
ENG 02298 TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO

*INFLUÊNCIA DE DEFLOCULANTE E HIDROGEL NA RESISTÊNCIA
MECÂNICA DE CIMENTO DE FOSFATO TRICÁLCICO*

Carlos Eduardo Diehl
00180673

Orientador: Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos

Porto Alegre
Dezembro, 2018

Carlos Eduardo Diehl

**INFLUÊNCIA DE DEFLOCULANTE E HIDROGEL NA RESISTÊNCIA MECÂNICA
DE CIMENTO DE FOSFATO TRICÁLCICO**

Projeto de Pesquisa do Trabalho de Diplomação a ser
apresentado ao Departamento de Engenharia de Materiais
da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio
Grande do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do
título de Engenheiro de Materiais

Orientador: Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos

Porto Alegre
Dezembro, 2018

Agradecimentos

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos, pela confiança e orientação.

Aos meus familiares e amigos, pelo apoio e compreensão.

Aos meus pais, Paulo e Eva, e ao meu irmão, Leonardo, pelo incentivo, carinho e amor.

A minha namorada, Naya, pela paciência, apoio e amor.

Lista de Figuras

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Fórmula e proporção Ca/P de fosfatos de cálcio, adaptado de (GUASTALDI <i>et al.</i> , 2010) | 20 |
| Figura 2 - Alteração dos íons de fosfato de cálcio com a variação do pH. Figura adaptada (LYNN <i>et al.</i> , 2004) | 21 |
| Figura 3 - Modelo esquemático dos métodos de formação de hidrogéis por modificação química de polímeros hidrofóbicos..... | 24 |
| Figura 4 - Mecanismo de dispersão de partículas causados pela utilização de defloculantes..... | 26 |
| Figura 5 - Padrão de difração de raios X para a amostra CM-01..... | 33 |
| Figura 6 - Micrografia da superfície de fratura de cimento de α -TCP, contendo agulhas de hidroxiapatita | 34 |
| Figura 7 - Representação do desvio padrão e das médias para o ensaio de compressão..... | 37 |
| Figura 8 - Micrografia da superfície de fratura de compósitos de α -TCP e hidrogel das amostras (a)CM-01-1A, (b)CM-01-2A, (c)CM-01-3A, (d)CM-01-4A e (e)CM-01-5A..... | 38 |

Lista de Tabelas

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Composição das diferentes formulações de hidrogel preparadas..... | 28 |
| Tabela 2 - Composição percentual, em massa, da fase líquida utilizada na preparação dos cimentos | 29 |
| Tabela 3 - Distribuição do tamanho médio de partícula para o α -TCP..... | 34 |
| Tabela 4 - Valores de porosidade aparente, densidade aparente e absorção de água para compósitos | 35 |
| Tabela 5 - Resistência mecânica à compressão dos corpos de prova..... | 36 |

Lista de Símbolos e Abreviaturas

α -TCP - fase alfa do fosfato tricálcico;

β -TCP - fase beta do fosfato tricálcico;

ρ - densidade do fluido;

AIBN - azobisisobutironitrila;

DRX - difração de raios X;

HA - $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ – hidroxiapatita;

HCPK - 1-hidroxiciclohexil fenil cetona;

MEV - microscopia eletrônica de varredura;

NVP - N-vinil-2-pirrolidona;

SBF - *Simulated body fluid* (fluido corpóreo simulado);

TCP - fosfato tricálcico;

TEMED - N,N,N',N'-tetrametiletilenodiamina;

Sumário

| | |
|--|----|
| Lista de Símbolos e Abreviaturas | 6 |
| Resumo | 9 |
| 1. Introdução | 10 |
| 2. Objetivos | 12 |
| 3. Revisão Bibliográfica | 13 |
| 3.1 Biomateriais | 13 |
| 3.2 Biocerâmicas | 17 |
| 3.3 Fosfato de Cálcio | 18 |
| 3.4 Fosfato Tricálcico | 20 |
| 3.5 Cimento Ósseo | 21 |
| 3.6 Hidrogéis | 22 |
| 3.7 Defloculante | 23 |
| 4. Materiais e Métodos | 25 |
| 4.1 Obtenção de alfa-fosfato tricálcico por reação via úmida | 25 |
| 4.2 Obtenção hidrogéis | 25 |
| 4.3 Obtenção dos compósitos | 27 |
| 4.3.1 Compósito 1: Fosfato de cálcio e hidrogel | 27 |
| 4.4 Caracterização do pó obtido por reação via úmida | 29 |
| 4.4.1 Difração de raios X (DRX) | 29 |
| 4.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 30 |
| 4.4.3 Difração de laser | 30 |
| 4.5 Caracterização dos compósitos | 30 |
| 4.5.1 Porosidade e densidade aparente | 30 |
| 4.5.2 Resistência mecânica à compressão | 31 |
| 4.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 31 |
| 5. Resultados e Discussão | 32 |
| 5.1 Caracterização do pó obtido por reação via úmida | 32 |
| 5.1.1 Difração de raios X (DRX) | 32 |

| | |
|---|----|
| 5.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 33 |
| 5.1.3 Difração de laser | 34 |
| 5.2 Obtenção dos compósitos | 34 |
| 5.2.1 Compósito: Fosfato de cálcio e hidrogel | 35 |
| 5.2.1.1 Porosidade e densidade aparente | 35 |
| 5.2.1.2 Resistência mecânica à compressão | 35 |
| 5.2.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV) | 37 |
| 6. Conclusão | 40 |
| 7. Sugestões para trabalhos futuros | 41 |
| 8. Referências bibliográficas | 42 |

RESUMO

A tecnologia nunca evoluiu tão rapidamente como nos dias atuais, proporcionando avanços em diversas áreas, em especial na área da saúde. Com esses avanços tecnológicos surgem novos desafios, devido ao envelhecimento da população. Nos últimos anos, intensos estudos vêm sendo realizados no que se refere a substitutos ósseos biocompatíveis e absorvíveis, notadamente os cimentos ósseos de fosfato de cálcio, para cirurgias de reconstrução e em engenharia de tecidos. Porém os cimentos de fosfato de cálcio desenvolvidos apresentam baixa resistência mecânica quando comparados com os ossos do corpo humano. Neste contexto, a busca por alternativas para minimizar esse problema tem se intensificado. A obtenção de alfa-fosfato tricálcico, bem como o desenvolvimento de compósitos de fosfatos de cálcio e hidrogéis têm se destacado nesse ramo. O preparo destes compósitos permite combinar excelentes propriedades como: i) osteocondutividade e capacidade de formar ligações com o tecido ósseo proporcionado pelos fosfatos de cálcio e ii) facilidade de adesão e distribuição de células no interior de *scaffolds*, proporcionado pelo hidrogel. O objetivo do presente trabalho foi o desenvolvimento de compósitos de α -fosfato tricálcico com hidrogéis, utilizando-se um defloculante para uma melhor dispersão das partículas. Foi possível sintetizar alfa-fosfato tricálcico com elevado grau de pureza, utilizando-se o método de reação via úmida. Pela adição de formulações de hidrogéis ao cimento foi possível obter compósitos com maior absorção de água, mantendo as propriedades mecânicas, o que pode permitir uma melhor adesão celular ao implante sem comprometer sua estrutura. A utilização do defloculante permitiu uma melhora nos valores de resistência mecânica para os compósitos.

Palavras-chave: Alfa fosfato tricálcico; fosfato de cálcio; Defloculante; Poli (N-vinil-2-pirrolidona); reação via úmida; cimentos de fosfato de cálcio; biomateriais compósitos.

1. INTRODUÇÃO

O constante envelhecimento da população faz com que novos desafios surjam no que diz respeito à manutenção da qualidade de vida, tais como degeneração de tecidos, os traumas, decorrentes de acidentes, e doenças, como câncer. Dentre os materiais utilizados, os enxertos autógenos ainda estabelecem o referencial no que diz respeito a resposta do corpo ao implante. Enxertos alógenos e xenógenos podem contornar as limitações dos implantes autógenos, como limitações de formato e quantidade de material que pode ser removido, mas o risco de reações imunológicas e, em alguns países, a disponibilidade limitada de bancos de tecidos, a adesão do paciente e restrições regulatórias são os maiores obstáculos atualmente (MARX, 2007). Assim, substitutos ósseos sintéticos baseados em fosfato de cálcio são alternativas válidas para os transplantes de tecidos, visto as suas respectivas datas de uso clínico, de mais de um século (D'ESTE & EGLIN, 2013).

Os cimentos a base de fosfatos de cálcio têm sido utilizados como enxerto ósseo com crescente sucesso nesta última década. Um cimento desse tipo pode ser preparado misturando-se um sal de fosfato de cálcio com uma solução aquosa para que se forme uma pasta que possa reagir em temperatura ambiente ou corpórea dando lugar a um precipitado que contenha um ou mais fosfatos de cálcio. A cura deste material ocorre pelo entrecruzamento dos cristais deste precipitado (GRUNINGER *et al.*, 1984). O poli(metilmetacrilato) (PMMA) apresenta-se como o cimento para fixação óssea mais utilizado para as cirurgias de coluna e quadril, porém apresenta certos inconvenientes. A reação de polimerização deste material pode causar necrose do tecido ósseo ao redor da região do implante, devido à reação fortemente exotérmica (SANTOS, 2002). Este material, depois de implantado, não induz qualquer tipo de remodelação óssea, pois não é um material bioativo. Neste contexto, cimentos ósseos de materiais bioativos tem sido alvo de inúmeros trabalhos de pesquisa, devido à sua menor probabilidade de causar reações negativas por parte do tecido vivo.

