

## **DESENVOLVIMENTO DE BIOCERÂMICAS POROSOS PARA REGENERAÇÃO ÓSSEA**

**Glória Tamiris Farias da Silva Furtado<sup>1</sup>, Ana Carolina B. M. Fook<sup>2</sup>, Marcus Vinicius Lia Fook<sup>3</sup>**

### **RESUMO**

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio para regeneração óssea com relações Ca/P 1,0, 1,67 e 2,0. A partir dos pós cimentícios, obteve-se os suportes porosos (scaffolds) de cimentos de fosfato de cálcio. A caracterização dos pós foi realizada quanto a sua morfologia, porosidade e composição química por MEV, MO, FTIR, EDS e DRX. As análises por DRX, FTIR e EDS comprovaram a formação de fosfato de cálcio, indicando também que houve formação das fases desejadas. A caracterização dos suportes porosos de cimento de fosfato de cálcio foi realizada quanto a sua morfologia, porosidade e composição química por MEV, MO, EDS e DRX. As análises por DRX comprovaram que a adição do hidrogênio fosfato de sódio e da esponja polimérica não alterou a formação das fases. As análises por MEV e MO revelaram uma faixa de tamanhos de poros que possibilitam sua aplicação como suporte (scaffolds) para desenvolvimento de tecido ósseo.

**Palavras-chave:** Biocerâmica, fosfato de cálcio, cimentos de fosfato de cálcio.

### **DEVELOPMENT OF POROUS BIOCERAMICS FOR BONE REGENERATION**

#### **ABSTRACT**

This work aimed at the development of porous bioceramics of calcium phosphate for bone regeneration with Ca/P ratio 1.0, 1.67 and 2.0. From the post cimentícios, were obtained by the porous media (Scaffolds) of calcium phosphate cements. The characterization of the post was made on their morphology, porosity and chemical composition by SEM, OM, FTIR, EDS and XRD. The analysis by XRD, EDS and FTIR confirmed the formation of calcium phosphate, indicating that there was formation of the desired phases. The characterization of porous media from a calcium phosphate cement was performed on the morphology, porosity and chemical composition by SEM, OM, EDS and XRD. The analysis by XRD showed that the addition of sodium hydrogen phosphate and polymer sponge did not alter the formation of phases. The analysis by SEM and OM showed a range of sizes of pores that allow its application as support (Scaffolds) for development of bone tissue.

**Keywords:** bioceramics, calcium phosphate, calcium phosphate cements.

#### **INTRODUÇÃO**

Os recentes avanços na busca por um aumento na qualidade de vida da população mundial refletem no aumento da expectativa de vida do homem. Como consequência as pessoas estão sujeitas as varias doenças relacionadas à terceira idade como traumas, degeneração e doenças das mais diversas que necessita de reparo ou reposição cirúrgica, também atingindo indivíduos jovens em sua fase mais produtiva em decorrência de acidentes, notadamente os automobilísticos e os de trabalho (KAWACHI et al., 2000; HENESS e BEN-NISSAN, 2004; Hench, 2006).

<sup>1</sup> Aluna de Curso de Engenharia de Materiais, Depto. de Engenharia de Materiais, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: [gloriatamiris@hotmail.com](mailto:gloriatamiris@hotmail.com)

<sup>2</sup> Engenheira de Materiais, Doutoranda no Programa de Ciência e Engenharia de Materiais, UFCG, Campina Grande, E-mail: [acarol\\_brasil@hotmail.com](mailto:acarol_brasil@hotmail.com)

<sup>3</sup> Engenheiro Químico, Prof. Doutor, Depto. de Engenharia de Materiais, UFCG, Campina Grande, PB, E-mail: [marcusvinicius@dema.ufcg.edu.br](mailto:marcusvinicius@dema.ufcg.edu.br)

O desenvolvimento de biomateriais tem intensificado cada vez mais na utilização em cirurgias ortopédica, traumatológica e maxilofacial, particularmente na substituição óssea. Este é definido como qualquer material sintético utilizado para repor um tecido ou órgão, doente, danificado ou perdido de um sistema vivo, de forma segura, confiável e fisiologicamente aceitável (GUTIERRES et al., 2006; PARK, 2007).

Os fosfatos de cálcio sintéticos são utilizados com sucesso para preenchimento de defeitos ósseos em varias aplicações clinicas assim como são considerados bioativos e osteocondutivos guiando o processo de regeneração óssea. A hidroxiapatita e fosfatos de cálcio associados são de especial significado no campo de biomateriais devido a sua composição química se assemelhar a parte mineral do osso e dentes (LAYROLLE & DACULAI, 2009).

Por mais de três décadas, fosfatos de cálcio na forma de Hidroxiapatita (HA) e  $\beta$ -TCP tem encontrado aplicações na ortopedia e cirurgia maxilofacial como substituinte ósseo. Entretanto os materiais de HA e  $\beta$ -TCP são poucos solúveis em fluido biológicos e não há nenhuma evidencia de degradação por atividade celular. Como conseqüência, a razão de degradação das biocerâmicas é muito menor que a razão de crescimento ósseo, onde esses materiais estarão presentes no corpo por muitos anos após a implantação. Por essa razão, materiais biomiméticos, que não são produzidos em altas temperaturas como as biocerâmicas estão sendo desenvolvidas no mundo inteiro. Esses biomateriais biomiméticos procuram se assemelhar às apatitas biológicas em sua composição, cristalinidade e resistência mecânica. Os cimentos de fosfato de cálcio são exemplos de materiais biomiméticos (LAYROLLE & DACULAI, 2009).

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de biocerâmicas porosas de fosfato de cálcio para regeneração óssea, além de obtenção e caracterização de pós cimentícios de fosfato de cálcio com variadas relações Ca/P. A partir dos pós, obter cimentos de fosfato de cálcio e suportes (scaffolds) porosos de cimento de fosfato de cálcio através da técnica de impregnação de esponjas poliméricas. A caracterização dos suportes porosos foi realizada quanto a sua morfologia, composição química e porosidade.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho de pesquisa foi desenvolvido no Laboratório do Grupo de Biomateriais, instalado no Laboratório de Engenharia de Materiais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais da Universidade Federal de Campina Grande – PB.

### Materiais

Hidróxido de Cálcio P.A.;  
Ácido Fosfórico P.A.;  
Hidrogenofosfato de sódio.  
Esponja de poliuretano comercial.

### Métodos

#### Processo de Obtenção e Caracterização dos Pós de fosfato de cálcio

Para a obtenção dos pós cerâmicos foi utilizado o processo de reação por via úmida utilizando como reagentes o hidróxido de cálcio  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$  e ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). As quantidades das soluções foram estequiometricamente determinadas de acordo com os valores das relações atômicas ou razões entre os átomos de cálcio e fósforo - Ca/P, que neste estudo serão 1,0, 1,67 e 2,0. O processo de sinterização dos pós para as razões Ca/P = 1,0 será de 700 °C por 2 horas. Para as amostras com razão Ca/P 1,67, serão sinterizadas a 900 °C por 2 horas e a 1200 °C por seis horas, com o mesmo procedimento sendo empregado para as amostras com relação Ca/P 2,0.

A morfologia, composição química e cristalinidade foram caracterizadas usando microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A identificação dos grupos funcionais característicos foi realizado das bandas de absorção das amostras dos pós foi realizada utilizando a técnica espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR). A composição química dos elementos presentes, principalmente a relação Ca/P, foi obtida por espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDX). A análise por difração de raios-X (DRX) será utilizada para identificar as fases presentes.

#### Processo de obtenção dos cimentos de fosfato de cálcio (CFC)

Os pós de fosfato de cálcio com razão Ca/P 1,0, 1,67 e 2,0 após caracterizados foram combinados e misturados a uma solução aquosa de hidrogenofosfato de sódio para formar uma pasta que possa reagir a

temperatura ambiente a fim de dar lugar a um precipitado que contenha um ou mais fosfatos de cálcio e ocorra a reação de pega por meio de intercruzamento dos cristais deste precipitado.

### **Desenvolvimento de suportes porosos de CFC utilizando a técnica Réplica da Esponja Polimérica - TREP**

Para a fabricação de suportes porosos ou scaffolds foi utilizada a técnica da réplica da esponja polimérica, desenvolvida e realizada no Laboratório de Engenharia de Materiais do DEMa/ CCT/UFMG.

Esse método consiste em inicialmente selecionar uma esponja polimérica de acordo com o tamanho e distribuição dos poros, uma vez que esses fatores apresentam relação direta com a estrutura final dos blocos porosos.

