas deve levar em consideração a biocompatibilidade e a capacidade de induzir a diferenciação óssea dos novos materiais. Entretanto, diferentemente de outros biomateriais, não há consenso na literatura em relação ao protocolo mais adequado para a avaliação da interação biológica desses materiais. Levando em consideração que vidros e vitrocerâmicas bioabsorvíveis se dissolvem em contato com fluidos corpóreos, é importante avaliar a biocompatibilidade dos produtos da dissolução (Abou Neel et al., 2014; Daguano et al., 2019; Crovace et al., 2016; Fu et al., 2009).

A diferenciação celular deve ser avaliada através do cultivo direto das células sobre a superfície dos materiais, entretanto, no caso dos vidros e vitrocerâmicas bioabsorvíveis, a alta reatividade superficial pode comprometer a correta interpretação dos resultados, conforme abordado por Ciraldo et al. (2018). Nos primeiros momentos de imersão em meios aquosos acontece uma rápida troca iônica, definida na literatura como “*burst release*”, onde ocorre o aumento do pH em decorrência da substituição de íons de  $H^+$  por cátions metálicos. Para evitar que o cultivo celular seja afetado por esse fenômeno (e conseqüente morte celular), vidros e vitrocerâmicas bioabsorvíveis devem ser imersos em solução aquosa (PBS, meio de cultivo, etc) antes do começo do ensaio celular, para diminuir os efeitos da troca iônica sobre as células. Após a imersão, as amostras podem ser normalmente analisadas através dos ensaios de viabilidade e diferenciação celular.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Neste capítulo são apresentadas as técnicas experimentais de preparação das amostras de vidros e de vitrocerâmicas, caracterização microestrutural, química, mecânicas e biológica utilizadas neste trabalho.

#### 3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS DE VIDRO

Estudo anteriores (Weiss et. al., 2012) indicaram que o vidro do sistema  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO com adição de MgO, apresentou os melhores resultados de dissolução em comparação com o vidro do mesmo sistema com adição de  $TiO_2$ . Isso ocorre devido o óxido de titânio agir não somente como elemento modificador, mas também como intermediário, tornando a estrutura vítrea mais rígida, melhorando as propriedades mecânicas (como módulo de elasticidade), porém diminuindo a taxa de dissolução.

Contudo, não foi obtido um aumento significativo nos valores das propriedades mecânicas analisadas do vidro do sistema  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ -SrO com adição de MgO. Dessa maneira, foi decidido por realizar a cristalização controlada dos vidros com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas, e verificar seu efeito na taxa de dissolução e na bioatividade.

A partir da revisão bibliográfica foi escolhido uma composição base de vidro, de acordo com diagrama de fases para o sistema  $P_2O_5$ - $Na_2O$ -CaO (figura 11), por ser uma região próxima da fronteira de formação de materiais vítreos e cristalinos, dessa maneira, sendo uma composição vítrea facilmente cristalizada.

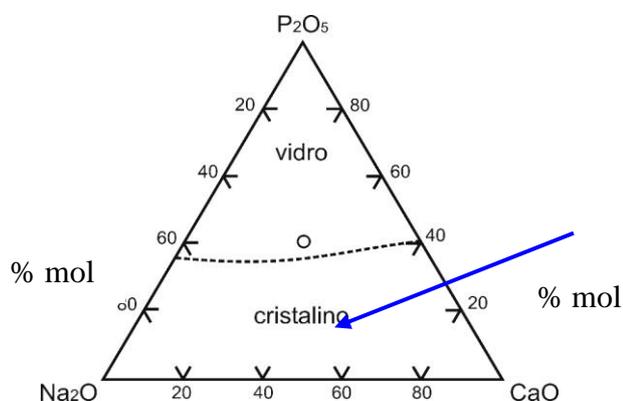


Figura 46. Diagrama de fases do sistema  $P_2O_5$ - $Na_2O$ -CaO. Regiões de formação de vidro e cristais. O círculo representa a composição básica dos vidros estudados.

Fonte: Adaptado de Uo et al. (1998).

Com a finalidade de promover a bioatividade dos vidros fosfatos, foi adicionado o óxido de estrôncio, enquanto que a adição do óxido de magnésio serve para controlar a taxa de dissolução. Os vidros à base de fosfato de cálcio com as composições químicas mostradas na Tabela 7 foram preparados através da fusão das seguintes matérias-primas com grau analítico: pentóxido de fósforo ( $P_2O_5$  – Vetec P.A. 99%), carbonato de cálcio ( $CaCO_3$  – Biotec P.A. 99%), carbonato de sódio anidro ( $Na_2CO_3$  – Vetec P.A. 99,5%), carbonato de estrôncio ( $Sr_2CO_3$  – Vetec P.A. 97%), e óxido de magnésio ( $MgO$  - Vetec P.A. 95%). A sequência do processo de obtenção do vidro está demonstrada no fluxograma da figura 12.

Tabela 22. Nomenclatura definida, composição (% mol), quantidade (gramas) dos óxidos necessários para preparar 50 gramas de vidro.

Nomenclatura	$P_2O_5$		$CaO$		$Na_2O$		$SrO$		$MgO$	
	%mol	g	%mol	g	%mol	g	%mol	g	%mol	g
V-PCNSr	40	60,24	30	31,82	25	28,11	5	7,84	-	-
V-PCNSrMg	40	61,00	30	32,17	20,0	22,88	5	7,98	5,0	2,14

Os reagentes químicos foram secos em estufa a 100 °C por 72 horas antes da pesagem para retirar a umidade, com exceção do pentóxido de fósforo. Após pesados, os reagentes foram misturados em um recipiente plástico para a homogeneização. A seguir, cada composição foi colocada em um cadinho de alumina e zircônia, e fundida em um forno elétrico BTC-9090 (Jung). O cadinho com os reagentes foi mantido a 700 °C por 60 minutos para ocorrer a calcinação dos carbonatos com a liberação do  $CO_2$ . Na sequência, a temperatura foi elevada para 1100 °C e mantida nesta temperatura por 1 hora para a homogeneização. O fundido foi então vertido em um molde de aço e resfriado rapidamente por outra placa de aço obtendo-se amostras planas com 1-3 mm de espessura, ou foi vertido em um molde cilíndrico de aço pré-aquecido (350 °C) com 15 mm de diâmetro e 60 mm de comprimento, conforme figura 13 ( a, b, c). Para garantir a homogeneidade do vidro foi feita a refusão a 1100 °C por 1 hora.

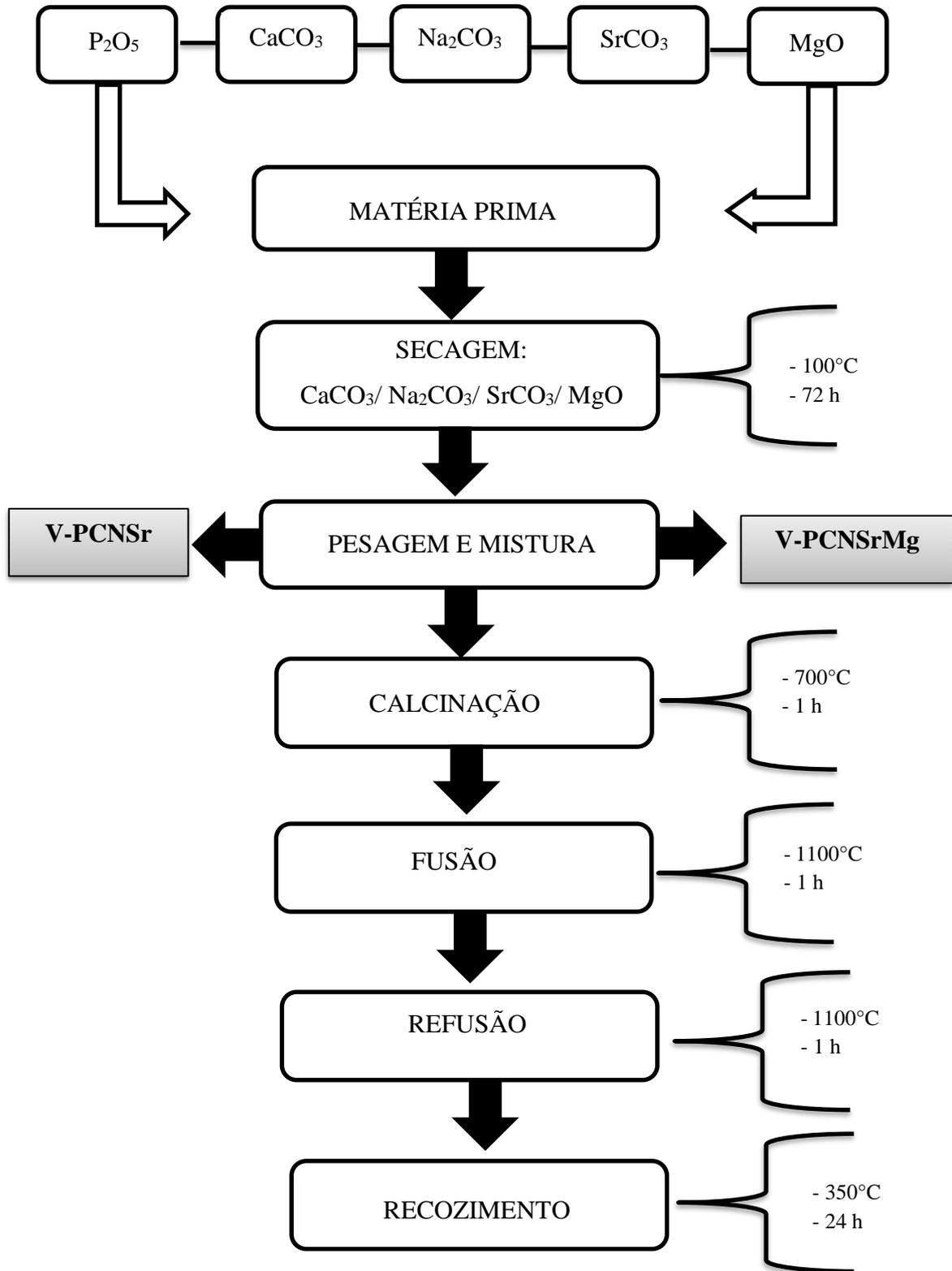


Figura 47. Fluxograma do processo experimental de preparação de amostras vítreas.  
Fonte: a autora, 2019.

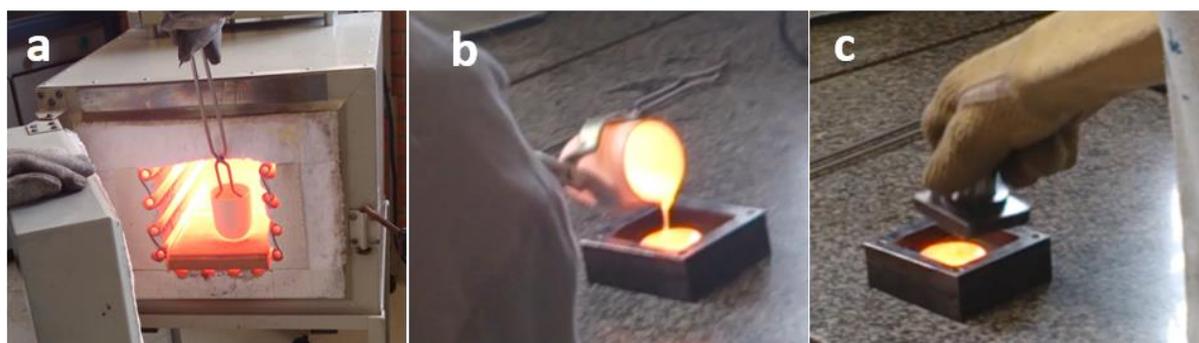


Figura 48. Imagens ilustrativas do preparo das amostras de vidro. (a) Vidro sendo retirado do forno no momento da fusão, (b) vidro sendo vertido no molde metálico, (c) vidro sendo resfriado rapidamente em molde pré-aquecido.

Fonte: a autora, 2019.

Para eliminar possíveis tensões residuais, as amostras foram imediatamente transferidas para outro forno elétrico, e submetidas a um tratamento térmico de recozimento a 350 °C por 24 horas e resfriado lentamente até a temperatura ambiente dentro do forno.

As amostras de vidro foram cortadas com disco diamantado utilizando uma cortadeira Miniton (Struers), lixadas com lixas de SiC (carbeto de silício) na sequência 800, 1000 e 1200 mesh e polidas com uma solução aquosa de óxido de cério ( $\text{CeO}_2$ ).

Após a obtenção das amostras de vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg (conforme nomenclatura definida na tabela 7), foi realizado a caracterização térmica e a cristalização para a obtenção das vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg e várias etapas de caracterização conforme mostra o fluxograma da figura 14.

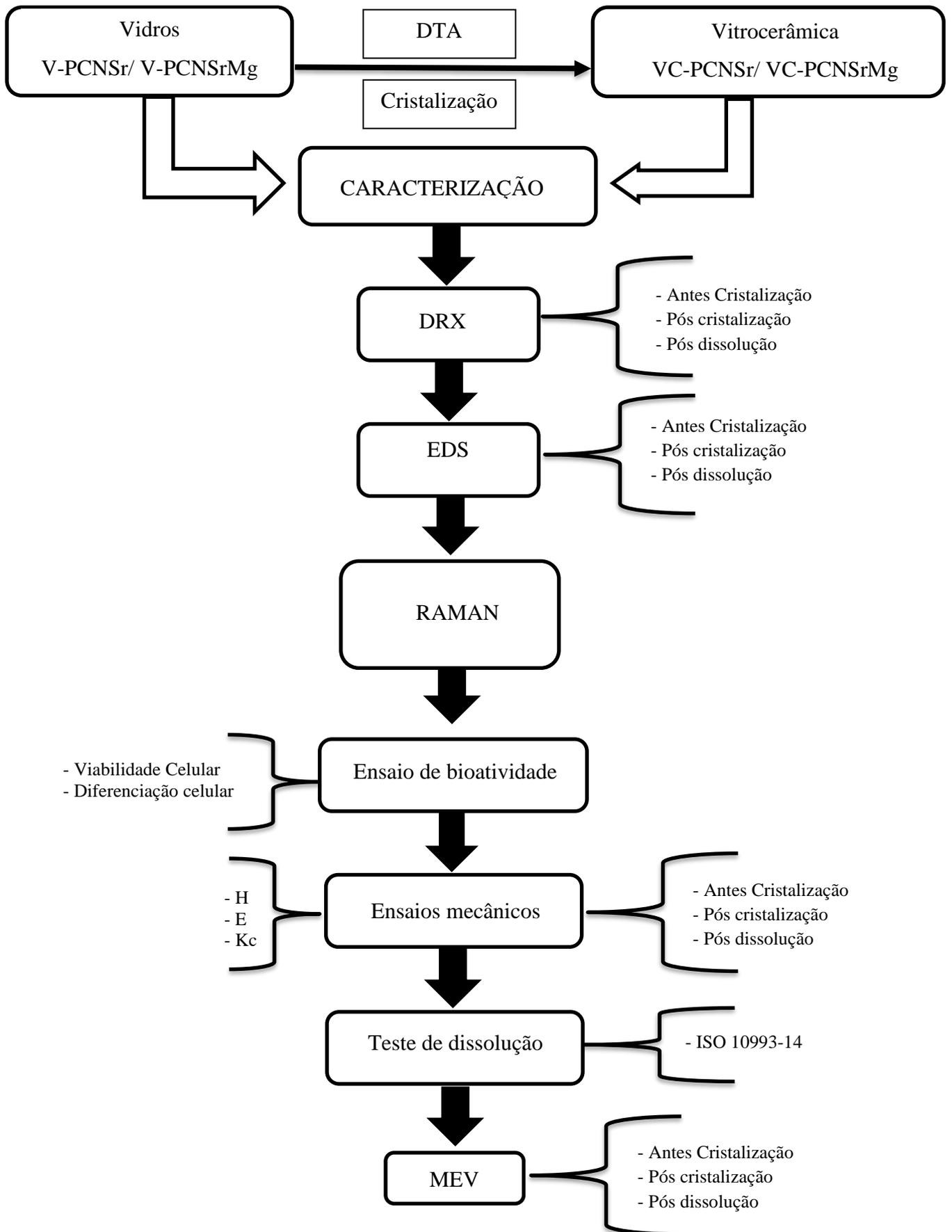


Figura 49. Fluxograma das etapas do trabalho.

Fonte: a autora, 2019.

### 3.2 CARACTERIZAÇÃO TÉRMICA

Após a obtenção das amostras de vidro foi realizado um estudo térmico, com o objetivo de obter as temperaturas de cristalização, utilizando um equipamento de Calorimetria Exploratória de Varredura (DSC) da marca NETZSCH, modelo Pegasus 404 F3. Foi utilizado como referência um cadinho de alumina vazio e as amostras *bulk*, com massas em torno de 30 a 40 mg.

Para a realização da análise térmica, as amostras foram aquecidas a 5 °C/min desde a temperatura ambiente até 80 °C, onde foram mantidas por 10 minutos com o objetivo de estabelecer um equilíbrio entre a temperatura da amostra e do forno. Em seguida, elas foram aquecidas até 1200 °C numa taxa de 10 °C/min.

Os picos endotérmicos presentes no termograma resultante desta análise são associados às reações de fusão e/ou decomposição, e os picos exotérmicos são relacionados às mudanças de fase cristalina. A partir do resultado da análise térmica foi possível obter as temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), de cristalização ( $T_c$ ) e de fusão ( $T_f$ ). Com isso, foram realizados experimentos de tratamento térmico onde foi fixado a temperatura e variado o tempo, conforme tabela 8.

Tabela 23. Temperaturas e tempos que foram realizados os testes para definição do tratamento térmico dos vidros.

Amostra	Nucleação		Crescimento	
	Temperatura (°C)	Tempo (min)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
V-PCNSr	410	20	610	20
		40		40
		60		60
		120		120
		240		240
		360		360
		720		720
		1440		1440
V-PCNSrMg	470	20	620	20
		40		40
		60		60
		120		120
		240		240
		360		360
		720		720
		1440		1440

Após vários testes de tratamentos térmicos com diferentes tempos, foi definido a condição para obter o máximo de cristalização, conforme apresentado na tabela 9 e na figura 15, onde ficou evidenciado que a cristalização ocorreu a partir da superfície em direção ao centro da amostra.

Tabela 24. Temperaturas e tempos de nucleação e crescimento dos cristais, utilizadas para a cristalização das amostras de vidros.

Amostras	Nucleação		Crescimento dos cristais	
	Temperatura (°C)	Tempo (horas)	Temperatura (°C)	Tempo (horas)
V-PCNSr	410	24	590	24
V-PCNSrMg	470	24	600	24

Para a obtenção das vitrocerâmicas, as amostras vítreas foram tratadas na temperatura de *onset*, ou seja, na temperatura de início da cristalização. O ciclo de tratamento térmico foi feito em duas etapas, sendo que para o vidro V-PCNSr a nucleação foi realizada na temperatura de 410 °C por 24 horas e o crescimento dos cristais na temperatura de 590 °C por 24 horas. Para a composição V-PCNSrMg foi nucleado a 470 °C por 24 horas e o crescimento dos cristais na temperatura de 600 °C por 24 horas, conforme tabela 9.