O desenvolvimento de cimentos de fosfato de cálcio é imprescindível para o avanço tecnológico no campo dos biomateriais. Entretanto, os cimentos de fosfato de cálcio (CFC) desenvolvidos, apresentam baixa resistência mecânica quando comparados com os ossos do corpo humano. Assim, um sistema compósito

apresenta grande potencial de utilização em ortopedia e odontologia. Um importante trabalho realizado nesta área foi desenvolvido por Santos (2002), o qual realizou um estudo destinado a elevar a resistência mecânica dos cimentos de fosfato de cálcio, obtendo um aumento de até 148% na resistência mecânica à compressão com a adição de microfibras de náilon, carbono e polipropileno a uma composição contendo hidrogel de poli(acrilamida). Neste contexto, a utilização de hidrogéis biocompatíveis também se apresenta como uma alternativa promissora no desenvolvimento de um sistema compósito. Na literatura internacional existem ainda, poucos trabalhos publicados utilizando hidrogéis biocompatíveis como reforço de cimentos de fosfato de cálcio.

A disponibilidade de cimentos de fosfato de cálcio, com resistência mecânica próxima da resistência dos ossos humanos, estenderia consideravelmente o campo de aplicações potenciais, atualmente limitado às cirurgias odontológicas e craniomaxilofaciais. Composições mais resistentes destes cimentos encontrariam aplicações em ortopedia e neurocirurgia, como alternativa para a consolidação de fraturas múltiplas de ossos longos, fixação de próteses articulares cimentadas e substituição de discos intervertebrais e corpos vertebrais.

Quando se trata da expectativa e qualidade de vida, busca-se estender pelo maior tempo possível as propriedades e funcionalidades dos tecidos, os quais são mais propensos a falhas e desenvolvimento de doenças. A osteoporose, a mais comum das doenças metabólicas ósseas, é um dos maiores problemas de saúde pública da população senil, causando frequentes casos de morbidez e mortalidade. Ao mesmo tempo, o elevado número de acidentes automobilísticos provoca uma demanda suplementar de substitutos ósseos.

A realidade atual tem estimulado o desenvolvimento de pesquisas que visam à produção de materiais sintéticos que possam suprir a demanda cada vez maior de biomateriais. Além disso, os avanços da tecnologia e dos materiais têm proporcionado o aumento da expectativa e da qualidade de vida de pessoas que, por motivo de doença degenerativa ou trauma por acidente, ficariam incapacitadas de manter o mesmo nível de atividade e produtividade.

Os materiais comerciais utilizados para o reparo ou substituição de tecidos não conseguem atender todas as exigências químicas e estruturais da área médico odontológica, estimulando assim o desenvolvimento de novos biomateriais. A

proposta deste trabalho foi a busca de um método de reforço efetivo para os cimentos de fosfato de cálcio, para que se possa ampliar seu campo de aplicação.

2. OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivo avaliar a influência do emprego de hidrogel poli (N-vinil-2-pirrolidona) e defloculante poliacrilato de amônia nas propriedades mecânicas de cimento de alfa-fosfato tricálcico, visando o aumento da resistência mecânica.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Biomateriais

Os biomateriais vem se tornando, cada vez mais, parte importante das nossas vidas. Sua utilização pode variar desde aplicações estéticas, como próteses de silicone, até próteses de uso médico, como lentes e cimentos ósseos, para a manutenção e melhora da qualidade de vida.

Dentre as inúmeras definições para os biomateriais se destaca a da Conferência de Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas de 1982, que diz que um biomaterial pode ser definido como: “Toda substância (com exceção de drogas) ou combinação de substâncias, de origem sintética ou natural, que durante um período de tempo indeterminado é empregada como um todo ou parte integrante de um sistema para tratamento, ampliação ou substituição de quaisquer tecidos, órgãos ou funções corporais” (WILLIAMS, 1987). Isto significa que no sentido mais amplo são enquadrados nesta categoria todos os materiais empregados na medicina, odontologia, medicina veterinária e farmacologia, além daqueles que entram na forma de implantes em contato direto com o tecido do corpo (SANTOS, 2002). Sendo assim os biomateriais podem ser encarados, tanto na medicina humana quanto na veterinária, como substâncias que direcionam os procedimentos utilizados no tratamento de enfermidades, individualmente ou fazendo parte de um sistema complexo, pela interação com sistemas vivos.

Para a utilização de biomateriais em organismos vivos, algumas características são fundamentais como: ser biocompatível; não ser tóxico nem carcinogênico; ser quimicamente estável; ter estabilidade mecânica adequada; ter peso, forma e densidade adequados; ser relativamente barato; ser biofuncional, desempenhando a função para o qual foi fabricado com a máxima eficiência (SILVER & DOILLON, 1989).

Para uma aplicação específica, a escolha de um biomaterial pode levar em conta, por exemplo, o quão similar química ou fisicamente é o material e o tecido a ser substituído. Assim, são necessários o entendimento e o domínio não apenas da obtenção do biomaterial, mas também de suas respostas celulares. Logo, um

biomaterial tem como principal função, por exemplo, não só o preenchimento de um espaço vazio originado pela perda do tecido, como também promover resposta celular adequada (WILLIAMS, 1987).

A classificação dos biomateriais leva em consideração a função do tecido em sua origem, da reação que o implante irá gerar nos tecidos do organismo vivo ou de sua natureza química. Com relação a origem do enxerto, os biomateriais podem ser autógenos, alógenos, xenógenos e aloplásticos.

Um enxerto é definido como uma peça de tecido que é transferida de um leito doador para um leito receptor com o objetivo de reconstruí-lo. A palavra enxerto, implica na presença de um tecido com células viáveis, que foi obtido e utilizado no mesmo tempo cirúrgico (RODOLFO, *et al.*, 2017). Enquanto o implante, é definido como a inserção de um tecido artificial em um sistema biológico, ou seja, é considerado implante todo biomaterial que não apresenta células vivas, como por exemplo a hidroxiapatita.

Os materiais *autógenos* compõem-se de tecidos do próprio indivíduo. São os únicos entre os tipos de enxerto a fornecer células vivas e têm como vantagens a biocompatibilidade, não apresentar potencial imunogênico e não oferecer risco de transmissão de doenças, além do grande potencial osteogênico das células transplantadas (PINTO *et al.*, 2007). As desvantagens são a necessidade de um segundo campo cirúrgico, a disponibilidade limitada do material do local doador e a morbidade e desconforto para o paciente.

Os *alógenos*, que são provenientes de outros indivíduos da mesma espécie e apresentam resultados semelhantes ao enxerto autógeno a longo prazo, possuem a vantagem de poderem ser obtido a partir de cadáveres e de serem processados e armazenados em bancos, como por exemplo, os ossos (BUCK & MALININ, 1994). Porém seu uso envolve certo risco em relação à antigenicidade, mesmo que usualmente, sejam pré-tratados por congelamento, radiação ou agentes químicos, os quais visam evitar reação de corpo estranho (OGATA *et al.*, 2006).

Os *xenógenos*, que são obtidos de doadores de outras espécies, sobretudo bovinos, caprinos e suínos. São materiais que apresentam uma grande osteocondução e, química e fisicamente, semelhantes ao osso humano. Entretanto, a utilização dos enxertos de origem animal, apresenta como desvantagens a possibilidade de transmissão de doenças e a reação imune do hospedeiro ao

material enxertado, nos casos onde o enxerto apresente remanescentes de matriz orgânica, o que diminui a aceitação da utilização desses materiais pelos pacientes e pelos profissionais (LEAHY *et al.*).

Os *aloplásticos* são materiais de implante sintéticos ou inorgânicos. Estes materiais são inertes com nenhuma ou pouca atividade osteoindutora (DANTAS *et al.*,2011). Esses materiais ainda podem ser subdivididos em reabsorvíveis e não absorvíveis, e vem se popularizando cada vez mais no mercado devido a sua facilidade de manipulação.

Em relação à reação tecidual, os biomateriais podem ser classificados em biotolerável, bioinerte, bioativo e bioabsorvível/biodegradável.

Biotoleráveis são materiais apenas tolerados pelo organismo, sendo isolados dos tecidos adjacentes por meio da formação de uma camada envoltória de tecido fibroso, proveniente de processo inflamatório, a qual é induzida pela liberação de compostos químicos, íons, produtos de corrosão e outros por parte do material implantado. Quanto maior a espessura da camada de tecido fibroso formado, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Praticamente todos os polímeros sintéticos assim como a grande maioria dos metais, são exemplos de materiais biotoleráveis (HENCH & WILSON, 1993).

Bioinertes são também materiais tolerados pelo organismo, mas em que a formação do tecido envoltório fibroso é mínima ou praticamente inexistente. O material não libera nenhum tipo de componente ou, mais realisticamente, em quantidades mínimas. A quantidade de células fagocitárias na interface é mínima, a resposta fagocítica será passageira e uma fina cápsula tomará lugar após o implante. Em alguns casos esta camada é praticamente imperceptível. Os materiais bioinertes mais utilizados são alumina, zircônio, titânio, ligas de titânio e carbono (HENCH & WILSON, 1993).

Bioativos são materiais que favorecem a interação no local de implante. No caso de substituição do tecido ósseo, este deve favorecer a osteointegração, sem a presença de invólucros fibrosos. Em função da similaridade química entre tais materiais e a parte mineral óssea, os tecidos ósseos se ligam a eles, permitindo a osteocondução por meio de seu recobrimento por células ósseas. Quando o material bioativo é implantado no corpo, uma série de reações bioquímicas e biofísicas ocorrem na interface implante/tecido. Essas reações eventualmente resultam em

uma ligação interfacial de natureza química, e não física (WILLIAMS, 1987; HENCH & WILSON, 1993). Os materiais bioativos podem ainda ser classificados em: osteoindutores e osteocondutores. Os osteoindutores apresentam a capacidade de estimular a formação óssea (BOHNER *et al.*, 2012), enquanto os materiais osteocondutores promovem a formação de uma superfície biocompatível no local do implante, a qual favorece o desenvolvimento de células ósseas, devido à resposta extracelular adequada na interface. A hidroxiapatita sintética é um exemplo de biomaterial desta classe (CAO & HENCH, 1996).