Essas esponjas previamente selecionadas e cortadas em formato cilíndrico foram impregnadas com o cimento de fosfato de cálcio, cuja preparação está descrita no tópico acima. A etapa de impregnação consiste em submergir a esponja no cimento antes da pega, e em seguida comprimi-la para eliminar o ar e promover a adsorção. Em seguida foi removido o excesso do cimento na esponja por meio de compressão. As amostras foram secas a 110°C e queimadas 700°C para eliminação da esponja de poliuretano.

### **Caracterização dos suportes porosos de CFC**

A morfologia, composição química, tamanho e a distribuição de tamanho dos poros dos suportes porosos ou scaffolds foram caracterizados usando microscopia óptica (MO) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). A composição química dos elementos presentes, principalmente a relação Ca/P, foi obtida por espectroscopia por energia dispersiva de raios-X (EDX). A análise por difração de raios-X (DRX) foi utilizada para identificar as fases presentes.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

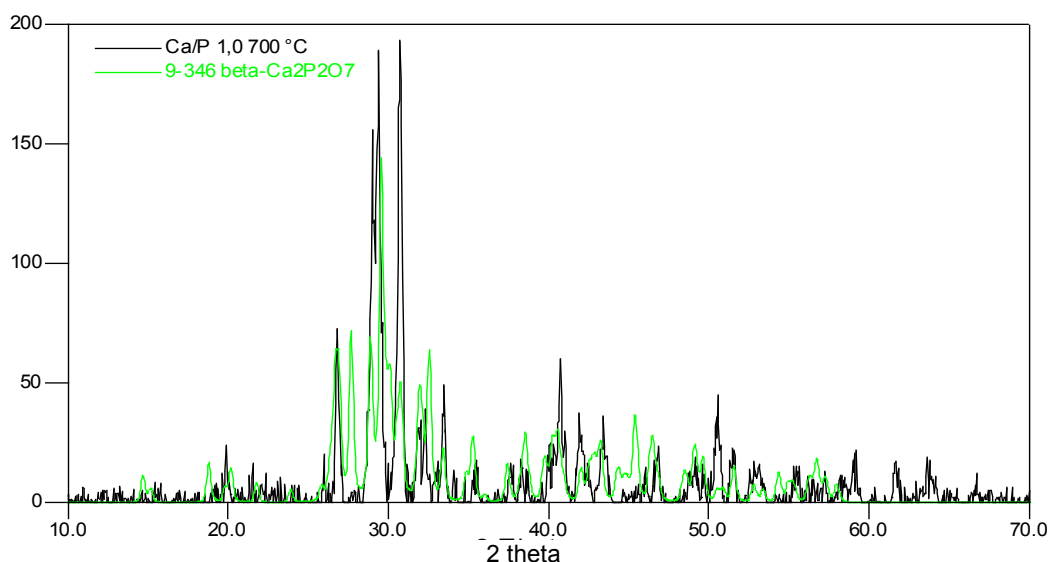
### **Caracterização dos Pós de fosfato de cálcio**

Este item apresenta os resultados e discussões referentes às análises de caracterização dos pós de fosfato de cálcio que foram utilizados na fase de obtenção dos cimentos. Esses pós foram obtidos com valores de razão Ca/P 1,0, 1,67 e 2,0 e tratados termicamente a 700°C, 900°C e 1200°C. Os itens seguintes apresentam as análises de Difração de raio X (DRX), Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Microscopia Óptica (MO), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia por Energia Dispersiva de Raios-X (EDX).

### **Difração de raios-X dos pós cimentícios**

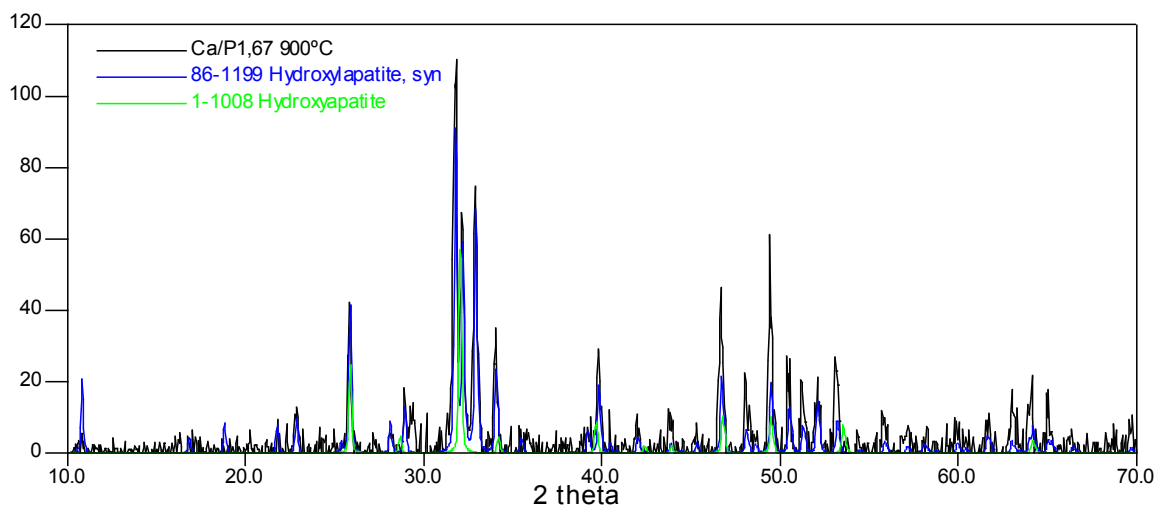
Os difratogramas de raios X das amostras com razão Ca/P igual a 1.0 (700°C); 1.67 (900°C e 1200°C); e 2.0 (900°C e 1200°C) estão apresentadas nas Figuras 1 a 5, respectivamente.

A Figura 1 apresenta o difratograma de raios-X do pó cimentício com razão Ca/P= 1,0 com tratamento térmico a 700°C. Ao comparar o difratograma obtido com as fichas catalográficas do JCPDS, a fase predominante é beta-pirofosfato de cálcio, cuja fórmula química é  $\beta$ -Ca<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, fase esperada a partir do tratamento térmico empregado.



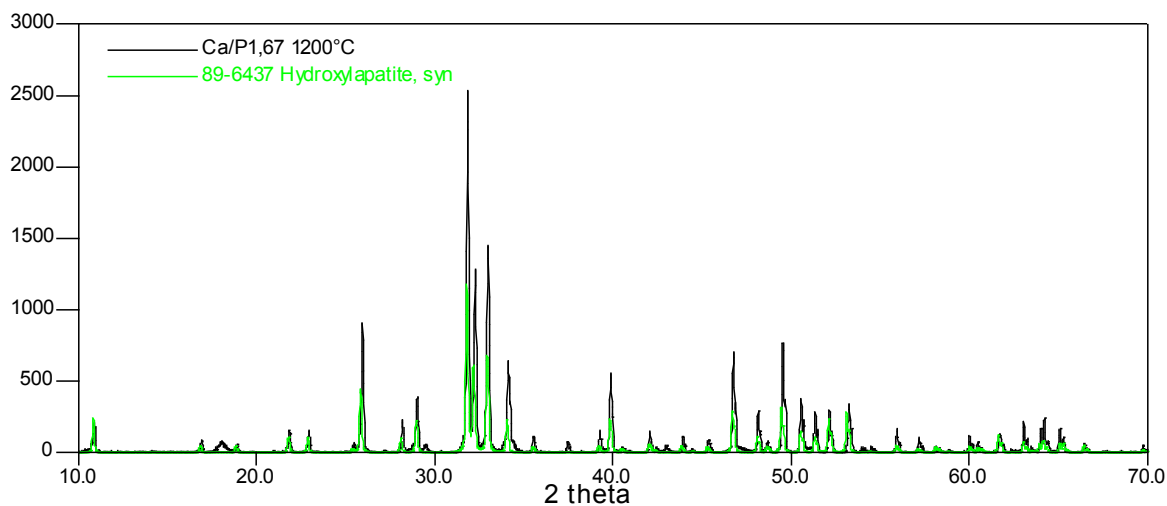
**Figura 1. DRX do pó com Ca/P= 1.0 tratado termicamente a 700°C.**

A Figura 2 ilustra o difratograma de raios-X do pó cimentício com razão Ca/P= 1,67 com tratamento térmico a 900°C. Ao analisar as fichas catalográficas do JCPDS, as fases presentes foram a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH})_2(\text{PO}_4)_6$ ) e hidroxiapatita carbonatada fluoratada ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3(\text{OH})\text{F}$ ). A presença de íons carbonatos ocorre devido ao sistema ser montado em presença de  $\text{CO}_2$  livre. A presença do flúor pode ser considerada como uma contaminação proveniente da água utilizada no processo.



