



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966- São Luís MA  
Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM



Luana Cristina Feitosa Alves

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO FLUORETO DE CÁLCIO NA  
BIOATIVIDADE DE VIDROS BORATO**

**Orientadora:** Franciana Pedrochi  
**Coorientador:** Alysso Steimacher

Imperatriz – MA

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
Fundação Instituída nos termos da lei nº 5.152, de 21/10/1966- São Luís MA  
Centro de Ciências Sociais, da Saúde e Tecnologia – CCSST  
Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais - PPGCM



Luana Cristina Feitosa Alves

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DO FLUORETO DE CÁLCIO NA  
BIOATIVIDADE DE VIDROS BORATO**

**Orientadora:** Franciana Pedrochi

**Coorientador:** Alysson Steimacher

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais como requisito para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Imperatriz – MA

2017

MEMBROS DA COMISSÃO JULGADORA DA DEFESA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DA ALUNA LUANA CRISTINA FEITOSA ALVES, APRESENTADO AO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS (PPGCM),

Imperatriz, 13 de julho de 2017

### COMISSÃO JULGADORA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Franciana Pedrochi (Orientadora da candidata)  
PPGCM-UFMA

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato  
Dep. de Física/UEM

---

Prof. Dr. Wilson Ricardo Weinand  
Dep. de Física/UEM

---

Prof. Dr. Marcio José Barboza  
PPGCM-UFMA

*A minha querida família: Meus pais Ubirajara e Fátima, minha avó Valdete, meu irmão Ubirajara Júnior e meu namorado Rafael, pelo amor incondicional, carinho e confiança que sempre me dedicaram. Foi por vocês que cheguei até aqui e é por vocês que seguirei em frente.*

**DEDICO**

*“Embora ninguém possa voltar atrás e fazer um novo começo, qualquer um pode começar agora e fazer um novo fim. Se tiver que amar, ame hoje. Se tiver que sorrir, sorria hoje. Se tiver que chorar, chore hoje. Pois o importante é viver hoje. O ontem já foi e o amanhã talvez não venha.”*

**Chico Xavier**

## AGRADECIMENTOS

Ao Criador do Universo e minha mãe Maria santíssima, por serem minha força e meu sustento, durante toda a minha caminhada.

À minha família por seu amor incondicional e incentivo sempre.

Ao meu namorado Rafael, por entender minha ausência durante esse período, pela compreensão, dedicação, carinho e apoio.

Ao Universo, que apesar de tantos contratemplos conspirou para que este trabalho fosse realizado.

Aos todos os colaboradores da UFMA que ajudaram no meu bem estar, em especial a Dona Antonia e os funcionários do RU.

Aos meus amigos de turma, Tauvânio, Diego, Marcelo, Nayara, Ronilson e Jardel, pelo apoio e parceria compartilhados, durante as disciplinas e caracterização das amostras.

Aos meus amigos do LEOF e Roça, Ada, Bernardo, Diogo, Francisco, Jheimison, Laís, Ludimila, Millena, Natacya, Nayane, e Thiago pela ajuda prestada na execução deste trabalho, pela amizade e por tornar os dias no laboratório bem prazerosos e divertidos.

Às minhas lindas: Valéria, por sua amizade, companheirismo e cumplicidade, durante toda essa jornada; Rachel e Suzanny, pela amizade, carinho, cumplicidade, companheirismo e risadas, por tornarem felizes os meus dias na UFMA na finalização desta jornada, os momentos que compartilhamos juntas quero levar para sempre, juntas nos tornamos o “Quarteto fantástico”.

À aluna de iniciação científica Larissa pelas medidas de Espectroscopia Raman.

Ao Anderson, por ser meu amigo de longa data nesta jornada científica, obrigada por sua amizade.

Aos amigos do LDRX, em especial ao Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos e aos alunos de iniciação científica Ian Felipe e Thiago Serra, pelas medidas de DRX que foram essenciais neste trabalho.

Ao Pablo pelas medidas de MEV e pelo conhecimento compartilhado à cerca deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Wilson Ricardo Weinand e a Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Francielle Sato por aceitarem o convite em participar da banca de avaliação e por suas grandes contribuições na finalização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Marcio José Barboza, pela amizade e por estar sempre disposto a tirar qualquer dúvida e por participar da banca de avaliação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Alysson Steimacher, meu coorientador e amigo, por compartilhar seu conhecimento e pelo grande auxílio na realização deste trabalho.

À Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Franciana Pedrochi, minha orientadora e amiga, pela paciência na orientação, pela confiança, compreensão e incentivo que contribuíram para o meu crescimento científico e intelectual.

À CAPES, CNPq e FAPEMA, pelo apoio financeiro.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciência dos Materiais

À Universidade Federal do Maranhão – UFMA.

E a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram na execução deste trabalho.

Gratidão!

## Resumo

Vidros boratos bioativos têm apresentado resultados superiores aos vidros silicatos bioativos, quando comparamos suas taxas de conversão em apatita e seu potencial de bioatividade. Neste trabalho sintetizamos novos vidros boratos com a composição básica  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 4\text{P}_2\text{O}_5 - 18\text{Na}_2\text{O} - x\text{CaF}_2 - (18-x)\text{CaO}$ , com  $x = 0, 5$  e  $10\%$  em massa, e investigamos a influência da adição de  $\text{CaF}_2$  na bioatividade das amostras *in vitro*, em um período de 28 dias, em um simulador do fluido corporal (SBF). As medidas de DRX, antes da imersão, apresentaram bandas largas, comprovando a estrutura amorfa dos vidros. E verificou-se por meio das análises de Densidade, análise térmica, DRX, Raman e FTIR, que a adição de  $\text{CaF}_2$  até  $10\%$ , em massa, não provocou grandes mudanças estruturais na amostras. Por meio da calorimetria exploratória diferencial, determinamos a estabilidade térmica dos vidros que apresentaram valores acima de  $120^\circ\text{C}$ . A bioatividade foi investigada por meio das técnicas de difração de raios-X (DRX), espectroscopia Raman e FTIR, e pela medida do pH da solução SBF. Os resultados obtidos mostraram que, em 24h, houve um aumento no pH da solução SBF, o que contribui para a dissolução da camada mais externa do vidro e sua conversão em apatita. Nos difratogramas (DRX) para as amostras imersas por 7 dias, houve a formação de picos cristalinos, em  $26^\circ$  e  $32^\circ$  ( $2\theta$ ), em todas as amostras medidas. Esses picos correspondem aos padrões de hidroxiapatita. A presença de  $\text{CaF}_2$  na composição das amostras imersas por 7 dias apresentou picos em  $28^\circ$  ( $2\theta$ ) correspondendo a fluorapatita. A intensidade destes picos apresentou um aumento em função do tempo de imersão, durante todo período estudado. As medidas de Raman confirmaram os resultados do DRX, apresentando para todas as amostras espectros característicos da hidroxiapatita em  $960\text{ cm}^{-1}$ . As amostras preparadas com  $\text{CaF}_2$  apresentaram picos em  $965\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a fluorapatita. O FTIR confirmou os resultados apresentados no DRX e Raman, em que todas as amostras apresentaram um pico centrado em  $1041\text{ cm}^{-1}$  para a hidroxiapatita e  $1042\text{ cm}^{-1}$  característico para a fluorapatita. Os resultados demonstram que as amostras preparadas apresentam potencial para serem usados como biomateriais em aplicações biomédicas, como ortopedia, odontologia e engenharia de tecidos.

**Palavras-chave:** vidros boratos bioativos; bioatividade; hidroxiapatita; fluorapatita; biomateriais; SBF.



## ABSTRACT

Bioactive borate glass has presented superior results than bioactive silicate glasses, when compared its conversion rates in apatite and its potential of bioactivity. In this work, new Borate glasses with the basic  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 4\text{P}_2\text{O}_5 - 18\text{Na}_2\text{O} - x\text{CaF}_2 - (18-x)\text{CaO}$ , com  $x = 0, 5 \text{ e } 10 \%$  wt were synthesized, and investigated the influence of  $\text{CaF}_2$  addition on bioactivity of samples *in vitro*, in a period of 28 days in a simulator of the body fluid (SBF). This bioactivity was investigated by means of X-ray diffraction (DRX), Raman Spectroscopy, FTIR and by the measure of pH. DRX measures, prior to immersion, presented wide bands, evidencing the amorphous structure of glasses. The results of density, thermal analysis, XRD, Raman and FTIR show that the addition of  $\text{CaF}_2$ , until 10 % wt, did not cause significant changes in samples network structure. The thermal stability for all samples was calculated from DSC data and all presented values up to 120°C. The results of pH of SBF solution show increase from for 24 hours, which contributes to the dissolution of the outermost layer of the glass and the precipitation of apatite. In XRD data for 60B sample soaked in SBF for 7 days, there was formation of crystalline peaks, at 26° and 32° (2 $\Theta$ ), in all measures. These peaks correspond to patterns of hydroxyapatite (HA). The XRD spectra in 60B5CaF and 60B10CaF, soaked in SBF for 7 days, presented peaks in 28°(2 $\Theta$ ) corresponding to fluorapatite (FA), due to the presence of  $\text{CaF}_2$  in these glasses. Raman and FTIR measurements confirmed what was measured by XRD, showing characteristic peaks of HA and FA for all the samples. Results show that the prepared samples present potential for being used as biomaterials in biomedical applications, such as orthopedics, dentistry and tissue engineering.

**Keywords:** bioactive borate glass; bioactivity; hydroxyapatite; fluorapatite, biomaterial, SBF.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Diagrama ternário que Larry Hench utilizou para compor o vidro 45S5, a concentração é mostrada em porcentagem em massa. ....	9
<b>Figura 2.</b> DRX para os vidros 0B, 1B, 2B e 3B, após reação em solução 0,02 MK <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> a 37 ° C.....	12
<b>Figura 3.</b> Análise cinética em função do tempo para um silicato (0B), dois borossilicatos (1B e 2B) e um vidro de borato (3B) em solução de K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 0,02 M a 37 ° C.....	13
<b>Figura 4.</b> Foto dos vidros boratos sintetizados .....	16
<b>Figura 5.</b> Curva típica de DSC. ....	18
<b>Figura 6.</b> Esquema ilustrativo do fenômeno de difração de raios-X(Lei de Bragg).....	20
<b>Figura 7.</b> Difrátômetro clássico com estrutura Bragg-Brentano .....	21
<b>Figura 8.</b> Exemplos da posição de amostras em SBF.....	24
<b>Figura 9.</b> Medidor de pH e banho maria. ....	25
<b>Figura 10.</b> Densidade e volume molar das amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF em função da concentração de CaF <sub>2</sub> . ....	27
<b>Figura 11.</b> Microdureza para as amostras, em função da concentração de CaF <sub>2</sub> . ....	29
<b>Figura 12.</b> Tg, Tx e estabilidade térmica (Tx-Tg) das amostras em função da concentração de CaF <sub>2</sub> . ....	30
<b>Figura 13.</b> Calor específico das amostras em função da concentração de CaF <sub>2</sub> .....	32
<b>Figura 14.</b> Difratogramas de Raios-X das amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF, antes da imersão em SBF. ....	33
<b>Figura 15.</b> Espectros Raman das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, antes da imersão em SBF. ....	34
<b>Figura 16.</b> FTIR das amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF, antes da imersão em SBF.....	35
<b>Figura 17.</b> Deconvolução do espectro FTIR das amostras de vidro borato.....	37
<b>Figura 18.</b> Fração de átomos de boro com quatro coordenações (N <sub>4</sub> ), em função da concentração de CaF <sub>2</sub> . ....	38
<b>Figura 19.</b> Foto da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF. ....	39
<b>Figura 20.</b> Medidas de pH para as amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF, no período de 28 dias. ....	40
<b>Figura 21.</b> Padrão de DRX para a Hidroxiapatita.....	41
<b>Figura 22.</b> Padrão de DRX para a Fluorapatita ( FA).....	41

<b>Figura 23.</b> Difractogramas da amostra 60B antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias). .....	42
<b>Figura 24.</b> Difractogramas da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias). .....	43
<b>Figura 25.</b> Difractogramas da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias). .....	43
<b>Figura 26.</b> Difractograma das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias.....	45
<b>Figura 27.</b> Espectro Raman padrão de Hidroxiapatita.....	46
<b>Figura 28.</b> Espectro Raman padrão de Fluorapatita. ....	46
<b>Figura 29.</b> Espectros Raman da amostra 60B, antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias). .....	47
<b>Figura 30.</b> Espectros Raman da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias). .....	48
<b>Figura 31.</b> Espectros Raman da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias). .....	48
<b>Figura 32.</b> Espectros Raman das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias. ....	50
<b>Figura 33.</b> FTIR da amostra 60B antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias). .....	51
<b>Figura 34.</b> FTIR da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias).....	52
<b>Figura 35.</b> FTIR da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias).....	53
<b>Figura 36.</b> Espectros de FTIR das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias. ....	54

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Composição (% massa (wt) e (% mol) e códigos das amostras sintetizadas.....	15
<b>Tabela 2.</b> Temperaturas de Fusão e tratamento térmico dos biovidros sintetizados. ....	16
<b>Tabela 3.</b> Concentrações de íons no SBF, em comparação com plasma sanguíneo humano...24	
<b>Tabela 4.</b> Valores da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), da temperatura de início de cristalização ( $T_x$ ) e parâmetro de estabilidade térmica ( $T_x - T_g$ ) para as amostras de vidros bioativos. ....	30
<b>Tabela 5.</b> Atribuições feitas para os espectros Raman referentes à Figura 15. ....	34
<b>Tabela 6.</b> Atribuições feitas para FTIR referentes à Figura 16. ....	36
<b>Tabela 7.</b> Atribuições feitas para os espectros Raman referente a amostra 60B (figura 29)..	47
<b>Tabela 8.</b> Atribuições feitas para os espectros Raman referente a amostras 60B5CaF (figura 30) e 60B10CaF (figura 31).....	49
<b>Tabela 9.</b> Atribuições feitas para os espectros de FTIR referente as amostras pós imersão em SBF. ....	51

# SUMÁRIO

<b>Capítulo 1 – Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>Capítulo 2 – Revisão bibliográfica .....</b>	<b>3</b>
2.1. BIOMATERIAIS .....	3
2.2. VIDROS .....	6
2.2.1. <i>Vidros Bioativos</i> .....	8
2.2.2. <i>Vidros Boratos Bioativos</i> .....	11
2.2.3 <i>Fluoreto de Cálcio (CaF<sub>2</sub>)</i> .....	13
<b>Capítulo 3 – Materiais e Métodos.....</b>	<b>15</b>
3.1 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS .....	15
<b>Capítulo 4 – Técnicas de Caracterização.....</b>	<b>17</b>
4.1. ANÁLISE TÉRMICA .....	17
4.1.1. <i>Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)</i> .....	17
4.1.2. <i>Calor Específico (C<sub>p</sub>)</i> .....	19
4.2. ANÁLISE ESTRUTURAL .....	19
4.2.1. <i>Difração de Raios X</i> .....	19
4.2.2. <i>Espectroscopia Raman</i> .....	21
4.2.3. <i>Densidade</i> .....	22
4.3. PROPRIEDADES MECÂNICAS .....	22
4.3.1. <i>Dureza Vickers</i> .....	22
4.4. BIOATIVIDADE .....	23
4.4.1. <i>Teste in vitro SBF (Simulated Body Fluid)</i> .....	23
4.4.2. <i>Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	25
4.4.3. <i>Medidas de pH</i> .....	26
<b>Capítulo 5 – Resultados e Discussão .....</b>	<b>27</b>
5.1. ANÁLISE DAS PROPRIEDADES FÍSICAS DAS AMOSTRAS ANTES DA IMERSÃO .....	27
5.1.1. <i>Densidade – Volume molar</i> .....	27
5.1.2. <i>Dureza Vickers (HV)</i> .....	28
5.1.3. <i>Análise térmica</i> .....	29

5.1.4. <i>Difração de Raios-X (DRX)</i> .....	32
5.1.5. <i>Espectroscopia Raman</i> .....	33
5.1.6. <i>Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	35
5.2 – ANÁLISE DA BIOATIVIDADE DAS AMOSTRAS APÓS A IMERSÃO NO SBF .....	38
5.2.1. <i>Medidas de pH</i> .....	39
5.2.2. <i>Difração de Raios X pós-imersão em SBF</i> .....	40
5.2.3. <i>Espectroscopia Raman</i> .....	45
5.2.4. <i>Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	50
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>55</b>
<b>7. PERSPECTIVAS</b> .....	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>57</b>

## Capítulo 1 – Introdução

A busca do homem para aumentar sua expectativa de vida, associada ao bom funcionamento de seus órgãos, trouxe a necessidade de se descobrir novas alternativas para a restauração, e/ou substituição dos tecidos vivos lesionados, por próteses artificiais. A possibilidade de se substituir partes de organismos vivos por materiais sintéticos resultou na criação de uma classe de materiais denominada Biomateriais, que tem sido estudada em vários laboratórios do mundo [1–6].

A aplicação de vidros como biomaterial, assim como a criação desta categoria de materiais, surgiu com o trabalho precursor de Larry Hench na década de 60, com a criação do Bioglass® 45S5 [7–9]. A característica fundamental desse material é a sua habilidade em promover uma rápida e estável ligação química, por meio de uma interface apatítica, com o tecido ósseo, o que lhe atribuiu a designação de vidro bioativo, a partir do seu desenvolvimento, toda a pesquisa ocorrida no campo dos materiais para restauração óssea foi estimulada [9–13]. As principais diferenças composicionais destes vidros bioativos, em relação aos vidros tradicionalmente utilizados em utensílios domésticos, janelas de carro e de casa, entre outras aplicações, são: uma menor concentração de sílica, a presença de fósforo e um alto teor de elementos alcalinos e/ou alcalino-terrosos, o que lhes confere uma grande predisposição para desvitrificarem [14].

Até o momento não existe, em nível mundial, um material cerâmico, metálico ou polimérico que reúna, elevado nível de bioatividade e módulo de elasticidade compatíveis com os ossos, como os biovidros [14–16]. Os biomateriais implantados não degradáveis (titânio, ouro, cerâmicas) e as suas interações com o tecido vivo, não acompanham as mudanças ocorridas no corpo, e podem se desgastar, o que geralmente, requer uma cirurgia complementar ou corretiva [17,18]. As maiores desvantagens apresentadas pelo biovidro são sua baixa resistência mecânica e baixa tenacidade à fratura, as quais têm impedido sua aplicação em implantes estruturais [13,19–22].

Pesquisas recentes têm demonstrado que a substituição parcial ou completa de  $\text{SiO}_2$  pelo  $\text{B}_2\text{O}_3$ , no Bioglass® 45S5, leva a uma completa e mais rápida conversão do biovidro em Hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) [23–26], e que biovidros à base de Boro são substratos favoráveis para a fixação e proliferação de células osteogênicas [27–30]. Alguns estudos também demonstraram que a adição de Flúor em vidros bioativos melhoram a sua bioatividade [31–34] e a adição de  $\text{CaF}_2$  ao vidro, em vez de substituí-lo por  $\text{CaO}$ , aumenta a taxa de formação de apatita o que acaba resultando na formação de fluorapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) [35–

37]. A fluorapatita é mais resistente ao ácido e quimicamente mais estável do que a hidroxiapatita. O flúor também é conhecido por aumentar a densidade óssea, o que pode ser de interesse para uso em implantes, com liberação de flúor, para pacientes que sofrem de osteoporose [38–41].

Larry Hench, em 2015 [42], em um dos seus últimos artigos, destaca que duas necessidades mundiais devem ser observadas no futuro, são elas (1) o tratamento da deterioração da saúde e do envelhecimento da população e, (2) redução dos custos com a saúde. Ele observa que o sucesso clínico do uso de vidros bioativos para regeneração óssea é evidência de que, estamos no caminho certo para a regeneração de tecidos e a prevenção da deterioração do tecido. Nessa perspectiva, este trabalho teve como objetivo a síntese e a caracterização de novos vidros bioativos a base de boro, tendo como composição básica  $60\text{B}_2\text{O}_3 - 4\text{P}_2\text{O}_5 - 18\text{Na}_2\text{O} - x\text{CaF}_2 - (18-x)\text{CaO}$ , em que foi investigada a influência da adição de  $\text{CaF}_2$ , nas propriedades térmicas, estruturais, espectroscópicas e mecânicas, e na bioatividade *in vitro* em SBF, dos materiais produzidos.



## Capítulo 2 – Revisão bibliográfica

### 2.1. Biomateriais

A frequente inovação dos meios científicos tem contribuído para o progresso de tecnologias, que têm como objetivo aumentar a longevidade dos seres humanos. A preocupação com a reposição de ossos ou tecidos vivos danificados impulsionou o desenvolvimento de materiais biocompatíveis com organismos vivos, os chamados biomateriais. Biomateriais podem ser materiais naturais ou artificiais, que compõem parte ou toda uma estrutura viva, ou dispositivos médicos, que aumentam ou suprem a função natural por período provisório ou definitivo. Cada biomaterial possui uma função apropriada para uma determinada aplicação, a qual depende de suas características [43]. A elaboração de biomateriais, que possam restaurar tecidos vivos lesionados e que estabeleçam rapidamente suas funções fisiológicas, tem sido motivo de intensa e crescente pesquisa em nível mundial [44–46].

No passado, órgãos e membros que perdiam sua função por alguma complicação causadas por patologias, acidentes e guerras, eram simplesmente amputados. Ultimamente, com o surgimento dos transplantes, implantes e enxertos, a reposição tecidual é o tratamento mais indicado. Com o desenvolvimento da engenharia de tecidos e dos materiais bioativos, a regeneração de tecidos tem ganhado espaço. Espera-se que, em um futuro próximo, o tratamento de diversas afecções possa ser realizado por meio da regeneração tecidual [47].

O primeiro relato de um implante não orgânico enxertado em osso humano, data de 600 d.C. Este implante era em uma mandíbula encontrada em 1931 em Honduras; na qual haviam três fragmentos de concha do mar no lugar dos incisivos inferiores. Após investigações radiográficas concluiu-se que, devido à osteointegração entre o implante e o osso, os implantes haviam sido implantados em paciente vivo [48].

As duas grandes guerras foram os acontecimentos que impulsionaram o desenvolvimento dos biomateriais. Durante esses episódios, na tentativa de evitar a amputação de membros que haviam perdido suas funções, buscavam-se materiais que não fossem danosos e não sofressem rejeição. Inicialmente os resultados foram negativos e, portanto, foi estabelecido na época como principal objetivo a identificação de materiais que, além das propriedades estruturais e de não ocasionar danos à saúde do paciente, não fossem rejeitados pelo organismo. Dessa forma chegou-se, em 1947, a uma sugestão formal, por parte do Comitê Americano para o Tratamento de Fraturas do Colégio Americano de Cirurgiões, para que se utilizassem os aços inoxidáveis de Ni-Cr. Desde então, um número relevante de outros materiais

têm sido desenvolvidos, verificados e considerados apropriados para a utilização em implantes [7,49,50].

Os biomateriais têm sido aplicados em diferentes funções, tais como: implantes, biosensores, lentes intraoculares, enxertos, etc. A cada ano são criados novos biomateriais com o propósito de oferecer alternativas de tratamento para diversas enfermidades [51]. No que diz respeito ao material empregado, os biomateriais podem ser divididos em biometais, biopolímeros, biocompósitos, biocerâmicas e biovidros [8,51].

Os biometais compreendem os implantes de titânio, ligas de cobalto, aço inoxidável dentre outros. Estes metais têm aplicações nas áreas de ortopedia e odontologia. Os biopolímeros têm diversas finalidades nas especialidades médicas e podem ser divididos como polímeros sintéticos ou naturais e degradáveis ou estáveis. As biocerâmicas e os biovidros têm aplicações como enxertos ósseos e odontológicos ou recobrimentos de implantes metálicos. Os biocompósitos mesclam dois ou mais materiais, previamente apresentados, alterando as características dos mesmos, permitindo assim, uma maior aplicabilidade [51].

Para que um material possa ser utilizado como biomaterial devem ser feitos vários testes, rigorosamente fiscalizados, o que requer o cumprimento de normas referentes a não toxicidade, não ser cancerígeno, não causador de efeitos adversos no organismo e ser biocompatível. Por isso, quando se considera a utilização de um material como biomaterial, este necessita ter biofuncionalidade e biocompatibilidade [49]. A biofuncionalidade é o conjunto de propriedades que permite ao material desempenhar uma função desejada, enquanto que a biocompatibilidade é a habilidade do material em apresentar uma resposta apropriada quando aplicado ao meio biológico no qual ele deve permanecer, não causando, por exemplo, reação inflamatória crônica, reação de corpo estranho ou mesmo toxicidade. As propriedades que determinam a biocompatibilidade são complicadas de serem definidas, pois estão relacionadas a aspectos subjetivos como a idade, estado de saúde, imunidade, local do implante etc. [8,48,51]. A resposta de cada organismo depende das particularidades do material, tais como composição, textura e morfologia. Essas particularidades são controladas no design e na síntese do material [48].

Segundo Hench, a biocompatibilidade de um material para implante pode ser encarada como excelente quando esta possibilita a constituição de um tecido normal na sua superfície, além de constituir com o meio biológico uma interface apta a resistir às cargas normais na região do implante [51]. Baseado nesta perspectiva os materiais biocompatíveis podem ser classificados em biotoleráveis, bioinertes e bioativos [52].

Quando um material bioinerte e biotolerável é implantado no corpo, é induzida uma resposta do tecido hospedeiro, havendo um encapsulamento do implante por uma camada de tecido fibroso não aderente. A dimensão desta camada pode ser influenciada por muitos aspectos, como o estado do implante, o tecido hospedeiro, a interface e a força mecânica empregada sobre o implante [50]. Um material com boa estabilidade química, como a alumina, leva ao desenvolvimento de uma camada fibrosa muito fina, possibilitando uma adequação mecânica do implante. Distintivamente, implantes metálicos mostram-se mais reativos e, dessa forma, desenvolve-se uma camada fibrosa interfacial mais densa. Em virtude desta camada não estar biologicamente, ou quimicamente, conectada ao tecido hospedeiro, qualquer atividade pode provocar a degradação do uso do implante ou do tecido hospedeiro ou ainda da interface entre eles [51,53,54].