Reabsorvíveis/biodegradáveis são materiais que podem ser degradados por um processo mediado por atividade celular, diretamente por fagocitose, ou indiretamente por ação enzimática e/ou por dissolução por difusão iônica contínua do biomaterial quando colocado em meios biológicos. Tais materiais são extremamente interessantes em aplicações clínicas em função de não ser necessária uma nova intervenção cirúrgica para retirada do material implantado (RAVAGLIOLI & KRAJEWSKI, 1992; HENCH, 1991).

Os biomateriais poliméricos também têm encontrado várias aplicações biomédicas tais como: confecção de próteses maxilofaciais, construção de coração artificial e de válvulas cardíacas, de membranas de dialisadores e de oxigenadores, assim como suturas, dispositivos de administração de drogas, lentes de contato, cateteres, veias, entre outras aplicações. Materiais poliméricos apresentam como vantagens a resiliência, a fácil fabricação e a baixa densidade. Como desvantagens, apresentam a baixa resistência mecânica e a degradação com o tempo (PARK, 1980; PARK, 1990).

Os materiais compósitos são constituídos pela combinação adequada de no mínimo dois componentes, elemento de reforço e matriz, unidos por uma interface, diferindo em forma e/ou composição, resultando em materiais com propriedades superiores às dos componentes individuais (MATHEWS & RAWLING, 1994). Esses materiais podem apresentar como vantagens: boa biocompatibilidade, inércia química, resistência à corrosão, elevado módulo de elasticidade e boa resistência mecânica. Como desvantagens podem-se destacar a falta de reprodutibilidade na fabricação, por serem heterogêneos e pelo fato de apresentarem propriedades que dependem de muitas variáveis (HENCH & WILSON, 1993; PICONI & MACCAURO, 1999; LEE *et al.*, 2001).

3.2 Biocerâmicas

Os primeiros registros da utilização de cerâmicas como biomaterial remonta a 1984, pela utilização de gesso ($\text{CaSO}_{4.1/2\text{H}_2\text{O}}$) como um possível substituto para ossos, relato por Dreesman. Esse material apresenta uma baixíssima resistência mecânica e é rapidamente absorvido pelo organismo levando a rápida degradação do implante.

Atualmente as cerâmicas empregadas em implantes no corpo humano podem ser divididas nas três classificações de biomateriais: inerte, biodegradável e bioativo (AZEVEDO *et al.*, 2008). Em alguns casos poder ser duras, com excelente resistência à compressão, alta resistência ao desgaste e baixo coeficiente de atrito, o que é interessante para aplicação em articulações, principalmente no caso de próteses de quadril (BENNISSAN, 2003).

Entretanto a Conferência da Sociedade Europeia para Biomateriais não considera o termo bioinerte adequado, visto que, quando um material é posto em contato com o corpo humano, induz algum tipo de resposta, mesmo que mínima (KAWACHI *et al.*, 2000). No entanto, o termo é amplamente utilizado, e sua definição mais aceita é de um material que apresenta uma resposta interfacial mínima que não resulta na ligação ou na rejeição do tecido hospedeiro, pela formação, por exemplo, de uma cápsula fibrosa ao redor do material. Já uma biocerâmica bioativa, termo bem aceito na comunidade científica, é conceituada como aquela que induz uma determinada atividade biológica por parte do tecido hospedeiro frente à presença do material.

A utilização de cerâmicas como biomateriais apresentou um grande crescimento a partir da década de 70. A primeira biocerâmica com uso muito difundido foi a alumina densa ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), que é considerada bioinerte. Além da alumina, outras cerâmicas como a zircônia, o dióxido de titânio, os fosfatos de cálcio e as vitrocerâmicas de sílica/fosfato de cálcio, apresentam uso muito difundido atualmente (KAWACHI *et al.*, 2000).

Existem basicamente três tipos de implantes biocerâmicos: inerte como, por exemplo, a alumina e a zircônia; bioativo, como os biovidros, vitrocerâmicas e a hidroxiapatita; e os reabsorvíveis, como os fosfatos tricálcicos e alguns tipos de biovidro (HENCH, 1998).

3.3 Fosfatos de Cálcio

Os fosfatos de cálcio vêm se destacando no campo das biocerâmicas pelas suas excelentes propriedades em relação ao meio fisiológico, tais como: ausência de toxicidade local ou sistêmica; ausência de respostas a corpo estranho ou inflamações; aparente habilidade de se ligar ao tecido hospedeiro.

O fato de se assemelhar química e estruturalmente com a fase mineral dos ossos e dentes faz com que os fosfatos de cálcio sejam os substitutos ósseos mais utilizados ao redor do mundo, na engenharia de tecidos, nos últimos 20 anos (GUASTALDI *et al.*, 2010) e sua excelente biocompatibilidade, caracterizada pela sua osteocondutividade (YUAN *et al.*, 2005). Nos últimos anos, os fosfatos de cálcio, especialmente fosfatos tricálcicos e hidroxiapatita, tem atraído interesse significativo como substitutos ósseos, além de novas aplicações e interesses, como o uso na entrega controlada de fármacos, ampliando ainda mais sua faixa de aplicação. Os fosfatos de cálcio são mais biocompatíveis que muitas outras biocerâmicas e partículas inorgânicas. Sua biocompatibilidade e ampla faixa de relação cálcio fósforo (Ca/P) os tornam aplicáveis a uma série de situações distintas devido a diferentes propriedades superficiais, funcionalidade e taxas de dissolução. Eles podem ser usados como coberturas de implantes metálicos, cimentos, blocos, *scaffolds*, entre outros (BOSE & TARAFDER, 2012).

Dentre os fosfatos mais importantes para uso na área biomédica, estão o hidrogenofosfato de cálcio dihidratado (DCPD), o hidrogenofosfato de cálcio anidro (DCPA), o fosfato de cálcio amorfo (ACP), o fosfato de octacálcio (OCP), a hidroxiapatita (HA) e o fosfato tricálcico (TCP). Uma forma conveniente de classificação dos fosfatos de cálcio é através da razão molar entre os átomos de cálcio e fósforo, que pode variar de 0,5 a 2,0 (GUASTALDI *et al.*, 2010), como pode ser observado na figura 1.

| Fosfato de cálcio | Fórmula química | Ca/P |
|--|--|------|
| Fosfato tetracálcico (TeCP) | $\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$ | 2,0 |
| Hidroxiapatita (HA) | $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ | 1,67 |
| Fosfato de cálcio amorfo (ACP) | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ | 1,5 |
| Fosfato tricálcico (α , α' , β , γ) (TCP) | $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ | 1,5 |
| Fosfato octacálcico (OCP) | $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1,33 |
| Mono-hidrogênio fosfato de cálcio di-hidratado (DCPD) | $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,0 |
| Mono-hidrogênio fosfato de cálcio (DCP) | CaHPO_4 | 1,0 |
| Pirofosfato de cálcio (CPP) | $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ | 1,0 |
| Pirofosfato de cálcio di-hidratado (CPPD) | $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ | 1,0 |
| Fosfato heptacálcico (HCP) | $\text{Ca}_7(\text{P}_5\text{O}_{16})_2$ | 0,7 |
| Di-hidrogênio fosfato tetracálcico (TDHP) | $\text{Ca}_4\text{H}_2\text{P}_6\text{O}_{20}$ | 0,67 |
| Fosfato monocálcico mono-hidratado (MCPM) | $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ | 0,5 |
| Metafosfato de cálcio (α , β , γ) (CMP) | $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ | 0,5 |

Figura 1 – Fórmula e proporção Ca/P de fosfatos de cálcio, adaptado de (GUASTALDI *et al.*, 2010).

Através da observação da Figura 1, é possível perceber que o composto que mais se aproxima da relação Ca/P da hidroxiapatita, que tem o valor de 1,67, é o fosfato tricálcico, que tem uma relação de 1,5, e, portanto, é o composto mais indicado para que ocorra uma melhor resposta do organismo. Essa proximidade na razão Ca/P faz com que o fosfato tricálcico apresente propriedades muito similares a hidroxiapatita e, portanto, seja o mais apropriado para a utilização em próteses ósseas.

Diferentes fosfatos de cálcio podem ser obtidos com a variação de alguns parâmetros durante a sua fabricação, tais como: temperatura, pH, concentração de íons, razão molar Ca/P, dentre outros. As propriedades das soluções de fosfatos refletem fortemente as condições do pH do meio. Devido ao equilíbrio triprótico do ácido fosfórico, as variações do pH alteram as concentrações relativas das quatro espécies de fosfatos possíveis provenientes da dissociação do ácido fosfórico (Figura 2) e, assim, influenciam tanto a composição química quanto a razão Ca/P

promovida pela precipitação direta de fosfatos de cálcio. Este equilíbrio permite o controle e a previsão para a formação dos diferentes fosfatos de cálcio num determinado meio (LYNN *et al.*, 2004).