**Figura 2. DRX Ca/P= 1.67 a 900°C.**

A Figura 3 ilustra o difratograma de raios-X do pó cimentício com razão Ca/P= 1,67 com tratamento térmico a 1200°C. Com o tratamento térmico aplicado, era esperada a formação de um sistema bifásico, composto por hidroxiapatita e TCP. Contudo, apenas um perfil monofásico foi obtido. Ao analisar as fichas catalográficas do JCPDS, a fase presente foi a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10,042}(\text{PO}_4)_{5,952}(\text{OH})_{2,292}$ ). A presença monofásica pode ser atribuído aos procedimento experimentais para a obtenção do pó.



**Figura 3. DRX Ca/P= 1.67 a 1200°C.**

A Figura 4 ilustra o difratograma de raios-X do pó cimentício com razão Ca/P= 2,0 com tratamento térmico a 900°C. Ao analisar as fichas catalográficas do JCPDS, visualiza-se um sistema multifásico as fases presentes foram a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10,042}(\text{PO}_4)_{5,952}(\text{OH})_{2,292}$ ) e fosfato de cálcio amorfo ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{nH}_2\text{O}$ ).

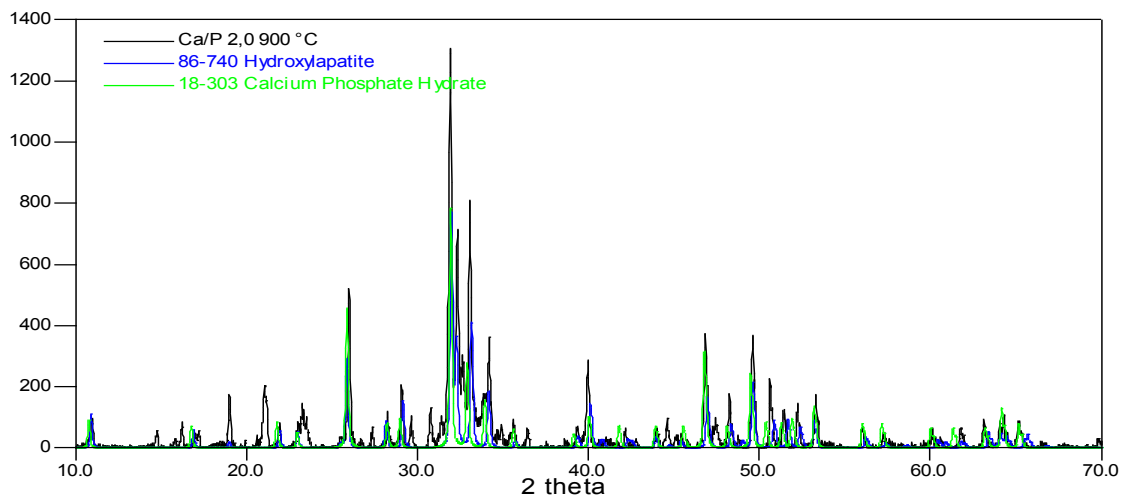


Figura 4. DRX Ca/P= 2,0 a 900°C.

A Figura 5 ilustra o difratograma de raios-X do pó cimentício com razão Ca/P = 2,0 com tratamento térmico a 1200°C. Ao analisar as fichas catalográficas do JCPDS, as fases presentes foram a hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10,042}(\text{PO}_4)_{5,952}(\text{OH})_{2,292}$ ) e fosfato de cálcio amorfo ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ). Para a razão Ca/P = 2,0, a fase esperada era o fosfato tetracálcio (TeCP), porém a temperatura de transformação térmica para obtenção do fosfato tetracálcio é acima de 1200 °C (KANAZAWA, 1989).

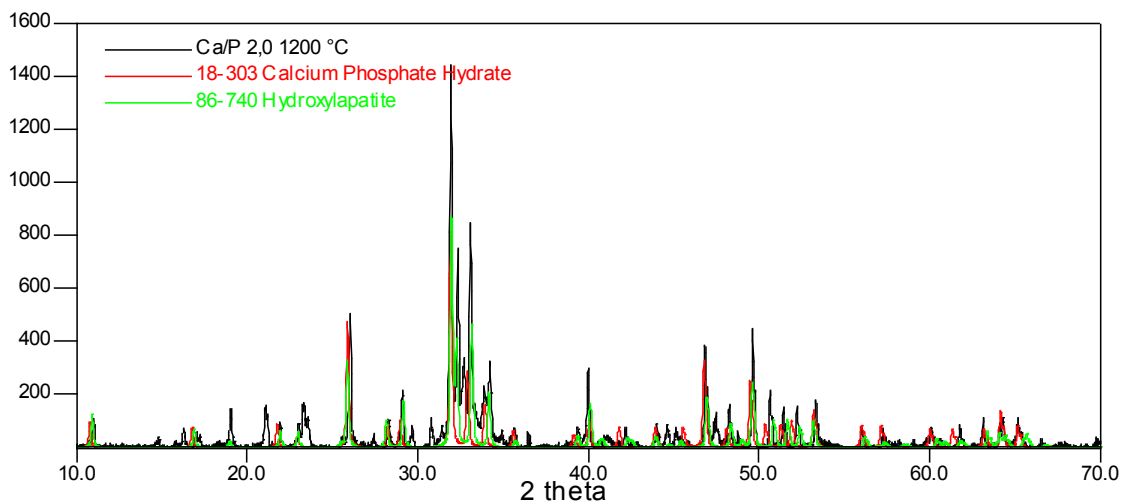
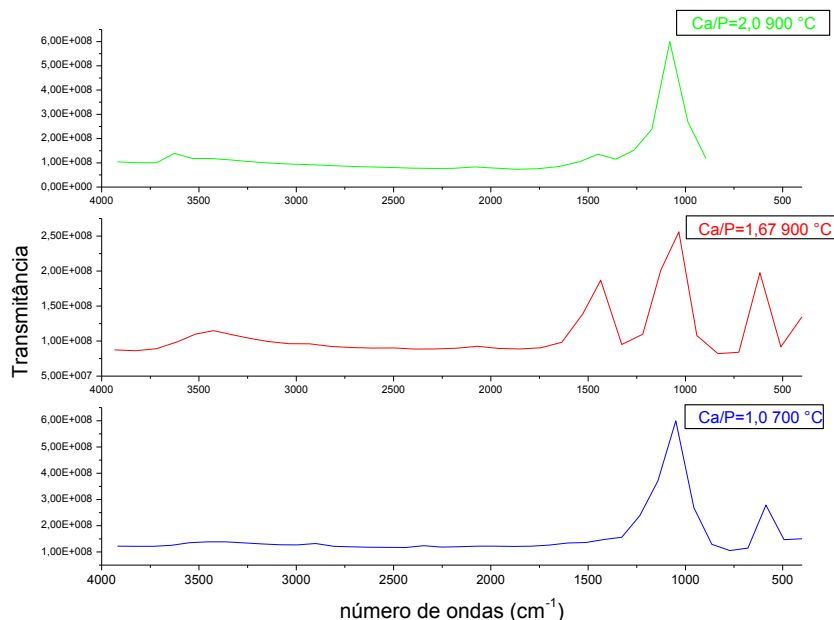


Figura 5. DRX Ca/P= 2,0 a 1200°C.

### Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) dos pós cimentícios

A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi realizada para verificar a eficácia do processo de obtenção dos fosfatos de cálcio com valores de razão Ca/P 1,0, 1,67 e 2,0, bem como a influência do tratamento térmico (700°C, 900°C e 1200°C), identificando suas bandas características.

Na Figura 6 estão ilustrados todos os espectros das amostras em pó de fosfato de cálcio. A linha azul representa o fosfato de cálcio com razão Ca/P=1,0 tratado termicamente a 700°C. As bandas na região de 450, 567, 1056 e 1148  $\text{cm}^{-1}$  apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ . As bandas em torno de 722 e 1554  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à incorporação de grupos  $\text{CO}_3^{2-}$  proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. A banda em torno de 3413  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento dos grupos hidroxila,  $\text{OH}^-$ , de  $\text{H}_2\text{O}$ .