Os materiais bioativos possibilitam um retorno biológico específico na interface com o tecido vivo, permitindo a formação de uma ligação química entre o tecido e o próprio material (bioadesão), neste caso, o tecido é capaz de interagir com o material, sem a intervenção de tecido fibroso [50]. Além disso, apresentam características significativas que levam à regeneração do tecido ósseo, como a osteocondução e a osteoindução [55]. A osteocondução é caracterizada pelo crescimento ósseo por aposição do osso existente ou sobre o mesmo, desta forma, estruturas porosas são inseridas no osso ou adjacências sendo caracterizado por um crescimento inicial de tecido fibrovascular que envolve a estrutura, sendo acompanhado pela deposição de osso novo diretamente sobre ela [56]. Para que ocorra a osteocondução, é necessário osso ou células mesenquimais diferenciadas. O processo osteocondutivo é a restauração ocorrida em volta dos implantes osseointegrados. A osteocondução fica evidente quando se observa a existência de osso no meio dos poros do material implantado, já a osteoindução é quando o crescimento do osso ocorre quando o implante é colocado em tecido mole, explicitando a diferenciação celular [57]. As hidroxiapatitas naturais, biocerâmicas e biovidros compõem a maior parte dessa categoria de materiais, podendo elas ser reabsorvíveis ou não reabsorvíveis [58].

Em 1980, Hench et al. mostrou que um filme com uma camada de  $\text{SiO}_2$  e de fosfato de cálcio se formou na superfície do Bioglass 45S5, quando implantado em meio corpóreo, permitindo sua união com o osso vivo [59]. Por outro lado, Kitsugi et al. em 1987, mostrou que a camada rica em  $\text{SiO}_2$  não se forma na vitrocerâmica A-W (composta de 4,6 MgO – 44,7 CaO – 34 SiO – 16,2  $\text{P}_2\text{O}_5$  – 0,5 CaF % em massa), mas que uma camada de fosfato de cálcio se forma na sua superfície, o que permite a sua união com o osso vivo [60]. Subsequentemente,

Kokubo, utilizando difração de raios-X, identificou esta camada de fosfato de cálcio, como sendo apatita cristalina. Posteriormente, em 1990, mostrou que a formação de apatita na superfície da vitrocerâmica A–W, pode ser reproduzida em um fluido acelular (SBF), com concentração iônica próxima a do plasma humano [61]. Em 1991, Kokubo propôs que o requisito essencial para um material artificial se unir ao osso vivo, é a formação de apatita, em sua superfície, quando implantado no corpo e que, a formação de apatita *in vivo*, pode ser reproduzida em SBF [62].

Assim, a bioatividade de vários tipos de materiais tem sido avaliada pela formação de apatita em SBF em um sistema *in vitro*, ganhando grande importância em estudos para análise de biocompatibilidade de materiais. Este sistema corresponde a um ambiente que tem por finalidade a reprodutibilidade do sistema biológico vivo, criado com a pretensão de poupar organismos vivos com as experiências laboratoriais [63,64].

## 2.2. Vidros

O vidro é um dos materiais mais versáteis feitos pelo homem, acompanhando seu desenvolvimento desde a antiguidade. Inicialmente, era empregado apenas como utensílios domésticos e decorativos, mas com o avanço das pesquisas para aplicações tecnológicas sobretudo nas últimas décadas, foi possível o desenvolvimento de vidros com características especiais, tais como vidros ópticos, vidros bioativos, vitrocerâmicas, entre outros [65].

Durante grande parte da história, os vidros eram baseados em sílica. Eles são tradicionalmente formados por resfriamento a partir de uma massa fundida, embora existam outras técnicas como por sol-gel, deposição de vapor, entre outras. A técnica utilizada não é condição para classificar o material como vidro. Tradicionalmente os vidros são inorgânicos, porém atualmente os vidros orgânicos e metálicos estão se tornando mais comuns [65].

Segundo Shelby (2005), para que um material seja considerado vidro ele deve compartilhar duas características em comum. Primeiro, nenhum vidro possui arranjos atômicos periódicos de longo alcance e, ainda mais importante, cada vidro apresenta um comportamento de transformação vítrea dependente do tempo. Esse comportamento ocorre em uma faixa de temperatura conhecida como região de transição vítrea. Sendo assim, ainda segundo Shelby, “Vidro é um sólido amorfo com ausência completa de ordem a longo alcance e periodicidade, exibindo uma região de transição vítrea. Qualquer material, inorgânico, orgânico ou metálico, formado por qualquer técnica, que exibe um fenômeno de transição vítrea é um vidro” [65].

De uma forma geral, os cátions, cujas ligações com o oxigênio são em torno de 50% iônicas e 50% covalentes, atuam como formadores de rede. Outros cátions, com eletronegatividades muito baixas, cuja ligação com o oxigênio apresenta um caráter fortemente iônico, atuam como modificadores de rede. E os cátions que, por si só, não formam vidros com facilidade, mas que, misturados aos formadores típicos, podem substituí-los na rede, foram classificados por Stanworth como intermediários [65].

Alguns cátions, como o sódio, agem nos vidros como modificadores de rede, diminuindo a viscosidade dos vidros, ligando-se ionicamente ao oxigênio, suspendendo a continuidade da rede, já que alguns átomos de oxigênio não são mais compartilhados entre dois tetraedros, mas ligados somente a um átomo. O oxigênio que é ligado somente a um átomo na rede vítrea é chamado de oxigênio não ligado (NBO). Modificadores de rede além de promoverem a estabilização são os responsáveis pela formação de "clusters" na rede tridimensional. Por essa razão, os óxidos alcalinos são utilizados como fundentes que diminuem a viscosidade do vidro, pois quebram algumas ligações [65].

Uma categoria mista de vidros abrangendo óxidos e fluoretos possuem características muito promissoras. Vidros óxidos exibem excelente estabilidade frente à cristalização, mas como os óxidos precisam de elevadas temperaturas para fusão sua síntese torna-se limitada. Já os vidros fluoretos possuem baixa estabilidade frente à cristalização o que dificulta a preparação destes materiais. Uma particularidade de vidros contendo íons fluoretos é a condutividade iônica associada a estes íons. A combinação de íons fluoretos com vidros óxidos leva a criação de um novo material com características físico-químicas tanto dos vidros fluoretos, como dos vidros óxidos, sendo de simples sintetização, elevada condutividade iônica, e ter a possibilidade de controle frente à cristalização [66].

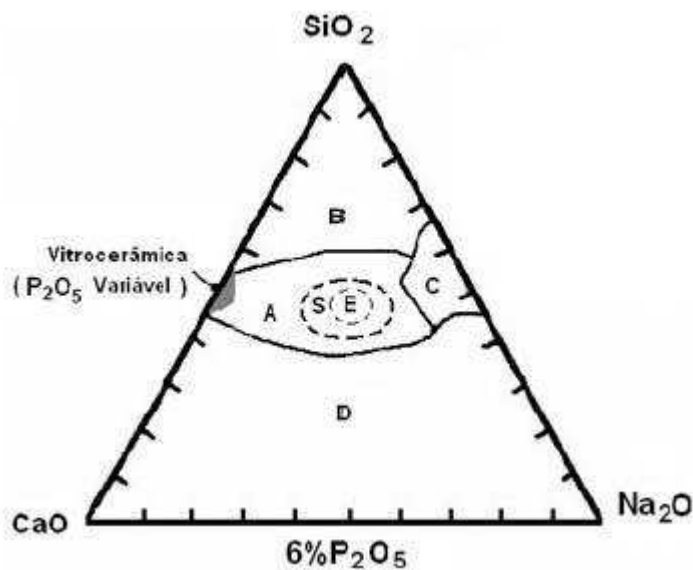
O vidro deve ser resistente à corrosão e inerte, incluindo ser capaz de manter suas propriedades ópticas enquanto estiver em ambientes agressivos, como uma máquina de lavar louça, em contato com reagentes químicos agressivos, em condições climáticas adversas, ou em uma cavidade laser, por exemplo. Um dispositivo médico que venha a ser implantado no corpo humano terá que lidar com condições adversas, visto que o corpo humano é um ambiente quente e úmido, contendo fluxos contínuos de fluidos, cargas mecânicas, e ação de células, que têm a função de rejeitar materiais estranhos e inertes, o que acabará acarretando no encapsulamento deste dispositivo com o tecido fibroso (cicatriz). Um vidro inerte que tenha sido encapsulado pelo tecido fibroso ao longo dos anos, será empurrado para fora (para a pele) através dos tecidos moles ou será fagocitado ou eliminado pela ação dos macrófagos [67]. No

entanto, para aplicações biomédicas, certos vidros podem ser ativos no corpo e estimulam a cura natural de tecidos danificados. Para essas aplicações a degradação do vidro é encorajada, desempenhando um papel importante, visto que estimula ativamente as células a produzir tecido e renová-lo [50].

### 2.2.1. Vidros Bioativos

O primeiro vidro bioativo foi desenvolvido por Larry Hench na Universidade da Flórida em 1969. Hench começou a trabalhar na descoberta desse material após uma conversa em um passeio de ônibus com um coronel do Exército dos EUA. O Coronel, que acabava de voltar da guerra do Vietnã, perguntou-lhe se ele poderia desenvolver materiais que pudessem sobreviver à agressividade do corpo humano [7]. O problema era que todos os materiais disponíveis no momento para implantes no corpo humano, como os metais e polímeros, eram bioinertes, desencadeando um encapsulamento fibroso após o implante, em vez de formar uma interface estável com os tecidos [7,68–70]. Foi então que ele desenvolveu um vidro degradável do sistema  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2-\text{P}_2\text{O}_5$ , rico em cálcio e com uma composição próxima ao diagrama eutético ternário  $\text{Na}_2\text{O}-\text{CaO}-\text{SiO}_2$  (Figura 1). A principal descoberta foi um vidro de composição 45% de  $\text{SiO}_2$ , 24,5% de  $\text{Na}_2\text{O}$ , 24,5% de  $\text{CaO}$  e 6% em massa de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , posteriormente designado por Bioglass 45S5, que se ligou ao osso tão fortemente que não poderia ser removido sem quebrá-lo [7,53,71]. Este estudo iniciou a área dos materiais bioativos, com muitos novos materiais e produtos sendo formados a partir dessas variações, tais como os vidros bioativos, as vitrocerâmicas e as cerâmicas, como a hidroxiapatita sintética. Assim, um material bioativo é definido como um material que estimula uma resposta benéfica do corpo, particularmente uma ligação com o tecido do hospedeiro (geralmente ósseo) [8,51].

De acordo com o diagrama da Figura 1, os vidros sintetizados por fusão com composições referentes à região A são bioativos. Os vidros da região B são inertes e os da região C são biorreabsorvíveis. A região S compreende vidros com capacidade de ligação com tecidos moles. Somente composições com taxas de reações de decomposição muito rápidas formam uma ligação com os tecidos moles. Quando a composição do vidro excede 52% em peso de  $\text{SiO}_2$ , o vidro se ligará ao osso, mas não a tecidos moles [7,53,71].



**Figura 1.** Diagrama ternário que Larry Hench utilizou para compor o vidro 45S5, a concentração é mostrada em porcentagem em massa. (Adaptado de Hench [8])

- A – Ligação óssea
- B – Sem ligação (baixa reatividade)
- C – Sem ligação (alta reatividade)
- D – Sem ligação sem formador de vidro
- S - Ligação de tecidos moles
- E – Composição do Bioglass 45S5

Os materiais bioativos empregados para substituição e reparação de tecidos necessitam ter uma cinética química controlada, de acordo com as mudanças que acontecem na reparação. Se a taxa de decomposição é muito rápida, as concentrações iônicas são excessivamente altas para ser eficiente (região C). Se a taxa de decomposição for bastante baixa (região B), as concentrações são baixas para promover a proliferação e diferenciação celular. Vidros com altos níveis de bioatividade estão na região E da Figura 1, em que todas as composições contêm 6% em peso de  $P_2O_5$ , região em que se encontra a composição do Bioglass® 45S5, que apresenta um índice de bioatividade ( $I_B$ ) igual à 12,5 [71,72].

O nome "Bioglass" é uma marca registrada pela Universidade da Flórida como um nome para o original 45S5. Por conseguinte, apenas deve ser usado para a composição 45S5 e não como um termo geral para vidros bioativos. Quando implantado, o Bioglass® degrada-se lentamente e os produtos de dissolução estimulam as células progenitoras a diferenciar-se por meio de uma via de osteoblastos pela estimulação de genes associados à diferenciação dos osteoblastos (osteoindução). O vidro liga-se ao osso existente (osseointegração) e incentiva o crescimento de novo osso ao longo de sua superfície (osteocondução). A ligação óssea é devido

à formação de uma camada de fosfato de cálcio (hidroxicarbonato de apatita carbonatada, HCA) na superfície do vidro, o que ocorre nas primeiras horas após a implantação [54,68,71,73,74].

Para a síntese dos vidros bioativos diminui-se a concentração de  $\text{SiO}_2$ , composto formador do vidro, e se controla a solubilidade dos outros íons, conservando a estabilidade do sistema para amplificar a solubilidade do vidro, possibilitando a disponibilidade de um maior número de íons ativos na interface do material. A concentração de sódio aumenta para sustentar um balanço fisiológico destes íons na interface do vidro, segurando um pH local neutro ou levemente alcalino, em torno de 7,4, necessário para estimular as várias reações na superfície do material que irão resultar na formação das camadas bioativas condutoras da formação óssea. A concentração de  $\text{CaO}$  é aumentada e o  $\text{P}_2\text{O}_5$  é introduzido, por serem fundamentais para o desenvolvimento da camada de apatita na superfície do vidro [11,50]

Quando se implanta um material bioativo no organismo, uma sequência de reações biofísicas e bioquímicas acontecem na interface tecido/implante, surgindo a formação de uma camada de hidroxiapatita biologicamente ativa sobre a superfície do implante, que permite uma ligação química interfacial entre o implante e o tecido vivo, acarretando a fixação bioativa. Este tipo de biomaterial tem atraído considerável atenção nas últimas décadas. Uma vantagem relevante da fixação bioativa é que a ligação do implante com o tecido ósseo pode chegar a uma resistência igual ou superior a apresentada no próprio osso, em um intervalo de 3 a 6 meses. A elevada resistência da fixação bioativa, tanto em tecidos duros quanto em tecidos moles, é devido ao desenvolvimento da camada densa, em escala nanométrica, de aglomerados de cristais de hidroxiapatita carbonatada [53,75].

O principal constituinte mineral do osso humano é o hidroxiapatita [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{HCO}_4$ ]. Outras fases da apatita também estão presentes, como hidroxiapatita(HA) [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ] e em menor quantidade a fluorapatita(FA) [ $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ]. Os principais usos destas apatitas, quanto sintetizadas, são: reparo de defeitos ósseos em odontologia e ortopedia, preenchimento de cavidades patológicas, traumáticas ou cirúrgicas, reconstrução maxilo-facial, recobrimento de implantes de titânio e biorreatores [76].

A principal vantagem dos vidros bioativos é a sua taxa rápida de reação superficial, o que leva à ligação rápida do tecido. A sua principal desvantagem é a fraqueza mecânica e a baixa tenacidade à fratura. Para aperfeiçoar suas características mecânicas, diferentes elementos foram acrescentados aos vidros bioativos tais como zinco, titânia, magnésio, zircônia, prata e boro[50].



Existem vários tipos de vidro bioativos: os convencionais silicatos, tais como o Bioglass 45S5; vidros fosfatos e vidros boratos. Recentemente, o interesse aumentou em vidros boratos, em grande parte devido a resultados clínicos muito encorajadores da cicatrização de feridas crônicas, como úlceras diabéticas, que não cicatrizariam sob tratamento convencional. A resposta dos tecidos moles pode ser devido à sua rápida dissolução, que é mais rápida do que a de vidros a base de sílica [50,77].

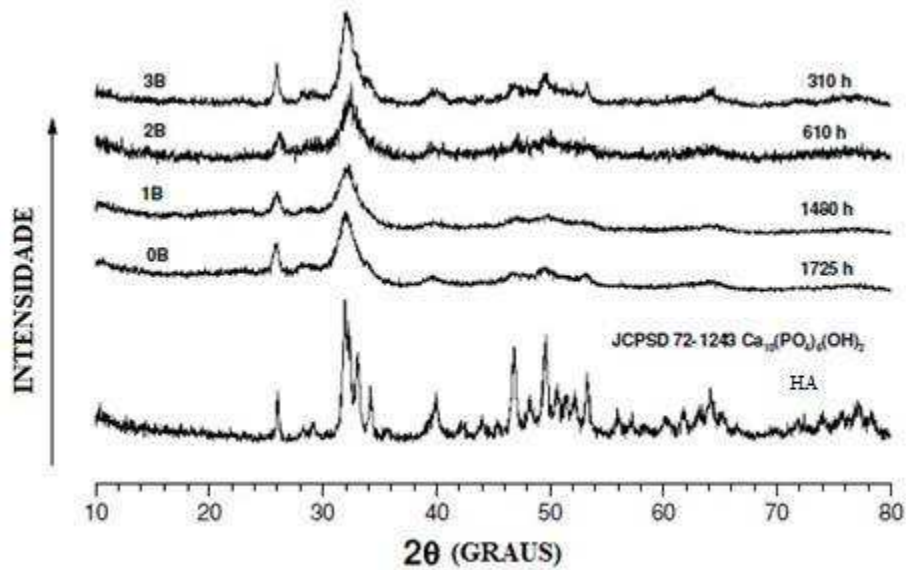
### 2.2.2. Vidros Boratos Bioativos

Os vidros boratos bioativos têm como formador de rede principal o  $B_2O_3$  em lugar de  $SiO_2$  ou  $P_2O_5$ , e as composições podem conter metais alcalinos (Li, Na, K, Mg, Ca, Sr, Ba, etc.) e/ou metais de transição (Fe, Cu, Zn, Ag, Au) [50].

Os vidros silicatos, como o Bioglass, uma vez imersos em SBF, começam a dissolver-se superficialmente, e nesta reação forma-se uma camada rica em sílica na superfície do vidro. A baixa solubilidade da sílica nos fluidos corporais é a razão para a formação de uma camada de sílica gel. Íons de cálcio do vidro difundem-se através da camada rica em sílica e quimicamente ligada com fosfato, presentes nos fluidos corporais, formando uma camada de fosfato de cálcio amorfa. Ao longo do tempo, a camada de fosfato de cálcio se cristaliza em HA e a formação de HA é o que permite aos vidros bioativos se ligarem quimicamente com os tecidos, como o osso. Os vidros boratos bioativos, ao contrário dos vidros silicatos, formam HA diretamente na superfície do vidro já que o borato é prontamente dissolvido nos fluidos corporais [50,78–80].

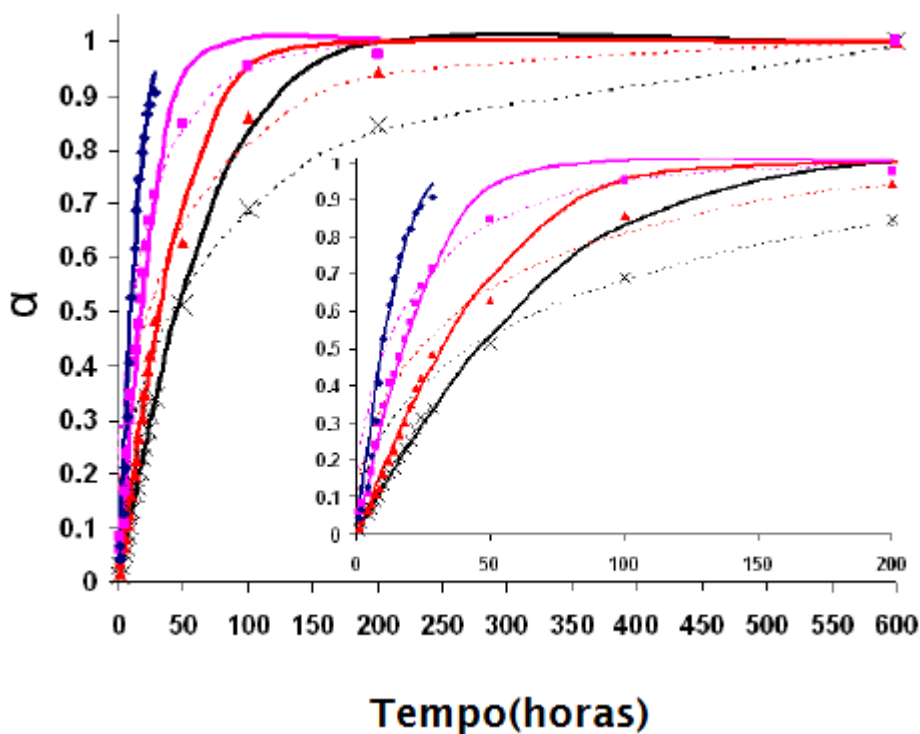
Huang et al. caracterizou a conversão de um vidro bioativo silicato (45S5), um vidro borato e duas composições intermediárias de vidro borossilicato em HA, em solução diluída de fosfato a 37° C. O vidro borato e os vidros borossilicatos foram derivados do vidro 45S5 substituindo total ou parcialmente o  $SiO_2$  por  $B_2O_3$  sendo o silicato 45S5 (0B); dois vidros borossilicatos (1B e 2B), em que 1/3 e 2/3 da sílica na composição 45S5 foi substituída por boro, respectivamente; e um vidro borato (3B), no qual toda a sílica foi substituída por óxido de boro. O acréscimo de  $B_2O_3$ , em substituição a  $SiO_2$ , causou uma conversão mais rápida do vidro em HA. Enquanto o vidro borato 3B, foi completamente convertido em HA em menos de 4 dias, as composições de silicato (45S5) e de borossilicato foram apenas parcialmente convertidas, após 70 dias e ainda apresentaram resíduos de  $SiO_2$  (Figura 2). No trabalho de Huang pode-se observar que a camada de HA se forma mais rapidamente no vidro borato, já

que a presença de boro contribui no crescimento e diferenciação de células humanas mesenquimais [23].



**Figura 2.** DRX para os vidros 0B, 1B, 2B e 3B, após reação em solução 0,02  $MK_2HPO_4$  a 37 ° C durante os tempos mostrados. A comparação, é com o DRX padrão de HA, mostrado (Adaptado Huang [23]).

Em 2008, Jung et al. estudou como os vidros de Huang et al. diferem em seus mecanismos de corrosão. Apenas o vidro borato (3B) dissolveu-se em acordo com a perda de peso teórica (~58%), uma vez que nos vidros contendo sílica (1B e 2B), houve uma baixa dissolução (35% e 42%, respectivamente) [81]. A cinética de cada vidro está apresentada na Figura 3 e mostra que a reação do vidro 3B é a mais rápida até a sua completa conversão. Cada um dos três vidros contendo sílica inicia com uma cinética semelhante (linha contínua), mas, devido à formação de uma camada rica em sílica, a reação de cada vidro diminui e os dados são ajustados pelo modelo de difusão mais lenta (linha tracejada) [81].



**Figura 3.** Análise cinética em função do tempo para um silicato (0B), dois borossilicatos (1B e 2B) e um vidro de borato (3B) em solução de  $K_2HPO_4$  0,02 M a  $37^\circ C$ , em que a linha contínua corresponde à contração e a linha tracejada corresponde à difusão. **Legenda:**  $\alpha$  = cinética; 0B (cruzes), 1B (triângulos), 2B (quadrados) e 3B (diamantes) (Adaptado Jung [81]).

A cinética de reação mais lenta, para atingir a conversão completa do vidro silicato bioativo, especialmente em partículas de vidro maiores ( $> 300 \mu m$ ) ou implantes monolíticos, pode ser uma desvantagem, visto que foi documentado que o vidro bioativo a base de sílica implantado em dentes humanos ainda tinha partículas de vidro não reagidas presentes quatro anos após o implante. Naturalmente, a escolha do melhor vidro dependerá da aplicação, e a taxa de degradação ou conversão em apatita depende da indicação clínica [50].

### 2.2.3 Fluoreto de Cálcio ( $CaF_2$ )

O fluoreto de cálcio ( $CaF_2$ ), quando utilizado na fabricação de vidros, contribui para a redução da viscosidade do fundido [65], sendo considerado, portanto, um agente finalizador, removendo bolhas e reduzindo a tensão superficial do vidro fundido [82]. Além disso, apresenta propriedades bem conhecidas como a de causar quebra de ligações, o que resulta em diminuição da temperatura de transição vítrea do material e da temperatura de início de cristalização [83,84],

Na odontologia o flúor é bem conhecido por prevenir as cáries dentárias, inibindo a desmineralização do esmalte e da dentina e as enzimas bacterianas. O flúor possui propriedades antibacterianas bem documentadas e, em baixas concentrações, os íons fluoreto aumentam a massa óssea e a densidade mineral [33,85] e também atua como um agente anti-carcinogênico [86].

A adição de flúor aos vidros bioativos é de grande interesse para o desenvolvimento tanto de biomateriais dentários, quanto ortopédicos [31–38]. Vidros bioativos contendo flúor aumentam a proliferação, diferenciação e mineralização dos osteoblastos e melhoram a sua capacidade de ligação óssea [41]. Implantes com liberação de flúor podem ser vantajosos para pacientes que sofrem de osteoporose. Estes vidros possuem a capacidade de formar fluorapatita, que exibe melhor estabilidade química do que as apatitas isentas de flúor [33,87].

A fluorapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$ ) é análoga à hidroxiapatita ( $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ), que é o principal componente mineral de ossos e dentes. A fluorapatita também é encontrada em ossos e dentes e por suas boas qualidades é usada como um substituto para o esmalte dental. O esmalte dental é o material mais duro nos corpos de vertebrados e cerca de 96% de sua composição é  $\text{Ca}(\text{PO}_3)_2$ . Nos ossos, a fluorapatita é acompanhada por hidroxiapatita e, portanto, a sua investigação é importante para outro campo da medicina: ortopedia e cirurgia óssea. No entanto, a FA é muito mais estável em ambiente ácido ( $\text{pH} < 4$ ), em comparação com HA, sendo extremamente favorável na odontologia. Estudos mostraram que a osteocondutividade e a biocompatibilidade da FA são comparáveis à da HA, mas a FA é mais estável e tem menor taxa de degradação *in vivo* em comparação com HA [38]. Sendo assim, uma das tentativas para melhorar a bioatividade do vidro, e a sua potencial aplicabilidade, é a adição de flúor à sua composição [31,32,35–37,87].

## Capítulo 3 – Materiais e Métodos

### 3.1 Preparação das amostras

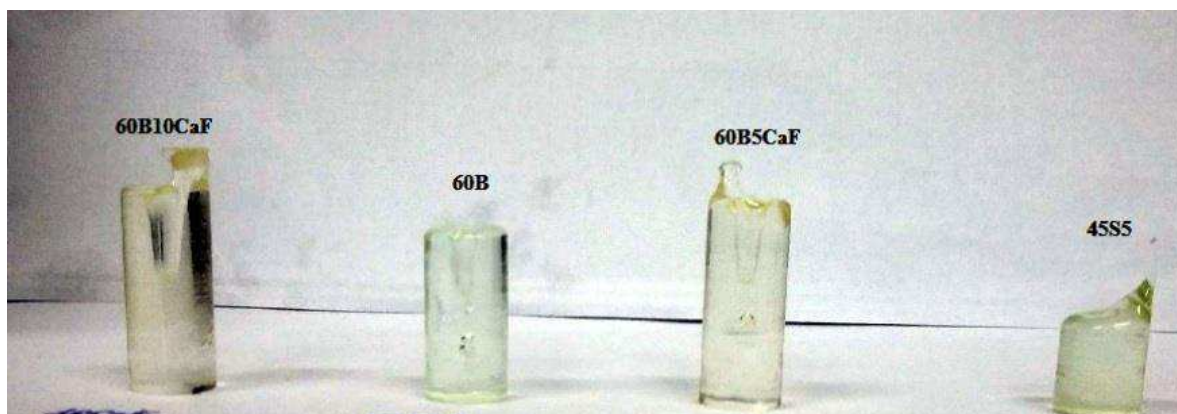
O preparo das amostras foi realizada no Laboratório de Espectroscopia Óptica e Fototérmica (LEOF) localizado na Unidade de Preparação e Caracterização de Materiais (UPCM), da Universidade Federal do Maranhão – Campus Avançado, em Imperatriz.

Para a síntese das amostras utilizou-se os seguintes reagentes: Pentóxido de Fósforo ( $P_2O_5$ ); Carbonato de Cálcio ( $CaCO_3$ ); Trióxido de Boro ( $B_2O_3$ ); Óxido de Silício ( $SiO_2$ ); Carbonato de Sódio ( $Na_2CO_3$ ) e Fluoreto de Cálcio ( $CaF_2$ ), todos da marca Sigma-Aldrich (pureza 98-99%). A composição e os códigos das amostras estão apresentadas na tabela 1.

**Tabela 1.** Composição (% massa (wt) e (% mol) e códigos das amostras sintetizadas.

Amostras	B <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (%)		CaO(%)		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (%)		Na <sub>2</sub> O(%)		CaF <sub>2</sub> (%)		SiO <sub>2</sub> (%)	
	wt	mol	wt	mol	Wt	mol	wt	mol	wt	mol	wt	mol
<b>60B</b>	60	57,46	18	21,33	4	1,86	18	19,33	-	-	-	-
<b>60B5CaF</b>	60	58,40	13	15,72	4	1,89	18	19,65	5	4,34	-	-
<b>60B10CaF</b>	60	59,44	8	9,79	4	1,93	18	20	10	8,83	-	-
<b>45S5</b>	-	-	24,5	26,9	6	2,58	24,5	24,4	-	-	45	46,1

Primeiramente, os reagentes foram pesados em balança analítica AUW220D, da marca SHIMADZU com precisão 0,00001. Previamente, o carbonato de cálcio ( $CaCO_3$ ) foi transferido para um cadinho de platina, e levado ao forno (900 °C), para a calcinação, ocorrendo a liberação do gás carbônico ( $CO_2$ ) do reagente, ficando apenas o óxido de cálcio ( $CaO$ ). Após esse procedimento, todos os reagentes foram homogeneizados em um almofariz de ágata, e então transferidos para um cadinho de platina. Em seguida, colocou-se o cadinho em um forno de atmosfera a ar da marca JUNG, para a fusão da mistura. O material fundido foi vertido em um molde de aço inoxidável previamente aquecido em temperatura abaixo da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), sofrendo um rápido resfriamento. Em sequência a amostra foi colocada em um forno para tratamento térmico, por 4 horas, para minimizar o estresse mecânico causado pelo choque térmico. Todas as amostras (Figura 4) foram sintetizadas pelo método de fusão/resfriamento (*melt-quenching*), variando-se apenas as temperaturas de fusão e de tratamento térmico, como é mostrado na tabela 2.



**Figura 4.** Foto dos vidros boratos sintetizados, sendo as amostras, da esquerda para direita, 60B10CaF, 60B, 60B5CaF e 4SS5, respectivamente.

**Tabela 2.** Temperaturas de Fusão e tratamento térmico dos biovidros sintetizados.

<b>Biovidro</b>	<b>Temperatura de Fusão</b>	<b>Temperatura de tratamento térmico</b>
60B	1100°C	450°C
60B5CaF	1100°C	450°C
60B10CaF	1100°C	450°C
4SS5	1400°C	550°C

O vidro 4SS5 (Bioglass) foi sintetizado neste trabalho a fim de se verificar a reprodutibilidade do SBF.

## Capítulo 4 – Técnicas de Caracterização

A caracterização das amostras ocorreu em duas fases distintas; antes e depois da imersão em SBF.

Para caracterização dos vidros boratos sintetizados, antes da imersão em SBF foram realizadas, análise térmica por meio da calorimetria diferencial de varredura (DSC) e calor específico; análise estrutural pelas técnicas de difração de raios-X (DRX), densidade, espectroscopia Raman e espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e propriedade mecânica, por meio da microdureza Vickers.

As medidas realizadas depois da imersão foram realizadas para analisar a bioatividade das amostras *in vitro*. Nesta fase foram feitas medidas de DRX, Raman e Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), para se verificar o crescimento de apatita na superfície das amostras. Além destas análises, foram realizadas medidas de pH do SBF, no qual estavam imersas as amostras, durante todo o período de imersão.

### 4.1. Análise Térmica

#### 4.1.1. Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

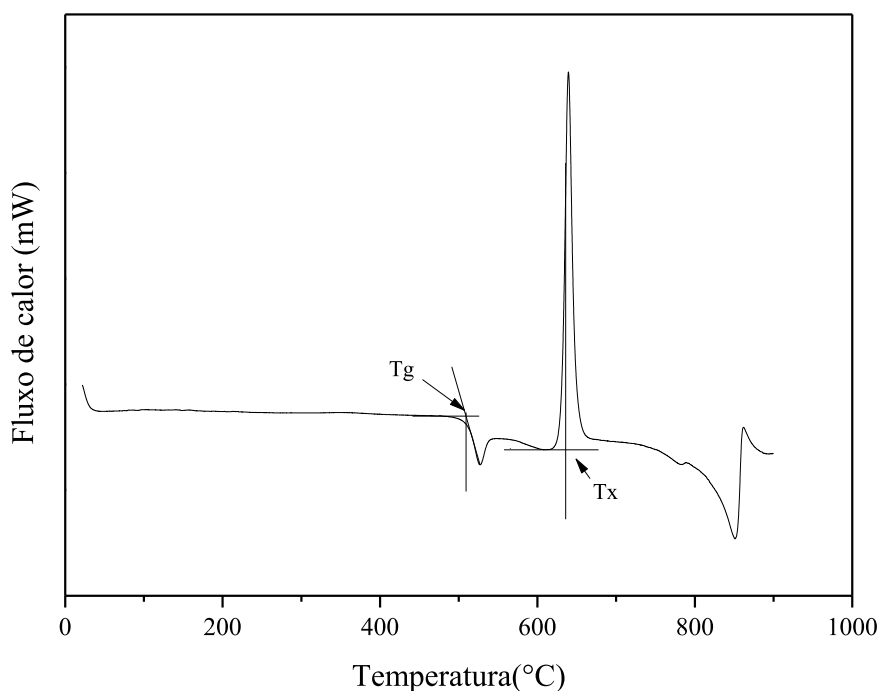
A Calorimetria Diferencial de Varredura é uma técnica na qual se mede a diferença de energia fornecida à amostra, que está sendo medida, e um material de referência termicamente inativo, em função da temperatura, enquanto a amostra e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Um ou vários picos são observados durante a análise, quando o material é termicamente ativo no intervalo de temperatura, cada um com um tipo de reação ou transição correspondente [88–90].

Compreender o comportamento térmico dos vidros é muito importante para designar suas possíveis aplicações. Além de sua estrutura amorfa, os materiais vítreos se caracterizam por apresentar o fenômeno de transição vítrea ( $T_g$ ). Os fenômenos de transição vítrea ( $T_g$ ) e cristalização ( $T_x$ ) são expressos por eventos térmicos que podem ser medidos em equipamentos empregados pelas técnicas de análise térmica, tal como a análise por calorimetria exploratória de varredura (DSC), por exemplo [90,91].

A Figura 5 mostra uma curva de DSC típica, em que três tipos básicos de transformações são detectados: transformações endotérmicas, exotérmicas e transições de segunda ordem,

como a temperatura de transição vítrea  $T_g$ , na qual a entalpia não sofre variação [92]. A determinação de  $T_g$  é útil para a correlação com outras propriedades tais como a taxa de dissolução e a resistência mecânica, que são fortemente dependentes da polimerização em rede. A estimativa da  $T_g$  pode permitir que os pesquisadores prevejam outras temperaturas de processamento importantes, como o recozimento, a extrusão e a conformação, bem como a correlação com outras propriedades do vidro dependentes da conectividade da rede do vidro, como a bioatividade e a resistência mecânica. Por exemplo, existe uma forte correlação linear entre a  $T_g$  e a dureza do vidro bioativo, que diminui com a redução da  $T_g$  do vidro [93].

Para que um vidro seja formado é necessário que os reagentes fundidos sejam resfriados rapidamente para que não haja tempo suficiente para a reorganização da estrutura e não ocorra a cristalização do material. Para se evitar a cristalização das amostras de vidro, é necessário conhecermos a  $T_x$  [65].



**Figura 5.** Curva típica de DSC.

Para determinação das  $T_g$ ,  $T_x$  e da estabilidade térmica ( $\Delta T = T_x - T_g$ ), foram realizadas análises por calorimetria exploratória de varredura (DSC) no Complexo de Centrais de Apoio à pesquisa (COMCAP), da Universidade Estadual de Maringá (UEM). A massa das amostras foi de aproximadamente 27 mg. As medidas foram realizadas em cadinho de platina, em um intervalo de temperatura de 20 a 900 °C, com taxa de aquecimento de 10 °C/min, com fluxo de



60 mL/min, utilizando um equipamento da marca Netzsch, modelo STA-409, em atmosfera de argônio.

#### 4.1.2. Calor Específico ( $C_p$ )

O calor específico é a quantidade de calor necessária para que 1 g de um material tenha sua temperatura elevada em 1°C. Sendo assim, quanto maior for o calor específico de um material, maior será a quantidade de calor que será concedida ou retirada dele, para que ocorram variações de temperatura[65,94,95]. Cada substância possui um calor específico determinado, sendo esta uma propriedade intrínseca de cada material.

As medidas de calor específico foram realizadas em um calorímetro pelo método de relaxação térmica em temperatura ambiente (300K). Neste método é provocada uma diferença de temperatura entre o sistema (amostra + substrato) e o reservatório térmico de cobre, no qual está acoplado um substrato de prata através de fios de cobre. Esses fios foram fixados no substrato com tinta prata, obtendo-se desta forma uma boa condução térmica entre o substrato e o reservatório de calor. A metodologia empregada nestas medidas está descrita em detalhes por Steimacher, 2008 [96].

As medidas de calor específico foram realizadas na central analítica do PPGCM, utilizando-se um calorímetro construído pelos professores Dr. Alysson Steimacher e Dr. Marcio José Barboza. As amostras vítreas foram cortadas e polidas com aproximadamente 1 mm de espessura, e massa de ~ 40 mg.

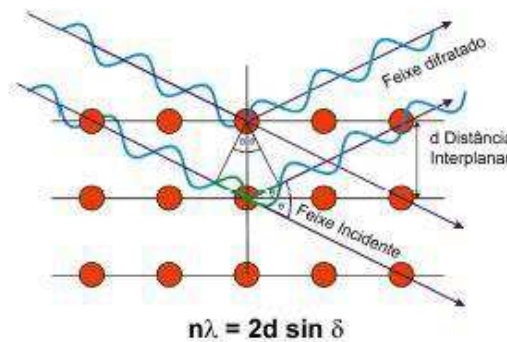
## 4.2. Análise estrutural

#### 4.2.1. Difração de Raios X

A técnica de difração de raios-X (DRX) é a mais recomendada para se detectar fases cristalinas presentes em um material, já que, na maior parte dos sólidos, os átomos se arranjam em planos cristalinos separados entre si por distâncias da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios-X. Em estruturas amorfas, em que não há ordenadamente a longos intervalos atômicos, pode-se observar alguns picos de difração posicionados em baixos ângulos[97].

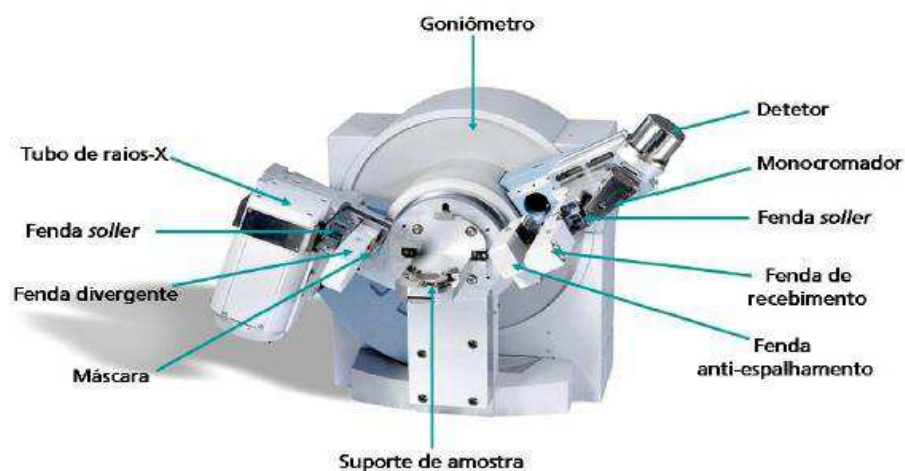
A difração de raios-X ocorre segundo a Lei de Bragg (equação 1) a qual estabelece que, as ondas incidentes são refletidas especularmente (o ângulo de incidência é igual ao ângulo de reflexão) por planos paralelos de átomos no interior do cristal, sendo que cada plano reflete somente uma pequena fração dessa radiação, conforme figura 6. Os feixes difratados são produzidos no momento em que as reflexões derivadas dos planos paralelos dos átomos sofrem uma interferência construtiva. Os planos paralelos da rede são afastados por uma distância interplanar  $d$ . A diferença de caminho entre os feixes incidentes e difratados é  $2d \sin\theta$ , sendo  $\theta$  o ângulo medido a partir do plano de átomos[97]. A interferência construtiva da radiação vinda de planos contínuos ocorre quando a diferença de caminho for igual a um número inteiro de comprimentos de onda ( $\lambda$ ), escrita como:

$$2d \sin\theta = n \lambda \quad (1)$$



**Figura 6.** Esquema ilustrativo do fenômeno de difração de raios-X(Lei de Bragg) ([98]).

O difratômetro é o equipamento usado para determinar os ângulos em que ocorre a difração de uma amostra, sendo composto por um tubo de raios-X, um porta amostra no qual incide a radiação e um detector móvel. Estes equipamentos apresentam uma geometria parafocal Bragg-Brentano, na qual a amostra fica na posição horizontal, sendo movimentados o tubo e o detector no círculo do goniômetro. A Figura 7 apresenta um difratômetro clássico com a estrutura Bragg-Brentano [98].



**Figura 7.** Difratômetro clássico com estrutura Bragg-Brentano [98].

A análise de Difração de raios-X foi utilizada para comprovar a natureza amorfa das amostras e verificar o crescimento de uma camada de apatita em sua superfície, após sua imersão em SBF. Neste trabalho, a difração de raios-X, foi realizada no Laboratório de Difração de raios – X (LDRX), da UPCM, coordenado pelo Prof. Dr. Adenilson Oliveira dos Santos, no qual utilizou-se o equipamento Empréan da marca Panalytical com varredura angular entre 10 e 60° (2 $\theta$ ), com passo de 0,02 em 2 segundos.

#### 4.2.2. Espectroscopia Raman

As moléculas que compõem um vidro são caracterizadas especificamente por modos vibracionais, estabelecidos pelas massas dos seus átomos, suas forças de interação e a geometria dos seus arranjos. A espectroscopia Raman permite a identificação de grupos de ligações químicas pelos modos de vibração das moléculas, permitindo classificar os tipos de cadeias. A espectroscopia Raman permite também identificar as fases de apatita (HA e FA) que crescem na face de vidros imersos em solução SBF, indicando assim a sua bioatividade [76].

As medidas de espectroscopia Raman realizadas para este trabalho foram feitas em um espectrômetro triplo da Princeton Instruments modelo TRIVISTA 557 operando na configuração subtrativa e equipado com detector CCD (dispositivo sensível à carga). Como fonte de excitação utilizou-se um laser de hélio-neônio operando na linha de 632,8 nm com potência de 75 mW. Os espectros Raman foram coletados em um intervalo espectral de 20 cm<sup>-1</sup> até 1500 cm<sup>-1</sup>, com 4 acumulações e tempo de aquisição de 60s.

### 4.2.3. Densidade

A massa (M) e o volume (V) são propriedades intrínsecas de um corpo material. A densidade absoluta (ou simplesmente densidade,  $d$ ), ou massa específica ( $\rho$ ) de um corpo homogêneo é a razão entre sua massa M e seu volume V. Ela pode ser expressa em quilograma por metro cúbico ( $\text{kg/m}^3$ ) ou grama por centímetro cúbico ( $\text{g/cm}^3$ ) [46].

A densidade dos vidros é extremamente vulnerável às modificações de composição, podendo fornecer indicações importantes sobre a homogeneidade do vidro e sobre as modificações das configurações estruturais [99].

A densidade foi medida utilizando-se o princípio de Arquimedes em que, primeiramente foi medida a massa da amostra em ar e em seguida foi medida a massa da amostra completamente imersa em um líquido com valor de densidade e temperatura conhecidas. Para esta medida foi utilizado água destilada como líquido de imersão. A densidade do vidro foi obtida por meio da equação 2:

$$\rho_{\text{vidro}} = \frac{m_{\text{ar}}}{m_{\text{ar}} - m_{\text{água}}} * \rho_{\text{água}} \quad (2)$$

na qual,  $m_{\text{ar}}$  é a massa da amostra em ar,  $m_{\text{água}}$  é a massa da amostra imersa em água e  $\rho_{\text{água}}$  a densidade da água.

As medidas de densidade foram realizadas no LEOF II, para tal, utilizou-se uma balança analítica da marca Shimadzu modelo AUW220D com precisão de 0,01 mg.

## 4.3. Propriedades Mecânicas

### 4.3.1. Dureza Vickers

A dureza é a propriedade de um material que lhe permite resistir à deformação plástica, geralmente por penetração. No entanto, o termo dureza também pode referir-se a resistência à flexão, raspagem, abrasão ou corte. A dureza de um vidro é determinada pela força das ligações que o formam a rede e pela sua estrutura [65].

O teste de dureza Vickers emprega um diamante na forma de pirâmide de base quadrada, é classificado como teste de microdureza porque emprega cargas menores do que 9,8N e as indentações resultantes são pequenas e limitadas a uma profundidade de menos de  $19\mu\text{m}$ , sendo possível medir a dureza em pequenas regiões de objetos muito finos [100]. As indentações feitas

são observadas por meio de um Microscópio Ótico, sendo então medidas as diagonais do losango [48]. As medidas são convertidas no equipamento para um índice de dureza por meio da equação 3;

$$HV = 1,854 \frac{P}{d^2} \quad (3)$$

em que HV é a dureza em vickers,  $P$  é a carga e  $d$  é a diagonal do losango.

Para as medidas de Microdureza Vickers deste trabalho utilizou-se um microdurômetro da Shimadzu modelo HMV-G20, localizado na Central Analítica, da Unidade de Preparação e Caracterização dos Materiais (UPCM). Foram realizadas 5 impressões Vickers nas superfícies de cada uma das amostras, utilizando uma carga de indentação de 245,2 mN, durante 5 segundos.

#### 4.4. Bioatividade

##### 4.4.1. Teste *in vitro* SBF (Simulated Body Fluid)

Segundo Kokubo, a primeira condição para um material ser considerado bioativo é a capacidade de formação de uma camada hidroxiapatita (HA) em sua superfície. A capacidade de ligação-óssea de um material é frequentemente avaliada examinando a capacidade de formar apatita na superfície de um material imerso em um simulador do fluido corporal (SBF), que possui concentrações de íons semelhantes às do plasma sanguíneo humano (Tabela 3) [63,101–108]. A análise da formação de apatita sobre um material em SBF é útil para prognosticar sua bioatividade *in vivo*, bem como pode reduzir o número de animais utilizados e a duração dos experimentos com os mesmos. O preparo da solução SBF para os testes de bioatividade é um método delicado e seu procedimento deve seguir uma sequência rígida, caso contrário pode haver a precipitação de sais na solução, o que resulta na sua inutilização [63,73].

Como pode ser observado na tabela 3, o SBF é mais rico em íons  $\text{Cl}^-$  e mais pobre de íons  $\text{HCO}_3^-$  do que o plasma de sangue humano. Oyane et al., em 2003, tentou corrigir esta diferença, preparando um SBF revisado (r-SBF), no qual as concentrações destes íons eram similares ao do plasma sanguíneo humano. Porém, o carbonato de cálcio ( $\text{CaCO}_3$ ) apresentou uma forte tendência em se precipitar neste r-SBF, sendo supersaturado em relação à apatita, e a calcita [63].

**Tabela 3.**Concentrações de íons no SBF, em comparação com plasma sanguíneo humano [63].

Íon	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	pH
Plasma Sanguíneo	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5	7,2-7,4
SBF	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,2	1,0	0,5	7,4

A solução SBF foi preparada seguindo os passos descritos por Kokubo e Takadama [63]. Para os testes de bioatividade, as amostras foram fatiadas, utilizando uma cortadeira com disco diamantado, e em seguida, estas fatias receberam um polimento de suas faces com lixa de granulometria n° 600, para causar ranhuras no material, aumentando assim sua superfície de contato. Em seguida, foram presas em um suporte de polipropileno, sendo imersas no interior de tubos de fundo cônico (tipo Falcon), também em polipropileno, contendo a solução SBF como indicado na Figura 8(a).

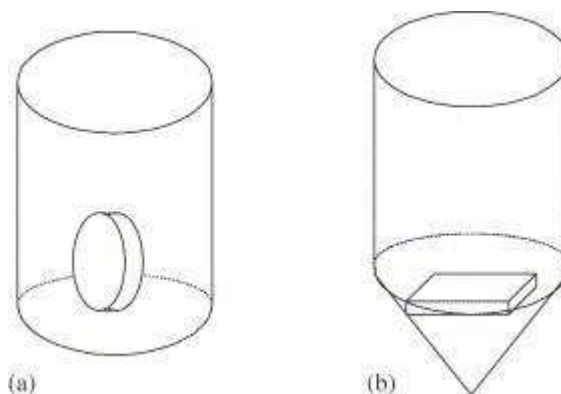
O volume da solução foi calculado de acordo com a Equação 4:

$$V_s = \frac{V_a}{10} \quad (4)$$

Sendo,

Vs: Volume de SBF a ser utilizado (ml);

Va: Área aparente da superfície da amostra (mm<sup>2</sup>).

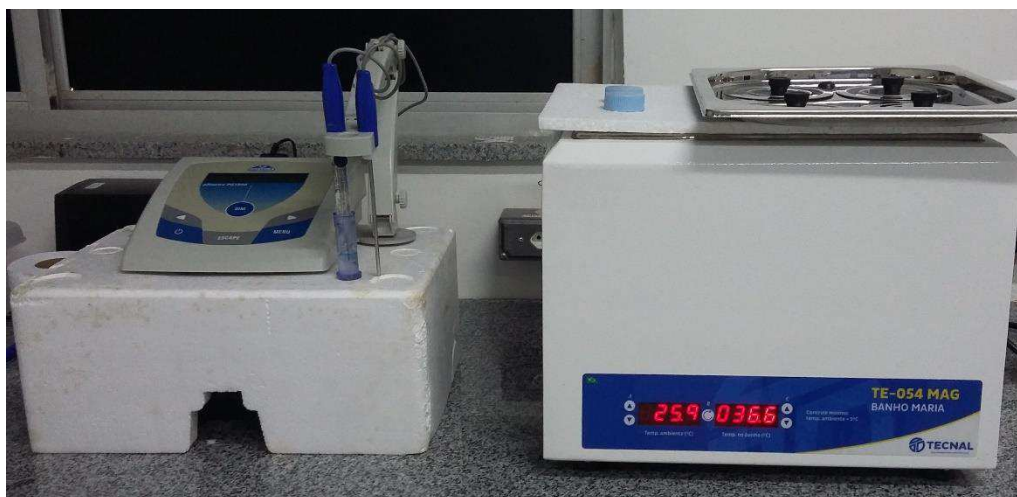


**Figura 8.** Exemplos da posição de amostras em SBF(Kokubo, [63]).

Para materiais porosos, o volume de SBF à ser utilizado deve ser maior do que o Vs calculado.