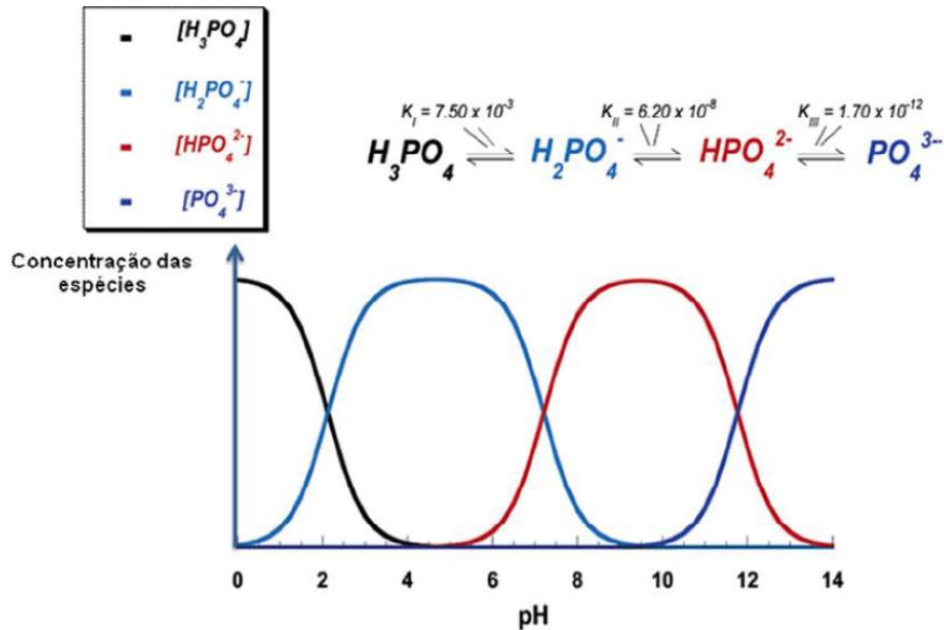


Figura 2 – Alteração dos íons de fosfato de cálcio com a variação do pH. Figura adaptada (LYNN *et al.*,2004)

3.4 Fosfatos tricálcicos

O fosfato tricálcico $[Ca_3(PO_4)_2]$; TCP] apresenta três polimorfos conhecidos: β -TCP, α -TCP e α' -TCP (ELLIOT, 1994). Dentre essas fases somente o β -TCP e o α -TCP possuem aplicações clínicas, pois o α' -TCP é estável somente em temperaturas superiores a 1430°C e reverte-se em α -TCP quando resfriado a temperaturas inferiores à de transição (CARRODEGUAS *et al.*, 2008). O beta é usado na composição de cerâmicas monofásicas ou bifásicas e em compósitos comerciais, enquanto a fase alfa é o principal constituinte do componente sólido de cimentos hidráulicos ósseos.

Uma das maneiras de se obter a fase alfa é pelo aquecimento do β -TCP em temperaturas acima de 1125°C e, portanto, pode ser considerado uma fase de alta temperatura da fase beta. De acordo com TenHuisen & Brown (1999), as temperaturas de transformação entre as fases podem variar dependendo das características dos processos de obtenção e da quantidade de impurezas nos reagentes utilizados.

Ainda que o α -TCP e o β -TCP possuam exatamente a mesma composição química, eles apresentam diferenças na estrutura cristalina e na solubilidade (DOROZHKIN, 2009). A fase beta é mais estável que a fase alfa devido a sua energia específica superficial, sendo esta hidrolisada em uma mistura de fosfatos de cálcio por conta da sua maior reatividade em sistemas aquosos.

3.5 Cimento Ósseo

Os cimentos ósseos são biomateriais sintéticos compostos por duas partes, uma componente em pó e outra componente líquida, usados com muito sucesso em diversas aplicações médicas, tal como na cirurgia ortopédica e na dentária. Estes dão origem a uma massa viscosa que endurece espontaneamente à temperatura ambiente ou corporal como resultado de um ou mais íons de fosfato de cálcio.

Devido a grande semelhança com a composição do osso, como mencionado anteriormente, cimentos de fosfato de cálcio (CFC) podem participar ativamente do equilíbrio iônico entre o fluido biológico e a cerâmica apresentando grande habilidade em formar ligações com tecido hospedeiro (FERNANDES *et al.*, 2012).

Esses cimentos oferecem diversas vantagens sobre biocerâmicas de fosfato de cálcio convencionais e cimento ósseo acrílico que permitem a sua utilização como enxerto ósseo e de substituição, incluindo moldabilidade; mínima cavidade óssea; preparação realizada durante ato cirúrgico; ótimo contato entre osso e implante, biocompatibilidade e bioatividade.

Apesar da existência de diversos sistemas de CFC estudados, os baseados em fosfato tricálcico (α -TCP) são de especial interesse em função de sua obtenção ocorrer durante a reação de pega de uma fase de hidroxiapatita (CDHA) deficiente em cálcio, similar à hidroxiapatita óssea: $\alpha \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$.

Os cimentos ósseos possuem inúmeras aplicações, sendo principalmente conhecidos por permitirem fixar próteses (próteses do joelho, de quadril, do ombro e do cotovelo). Estes preenchem o espaço livre entre a prótese e o osso, fixando a prótese.

Os cimentos além de cimentarem próteses, também podem preencher cavidades e pequenos defeitos ósseos, sendo nesses casos usados como material

de enxerto ósseo, em que se pretende que o cimento seja reabsorvido pelo organismo e substituído por novo tecido ósseo.

Os cimentos utilizados atualmente podem ser classificados em quatro classes distintas, sendo elas: cimentos ósseos acrílicos (ABCs), cimentos de fosfato de cálcio (CPCs), cimentos de sulfato de cálcio (CSCs) e os cimentos compostos (CICs) (LEWIS, 1997).

3.6 Hidrogéis

Polímeros naturais ou sintéticos que possuem a capacidade de absorver grandes quantidades de água ou fluidos biológicos, portanto são extremamente hidrofílicos, são conhecidos como hidrogéis. Podem ser quimicamente estáveis ou degradarem-se com o tempo, podendo, no limite, desintegrar-se (HOFFMAN, 2012).

Estes materiais combinam o comportamento vítreo, no estado seco, com elasticidade, quando absorvem quantidades suficientes de água, superior a 20% em massa. As propriedades desses materiais são bastante influenciadas pela rede formada pela reação de reticulação, responsável pela insolubilidade que estes possuem em água (LEITE, 1996).

Em geral, a estrutura reticulada dos hidrogéis é caracterizada por ligações cruzadas que podem ser formadas por ligações covalentes, iônicas ou por interações mais fracas como a formação de ligações de hidrogênio (SLAUGHTER *et al.*, 2009).

As características particulares dos hidrogéis são consequências de alguns fatores, tais como: o caráter hidrofílico se deve a presença de grupos solúveis em água (-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH, SO₃H); a insolubilidade é proporcionada pela existência de uma malha ou rede tridimensional em sua estrutura; a consistência elástica se deve ao tipo de monômero hidrofílico de partida e à baixa densidade de reticulação.

Hidrogéis podem ser obtidos por reticulações covalentes ou interações físicas entre as cadeias poliméricas. Podendo, dessa forma, ser do tipo químico ou do tipo físico (Figura 3). Essa classificação se deve à diferença na síntese do hidrogel. Hidrogéis do tipo químico, conhecidos também como hidrogéis permanentes, são formados por reações químicas. As reticulações covalentes podem ser formadas a

partir da reação entre monômeros vinílicos e monômeros bifuncionais, por métodos de radiação de energia (radiação γ , radiação ultravioleta), e outros. Os hidrogéis do tipo físico, conhecidos também como hidrogéis temporários, são formados através de interações físicas. As reticulações físicas são obtidas a partir da interação de forças eletrostáticas, formação de ligações de hidrogênio e cristalitos, interações hidrofóbicas, e etc. (HOFFMAN, 2012).

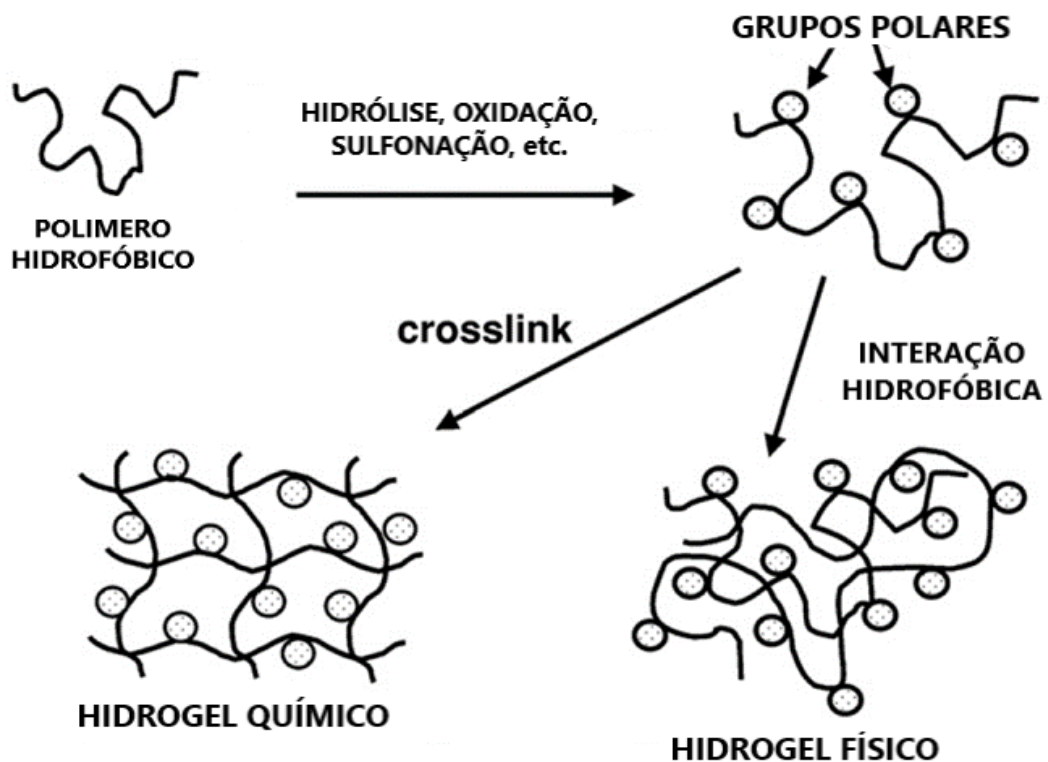


Figura 3 – Modelo esquemático dos métodos de formação de hidrogéis por modificação química de polímeros hidrofóbicos.

Hidrogéis podem ser naturais (ágar, ácido hialurônico, alginato, quitosana), semissintéticos (polímeros naturais modificados, por exemplo, dextrana reticulada, galactomanana) e sintéticos (poliacrilamida, poli(hidroxietil metacrilato), policloreto de vinila, etc.). Podem ser classificados como neutro ou iônico, dependendo da natureza dos grupos lateralmente ligados às cadeias poliméricas. A rede pode ser formada por homopolímeros ou copolímeros (PEPPAS *et al.*, 2000). Os hidrogéis

podem ser ambientes responsivos, ou seja, podem variar seu intumescimento dependendo do pH, força iônica e temperatura.