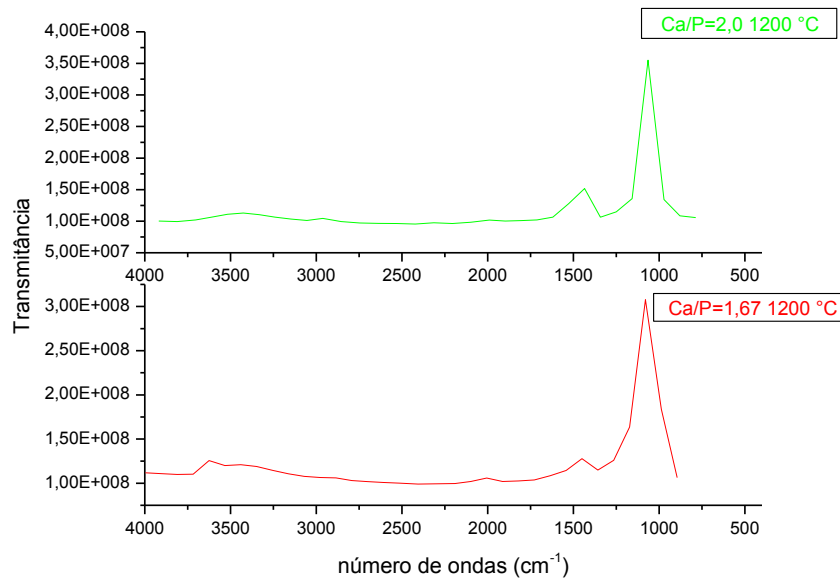
**Figura 6.** Espectros das amostras em pó de fosfato de cálcio com diferentes tratamentos térmicos.

A linha vermelha apresentada ilustra o espectro da amostra de pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P= 1,67 sinterizada a 900°C. As bandas na região de 578, 1047  $\text{cm}^{-1}$  apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ . As bandas em torno de 878 e 1461  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à incorporação de grupos  $\text{CO}_3^{2-}$  proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. As bandas em torno de 3570 e 3640  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento do grupo hidroxila,  $\text{OH}^-$ , da HA. Banda de absorção correspondente ao estiramento OH de  $\text{H}_2\text{O}$  foi verificado na região 3422  $\text{cm}^{-1}$ . A banda na região 1996  $\text{cm}^{-1}$  identificado em todas as amostras pode ser atribuído ao  $\text{CO}_2$  absorvido do meio ambiente. A linha verde apresenta o espectro da amostra de pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P= 2,0 sinterizada a 900°C. As bandas na região de 575 e 1052  $\text{cm}^{-1}$  apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ . A banda em torno de 1458  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à incorporação de grupos  $\text{CO}_3^{2-}$  proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. As bandas em torno de 3568 e 3640  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento do grupo hidroxila, OH.

#### Influência do tratamento térmico a 1200°C

A Figura 7 ilustra os espectros das amostras de pó de fosfato de cálcio com tratamento térmico de 1200 °C. A linha vermelha mostra o fosfato de cálcio com razão Ca/P= 1,67. As bandas na região de 576, 1051  $\text{cm}^{-1}$  apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ . As bandas em torno de 1438  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas à incorporação de grupos  $\text{CO}_3^{2-}$  proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. A banda em torno de 3568 e 3640  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída ao estiramento do grupo hidroxila,  $\text{OH}^-$ , da HA. A banda na região 2000  $\text{cm}^{-1}$  identificado em todas as amostras pode ser atribuído ao  $\text{CO}_2$  absorvido do meio ambiente.

A linha verde representa o espectro da amostra de pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P= 2,0. As bandas na região de 582 e 1079  $\text{cm}^{-1}$  apresentadas no espectro de IV correspondem às vibrações de estiramentos e flexões dos grupos  $\text{PO}_4^{3-}$ . A banda em torno de 1426  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à incorporação de grupos  $\text{CO}_3^{2-}$  proveniente do ar, visto que as amostras foram produzidas em atmosfera aberta e em solução aquosa. As bandas em torno de 3568 e 3640  $\text{cm}^{-1}$  são atribuídas ao estiramento do grupo hidroxila,  $\text{OH}^-$ .



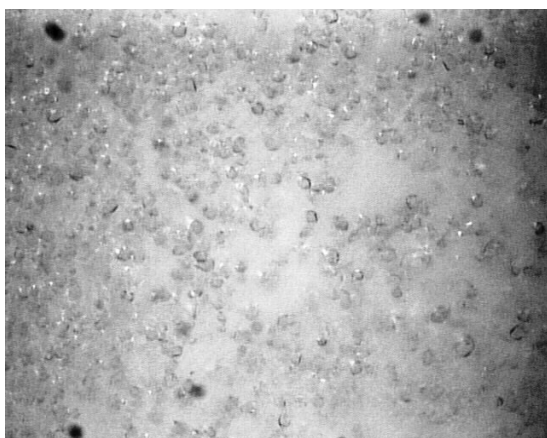
**Figura 7.** Espectros das amostras em pó de fosfato de cálcio tratados a 1200 °C.

Os resultados apresentados nas Figuras 6 e 7 mostram as bandas características dos fosfatos de cálcio e as de razão Ca/P =1,67 e 2,0 bandas características de carbonatos. As amostras de razão Ca/P =1,67 apresentaram as bandas dos carbonatos elevadas, onde após o segundo tratamento térmico houve uma redução nessas bandas e observou-se um aumento nas bandas dos fosfatos. Já as amostras de razão Ca/P =2,0 mostraram que bandas de carbonatos estão presentes levemente, após o segundo tratamento térmico, constatou-se também que ocorreu um aumento considerável nas bandas de fosfatos. O estudo com a amostra de razão Ca/P =1,0 não pode ser realizado utilizando variadas temperaturas, pois o mesmo funde acima de 800°C.

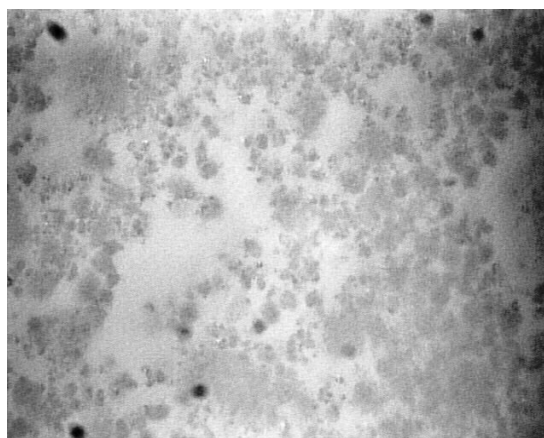
### Microscopia Óptica dos pós cimentícios

A análise por microscopia óptica foi realizada para avaliar a morfologia dos pós de fosfato de cálcio com razão Ca/P 1,0, 1,67 e 2,0.

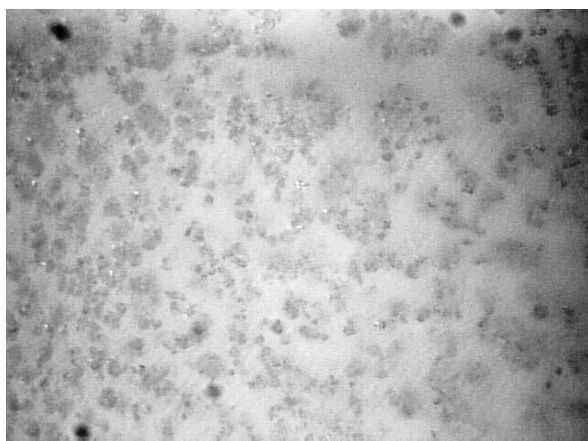
A figura 8 mostra as análises de MO das amostras estudadas, estas apresentam diferentes morfologias típicas da razão Ca/P analisadas.



(a)



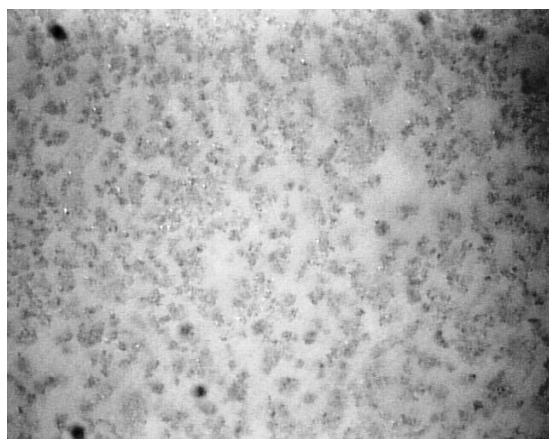
(b)



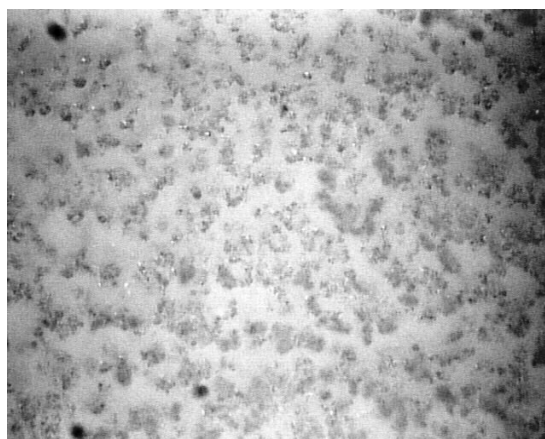
(c)

**Figura 8.** Microscopia óptica dos pós de fosfato de cálcio (a) Ca/P 1,0- 700°C (b) Ca/P 1,67- 900C e (c) Ca/P 2,0 -900°C (500X).