Os testes foram realizados em temperatura de 36,5 °C em um banho-maria com controle de temperatura (Figura 9). O ensaio foi realizado em períodos de 3 a 28 dias, havendo, um controle sistemático do pH da solução SBF em que as amostras estavam imersas. Decorridos 3 dias, uma fatia de cada amostra foi retirada do SBF e levada para secagem em um dessecador

em vácuo e com sílica gel, por um período de 24h. O mesmo procedimento foi feito nas amostras, para os ensaios feitos para 3, 7, 14, 21 e 28 dias. Em seguida as amostras foram retiradas do dessecador, para realização das medidas de DRX, Espectroscopia Raman e Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), a fim de se verificar o crescimento de apatita em suas superfícies.



**Figura 9.** Medidor de pH e banho maria, respectivamente.

#### 4.4.2. Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma importante ferramenta na caracterização de materiais. Essa técnica se baseia na vibração do átomo, sendo assim, a radiação infravermelha (IV) passa através da amostra, sendo parte da radiação infravermelha absorvida pela amostra e parte dela transmitida. Essa absorção ocorre devido a variação do momento de dipolo elétrico das moléculas, sendo o espectro resultante, a representação da absorção molecular, criando uma “impressão digital molecular” da amostra [109,110].

A técnica FTIR foi utilizada para o estudo da bioatividade dos vidros sintetizados, complementando os resultados encontrados na Espectroscopia Raman e DRX. As medidas foram realizadas no LEOF II, utilizando um espectrômetro da Bruker modelo Vertex 70V, logo após a retirada das amostras do SBF. O pó removido por raspagem das amostras foi disperso em pastilhas de KBr na proporção de 1% de amostra em pastilhas 20 mg. Foi utilizado o modo de análise de absorção, com número de varreduras igual a 16, resolução de  $4\text{cm}^{-1}$ , entre a faixa de  $400$  a  $4000\text{cm}^{-1}$ , em temperatura ambiente.

#### 4.4.3. Medidas de pH

O termo pH é uma abreviação para potencial hidrogeniônico. Este procedimento foi orientado por Soren Peder Lauritz Sorensen (1868-1939) para demonstrar concentrações mínimas de íons hidrogênio em soluções aquosas, sendo definida como  $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$  [111].

O pH pode ser medido usando-se um medidor de pH (pHmetro) que compreende um eletrodo vinculado a um potenciômetro, esse eletrodo quando imerso em uma amostra, produz uma tensão elétrica, ou diferença de potencial, geralmente em milivolts, que por meio do milivoltímetro são convertidos em unidades de pH [111].

A taxa de aumento do pH da solução é controlado pela taxa de precipitação da solução durante a conversão em HA. O  $\text{B}_2\text{O}_3$  forma um vidro com menor durabilidade química, reagindo mais rápido com a solução, de modo que o pH aumenta mais rapidamente, quando comparado com vidros silicatos, como o 45S5 [24].

O processo para formar HA a partir de vidros boratos é bastante diferente do vidro 45S5. O processo de formação do produto da reação foi descrito nas referências [77,112,113], em que os íons  $\text{Na}^+$ ,  $\text{BO}_3^{3-}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  se dissolvem na solução quando o vidro é imerso em solução SBF. Os íons  $\text{Ca}^{2+}$  liberados da superfície do vidro e os íons  $\text{PO}_4^{3-}$  da solução reagiram e depois precipitaram-se formando HA. A continuidade destas reações levam ao espessamento da camada de HA a partir da superfície do vidro para dentro [27,113].

A conversão dos vidros em hidroxiapatita em uma solução SBF é acompanhada por alterações nas concentrações iônicas desta solução. Estas alterações na concentração iônica influenciam o pH da solução, e por isso o pH foi monitorado durante a imersão dos vidros boratos na solução SBF [114].

O valor do pH deste trabalho foi medido durante os 28 dias em que as amostras estavam imersas em SBF, utilizando um pHmetro microprocessado de bancada - PG1800, da marca Gehaka, com uma precisão de pH 0,01, calibrado previamente com solução tampão, sempre em que eram feitas as medidas.



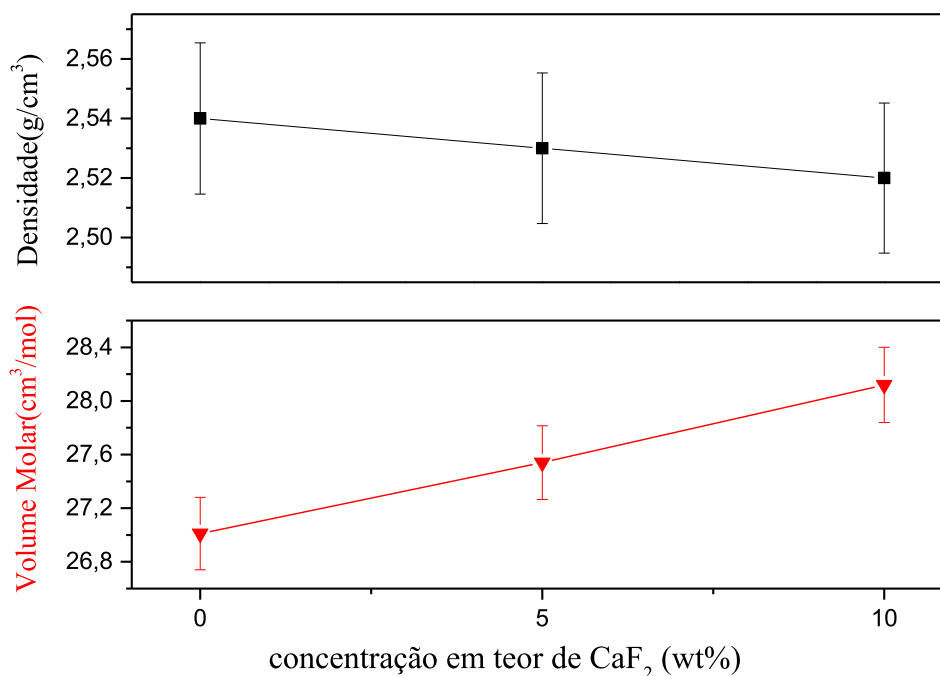
## Capítulo 5 – Resultados e Discussão

Neste capítulo estão apresentados os resultados e a discussão das caracterizações feitas nas amostras, antes da imersão em SBF (secção 5.1) e depois da imersão em SBF (secção 5.2).

### 5.1. Análise das propriedades físicas das amostras antes da imersão

#### 5.1.1. Densidade – Volume molar

Na Figura 10 estão apresentados os dados de densidade ( $\rho$ ) e volume molar ( $V_m$ ) das amostras, em função da concentração de  $\text{CaF}_2$ . As amostras (60B, 60B5CaF e 60B10CaF) apresentaram valores de densidade variando de 2,54 a 2,52  $\text{g}/\text{cm}^3$ , e o volume molar, variando de 27 a 28,12  $\text{cm}^3/\text{mol}$ , em função do teor de  $\text{CaF}_2$ . Embora os valores de densidades das amostras medidas estejam dentro da margem de erro, observa-se que há uma tendência em diminuir, à medida em que se aumenta a concentração de  $\text{CaF}_2$ .



**Figura 10.** Densidade e volume molar das amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF em função da concentração de  $\text{CaF}_2$ .

A tendência à diminuição (embora dentro do erro) na densidade das amostras pode ser explicada pela substituição parcial do CaO por CaF<sub>2</sub> nas amostras, pois, apesar do CaF<sub>2</sub> (78,08 g/mol) possuir massa molar maior que o CaO (56,08 g/mol), a densidade do CaF<sub>2</sub> (3,18 g/cm<sup>3</sup>) [115] é menor que a densidade CaO (3,35 g/cm<sup>3</sup>) [116]. A massa molar foi calculada pela equação  $M_m = \sum X_i M_i$ , em que X<sub>i</sub> é a fração molar e M<sub>i</sub> é a massa molar de cada componente.

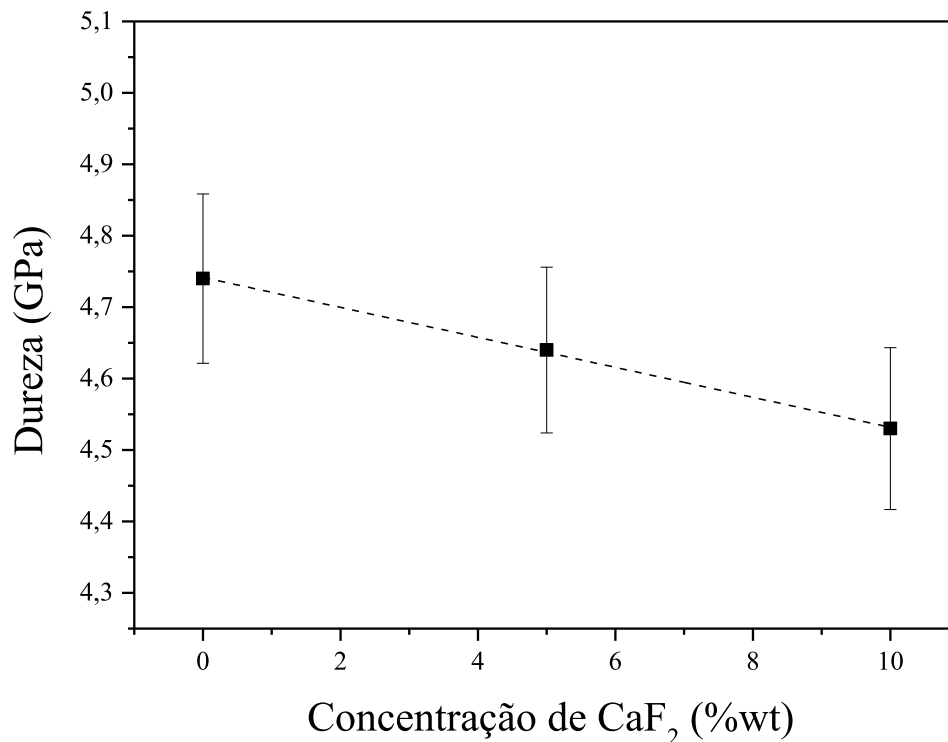
O volume molar apresentado na figura 10 foi calculado pela equação  $V_m = \frac{M_m}{\rho}$ , na qual M<sub>m</sub> é a massa molar e ρ é a densidade. O aumento no volume molar, observado com a adição de CaF<sub>2</sub>, ocorre devido ao aumento da massa molar (M<sub>m</sub>), grandeza diretamente proporcional ao volume e à diminuição da densidade (inversamente proporcional ao volume). Comportamento semelhante ao deste trabalho pode ser observado em outros sistemas vítreos [108,117,118].

### 5.1.2. Dureza Vickers (HV)

Os valores de microdureza Vickers medidos para as amostras de vidro sintetizadas estão apresentadas na figura 11. Assim como observado na densidade, é possível verificar uma pequena tendência de decréscimo em seu valor, embora dentro da margem de erro, a medida que a concentração de CaF<sub>2</sub> aumenta.

A amostra 60B, sem CaF<sub>2</sub>, apresentou uma dureza de 4,74 GPa, as amostras com 5% e 10% de CaF<sub>2</sub> (60B5CaF e 60B10CaF), apresentaram dureza de 4,64 e 4,53 GPa respectivamente. Isto corresponde a um decréscimo de 4,45% na dureza entre a amostra 60B e a 60B10CaF.

Para fins de comparação, o Bioglass 45S5, também preparado neste trabalho, apresentou uma dureza de 4,45 GPa, o qual concorda com os dados da literatura (4,48 GPa ou 458 HV) [51]. Portanto, os vidros boratos sintetizados apresentaram uma dureza ligeiramente maior em comparação com o 45S5. De modo geral, vidros óxidos, apresentam dureza variando de 2 a 8 GPa [65].



**Figura 11.** Microdureza para as amostras, em função da concentração de CaF<sub>2</sub>.

Materiais com alta dureza têm boa resistência ao risco e ao desgaste, porém esta característica pode ocasionar problemas na sua usinabilidade. Biomateriais com menor dureza são mais indicados na produção de implantes ósseos por apresentarem uma boa usinabilidade, facilitando a obtenção da forma mais apropriada à adequação do implante ao tecido a ser reabilitado [119]. Os valores da dureza para ossos humano novo está entre 0,049 GPa e 0,579 GPa [120,121], os valores para o esmalte do dente humano  $4,88 \pm 0,35$  GPa, valor muito próximo dos vidros preparados nesse trabalho, e  $0,92 \pm 0,11$  GPa para a dentina [122].

### 5.1.3. Análise térmica

#### 5.1.3.1 Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)

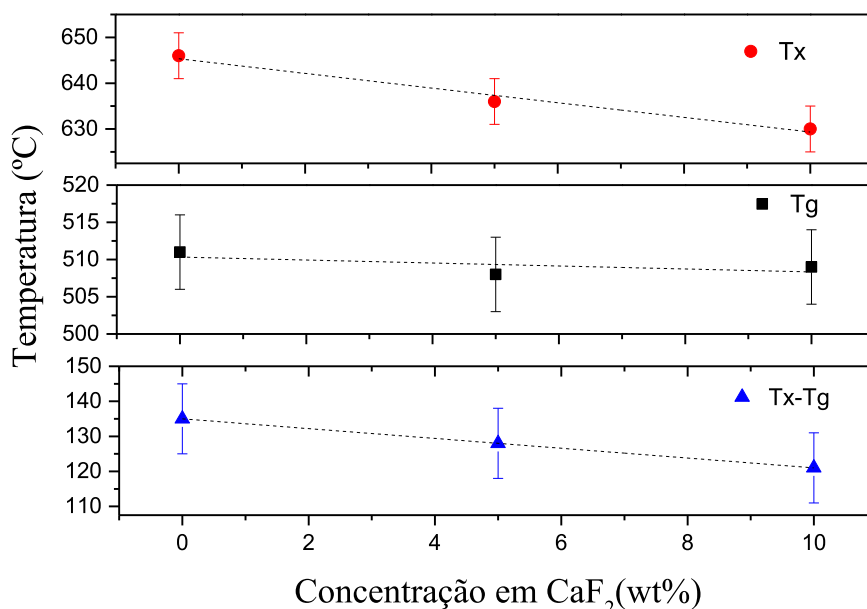
Na Tabela 4 estão apresentados os valores das temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ), temperaturas de início de cristalização ( $T_x$ ) e o parâmetro de estabilidade térmica ( $T_x - T_g$ ), para

as amostras dos vidros boratos 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, obtidos por DSC. Os mesmos dados estão dispostos em gráficos na figura 12.

**Tabela 4.** Valores da temperatura de transição vítrea ( $T_g$ ), da temperatura de início de cristalização ( $T_x$ ) e parâmetro de estabilidade térmica ( $T_x - T_g$ ) para as amostras de vidros bioativos.

Amostra	$T_g$ (°C) (±5)	$T_x$ (°C) (±5)	$T_x - T_g$ (°C) (±10)
<b>60B</b>	511	646	135
<b>60B5CaF</b>	508	636	128
<b>60B10CaF</b>	509	630	121

Pode ser observado na figura 12, que ocorre uma diminuição na  $T_x$ , a medida em que se aumenta a concentração de  $\text{CaF}_2$ , visto que a amostra 60B apresentou uma  $T_x$  de  $\sim 646^\circ\text{C}$  e as amostras 60B5CaF e 60B10CaF, apresentaram  $T_x$  de  $\sim 636^\circ\text{C}$  e  $630^\circ\text{C}$ , respectivamente. Também na figura 12, observa-se que não houve uma alteração significativa na  $T_g$  das amostras em função da concentração de  $\text{CaF}_2$ , uma vez que a amostra 60B, sem  $\text{CaF}_2$ , apresentou uma  $T_g$  de  $\sim 511^\circ\text{C}$ , e as amostras com  $\text{CaF}_2$ , 60B5CaF e 60B10CaF apresentaram  $T_g$  de  $\sim 508^\circ\text{C}$  e  $\sim 509^\circ\text{C}$ , respectivamente, encontrando-se portanto dentro da margem de erro.



**Figura 12.**  $T_g$ ,  $T_x$  e estabilidade térmica ( $T_x - T_g$ ) das amostras em função da concentração de  $\text{CaF}_2$ .

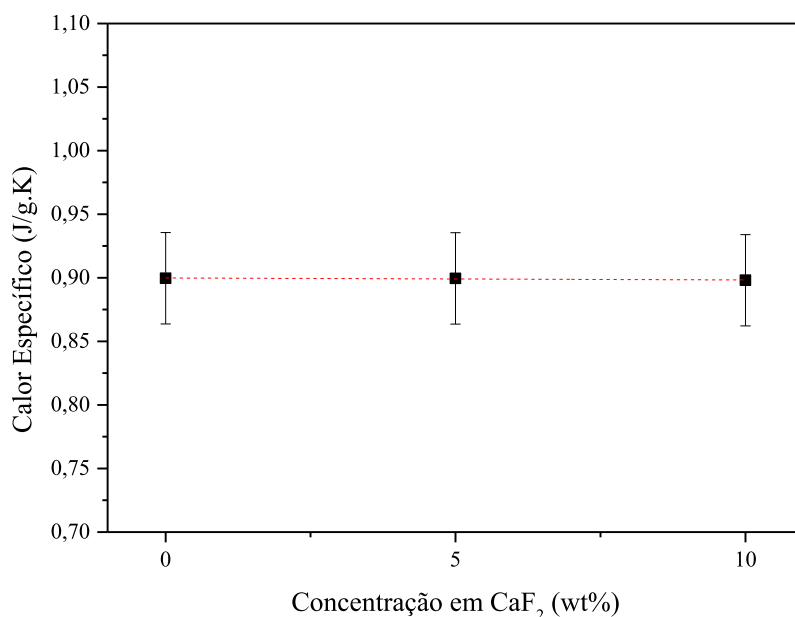
Brauer et al. estudou a influência de  $\text{CaF}_2$  no sistema  $\text{SiO}_2 - \text{P}_2\text{O}_5 - \text{CaO} - \text{Na}_2\text{O}$ , no qual variou o  $\text{CaF}_2$  em quantidades crescentes (0 a 25,54% molar), mantendo a proporção de

formadores e modificadores de rede constante. Ele observou que as temperaturas de transição vítrea e cristalização do vidro diminuíram com o aumento do teor de fluoreto, sendo que a  $T_g$  variou de 494 a 373°C e a  $T_x$  de 580 a 490°C [33]. Em nossas amostras, embora haja uma tendência de diminuição da  $T_g$ , ela encontra-se dentro da margem de erro da medida. Já a  $T_x$  teve um comportamento semelhante ao encontrado por Brauer et al. Deve-se observar ainda que, as quantidades de  $\text{CaF}_2$  (0 a 8,83% molar) em nossas amostras são menores que as utilizadas nas amostras de Brauer et al.. Este comportamento, de redução da temperatura de início de cristalização é, de fato, esperado devido à propriedade do  $\text{CaF}_2$  de causar quebra de ligações, o que resulta em diminuição da temperatura de início de cristalização [84,123].

Também na figura 12 observamos que os valores de estabilidade térmica ( $T_x - T_g$ ) das amostras, apesar de se encontrarem dentro da margem de erro, apresentam uma tendência à diminuição com o aumento do teor de  $\text{CaF}_2$ . No entanto, mesmo com essa tendência de diminuição, todas as amostras apresentam uma estabilidade térmica acima de 120°C, sendo que valores superiores a 70°C são indicadores de boa estabilidade térmica [124]. A estabilidade térmica, ou estabilidade vítrea, é definida como a resistência do vidro à cristalização quando reaquecido [125]. Altos valores da estabilidade térmica são desejáveis em materiais para aplicações biomédicas e odontológicas, facilitando a obtenção de peças de tamanhos e formas específicas, sem que ocorra cristalização do material.

#### 5.1.3.2. Calor específico

Os resultados obtidos para as análises de calor específico das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, são apresentados na Figura 13. Cada um dos valores apresentados é resultado de uma média de 18 curvas, as quais foram realizadas em 3 medidas de 6 curvas, com o objetivo de reduzir o erro da medida. Não houve variação dos valores de calor específico das amostras, em função do teor da concentração de  $\text{CaF}_2$ . Todas as amostras apresentaram calor específico de  $\sim 0,89 (\pm 0,04) \text{ J/g.K}$ .



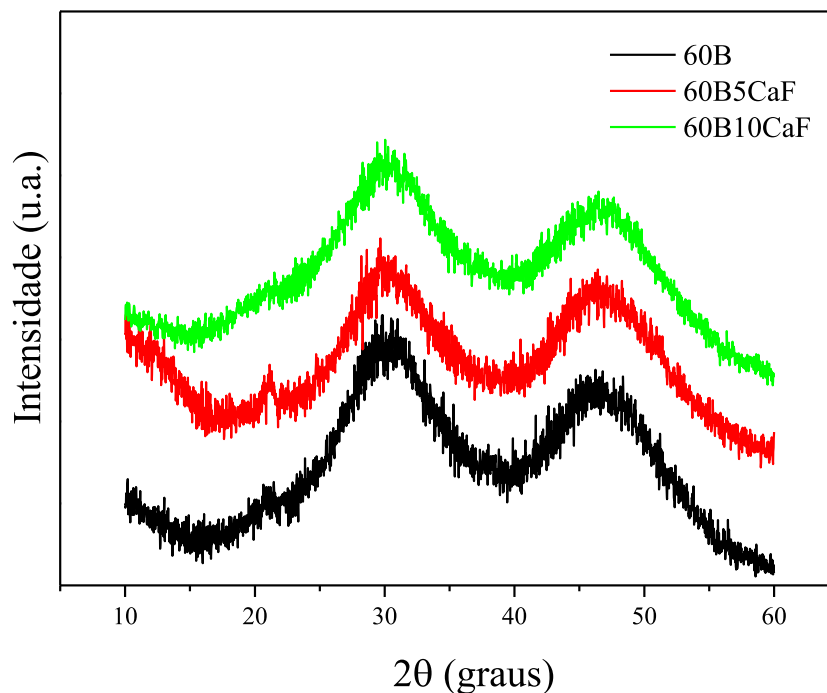
**Figura 13.** Calor específico das amostras em função da concentração de CaF<sub>2</sub>.

Mudanças no calor específico em vidros, quando por substituição ou dopagem, são indicativos de mudanças na conectividade da rede vítrea. Uma redução no calor específico, por exemplo, indica que durante a dopagem, ou substituição, houve a formação de unidades estruturais que vibram mais facilmente quando aquecidas, sugerindo um enfraquecimento das ligações e diminuição da conectividade da rede vítrea [126]. Da mesma forma, os valores da T<sub>g</sub>, medidos por DSC, são frequentemente utilizados para estudar mudanças na conectividade da rede vítrea.

Desta maneira, a ausência de mudanças significativas no valores da T<sub>g</sub> e do calor específico sugere que não houve grandes mudanças na conectividade da rede das amostras, até a concentração de 10% em massa de CaF<sub>2</sub>.

#### 5.1.4. Difração de Raios-X (DRX)

Os difratogramas de raios-X, dos vidros antes da imersão em SBF, são mostrados na figura 14. Todas as amostras analisadas apresentaram duas bandas em  $2\theta \sim 29^\circ$  e  $2\theta \sim 47^\circ$ , as quais são características de vidros boratos. Para essas bandas observa-se uma ampla dispersão difusa em ângulos pequenos, característicos de materiais que não apresentam periodicidade a longo alcance, o que demonstra que os vidros têm uma estrutura completamente amorfa [24,79].

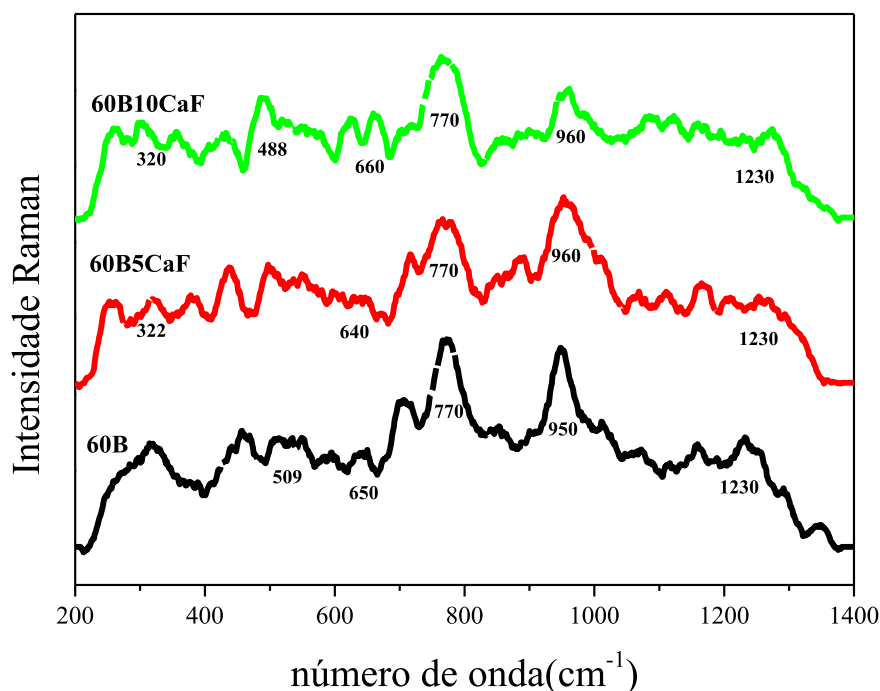


**Figura 14.** Difratogramas de raios-X das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, antes da imersão em SBF.