3.7 Defloculante

Os defloculantes atuam através da adsorção das partículas presentes na suspensão, pelo aumento da energia superficial provocando a sua repulsão. Os defloculantes podem atuar de diversas maneiras no meio, entre elas estão um mecanismo de troca iônica que prevê a substituição dos cátions fortemente ligados por outros com menos força de ligação (VANDERLIND *et al.*, 2015) enquanto outro permite a criação de uma barreira estérica entre as partículas (mecanismo eletroestérico).

Quando dispersos em meio aquoso, os fosfatos de cálcio podem apresentar em sua superfície diversos íons, como Ca^{+2} , CaOH^+ , PO_4^{3-} , H_2PO_4^- e $\text{CaH}_2\text{PO}_4^+$, dependendo da solução e das reações hidrolíticas na solução, levando a complexos mecanismos de floculação/defloculação.

A química superficial de pós dispersos em água pode ser modificada com o objetivo de produzir forças intermoleculares repulsivas que promovam a dispersão. Os poliacrilatos provaram serem agentes dispersantes efetivos para cerâmicas contendo ou não argila, através de um mecanismo de dispersão eletrostático e estérico (SADEGHIAN *et al.*, 2006).

A dispersão eletrostática é gerada pelo desenvolvimento de cargas elétricas nas partículas em decorrência da interação da sua superfície com o meio líquido, enquanto a dispersão estérica ocorre através da adsorção de moléculas poliméricas que dificultam a aproximação de outras partículas por impedimento mecânico, ou estérico.

A combinação desses dois efeitos gera a dispersão eletroestérica que ocorre devido à adsorção de moléculas com grupos ionizáveis ou polieletrólitos na superfície da partícula (eletroestérico), o que gera uma “nuvem” de grupos ionizáveis em torno das partículas, denominada dupla camada elétrica. A figura 4 apresenta uma representação esquemática desses efeitos.

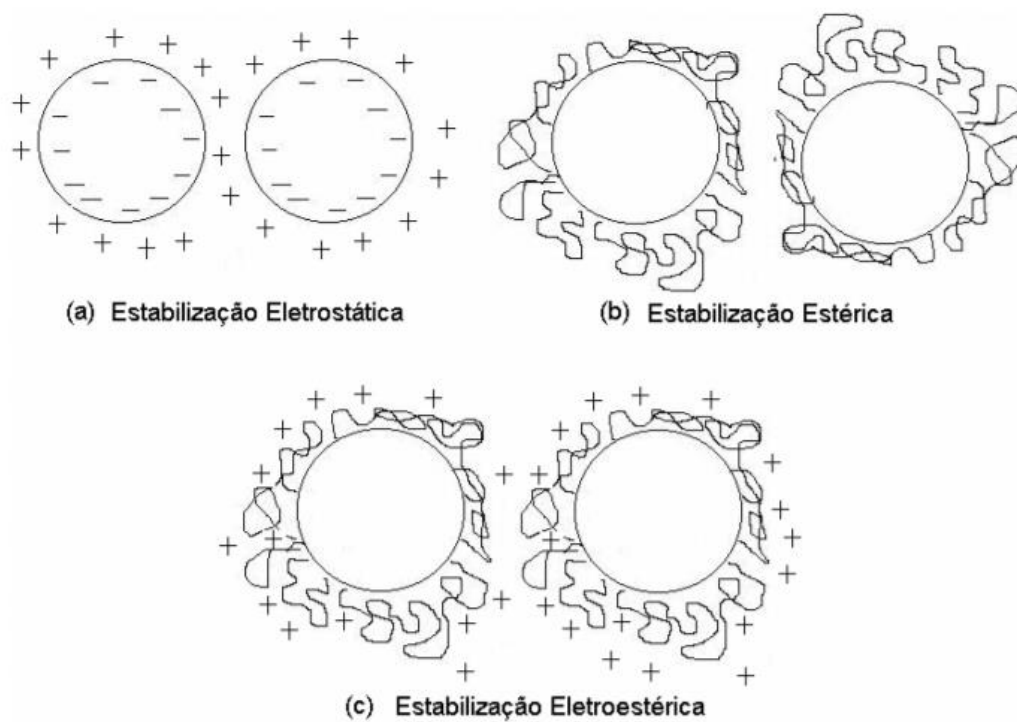


Figura 4 – Mecanismo de dispersão de partículas causados pela utilização de defloculantes, adaptado de (Ortega et al., 1997).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Obtenção de alfa-fosfato tricálcico por reação via úmida

Nitrato de cálcio tetra-hidratado, $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Sigma-Aldrich, Alemanha) e ácido fosfórico, H_3PO_4 (Dinâmica, Brasil) foram utilizados como reagentes para a obtenção dos pós de fosfato tricálcico. Para a preparação de uma solução com concentração de 2,0M foram utilizados 212,4 gramas de nitrato de cálcio e 41,04 mL de ácido fosfórico.

Para a preparação da solução o ácido fosfórico diluído foi gotejado no nitrato de cálcio também diluído. Para que ocorra a reação completa entre os reagentes a solução é mantida a uma temperatura de 90°C e sob agitação constante por um período de 24 horas. A solução foi então levada à estufa para que a água seja evaporada.

O produto resultante da secagem é levada ao forno e calcinada a uma temperatura de 1500°C por uma hora. Após a calcinação foi realizada a moagem manual, utilizando-se gral e pistilo, e em seguida passados por uma peneira com *mesh* 325.

Os pós foram sintetizados por reação via úmida e a relação Ca/P de 1,5 foi mantida.

Para preparo dos cimentos foi utilizado fosfato de sódio dibásico dodecahidratado ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) (Synth, Brasil) como acelerador de pega do cimento. Os corpos de prova preparados foram chamados de CM-01.

4.2 Obtenção dos hidrogéis

Para a preparação dos hidrogéis que foram incorporados ao cimento, foi utilizado o mesmo monômero variando-se somente o iniciador utilizado para a reação.

Os hidrogéis foram preparados por polimerização via radical livre utilizando N-vinil-2-pirrolidona (NVP) (Merck, Alemanha) como monômero. Como iniciador foi utilizado Azobisisobutironitrila (AIBN) (Sigma-Aldrich, Alemanha). O composto

bifuncional N,N'-Metileno Bisacrilamida (MBAM) (Sigma-Aldrich, Alemanha) foi utilizado agente de reticulação e N,N,N',N'-Tetrametiletlenodiamina (TEMED) (Acros, Bélgica) foi utilizado como catalizador da reação. A N-vinil-2-pirrolidona foi previamente destilada em rotavapor, utilizando polietilenoglicol como líquido no banho, em temperatura de 135- 140°C.

Gáscue *et al.* (2008) variaram a concentração do agente reticulante de 0,5 a 3,0%, obtendo assim diferentes intumescimentos. Assim, para ambos os estudos realizados, optou-se por utilizar uma concentração intermediária de MBAM, sendo esta mantida em 2,0%.

Tabela 1 – Composição da formulação de hidrogel preparada.

| Formulação | Monômero | Reticulante | Catalisador | Iniciador |
|------------|----------|-------------|-------------|-----------|
| H1 | NVP | MBAM | TEMED | AIBN |

4.3 Obtenção dos compósitos

Foi avaliada a incorporação das formulações de hidrogéis ao cimento de fosfato de cálcio (CM-01) que não passou por moagem adicional. Foram testadas ambas as formulações de hidrogéis, com a adição de defloculante, para verificar seu comportamento frente ao cimento de fosfato de cálcio e sua influência nas propriedades finais dos cimentos. A razão líquido/pó foi mantida em 0,275 mL.g⁻¹ para todas as formulações, sendo essa a quantidade mínima necessária para se obter a consistência de pasta cimentícia.

4.3.1 Compósito: fosfato de cálcio e hidrogel

Amostras de cimento de dupla pega foram preparadas utilizando o cimento de fosfato de cálcio sintetizado (CM-01) e a formulação 1 de hidrogel utilizada no item Hidrogéis. A composição da fase líquida (solução aquosa) utilizada na preparação dos cimentos de dupla pega está descrita na Tabela 2. Foi incluído o fosfato de sódio dibásico dodecahidratado Na₂HPO₄.12H₂O como acelerador de pega, o qual já era utilizado nas formulações sem hidrogéis.

Tabela 2 – Composição percentual, em massa, da fase líquida utilizada na preparação dos cimentos.

| Amostra | NVP | MBAM | TEMED | AIBN | Na₂HPO₄ | Defloculante |
|----------------|------------|-------------|--------------|-------------|--------------------------------------|---------------------|
| CM-01-0 | - | - | - | - | 2,5 | - |
| CM-01-1A | 30,0 | 2,0 | 0,2 | 3,0 | 2,5 | 1,0 |
| CM-01-2A | 30,0 | 2,0 | 0,2 | 3,0 | 2,5 | 2,0 |
| CM-01-3A | 30,0 | 2,0 | 0,2 | 3,0 | 2,5 | 3,0 |
| CM-01-4A | 30,0 | 2,0 | 0,2 | 3,0 | 2,5 | 4,0 |
| CM-01-5A | 30,0 | 2,0 | 0,2 | 3,0 | 2,5 | 5,0 |

Foram preparados 7 corpos de prova para cada amostra e determinaram-se as propriedades físicas e mecânicas destes. Os corpos de prova foram conformados no formato cilíndrico nas dimensões de $12 \pm 0,2$ mm de altura e $6 \pm 0,2$ mm de diâmetro, conforme norma ASTM F 451-95. O molde com as amostras foi mantido por uma hora em uma estufa a 80 ± 2 °C para polimerização dos hidrogéis. As amostras foram desmoldadas e mantidas em ambiente com 100% de umidade, durante 24 horas, e, em seguida, imersas em plasma sanguíneo simulado (SBF) por sete dias a 37°C, para avaliação *in vitro*.