A Figura 9 apresenta a microscopia óptica do pó de fosfato de cálcio obtido com razão Ca/P 1,67 e 2,0 tratado termicamente a 900°C e 1200°C. Pode-se observar que o aumento da temperatura também favoreceu ao aumento do tamanho dos cristais.



(a)



(b)

**Figura 9.** Microscopia óptica do pó de fosfato de cálcio tratada termicamente a 1200°C.  
(a) Ca/P 1,67 e (b) Ca/P 2,0 (500X)

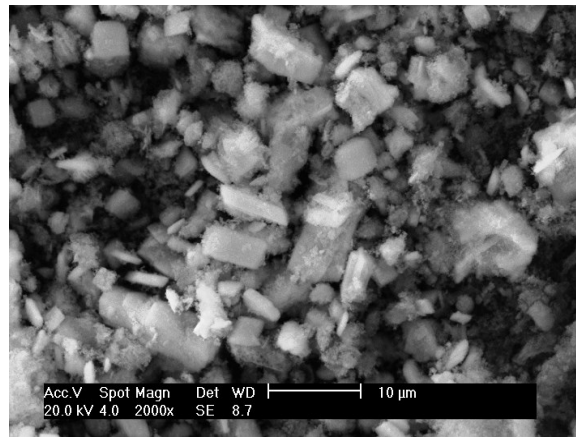
O aumento do tamanho dos cristais está diretamente relacionado à diminuição da quantidade de carbonatos nas amostras, mostrados nos espectros de infravermelho (Figuras 6 e 7). Por serem de menor tamanho, quando comparados com os grupos fosfatos ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), os grupos carbonatos propiciam um menor tamanho dos cristais, tornando as apatitas mais solúveis, além de apresentar uma maior estabilidade do pH (MEYER, WIESMANN, 2006; LEGEROS, LEGEROS, 2008).

### **Microscopia Eletrônica de Varredura dos pós cimentícios**

As imagens das análises por MEV dos pós obtidos com razão Ca/P 1,0 (700°C), 1,67(900°C e1200°C) e 2,0 (900°C e1200°C) estão apresentadas nas Figuras 10 a 14, respectivamente.

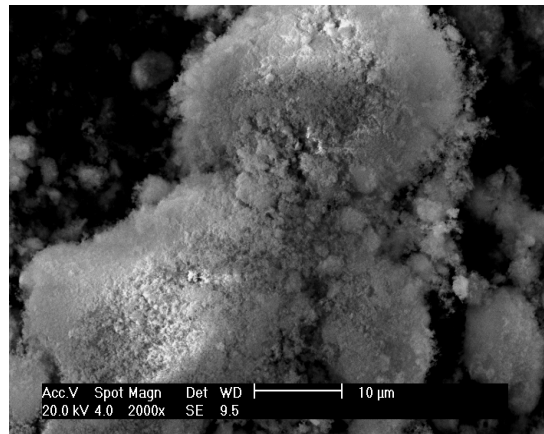
A Figura 10 apresenta a imagem de MEV do pós de fosfato de cálcio tratado termicamente a 700°C durante 2 horas. Existem aglomerações de tamanhos variados e cristalitos de tamanhos de 3-10 $\mu\text{m}$ . Visualiza-se também a presença de uma morfologia típica sistema bifásico com fase predominante do beta-pirofosfato de acordo com o difratograma de raio-X apresentado na Figura 1.





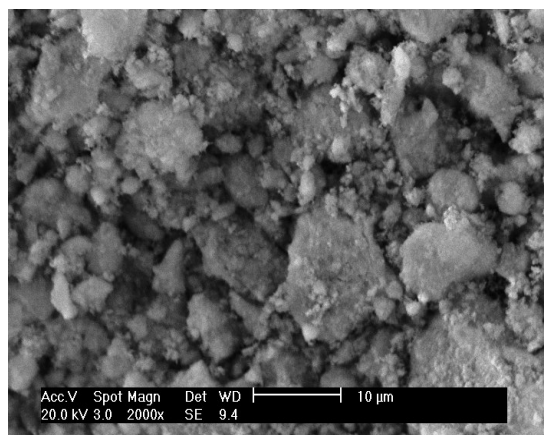
**Figura 10.** MEV (2000X) e EDS do pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P 1,0 tratado termicamente a 700°C.

A Figura 11 apresenta a imagem de MEV do pó de fosfato de cálcio tratado termicamente a 900°C durante 2 horas. Há formação de aglomerados maiores de aproximadamente 50 µm.



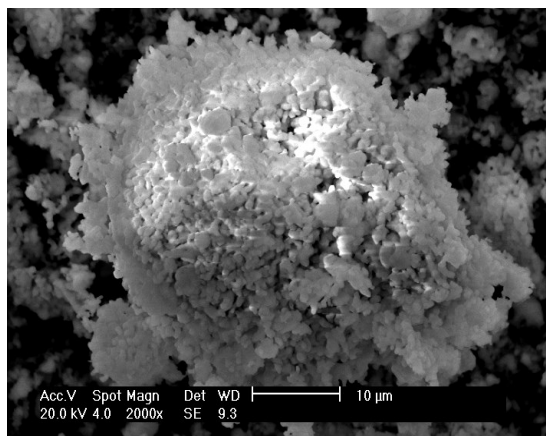
**Figura 11:** MEV (2000X) e EDS do pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P =1,67 tratado termicamente a 900°C.

A Figura 12 apresenta a imagem de MEV dos pós de fosfato de cálcio tratado termicamente a 900°C durante 2 horas. Observam-se a formação de aglomerados com formatos variados, dimensões e cristalitas de tamanhos variando entre 1-3 µm.



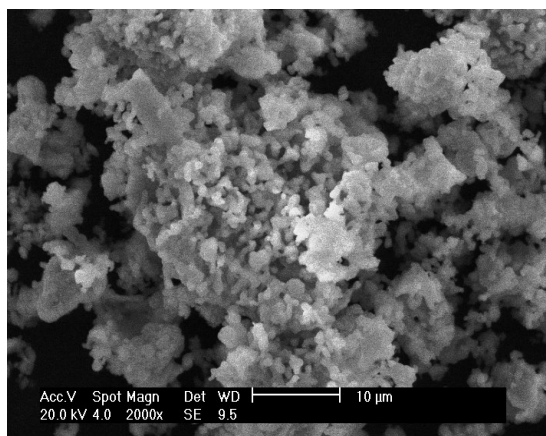
**Figura 12.** MEV (2000X) e EDS do pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P 2,0 tratado termicamente a 900°C.

A Figura 13 apresenta a imagem de MEV do pó de fosfato de cálcio tratado termicamente a 1200°C durante 6 horas. Assim como mostrado na imagem da Figura 13, também a formação de maiores aglomerados fica evidenciada.



**Figura 13.** MEV (2000X) e EDS do pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P 1,67 tratado termicamente a 1200°C.

A Figura 14 apresenta a imagem de MEV do pó de fosfato de cálcio tratado termicamente a 1200°C durante 6 horas. O tratamento térmico promoveu a formação de aglomerados de maiores dimensões em formatos variados.



**Figura 14.** MEV(2000X) e EDS do pó de fosfato de cálcio com razão Ca/P 2,0 tratado termicamente a 1200°C.

Na tabela 1 estão relacionados os valores da análise química pontual por EDS, apresentando os valores teóricos e reais das relações Ca/P estudadas.