A confirmação da estrutura amorfa para estes materiais é importante, visto que a presença de fases cristalinas geralmente reduz a bioatividade, por serem mais estáveis e menos degradáveis quando comparadas com sistemas amorfos [35]. É observável que os difratogramas das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, são semelhantes, indicando que a presença de  $\text{CaF}_2$  em suas composições, não alterou significativamente as estruturas das amostras.

#### 5.1.5. Espectroscopia Raman

Os espectros Raman das amostras de vidros borato sintetizadas, antes da imersão em SBF, são apresentados na figura 15.



**Figura 15.** Espectros Raman das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, antes da imersão em SBF.

Podemos observar uma banda intensa específica centrada em  $\sim 770\text{ cm}^{-1}$ , em todas as amostras. A banda em  $\sim 770\text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída a vibrações simétricas em anéis de seis elementos com um tetraedro  $\text{BO}_4$  (triborato, tetraborato ou pentaborato) ou dois tetraedros  $\text{BO}_4$  (diborato, triborato ou dipentaborato) [127–132]. A presença simultânea de bandas em 770,  $\sim 950$  e 660 e 500  $\text{cm}^{-1}$ , são indicativos da presença de grupos pentaborato [131].

A análise espectral das amostras e suas devidas atribuições estão apresentadas na tabela 5.

**Tabela 5.** Atribuições feitas para os espectros Raman referentes à Figura 15.

Centro da banda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
320, 322	Ligação parcialmente covalente entre Ca –F [40]
488, 498, 509	Vibrações B-O-B simétricas tipo <i>stretching</i> em unidades $\text{BO}_4$ [131]
770	Estiramento B-O de unidades $\text{BO}_4$ em cadeias e anéis pentaboratos [131]
950, 960	Estiramento B-O de $\text{BO}_4^-$ em grupos diboratos [131]
1230	Relaxação assimétrica tipo <i>stretching</i> em ligações B-O de unidades trigonais $\text{BO}_3$ .

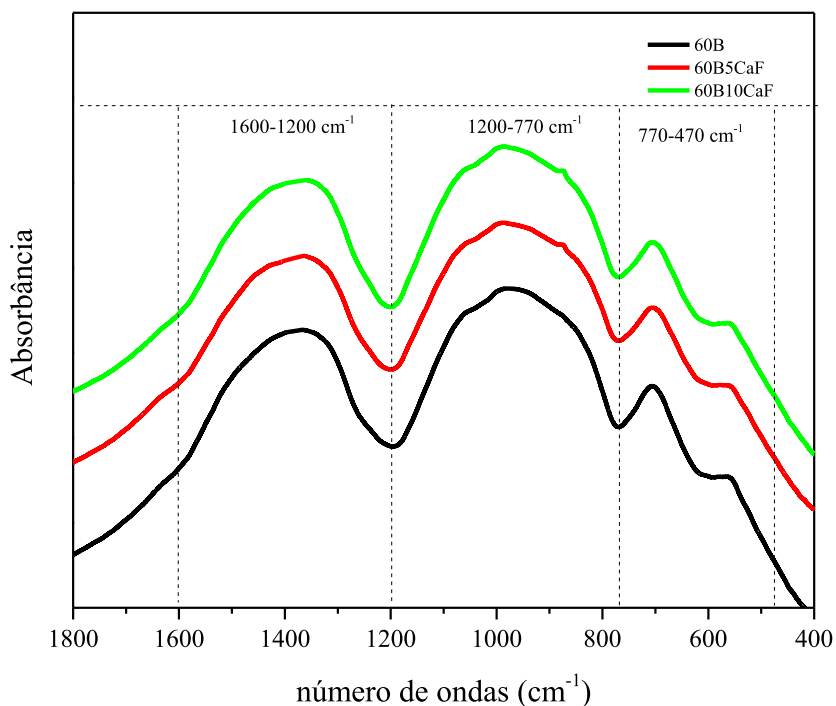


Outra banda bem evidente é observada nos vidros 60B, 60B5CaF e 60B10CaF, em  $\sim 950, 960$  e  $960 \text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Em vidros boratos, bandas centradas entre  $930$  e  $1050 \text{ cm}^{-1}$  também são atribuídas à presença de grupos de diborato (Tabela 5) [131]. Alguns autores assumem as bandas dentro do intervalo de  $400\text{-}580 \text{ cm}^{-1}$  para representar as vibrações dos cátions modificadores ( $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$ ) nos respectivos locais dentro da estrutura da rede [101,133]. Em todas as amostras podemos observar uma banda larga na região entre  $1100\text{-}1300 \text{ cm}^{-1}$ , centradas em  $\sim 1230 \text{ cm}^{-1}$ . Esta banda é atribuída a presença de unidades trigonais  $\text{BO}_3$  conectados assimetricamente [134].

Observa-se também que os espectros das amostras 60B5CaF e 60B10CaF, apresentam comportamentos semelhantes, ao da amostra 60B, o que demonstra que a presença de  $\text{CaF}_2$  em suas composições, não alterou significativamente as estruturas das amostras.

#### 5.1.6. Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR das amostras antes da imersão em SBF são apresentados na figura 16.



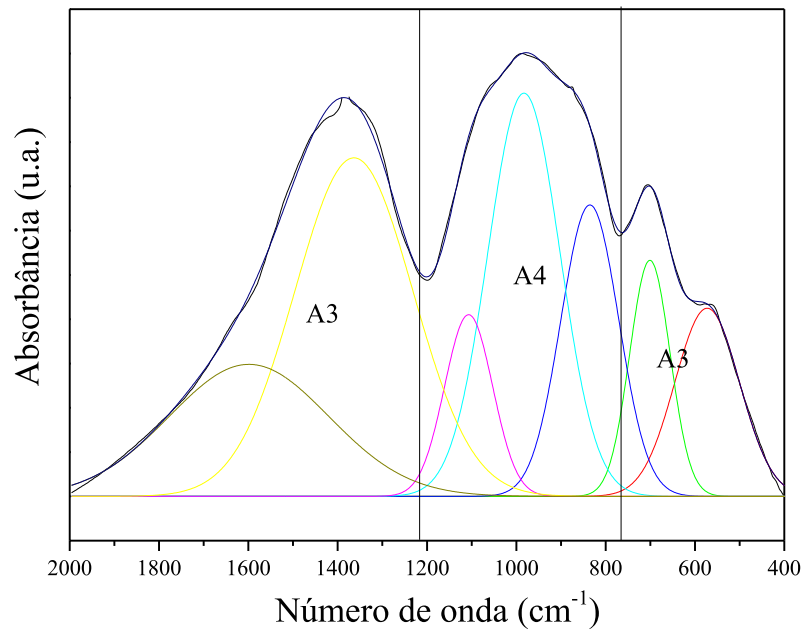
**Figura 16.** FTIR das amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF antes da imersão em SBF.

Analisando o espectro de FTIR dos vidros boratos (figura 16), observamos uma banda centrada em  $\sim 550 \text{ cm}^{-1}$ , que é atribuída aos modos internos do íon  $\text{PO}_4^{3-}$  [128]. O pico centrado em  $700 \text{ cm}^{-1}$  é atribuído a combinação de deformações angulares das ligações B-O-B na rede dos boratos e dos oxigênio ligados em grupos  $\text{BO}_3$  [98,109,129,135]. A banda de  $770\text{-}1200 \text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída às vibrações do tipo *stretching* dos grupos tetraédricos  $\text{BO}_4$ . A banda de  $1200\text{-}1600 \text{ cm}^{-1}$  pode ser atribuída às vibrações do tipo *stretching* em ligações B-O em unidades trigonais  $\text{BO}_3$ . Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura [101,112,133,136–139]. A análise das bandas e suas devidas atribuições estão apresentadas resumidamente na tabela 6.

**Tabela 6.** Atribuições feitas para FTIR referentes à Figura 16.

Centro da banda ( $\text{cm}^{-1}$ )	Atribuição
550	Modos internos do íon $\text{PO}_4^{3-}$ [140].
700	Combinação de deformações angulares das ligações B-O-B e de oxigênios ligados em grupos $\text{BO}_3$ [101,112,136].
871	Vibrações B-O-B simétricas tipo <i>stretching</i> em unidades $\text{BO}_4$ [101,112,136].
1059	Vibrações B-O tipo <i>stretching</i> em unidades $\text{BO}_4$ para grupos tri, tetra e pentaborato [101,112,136].
1385	Vibrações B-O tipo <i>stretching</i> em unidades $\text{BO}_3$ em vários anéis de borato [101,112,136].
1510	Relaxação assimétrica tipo <i>stretching</i> em ligações B-O <sup>-</sup> de unidades trigonais $\text{BO}_3$ [101,112,136].

Para verificar se a adição do  $\text{CaF}_2$  provocou mudanças na estrutura dos vidros, foi calculada a fração de átomos de boro com quatro coordenações ( $\text{N}_4$ ) (figura 18), para as três amostras. Funções gaussianas foram utilizadas para ajustar os espectros de FTIR das amostras, conforme mostra a figura 17, em que A4 e A3 indicam as áreas das bandas referentes às unidades  $\text{BO}_4$  e às unidades  $\text{BO}_3$ , respectivamente.

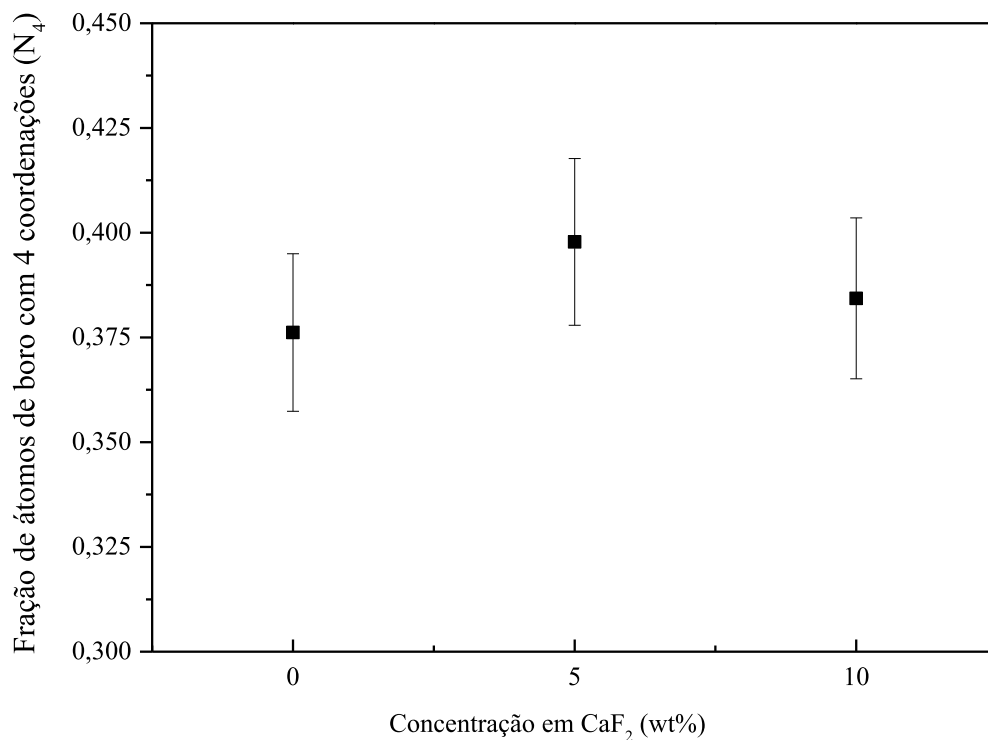


**Figura 17.** Deconvolução do espectro FTIR das amostras de vidro borato.

A razão de unidades de borato  $N_4$  foi calculada de acordo com a equação (5) [135]:

$$N_4 = \frac{A_4}{A_4 + A_3} \quad (5)$$

Na figura 18, observamos os valores calculados de  $N_4$ . Pode-se observar que não há uma variação significativa no número de unidades  $BO_4$  com o aumento da concentração de  $CaF_2$ . Este resultado está de acordo com os resultados já apresentados de DRX, Raman e pela análise térmica ( $T_g$  e  $c_p$ ), que indicam que o  $CaF_2$  não altera significativamente as estruturas das amostras com até 10%, em massa, de  $CaF_2$ .



**Figura 18.** Fração de átomos de boro com quatro coordenações ( $N_4$ ), em função da concentração de  $\text{CaF}_2$ .

## 5.2 – Análise da bioatividade das amostras após a imersão no SBF

Para análise da bioatividade, as amostras foram imersas em SBF, durante intervalos temporais de 3, 7, 14, 21 e 28 dias.

Após as primeiras 24 horas de imersão das amostras em SBF, foi possível observar (inspeção visual) uma deposição branca nas superfícies das amostras de vidro borato. No decorrer dos 28 dias, essa nucleação apresentou um crescimento progressivo, tornando-se mais espessa e totalmente branca em todas as amostras a base de boro sintetizadas (Figura 19).



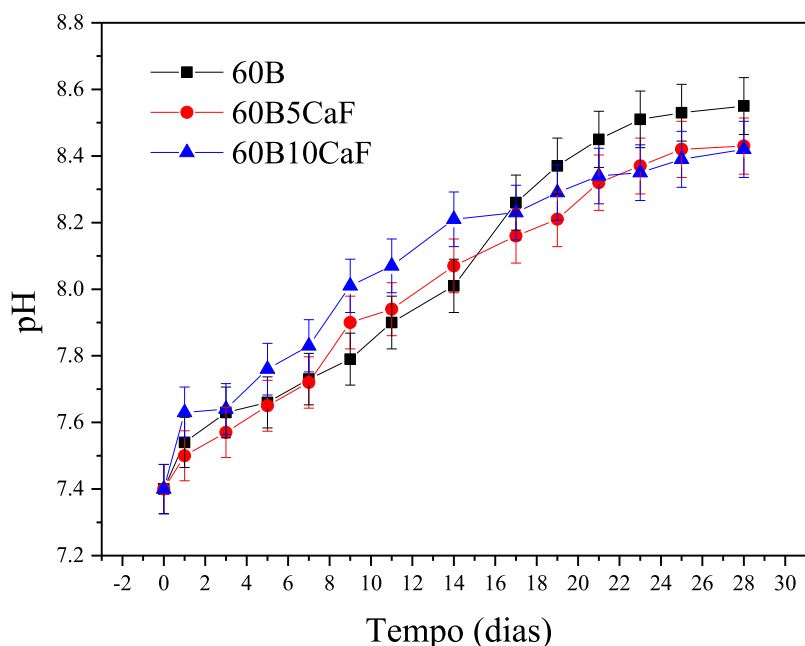
**Figura 19.** Foto da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF. Da esquerda para a direita, Antes da Imersão, pós imersão por 7 dias, 21 dias e 28 dias.

Durante todo o período foram feitas medidas do pH da solução SBF em que as amostras estavam imersas. Após a retirada das amostras da solução SBF, foram realizadas medidas de Difração de raios X (DRX), Espectroscopia Raman e Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), a fim de se verificar o crescimento de apatita na superfície das amostras.

#### 5.2.1. Medidas de pH

A formação de apatita no vidro imerso em SBF é fortemente dependente do pH da solução. O pH do SBF em que as fatias de vidro foram imersas foi medido durante os 28 dias de imersão, para todas as amostras, e tinha um valor inicial de 7,4. Na Figura 20 estão apresentados os dados de pH da solução SBF em que as amostras estavam imersas, durante os respectivos períodos. Observa-se que, o pH do SBF aumenta ao longo do tempo para todas as amostras. Este aumento na alcalinidade da solução favorece a formação de apatita nas amostras vítreas.

Durante o período de imersão, o pH medido da solução SBF em que a amostra 60B estava imersa, variou entre 7,4 e 8,55, para a amostra 60B5CaF entre 7,4 e 8,43 e para a 60B10CaF de 7,4 para 8,42, apresentando todas as soluções um caráter de neutro a alcalino [87,112,114,141]. Observa-se, para todas as amostras, um aumento aproximadamente linear dos valores de pH até o décimo quarto dia, havendo a partir daí um comportamento com tendência de saturação até o vigésimo oitavo dia. Resultados semelhantes foram encontrados por Brauer et al.[87]. Este aumento nos valores de pH do SBF podem ser atribuídos à rápida liberação dos íons alcalinos ( $\text{Na}^+$ ;  $\text{K}^+$ ) a partir do vidro [114].

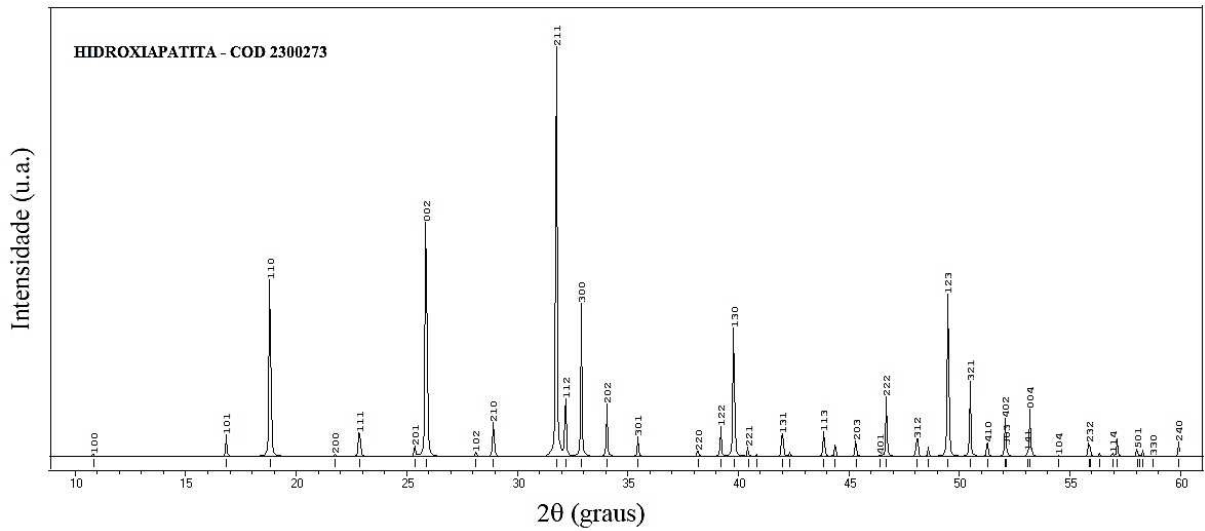


**Figura 20.** Medidas de pH para as amostras 60B,60B5CaF e 60B10CaF, no período de 28 dias.

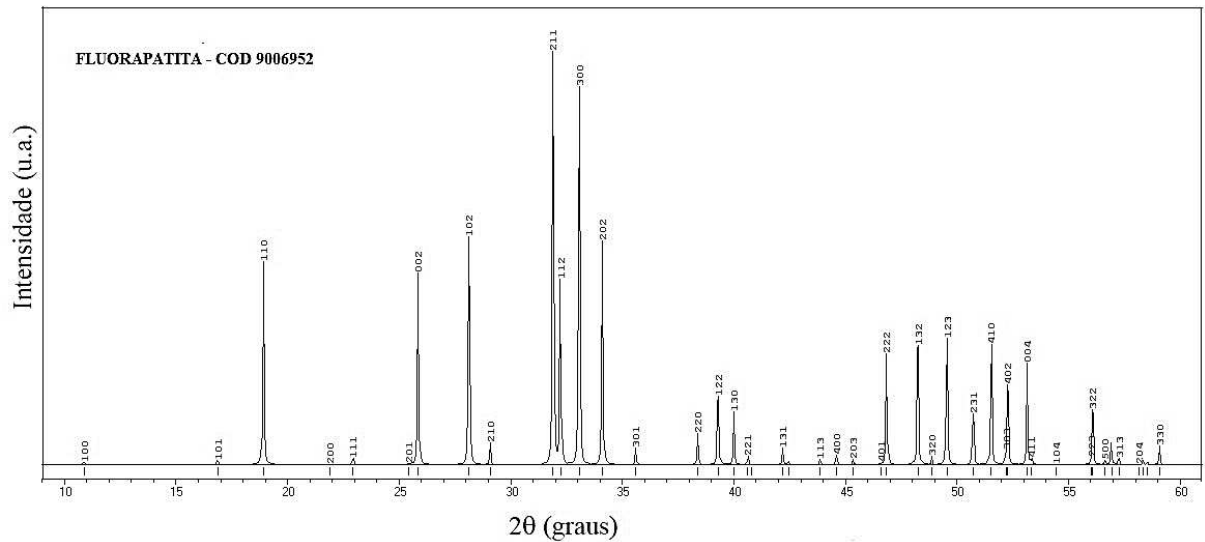
Medidas de mudança de pH durante a imersão em SBF sugerem que as espécies  $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$  e  $\text{H}_2\text{O}$  do SBF reagem com a rede de vidro e são trocadas por íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  provenientes desta rede, o que contribui para o aumento do pH da solução. Similarmente, íons  $\text{F}^-$  podem ser trocados por íons  $\text{OH}^-$ . Esta remoção de íons hidroxila da solução e fornecimento de íons fluoreto da amostra, diminuem a liberação de íons alcalinos, de modo que, com o aumento do teor de fluoreto no vidro, espera-se uma atenuação no aumento do pH [87]. Como pode ser observado na Figura 20, a partir do décimo terceiro dia há uma tendência de saturação nos valores de pH para os vidros com a presença de fluoreto nas composições, mais acentuada, do que para o vidro 60B. Mas, embora esta tendência fique aparente, essa variação se encontra dentro da margem de erro da medida.

### 5.2.2. Difração de Raios X pós-imersão em SBF

Os difratogramas dos vidros boratos 60B, 60B5CaF e 60B10CaF antes da imersão e depois da imersão em SBF por 3, 7, 14, 21 e 28 dias, apresentam-se nas figuras 23, 24 e 25 respectivamente. As análises foram feitas a fim de estabelecer uma comparação com os padrões de DRX, existentes nos bancos de dados, para hidroxiapatita e fluorapatita (FA), figuras 21 e 22, respectivamente.

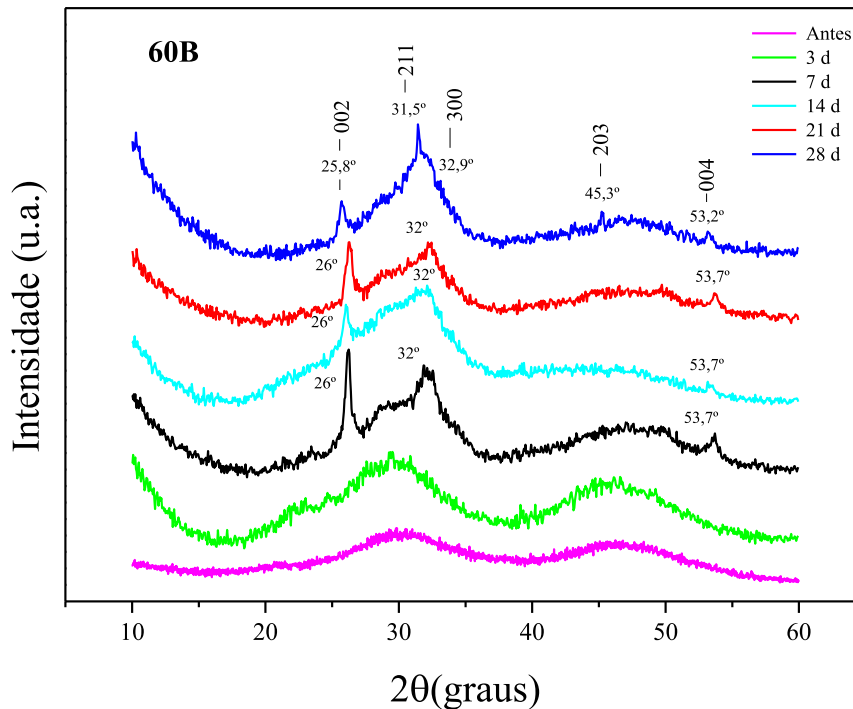


**Figura 21.** Padrão de DRX para a Hidroxiapatita (Adaptado[142]).



**Figura 22.** Padrão de DRX para a Fluorapatita ( FA) (Adaptado[143]).

Nos difratogramas das três amostras (figuras 23, 24 e 25), é possível observar o surgimento de picos estreitos sobre as bandas amorfas, para todos os intervalos de tempo de imersão medidos, demonstrando que, presumivelmente, foram formadas camadas de apatita em suas superfícies. Os principais picos apresentados nos difratogramas das amostras, coincidem com o difratograma referente ao padrão de HA (Figura 21), o que indica que houve o crescimento de HA, na superfície das amostras. Os vidros imersos apresentaram picos mais largos e menos intensos do que os da HA padrão (Figura 21), indicando que a HA formada foi pobremente cristalizada, em comparação com o padrão (HA cristalina), ou que os cristalitos da HA formada estava em uma escala de nanômetros [24].