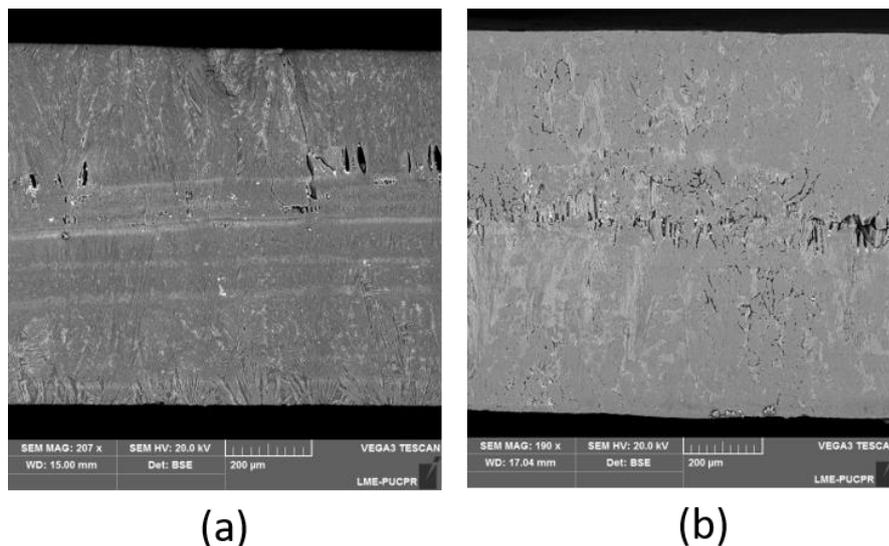


Figura 50. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (200x) das amostras de vitrocerâmicas (a) VC-PCNSr e (b) VC-PCNSrMg. Ataque ácido HCl 0,5% por 300 s. Fonte: a autora, 2019.

### 3.3 CARACTERIZAÇÃO DAS FASES CRISTALINAS

O ensaio de difração de raios-X foi utilizado para confirmar o estado vítreo (amorfo) dos vidros obtidos e para determinar as fases cristalinas presentes nos vidros após eles serem submetidos a tratamento térmico. As medidas foram realizadas em um difratômetro de raios-X Shimadzu, modelo XRD-7000, com as amostras na forma de *bulk*, velocidade de 0,5 °/min e faixa de varredura de 20 a 80°. Os ensaios de difração de raios-X foram realizados também para as amostras de vidro (V-PCNSr e V-PCNSrMg) e vitrocerâmicas (VC-PCNSr e VC-PCNSrMg), antes e após o teste de dissolução, para cada período de imersão (7, 14, 21, 28 e 42 dias).

### 3.4 CARACTERIZAÇÃO POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Foi realizado a análise da superfície dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg e das vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg antes e após ensaio de dissolução, nos períodos de 7, 14, 21, 28 e 42 dias de imersão, descrito no item 3.6 a seguir.

A análise da superfície das amostras foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura (MEV, Tescan-Vega3), equipado com um sistema de análise química por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). As amostras foram lixadas (#800 e #1200) e polidas com uma solução aquosa de óxido de Cério sobre um pano de polimento por aproximadamente 5 minutos. As amostras de vitrocerâmicas foram atacadas quimicamente com uma solução de HF (15%) por 120 segundos para a revelação dos cristais.

Todas as amostras foram metalizadas com um filme de 10 nm de ouro antes da obtenção das imagens.

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

#### 3.5.1 Caracterização da microestrutura por espectroscopia raman

As análises de espectroscopia Raman foram realizadas em um equipamento construído no Departamento de Física da URGs (Universidade Federal do Rio Grande do Sul), consistindo num microscópio Olympus e um sistema de laser HORIBA IHR 320. A excitação foi fornecida por um laser de He-Ne (632,8 nm) polarizado de 10 mW e resolução de 2  $\mu\text{m}$ . A luz espalhada foi coletada numa geometria de reflexão invertida e filtrada com um filtro Super-Notch Plus. Os espectros foram coletados na região de 200 e 1300  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.6 CARACTERIZAÇÃO DA TAXA DE DISSOLUÇÃO

O método de perda de massa foi usado para determinar a taxa de dissolução, com base na norma ISO 10993-14. Amostras de vidros com dimensões aproximadas de (5 x 5 x 2) mm foram inicialmente pesadas ( $P_i$ ) e imersas dentro da solução de Tris-HCl com pH 7,4 a 37 °C, usando amostras em triplicatas. A solução de Tris-HCl foi preparada pesando o composto Tris (tris(hidroxi metil)aminometano (Synth), com a fórmula  $((\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2)$  e adicionando HCl (ácido clorídrico) até atingir o pH de 7,4.

As amostras foram colocadas individualmente em um tubo de ensaio e um volume de 2,5 mL de Tris-HCl foi acrescentada em cada tubo, e deixado em banho-maria à temperatura de 37 °C pelos períodos de 7, 14, 21, 28 e 42 dias. Após cada período de imersão, as amostras foram retiradas e pesadas ( $P_f$ ), possibilitando o cálculo da perda de massa conforme equação 14:

$$\text{Perda de massa (\%)} = \left[ \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \right] \times 100 \quad (14)$$

Onde:  $P_i$  o peso inicial da amostra, e  $P_f$  o peso final da amostra.

As amostras foram pesadas em uma balança analítica de precisão com sensibilidade de 0,0001 g (AG200, Gehaka).

### 3.7 CARACTERIZAÇÃO DAS PROPRIEDADES MECÂNICAS

#### 3.7.1 Dureza e módulo de elasticidade

A dureza e o módulo de elasticidade foram obtidos a partir do ensaio de indentação instrumentada em um ultra-microdurômetro (Shimadzu. DHU-211S). Foi utilizado uma ponta de diamante tipo Berkovich, calibrada com sílica amorfa. A carga aplicada foi de 100 mN com um ciclo de carga e descarga. Foram realizadas 30 indentações para cada composição. Os valores médios de dureza e de módulo de elasticidade foram calculados pelos métodos de Oliver e Pharr (1992).

Os ensaios de dureza e módulo de elasticidade foram realizados para as amostras de vidro e vitrocerâmicos, antes e após o teste de dissolução, com o objetivo de verificar se as amostras vítreas e cristalizadas conseguiriam manter as propriedades mecânicas durante o tempo de dissolução.

Após o período de imersão (7, 14, 21, 28 e 42 dias) as amostras foram tiradas da solução, secas em estufa (100 °C) por um período de 7 dias e após pesadas, para então serem ensaiadas no ultra-microdurômetro.

### 3.7.2 Tenacidade à fratura por indentação ( $K_c$ )

A tenacidade à fratura foi determinada pelo método de indentação com a ponta Vickers em um microdurômetro modelo HVS-2 (Shimadzu), com uma carga aplicada de 500 mN por um tempo de 15 segundos. Foram realizadas dez indentações por amostra polida, sendo utilizadas três amostras de cada composição.

O comprimento da trinca foi medido usando um microscópio óptico (BX-61, Olympus), conforme ilustrado na Figura 9. A partir dos valores medidos é possível calcular HV e  $K_c$ , através das equações 15 e 16, respectivamente (Anstis et al., 1981 e Niihara, 1983).

$$HV = 1854,4 \left( \frac{P}{2a^2} \right) \quad (15)$$

$$Kc = \xi \left( \frac{E}{H} \right)^{\frac{1}{2}} \cdot \left( \frac{P}{c^2} \right) \quad (16)$$

Onde:

$HV$  é o valor de dureza Vickers (GPa)

$P$  é a carga aplicada em Newton

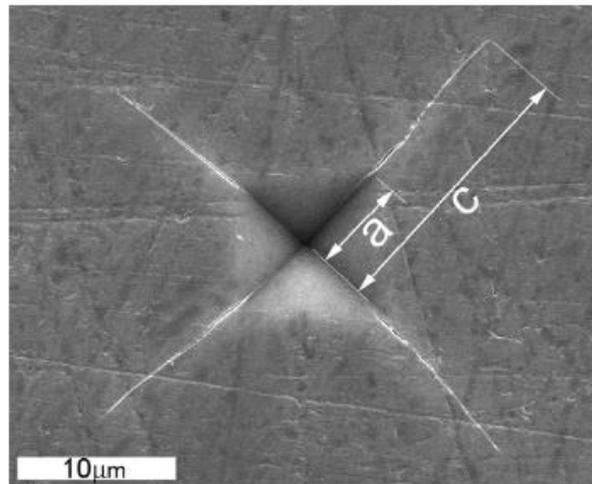
$E$  é o módulo de elasticidade do material (em GPa), obtido por nanoindentação,

$\xi$  é uma constante empírica adimensional, que possui o valor de  $0,016 \pm 0,004$  para os indentadores Vickers

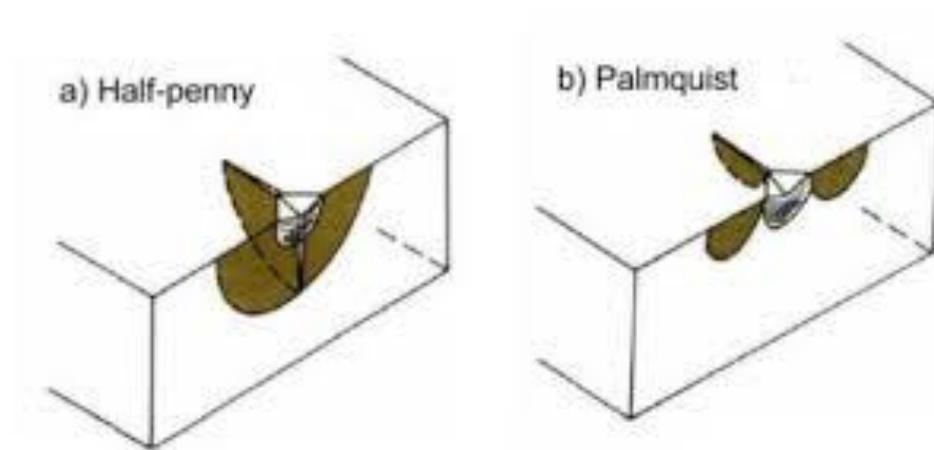
$a$  é a metade da diagonal da indentação (em mm)

$c$  é a metade do comprimento da trinca (em mm),

Para que a medida da tenacidade à fratura de materiais cerâmicos seja correta é necessário ter cuidado para escolher a equação utilizado para o cálculo. Nesse trabalho foi levado em consideração a razão  $c/a$  proposta por Niihara (1983), onde o significado de  $c$  e  $a$  estão ilustrados na figura 16 (a). De acordo com Niihara, se  $c/a > 2,5$ , o modelo utilizado é para o sistema de trincas tipo Half-penny ou Radial-mediano, proposto Anstis, conforme a equação 16 e ilustração da figura 16 (b).



(a)



(b)

Figura 51. (a) Micrografia eletrônica de um vidro após teste de indentação Vickers, mostrando as dimensões características da impressão residual (a) e do comprimento das trincas radiais primárias (c). (b) Sistema de formação das trincas: Hal-penny e Palmqvist.

Fonte: Adaptado de Nychka et al., 2008; Sergejev & Antonov, 2006.

Da mesma maneira que para os ensaios de dureza e módulo de elasticidade, os ensaios de tenacidade à fratura por indentação foram realizados para as amostras de vidro e vitrocerâmicos, antes e após o teste de dissolução, para verificar se as amostras vítreas e cristalinas resistiriam a propagação de trincas durante o tempo de dissolução. Após o período de imersão (7, 14, 21, 28 e 42 dias) as amostras foram tiradas da solução, secas em estufa (100 °C) por um período de 7 dias e após pesadas, ensaiadas no microdurômetro.

Todas as análises experimentais dos ensaios de dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura foram realizadas usando a média e desvio padrão. Para determinar a diferença estatística entre os grupos foi realizada a análise estatística de variância (ANOVA) e teste de comparação Tukey, utilizando o software Origin 8.0. A significância estatística foi considerada com os seguintes valores de p: (\*) para  $p < 0,05$ ; (\*\*) para  $p < 0,01$ ; e (\*\*\*) para  $p < 0,001$ .

### 3.8 AVALIAÇÃO DA BIOATIVIDADE *IN VITRO*

#### 3.8.1 Preparação e esterilização das amostras

Amostras de vidro e vitrocerâmicas medindo 5 x 5 mm e com ~3 g, foram lixadas, limpas e colocadas em placa de petri separadas por composição. Para a esterilização das amostras, as faces superior e inferior das mesmas foram expostas à luz ultravioleta dentro do fluxo laminar de cultivo celular por um período de 30 minutos cada face.

#### 3.8.2 Análise da bioatividade dos produtos da dissolução

##### 3.8.2.1 Produção do extrato

Visando analisar a biocompatibilidade dos produtos de dissolução dos vidros e vitrocerâmicas, foram obtidos extratos para posterior utilização no cultivo celular. Seguindo o protocolo descrito na literatura, após a esterilização de ambas as faces das amostras, uma amostra de cada composição foi colocada no fundo de um tubo cônico falcon, nesse tubo foi adicionado cerca de 15 mL de meio de cultura DMEM 10% a 37 °C e então cada tubo foi selado com parafilme e armazenado em uma incubadora a 37 °C por 24 horas (Abou Neel et al., 2014; Daguano et al., 2019; Crovace et al., 2016; Fu et al., 2009). Após este período, as amostras foram removidas e o meio de cultura contendo os produtos da dissolução das amostras, *i.e.* o extrato, foi utilizado no cultivo celular.

##### 3.8.2.2 Viabilidade celular

Os testes *in vitro* foram realizados com a linhagem de fibroblastos isolada de camundongo denominada L-929, no laboratório de biologia celular da PUCPR. Os fibroblastos foram cultivados em meio de cultivo DMEM 10 % suplementado com soro fetal bovino (FBS) e penicilina estreptomicina (Pen & Strep).

O meio de cultivo foi trocado das garrafas a cada 48 horas até que as células atingissem 80% de confluência para início dos testes. As células da garrafa separada especificamente para esse teste foram desaderidas pelo processo de tripsinização. Após a centrifugação e formação do *pellet* de células de fibroblasto da linhagem L-929, cerca de 1 mL de meio de cultura DMEN 10% foi utilizado para ressuspensão das células.

As contagens das células foram feitas com o corante Azul de Tripán e contadas em câmara de Neubauer. Em uma placa de cultivo de 48 poços foram plaqueadas  $5 \times 10^5$  células/poço, onde 50 % do volume do poço foi preenchido com o extrato das amostras e os outros 50 % com meio de cultivo novo. Foram plaqueados 5 poços para cada condição, o poço usado como controle foi colocado apenas as células no meio de cultivo sem o extrato das amostras. A placa foi mantida em uma incubadora a 37 °C, com atmosfera úmida contendo 5% de CO<sub>2</sub>.

Após 1, 4 e 7 dias de cultivo, a viabilidade dos fibroblastos cultivados na presença do extrato dos vidros e vitrocerâmicas foi analisada através do ensaio colorimétrico alamarBlue™. Neste ensaio a Rezasurina, princípio ativo do reagente, tem sua coloração alterada de azul para rosa quando em contato com células metabolicamente ativas, já que enzimas citoplasmáticas e mitocôndrias ocasionam a redução do princípio ativo. A possível mudança na cor indica a presença, ou ausência, de células viáveis nos poços de maneira qualitativa (Rampersad, 2012).

Seguindo o protocolo estabelecido pelo fabricante, em cada um dos tempos preestabelecidos, foi realizada a troca do meio de cultivo para um meio novo contendo 10 % vol. do reagente alamarBlue™. Após 4 h incubados à 37 °C 5% CO<sub>2</sub>, foi retirado 100 µL de cada poço e transferido para uma placa de 96 poços para realização da leitura em espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 570 nm e 600 nm.

Com a obtenção dos dados, o meio de cultura contendo alamarBlue™ foi removido de cada um dos poços e o meio de cultura contendo 50% de extrato bruto foi novamente adicionado ao seu respectivo poço, para a repetição do ensaio nos outros dias. Antes das placas de cultivo serem levadas de volta para a incubadora, foi feita uma imagem de cada poço com o auxílio de um microscópio óptico, para a análise do efeito do extrato na morfologia e confluência das células.

### 3.8.3 Análise da bioatividade superficial

Buscando analisar a capacidade dos vidros e vitrocerâmicas em promover a diferenciação celular de células mesenquimais em osteoblastos, foi realizada a quantificação da fosfatase alcalina após 1 e 3 semanas de cultivo. A fosfatase alcalina é uma proteína indicadora da presença de células ósseas e a diferenciação celular pode ser observada através do cálculo da quantidade de fosfatase alcalina em relação ao total de proteínas.

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Micro e Nanotecnologia do departamento de Engenharia Mecânica da Colorado State University em Fort Collins, CO (USA). Foram utilizadas células tronco derivadas de tecido adiposo humano (*Adipose Derived Stem Cells*, ADSC), cultivadas diretamente sobre a superfície do vidro.

Após esterilização, as amostras foram imersas em meio MEM-Alpha Modificacion (Hyclone®), suplementado com 10% de SFB e 1% de penicilina/estreptomicina a 37 °C por 24 h, para que as superfícies atingissem um equilíbrio na troca iônica e dessa maneira, não prejudicassem o cultivo celular (Ciraldo et al., 2018). Após a imersão inicial, as amostras foram transferidas para placa de cultivo de 48 poços e  $5 \times 10^3$  células/mL foram plaqueadas em cada poço. Após 4 e 7 dias foi avaliada a viabilidade celular para observar a proliferação das ADSC utilizando o ensaio alamarBlue™ seguindo o protocolo descrito previamente. Após 7 dias de cultivo, a diferenciação celular foi induzida utilizando o meio de cultivo suplementado com 10 nM de dexametasona, 5,4 mM de  $\beta$ -glicerofosfato e 300  $\mu$ M de ácido ascórbico. O meio de diferenciação foi trocado a cada 3 dias e após 1 e 3 semanas, a diferenciação celular foi analisada através da quantificação da fosfatase alcalina em relação a quantidade de proteínas totais. Neste ensaio as células foram lisadas com 0,2% de Triton X-100 por 20 minutos. Para a quantificação da fosfatase alcalina, 50  $\mu$ L da solução foi transferida para uma placa de 96 poços com 150  $\mu$ L da solução de trabalho do kit (ALP - *Quantichrom Bioassay System*). A quantificação foi feita através do cálculo indicado pelo fabricante, após a leitura em espectrofotômetro a 405 nm. Para a quantificação do total de proteínas, 150  $\mu$ L da solução foram transferidos para uma placa de 96 poços com 150  $\mu$ L da solução de trabalho do kit (*Thermo Scientific*) e em seguida encubada a 37 °C por 2 horas antes da leitura espectrofotômetro a 562 nm.

### 3.8.4 Análise estatística

Os ensaios de bioatividade foram realizados utilizando no mínimo 5 amostras de cada grupo, e os resultados são apresentados usando a média e desvio padrão. Para determinar a diferença estatística entre os grupos foi realizada a análise estatística de variância (ANOVA) e teste de comparação Tukey, utilizando o software Origin 8.0. A significância estatística foi considerada com os seguintes valores de p: (\*) para  $p < 0,05$ ; (\*\*) para  $p < 0,01$ ; e (\*\*\*) para  $p < 0,001$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos a partir da caracterização térmica, química, bioatividade e dissolução para as amostras de vidros e vitro cerâmicas. E resultados de caracterização estrutural e de propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidades e tenacidade à fratura) antes e pós teste de dissolução.

### 4.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Após os processos de fusão e recozimento as amostras de vidro V-PCNSr e V-PCNSrMg foram cristalizadas, num tratamento térmico duplo, nas temperaturas de nucleação a 410 °C e 470 °C para os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg (respectivamente) por 24 horas e nas temperaturas de crescimento 590 °C e 610 °C (respectivamente) por 24 horas, dando origem às amostras de vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg. A figura 17 apresenta imagens macroscópicas das superfícies das amostras. É possível observar a perda de transparência das amostras de vitrocerâmica, que adquiriram uma coloração esbranquiçada. Essa mudança ocorreu em virtude do processo de cristalização das amostras vítreas, devido a formação dos núcleos e posterior crescimento dos cristais.