**Tabela 1.** EDS dos pós cimentícios com várias relações Ca/P.

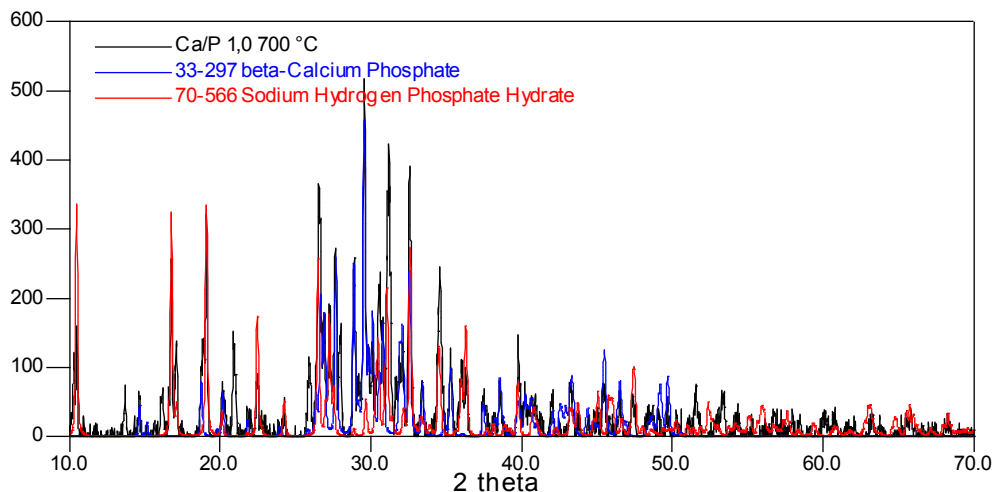
Razão Ca/P	Ca/P=1,0	Ca/P=1,67	Ca/P=1,67	Ca/P=2,0	Ca/P=2,0
Temperatura	700°C	900°C	1200°C	900°C	1200°C
EDS	1,0	1,56	1,67	1,87	2,17

O aumento da temperatura do tratamento térmico (1200°C) resultou em um aumento no valor da relação Ca/P, detectada pela análise de EDS. Esse fato pode ser atribuído a um aumento da cristalinidade das amostras dos pós, atribuída a substituição dos íons  $\text{CO}_3^{2-}$  por íons  $\text{PO}_4^{3-}$ . Conseqüentemente leva a uma diminuição da solubilidade dos fosfatos de cálcio, pois os íons carbonatos são mais solúveis que os fosfatos.

## Difração de raios-X dos suportes porosos de CFC

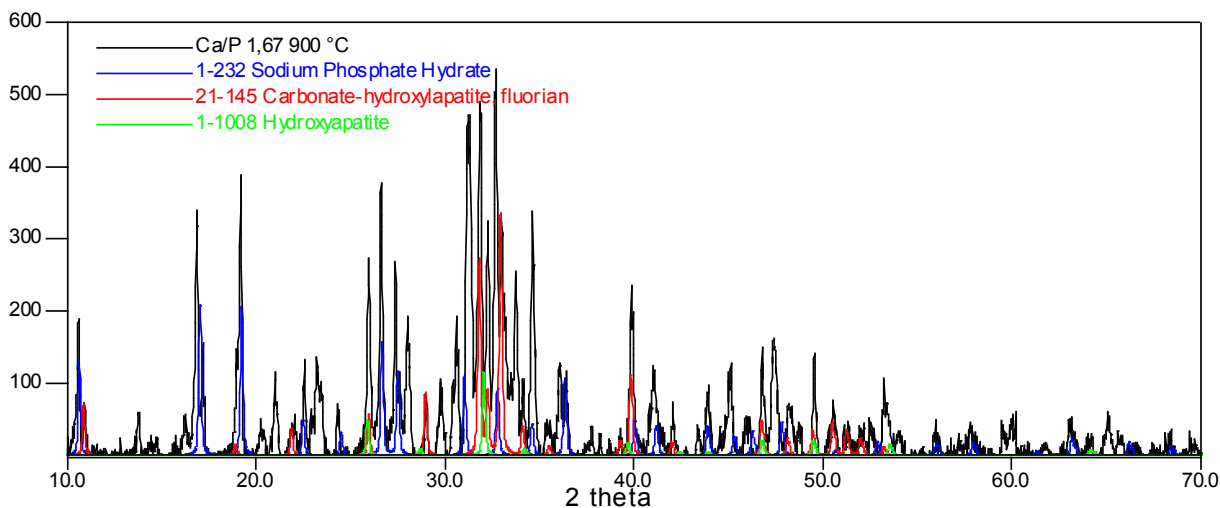
Os difratogramas de raios X dos suportes porosos de CFC, tratado termicamente a 700°C para eliminação da esponja, estão apresentadas nas Figuras 4, respectivamente.

A Figura 15 apresenta o difratograma de raios-X do suporte poroso obtido a partir do pó com razão Ca/P =1,0 tratado termicamente a 700°C. Ao analisar o difratograma utilizando as fichas catalográficas do JCPDS, observa-se as fases beta-pirofosfato de cálcio ( $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ ) e hidrogênio fosfato de sódio dihidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4(\text{H}_2\text{O})_2$ ).



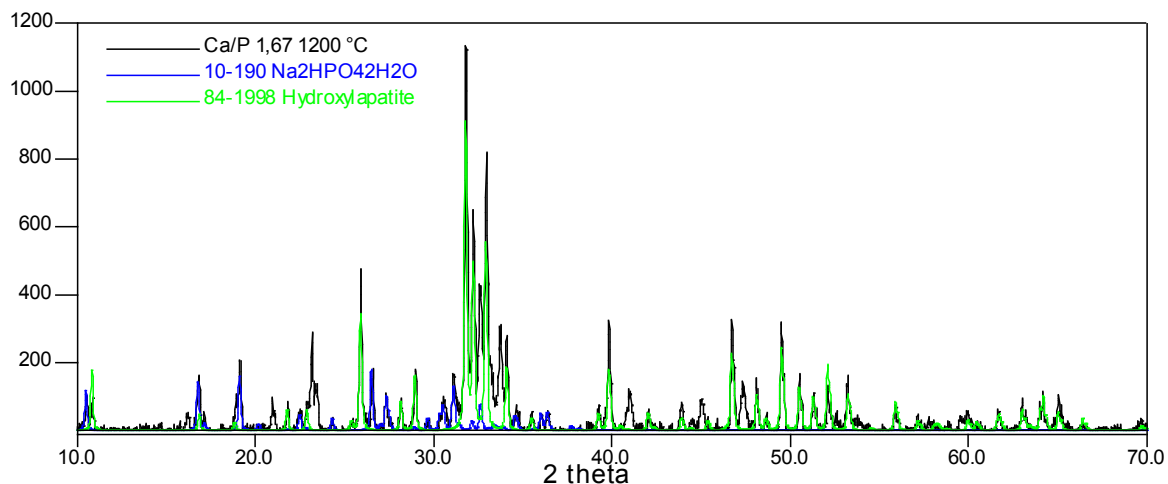
**Figura 15.** DRX do suporte poroso obtido a partir do pó com Ca/P=1.0 (700°C).

A Figura 16 apresenta o difratograma de raios-X do suporte poroso obtido a partir do pó com razão Ca/P =1,67 tratado termicamente a 900°C. Ao analisar o difratograma utilizando as fichas catalográficas do JCPDS, observa-se as fases hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{OH}_2)(\text{PO}_4)_6$ ), hidroxiapatita carbonatada fluoratada ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3(\text{OH})\text{F}$ ) e hidrogênio fosfato de sódio dihidratado ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).



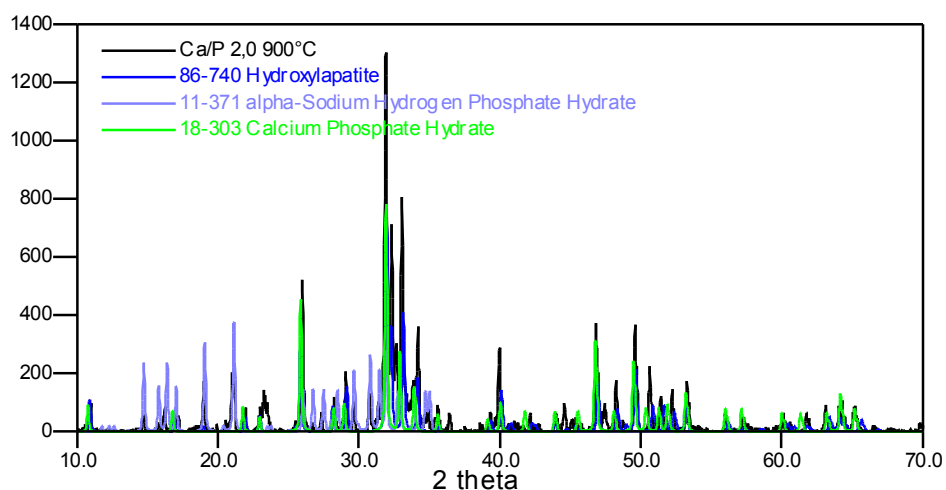
**Figura 16.** DRX do suporte poroso obtido a partir do pó com Ca/P=1.67 (900°C).