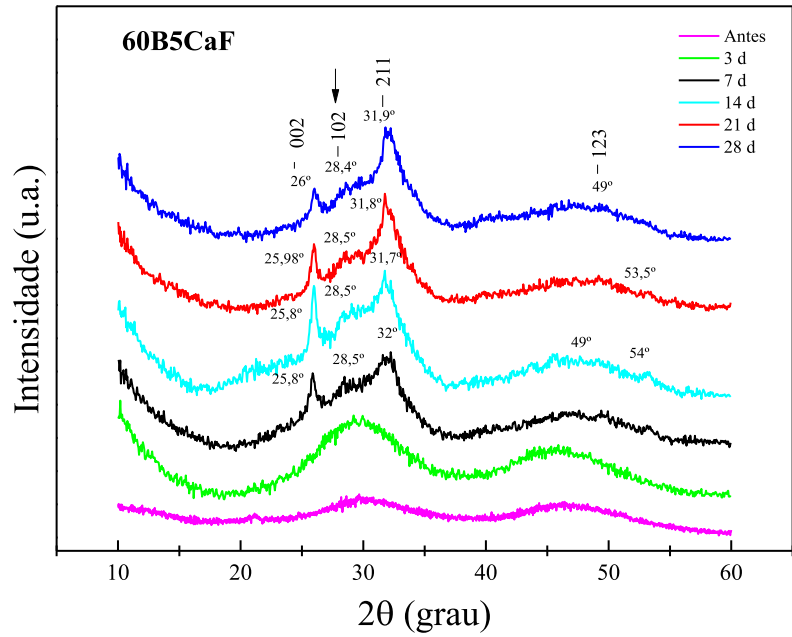


**Figura 23.** Difratomogramas da amostra 60B antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias).

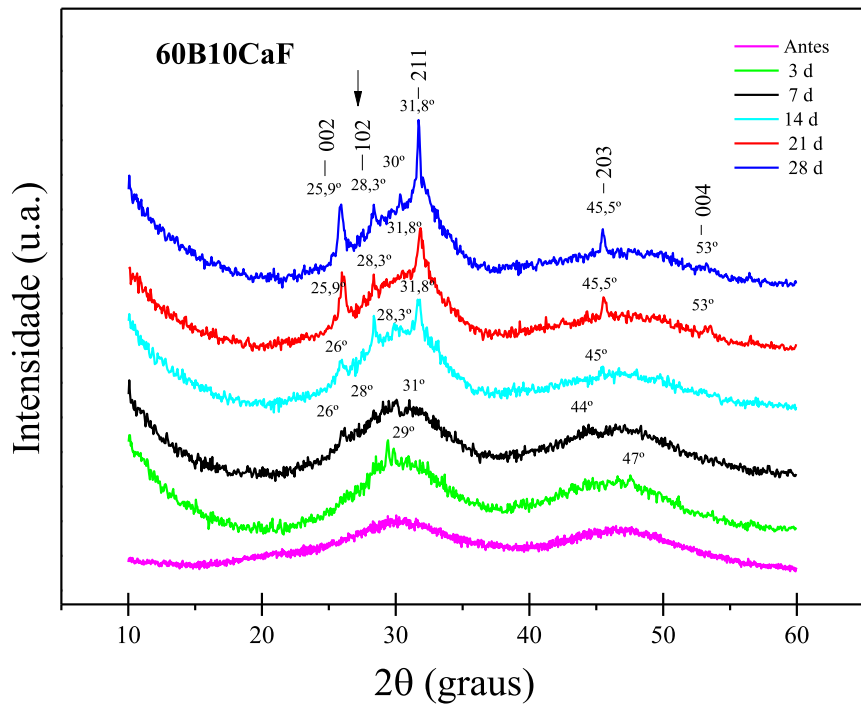
Para a amostra 60B (Figura 23), já há diferença entre o difratograma da amostra imersa em SBF por 3 dias, e o da amostra não imersa; percebe-se a formação de pequenos picos em  $29^\circ$  e  $32^\circ$   $2\theta$ , indicando a presença de apatita. Em 7 dias, nota-se a formação de picos cristalinos intensos em  $\sim 26^\circ$ ,  $32^\circ$  e  $53,7^\circ$   $2\theta$ , que correspondem aos planos cristalinos 002, 211 e 004, respectivamente. Nos ensaios para 14, 21 e 28 dias, os picos e planos em  $26^\circ$  (002) e  $53,7^\circ$  (004)  $2\theta$  permanecem com boa definição, havendo pequenas variações de intensidade, enquanto o pico em  $32^\circ$   $2\theta$  se tornou mais intenso e estreito. Em 28 dias houve o surgimento de um novo pico em  $45^\circ$   $2\theta$ . Todos os picos e planos cristalinos observados coincidem com os picos e planos de formação da hidroxiapatita encontrados na literatura (Figura 21) [5,6,76,77,81,144,145], o que demonstra que houve uma interação efetiva entre a amostra e a solução de SBF, havendo crescimento de hidroxiapatita nas suas faces, demonstrando a bioatividade desse biomaterial [53,78].

Várias publicações investigam a capacidade dos vidros bioativos, contendo flúor, em formar HA e FA em SBF [31–33,35–37,101]. Eles atribuem os picos de DRX em  $25,9^\circ$ ,  $28^\circ$ ,  $31,9^\circ$ ,  $33,1^\circ$  e  $32,3^\circ$   $2\theta$  para a FA (Figura 22). Lusvardi et al. [86] por exemplo, observou que a substituição parcial de CaO por CaF<sub>2</sub> leva a um aumento na taxa de formação de apatita, resultando na formação de fluorapatita.





**Figura 24.** Difratoigramas da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias).



**Figura 25.** Difratoigramas da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3-28 dias).

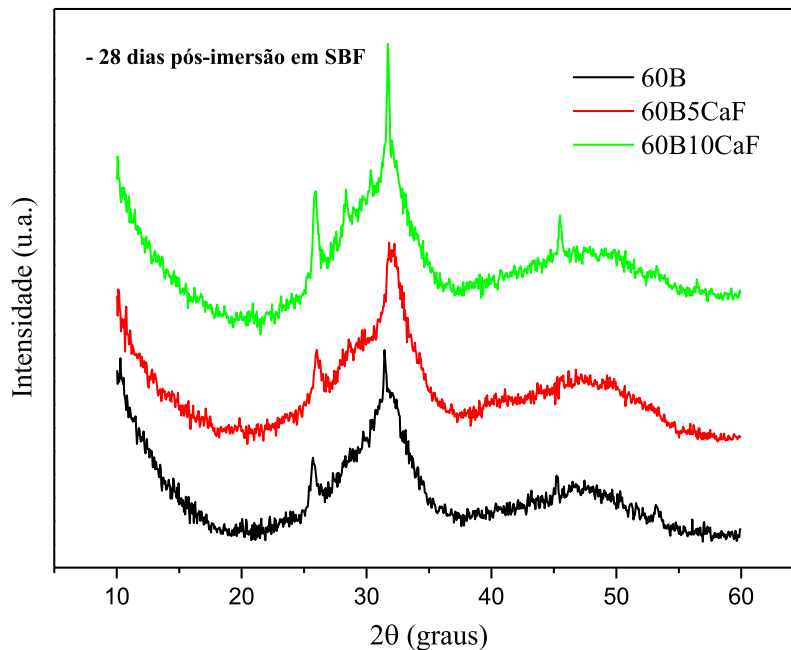
Para as amostras vítreas com adição de  $\text{CaF}_2$ , 60B5CaF (Figura 24) e 60B10CaF (Figura 25), percebe-se a diferença entre os difratogramas das amostras antes e após a imersão por 3 dias em SBF, nos quais existem pequenos picos em  $29^\circ 2\Theta$ , em ambas as amostras, e em  $47^\circ 2\Theta$  na amostra 60B10CaF, o que indica a presença de apatita. Para o período de 7 dias de imersão, a amostra 60B5CaF (Figura 24) apresentou picos e planos cristalinos em  $25,8^\circ$  (002);  $28,5^\circ$ (102);  $31,9^\circ$ (211);  $49^\circ$  (123) e  $54^\circ 2\Theta$  (004). Nos ensaios para 14 e 21 dias, os picos cristalinos se tornaram mais estreitos e intensos. Para o difratograma referente a 28 dias, os picos estão presentes, mas com menos definição, o que pode ser devido à perda de parte da camada formada durante a medida.

A amostra 60B10CaF (Figura 25), no período de 7 dias, apresenta picos e planos cristalinos em  $26^\circ$  (002);  $28^\circ$  (102);  $31^\circ$  (211) e  $44^\circ 2\Theta$  (203); estes picos se tornam mais estreitos e intensos nos ensaios para 14, 21 e 28 dias, nos quais nota-se a formação de novos picos em  $27^\circ$ ,  $29,9^\circ$ ,  $31,8^\circ$  e  $45^\circ 2\Theta$  para 14 dias,  $45,5^\circ$  e  $53^\circ 2\Theta$  para 21 dias. Nos padrões de DRX para 28 dias, nota-se a presença de picos e planos cristalinos com maior intensidade e em  $25,9^\circ$  (002);  $28,4^\circ$ (102);  $30^\circ$ ;  $31,7^\circ$  (211) e  $45,5^\circ$ (203) para a amostra 60B10CaF.

Os picos observados, tanto para a amostra 60B5CaF, quanto para a 60B10CaF, coincidem com o padrão apresentado para a HA (Figura 21) e para FA (Figura 22), indicando que houve o crescimento dos dois tipos de apatita, na superfície das amostras. Contudo, os picos são largos, quando comparados com as apatitas cristalinas, isto é típico para as apatitas precipitadas de vidro imersos em SBF [85–87,102,145,146]. Este fato é similar ao observado por Kamal [147], para vidros borato de composição (48.63  $\text{B}_2\text{O}_3$ , 22.92  $\text{Na}_2\text{O}$ , 22.86  $\text{CaO}$ , 5.59  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) wt%, adicionados de 1, 2, 4 e 10 wt% de  $\text{Ag}_2\text{O}$ , imersos em SBF por 21 dias.

Quando comparamos os difratogramas das amostras de Kamal aos nossos, em igual período, observamos que estes apresentam picos amplos e pouco intensos, indicando pequenas concentrações de HA. É importante ressaltar que as amostras preparadas com fluoreto de cálcio, além de apresentarem HA, também apresentam FA, fato este, evidenciado pela presença do pico e plano cristalino em  $28^\circ 2\Theta$  (102), já que este pico é apenas observado no padrão para a FA (Figura 22), não sendo observado no padrão para a HA (Figura 21).

Na figura 26 apresentamos os difratogramas de todas as amostras que foram imersas em SBF, pelo período de 28 dias.



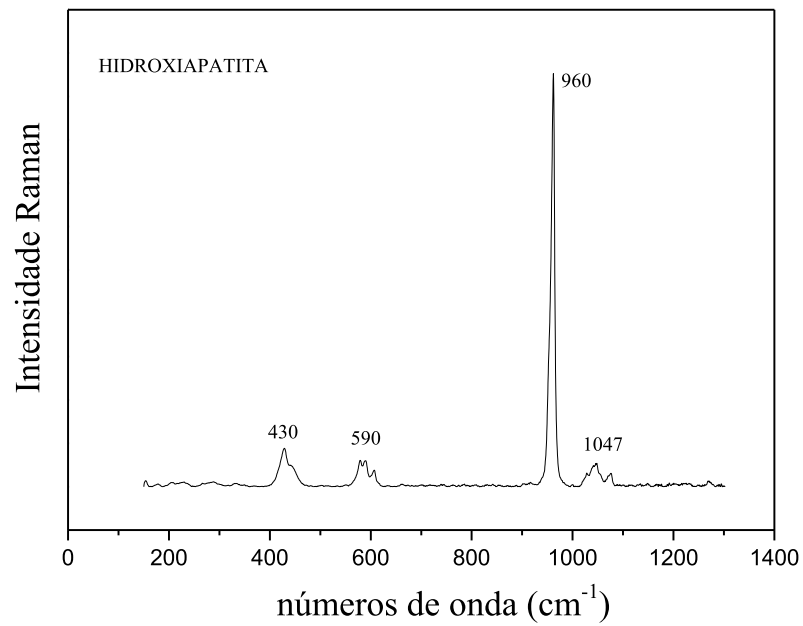
**Figura 26.** Difratograma das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias.

É possível verificar que os picos cristalinos foram mais estreitos e intensos na amostra 60B10CaF, que possui 10 %, em massa, de fluoreto de cálcio em sua composição. Este resultado indica uma melhor conversão do vidro em apatita (FA e HA) para a amostra com maior concentração de  $\text{CaF}_2$ .

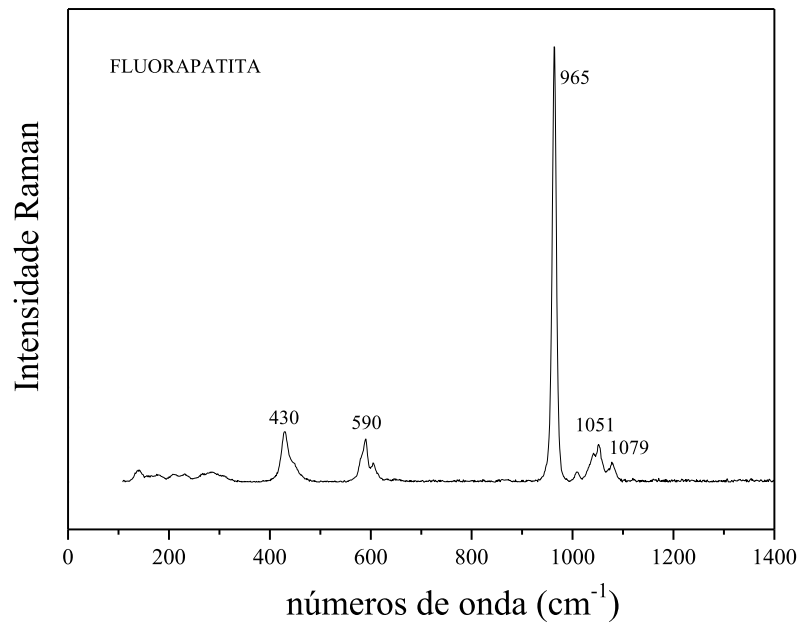
### 5.2.3. Espectroscopia Raman

A análise com Espectroscopia Raman foi realizada após a retirada das amostras da solução SBF, a fim de verificar a evolução do processo de formação da camada de hidroxiapatita e fluorapatita na superfície dos vidros e, dessa forma, examinar sua bioatividade.

Os espectros dos vidros boratos 60B, 60B5CaF e 60B10CaF estão apresentados nas figuras 29, 30 e 31, respectivamente. As Figuras 27 e 28 apresentam os espectros Raman padrão para hidroxiapatita e fluorapatita, respectivamente, para fins de comparação.

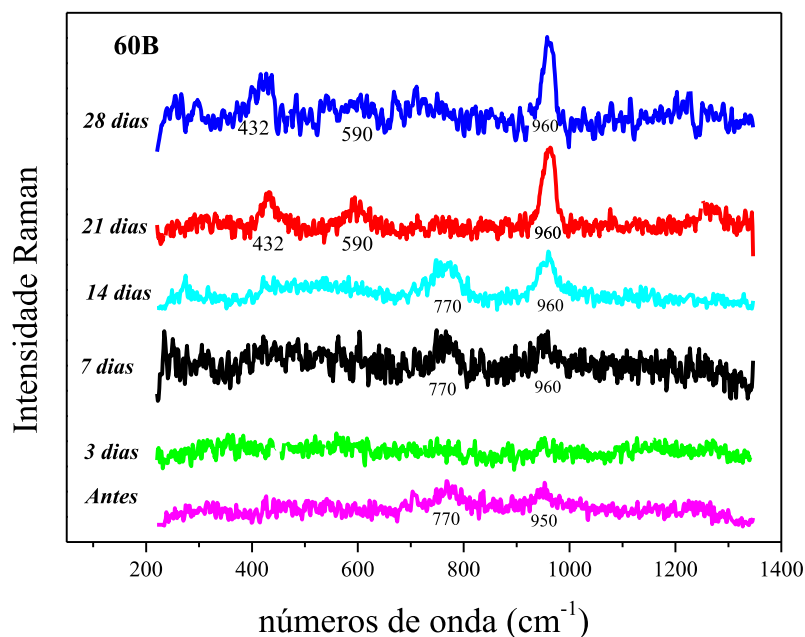


**Figura 27.** Espectro Raman padrão de Hidroxiapatita ( Adaptado [148]).



**Figura 28.** Espectro Raman padrão de Fluorapatita ( Adaptado [149]).

Os espectros Raman da amostra 60B, pré e pós-imersão em SBF, são apresentados na Figura 29, e na Tabela 7 estão identificados seus picos e suas respectivas atribuições.



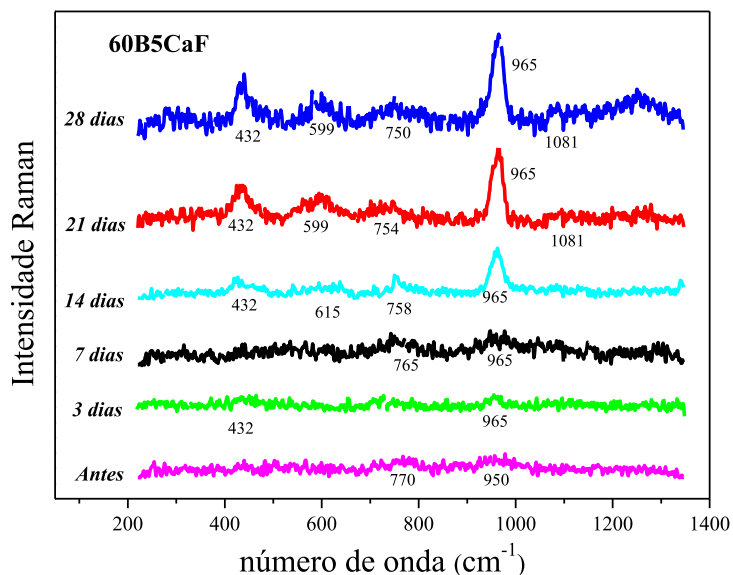
**Figura 29.** Espectros Raman da amostra 60B, antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias).

**Tabela 7.** Atribuições feitas para os espectros Raman referente a amostra 60B (figura 29).

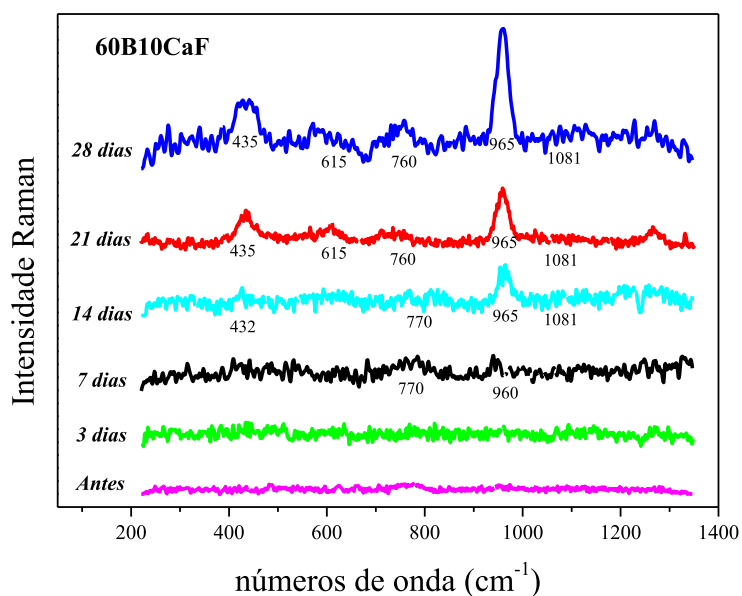
Pico (cm <sup>-1</sup> )	Atribuição
432	Degeneração dupla do PO <sub>4</sub> (ligação O-P-O), flexão P-O para HA [40].
590	Degeneração tripla do PO <sub>4</sub> (ligação O-P-O), para a HA [40].
770	Estiramento B-O de unidades BO <sub>4</sub> em cadeias e anéis pentaboratos [131].
950	Estiramento B-O de BO <sub>4</sub> <sup>-</sup> em grupos diboratos [131].
960	Estiramento simétrico do PO <sub>4</sub> tetraédrico (ligação P-O), para a HA [40,76].

O espectro da amostra 60B (que não possui CaF<sub>2</sub> em sua composição) antes da imersão em SBF é composto principalmente por vibrações atribuídas ao anéis do pentaborato com bandas em 770 e 950 cm<sup>-1</sup> [131]. Os espectros mostram que o pico em 950 cm<sup>-1</sup>, presente no espectro da amostra antes da imersão, é sobreposto pelo pico de 960 cm<sup>-1</sup>, nos espectros das amostras que foram imersas em SBF, se assemelhando ao pico encontrado no padrão de hidroxiapatita (figura 27), tendo esta, seu pico mais intenso em 960 cm<sup>-1</sup>. Esses dados confirmam que houve o crescimento de hidroxiapatita na face do vidro 60B, demonstrando que esse vidro apresenta bioatividade *in vitro*.

Os espectros Raman das amostras 60B5CaF e 60B10CaF, antes e pós-imersão em SBF, são apresentados nas Figuras 30 e 31, respectivamente e, na Tabela 8, estão identificados seus picos e suas respectivas atribuições [40].



**Figura 30.** Espectros Raman da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias).



**Figura 31.** Espectros Raman da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3 a 28 dias).

**Tabela 8.** Atribuições feitas para os espectros Raman referente a amostras 60B5CaF (figura 30) e 60B10CaF (figura 31).

<b>Banda (cm<sup>-1</sup>)</b>	<b>Atribuição</b>
432-435	PO <sub>4</sub> duplamente degenerado (ligação O-P-O), flexão P-O para FA [40].
599, 615	PO <sub>4</sub> triplamente degenerado (ligação O-P-O), para a FA [40].
758, 770	Estiramento B-O de unidades BO <sub>4</sub> em cadeias e anéis pentaboratos [131].
950	Estiramento B-O de BO <sub>4</sub> <sup>-</sup> em grupos diboratos [131]
960,965	Estiramento simétrico do PO <sub>4</sub> tetraédrico (ligação P-O), para a HA e FA [40,76].
1081	Estiramento assimétrico do PO <sub>4</sub> triplo (ligação P-O), para FA [40,76].

O espectro Raman da amostra 60B5CaF, imersa em SBF por 3 dias, apresenta duas bandas características da formação da FA (432 cm<sup>-1</sup> e 965 cm<sup>-1</sup>). No entanto, a amostra 60B10CaF, para o mesmo período de imersão, não apresentou indícios da formação de apatita no espectro no mesmo período.

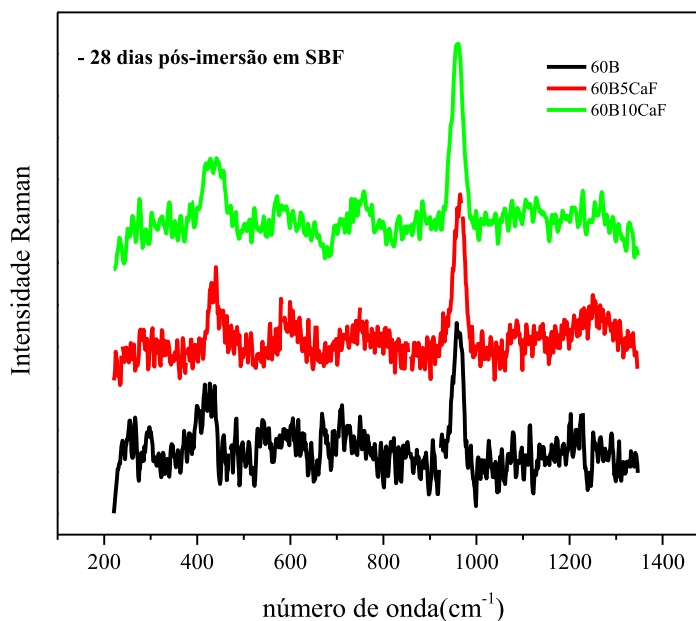
Para o período de 7 dias de imersão, o pico em 965 cm<sup>-1</sup>, para ambas as amostras, está aparente, além da banda em 770 cm<sup>-1</sup>, característica de estruturas BO<sub>4</sub> em vidros borato. Nos períodos de imersão de 14, 21 e 28 dias em SBF, os espectros para ambas as amostras, apresentam semelhanças ao espectro apresentado para o padrão de Fluorapatita (Figura 28), apresentando ambas um pico intenso em ~ 965 cm<sup>-1</sup>. Este pico é atribuído ao estiramento simétrico do PO<sub>4</sub> tetraédrico (ligação P-O) para a Fluorapatita (Figura 28). Já para a Hidroxiapatita este pico é centrado em 960 cm<sup>-1</sup> (Figura 27) [40]; por serem picos com centros muito próximos, pode-se considerar que ambos os tipos de apatita aparecem nas amostras 60B5CaF e 60B10CaF. Com base nesses resultados, podemos assumir que houve crescimento de Hidroxiapatita e Fluorapatita nas faces das amostras com adição CaF<sub>2</sub>, confirmando o resultado apresentado no DRX para estas amostras.

Diferenças significativas foram observadas entre os espectros das amostras imersas em SBF por 14 dias. O pico centrado em 965 cm<sup>-1</sup> apresentou-se mais intenso nas amostras 60B5CaF e 60B10CaF. Além disso, um pequeno deslocamento em seu centro (de 960 cm<sup>-1</sup> para a 60B, para 965 cm<sup>-1</sup>, para as outras amostras) foi observado.

Para a amostra 60B (sem CaF<sub>2</sub>), o espectro só fica semelhante ao padrão de hidroxiapatita (Figura 27) após 21 dias de imersão em SBF. Isso se deve ao fato das amostras 60B5CaF e 60B10CaF possuírem CaF<sub>2</sub> em sua composição, o que contribui para que as reações ligadas à bioatividade ocorram mais rapidamente, ocorrendo além do crescimento de HA, o

crescimento de FA em suas superfícies, enquanto que a amostra 60B, sem  $\text{CaF}_2$ , apenas se observa o crescimento de HA.

Na figura 32 estão apresentados os espectros Raman das 3 amostras, imersas em SBF por 28 dias, para fins de comparação.



**Figura 32.** Espectros Raman das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias.

Na figura 32 é possível verificar que, em 28 dias de imersão, todas as amostras apresentam-se muito semelhantes, apresentando picos que comprovam a presença da hidroxiapatita, indicando a bioatividade *in vitro* destas amostras.