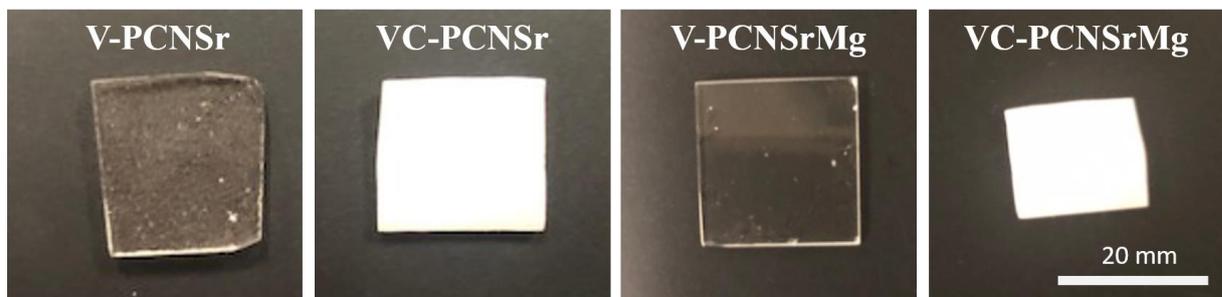


Figura 52. Análise macroscópicas das amostras de vidros e vitrocerâmicas obtidas.

Na figura 18, a partir das imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV), é observado as diferenças microscópicas nas superfícies dos vidros e das vitrocerâmicas apresentadas aqui com e sem ataque ácido. É possível identificar que as vitrocerâmicas não apresentaram uma fração cristalina total, havendo ainda uma parcela de vidro residual, conforma setas indicadas na figura 18 (c) e (f)). Como as imagens estão na mesma ampliação é possível observar que a vitrocerâmica VC-PCNSr (figura 18c) apresentou cristais menores homogeneamente distribuídos, em comparação a vitrocerâmica VC-PCNSrMg (figura 18d) que apresentou cristais maiores e distribuídos heterogeneamente.

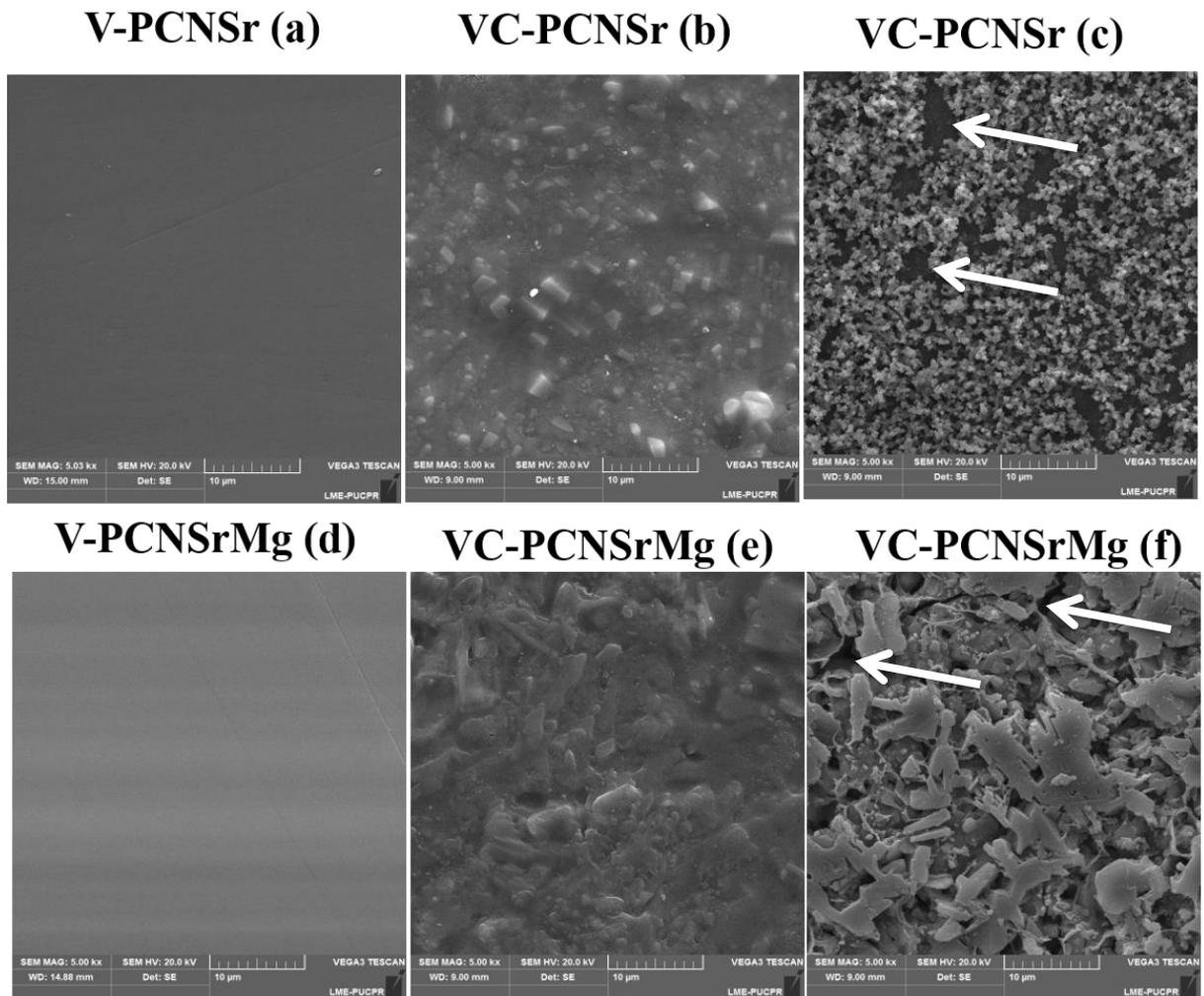


Figura 53. Imagens de microscopia eletrônica de varredura (5Kx) das amostras de vidros (a, b), vitrocerâmicas sem ataque ácido (b, e) e vitrocerâmicas com ataque ácido (c, f).

Como pode ser observado nas figura 18 ( c ) e ( f ) as vitrocerâmicas obtidas apresentaram tamanho, formato, distribuição dos cristais, quantidade de vidro residual diferentes, esses fatores influenciam diretamente as propriedades mecânicas e dissolução das mesmas, esses valores podem ser observados nos resultados seguintes.

Com o objetivo de confirmar a composição química calculada inicialmente, foi realizado a análise química através do EDS, onde foi encontrada a composição experimental dos vidros analisados, apresentada na tabela 10.

Tabela 25. Composição calculada (A) e experimental (B) (% em peso do óxido) para os vidros analisados.

Vidros	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		CaO		Na <sub>2</sub> O		SrO		MgO		Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
V-PCNSr	51,8	56,8	7,9	10,8	16,2	15,5	4,4	5,2	-	-	-	9,5
V-PCNSrMg	56,5	56,8	10,8	13,8	9,5	12,4	5,0	5,2	2,3	2,0	-	5,8

Comparando os valores experimentais da composição química medidos por EDS com a composição química calculada apresentada na tabela 10, é possível perceber que os valores experimentais dos componentes apresentaram alteração em comparação com os valores calculados devido à presença da alumina, oriunda do cadinho usado para a fusão e refusão dos vidros.

A alumina, além de influenciar na estrutura do vidro, também altera o balanço estequiométrico da composição final. O  $\text{Al}_2\text{O}_3$  atua como elemento intermediário, ou seja, age como modificador e como formador de rede, gerando um aumento das ligações cruzadas tridimensionais com os oxigênios. Ocorre uma substituição na ligação (P-O-P) por (Al-O-P), tornando a estrutura vítrea mais estável (El-Kheshen, et al., 2008).

#### 4.2 ANÁLISE TÉRMICA DIFERENCIAL

As curvas de DTA das composições V-PCNSr e V-PCNSrMg são apresentadas na figura 19, onde estão indicadas a temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), caracterizada por uma alteração na linha de base; temperatura de pico de cristalização ( $T_c$ ), caracterizada por um pico exotérmico, ou seja, a amostra libera energia para fazer a transformação e temperatura de fusão ( $T_f$ ), caracterizada por um pico endotérmico, onde a amostra absorve energia para fazer a transformação.

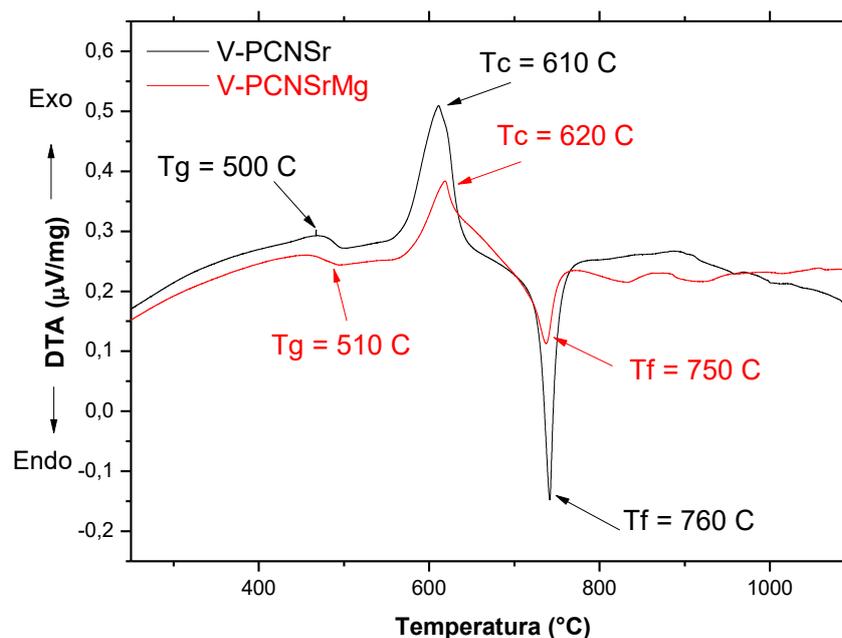


Figura 54. Curva do DTA dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg indicando as regiões de  $T_g$ ,  $T_c$  e  $T_f$ .

A partir dos resultados da análise térmica diferencial (figura 19 e tabela 11) é possível observar que os vidros V-PCNSr e V-PNSrMg apresentam um comportamento térmico semelhante, mesmo com composições químicas diferentes, a quantidade adicionada de MgO (e Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) não foi suficiente para gerar uma grande alteração no comportamento térmico do vidro V-PCNSrMg.

Tabela 26. Temperaturas características das amostras vítreas obtidas.

Composição	T <sub>g</sub> (°C)	T <sub>x(onset)</sub> (°C)	T <sub>c</sub> (°C)	T <sub>f</sub> (°C)
V-PCNSr	500	590	610	760
V-PCNSrMg	510	600	620	750

Com base nas informações de temperaturas obtidas no difratograma da figura 18 após ensaio de DTA, foi definido o ciclo de tratamento térmico para obtenção das amostras de vitrocerâmicas a partir dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg.

Para a escolha da temperatura de nucleação e crescimento, também foram feitos testes experimentais para ambas as composições de vidros fosfatos, tendo como base a temperatura de transição vítrea para a definição da temperatura de nucleação, e a temperatura de pico de cristalização para definir a temperatura de crescimento. Com o objetivo de melhorar as propriedades mecânicas dos vidros fosfatos através da cristalização, foi adotado um ciclo de tratamento térmico em duas etapas, com intuito de obter grãos pequenos e com morfologia uniforme.

#### 4.3 CARACTERIZAÇÃO MICROESTRUTURAL

Inicialmente o vidro foi caracterizado por meio da técnica de Difração de Raios-X com o objetivo de confirmar a sua característica vítrea. A figura 20 apresenta o difratograma de raios-X, onde é possível observar a natureza amorfa com um halo centrado em torno de  $2\theta = 30^\circ$ , para ambos os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg.

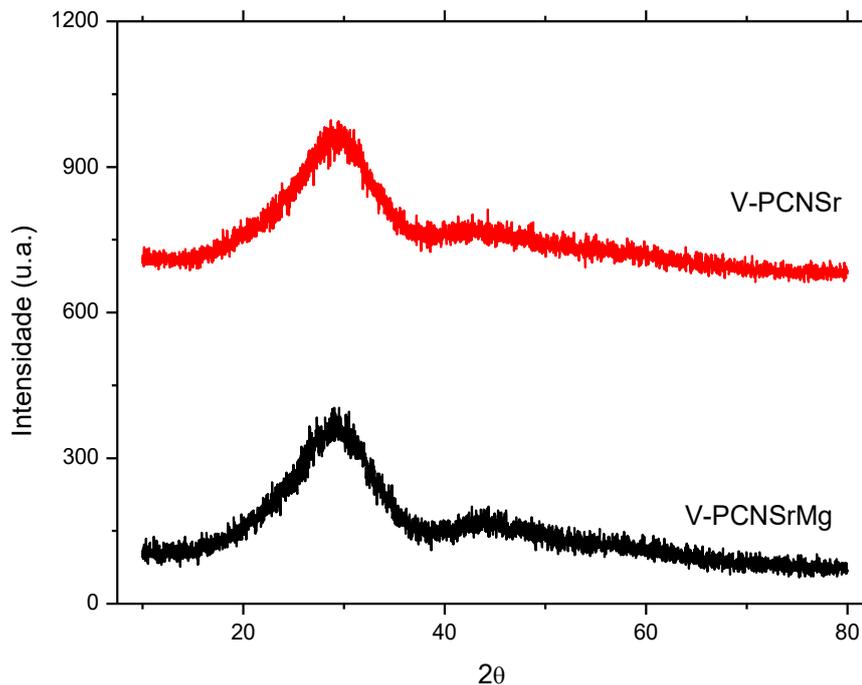


Figura 55. Difratogramas de raios-X obtidos para as amostras de vidros: V-PCNSr e V-PCNSrMg.

Após o tratamento térmico realizado nas amostras dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg foram obtidas amostras cristalinas, a quais passaram por análise de DRX, a fim de identificar as fases formadas, conforme figura 21.

Estudos anteriores indicam que a fase cristalina  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  é uma fase bioativa, ou seja, ela apresenta a capacidade de formar uma camada de hidroxiapatita (HAP) com o meio fisiológico. Como por exemplo, estudos realizados por Zhang e Santos, que obtiveram a fase  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ , a partir da cristalização de vidros fosfato de cálcio com fração molar de  $\text{CaO}/\text{P}_2\text{O}_5 > 1$  (Topalovic, et al., 2017).

A fase cristalina  $\text{Na}_4\text{Ca}(\text{PO}_3)_6$  encontrada tanto para a vitrocerâmica VC-PCNSr como para a VC-PCNSrMg, é uma fase conhecida e obtida em outros estudos de cristalização de vidros fosfatos do sistema ternário  $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO-Na}_2\text{O}$  (Fransk et al., 2001; Ahmed et al., 2004; Abou Neel et al., 2007). As fases cristalinas  $\text{Na}_3\text{PO}_4$  e  $\text{AlPO}_4$  para a vitrocerâmica VC-PCNSr e as fases  $\text{Sr}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$  para a vitrocerâmica VC-PCNSrMg, não são encontradas tão facilmente na literatura. Estudos indicam que a adição dos elementos modificadores como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , induz a formação de fases como fosfato de cálcio e sódio e fosfato de magnésio (Zhang e Santos, 2000; Satyanarayana et al., 2017).



Através da espectroscopia Raman foi identificado as bandas para os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg e vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg conforme observado na Figura 22 (Pemberton e Latifzadeh, 1991; Koo et al., 1997; Vedeanu et al., 2006; Lai et al., 2012).

Os espectros Raman dos vidros fosfatos analisados apresentaram bandas em  $360\text{ cm}^{-1}$  para o tipo de vibração que corresponde a ligação (O-P-O) e em  $525\text{ cm}^{-1}$  para a ligação P-O. Outras três bandas são observadas em  $736\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{O-P-O})_{\text{sim}}$  em  $\text{Q}_2$ , em  $1065\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{PO}_2)_{\text{sim}}$  em  $\text{Q}_1$  e  $1161\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{PO}_2)_{\text{sim}}$  em  $\text{Q}_2$ .

Os espectros Raman das vitrocerâmicas analisados demonstraram bandas em  $725\text{ cm}^{-1}$  para o tipo de vibração que corresponde a ligação  $(\text{P-O-P})_{\text{sim}}$ , em  $1046\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{PO}_3)_{\text{sim}}$  e  $1102\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{PO}_3)_{\text{assim}}$ , todas as bandas referentes a fase cristalina  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ .

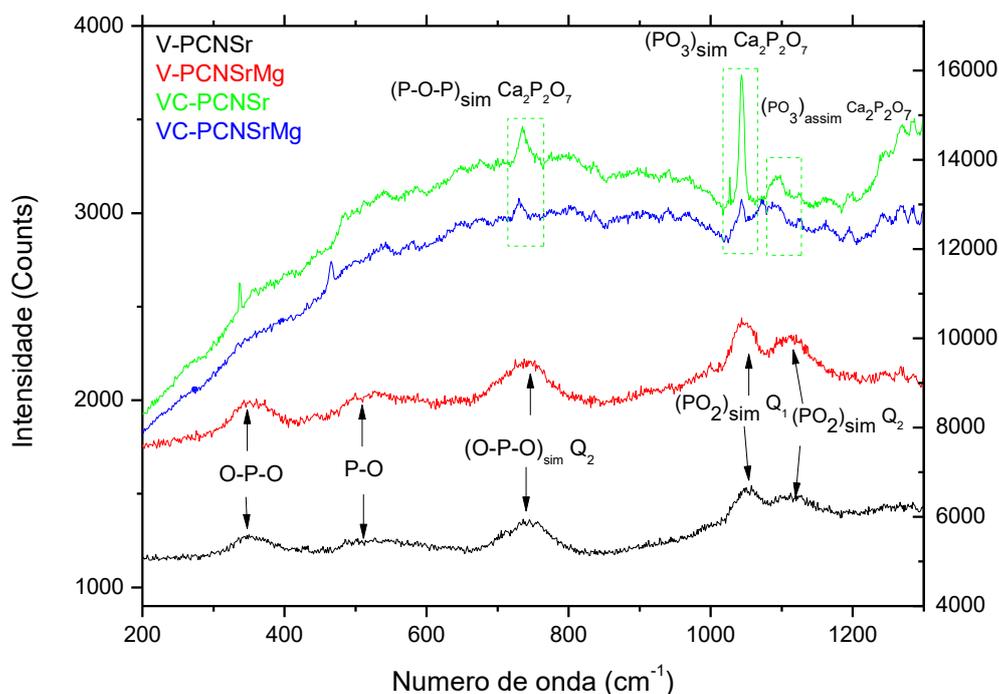


Figura 57. Espectros Raman obtidos para os vidros V-PCNSr, V-PCNSrMg e vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg.

As bandas identificadas para as amostras analisadas correspondem às vibrações das ligações dos vidros da fosfatos. As posições das bandas são sensíveis ao comprimento da cadeia de fosfatos. Com uma cadeia mais curta aumenta o número de grupos  $\text{Q}_1$ , sendo indicado pelo aparecimento do pico em  $1065\text{ cm}^{-1}$  para a ligação  $(\text{PO}_2)_{\text{sim}}$  em  $\text{Q}_1$  (Pemberton e Latifzadeh, 1991).

A banda a  $736\text{ cm}^{-1}$  no espectro dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg representa a ligação de oxigênios ligantes (P-O-P) do grupo  $Q_2$ . A alteração na estrutura pela adição de estrôncio é evidenciada pela presença de duas bandas a  $1065\text{ cm}^{-1}$  e  $1161\text{ cm}^{-1}$ , correspondente às ligações de oxigênios não ligantes de  $(\text{PO}_2)_{\text{sim}}$  em grupos  $Q_1$  e  $(\text{PO}_2)_{\text{sim}}$  em grupos  $Q_2$ , respectivamente.