4.4 Caracterização dos pós obtidos por reação via úmida

4.4.1 Difração de raios X

A avaliação da composição de fases dos pós obtidos, após calcinação, foi feita utilizando difração de raios X. A análise foi executada em um equipamento Philips X'Pert MPD com tubo de cobre (radiação $K\alpha = 1,5418$ Å) e a análise dos difratogramas foi realizada com a ferramenta X'pert Highscore, sobre a base de dados da *International Centre for Diffraction Data* (ICDD). As varreduras para análise das fases foram executadas com velocidade de varredura de 0,05°/s e intervalo de

varredura de 10 a 40°. A tensão e a corrente utilizadas no tubo foram de 40 KV e 40 mA, respectivamente, para a obtenção dos difratogramas.

4.4.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia do pó de cimento de fosfato de cálcio sintetizado (CM-01), foi avaliada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol JSM-6060. A amostra seca recebeu um recobrimento de ouro e foi então analisada.

4.4.3 Difração de laser

A análise granulométrica foi realizada utilizando-se difração de laser. Tal técnica analisa a maneira como o laser difrata quando uma partícula o atravessa, calculando assim, o tamanho da partícula. Para uma medição correta as partículas devem estar bem dispersas, sendo a escolha do fluido para a análise muito importante. A faixa de detecção do aparelho é de 0,04 a 2500 μm . As medidas foram feitas em um difratômetro de laser *Cilas 1180*. Para uma melhor dispersão, se utilizou baixa concentração de amostra e foi utilizado ultrassom por 60 segundos para sua dispersão.

4.5 Caracterização dos compósitos

4.5.1 Porosidade e densidade aparente

Após obtenção dos corpos de prova, os mesmos foram secos e tiveram sua porosidade e densidade determinadas pelo método de Arquimedes, utilizando a massa da amostra seca, e depois de imersas por 24 horas em água, sua massa úmida e sua massa imersa em água, de acordo com a ASTM C20-00.

A porosidade aparente (P_{ap}) foi calculada após a determinação da massa seca (m_s), a massa úmida (m_u) e a massa imersa (m_i) de cada uma das amostras (Equação 1) enquanto a densidade aparente (ρ_{ap}) foi calculada pela Equação 2,

adotando $\rho_1=1$, que é o valor da densidade da água, o qual é o meio adotado para o ensaio.

$$P_{ap} = \frac{(m_u - m_s)}{(m_u - m_i)} \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

$$\rho_{ap} = \frac{(m_s \times \rho_1)}{(m_s - m_i)} \quad (\text{Eq. 2})$$

4.5.2 Resistência mecânica à compressão

Após imersão dos corpos de prova em SBF por sete dias, a resistência mecânica à compressão das amostras úmidas foi determinada utilizando uma máquina universal de ensaios (Instron, 3369) a temperatura ambiente. As amostras foram comprimidas com taxa de deformação de 1,0 mm/min. Os resultados representam uma média de pelo menos cinco amostras.

O ensaio de resistência mecânica permite determinar a carga máxima que suportam os corpos-de-prova. Assim, a resistência a compressão pode ser determinada em função da tensão máxima, que por sua vez depende da força atuante (F) na área efetiva da seção reta do corpo-de-prova (A) pela Equação 1.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (\text{Eq. 3})$$

4.5.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia da superfície da fratura, após ensaio de compressão dos corpos de prova mantidos em SBF por 7 dias, foi avaliada utilizando-se um microscópio eletrônico de varredura (MEV) Jeol JSM-6060. A amostra seca recebeu um recobrimento de ouro e foi então analisada.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pó resultante, fabricado pelo processo de via úmida, foi analisado para a confirmação de que a fase alfa do fosfato tricálcico havia sido obtida.

Também foram preparados corpos-de-prova com o cimento puro utilizando somente o acelerador de pega (Na_2HPO_4). Após a sua confecção, os corpos-de-prova foram colocados em estufa com 100% de umidade e, após esse período, colocadas em solução de SBF por 7 dias.

Essas amostras foram então submetidas ao ensaio de compressão, para a avaliação de sua resistência mecânica, e o valor obtido nesse teste foi adotado como valor de referência para os testes com as amostras contendo hidrogel e defloculante.

As superfícies de fratura resultantes dos ensaios de compressão, tanto para o cimento puro quanto para o compósito, foram avaliadas através da microscopia eletrônica de varredura (MEV).

5.1 Caracterização dos pós obtidos via úmida

5.1.1 Difração de raios X

O padrão obtido após a análise de difração de raios X (DRX), para o pó fabricado por via úmida e calcinado a 1500°C , mostra que o α -TCP resultante possui alta pureza. Os picos apontados no difratograma da amostra CM-01, figura 4 abaixo, correspondem ao padrão de difração presente nas fichas de dados número 00-029-0359 (α -TCP) do Joint Committee on Powder Standards Diffraction – JCPDS.

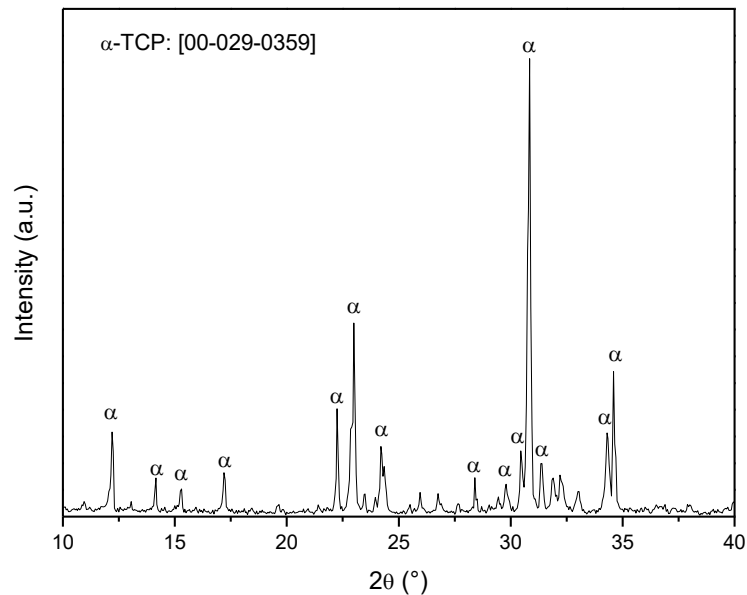


Figura 5 – Padrão de difração de raios X para a amostra CM-01.

É possível observar, na figura 5, a predominância da fase α -TCP. Atualmente, não existem dados na literatura sobre α -TCP puro para uso como cimento, independentemente do método de síntese usado (RAYNAUD *et al.*, 2002). A taxa de transformação de β -TCP em α -TCP consta em literatura como baixa e reversível.

Para a obtenção de α -TCP de alta pureza, o uso de grandes tempos de permanência, em temperaturas superiores a 1200°C, e a utilização de choque térmico para se conseguir preservar a fase alfa na temperatura ambiente. Porém nesse trabalho, tais procedimentos não se fizeram necessários para a obtenção dos resultados desejados.

5.1.2 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Através do MEV é possível observar a formação de estruturas em forma de agulhas. Essas agulhas são formadas pela precipitação da hidroxiapatita proveniente da decomposição do α -TCP.

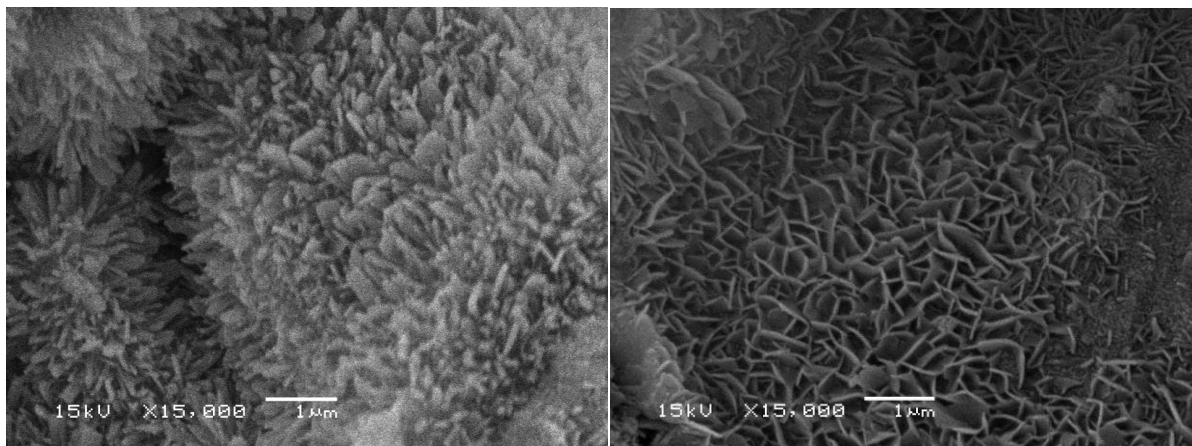


Figura 6 – Micrografia da superfície de fratura de cimento de α -TCP, contendo agulhas de hidroxiapatita.

O crescimento e, conseqüentemente, o cruzamento dessas agulhas de hidroxiapatita são responsáveis pelo aumento da resistência mecânica do cimento pelo travamento dessas estruturas.

5.1.3 Difração de laser

A difração foi utilizada para a determinação do tamanho médio de partícula obtido no pó após a moagem. O resultado obtido está representado na tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição do tamanho médio de partícula para o α -TCP.

| Diâmetro (μm) | | | | |
|--|--------|--------|--------|-------|
| Até | 10%vol | 50%vol | 90%vol | TMP |
| CM-01 | 1,21 | 12,52 | 29,63 | 14,26 |

Comparando-se o valor médio obtido para o pó e comparando o mesmo com os valores encontrados na literatura, que ficam ente 2 e 20 μm , podemos afirmar que o método de moagem utilizado é eficiente.

5.2 Obtenção dos compósitos

Os compósitos foram preparados pelo método de dupla pega. O cimento de dupla pega é resultado da adição de sistema de polimerização *in situ* ao cimento tradicional. A resistência mecânica inicial é dada pela reação de polimerização e a final, pela reação hidráulica do cimento (SANTOS *et al.*, 2003).