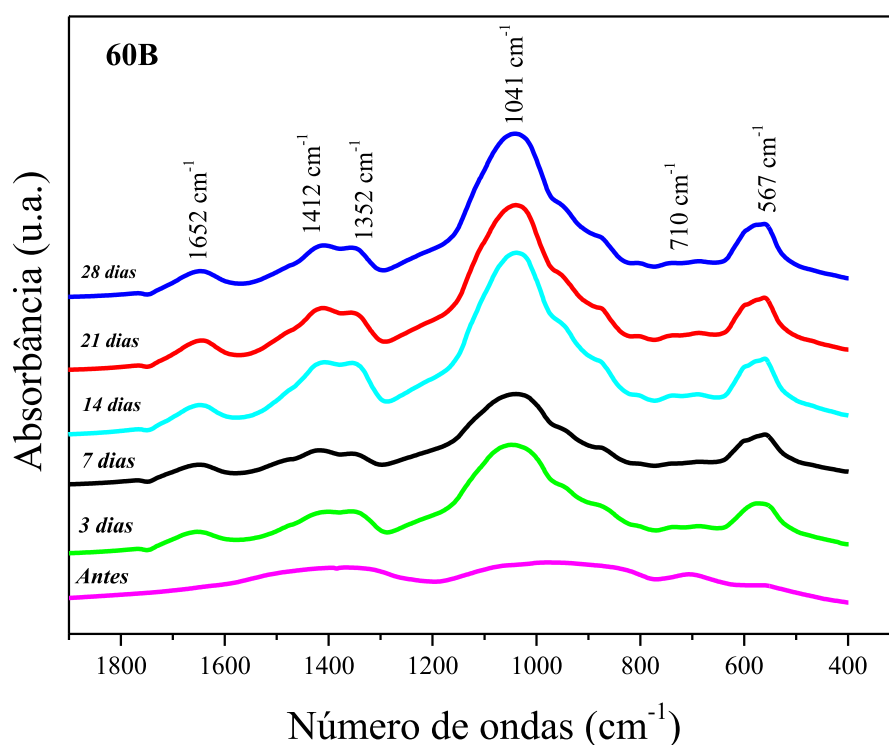
#### 5.2.4. Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A FTIR foi realizado após a retirada das amostras da solução SBF, a fim de verificar a formação da camada de hidroxiapatita e fluorapatita na superfície dos vidros, complementando os resultados apresentados pelas análises com a espectroscopia Raman e DR-X.

Os espectros de FTIR da camada superficial das fatias da amostra 60B, após a imersão em SBF por 3, 7, 14, 21 e 28 dias, assim como o espectro do vidro (não imerso), para comparação, estão apresentados na figura 33. Nos espectros referentes aos períodos de imersão



da amostra 60B, podemos observar bandas centradas em  $\sim 1652, 1412, 1352, 1041, 710$  e  $567 \text{ cm}^{-1}$ . Na tabela 9, estão identificados as bandas e suas respectivas atribuições. Os picos centrados em  $\sim 1412$  e  $1652 \text{ cm}^{-1}$  foram atribuídos à ressonância da ligação C-O em  $\text{CO}_3^{2-}$ . O pico a  $567 \text{ cm}^{-1}$  é atribuído à ligação P-O-P do grupo tetraédrico  $\text{PO}_4$  para a hidroxiapatita. O pico intenso centrado em  $\sim 1041 \text{ cm}^{-1}$  é atribuído ao estiramento assimétrico da ligação P-O, sendo o pico mais característico para a hidroxiapatita, o que confirma a bioatividade in vitro para esta amostra [23,40,76,112].



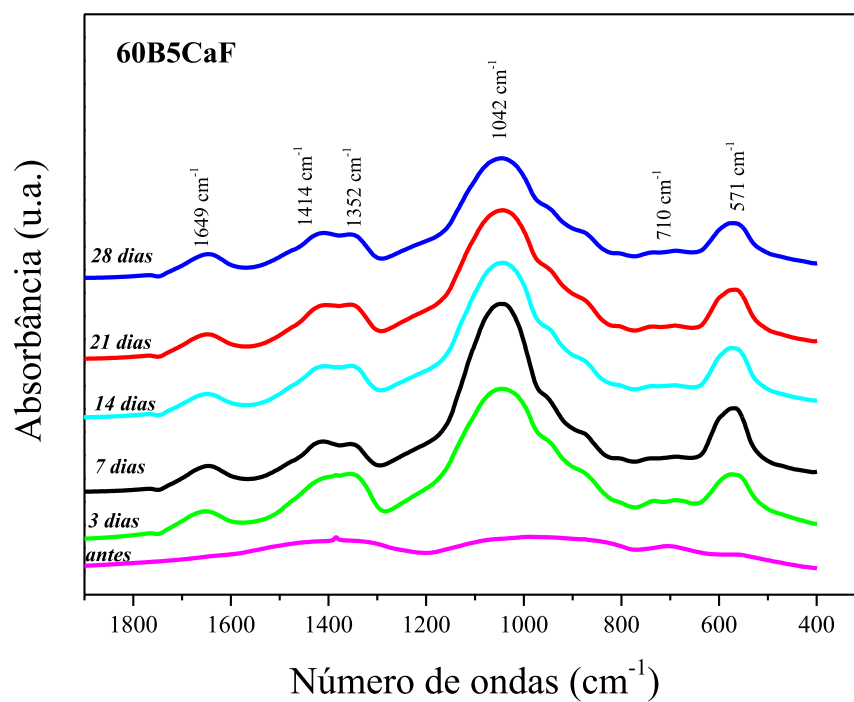
**Figura 33.** FTIR da amostra 60B antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias).

Os espectros de FTIR da camada superficial das amostras 60B5CaF e 60B10CaF, após a imersão em SBF por 3,7,14,21 e 28 dias, estão apresentados nas figuras 34 e 35, respectivamente, as quais apresentam as bandas centradas em  $\sim 1649, 1414, 1353, 1042, 710$  e  $571 \text{ cm}^{-1}$  e na tabela 9, estão identificados as bandas e suas respectivas atribuições.

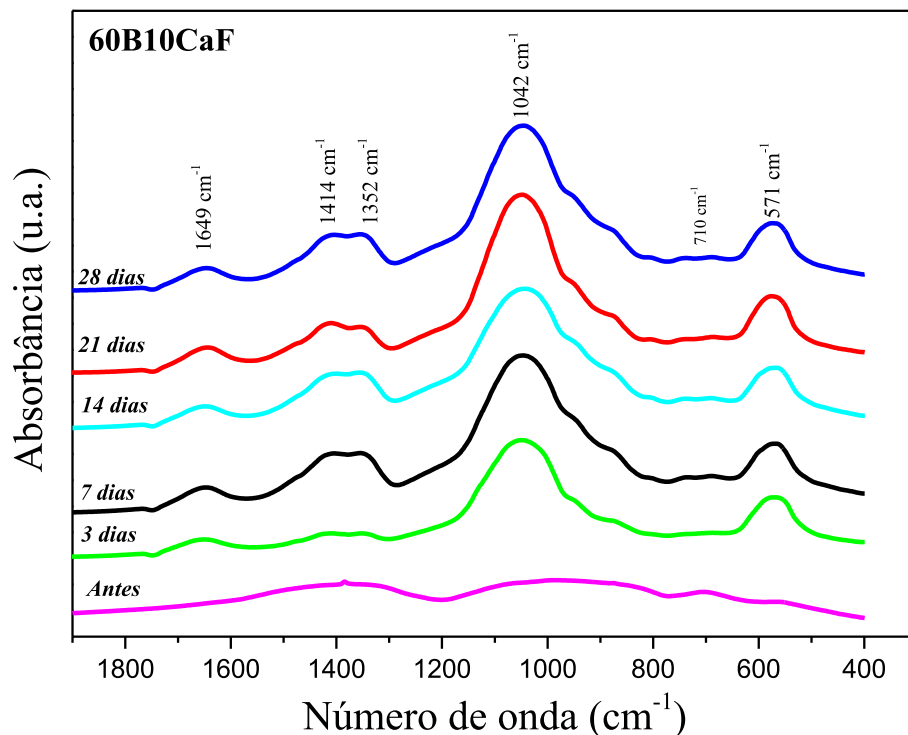
**Tabela 9.** Atribuições feitas para os espectros de FTIR referente as amostras pós imersão em SBF.

Pico	Atribuição
------	------------

( $\text{cm}^{-1}$ )	
1649, 1652	Grupo $\text{OH}^{-1}$ , pertencente a banda da água [112].
1412,1414	Ressonância do C-O [112].
1352, 1354	Estiramento B-O de unidades $\text{BO}_4$ em cadeias e anéis pentaboratos [131].
1041	Estiramento assimétrico da ligação P-O do grupo fosfato para a HA [131,150].
1042	Estiramento assimétrico da ligação P-O do grupo fosfato para a FA [40].
710	Flexão do B-O de unidades $\text{BO}_3$ [112].
567	Modo de flexão da ligação O- P-O, para a HA[40,76].
571	Modo de flexão da ligação O- P-O, para a FA[40,76].



**Figura 34.** FTIR da amostra 60B5CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias).



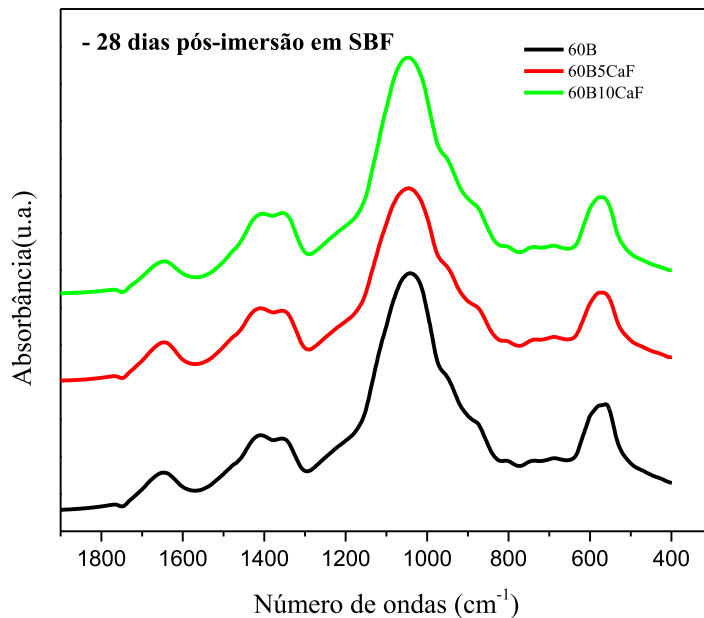
**Figura 35.** FTIR da amostra 60B10CaF antes e depois da imersão em SBF durante (3, 7, 14, 21 e 28 dias).

Verifica-se, para ambas as mostras, a presença do pico em  $571\text{ cm}^{-1}$ , atribuído à ligação P-O-P do grupo tetraédrico  $\text{PO}_4$ , característico da fluorapatita. A mesma vibração, mas atribuída ao grupo  $\text{PO}_4$  da HA, apresenta seu pico muito próximo, sendo, portanto, difícil especificar o tipo da apatita formada.

O mesmo ocorre para pico intenso centrado em  $1042\text{ cm}^{-1}$ , que é atribuído ao estiramento assimétrico da ligação P-O, sendo o pico mais característico para a Fluorapatita, enquanto o pico da ligação P-O para a HA é centrado em  $1041\text{ cm}^{-1}$ . Para ambas as amostras, é possível afirmar que a interação do material com o SBF ocorreu e, portanto, se tratam de amostras bioativas, com evidências de formação de HA e FA.

Os picos centrados em  $\sim 1414\text{ cm}^{-1}$  foram atribuídos à ressonância da ligação C-O em  $\text{CO}_3^{2-}$  e o pico em  $\sim 1649\text{ cm}^{-1}$  ao grupo OH, pertencente à banda da água, conforme as referências [23,39,40,76,112]. Os espectros de FTIR de todas as amostras indicaram a presença de crescimento de apatita nas superfícies das amostras, confirmando os resultados apresentados no DRX e Espectroscopia Raman.

Na figura 36 estão apresentados os espectros FTIR das 3 amostras, imersas em SBF por 28 dias, para fins de comparação.



**Figura 36.** Espectros de FTIR das amostras 60B, 60B5CaF e 60B10CaF pós-imersão em SBF por 28 dias.

Com base nos dados de FTIR referentes ao período de imersão em SBF, de 28 dias (Figura 36), pode-se verificar o mesmo padrão de absorção para todas as amostras, com a presença de bandas importantes na verificação da formação de apatita (HA e FA), comprovando a bioatividade *in vitro* de todas as amostras.

## 6. CONCLUSÃO

Neste trabalho investigou-se a influência da adição de  $\text{CaF}_2$ , nas propriedades estruturais e na bioatividade dos vidros boratos, com adição de 5 e 10% em massa do modificador. Os resultados de densidade, DSC,  $C_p$ , DRX, Raman e FTIR mostram que a substituição de parte da concentração de  $\text{CaO}$  por  $\text{CaF}_2$ , não alterou significativamente a estrutura dos vidros sintetizados. Os resultados de DSC mostram que todas as amostras possuem uma boa estabilidade térmica, mesmo apresentando uma pequena redução com a adição de  $\text{CaF}_2$ . O resultado de dureza Vickers demonstrou que, além de não haver grandes variações do parâmetro, com a variação da quantidade de  $\text{CaF}_2$ , os vidros estudados neste trabalho apresentam dureza compatível com o esmalte dental humano.

Para os vidros imersos em SBF, as análises por DRX de todas as amostras, demonstram que houve a formação de picos cristalinos que correspondem aos padrões de hidroxiapatita, o que foi confirmado pelo Raman e FTIR. A adição de  $\text{CaF}_2$  nas amostras foi extremamente favorável, pois acelerou sua bioatividade, além de estimular a formação de fluorapatita, nos ensaios *in vitro*, sendo que o vidro 60B10CaF apresentou o melhor desempenho em solução SBF.

Portanto, todas as amostras sintetizadas, mostraram-se extremamente promissoras para aplicações biomédicas, como a engenharia de tecidos, ortopedia e aplicações odontológicas, podendo assim, atender as necessidades citadas por Hench.

## 7. PERSPECTIVAS

A produção e o estudo de vidros bioativos é um campo extremamente promissor e que promove a interação de diversas áreas de estudo. Para que um biomaterial possa ser finalmente aplicado comercialmente, várias etapas de estudo são necessárias. Assim, as perspectivas de trabalhos futuros incluem:

- Estudo “*in vitro*” dos vidros com adição de flúor, como agente remineralizador em dentes (em andamento);
- Estudo da toxicidade dos implantes “*in vitro*”;
- Estudo da bioatividade das amostras “*in vivo*”;
- Estudo da toxicidade dos implantes “*in vivo*”.
- Desenvolvimento de suporte poroso “scaffold”, para estudos “*in vitro*” e “*in vivo*”.

## REFERÊNCIAS

- [1] T. von Arx, D.L. Cochran, J.S. Hermann, R.K. Schenk, F.L. Higginbottom, D. Buser, Lateral ridge augmentation and implant placement: an experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible., *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 16 (2001) 343–354.
- [2] M. Gutierrez, M. Ascensão Lopes, N. Sooraj Hussain, A. Trigo Cabral, L. Almeida, J. Domingos Santos, Substitutos Ósseos: Conceitos gerais e estado actual, *Arq. Med.* 19 (2005) 153–162.
- [3] S. Oh, N. Oh, M. Appleford, J.L. Ong, Bioceramics for Tissue Engineering Applications - A Review, *Am. J. Biochem. Biotechnol.* 2 (2006) 49–56. doi:10.3844/ajbbsp.2006.49.56.
- [4] D.-M. Liu, H.-M. Chou, Formation of a new bioactive glass-ceramic, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 5 (1994) 7–10. doi:10.1007/BF00121146.
- [5] F.J. García-Sanz, M.B. Mayor, J.L. Arias, J. Pou, B. León, M. Pérez-Amor, Hydroxyapatite coatings: A comparative study between plasma-spray and pulsed laser deposition techniques, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 8 (1997) 861–865. doi:10.1023/A:1018549720873.
- [6] G. Göller, F.N. Oktar, H. Demirkıran, E. Demirkesen, Sintering Effects on Mechanical Properties of Bioglass Reinforced Hydroxyapatite Composites, *Key Eng. Mater.* 240–242 (2003) 939–942. doi:10.4028/www.scientific.net/KEM.240-242.939.
- [7] L.L. Hench, The story of Bioglass, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 17 (2006) 967–978. doi:10.1007/s10856-006-0432-z.
- [8] L.L. Hench, Bioceramics: From Concept to Clinic, *J. Am. Ceram. Soc.* 74 (1991) 1487–1510. doi:10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x.
- [9] S. Abdollahi, A.C.C. Ma, M. Cerruti, Surface transformations of bioglass 45S5 during scaffold synthesis for bone tissue engineering, *Langmuir.* 29 (2013) 1466–1474. doi:10.1021/la304647r.
- [10] H. Wang, S. Zhao, W. Xiao, J. Xue, Y. Shen, J. Zhou, W. Huang, M.N. Rahaman, C. Zhang, D. Wang, Influence of Cu doping in borosilicate bioactive glass and the properties of its derived scaffolds, *Mater. Sci. Eng. C.* 58 (2016) 194–203. doi:10.1016/j.msec.2015.08.027.
- [11] M.N. Rahaman, D.E. Day, B. Sonny Bal, Q. Fu, S.B. Jung, L.F. Bonewald, A.P. Tomsia, Bioactive glass in tissue engineering, *Acta Biomater.* 7 (2011) 2355–2373.

- doi:10.1016/j.actbio.2011.03.016.
- [12] T. Kokubo, H. Kushitani, C. Ohtsuki, S. Sakka, T. Yamamuro, Effects of ions dissolved from bioactive glass-ceramic on surface apatite formation, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 4 (1993) 1–4. doi:10.1007/BF00122969.
- [13] T. Kokubo, Surface chemistry of bioactive glass-ceramics, *J. Non. Cryst. Solids.* 120 (1990) 138–151. doi:10.1016/0022-3093(90)90199-V.
- [14] J.M.M. de Oliveira, Desenvolvimento de vidros e de vidros cerâmicos sílico-fosfatados com elevado teor de alcalino-terrosos para aplicações biomédicas., Tese Doutorado, Univ. Aveiro, Aveiro. (2000).
- [15] R. Ravarian, X. Zhong, M. Barbeck, S. Ghanaati, C.J. Kirkpatrick, C.M. Murphy, A. Schindeler, W. Chrzanowski, F. Dehghani, Nanoscale chemical interaction enhances the physical properties of bioglass composites, *ACS Nano.* 7 (2013) 8469–8483. doi:10.1021/nn402157n.
- [16] F. Matassi, L. Nistri, D.C. Paez, M. Innocenti, New biomaterials for bone regeneration, *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* 8 (2011) 21–24. doi:10.1007/s11999-009-1109-y.
- [17] J.F. Keating, M.M. McQueen, Substitutes for autologous bone graft in orthopaedic trauma, *J Bone Jt. Surg Br.* 83 (2001) 3–8. doi:10.1302/0301-620X.83B1.11952.
- [18] G.O. Hofmann, M.H. Kirschner, T. Wangemann, C. Falk, W. Mempel, C. Hammer, Infections and immunological hazards of allogeneic bone transplantation, *Arch. Orthop. Trauma Surg.* 114 (1995) 159–166. doi:10.1007/BF00443390.
- [19] Ö.H. Andersson, K.H. Karlsson, On the bioactivity of silicate glass, *J. Non. Cryst. Solids.* 129 (1991) 145–151. doi:10.1016/0022-3093(91)90090-S.
- [20] P. Li, Q. Yang, F. Zhang, T. Kokubo, The effect of residual glassy phase in a bioactive glass-ceramic on the formation of its surface apatite layer in vitro, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 3 (1992) 452–456. doi:10.1007/BF00701242.
- [21] Z. Strnad, Role of the glass phase in bioactive glass-ceramics, *Biomaterials.* 13 (1992) 317–321. doi:10.1016/0142-9612(92)90056-T.
- [22] Y. Xiang, J. Du, Effect of strontium substitution on the structure of 45S5 bioglasses, *Chem. Mater.* 23 (2011) 2703–2717. doi:10.1021/cm102889q.
- [23] W. Huang, D.E. Day, K. Kittiratanapiboon, M.N. Rahaman, Kinetics and mechanisms of the conversion of silicate (45S5), borate, and borosilicate glasses to hydroxyapatite in dilute phosphate solutions, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 17 (2006) 583–596. doi:10.1007/s10856-006-9220-z.



- [24] J. Ning, A. Yao, D. Wang, W. Huang, H. Fu, X. Liu, X. Jiang, X. Zhang, Synthesis and in vitro bioactivity of a borate-based bioglass, *Mater. Lett.* 61 (2007) 5223–5226. doi:10.1016/j.matlet.2007.04.089.
- [25] C. Stähli, M. James-Bhasin, A. Hoppe, A.R. Boccaccini, S.N. Nazhat, Effect of ion release from Cu-doped 45S5 Bioglass?? on 3D endothelial cell morphogenesis, *Acta Biomater.* 19 (2015) 15–22. doi:10.1016/j.actbio.2015.03.009.
- [26] H. Fu, Q. Fu, N. Zhou, W. Huang, M.N. Rahaman, D. Wang, X. Liu, In vitro evaluation of borate-based bioactive glass scaffolds prepared by a polymer foam replication method, *Mater. Sci. Eng. C.* 29 (2009) 2275–2281. doi:10.1016/j.msec.2009.05.013.
- [27] X. Liu, H. Pan, H. Fu, Q. Fu, M.N. Rahaman, W. Huang, Conversion of borate-based glass scaffold to hydroxyapatite in a dilute phosphate solution., *Biomed. Mater.* 5 (2010) 15005. doi:10.1088/1748-6041/5/1/015005.
- [28] S.S.E. Bakhtiyari, S. Karbasi, A. Monshi, M. Montazeri, Evaluation of the effects of nano-TiO<sub>2</sub> on bioactivity and mechanical properties of nano bioglass-P3HB composite scaffold for bone tissue engineering, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 27 (2016) 1–17. doi:10.1007/s10856-015-5613-1.
- [29] S.L. Liang, W.D. Cook, G.A. Thouas, Q.Z. Chen, The mechanical characteristics and in vitro biocompatibility of poly(glycerol sebacate)-Bioglass elastomeric composites, *Biomaterials.* 31 (2010) 8516–8529. doi:10.1016/j.biomaterials.2010.07.105.
- [30] W. Liang, M.N. Rahaman, D.E. Day, N.W. Marion, G.C. Riley, J.J. Mao, Bioactive borate glass scaffold for bone tissue engineering, *J. Non. Cryst. Solids.* 354 (2008) 1690–1696. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2007.10.003.
- [31] A. Al-Noaman, N. Karpukhina, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, Effect of FA on bioactivity of bioactive glass coating for titanium dental implant. Part I: Composite powder, *J. Non. Cryst. Solids.* 364 (2013) 92–98. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2012.11.051.
- [32] B.I. Bogdanov, P.S. Pashev, J.H. Hristov, I.G. Markovska, Bioactive fluorapatite-containing glass ceramics, *Ceram. Int.* 35 (2009) 1651–1655. doi:10.1016/j.ceramint.2008.07.021.
- [33] D.S. Brauer, M.N. Anjum, M. Mneimne, R.M. Wilson, H. Doweidar, R.G. Hill, Fluoride-containing bioactive glass-ceramics, *J. Non. Cryst. Solids.* 358 (2012) 1438–1442. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2012.03.014.
- [34] H.B. Davis, F. Gwinner, J.C. Mitchell, J.L. Ferracane, Ion release from, and fluoride recharge of a composite with a fluoride-containing bioactive glass, *Dent. Mater.* 30

- (2014) 1187–1194. doi:10.1016/j.dental.2014.07.012.
- [35] A. Al-Noaman, S.C.F. Rawlinson, R.G. Hill, The influence of CaF<sub>2</sub> content on the physical properties and apatite formation of bioactive glass coatings for dental implants, *J. Non. Cryst. Solids*. 358 (2012) 1850–1858. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2012.05.039.
- [36] D.S. Brauer, N. Karpukhina, R. V. Law, R.G. Hill, Structure of fluoride-containing bioactive glasses, *J. Mater. Chem.* 19 (2009) 5629. doi:10.1039/b900956f.
- [37] X. Chen, X. Chen, D.S. Brauer, R.M. Wilson, R.G. Hill, N. Karpukhina, Novel alkali free bioactive fluorapatite glass ceramics, *J. Non. Cryst. Solids*. 402 (2014) 172–177. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2014.05.025.
- [38] K.P.O. Flynn, K.T. Stanton, V. Xxx, Nucleation and Early Stage Crystallization of Fluorapatite in Apatite-Mullite Glass-Ceramics, *Growth* (Lakeland). (2009). doi:10.1021/cg900868t.
- [39] A. Moshaverinia, S. Ansari, M. Moshaverinia, N. Roohpour, J.A. Darr, I. Rehman, Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC), *Acta Biomater.* 4 (2008) 432–440. doi:10.1016/j.actbio.2007.07.011.
- [40] G. Penel, G. Leroy, C. Rey, B. Sombret, J.P. Huvenne, E. Bres, Infrared and Raman microspectrometry study of fluor-fluor-hydroxy and hydroxy-apatite powders, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 8 (1997) 271–276. doi:10.1023/A:1018504126866.
- [41] F.A. Shah, Fluoride-containing bioactive glasses: Glass design, structure, bioactivity, cellular interactions, and recent developments, *Mater. Sci. Eng. C*. 58 (2016) 1279–1289. doi:10.1016/j.msec.2015.08.064.
- [42] L.L. Hench, The future of bioactive ceramics, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 26 (2015) 3–6. doi:10.1007/s10856-015-5425-3.
- [43] D.L. Wise, D.J. Trantolo, D.E. Altobelli, M.J. Yaszernski, J.D. Gresser, E.R. Schwartz, *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, Bioengineering. (1995).
- [44] T.P. Vieira, Estudo da formação in vitro de fosfato de cálcio na superfície de pós vítreos de sistemas CaO-SiO<sub>2</sub>-MxO<sub>y</sub> via sol - gel., UFSC, 2007.
- [45] M.G. Cerruti, Characterization of bioactive glasses. Effect of the immersion in solutions that simulate body fluids., *Sci. York*. (2004) 228.
- [46] J.K.M. de F. Daguano, Biovidros e vitrocerâmicos bioativos do sistema 3CaO.P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-SiO<sub>2</sub>-MgO para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais, mecânicas e biológicas, (2011) 202.