Quando óxidos modificadores de rede são adicionados a composição do vidro ocorre a conversão de ligações de oxigênios ligantes (P-O-P) em ligações de oxigênios não ligantes (P-O-Sr<sup>+</sup>), ou seja, ocorre a despolimerização da rede vítrea de fosfato. Contudo não foi possível observar diferença nos espectros dos vidros com e sem a adição de MgO, muito provável pela quantidade adicionada de MgO que foi de 5% (mol).

#### 4.5 TAXA DE DISSOLUÇÃO

Para que os biomateriais possam ser usados como implantes bioabsorvíveis a taxa de dissolução precisa ser controlada, ou seja, precisa ser na proporção de recuperação do organismo. A regeneração do osso é um processo complexo e a velocidade é diferente para cada indivíduo, entretanto, um valor médio para uma regeneração satisfatória é de 6 a 8 semanas (24 a 32 dias) após uma fratura ou intervenção cirúrgica (Terjesen, 1984).

Todas as composições de vidro e vitrocerâmicas foram ensaiadas na mesma condição e após o período de imersão definidos em norma (ISO 10993) foi observada uma variação na perda de massa em função do tempo, conforme Figura 23 e tabela 14.

Comparando os valores de dissolução dos vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg, percebe-se que não houve diferença significativa entre as amostras. Para todos os períodos de imersão os valores foram próximos, demonstrando um comportamento semelhante para ambas as amostras de vidro no teste de dissolução.

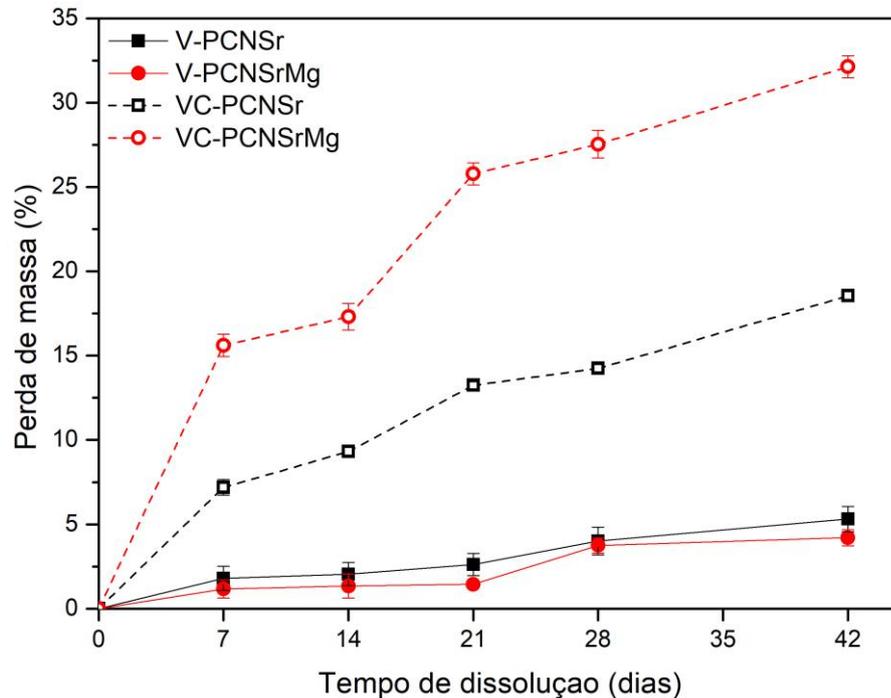


Figura 58. Variação de perda de massa em função do tempo de degradação para os vidros e vitrocerâmicas.

De acordo com o trabalho realizado durante o mestrado, esperava-se que o vidro V-PCNSr apresentasse uma perda de massa maior que o vidro V-PCNSrMg, já que os vidros fosfatos possuem baixa durabilidade química, resultando em maior taxa de solubilidade (Kiani et al., 2012). Além disso, é possível sugerir que a taxa de dissolução maior para o vidro V-PCNSr está relacionada com a adição do estrôncio ao vidro fosfato, pois o estrôncio, atua como elemento modificador de rede, alterando a estrutura vítrea através da formação de oxigênios não ligantes.

A taxa de dissolução semelhante para os vidros (V-PCNSr e V-PCNSrMg), pode ser justificada, pela presença da alumina (tabela 9) na composição final, devido à corrosão química em função da temperatura ocorrida no cadinho durante fusão e refusão do vidro. Pois, segundo El-Kheshen et al., 2008, pequenas adições de  $Al_2O_3$  diminui a taxa de dissolução, mas não diminuiu a bioatividade dos vidros. Além disso, pela análise do espectro Raman (figura 22) é possível observar que a adição de MgO não foi suficiente para afetar a estrutura do vidro.

Para as vitrocerâmicas, quando comparado os valores de dissolução da composição VC-PCNSr e VC-PCNSrMg, percebe-se que houve diferenças significativas entre as amostras e entre as amostras dos vidros precursores, isso pode ser visto na tabela 12.

Tabela 27. Valor médio das variações de perda de massa para os vidros ensaiados após período de imersão.

<i>Amostra</i>	<i>Período (dias)</i>	<i>Perda de massa (%)</i>
V-PCNSr	7	1,80 ± 0,72
	14	2,05 ± 0,68
	21	2,62 ± 0,65
	28	4,01 ± 0,82
	42	5,31 ± 0,75
V-PCNSrMg	7	1,17 ± 0,55
	14	1,34 ± 0,72
	21	1,44 ± 0,19
	28	3,75 ± 0,45
	42	4,21 ± 0,48
VC-PCNSr	7	7,19 ± 0,46
	14	9,32 ± 0,33
	21	13,24 ± 0,21
	28	14,24 ± 0,23
	42	18,54 ± 0,31
VC-PCNSrMg	7	15,61 ± 0,67
	14	17,31 ± 0,78
	21	25,78 ± 0,65
	28	27,54 ± 0,81
	42	32,13 ± 0,65

Após o teste de dissolução a superfície das amostras foram analisadas no MEV, e as imagens podem ser observadas na figura 24. É possível observar nas figuras uma superfície livre de poros, porém com leves depressões, as quais indicam os locais de dissolução na superfície dos vidros.

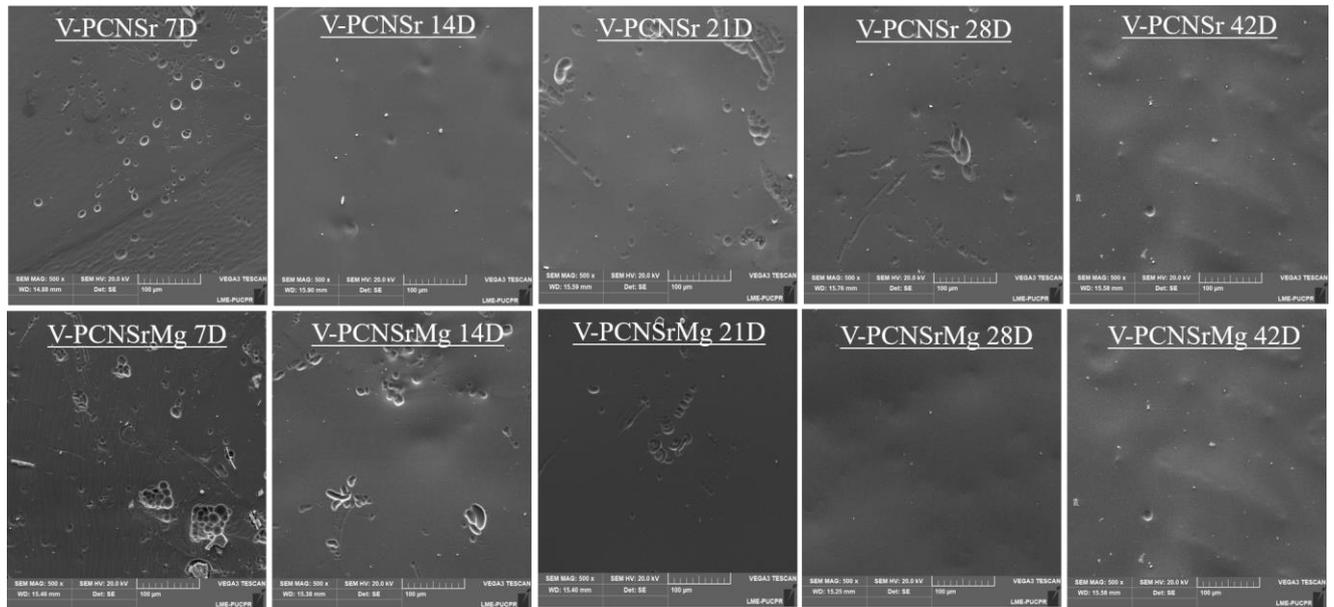


Figura 59. Imagens de MEV (0,5Kx) após o teste de dissolução nos períodos de 7 a 42 dias para os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg.

Para todos os períodos de imersão houve uma perda de massa maior para as vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg do que para as amostras vítreas nos mesmos períodos de teste. Entre as amostras cristalinas, a vitrocerâmica VC-PCNSrMg foi a que apresentou a maior perda de massa em todos os períodos de ensaio.

A vitrocerâmica VC-PCNSr levou 42 dias para apresentar uma dissolução de 18,54 %  $\pm$  0,31, sendo que a composição VC-PCNSrMg apresentou a mesma perda aos 14 dias de teste. Da mesma maneira, as superfícies das vitrocerâmicas foram analisadas após a dissolução, para os períodos de 7, 14, 21, 28 e 42 dias, conforme figura 25. A superfície das vitrocerâmicas apresentaram poros provenientes da dissolução. A vitrocerâmica VC-PCNSr que apresentou menor perda de massa, apresentou menos e menores poros, em contraste com a vitrocerâmica VC-PCNSrMg que apresentou maior perda de massa, apresentou mais poros e maiores.

A dissolução das vitrocerâmicas de fosfato de cálcio em ambiente fisiológico é complexa e depende de alguns fatores como: composição da fase precipitada, do tamanho dos cristais, rugosidade da superfície e da quantidade de vidro residual (Cai et al., 2011).

Segundo estudos realizados por Dias et al. (2003), foi verificado que a partir da cristalização de vidros fosfatos de cálcio, usando o  $K_2O$  e o  $MgO$  como agentes nucleantes, foi possível obter fases cristalinas bioabsorvíveis como a  $Ca_2P_2O_7$  e a adição do óxido de potássio aumentou a taxa de dissolução da vitrocerâmica.

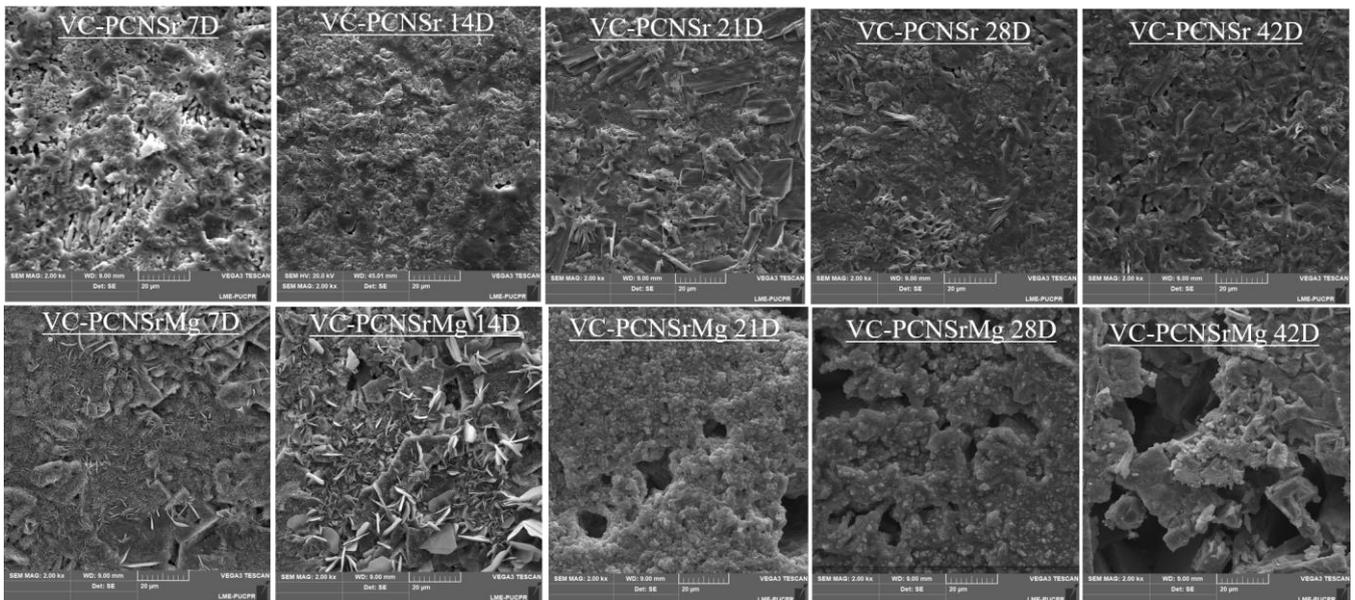


Figura 60. Imagens de MEV (2Kx) após o teste de dissolução nos períodos de 7 a 42 dias para as vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg.

A fim de identificar as fases cristalinas que dissolveram durante o teste de dissolução, as amostras de vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg foram analisadas por DRX após o teste de dissolução.

A partir da análise da figura 26, pode-se perceber que a vitrocerâmica VC-PCNSr apresentou as seguintes fases:  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_4\text{Ca}(\text{PO}_3)_6$ ,  $\text{Na}_3(\text{PO}_4)$ ,  $\text{AlPO}_4$  antes do teste de dissolução (0D), e após os períodos de 7, 14, 21, 28 e 42 dias, todas as fases ainda são existentes, contudo, percebe-se uma diminuição na intensidade dos picos de diversas fases em comparação ao início do teste. Para os períodos de 7, 14 e 21 dias as fases identificadas são as mesmas do que aquelas antes do ensaio de dissolução (0D). Aos 21 dias é possível perceber alguns picos que aos 14 dias não apareciam mais, aos 28 dias, somente um pico relacionado a fase  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  não foi identificado, aos 42 dias é possível perceber a não existência de determinados picos de todas as fases identificadas no dia zero. Surgem algumas hipóteses como a precipitação de elementos durante o processo de dissolução e o aparecimento de fases no interior da vitrocerâmica, que são reveladas ao longo do teste de dissolução.





#### 4.6 PROPRIEDADES MECÂNICAS DOS VIDROS E VITROCERÂMICAS

Os resultados das propriedades mecânicas antes do teste de dissolução para os vidros e vitrocerâmicas são apresentados nas Figuras 28 a 30 e na tabela 13.

Para as amostras vítreas, os valores de dureza apresentados na tabela 13 e figura 28, não apresentaram diferenças significativas, enquanto o vidro V-PCNSr apresentou valor de dureza de 4,70 GPa ( $\pm 0,23$ ) e o vidro V-PCNSrMg apresentou 4,87 GPa ( $\pm 0,11$ ). Indicando que a adição do MgO não influenciou no aumento da dureza, isso pode ser evidenciado (figura 22), pelo espectro Raman das amostras de vidros, que apresentam as mesmas bandas de ligações.

Para as amostras vitrocerâmicas ocorreu um aumento nos valores de dureza, tanto para a vitrocerâmica VC-PCNSr como para a VC-PCNSrMg, aumentando para 5,44 GPa ( $\pm 0,14\%$ ) e 5,06 GPa ( $\pm 0,25$ ), respectivamente. Dessa maneira, verifica-se que o processo de cristalização influenciou nos valores de dureza. A vitrocerâmica VC-PCNSr foi a que apresentou uma diferença significativa em comparação ao seu vidro de origem, variando de 4,70 GPa ( $\pm 0,11$ ) para 5,44 GPa ( $\pm 0,25$ ), contudo a vitrocerâmica VC-PCNSrMg não apresentou diferença significativa nos valores de dureza quando comparado com os valores do vidro precursor.

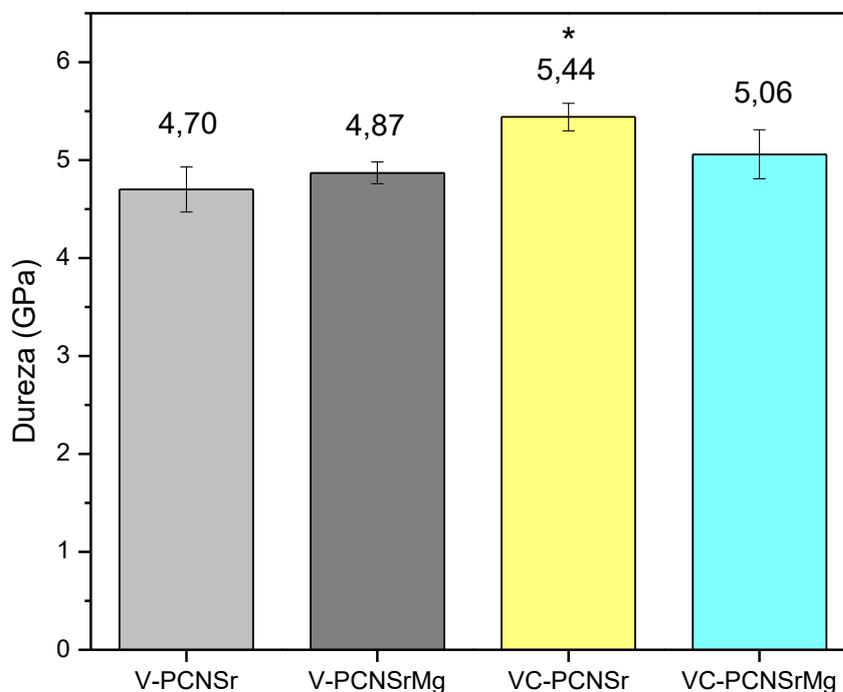


Figura 63. Valores de dureza (GPa) dos vidros e vitrocerâmicas medidos por indentação Vickers (\* indica uma diferença estatisticamente significativa,  $p < 0,05$ ).

O comportamento do módulo de elasticidade para as amostras analisadas não foi semelhante ao comportamento da dureza, pois os valores do módulo de elasticidade apresentados na tabela 13 e figura 29, indicam um aumento significativo no valor de 56,88 GPa ( $\pm 1,98$ ) para o vidro V-PCNSr quando comparado com o vidro V-PCNSrMg de 65,68 GPa ( $\pm 3,00$ ), isso pelo fato do módulo de elasticidade ser uma medida indireta das forças de ligações interatômicas, e a energia ligação Mg-O (363,2 KJ/mol) ser maior que a energia de ligação de Na-O (256,1KJ/mol).

O processo de cristalização também influenciou o módulo de elasticidade, pois ocorreu um aumento significativo nos valores das amostras vitrocerâmicas em comparação as amostras vítreas. É possível observar um aumento significativo para a vitrocerâmica VC-PCNSr de 84,25 GPa ( $\pm 2,45\%$ ) quando comparado com o valor do vidro de origem (56,88 GPa  $\pm 1,98\%$ ). Contudo, a vitrocerâmica VC-PCNSrMg não apresentou um aumento significativo em comparação ao seu vidro de origem, variando de 65,68 GPa ( $\pm 3,00\%$ ) para 66,47 GPa ( $\pm 3,02\%$ ).