5.2.1 Compósito: fosfato de cálcio e hidrogel

5.2.1.1 Densidade aparente, porosidade aparente e absorção de água

Utilizando-se a Eq. 1 e a Eq. 2 foram obtidos os valores para a porosidade aparente, densidade aparente e absorção de água, que estão representados na tabela 6, dos compósitos fabricados utilizando AIBN como iniciador.

Tabela 4 – Valores de porosidade aparente, densidade aparente e absorção de água para compósitos.

| Amostra | Porosidade aparente (%) | Densidade aparente (g.cm ⁻³) | Absorção de água (%) |
|----------|-------------------------|--|----------------------|
| CM-01 | 32,26 ± 0,57 | 1,87 ± 0,03 | 17,21 ± 0,19 |
| CM-01-1A | 29,13 ± 0,73 | 1,88 ± 0,03 | 15,51 ± 0,64 |
| CM-01-2A | 30,95 ± 0,54 | 1,95 ± 0,02 | 14,93 ± 0,51 |
| CM-01-3A | 29,69 ± 1,46 | 1,88 ± 0,04 | 15,78 ± 1,17 |
| CM-01-4A | 30,82 ± 1,53 | 1,88 ± 0,06 | 16,88 ± 1,40 |
| CM-01-5A | 29,10 ± 0,97 | 1,91 ± 0,04 | 16,22 ± 1,23 |

A partir da observação dos resultados obtidos pode-se verificar que não houve variação significativa nos valores dos compósitos em relação à amostra CM-01 (sem hidrogel), indicando que a presença dos hidrogéis não afetou de forma negativa, a estrutura física do material.

5.2.1.2 Resistência à compressão de amostras

Os resultados de resistência mecânica, das amostras úmidas, são mostrados na Tabela 6. Os valores de resistência mecânica à compressão dos compósitos são

similares (considerando o erro de medição), sendo que uma das composições se destaca por apresentar um valor um pouco superior ao da amostra CM-01 (sem hidrogel).

Tabela 6 – Resistência mecânica à compressão dos corpos de prova.

| Amostra | Resistência mecânica (MPa) |
|----------|----------------------------|
| CM-01 | 51,23 ± 4,03 |
| CM-01-1A | 47,54 ± 2,62 |
| CM-01-2A | 56,39 ± 3,42 |
| CM-01-3A | 47,62 ± 3,04 |
| CM-01-4A | 43,53 ± 2,83 |
| CM-01-5A | 40,61 ± 4,14 |

A menor resistência mecânica à compressão, com redução de 20% se comparada a amostra CM-01, foi obtida para a amostra CM-01-5A. A formulação CM-01-2A obteve os melhores resultados de resistência mecânica, podendo ser causada pela menor absorção de água do compósito.

A figura 7 apresenta uma visão estatística para os resultados de resistência mecânica, onde é exibido o desvio padrão para as amostras. O erro padrão é uma forma de avaliar a precisão do cálculo da média populacional, ou seja, quanto maior for a precisão no cálculo da média menor será o erro padrão.

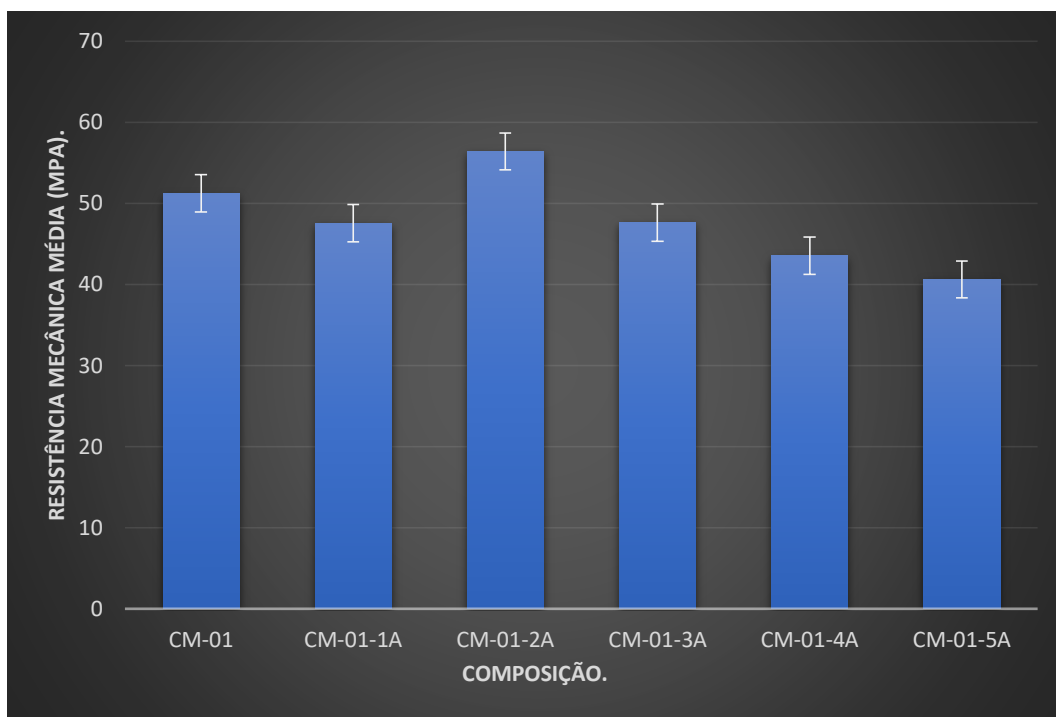


Figura 7 – Representação do desvio padrão e das médias para o ensaio de compressão.

5.2.1.3 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Após a realização dos ensaios de compressão das amostras contendo hidrogel, as superfícies de fratura foram analisadas no MEV. As micrografias da Figura 7, são de corpos-de-prova imersos em SBF por sete dias.

Analisando as morfologias encontradas para as amostras, podemos notar a presença de cristais de hidroxiapatita na forma de placas, formando um entrecruzamento cristalino, responsável pelo aumento da resistência mecânica dos cimentos. Microestruturas semelhantes foram obtidas para o cimento alfa-TCP por Ginebra *et al.*(1995b).

Em geral, a resistência mecânica à compressão dos cimentos de fosfato de cálcio aumenta com o aumento do tempo de imersão em SBF, assim possivelmente melhores resultados de resistência mecânica seriam obtidos com maiores tempos de imersão. A presença de aceleradores de pega do cimento, como de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, pode resultar na diminuição das propriedades mecânicas (GINEBRA *et al.*,1995a), porém nesse estudo o acelerador esteve presente em todas as formulações.

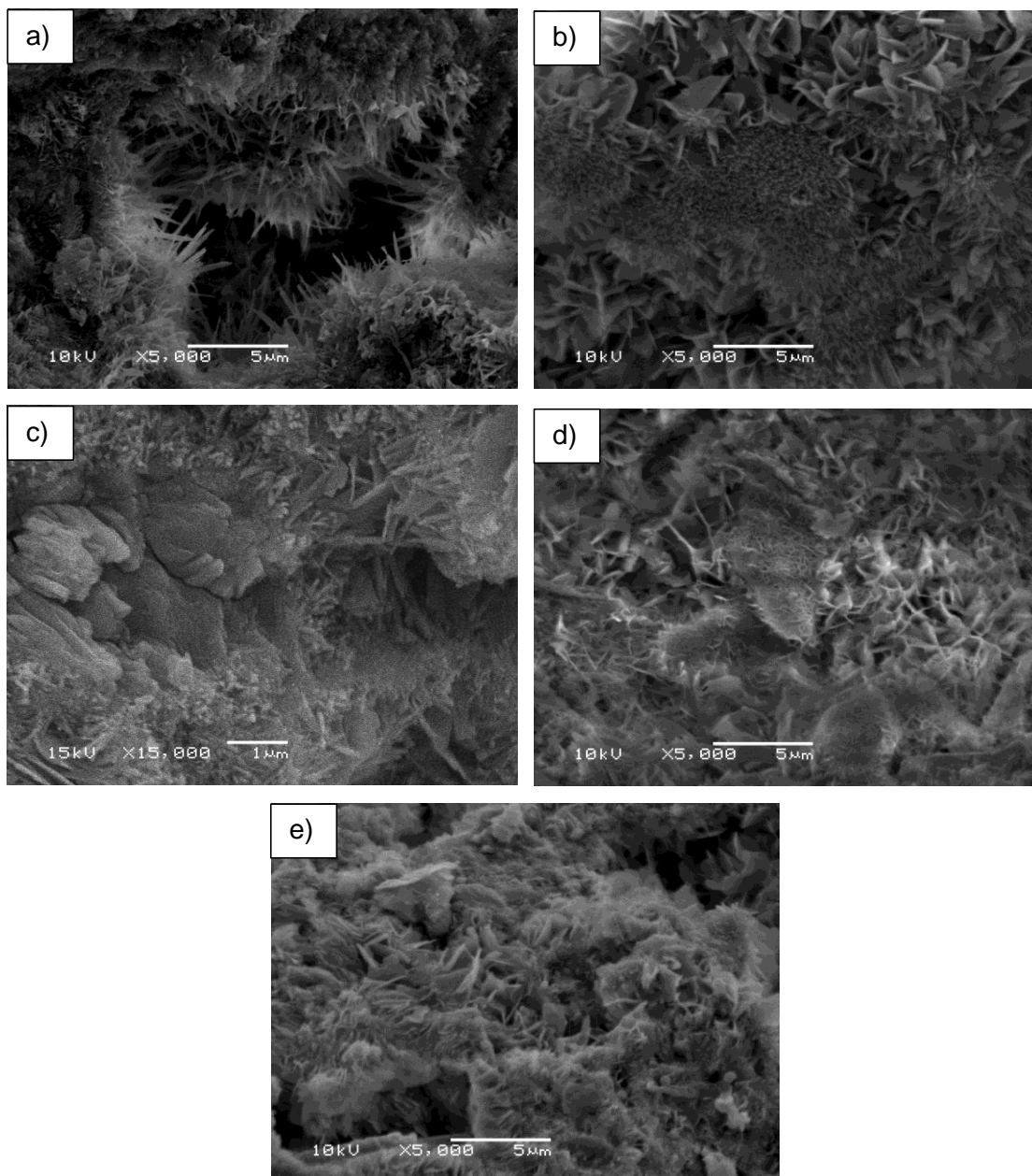


Figura 7 – Micrografia da superfície de fratura de compostos de α -TCP e hidrogel das amostras (a) CM-01-1A, (b) CM-01-2A, (c) CM-01-3A, (d) CM-01-4A e (e) CM-01-5A.