- [47] K.C. Laurenti, Desenvolvimento de um biomaterial composto de poliuretano e microfibra de biovidro 45S5 em gradiente funcional para reparo de cartilagem articula : estudos in vitro e in vivo ., USP, 2011.
- [48] A.O. Paiva, Obtenção, caracterização e estudo in vitro do vidro bioativo VH30 e compósitos vidro bioativo/polihidroxibutirato, (2005) 95.
- [49] O. Prof, A. Carlos, Recobrimento de Apatitas Empregando-se o Método Biomimético : Estudo da Influência dos Íons  $K^+$  ,  $Mg^{2+}$  ,  $SO_4^{2-}$  e  $HCO_3^-$  na Formação de Hidroxiapatita . Dissertação apresentada ao Instituto de Química , Universidade Estadual Paulista , como parte dos re, (2006).
- [50] Jones;Julian R. ; Alexis G. Clare, Bio-Glasses An Introduction, Chichester,UK, 2012.
- [51] L.L. Hench, J. Wilson, An Introduction to Bioceramics, 2nd Editio, Florida, 1993.
- [52] A.L.R. Pires, A.C.K. Bierhalz, Â.M. Moraes, Biomateriais: Tipos, aplica????es e mercado, Quim. Nova. 38 (2015) 957–971. doi:10.5935/0100-4042.20150094.
- [53] L.L. Hench, Bioactive Glasses and Glass–Ceramics, Mater. Sci. Forum. 293 (1999) 37–64. doi:10.4028/www.scientific.net/MSF.293.37.
- [54] J.R. Jones, Acta Biomaterialia Editor ' s Comment on : Review of bioactive glass : From Hench to hybrids, 23 (2015) 2015. doi:10.1016/j.actbio.2015.07.005.
- [55] E. Costa, Biovidros, (n.d.).
- [56] A. Maria, R. Junqueira, D. Carlo, M. Isabel, V. Vilorio, A. Sayegh, R.R. Filgueiras, Matriz óssea homóloga desmineralizada na preparação de falhas ósseas segmentares produzidas no rádio de coelhos, (2003).
- [57] R. Junqueira, D. Carlo, D. Kawata, M. Isabel, V. Vilorio, D. Rizzo, O. Alessandra, S. Silva, D. Rodrigues, S. Rezende, G. Paulo, A. Betânia, S. Monteiro, Polímero derivado de mamona acrescido de cálcio, associado ou não à medula óssea autógena na reparação de falhas ósseas, Cienc. Rural. 33 (2003) 1081–1088. doi:10.1590/S0103-84782003000600013.
- [58] P.D. Candelorio, Avaliação de compósitos de Poliuretana de Mamona e Vidros Bioativos dopados, com e sem prata , como material protético., (2011) 92.
- [59] M. Ogino, F. Ohuchi, L.L. Hench, Compositional dependence of the formation of calcium phosphate films on bioglass, J. Biomed. Mater. Res. 14 (1980) 55–64. doi:10.1002/jbm.820140107.
- [60] T. Kitsugi, T. Nakamura, T. Yamamura, T. Kokubu, T. Shibuya, M. Takagi, SEM-EPMA of of, 21 (1987) 1255–1271.

- [61] T. Kokubo, H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W3, *J. Biomed. Mater. Res.* 24 (1990) 721–734. doi:10.1002/jbm.820240607.
- [62] T. Kokubo, Bioactive glass ceramics: properties and applications, *Biomaterials.* 12 (1991) 155–163. doi:10.1016/0142-9612(91)90194-F.
- [63] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials.* 27 (2006) 2907–2915. doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.
- [64] C.X. Resende, G.M. Platt, I.N. Bastos, G.D.A. Soares, Estudo teórico e experimental da Solução Avaliadora de Bioatividade ( SAB ) Theoretical and experimental study of the Bioactivity Testing Solution ( BTS ), *Rev. Matéria.* 12 (2007) 358–366.
- [65] J.E. SHELBY, Introduction to glass Science and technology, 2nd ed., The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 2005.
- [66] C.A. Gressler, J.E. Shelby, Properties and structure of PbO-PbF<sub>2</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glasses, *J. Appl. Phys.* 66 (1989) 1127–1131. doi:10.1063/1.343452.
- [67] Y. Ishizuka, R. Mochizuki, K. Yanai, M. Takatsuka, T. Nonomura, S. Niida, H. Horiguchi, N. Maeda, A. Fukamizu, Induction of hydroxyapatite resorptive activity in bone marrow cell populations resistant to bafilomycin A1 by a factor with restricted expression to bone and brain, neurochondrin, *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* 1450 (1999) 92–98. doi:10.1016/S0167-4889(99)00039-7.
- [68] F. Baino, G. Novajra, V. Miguez-Pacheco, A.R. Boccaccini, C. Vitale-Brovarone, Bioactive glasses: Special applications outside the skeletal system, *J. Non. Cryst. Solids.* 432 (2016) 15–30. doi:10.1016/j.jnoncrystol.2015.02.015.
- [69] S.M. Rabiee, N. Nazparvar, M. Azizian, D. Vashae, L. Tayebi, Effect of ion substitution on properties of bioactive glasses: A review, *Ceram. Int.* 41 (2013) 7241–7251. doi:10.1016/j.ceramint.2015.02.140.
- [70] B. Review, Biovidro 45S5 : um avanço biotecnológico nos materiais restauradores da odontologia, 25 (2015) 47–55.
- [71] L.L. Hench, O. Andersson, Bioactive glasses, *Introd. to Bioceram.* (1993) 45–47. doi:10.1142/9781908977168\_0003.
- [72] L.L. Hench, Biomaterials: A forecast for the future, *Biomaterials.* 19 (1998) 1419–1423. doi:10.1016/S0142-9612(98)00133-1.
- [73] G. Kaur, O.P. Pandey, K. Singh, D. Homa, B. Scott, G. Pickrell, A review of bioactive glasses: Their structure, properties, fabrication and apatite formation, *J. Biomed. Mater.*

- Res. A. 102 (2014) 254–274. doi:10.1002/jbm.a.34690.
- [74] M. Montazerian, E. Dutra Zanotto, History and trends of bioactive glass-ceramics, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 104 (2016) 1231–1249. doi:10.1002/jbm.a.35639.
- [75] L.L. Hench, Bioceramics, *Stress Int. J. Biol. Stress*. 28 (1998) 1705–1728. doi:10.1111/j.1151-2916.1998.tb02540.x.
- [76] S. Koutsopoulos, Synthesis and characterization of hydroxyapatite crystals: A review study on the analytical methods, *J. Biomed. Mater. Res.* 62 (2002) 600–612. doi:10.1002/jbm.10280.
- [77] R.F. Brown, M.N. Rahaman, A.B. Dwilewicz, W. Huang, D.E. Day, Y. Li, B.S. Bal, Effect of borate glass composition on its conversion to hydroxyapatite and on the proliferation of MC3T3-E1 cells, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 88 (2009) 392–400. doi:10.1002/jbm.a.31679.
- [78] M. Ouis, A. Abdelghany, H. ElBatal, Corrosion mechanism and bioactivity of borate glasses analogue to Hench's bioglass, *Process. Appl. Ceram.* 6 (2012) 141–149. doi:10.2298/PAC1203141O.
- [79] A. Saranti, I. Koutselas, M.A. Karakassides, Bioactive glasses in the system CaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: Preparation, structural study and in vitro evaluation, *J. Non. Cryst. Solids*. 352 (2006) 390–398. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2006.01.042.
- [80] X. Wei, T. Xi, Y. Zheng, C. Zhang, W. Huang, In vitro comparative effect of three novel borate bioglasses on the behaviors of osteoblastic MC3T3-E1 cells, *J. Mater. Sci. Technol.* 30 (2014) 979–983. doi:10.1016/j.jmst.2014.07.007.
- [81] S.B. Jung, D.E. Day, Conversion kinetics of silicate, borosilicate, and borate bioactive glasses to hydroxyapatite, *Phys. Chem. Glas. Eur. J. Glas. Sci. Technol. Part B*. 50 (2009) 85–88.
- [82] J.A. Sampaio, C.A.M. Baltar, M.C. de Andrade, Fluorita, in: *Centro de tecnologia mineral - CETEM (Ed.), Rochas E Minerais Ind.*, 2<sup>o</sup>, 2008: pp. 487–503.
- [83] C.A. Finch, Acid–base cements: Their biomedical and industrial applications. By A. D. Wilson and J. W. Nicholson. Cambridge University Press, Cambridge, 1993. pp. xx + 398, price UK £65.00, US\$94.95. ISBN 0-521-37222-4, *Polym. Int.* 35 (1994) 215–215. doi:10.1002/pi.1994.210350213.
- [84] R.G. Reddy, P. Chaulal, P.C. Pistorius, U. Pal, eds., *Advances in Molten Slags, Fluxes, and Salts: Proceedings of the 10th International Conference on Molten Slags, Fluxes and Salts 2016*, Springer International Publishing, Cham, 2016. doi:10.1007/978-3-319-

48769-4.

- [85] F.A. Shah, D.S. Brauer, R.G. Hill, K.A. Hing, Apatite formation of bioactive glasses is enhanced by low additions of fluoride but delayed in the presence of serum proteins, *Mater. Lett.* 153 (2015) 143–147. doi:10.1016/j.matlet.2015.04.013.
- [86] G. Lusvardi, G. Malavasi, L. Menabue, V. Aina, C. Morterra, Fluoride-containing bioactive glasses: Surface reactivity in simulated body fluids solutions, *Acta Biomater.* 5 (2009) 3548–3562. doi:10.1016/j.actbio.2009.06.009.
- [87] D.S. Brauer, N. Karpukhina, M.D. O’Donnell, R. V. Law, R.G. Hill, Fluoride-containing bioactive glasses: Effect of glass design and structure on degradation, pH and apatite formation in simulated body fluid, *Acta Biomater.* 6 (2010) 3275–3282. doi:10.1016/j.actbio.2010.01.043.
- [88] G.F. Moreira, A. Balbo, C.A. Achete, J.S. Barin, W. Wollinger, R. Nogueira, C.F. Bittencourt, Janaina M. Ridrigues, Aplicação da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para Determinação da Pureza de Fármacos, *Prod. Produção.* 11 (2010) 22–29.
- [89] T.M.D.M. PEREIRA, Caracterização Térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC- fotovisual) de hormônios biodênticos (estriol e estradiol), *Ufrn.* (2013) 104.
- [90] G.B. Denari, É.T.G. Cavalheiro, Princípios e Aplicações de Análise Térmica, (2012) 40.
- [91] A. Gharbi, H. El Feki, H. Oudadesse, Novel alkali borosilicate glasses: Preparation, structural investigation and thermal study, *Korean J. Chem. Eng.* 33 (2016) 1456–1461. doi:10.1007/s11814-015-0287-4.
- [92] Livro - Caracterização de Polímeros - Determinação de Peso Molecular e Análise Térmica - senha pdf - 4yuum725.pdf, (n.d.).
- [93] R.G. Hill, D.S. Brauer, Predicting the glass transition temperature of bioactive glasses from their molecular chemical composition, *Acta Biomater.* 7 (2011) 3601–3605. doi:10.1016/j.actbio.2011.06.023.
- [94] H.-B. Ke, Z.-F. Zhao, P. Wen, W.-H. Wang, Specific Heat in a Typical Metallic Glass Former, *Chinese Phys. Lett.* 29 (2012) 46402. doi:10.1088/0256-307X/29/4/046402.
- [95] L.A. Roed, K. Niss, B. Jakobsen, Communication: High pressure specific heat spectroscopy reveals simple relaxation behavior of glass forming molecular liquid, *J. Chem. Phys.* 143 (2015). doi:10.1063/1.4936867.
- [96] A. Steimacher, Desenvolvimento e caracterização de vidros aluminossilicato de cálcio dopados com Nd<sup>3+</sup> - Tese de doutorado, UEM, 2008.
- [97] C. B.D., Elements of X-ray diffraction, 1 ed, Addison-wesley publishing company,

MASSACHUSETTS, 1956.

- [98] D. Gobbo, L. Aplicação da difração de raios X e método de Rietveld no estudo do cimento Portland, *Apl. Da Difração Raios X E Método Rietveld No Estud. Do Cim. Portl.* (2009) 17–29. doi:10.11606/T.44.2009.tde-23072009-144653.
- [99] S. Inaba, S. Fujino, Empirical equation for calculating the density of oxide glasses, *J. Am. Ceram. Soc.* 93 (2010) 217–220. doi:10.1111/j.1551-2916.2009.03363.x.
- [100] M. Oliveira, Desenvolvimento e caracterização de fosfato de cálcio fluoretado para aplicação em esmalte dentário. Tese de doutorado, UFMG, 2007.
- [101] F.H. ElBatal, M.A. Ouis, H.A. ElBatal, Comparative studies on the bioactivity of some borate glasses and glass-ceramics from the two systems: Na<sub>2</sub>O-CaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and NaF-CaF<sub>2</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, *Ceram. Int.* 42 (2015) 8247–8256. doi:10.1016/j.ceramint.2016.02.037.
- [102] M. Vallet-Regí, A.M. Romero, C. V. Ragel, R.Z. LeGeros, XRD, SEM-EDS, and FTIR studies of in vitro growth of an apatite-like layer on sol-gel glasses, *J. Biomed. Mater. Res.* 44 (1999) 416–421. doi:10.1002/(SICI)1097-4636(19990315)44:4<416::AID-JBM7>3.0.CO;2-S.
- [103] Y. Iimori, Y. Kameshima, K. Okada, S. Hayashi, Comparative study of apatite formation on CaSiO<sub>3</sub> ceramics in simulated body fluids with different carbonate concentrations, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 16 (2005) 73–79. doi:10.1007/s10856-005-6449-x.
- [104] A.K. Srivastava, R. Pyare, Characterization of ZnO substituted 45S5 Bioactive Glasses and Glass - Ceramics, *J. Mater. Sci. Res.* 1 (2012) 1–13. doi:10.5539/jmsr.v1n2p207.
- [105] X. Liu, M.N. Rahaman, D.E. Day, Conversion of melt-derived microfibrillar borate (13-93B3) and silicate (45S5) bioactive glass in a simulated body fluid, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 24 (2013) 583–595. doi:10.1007/s10856-012-4831-z.
- [106] M. Saqaei, M. Fathi, H. Edris, V. Mortazavi, Preparation and biocompatibility evaluation of bioactive glass-forsterite nanocomposite powder for oral bone defects treatment applications, *Mater. Sci. Eng. C.* 56 (2015) 409–416. doi:10.1016/j.msec.2015.07.002.
- [107] A.M. Deliormanli, Size-dependent degradation and bioactivity of borate bioactive glass, *Ceram. Int.* 39 (2013) 8087–8095. doi:10.1016/j.ceramint.2013.03.081.
- [108] A. Bachar, C. Mercier, A. Tricoteaux, S. Hampshire, A. Leriche, C. Follet, Effect of nitrogen and fluorine on mechanical properties and bioactivity in two series of bioactive glasses, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 23 (2013) 133–148. doi:10.1016/j.jmbbm.2013.03.010.
- [109] B. Smith, *Fundamentals of Fourier transform infrared spectroscopy*, Second edi, Boca

- Raton, FL, 2006. doi:10.1002/1521-3773(20010316)40:6<9823::AID-ANIE9823>3.3.CO;2-C.
- [110] B.H. Stuart, *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*, 2004. doi:10.1002/0470011149.
- [111] J.C. De Andrade, *Química Analítica Básica : Os conceitos acido-base e a escala de pH*, Chemkeys - Inst. Química - Unicamp. (2010) 1–6.
- [112] Manupriya, K.S. Thind, G. Sharma, K. Singh, V. Rajendran, S. Aravindan, Soluble borate glasses: In vitro analysis, *J. Am. Ceram. Soc.* 90 (2007) 467–471. doi:10.1111/j.1551-2916.2006.01449.x.
- [113] X. Liu, M.N. Rahaman, D.E. Day, In Vitro Degradation and Conversion of Melt-Derived Microfibrous Borate (13-93B3) Bioactive Glass Doped With Metal Ions, *J. Am. Ceram. Soc.* 3509 (2014) 3501–3509. doi:10.1111/jace.13207.
- [114] M. Cerruti, D. Greenspan, K. Powers, Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass 45S5, *Biomaterials.* 26 (2005) 1665–1674. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.07.009.
- [115] FISQP Sigma Aldrich, Fluoreto de Cálcio Puríssimo, (2015) 1–6.
- [116] B.D. Soares, *Estudo da produção de óxido de cálcio por calcinação do calcário: caracterização dos sólidos, decomposição térmica e otimização paramétrica - Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Uberlândia, 2007.*
- [117] F. Berkemeier, S. Voss, Á.W. Imre, H. Mehrer, Molar volume, glass-transition temperature, and ionic conductivity of Na- and Rb-borate glasses in comparison with mixed Na-Rb borate glasses, *J. Non. Cryst. Solids.* 351 (2005) 3816–3825. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2005.10.010.
- [118] M.S. Gaafar, I. Shaarany, T. Alharbi, Structural investigations on some cadmium-borotellurate glasses using ultrasonic, FT-IR and X-ray techniques, *J. Alloys Compd.* 616 (2014) 625–632. doi:10.1016/j.jallcom.2014.07.145.
- [119] J.K.M. de F. Daguano, *Biovidros e vitrocerâmicos bioativos do sistema 3CaO.P2O5-SiO2-MgO para aplicações biomédicas: processamento e caracterizações estruturais, mecânicas e biológicas, Tese de doutorado - USP, 2011.*
- [120] J.K. Weaver, The microscopic hardness of bone., *J. Bone Joint Surg. Am.* 48 (1966) 273–88.
- [121] P.K. Zysset, X. Edward Guo, C. Edward Hoffler, K.E. Moore, S.A. Goldstein, Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamellae measured by



- nanindentation in the human femur, *J. Biomech.* 32 (1999) 1005–1012. doi:10.1016/S0021-9290(99)00111-6.
- [122] E. Mahoney, a Holt, M. Swain, N. Kilpatrick, The hardness and modulus of elasticity of primary molar teeth: an ultra-micro-indentation study., *J. Dent.* 28 (2000) 589–594. doi:10.1016/S0300-5712(00)00043-9.
- [123] Y. Zhang, G. Qu, Y. Lei, W. Liu, L. Cui, A. Lu, Effect of CaF<sub>2</sub> Addition on the Crystallization and Phase Formation in Li<sub>2</sub>O-ZnO-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> Glass-Ceramic, *Int. J. Appl. Ceram. Technol.* 12 (2015) 49–53. doi:10.1111/ijac.12365.
- [124] J.E. De Souza, Estudo das propriedades elétricas de vidros oxifluoroboratos de chumbo pela técnica de espectroscopia de impedância - Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, 2005.
- [125] M.L.F. Nascimento, L.A. Souza, E.B. Ferreira, E.D. Zanotto, Can glass stability parameters infer glass forming ability?, *J. Non. Cryst. Solids.* 351 (2005) 3296–3308. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2005.08.013.
- [126] R. a H. El-mallawany, *Tellurite Glass Handbook - Physical Properties and Data*, 2002.
- [127] S. Arunkumar, K.V. Krishnaiah, K. Marimuthu, Structural and luminescence behavior of lead fluoroborate glasses containing Eu<sup>3+</sup> ions, *Phys. B Phys. Condens. Matter.* 416 (2013) 88–100. doi:10.1016/j.physb.2013.02.022.
- [128] H. Li, Y. Su, L. Li, D.M. Strachan, Raman spectroscopic study of gadolinium ( III ) in sodium-aluminoborosilicate glasses, *J. Non. Cryst. Solids.* 292 (2001).
- [129] C.N. Santos, D.D. Meneses, P. Echegut, D.R. Neuville, a C. Hernandez, a Ibanez, Structural, dielectric, and optical properties of yttrium calcium borate glasses, *Appl. Phys. Lett.* 94 (2009) 3. doi:10.1063/1.3115796.
- [130] R.K. Brow, D.R. Tallant, G.L. Turner, Polyhedral Arrangements in Lanthanum Aluminoborate Glasses, 44 (1997) 1239–1244.
- [131] D. Maniua, T. Iliescu, I. Ardelean, S. Cinta-Pinzaru, N. Tarcea, W. Kiefer, Raman study on B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-CaO glasses, *J. Mol. Struct.* 651–653 (2003) 485–488. doi:10.1016/S0022-2860(03)00129-7.
- [132] E.I. Kamitsos, M.A. Karakassides, G.D. Chryssikost, Vibrational Spectra of Magnesium-Sodium-Borate Glasses. 2. Raman and Mid-Infrared Investigation of the Network Structure, (1987) 1073–1079.
- [133] H. Doweidar, G. El-Damrawi, M. Abdelghany, Structure and properties of CaF<sub>2</sub>-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub> glasses, *J. Mater. Sci.* 47 (2012) 4028–4035. doi:10.1007/s10853-012-6256-y.

- [134] K. Knoblochova, H. Ticha, J. Schwarz, L. Tichy, Raman spectra and optical properties of selected Bi<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PbO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-GeO<sub>2</sub> glasses, *Opt. Mater. (Amst)*. 31 (2009) 895–898. doi:10.1016/j.optmat.2008.10.024.
- [135] J.D.M. Dias, G.H.A. Melo, T.A. Lodi, J.O. Carvalho, P.F. Façanha Filho, M.J. Barboza, A. Steimacher, F. Pedrochi, Thermal and structural properties of Nd<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-doped calcium boroaluminate glasses, *J. Rare Earths*. 34 (2016) 521–528. doi:10.1016/S1002-0721(16)60057-1.
- [136] K. El-Egili, Infrared studies of Na<sub>2</sub>O-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> and Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Na<sub>2</sub>O-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-SiO<sub>2</sub> glasses, *Phys. B Condens. Matter*. 325 (2003) 340–348. doi:10.1016/S0921-4526(02)01547-8.
- [137] L. Balachander, G. Ramadevudu, M. Shareefuddin, R. Sayanna, Y.C. Venudharc, IR analysis of borate glasses containing three alkali oxides, *ScienceAsia*. 39 (2013) 278–283. doi:10.2306/scienceasia1513-1874.2013.39.278.
- [138] P. Pernice, S. Esposito, A. Aronne, V.N. Sigaev, Structure and crystallization behavior of glasses in the BaO-B<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> system, *J. Non. Cryst. Solids*. 258 (1999) 1–10. doi:10.1016/S0022-3093(99)00554-2.
- [139] K.M. El Badry, F.A. Moustaffa, M.A. Azooz, F.H. El Batal, Infrared absorption spectroscopy of some bio-glasses before and after immersion in various solutions, *Indian J. Pure Appl. Phys.* 38 (2000) 741–761.
- [140] A. Yao, M.N. Rahaman, J. Lin, W. Huang, Structure and crystallization behavior of borate-based bioactive glass, *J. Mater. Sci.* 42 (2007) 9730–9735. doi:10.1007/s10853-007-1995-x.
- [141] F.A. Shah, D.S. Brauer, N. Desai, R.G. Hill, K.A. Hing, Fluoride-containing bioactive glasses and Bioglass 45S5 form apatite in low pH cell culture medium, *Mater. Lett.* 119 (2014) 96–99. doi:10.1016/j.matlet.2013.12.102.
- [142] L. Veselinović, L. Karanović, Z. Stojanović, I. Bračko, S. Marković, N. Ignjatović, D. Uskoković, Crystal structure of cobalt-substituted calcium hydroxyapatite nanopowders prepared by hydrothermal processing, *J. Appl. Crystallogr.* 43 (2010) 320–327. doi:10.1107/S0021889809051395.
- [143] P. Comodi, Y. Liu, P.F. Zanazzi, M. Montagnoli, Structural and vibrational behaviour of fluorapatite with pressure. Part I: In situ single-crystal X-ray diffraction investigation, *Phys. Chem. Miner.* 28 (2001) 219–224. doi:10.1007/s002690100154.
- [144] M.A. Lopes, F.J. Monteiro, J.D. Santos, Glass-reinforced hydroxyapatite composites:

- Fracture toughness and hardness dependence on microstructural characteristics, *Biomaterials*. 20 (1999) 2085–2090. doi:10.1016/S0142-9612(99)00112-X.
- [145] A.M. Abdelghany, N.H. Elsayed, A.M. Alturki, Hydroxyapatite formation and bone bonding ability of ternary borate glasses ceramics containing ZnO, *Res. J. Pharm. Biol. Chem. Sci.* 5 (2014) 470–480.
- [146] A.M. Abdelghany, H. Kamal, Spectroscopic investigation of synergetic bioactivity behavior of some ternary borate glasses containing fluoride anions, *Ceram. Int.* 40 (2014) 8003–8011. doi:10.1016/j.ceramint.2013.12.151.
- [147] E.M. Abdelrazek, A. Am, T. Ae, *Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences* Characterization and Physical Properties of Silver / PVA nano-composite, 3 (n.d.) 448–459.
- [148] S. Scott, B. Jenkins, J. Dagenais, R. Currier, HYDROXYLAPATITE R060180, *RRuff.INFO*. 2 (2010) 1–17. <http://rruff.info/Apatite/R060180>.
- [149] S. Scott, B. Jenkins, J. Dagenais, R. Currier, Fluorapatite R050340, *RRuff*. 2 (2010) 1–17. <http://rruff.info/fluorapatite/R050340>.
- [150] W.R. Weinand, Hidroxiapatita natural obtida por calcinação de osso de peixe e a sua aplicação na produção de materiais compósitos cerâmicos biocompatíveis, Universidade Estadual de Maringá - UEM, 2009.