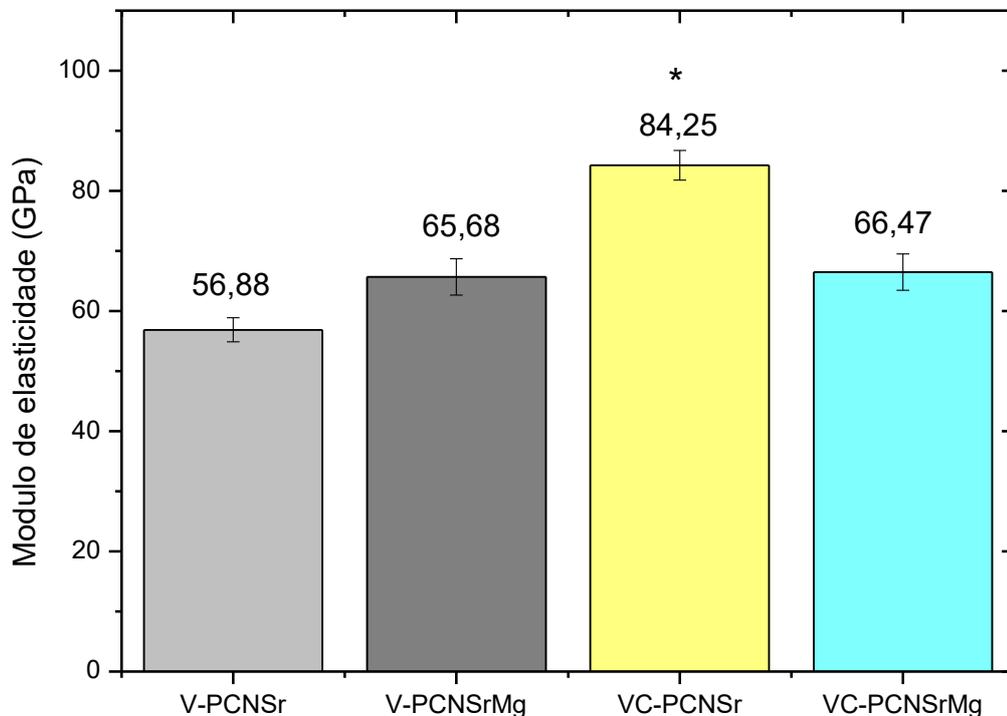


Figura 64. Valores de módulo de elasticidade (GPa) medidos por nanoindentação (\* indica uma diferença estatisticamente significante,  $p < 0,05$ ).

Os valores de tenacidade à fratura das amostras vítreas, apresentados na tabela 13 e figura 30, mostram que não houve diferenças significativas: enquanto o vidro V-PCNSr apresentou valor de  $0,36 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  ( $\pm 0,04$ ), o vidro V-PCNSrMg apresentou  $0,45 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  ( $\pm 0,05$ ). Da mesma maneira que para a dureza, o MgO não influenciou no aumento da tenacidade à fratura, pois ambas as amostras apresentaram valores próximos, isso pode ser evidenciado (figura 22), pelo espectro Raman das amostras de vidros, que apresentam as mesmas bandas de ligações.

Para as amostras vitrocerâmicas ocorreu um aumento nos valores de tenacidade à fratura tanto para a vitrocerâmica VC-PCNSr como para a VC-PCNSrMg. Dessa maneira, verifica-se que o processo de cristalização influenciou nos valores de tenacidade à fratura. A vitrocerâmica VC-PCNSr foi a que apresentou a maior diferença em comparação ao seu vidro de origem, variando de  $0,36 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  ( $\pm 0,04$ ) para  $0,85 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  ( $\pm 0,03$ ). E a vitrocerâmica VC-PCNSrMg apresentou uma diferença significativa, variando de  $0,45 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$  ( $\pm 0,05$ ) para  $0,63 \text{ GPa}$  ( $\pm 0,06$ ).

Os resultados das propriedades mecânicas foram afetados pelas alterações na estrutura vítrea dos vidros analisados devido a presença dos óxidos de magnésio e de alumínio (conforme tabela 11). Os resultados encontrados de dureza e tenacidade à fratura para os vidros com e sem adição de MgO, apresentaram pouca variação, porém estando na faixa do esperado para vidros bioativos (dureza: 4 a 5 GPa) e (tenacidade à fratura:  $0,5$  a  $1 \text{ MPa}\cdot\text{m}^{1/2}$ ) (Boccaccini et al., 2017). Para o módulo de elasticidade, o vidro com MgO apresentou maior valor do que o vidro sem adição de MgO, mas estando na faixa do esperado para vidros desse sistema (45 GPa) (Boccaccini et al., 2017).

Para as vitrocerâmicas, os resultados das propriedades mecânicas analisadas, foram afetados pelo processo de cristalização. Isso é indicado pelos valores de dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura da vitrocerâmica (VC-PCNSr). O que não aconteceu para a vitrocerâmica (VC-PCNSrMg) onde seus valores de dureza e módulo de elasticidade não apresentaram diferença nos valores em comparação aos vidros precursores. Mas para a tenacidade à fratura ocorreu um aumento significativo para a vitrocerâmica (VC-PCNSrMg) em comparação a ambos os vidros.

O aumento nos valores de tenacidade à fratura após a cristalização é um resultado esperado pois conforme trabalhos anteriores (Hu et al., 2008; Margha et al., 2009; Peitl et al., 2012; Serbena et al., 2015), o aumento da fração cristalina melhora as propriedades mecânicas, gerando um aumento na tenacidade à fratura.

Quando comparado os valores das propriedades mecânicas medidas para as vitrocerâmicas, a VC-PNSrMg apresentou um aumento menor de tenacidade a fratura, uma hipótese para isso seria o tamanho, formato e distribuição não uniforme dos cristais formados durante a cristalização dessa vitrocerâmica, figura 18 (f), em comparação com a figura 18 (c) onde a vitrocerâmica (VC-PCNSr) apresentou cristais menores, com forma e distribuição mais uniformes, apresentou melhores valores de tenacidade a fratura. Segundo Jha et al. (2015) e Holand e Beall (2002), a microestrutura desenvolvida durante a cristalização afeta as propriedades mecânicas das vitrocerâmicas, devido ao tipo, fração e homogeneidade das fases cristalinas, tamanho do grão, forma e orientação dos cristais obtidos.

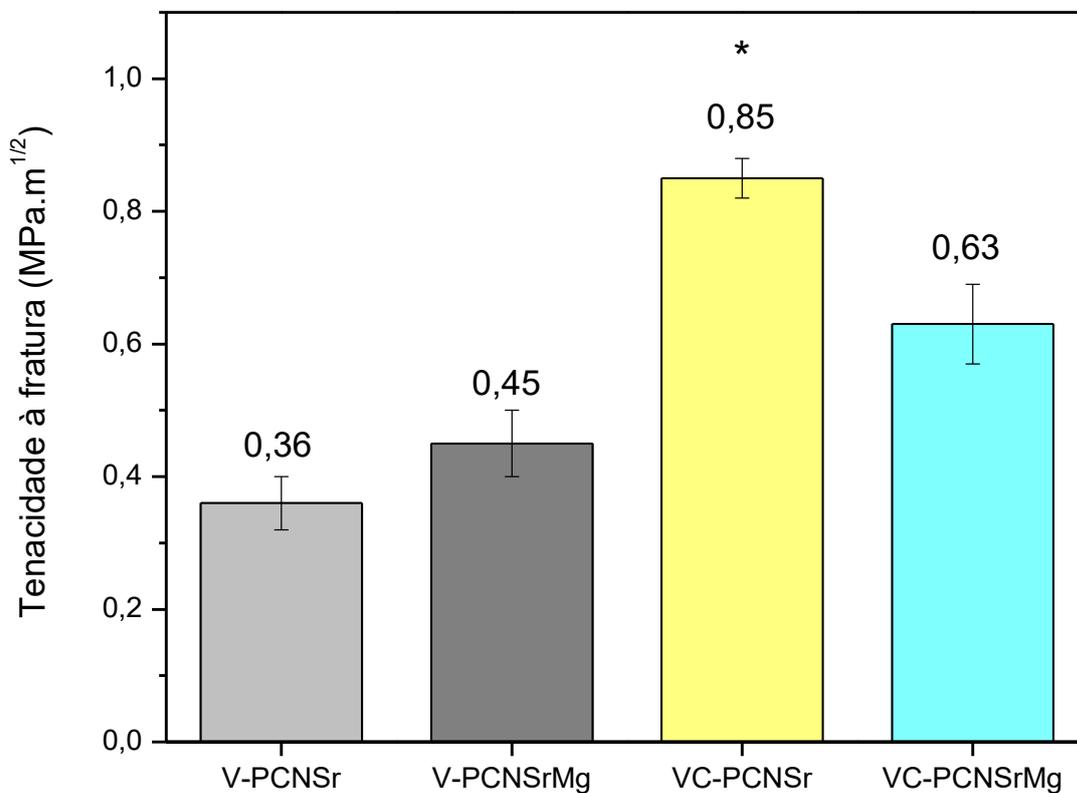


Figura 30. Valores de tenacidade à fratura (MPa.m<sup>1/2</sup>) medidos por indentação Vickers (\*p < 0,05).

Tabela 28. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura dos vidros e vitrocerâmicos analisados.

Amostras	c/a	Kc (MPa.m <sup>1/2</sup> )	Dureza (GPa)	Módulo de elasticidade (GPa)
	Média	Média	Média	Média
V-PCNSr	3,50	0,36 ± 0,04 %	4,70 ± 0,203%	56,88 ± 1,908%
V-PCNSrMg	3,21	0,45 ± 0,05%	4,87 ± 0,101%	65,68 ± 3,010%
VC-PCNSr	2,53	0,85 ± 0,03%	5,44 ± 0,104%	84,25 ± 2,405%
VC-PCNSrMg	2,51	0,63 ± 0,06%	5,06 ± 0,205%	66,47 ± 3,002%

Após o ensaio de dissolução foi medido a dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura para cada período de imersão (7, 14, 21, 28 e 42 dias) nas amostras de vidros (V-PCNSr e V-PCNSrMg) e vitrocerâmicas (VC-PCNSr e VC-PCNSrMg). Os valores encontrados podem ser observados nas figuras da 30 (a, b, c) e nas tabelas 14 e 15.

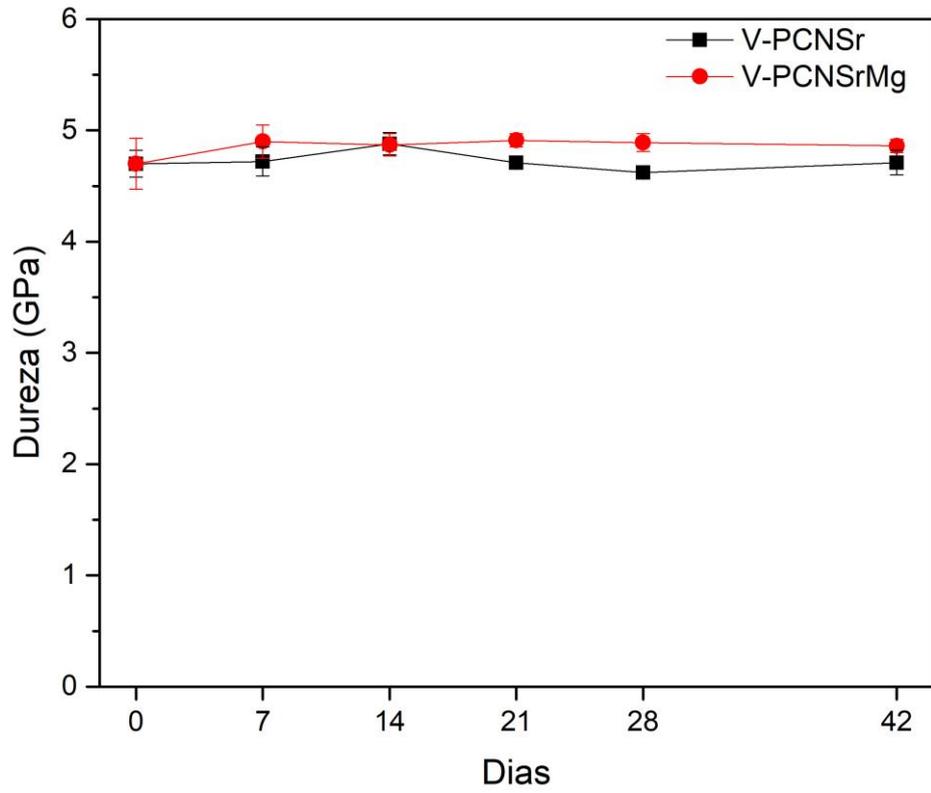
Os valores de dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura encontrados para os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg, antes (0D) e após o teste de dissolução (7, 14, 21, 28 e 42 dias) são apresentados na figura 31 (a, b, c, respectivamente). É possível perceber que os valores de dureza, módulo de elasticidade e tenacidade fratura após a dissolução não apresentam diferenças significativas entre os períodos de teste (de 0 a 42 dias). O que evidencia que os vidros V-PCNSr e V-PCNSrMg mantém as propriedades mecânicas durante o processo de dissolução pelo menos até 42 dias que foi o período máximo analisado. Isso é verificado na figura 23 onde os valores máximos de perda de massa são de 5,31 ± 0,75% (V-PCNSr) e 4,21 ± 0,45% (V-PCNSrMg) e na figura 24 onde as superfícies dos vidros apresentam leves depressões.

Tabela 29. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura do vidro V-PCNSr analisado pós dissolução.

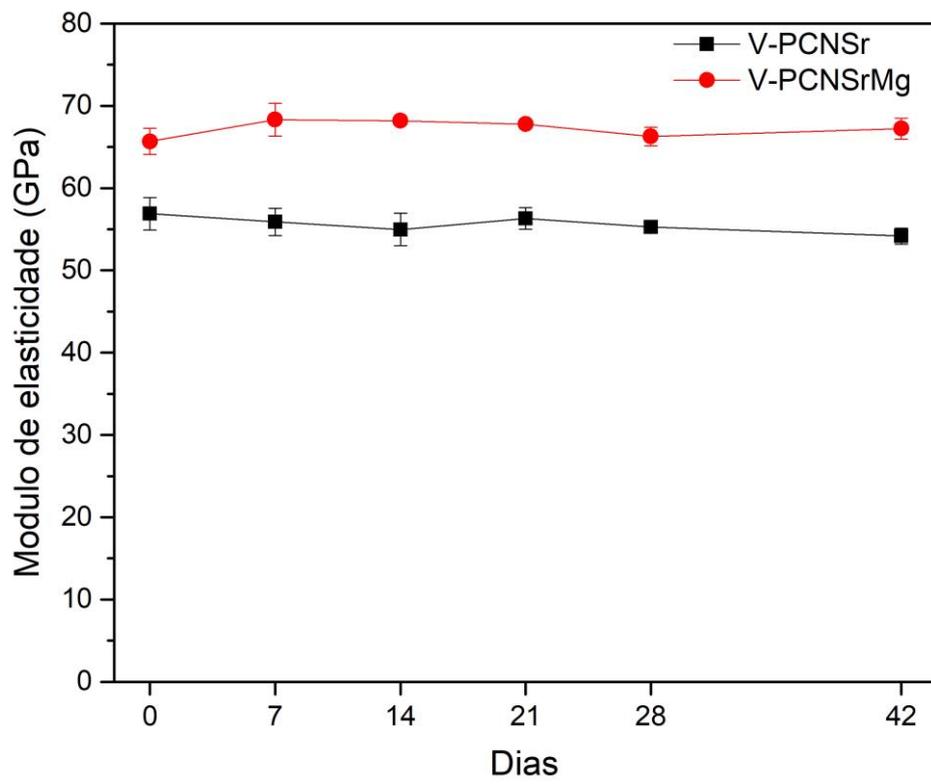
Amostras	c/a	Kc (MPa.m <sup>1/2</sup> )	Dureza (GPa)	Módulo de elasticidade (GPa)
	Média	Média	Média	Média
7 dias	3,17	0,35 ± 0,01 %	4,72 ± 0,103%	55,9 ± 1,605%
14 dias	3,16	0,36 ± 0,02%	4,88 ± 0,110%	54,97 ± 1,907%
21 dias	3,00	0,37 ± 0,01%	4,71 ± 0,06%	56,32 ± 1,901%
28 dias	2,59	0,36 ± 0,02%	4,62 ± 0,05%	55,27 ± 0,509%
42 dias	2,58	0,37 ± 0,01%	4,71 ± 0,101%	54,16 ± 0,906%

Tabela 30. Valores médios de dureza e tenacidade à fratura do vidro V-PCNSrMg analisado pós dissolução.

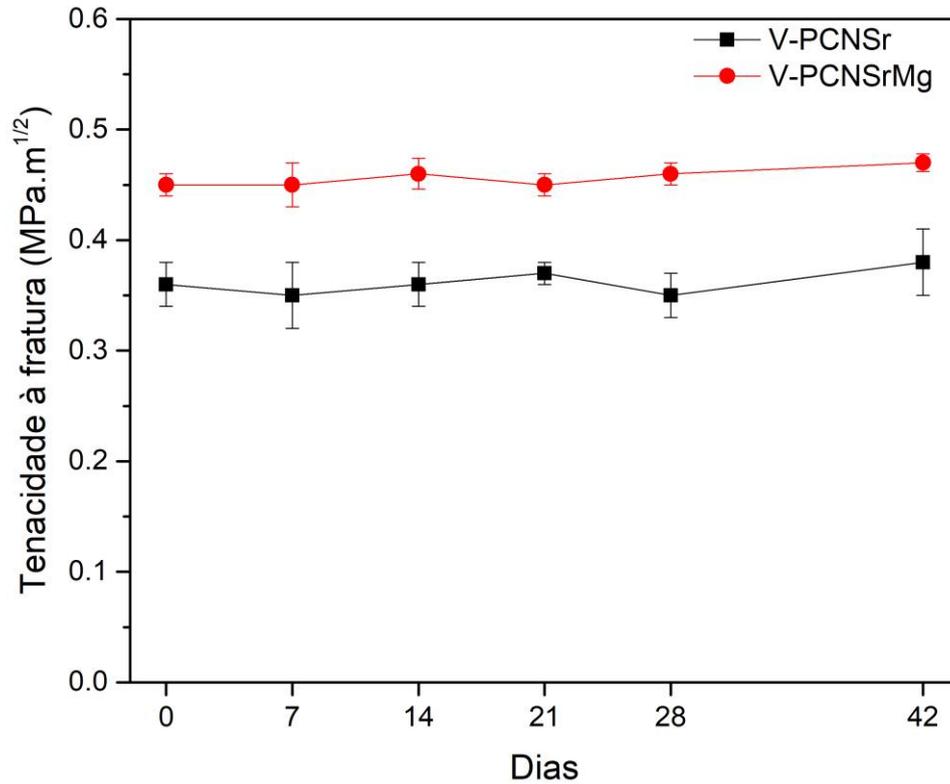
Amostras	c/a	Kc (MPa.m <sup>1/2</sup> )	Dureza (GPa)	Módulo de elasticidade (GPa)
	Média	Média	Média	Média
7 dias	3,19	0,45 ± 0,02 %	4,90 ± 0,105%	68,31 ± 1,908%
14 dias	2,77	0,46 ± 0,01%	4,87 ± 0,100%	68,19 ± 0,406%
21 dias	3,08	0,45 ± 0,02%	4,91 ± 0,06%	67,78 ± 0,403%
28 dias	2,91	0,46 ± 0,01%	4,89 ± 0,08%	66,29 ± 1,103%
42 dias	2,92	0,47 ± 0,02%	4,86 ± 0,06%	67,23 ± 1,208%



(a)



(b)



(c)

Figura 31. Propriedades mecânicas pós teste de dissolução para os vidros: a) dureza (GPa), b) módulo de elasticidade (GPa), c) tenacidade a fratura (MPa.m<sup>1/2</sup>).