A Figura 17 ilustra o difratograma de raios-X do suporte poroso obtido a partir do pó com razão Ca/P= 1,67 tratado termicamente a 1200°C. Ao analisar o difratograma utilizando as fichas catalográficas do JCPDS, observa-se as fases hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ) e o hidrogênio fosfato de sódio dihidratado ( $\text{NaHPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ).



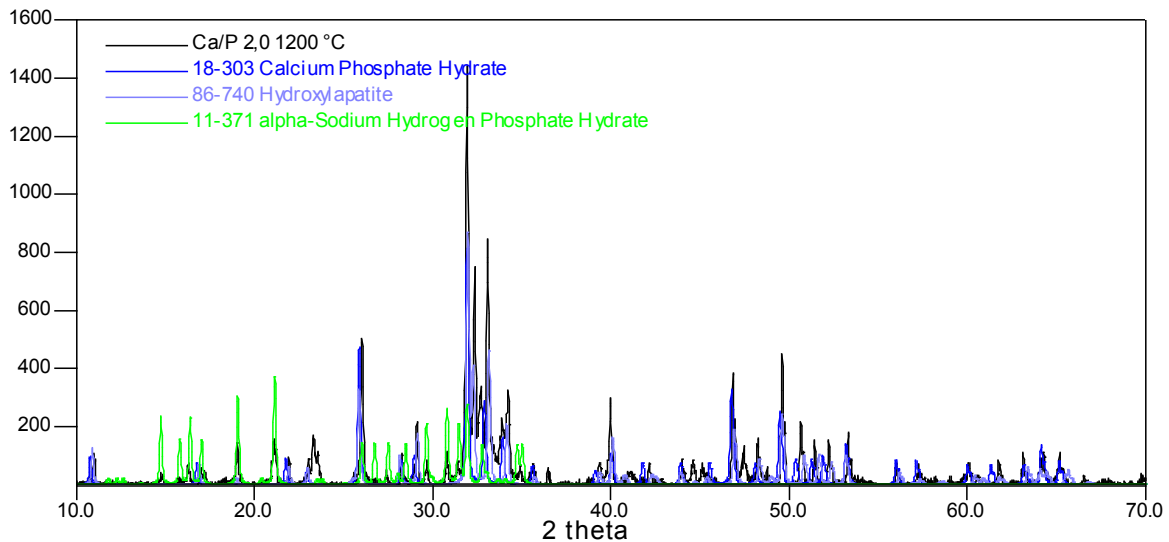
**Figura 17.** DRX do suporte poroso obtido a partir do pó com Ca/P=1.67 (1200°C).

A Figura 18 mostra o difratograma de raios-X do suporte poroso obtido com razão Ca/P= 2,0 tratado termicamente a 900°C. Ao analisar o difratograma utilizando as fichas catalográficas do JCPDS, observa-se as fases hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ), o hidrogênio fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) e fosfato de cálcio amorfo ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ).



**Figura 18.** DRX do suporte poroso obtido a partir do pó com Ca/P=2,0 (900°C).

A Figura 19 apresenta o difratograma de raios-X do suporte poroso obtido com razão Ca/P= 2,0 tratado termicamente a 1200°C. Ao analisar o difratograma utilizando as fichas catalográficas do JCPDS, observa-se as fases, hidroxiapatita ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ ), o hidrogênio fosfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) e fosfato de cálcio amorfo ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ).



**Figura 19.** DRX do suporte poroso obtido a partir do pó com Ca/P=2,0 (1200°C).

Os resultados apresentados nas Figuras 15 a 19 mostram que a adição do hidrogênio fosfato de sódio e o tratamento térmico empregado a 700°C para a eliminação da esponja não modificou a composição da fase dos pós cimentícios para a obtenção dos suportes porosos.

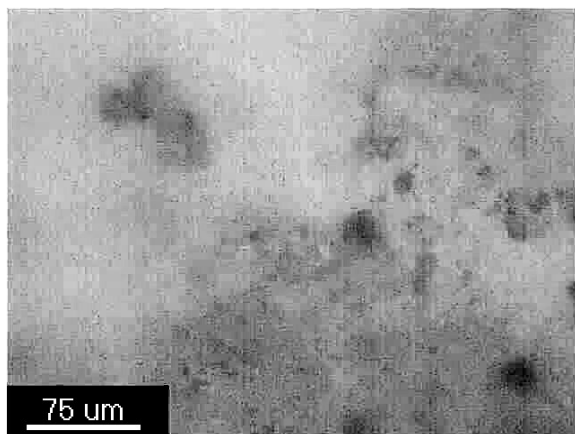
### Microscopia Óptica dos suportes porosos

A análise por microscopia óptica das amostras obtidas com razão Ca/P iguais a 1.0, 1.67 e 2.0 tratadas termicamente a 700°C estão apresentadas nas Figuras 20.

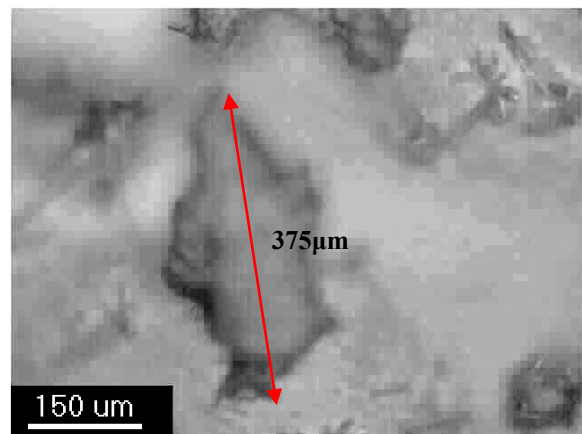
Com relação à morfologia e tamanho, os poros são classificados de duas maneiras: microporos que possuem um diâmetro entre 1-20µm e macroporos que possuem diâmetros maiores que 100µm. (BOHNER et al., 2005).

Os resultados obtidos revelaram a presença de macroporos (>300 µm) e microporos (<40 µm) com dimensões variadas na superfície dos suportes porosos, o que indica que a estrutura porosa da esponja polimérica foi mantida na temperatura trabalhada (Figura 20).

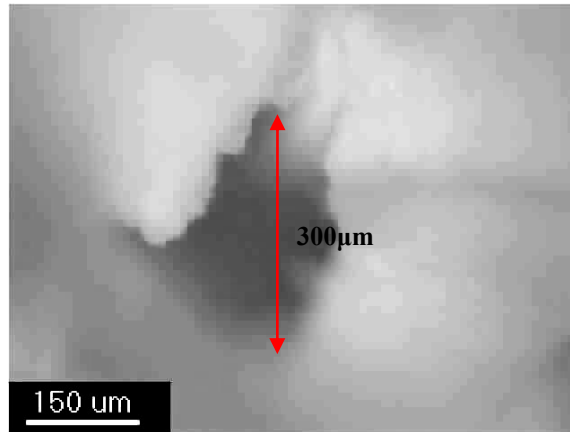
Os macroporos observados nas micrografias possuem tamanho adequado à regeneração do tecido ósseo. Segundo KARAGEORGIU e KAPLAN (2005), o tamanho mínimo necessário para o crescimento de células ósseas é de 100 - 200 µm. Poros menores entre 75 - 100 µm resultam no crescimento de tecido osteóide não mineralizado. Poros menores ainda, entre 10 - 75 µm, permitem a penetração apenas de tecido fibroso, o que ajuda na fixação mecânica da peça.



(a)



(b)



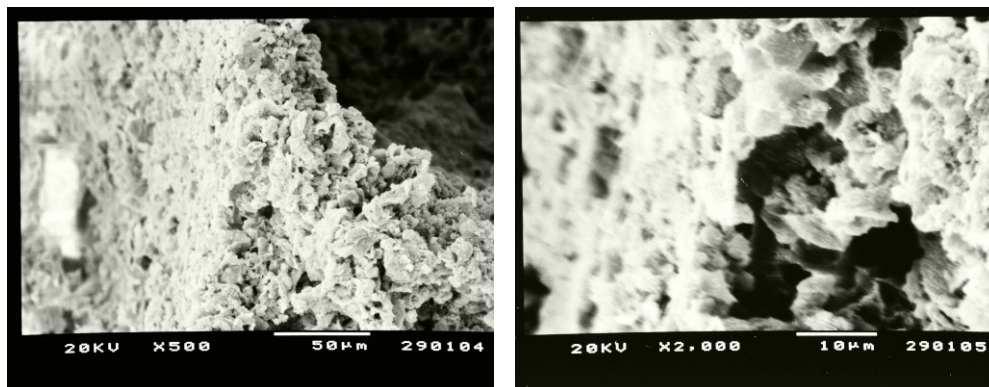
(c)

**Figura 20.** (a) suportes porosos com formação de microporos tratados termicamente a 700°C; (b,c) suportes porosos com formação de macroporos tratados termicamente a 700°C.