Possivelmente a menor resistência mecânica à compressão da maioria das composições com hidrogéis se comparado à amostra CM-01, principalmente para a amostra CM-01-5A, seja devido à separação dos cristais de hidroxiapatita promovida pela presença de hidrogel polimérico na estrutura compósita. Apesar da redução nos valores de resistência mecânica, houve uma diminuição na diferença de valores para diferentes composições.

Existe uma diferença visual no tamanho dos cristais, o que demonstra a influência do polímero utilizado, na precipitação de hidroxiapatita. Este fato pode ter

ocasionado a redução da resistência mecânica da amostra CM-01-4A e CM-01-5A. Seriam necessários estudos mais amplos para se entender melhor esse processo e sua influência sobre a resistência mecânica do cimento.

6. CONCLUSÕES

O estudo realizado permitiu avaliar a influência na resistência mecânica de compósitos de alfa fosfato tricálcico e hidrogel, ao se adicionar um defloculante. Foi possível a confecção de corpos de prova para as formulações propostas.

Os valores de resistência mecânica para a formulação de hidrogel escolhida, indicam que a adição de um defloculante ao compósito, apesar de na maioria dos casos não promover um aumento desses valores o suficiente para superar o cimento sem a adição de hidrogel, faz com que se tornem mais próximos deste último. Uma explicação para esse fator pode ser dada pela melhor distribuição dos componentes do compósito permitindo uma ligação mais eficiente do α -TCP e do crescimento e travamento das agulhas de hidroxiapatita.

Para a amostra CM-01-2A houve um notável aumento na resistência mecânica. Esse aumento pode ser atribuído, assim como para as outras amostras, à melhor distribuição dos componentes do compósito, porém para essa composição também acarretou uma menor porosidade e conseqüentemente uma menor absorção de água.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

A partir da realização deste trabalho, pode-se fazer as seguintes sugestões de trabalhos futuros:

- Avaliar redução de líquido nas propriedades mecânicas.
- Testar outros tipos de defloculantes para melhorar a resistência mecânica;
- Avaliar a tenacidade à fratura dos compósitos comparando com formulações do cimento sem hidrogel;
- Testar o cimento de fosfato de cálcio desenvolvido, em processo de biofabricação com impressão 3D.

8. REFERÊNCIAS

ASTM C20– 00. Standard test methods for apparent porosity, water absorption, apparent specific gravity, and bulk density of burned refractory brick and shapes by boiling water, 2010.

BEN-NISSAN, B. Natural bioceramics: from coral to bone and beyond. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, v. 7, p. 283-288, 2003.

BOHNER, M.; GALEA, L.; DOEBELIN, N. Calcium phosphate bone graft substitutes: Failures and hopes. *Journal of the European Ceramic Society*, v. 32, p. 2663–2671, 2012.

BOSE, S.; TARAFDER, S. Calcium phosphate ceramic systems in growth factor and drug delivery for bone tissue engineering : A review. *Acta Biomaterialia*, v. 8, p. 1401-1421, 2012.

BUCK, B.E.; MALININ, T.H. Human Bone and tissue allograft. Preparation and safety. *Clinical Orthopaedics and related research*, v. 303, p. 8-17, 1994.

CAO, W.; HENCH, L. L. Bioactive material. *Ceramics International*, v. 22, p. 493-507, 1996.

CARRODEGUAS, R. G.; RIGGO, E. C.; OLIVEIRA, L. C.; SANTOS, L. A.; BOSCHI, A. O. Recubrimiento de hidroxiapatita sobre cerâmicas de Titanato de Bário. *Proceedings of BIOMAT' 97 – Congreso Internacional de Biomateriales, La Habana, Cuba, 1997.*

CARRODEGUAS, R. G. *et al.* New approach to the α polymorphic transformation in magnesiumsubstituted tricalcium phosphates and its practical implications. *Journal of the American Ceramic Society*, v.91, p.1281-1286, 2008.

CARRODEGUAS, R. G.; DE AZA, S. α -Tricalcium phosphate: synthesis, properties and biomedical applications. *Acta biomaterialia*, v. 7, p. 3536–46, 2011.

FERREIRA, A.; OLIVEIRA, C.; ROCHA, F. The different phases in the precipitation of dicalcium phosphate dihydrate. *Journal of crystal growth*, v. 252, p. 599-611, 2003.

GUASTALDI, A. C.; APARECIDA, A. H. FOSFATOS DE CÁLCIO DE INTERESSE BIOLÓGICO: IMPORTÂNCIA COMO BIOMATERIAIS, PROPRIEDADES E MÉTODOS DE OBTENÇÃO DE RECOBRIMENTOS. *Quim. Nova*, Vol. 33, No. 6, 1352-1358, 2010

HENCH, L. L. Bioceramics: from concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 74, p. 1487-1510, 1991.

HENCH, L. L.; WILSON, J. An Introduction to Bioceramics. Singapore: World Scientific Publish Co. Ptde. Ltd., 1993.

HENCH, L. L. Bioceramics. Journal of American Ceramic Society, v. 81, p. 1705-1728, 1998.

HOFFMAN, A. S. Hydrogels for biomedical applications. Advanced Drug Delivery Reviews, v. 54, p. 3-12, 2012.

KAWACHI, E. Y. *et al.* Biocerâmicas: Tendências e perspectivas de uma área interdisciplinar. Química Nova, v. 23, p. 518-522, 2000.

LEE, C. H.; SINGLA, A.; LEE, Y. Biomedical application of Collagen. International Journal of Pharmaceutics, v. 221, p. 1-22, 2001.

Lewis, G. (1997). Properties of acrylic bone cement: state of the art review. J Biomed Mater Res. 38(2), 155-82.

Lewis, G. (2006). Injectable bone cements for use in vertebroplasty and kyphoplasty: State-of-the-art review. Journal of Biomedical Materials Research Part B-Applied Biomaterials. 76B(2), 456-468.

LYNN, A. K. *et al.* Phase mapping: a novel design approach for the production of calcium phosphate/collagen biocomposites. Key Engineering Materials, v. 254-256, p. 593-596, 2004.

MATHEWS, F. L.; RAWLING, R. D. Composite Materials: Engineering and Science. Chapman & Hall: London, 1994.

OGATA, D.V.G. *et al.* Biosecurity in Brazil's bone banks. Implant News, v. 3, p. 363-367, 2006.

ORTEGA, F. S. *et al.* Aspectos da Reologia e da Estabilidade se Suspensões Cerâmicas – Parte II, Cerâmica, v. 43, março/abril, 1997.

PARK, J. B. In Biomaterials an Introduction. New York: Plenum Press, 1980.

PARK, J. B. Biomaterials Science and Engineering. New York and London: Plenum Press, 1990.

Peppas, N.A., "Analysis of Fickian and non-Fickian drug release from polymers", Pharmaceutica Acta Helvetiae, 1985, 60, 110-111.

PICONI, C.; MACCAURO, G. Zirconia as a ceramic biomaterial. Biomaterials, v. 20, p. 1-25, 1999.

PINTO, J.; CIPRANDI, M.; AGUIAR, R.; LIMA, P.; HERNANDEZ, P.; JÚNIOR, A. Enxerto autógeno X biomateriais no tratamento de fraturas e deformidades faciais – uma revisão de conceitos atuais. RFO, v. 12, n. 3, p. 79-84, setembro/dezembro 2007.

RAVAGLIOLI, A.; KRAJEWSKI, A. Bioceramics-Materials, Properties and Applications. London: Chapman & Hall, 1992. 422 p.

RODOLFO, L. M.; MACHADO, L. G.; FAEDA, R. S.; QUEIROZ, T. P.; FALONI, A. P. de S. SUBSTITUTOS ÓSSEOS ALÓGENOS E XENÓGENOS COMPARADOS AO ENXERTO AUTÓGENO: REAÇÕES BIOLÓGICAS. Revista Brasileira Multidisciplinar, v. 20, n. 1, julho 2017.

SANTOS, L. A. Desenvolvimento de cimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica. 2002. 247p. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual de Campinas, SP, 2002.

SANTOS, L. A. *et al.* α -Tricalcium phosphate cement: “in vitro” cytotoxicity. Biomaterials, v. 23, p. 2034-2042, 2002.

SANTOS, L. A. *et al.* Dual-Setting Calcium Phosphate Cement Modified with Ammonium Polyacrylate. Artificial Organs, v. 27, p. 412-418, 2003.

SILVER, F.; DOILLON, C. Biocompatibility: interactions of biological and implantable materials. New York: VCH, 1989.

SLAUGHTER, B. V. *et al.* Hydrogels in regenerative medicine. Advanced Materials, v. 21, p. 3307-3329, 2009.

VANDERLIND, G. E.; GARCIA, G.; MELO, A. R. Avaliação do comportamento da curva de defloculação por diferentes tipos de defloculante em engobes. Cerâmica Industrial, 20 (4) Julho/Agosto, 2015.

WILLIAMS, D. F. Definitions in Biomaterials. New York: Elsevier, 1987.

YUAN, H.; DE GROOT, K. Calcium Phosphate Biomaterials: an Overview. [ed.] R. L. Reis e S. Weiner Learning from Nature How to Design New Implantable Biomaterials: From Biomineralization Fundamentals to Biomimetic Materials and Processing Routes. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2005.