Não foi possível medir as propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura) das vitrocerâmicas VC-PCNSr e VC-PCNSrMg após o teste de dissolução, usando a mesma técnica adotada antes da dissolução (indentação Vickers e Berkovich). Isso aconteceu pois, após o ensaio de dissolução as superfícies das vitrocerâmicas ficaram amolecidas, impossibilitando a indentação, devido alta taxa de dissolução apresentada pelas vitrocerâmicas (figura 23 e 25). Na figura 32, é possível observar a solução após 21 dias de ensaio de dissolução para as amostras de vidro (figura 32 a e b) e de vitrocerâmicas (figura 32 c e d). Nas amostras que apresentaram uma menor taxa de dissolução a solução permaneceu transparente, entretanto para as amostras de vitrocerâmica a solução se tornou turva, devido à maior taxa de dissolução apresentada, especialmente na amostra VC-PCNSrMg (figura 32 d) que apresentou uma perda de massa de 25,8% aos 21 dias.

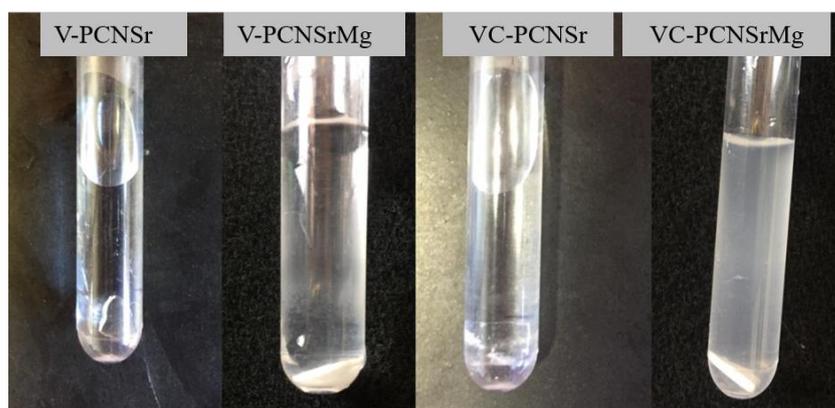


Figura 65. Imagens da solução e amostra após 21 dias de teste de dissolução.

Em virtude da dificuldade de medir as propriedades mecânicas a partir de métodos por indentação durante o teste de dissolução para as vitrocerâmicas, foi decidido por utilizar a técnica de esferas sobre três esferas, foram feitas inúmeras tentativas, para obter amostras cilíndricas e polidas para o teste, porém com pouco sucesso, em relação a quantidade e homogeneidade de amostras vítreas necessárias para o teste.

#### 4.7 BIOATIVIDADE DOS VIDROS E VITROCERÂMICAS

##### 4.7.1 Teste de bioatividade a partir da análise dos produtos da dissolução

A partir da análise do gráfico de alamarBlue™ reduzido (figura 33) é possível perceber que todas as amostras, tanto de vidros como de vitrocerâmicas, não apresentaram um comportamento citotóxico, pois a proliferação das células de fibroblastos não foi inibida. Os resultados indicam que os vidros e as vitrocerâmicas apresentam uma viabilidade celular aos 7 dias, acima de 70%. O que indica que não são citotóxicos, pois segundo a norma ISO 10993-5, materiais são considerados citotóxicos quando apresentam viabilidade celular abaixo de 30%.

Outros estudos indicam que os íons gerados pela dissolução de materiais bioabsorvíveis, afetam a proliferação e diferenciação celular, portanto é importante a sua investigação (Daguano et al., 2019; Crovace et al., 2016; Fu et al., 2009).

A partir da observação das imagens de microscopia óptica, figuras 34 e 35, é possível observar que não houve inibição da proliferação celular quando as células foram cultivadas nos extratos das amostras de vidros e vitrocerâmicas, pois para 1 dia as células foram aderidas aos poços com extrato das amostras, aos 4 dias ocorre um aumento na proliferação na presença do extrato das amostras e aos 7 dias as células atingiram a confluência, por ocuparem toda superfície disponível do fundo do poço com extrato da amostra.

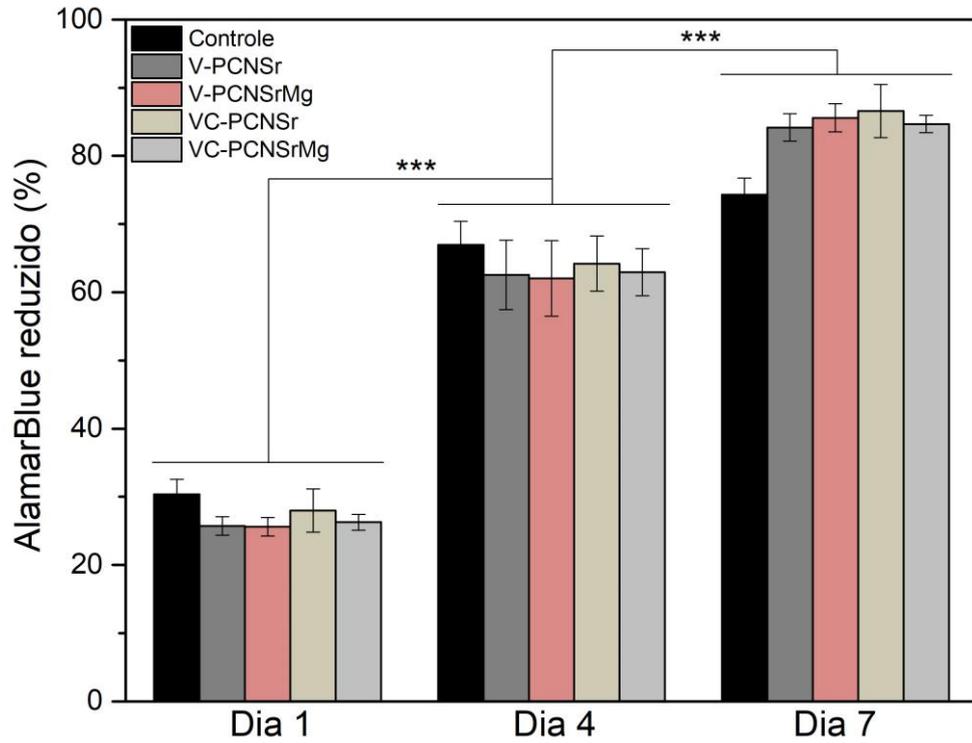


Figura 66. Viabilidade celular analisada à partir da porcentagem de alamarBlue™ reduzido após 1, 4 e 7 dias de cultivo dos fibroblastos em presença dos extratos de vidros e da vitrocerâmicas. \*\*\* $p < 0.001$ .

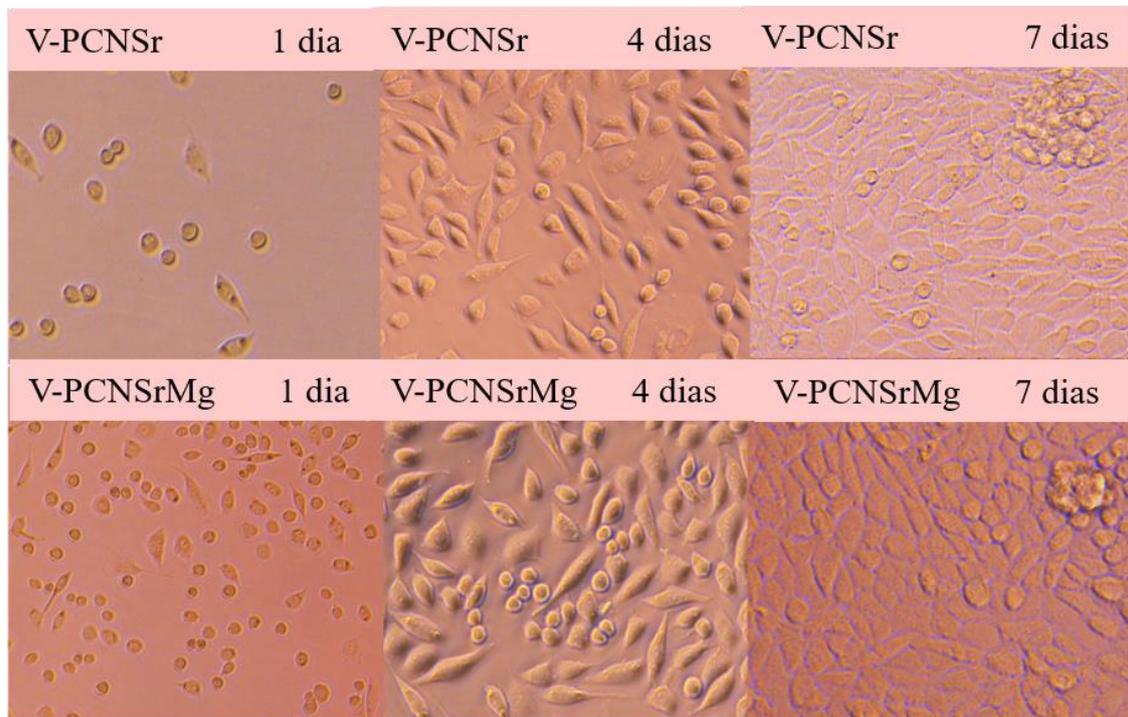


Figura 67. Imagens de MEV após ensaio de alamarBlue™ para os vidros nos períodos de 1, 4 e 7 dias.

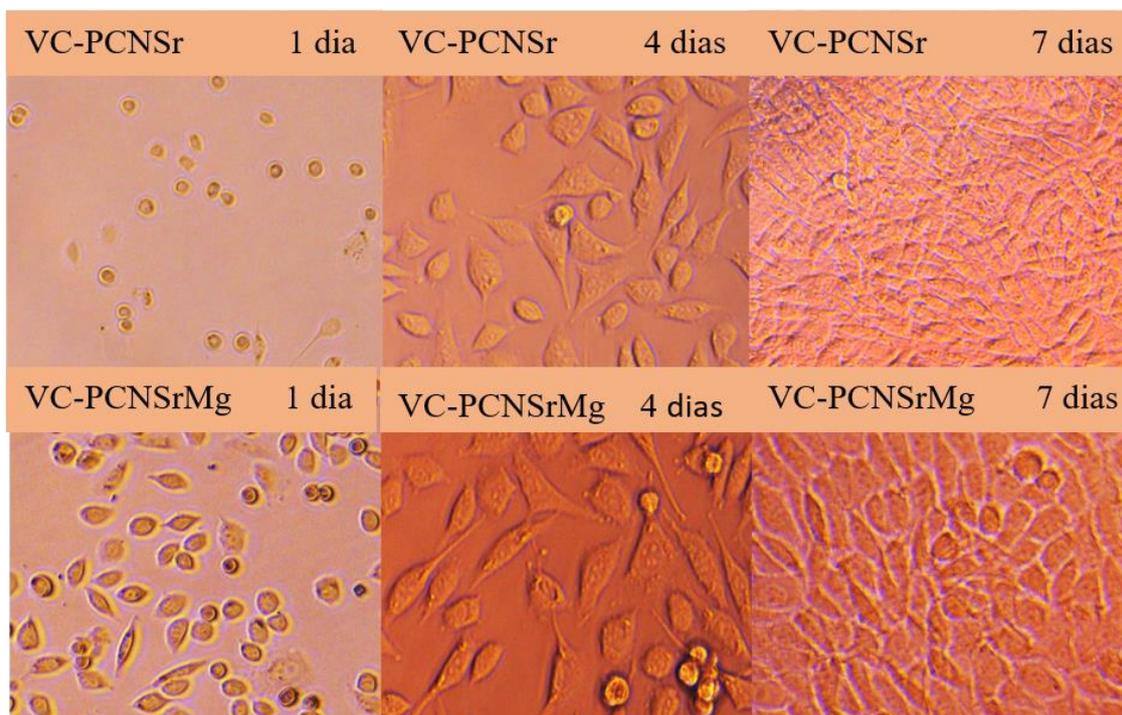


Figura 68. Imagens de MEV após ensaio de alamarBlue™ para as vitrocerâmicas nos períodos de 1, 4 e 7 dias.

Os resultados apresentados na figura 33, 34 e 35 indicam que a adição de MgO e o processo de cristalização não afetou a bioatividade das amostras analisadas. Segundo estudos anteriores (Holand e Beall, 2002; Massardo, 2011; Jha et al., 2015; Serbena et al., 2015), o processo de cristalização melhora as propriedades mecânicas, mas diminui a bioatividade dos materiais, o que não aconteceu para as vitrocerâmicas analisadas nesse trabalho.

Os resultados de bioatividade para os vidros está atrelado aos principais íons gerados durante o processo de dissolução para a produção do extrato, que segundo Abou Neel et al. (2014), os íons gerados durante a dissolução de vidros fosfatos não são citotóxicos, mas que promovem uma resposta celular benéfica para o organismo, como o crescimento de tecido ósseo.

Para as vitrocerâmicas os bons resultados de bioatividade se dá pela fase cristalina  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$  encontrada em ambas as vitrocerâmicas, que são conhecidas na literatura como fases bioativas e bioabsorvíveis (Intawin, 2018; Zhang e Santos, 2000).

#### 4.7.2 Teste de bioatividade a partir da análise das superfícies

A partir da análise das figuras 36, não foi observado a diminuição da viabilidade celular, ou seja, a citotoxicidade das amostras para as células ADSC, após 4 e 7 dias de cultivo. Foi observado uma diferença estatisticamente significativa da quantidade de alamarBlue™ reduzido entre as células da vitrocerâmica VC-PCNSrMg e todos os outros grupos, tanto para 4 dias como para 7 dias. Somente sendo observado a diferença significativa entre 4 e 7 dias para as amostras V-PNSr e VC-PCNSr.

É conhecido que o cultivo de células sobre a superfície de vidros e vitrocerâmicas é muito desafiadora, pois em contato com meios aquosos a troca iônica que acontece na superfície do vidro ocasiona um aumento local do pH, o qual não colabora para uma correta adesão e proliferação celular.

Estudos mais detalhados são necessários para entender por que os resultados de bioatividade a partir da análise da superfície da vitrocerâmica VC-PCNSrMg ocasionaram uma menor viabilidade celular em comparação com a vitrocerâmica VC-PCNSr sem magnésio, já que não foi identificado diferença entre a viabilidade celular das células cultivadas nos extratos dessas amostras.

Como a vitrocerâmica VC-PCNSrMg não apresentou uma viabilidade celular satisfatória esse grupo foi descartado para os testes de diferenciação celular.

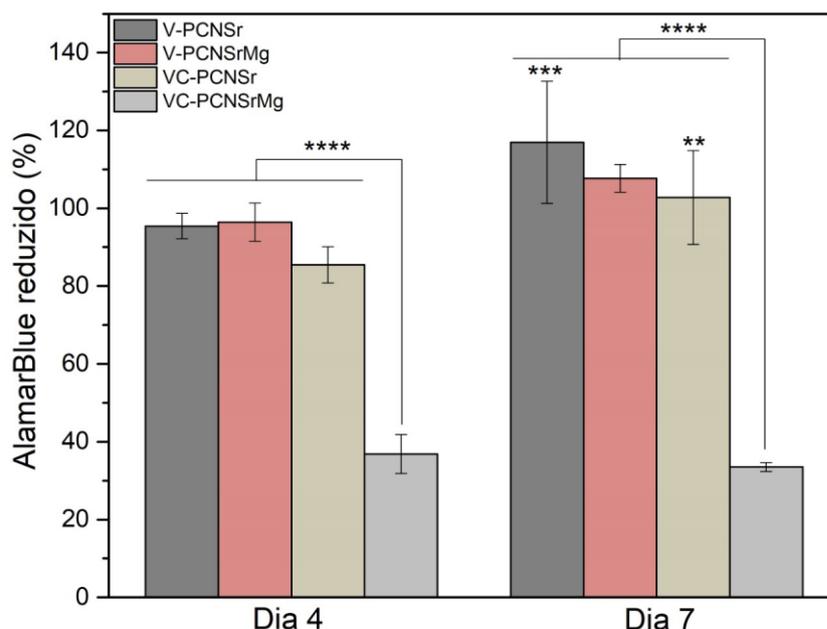


Figura 69. Viabilidade celular analisada à partir da porcentagem de alamarBlue™ reduzido após 4 e 7 dias de cultivo de células (ADSC) na superfície dos vidros e vitrocerâmicas. (\*\*) para  $p < 0,01$ ; e (\*\*\*) para  $p < 0,001$ .

A partir da análise da figura 37, não houve diferença estatística significativa entre a quantidade de ALP da semana 1 para a semana 3, mas foi observado uma diferença estatística significativa para a quantidade de proteína (ALP), ou seja, uma maior diferenciação das células nas amostras de vitrocerâmica VC-PCNSr.

O teste de ALP indica que as células são capazes de se diferenciar sobre a superfície das amostras após uma semana, mas como elas são cultivadas em um meio estático, o meio de cultivo não apresenta a mesma dinâmica de renovação, que ocorreria se fosse dentro do corpo humano, dessa maneira os produtos da dissolução não ficariam enclausurados no entorno da amostra. Testes futuros são necessários para determinar porque que a proliferação celular não aumentou após 3 semanas.

Foi definido um tempo de 24 horas de pré tratamento das amostras, inserindo as mesmas num meio de cultivo sem as células, para na sequência fazer o teste de cultivo celular sobre as superfícies, pois nesse tempo não teria ocorrido uma perda de massa significativa das amostras. Entretanto, quando as células foram colocadas sobre a amostra vitrocerâmica VC-PCNSrMg foi observado mudança de coloração do meio de cultivo, o que significa que ainda estava ocorrendo a troca iônica, mudando o pH e reduzindo a viabilidade celular na superfície dessa amostra. Sendo assim, para a vitrocerâmica VC-PCNSrMg o tempo de pré tratamento de 24 horas não foi suficiente para amenizar a troca iônica e realizar o teste de bioatividade na superfície da amostra.

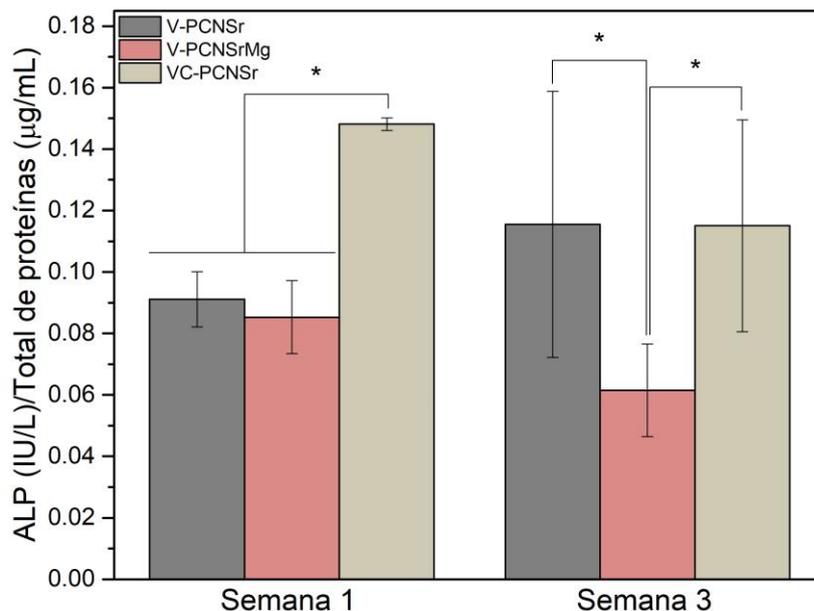


Figura 70. Quantidade de Fosfatase Alcalina nas superfícies dos vidros e vitrocerâmica, durante a semana 1 e semana 3 da diferenciação celular. Diferença estatística representada por (\*)  $p < 0,05$ .