### Microscopia eletrônica de varredura

A micrografia apresentada na Figura 21 ilustra a morfologia e microestrutura dos suportes porosos obtidos com o pó de fosfato de cálcio com relação Ca/P 1,67, referente a fase hidroxiapatita, uma das mais utilizadas na aplicação como biomaterial. As imagens revelam que a técnica é reprodutível na característica de poros interconectados com tamanhos variados presentes nas estruturas. Observa-se também a presença de uma pequena fração dos considerados microporos (1-20  $\mu\text{m}$ ) e uma quantidade maior de macroporos (50-150  $\mu\text{m}$ ). A fração de microporos detectada nas paredes dos poros maiores das amostras observada nas micrografias acima, contribui diretamente para formação de interconectividade entre os poros.

A presença de poros maiores que 100  $\mu\text{m}$  demonstra que os suportes de HA obtidos pela técnica réplica da esponja polimérica são adequados à regeneração óssea. Visto que um osteoblasto ocupa uma área de 700  $\mu\text{m}^2$  (THOMSON et al. 1998), conseqüentemente um tamanho de poro acima de 100  $\mu\text{m}$  é compatível com a osteocondução (NARBAT et al., 2006). Isso mostra que os poros dos suportes de HA são suficientemente extensos para acomodar células.

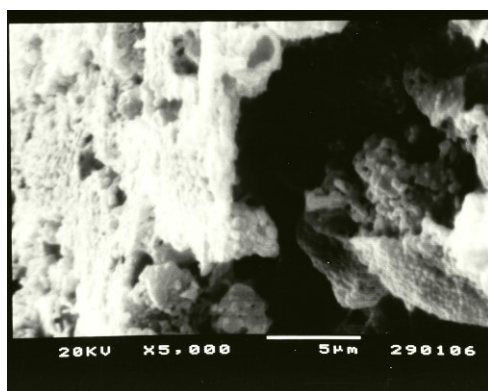


(a)

(b)

**Figura 21.** MEV dos suportes porosos a) 500X e b) 2000X

As Figuras 22 apresentam imagens dos suportes com razão Ca/P= 1,67 em maior resolução, necessárias para melhor avaliar a diferença entre o comportamento das superfícies das amostras.



**Figura 22.** MEV dos suportes porosos (10000X)

As relações Ca/P determinadas pela análise de EDX apresentaram um desvio estequiométrico, havendo modificações estruturais perceptíveis no padrão de difração de raios-X, devido a incorporação de composto hidrogênio fosfato de sódio dihidratado. A adição desse composto provocou um aumento dos grupos fosfato, diminuindo assim o valor da razão Ca/P.

**Tabela 2.** EDS dos suportes porosos com varias razão Ca/P.

Razão Ca/P	Ca/P=1,0	Ca/P=1,67	Ca/P=1,67	Ca/P=2,0	Ca/P=2,0
Temperatura	700°C	900°C	1200°C	900°C	1200°C
EDX	0,97	1,54	1,65	1,84	2,06

## CONCLUSÕES

- As análises por DRX mostraram que para todas as razões Ca/P estudadas foram obtidas as fases esperadas, com exceção das amostras com relação Ca/P = 2,0 tratadas termicamente a 900 e 1200 °C, onde esperava a formação do fosfato tetracálcio (TeCP). Contudo, era um resultado já conhecido, devido a temperatura de transformação térmica para obtenção do fosfato tetracálcio ser acima de 1200 °C.
- As análises por FTIR revelaram que todas as amostras de pós de fosfato de cálcio obtidas com variadas razões Ca/P apresentaram as bandas características dos fosfatos de cálcio.
- As análises por microscopia óptica mostraram que o aumento da temperatura de sinterização provocou um aumento do tamanho das partículas dos pós de fosfato de cálcio, comprovando assim, junto com os espectros de infravermelho, que houve uma substituição dos grupos carbonatos pelos fosfatos.
- As análises por MEV revelaram morfologias típicas para cada fosfato de acordo com a relação Ca/P. A formação de estruturas bifásicas ficou evidenciada com o tratamento térmico a 1200°C para as relações Ca/P 1,67 e 2,0.
- As relações Ca/P determinadas pela análise de EDX, exceto a amostra obtida com razão Ca/P 1,0 a 700°C e 1,67 a 1200°C, sofreram um desvio estequiométrico nos seus valores. O aumento da temperatura do tratamento térmico (1200°C) resultou em um aumento no valor da relação Ca/P, atribuído a um aumento da cristalinidade das amostras dos pós e formação de uma segunda fase.
- Nas condições experimentais deste trabalho destacam-se os resultados efetivos entre morfologia e Ca/P para os casos de Ca/P= 1,0 (700°C), 1,67( 1200 °C) e 1,56 (900°C).
- A adição do hidrogênio fosfato de sódio para obtenção dos suportes porosos não alterou a formação das fases de apatitas esperadas.
- Os suportes porosos desenvolvidos em associação com hidrogênio fosfato de sódio apresentaram características singulares, com faixa de tamanhos de poros que possibilitam sua aplicação como suporte (scaffolds) para desenvolvimento de tecido ósseo.
- Através da incorporação do hidrogênio fosfato de sódio como agente cimentante pode-se constatar, nesta fase da pesquisa, uma melhoria na resistência das estruturas porosas.

## AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica.

Ao Grupo de Biomateriais da Unesp Campus Araraquara e ao Laboratório de Microscopia do curso de Engenharia Mecânica da UFCG por sua presteza na realização das análises por Microscopia Ótica.

A todos os colegas do Grupo de Biomateriais da Unidade Acadêmica de Engenharia de Materiais.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. GUTIERRES, M. et al. Substitutos Ósseos: conceitos gerais e estado actual. **ArquiMed** v.19, p. 153-162, 2006.
2. HENCH, L.L. Biomateriais: Uma Introdução, 2006. In: Oréfice, R.; Pereira, M.M.; Mansur, H.S. **Biomateriais: Fundamentos e Aplicações**. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 2006. 538p.
3. HENESS, G.; BEN-NISSAN, B.: Innovative Bioceramics. **Material Forum** v. 27, p. 104-114, 2004.
4. KANAZAWA, T. **Inorganic phosphate materials**. Tokyo: Kodansha, 1989. 98p.
5. KARAGEORGIU, V.; KAPLAN, D.; Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis. **Biomaterials** (2005).
6. KAWACHI, E. Y. et al. Biocerâmicas: Tendências e Perspectivas de Uma Área Interdisciplinar. **Química Nova**, v.23, n.4, 2000.
7. LAYROLLE, P.; DACULSI, G. Physicochemistry of Apatite and Its Related Calcium Phosphate, 2009. In: Léon, B.; Jansen, J.A. **Thin Calcium Phosphate Coating for Medical Implants**. New York: Springer, 2009.
8. LEGEROS, R.Z.; LEGEROS, J.P. Hydroxiapatite. In: KOKUBO, T. **Bioceramics and their clinical applications**. Boca Raton: CRC Press, 2008.
9. MEYER, U.; WIESMANN, H.A. **Bone and Cartilage Engineering**. New York: Springer, 2006.
10. MOREIRA, E.L. et al. Análise estrutural de uma hidroxiapatita carbonatada por difração de raios-X. **Revista do CBPF**. Disponível em: <  
[http://cbpfindex.cbpf.br/publication\\_pdfs/EMC2006ENVIO.2006\\_12\\_21\\_10\\_23\\_10.pdf](http://cbpfindex.cbpf.br/publication_pdfs/EMC2006ENVIO.2006_12_21_10_23_10.pdf)>. Acesso em: 10 de Julho de 2009.
11. NARBAT, M. K. et al. Fabrication of porous hydroxyapatite-gelatin composite scaffolds for bone tissue engineering. **Iranian Biomedical Journal** v.10, n. 4, p. 215-223, 2006. PARK, J.; LAKES, R.S. **Biomaterials: an Introduction**. 3th Edition. New York: Springer, 2007. 561p.
12. RATNER, B. D.; HOFFMAN, A. S.; SCHOEN, F. J.; LEMONS, J. E. (Ed.). **An introductions to materials in medicine**. San Diego: Academic Pres, 1996.
13. THOMSON, R.C. et al. Hydroxyapatite fiber reinforced poly ( $\alpha$ -hydroxy ester) foams for bone regeneration. **Biomaterials** v. 19, p. 1935-1943, 1998.