De forma geral, o processo de cristalização contribuiu positivamente para a melhora nas propriedades mecânicas, aumentando a dureza, o módulo de elasticidade e a tenacidade à fratura das vitrocerâmicas em comparação aos vidros precursores, devido a presença de diferentes fases, tamanhos e formatos de cristais. Da mesma maneira afetou a taxa de dissolução, gerando uma variação entre as vitrocerâmicas, e sendo maior que os valores dos vidros precursores. E mesmo com uma taxa de dissolução mais alta, as vitrocerâmicas não apresentaram citotoxicidade, mas sim um comportamento bioativo.

A adição de MgO não apresentou uma influência significativa nas amostras de vidro quando comparadas, tanto na dureza, tenacidade a fratura e taxa de dissolução, pois a presença do  $Al_2O_3$ , acabou inibindo a ação do MgO, mas mesmo adições não intencionais do óxido de alumínio, não foi o suficiente para afetar o comportamento bioativo.

Objetivando a aplicação para implante bioabsorvível, analisar o comportamento mecânico das amostras durante o processo de dissolução foi necessário. Os vidros mantiveram as propriedades mecânicas durante o período analisado (7 a 42 dias), mas as altas taxas de dissolução das vitrocerâmicas impossibilitaram as medidas. Contudo, não se descarta o uso das vitrocerâmicas para implantes bioabsorvíveis, porém a indicação seria para uso na forma de pó e/ou partículas.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos podemos concluir que as alterações estruturais causadas pela adição do MgO não foram tão significativas, como as alterações causadas pela presença não intencional do  $\text{Al}_2\text{O}_3$ .

A partir da cristalização dos vidros do sistema  $\text{P}_2\text{O}_5$ -CaO- $\text{Na}_2\text{O}$ -SrO-MgO foram obtidas as fases cristalinas:  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_4\text{Ca}(\text{PO}_3)_6$ ,  $\text{Na}_3(\text{PO}_4)$ ,  $\text{AlPO}_4$  para a vitrocerâmica VC-PCNSr e  $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ,  $\text{Na}_4\text{Ca}(\text{PO}_3)_6$ ,  $\text{Sr}_3(\text{PO}_4)_2$ ,  $\text{Mg}_2\text{P}_2\text{O}_7$  para a vitrocerâmica Vc-PCNSrMg, as quais apresentaram cristais com tamanhos e formatos diferentes.

A taxa de dissolução dos vidros não foi afetada pela adição do MgO, mas foi afetada pela cristalização dos vidros. A vitrocerâmica VC-PCNSrMg foi a que apresentou a maior taxa de dissolução.

Os valores das propriedades mecânicas (dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura) não foram afetados pela adição do MgO, mas foram afetados pela cristalização dos vidros, a vitrocerâmica VC-PCNSr foi a que apresentou os maiores valores de dureza, módulo de elasticidade e tenacidade a fratura.

As amostras de vitrocerâmicas obtidas nesse trabalho indicam um comportamento bioativo e bioabsorvível. Mas, como não foi possível medir o comportamento mecânico durante o processo de dissolução das vitrocerâmicas, sugere-se aplicações na forma de pó, partículas ou fibras para restaurar o tecido ósseo de pacientes vítimas de acidentes ou doenças.

## 6 SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Sugere-se para trabalho futuros alguns testes que poderiam contribuir ainda mais para os estudos em questão:

- realizar o ensaio de *Inductive Coupled Plasma Spectroscopy* (ICP) pós dissolução para verificar os íons dissolvidos de cada composição;
- estudar método de obtenção de amostras cilíndricas, a fim de realizar o ensaio de resistência a flexão pela técnica de esferas sobre três esferas (B3B).
- realizar teste de bioatividade *in vivo*.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABNT NBR ISO 10993: 2003. **Biological evaluation of medical devices – part 14:** Identification and quantification of degradation products from ceramics.
- ABNT NBR ISO 10993: 2009. **Biological evaluation of medical devices – part 5:** Tests for in vitro cytotoxicity.
- ABOU NEEL, E.; AHMED, I.; BLAKER, J.; BISMARCK, A.; BOCCACCINI, A.; LEWIS, M.; NAZHAT, S.; KNOWLES, J. Effect of iron on the surface, degradation and ion release properties of phosphate-based glass fibres. **Acta Biomaterialia**, v. 01, p. 553-563, 2005.
- ABOU NEEL, E.; MIZOGUCHI, T.; ITOH, M.; BITARA, M.; SALIHA, V.; KNOWLES, J. In vitro bioactivity and gene expression by cells cultured on titanium dioxide doped phosphate-based glasses. **Biomaterials**, v. 28, p. 2967–2977, 2007.
- ABOU NEEL, E.; PICKUP, D.; VALAPPIL, S.; NEWPORT, R.; KNOWLES, J. Bioactive functional materials: a perspective on phosphate-based glasses. **Journal of Materials Chemistry**, v. 19, p. 690-701, 2008/A.
- ABOU NEEL, E.; CHRZANOWSKI, W.; KNOWLES, J. Effect of increasing titanium dioxide content on bulk and surface properties of phosphate-based glasses. **Acta Biomaterialia**, v. 4, p. 523-534, 2008/B.
- ABOU NEEL, E.; CHRZANOWSKI, D.; PICKUP, D.; O'DELL, L.; MORDAN, N.; NEWPORT, R.; SMITH, M.; KNOWLES, J. Structure and properties of strontium-doped phosphate-based glasses. **Journal of The Royal Society**, v. 6, p. 435-446, 2009.
- ABOU NEEL, E.; CHRZANOWSKI, W.; KNOWLES, J. Biological performance of titania containing phosphate-based glasses for bone tissue engineering applications. **Materials Science and Engineering**, v. 35, p. 307–313, 2014.
- AHMED, I.; LEWIS, M.; OLSEN, L.; KNOWLES, J. Phosphate glasses for tissue engineering: Part 1. Processing and characterization of a ternary-based  $P_2O_5$ –CaO–Na<sub>2</sub>O glass system. **Biomaterials**, v. 25, p. 491-499, 2004.
- ANSTIS, G.; CHANTIKUL, P.; LAWN, B.; MARSHALL, D. A critical evaluation of indentation techniques for measuring fracture toughness: I, direct crack measurements. **Journal of the American Society**, v. 64, p. 533-538, 1981.

- ARAÚJO, B. E. Estudando vidros por meio de análise térmica diferencial. **Revista Brasileira de Ensino de Física**, v. 20, p. 359-362, 1998.
- AVRAMOV. I.; GUINEV, G.; RODRIGUES, A. Thermal analysis of Li<sub>2</sub>OTeO<sub>2</sub> glass. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 271, p.12-17, 2000.
- AVRAMOV. I.; ZANOTTO, E.; PRADO, M. Glass-forming ability versus stability of silicate glasses. II. Theoretical demonstration. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 6, p. 9-20, 2003.
- AUGIS, J. A.; BENNETT, J. E. Calculation of the Avrami parameters for heterogeneous solid state reactions using a modification of the Kissinger method. **Journal of Thermal Analysis**. v. 13, p. 283 – 292, 1978.
- AVRAMI, M. Kinetics of Phase Change. I General Theory. **Journal of Chemical Physics**, v. 7, p. 1103, 1939.
- AVRAMI, M. Kinetics of phase change. II. Transformation-time relations for random distribution of nuclei. **Journal of Chemical Physics**, v.8, p.212-224, 1940.
- AVRAMI, M. Kinetics of phase change. III. Granulation, phase change and microstructure. **Journal of Chemical Physics**, v.9, p.177-184, 1941.
- BAINO, F. Bioactive glasses – When glass science and technology meet regenerative medicine. **Ceramics International**, v. 44, p. 14953-14966, 2018.
- BARSOUM, M. Fundamentals of ceramics. **Institute of Physics Publishing Bristol and Philadelphia**, v. 44, p. 1265-302, 2003.
- BEST, S.; PORTER, A.; THIAN, E.; HUANG, J. Bioceramics: Past, present and for the future. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 28, p. 1319-1327, 2009.
- BINYAMIN, G.; SHAFI, B., MERY, C. Biomaterials: A primer for surgeons. **Seminars in Pediatric Surgery**, v. 15, p. 276-283, 2006.
- BOCCACCINI, A.; BRAUER, D.; HUPA, L. Bioactive glasses: fundamentals, technology and applications. **Royal Society of Chemistry**, N. 23, cap. 1 and 2, p. 1-60, 2016.
- BOSE, S.; TARAFDER, S.; BANERJEE, S.; DAVIES, N.; BANDYUUPADHYAY, A. Understanding in vivo response and mechanical property variation in MgO, SrO and SiO<sub>2</sub> doped  $\beta$ -TCP. **Bone**, v.6, p. 1282 – 1290, 2011.

- BRAUER, D.; RÜSSEL, C.; LI, W.; HABELITZ, S. Effect of degradation rates of resorbable phosphate invert glasses on in vitro osteoblast proliferation. **Journal of Biomedical materials research**, v. 77a, p. 213-219, 2005.
- BRAR, H.; PLATT, M.; SARNTINORANONT, M.; MANUEL, P. Magnesium as a biodegradable and bioabsorbable material for medical implants. **Journal of Materials**, v. 9, p. 31-34, 2009.
- BRAR, H.; WONG, J.; MANUEL, M. Investigation of the mechanical and degradation properties of Mg–Sr and Mg–Zn–Sr alloys for use as potential biodegradable implant materials. **Journal of the mechanical behavior of biomedical materials**, v. 7, p. 87-95, 2012.
- BUNKER, B., ARNOLD, G.; WILDER, J. Phosphate glass dissolution in aqueous solutions. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 64, P. 291-316, 1984
- BROW, R. Review: the structure of simple phosphate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 263-264, p. 1-28, 2000.
- BURNIE, J.; GILCHRIST, T.; DUFF, S.; DRAKE, C.; HARDING N.; MALCOLM, A. Controlled release glasses (C.R.G.) for biomedical uses. **Biomaterials**, v. 2, p. 244-246, 1981.
- CABRAL, A.; FOKIN, V.; ZANOTTO, E.; CHINAGLIA, C. Nanocrystallization of fresnoite glass. I. Nucleation and growth kinetics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 330, p. 174-186, 2003.
- CAI, S.; LI, J.; XU, G.; LI, X.; YE, X.; JIANG, W. In vitro solubility and bioactivity of Sr and Mg co-doped calcium phosphate glass-ceramics derived from different heat-treatment temperatures. **Materials Chemistry and Physics**, v. 131, p. 462-470, 2011.
- CAO, W. e HENCH, L. Bioactive Materials. **Ceramics International**, v. 22, p. 493-507, 1996.
- CIRALDO, F.; BOCCARDI, E.; MELLI, V.; WESTHAUSER, F.; BOCCACCINI, A. Tackling bioactive glass excessive in vitro bioreactivity: Preconditioning approaches for cell culture tests. **Acta Biomaterialia**, v. 75, p. 3– 10, 2018.
- CHENG, K. Determining crystallization kinetic parameters of  $\text{Li}_2\text{O}-\text{Al}_2\text{O}_3-\text{SiO}_2$  glass from derivative differential thermal analysis curves. **Materials Science and Engineering**, v.60, p. 194–199, 1999.

- CLIFFOR A.; HILL, R. Apatite-mullite glass-ceramics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 196, p. 346-351, 1996.
- COLEMAN, N.; NICHOLSON, J. **Glass bones**. Education in Chemistry, v. 43, 2006; Disponível em: <http://www.rsc.org/Education/EiC/issues/2006Nov/Index.asp>
- CROVACE, M., SOUZA, M., CHINAGLIA, C., PEITL, O., ZANOTTO, E. Biosilicate — A multipurpose, highly bioactive glass-ceramic. In vitro, in vivo and clinical trials. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 432, p. 90-110, 2016.
- DAGUANO, J.; MILESI, M.; RODAS, A.; WEBER, A.; SARKIS, J.; HORTELLANI, M.; ZANOTTO, E. *In vitro* biocompatibility of new bioactive lithia-silica glass-ceramics. **Materials Science and Engineering**, v. 94, p. 117-125, 2019.
- DEUBENER J.; ALLIX, M. ; DAVIS, M.; DURAN, A., HÖCHE, T.; HONMA, T.; KOMATSU, T.; KRÜGER, S.; MITRA, I.;MÜLLER, R.; NAKANE, S.; PASCUAL, M.; SCHMELZER, J., ZANOTTO, E., ZHOU, S. Updated definition of glass-ceramics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, 2018.
- DEVI, A., RAJENDRANA, V., RAJENDRAN, N. Structure, solubility and bioactivity in TiO<sub>2</sub>-doped phosphate-based bioglasses and glass–ceramics. **Materials Chemistry and Physics**, v. 124, p.312–318, 2010.
- DIAS, A.; LOPES, M.; GIBSON, I.; SANTOS, J. In vitro degradation studies of calcium phosphate glasses ceramics prepared by controlled crystallization. **Journal of non-crystalline solids**, v. 330, p. 81-89, 2003.
- DIAS, A.; SKAKLE, J.; GIBSON, I.; LOPES, M.; SANTOS, J. In situ thermal and structural characterization of bioactive calcium phosphate glass ceramics containing TiO<sub>2</sub> and MgO oxides: High temperature – XRD studies. **Journal of non-crystalline solids**, v. 351, p. 810-817, 2005.
- DIAS, A.; GIBSON, I.; SANTOS, J.; LOPES, M.; SANTOS, J. Physicochemical degradation studies of calcium phosphate glass ceramic in the CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-MgO-TiO<sub>2</sub> system. **Acta Biomaterialia**, v. 3, p. 263-269, 2007.
- DOROZHKLIN, S., EPPLE, M. Biological and medical significance of calcium phosphate. **Angewandte Chemie International Edition**, v41, p. 3130-3146, 2002.
- DOROZHKLIN, S. Bioceramics of calcium orthophosphate. **Biomaterials**, v. 31, p. 1465-1485, 2010.

- DUDOK, V. Bioceramics – yesterday, today, tomorrow. **Powder metallurgy and metal ceramics**, v. 39, p. 7-8, 2000.
- ELBATAL, H.; KHALIL, E.; HAMDY, Y. In vitro behavior of bioactive phosphate glass-ceramics from the system  $P_2O_5$ - $Na_2O$ - $CaO$  containing titania. **Ceramics International**, v. 35, p. 1195-1204, 2009.
- EL-KHESHEN, A., KHALIAFA, F., SAAD, E., ELWAN, R. Effect of  $Al_2O_3$  addition on bioactivity, thermal and mechanical properties of some bioactive glasses. **Ceramics International**, v. 34, p. 1667–1673, 2008.
- FERNANDEZ, E.; GIL, F.; GINEBRA, M. Calcium phosphate bone cements for clinical applications: Part 1. Solution chemistry. **Journal of Materials Science**, v. 10, p. 169-176, 1999.
- FOKIN, V.; CABRAL, A.; REIS, R.; NASCIMENTO, M.; ZANOTTO, E. Critical assessment of DTA-DSC methods for the study of nucleation kinetics in glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 356, p. 358-367, 2010.
- FRANKS, K., ABRAHAMS, I.; KNOWLES, J. Development of soluble glasses for biomedical use part i: In vitro solubility measurement. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 10, p. 609-614, 2000.
- FRANKS, K., ABRAHAMS, I., GEORGIU, G. and KNOWLES, J. Investigation of thermal parameters and crystallisation in a ternary  $CaO$ - $Na_2O$ - $P_2O_5$  based glass system. **Biomaterials**, v. 22, p. 497-501, 2001.
- FRANKS, K., SALIH, V., KNOWLES, J. and OLSEN, I. The Effect of  $MgO$  on the Solubility Behavior and Cell Proliferation in a Quaternary Soluble Phosphate Based Glass System. **Journal of Materials Science-Materials in Medicine**, v. 6, p. 549-556, 2002.
- FU, H.; FU, Q.; ZHOU, N.; HUANG, W.; RAHAMAN, M.; WANG, D.; LIU, X. In vitro evaluation of borate-based glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method. **Materials Science and Engineering**, v. 29, p. 2275–2281, 2009.
- GAO, H; TAN, T.; WANG, D. Dissolution mechanism and release kinetics of phosphate controlled release glasses in aqueous medium. **Journal of Controlled Release**, v. 96, p.29–36, 2004.
- GUIMARÃES, L.; ZANOTTO, E. Cristalização e taxa crítica de resfriamento para vitrificação do poli(sebacato de decametileno). **Química Nova**, v. 26, p. 1-6, 2003.

- GIMENEZ, F., MAZALI, I., ALVES, O. Application of Raman spectroscopy to the study of the phase composition of phosphate based glass-ceramics. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v.62, p. 1251-1255, 2001.
- GOSWAMI, M.; SARKAR, A.; MIRZA, T.; SHRIKHANDE, V.; GURUMURTHY, K.; KOTHIYAL, G. Study of some thermal and mechanical properties of magnesium aluminium silicate glass ceramic. **Ceramics International**, v. 28, p. 585–592, 2002.
- GRANASY, L. Quantitative analysis of the classical nucleation theory on glass forming alloys. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v.156-158, p. 514-518, 1993.
- HALLMANNA, L.; ULMERB, P.; KERNA, M. Effect of microstructure on the mechanical properties of lithium disilicate glass-ceramics. **Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials**, v. 82, p. 355-370, 2018.
- HELMUS, M.; GIBBONS, D.; CEBON, D. Toxicology Pathology. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 26, p. 70-80, 2008.
- HENCH, L. Physical chemistry of glass surfaces. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 25, p. 343-369, 1977.
- HENCH, L. Bioceramics: from concept to clinic. **Journal of Non-Crystalline**, v. 7, p. 1487-1510, 1991.
- HENCH, L. Bioceramics. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 81, p. 1705-1728, 1998.
- HENCH, L. The story of bioglass. **Journal Materials Science: Materials Medicine**, v. 17, p. 967-978, 2006.
- HIROMOTO, S.; YAMAMOTO, A. Control of degradation rate of bioabsorbable magnesium by anodization and steam treatment. **Materials Science and Engineering**, v. 30, p. 1085-1093, 2010.
- HÖLAND, W.; BEALL, G. Glass-ceramic technology. **The American Ceramic Society**, p. 15, 2002.
- HOPPE, U. A structural model for phosphate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 195, p. 138-147, 1996.

- HOPPE, A.; GULDAL, N.; BOCCACCINI, A. A review of the biological response to ionic dissolution products from bioactive glasses and glass-ceramics. **Biomaterials**, v. 32, p. 2757-2774, 2011.
- HRUBÝ, A. Evaluation of glass-forming tendency by means of DTA. **Czechoslovak Journal of Physics**, v.22, p.1187-1193, 1972.
- HU, A.; LI, M.; MAO, D. Growth behavior, morphology and properties of lithium aluminosilicate glass ceramics with different amount of CaO, MgO and TiO<sub>2</sub> additive. **Ceramics International**, v. 34, p. 1393–1397, 2008.
- ISARD, J.; ALLNATT, A.; MELLING, P. An improved model of glass dissolution. **Physics and Chemistry of Glasses**, v. 6, p. 185-189, 1982
- INTAWIN, P.; EITSSAYEAM, S.; TUNKASIRI, T.; PENGPAT, K. Crystallization kinetics and heat treatment temperature on microstructure and properties of Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioactive glass system. **Ceramics International**, v. 44, p. 203–206, 2018.
- JEONG, J. KIM, J. SHIM, J. HWANG, N., HEO, C. Bioactive calcium phosphate materials and applications in bone regeneration. **Biomaterials Research**, v. 4, p.23, 2019.
- JHA, P.; PANDEY, O.; SINGH, K. FTIR spectral analysis and mechanical properties of sodium phosphate glass–ceramics. **Journal of Molecular Structure**, v. 1083, p. 278–285, 2015.
- JONES, J. R. Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids. **Acta Biomaterialia**, v. 23, n. S, p. S53–S82, 2015.
- KALITA, S.; BHARDWAI, A.; BHATT, H. Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering. **Materials Science and Engineering**, v. 27, p. 441–449, 2007.
- KAPOOR, S., GOEL, A., PASCUAL, M., FERREIRA, J. Thermo-mechanical behaviour of alkali free bioactive glass-ceramics co-doped with strontium and zinc. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v.375, p. 74-82, 2013.
- KARLSSON, K. H. Bioactivity of glass and bioactive glasses for bone repair. Glass Technology. **European Journal of Glass Science and Technology Part A**, v. 45, n. 4, p. 157–161, 2004.
- KASUGA, T.; UENO, E.; OBATA, A. Preparation of apatite-containing calcium phosphate glass-ceramics. **Bioceramics**, v. 1 and 2, p. 330-332, 157-160, 2007.

- KASUGA, T.; KIMATA, T.; OBATA, A. Preparation of a calcium titanium phosphate glass-ceramic with improved chemical durability. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 8, p. 1709-1712, 2009.
- KAWACHI, E.; BERTRAN, C.; REIS, R.; ALVES, O. Biocerâmicas: tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. **Química Nova**, v. 23, p. 518 – 522, 2000.
- KISSINGER H. E. Reaction kinetics in differential thermal analysis. **Analytical Chemistry**, v.29, p. 1702–1706, 1957.
- KIANI, A.; HANNA, J.; KING, S.; REES, G.; SMITH, M.; ROOHPOUR, N.; SALIH, V.; KNOWLES, J. Structural characterization and physical properties of  $P_2O_5$ -CaO- $Na_2O$ - $TiO_2$  glasses by Fourier transform infrared, Raman and solid-state magic angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopies. **Acta Materials**, v. 8, p. 333 - 340, 2012.
- KNAACK, D., GOAD, M., AIOLOVA, M., REY, C., TOFIGHI, A., CHAKRAVARTHY, P., LEE, D. Resorbable calcium phosphate bone substitute. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 4, p: 399-409, 1998.
- KNOWLES, J.; FRANKS, K.; ABRAHAMAS, I. Investigation of the solubility and ion release in the glass system  $K_2O$ - $Na_2O$ -CaO- $P_2O_5$ . **Biomaterials**, v. 22, p. 3091-3096, 2001.
- KOKUBO, T.; KUSHITANI, H.; SAKKA, S.; KITSUGU, T.; YAMAMURO, T. Solutions able to reproduce in-vivo surface structure changes in bioactive A/W glass-ceramic. **Journal Biomedical Materials**, v. 24, p. 721-34,1990.
- KOKUBO, T. Mechanism of apatite formation on CaO- $SiO_2$ - $P_2O_5$  glasses in a simulated body fluid. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 143, p. 84 - 92, 1992.
- KOKUBO, T. Apatite formation on surfaces of ceramics, metals and polymers in body environment. **Acta Materials**, v. 46, p. 2519 - 2527, 1998.
- KOO, J.; BAE, B.; NA, H. Raman spectroscopy of Cooper phosphate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 212, p. 173 - 179, 1997.
- KOTHIYAL, G.; SRINIVASAN, A. Trends in biomaterials. **Pan Stanford Publishing**, v. 1, p. 1 - 222, 2016.
- LAI, Y.; LIANG, X.; YANG, S.; WANG, J.; ZHANG, B. Raman spectra study of iron phosphate glasses with sodium sulfate. **Journal of Molecular Structure**, v. 1013, p. 134 - 137, 2012.

- LANGAR, A.; SDIRI, N.; ELHOUCHE, H.; FERID, M. Structure and electrical characterization of ZnO-Ag phosphate glasses. **Results in Physics**, v. 7, p. 1022 - 1029, 2017.
- LAWN, B.; WILSHAW, R. Indentation fracture: principles and applications. **Journal of Materials Science**, v. 10, p. 1049 – 1081, 1975.
- LETTUEC, J., CLEMENT, D., LESPRIT, E., FABER, J. The use of calcium phosphates, their biological properties. **European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology**, v. 10, p. 223, 2000.
- LEYLIANE, S.; CABRAL, A. Determining the Kinetic Parameters for Isothermal Crystallization in a Lithium Disilicate (LS<sub>2</sub>) Glass by OM and DSC. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 97, p. 157-162, 2014.
- LEGEROS, R. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. **Clinical Materials**, v. 14, p: 65-88, 1993.
- LLINAS, P.; MASELLA, M.; STIGBRAND, T.; MÉNEZ, A.; STURA, E.; LE D.. Structural studies of human alkaline phosphate in complex with strontium: implications for its secondary effect in bones. **Protein Science**, v. 15, p. 1691-1700, 2006.
- LIU, Q.; CHEN, X.; LI, X. The hydrolysis of Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioglass. **Journal of Wuhan University of Technology**, v. 1, p. 26-29, 1996.
- MARGHA, F.; ABDEL-HAMMEED, S.; GHONIM, N.; AHMED, S.; KATO, S.; SATOKAWA, S.; KOJIMA, T. Crystallization behaviour and hardness of glass ceramics rich in nanocrystals of ZrO<sub>2</sub>. **Ceramics International**, v. 35, p. 1133–1137, 2009.
- MAROTTA, A.; BURI, A, BRANDA, F. Nucleation in glass and differential thermal analysis. **Journal of materials Science**, v.16, p. 341—344, 1981.
- MASSARDO, S.B. Nanoindentação em vitrocerâmicas de dissilicato de lítio – fractografia e propriedades mecânicas. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.
- MATUSITA, K.; KOMATSU, T.; YOKOTA, R. Kinetics of non-isothermal crystallization process and activation energy for crystal growth in amorphous materials. **Journal of Materials Science**, v. 19, p. 291-296, 1984.

- MINGARRO, V.; CALLEJAS, P.; RINCON, J.M. Materiales vitrocerâmicos: El proceso vitrocerâmico. **Boletín de la Sociedad Española de Cerâmica y vidrio**, v. 32, p. 157-167, 1993.
- MCMILLAN, P. W. Class Ceramics, 2nd ed., **Academic Press New York**, 1979.
- MUNDSTOCK, K. B. **Obtenção e caracterização de biovitrocerâmicas celulares do sistema Na<sub>2</sub>O-CaO-SiO<sub>2</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>**. Tese de doutorado. Universidade Federal de Santa Catarina Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Florianópolis, 2010.
- MULLER, E.; HEIDE, K.; ZANOTTO, E. Molecular structure and nucleation in silicate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 155, p. 56-66, 1993.
- MULLER, C., BERGER, G., VOIGT, C., BAKKI, B., GROSS, U., Bioceramics, **Elsevier**, V.10, P. 53, 1997.
- MULLER, R.; ZANOTTO, E.; FOKIN, V. Phase transformation kinetics I Surface crystallization of silicate glasses: nucleation sites and kinetics. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 274, p. 208 - 223, 2000.
- MURUGAN, R.; RAMAKRISHNA, S. Development of Nanocomposites for Bone Grafting. **Composites Science and Technology**, v. 65, p. 2385-2406, 2005.
- NIIHARA, K. Indentation fracture toughness of brittle materials for Palmqvist cracks. **Fracture Mechanics of Ceramics**, v. 5, p. 97-105, 1983.
- NIIHARA, K. A fracture mechanics analysis of indentation-induced Palmqvist cracks in ceramics., **Journal Materials Science Letters**, v. 2, p. 221-223, 1983.
- NYCHKA, J.; LI, D.; ALEXANDER, B. In vitro bioactivity of 45S5 bioactive glass as a function of indentation load. **Journal of the mechanical behavior biomedical materials**, v. 1, p. 243-251, 2008.
- NYCHKA, J.; MAZUR, S.; KASHYAP, S.; LI, D.; YANG, F. Dissolution of bioactive glasses: the effects of crystallinity coupled with stress. **Biomedical Materials and Devices**, v. 61:p. 45-51, 2009.
- O'DONNELL, M. Influence of strontium and the importance of glass chemistry and structure when designing bioactive glasses for bone regeneration. **Acta Materialia**, v. 11, p. 260-281, 2010.

- OLIVER, W. C. and PHARR, G. M. An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. **Journal of Materials Research**, v. 6, p. 1564-1583, 1992.
- OMRANI, R. O., KAOUTAR, A., JAZOULI, A., KRIMI, S., KHATTECH, I., JEMAL, M., VIDEAU, J., COUZI, M. Structural and thermochemical properties of sodium magnesium phosphate glasses. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 632, p. 766-771, 2015.
- OTTOBONI, F.; POIRIER, G.; CASSANJES, F.; MESSADDEQ, Y.; RIBEIRO, S. Crystallization study of molybdate phosphate glasses by thermal analysis. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 355, p. 2279-2284, 2009.
- OZAWA T. Kinetic analysis of derivative curves in thermal analysis. **Journal of Thermal Analysis**, v.2, p.301–324, 1970.
- PARK, J. **Development of a glass-ceramic for biomedical applications**. Tese de doutorado. Middle East Technical University. 2008.
- PEITL, O., Zanotto, E., Serbena, F., Hench, L. Compositional and microstructural design of highly bioactive  $P_2O_5-Na_2O-CaO-SiO_2$  glass-ceramics. **Acta Biomaterialia**, v.8, p. 321-332, 2012
- PEMBERTON, J.; LATIFZADEH, L. Raman spectroscopy of calcium phosphate glasses with varying CaO modifier concentrations. **Chemical Materials**, v. 3, p. 195-200, 1991.
- PERNOT, F.; BALDET, P.; BONNEL, F.; ZARZYCKI, J.; RABISCHONG, P. Development of Phosphate Glass-Ceramics for Bone Implants. **Ceramics International**, v. 9, p. 127-131, 1993.
- PIETRZAK, W.; SARVER, D.; VERSTYNEN, M. Bioresorbable implants- practical considerations. **Bone**, v. 19, p. 109-119, 1996.
- QUINN, G. On the Vickers Indentation Fracture Toughness Test. **Journal American Ceramic Society**, v. 3, p. 673–680, 2007.
- RABIEE, S. NAZPARVARA, N.; AZIZIANA, M.; VASHAEEB, D.; TAYEBIC, L. Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review. **Ceramics International**, v. 41, p. 7241–7251, 2015.
- RAHAMAN, M.; DAY, D.; BAL, B.; FU, Q.; JUNG, S.; BONEWALD, L. Bioactive glass in tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 2355–2373, 2011.

- RAJENDRAN, V; GAYATHRI, A.; AZZOZ, M.; EL-BATAL, F. Physicochemical studies of phosphate based  $P_2O_5$ - $Na_2O$ - $CaO$ - $TiO_2$  glasses for biomedical applications. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 353, p. 77-84, 2007.
- RAMPERSAD, S. Multiple applications of Alamar Blue as an indicator of metabolic function and cellular health in cell viability bioassays. **Sensors**, v. 12, p. 12347-12360, 2012.
- RATNER, B.; HOFFMAN, H.; SCHOEN, F.; LEMOS J. Biomaterials Science – An Introduction to Materials in Medicine. **Academis Press**, 3<sup>a</sup> edition, 2012.
- RAY, C. S.; DAY, D. E. Determining the nucleation rate curve for lithium disilicate glass by Differential Thermal Analysis. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 73, n. 2, p.439-442, 1990.
- RAY, CHANDRA, DAY, DELBERT. An Analysis of Nucleation-Rate Type of Curves in Glass as Determined by Differential Thermal Analysis. **Journal American Ceramic Society**, v. 80, p. 3100–3108, 1997.
- RENNO, A.C. M.; BOSSINI, P., S.; CROVACE, M.; RODRIGUES, A., C.; ZANOTTO, E.D.; PARIZOTTO, N., A. Review Article Characterization and In Vivo Biological Performance of Biosilicate. **BioMed Research International**, v. 2013.
- ROSENSTIEL, S. and PORTER, S. Apparent fracture toughness of dental porcelain with a metal substructure. **Dental Materials**, v. 4, p. 187-190, 1988.
- SAKAR- DELIORMANLI, A. and GU, M. Microhardness and Fracture Toughness of Dental Materials by Indentation Method. **Materials Science and Engineering Program**, v. 6, p. 257-264, 2008.
- SALAMA, S.; EL - BATAL, H. Microhardness of phosphate glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 168, p. 179 - 185, 1994.
- SATYANARAYANA, T. BABU, M.; NAGARJUNA, G.; REDDY, D.; RAO, P.; PRASAD, P. Structural investigations on  $P_2O_5$ - $CaO$ - $Na_2O$ - $K_2O$ : SrO bioactive glass: ceramics. **Ceramics International**, v. 43, p. 10144 – 10150, 2017.
- SERBENA, F.; MATHIA, I.; FOERSTERA, C.; ZANOTTO, E. Crystallization toughening of a model glass-ceramic. **Acta Biomaterialia**, v. 86, p. 216-228, 2015.
- SERGEJEV, F.; ANTONOV, M. Comparative study on indentation fracture toughness measurements of cemented carbides. **Proceeding of the Estonian Academy of Science, Engineering**, v. 12, p. 388-398, 2006.

- SINHA, A.; INGLE, A.; MUNIM, K.; VAIDYA, S.; SHARMA, B.; BHISEV, A. Development of calcium phosphate based bioceramics. **Bulletin of Material Science**, v. 24, p. 653-657, 2001.
- SCHMELZER, J., **Nucleation Theory and Applications**. Edited by J. W. P. Schmetzer Copyright, 2005.
- SHELBY, J. **Introduction to Glass Science and Technology**. Edition 1. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1997.
- SKELTON, K.; GLENN, J.; CLARKE, S.; GEORGIU, G.; VALAPPIL, S.; KNOWLES, J. Effect of ternary phosphate-based glass compositions on osteoblast and osteoblast-like proliferation, differentiation and death in vitro. **Acta Biomaterialia**, v. 3, p. 563–572, 2007.
- STOKEY, S.D. Catalyzed Crystallization of Glass in Theory and Practice. **Industrial and engineering chemistry**, v. 51, p. 805-808, 1960.
- TERJESEN, T. Bone healing after metal plate fixation and external fixation of the osteotomized rabbit tibia. **Acta Orthopaedica**, v. 55, p. 69-77, 1984.
- TIRAPELLI, C.; PANZERI, H.; SOARES, R.; PEITL, O.; ZANOTTO, E. “A novel bioactive glass-ceramic for treating dentin hypersensitivity,” **Brazilian Oral Research**, vol. 24, p. 381– 387, 2010.
- TOPALOVIC, V.; GRUJIC, S.; ZIVANOVIC, D.; MATIJASEVICA, S.; NIKOLICA, J.; STOJANOVICA, J.; SMILJANIC, S. Bioactive glass-ceramics prepared by powder sintering and crystallization of polyphosphate glass containing strontium. **Ceramics International**, v.43, p. 12061–12069, 2017.
- THONGLEM, S., EITSSAYEAM, S., PENGPAT, K. Fabrication of P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-CaO-Na<sub>2</sub>O glasses doped with magnesium oxide for artificial bone applications, **Ceramic International**, v. 39, p. 537-540, 2013.
- TUIL, R and GEURTS, C. Resorbable implants: a look inside. **Orthotec**, v. 2, p. 15-25, 2011.
- UO, M.; MIZUNO, M.; KUBOKI, Y.; MAKISHIMA, A.; WATARI, F. Properties and cytotoxicity of water soluble Na<sub>2</sub>O-CaO-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> glasses. **Biomaterials**, v. 19, p. 2277-2284, 1998.

- VEDEANU, N.; COZAR, O.; ARDELEAN, I.; FILIP, S. Spectroscopic investigation on some calcium-phosphate glasses. **Journal of Optoelectronics and Advanced Materials**, v. 8, p. 1135 - 1139, 2006.
- VITALE-BROVARONE, C.; NOVAJRA, G.; MILANESE, D., LOUSTEAU, J.; KNOWLES, J. Novel phosphate glasses with different amounts of TiO<sub>2</sub> for biomedical applications: Dissolution tests and proof of concept of fibre drawing. **Materials Science and Engineering**, v. 31, p. 434-442, 2011.
- VOGEL, J., SCHULZE, K., REI, D., HARTMANN, P, PLATZBECKER, U., LEUNER, B. Bioceramics, **Elsevier**, v. 10, p.57, 1997.
- YADAV, A.; SINGH, P. Review of the structures of oxide glasses by Raman spectroscopy. **Royal Society of Chemistry**, v. 5, p. 67583-67609, 2015.
- WARREN, B.; BISCOP, J. The structure of silica glass by X-ray diffraction studies. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 21, p. 49, 1938.
- WANG, W., YEUNG, K. Bone grafts and biomaterials substitutes for bone defect. Repair: A review. **Bioactive Materials**, v.2, p. 224-247, 2017.
- WEBLER, G., CORREIA, A., BARRETO, E., FONSECA, E. Mg-doped biphasic calcium phosphate by a solid state reaction route: Characterization and evaluation of cytotoxicity. **Materials Chemistry and Physics**, v.162, p. 177-181, 2015.
- WEISS, D. **Efeito da adição de TiO<sub>2</sub> e MgO nas propriedades mecânicas e solubilidade de vidros fosfatos de cálcio com estrôncio para aplicações biomédicas**. Dissertação de mestrado, Pontifícia Universidade Católica do Paraná no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica, Curitiba, 2012.
- WEISS, D.; TORRES, R.; BUCHNERB, S.; BLUNK, S.; SOARES, P. Effect of Ti and Mg dopants on the mechanical properties, solubility and bioactivity in vitro of a Sr-containing phosphate based glass. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 386, p. 34 - 38, 2014.
- WREN, A.; BOYD, D.; TOWLER, M. The processing, mechanical properties and bioactivity of strontium based glass polyalkenoate cements. **Journal Materials Science Materials Medicine**, v. 19, p. 1737-1743, 2008.
- WITTE, F.; HORT, N.; VOGT, C.; COHEN, S.; KAINER, K.; WILLUMEIT, R.;

- FEYERABEND, F. Degradable biomaterials based on magnesium corrosion. **Solid State and Materials Science**, v. 12, p. 63-72, 2008.
- WILLIAMS, D. Definitions in biomaterials: Proceedings of a consensus conference of the European Society for Biomaterials. **Progress in Biomedical Engineering**, v.4, p. 3-10, 1987.
- ZACHARIANSEN, W. The atomic arrangement in glass. **The American Chemistry Society**, v. 54, p. 3841-3851, 1932.
- ZHANG, Y.; SANTOS, J. Crystallization and microstructure analysis of calcium phosphate-based glass ceramics for biomedical applications. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 272, p. 14 - 21, 2000.
- ZANOTTO, E. Crystallization of liquids and glasses: a kinetic approach. **Materials Science, Engineering and Technology**, p. 25- 40, 1992.
- ZANOTTO, E. A bright future for glass-ceramics. **American Ceramics Society Bulletin**, v. 89. 19-27, 2010.
- ZHANG, W.; SHEN, Y.; PAN, H.; LIN, K.; LIU, X.; DARVELL, B.; LU, W.; CHANG, J.; DENG, L.; WANG, D.; HUANG, W. Effects of strontium in modified biomaterials. **Acta Biomaterialia**, v. 7, p. 800-808, 2011.
- ZHU, H.; HU, C.; ZHANG, F.; FENG, X.; LI, J.; LIU, T.; CHEN, J.; ZHANG, J. Preparation and antibacterial property of silver-containing mesoporous 58S bioactive glass. **Materials Science and Engineering C**, v. 42, p. 22–30, 2014.
- ZREIGAT, H.; RAMASWAMY, Y.; WU, C.; PASCHALIDIS, A.; LU, Z.; JAMES, B.; BIRKE, O; MCDONALD, M.; LITTLE, D.; DUNSTAN, C. The incorporation of strontium and zinc into a calcium-silicon ceramic for bone tissue engineering. **Biomaterials**, v. 10, p. 3175-3184, 2010.