UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Instituto de Química

Departamento de Físico-Química

Modificação da superfície de vidros bioativos com íons cálcio e tratamento térmico.

Dissertação de Mestrado

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, do Instituto de Química – UNICAMP, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Físico-Química.

Aluno: João Henrique Lopes

Orientador: Celso Aparecido Bertran

Co-Orientador: Ítalo Odone Mazali

Campinas - 2010

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE QUÍMICA DA UNICAMP

L881m	Lopes, João Henrique. Modificação da superfície de vidros bioativos com íons cálcio e tratamento térmico / João Henrique Lopes. -- Campinas, SP: [s.n], 2010. Orientador: Celso Aparecido Bertran. Co-orientador: Ítalo Odone Mazali. Dissertação - Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química. 1. Vidro bioativo - Modificação de superfície. 2. Troca iônica. 3. Íons cálcio. 4. Tratamento térmico. I. Bertran, Celso Aparecido. II. Mazali, Ítalo Odone. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Química. IV. Título.

Título em inglês: Surface modification of bioactive glasses with calcium ions and heat treatment

Palavras-chaves em inglês: Bioactive glasses - Surface modification, Ion exchange, Calcium ion, Heat treatment

Área de concentração: Físico-Química

Titulação: Mestre em Química na área de Físico-Química

Banca examinadora: Celso Aparecido Bertran (orientador), José de Alencar Simoni (IQ-UNICAMP), Richard Landers (IFGW-UNICAMP)

Data de defesa: 26/02/2010

DEDICATÓRIA

"*Adoramos a perfeição, porque não a podemos ter;*
repugna-la-íamos, se a tivéssemos.
O perfeito é desumano,
porque o humano é imperfeito. "

Fernando Pessoa

"*Matar o sonho é matarmo-nos.*
É mutilar a nossa alma.
O sonho é o que temos de realmente nosso,
de impenetravelmente e
inexpugnavelmente nosso. "

Fernando Pessoa

"*Façamos da interrupção um caminho novo.*
Da queda um passo de dança,
do medo uma escada,
do sonho uma ponte,
da procura um encontro! "

Fernando Sabino

Dedico às pessoas mais importantes de minha vida...
Ao meu mestre e exemplo de vida....o meu Papai (Joaquim)
A minha guardiã e porto seguro....a minha Mamãe (Dorinha)
Aos meus adoráveis irmãos por estarem sempre comigo...
Pipão (Junara), Nhonha (Gislaine), Marquinho (Marcos)
Finalmente,
A pequena .... e tão grande Manu por tudo...

AGRADECIMENTOS

- A Deus por me iluminar e me guiar para seguir o melhor caminho...
- Ao Prof. Dr. Celso Aparecido Bertran pela orientação e incentivo no desenvolvimento deste trabalho.
- Ao Prof. Dr. Italo Odone Mazali pela Co-orientação neste trabalho, paciência e disponibilidade.
- Ao Prof. Dr. Richard Landers pelo auxílio e disponibilidade de análises de XPS.
- A Rita Vinhas pela valiosa contribuição com as análises e interpretação dos espectros de XPS.
- A Prof. Dra. Maria Izabel Maretti Silveira Bueno pelo auxílio e análises de XRF.
- Agradeço também ao Prof. Oswaldo Luiz Alves pela disponibilidade de seu laboratório (Laboratório de Química do Estado Sólido – LQES).
- A todos os técnicos do Instituto de Química da UNICAMP que através das análises realizadas e treinamentos permitiram com que esse trabalho fosse realizado, em especial para:

  - Raquel Elaine Miller (XRD)

  - Márcia Antonelli (FTIR)

  - Daniel Razzo (SEM-EDS)
- A todos os meus colegas dos vários laboratórios que trabalhei...

  - Laboratório I-130

- Laboratório D-250

- Laboratório de Química do Estado Sólido (LQES)

- Gostaria de agradecer especialmente a Emanuella Fonseca, pelas correções, formatação e revisão da dissertação.
- Finalmente, à minha família Campineira pela amizade ...

  - Febem, Delay ou Paulo Henrique Vilas Boas

  - Fusca ou Marcelo André Fabiano

  - Uniíí ou Luiz Donizetti Ruiz Junior

  - Ronaldo ou André Gergioli Rocha

  - Cleiton ou Marcos Antonio Magalhães Pereira
- Ao Instituto de Química – UNICAMP pela estrutura.
- A CBMM (Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração) pela doação do Nb_2O_5.
- Ao CNPq, pelo apoio financeiro.

"Não há totalidade sem tristeza e saudade,
pois sem elas não há sobriedade nem bondade.
A sabedoria sem bondade e o conhecimento sem sobriedade são inúteis."

Carlos Castañeda (O Fogo Interior)

SÚMULA CURRICULAR

João Henrique Lopes

Dados Pessoais

Nome: João Henrique Lopes

Carteira de Identidade: MG-13.099.812 SSP/ MG

CPF: 058.623.466-78

Endereço eletrônico (e-mail): henriquelopez@gmail.com

Formação Acadêmica

Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP

2008 – 2010 Mestrado em Físico-Química
Título: Modificação da superfície de vidros bioativos com íons cálcio e tratamento térmico.
Orientador: Celso Aparecido Bertran.
Co-Orientador: Ítalo Odone Mazali.
Bolsista: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

Universidade Federal de Lavras – UFLA

2005 - 2008 Graduação em Licenciatura Química.
Universidade Federal de Lavras, UFLA, Lavras, Brasil

2005 – 01/2008 Iniciação Científica
Título: Recuperação de cromo de resíduos da indústria do couro: tratamento do couro wet blue em escala piloto
Orientador: Luiz Carlos Alves de Oliveira.
Bolsista: Instituto Inovação LTDA.

2005 – 06/2006 Estágio no Laboratório de Química Foliar – DQI/UFLA.
Atividades: Estágio em análise química foliar, avaliação do estado de nutrição das plantas, determinação dos níveis dos diferentes elementos minerais nas folhas, orientação para a correção da fertilidade do solo e estudo envolvendo o efeito das adubações sobre o solo e folhas.

Formação complementar

2007 AUTO CAD. Universidade Federal de Lavras, Brasil.

2007 Fundamentos de Catálise, Sociedade Brasileira de Química.

2006 Síntese de Complexos Organometálicos, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Brasil.

2006 Cromatografia Liquida de Alta Eficiência, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Brasil.

2005 Resíduos de Pesticidas, Universidade Federal de Lavras, UFLA, Brasil.

Produção bibliográfica

Artigos em periódicos

1. Nogueira, Francisco G. E. ; do Prado, Nayara T. ; Oliveira, Luiz C.A. ; Bastos, Ana R.R. ; LOPES, J. H. ; de Carvalho, Janice G. . Incorporation of mineral phosphorus and potassium on leather waste (collagen): A new NcollagenPK-fertilizer with slow liberation. Journal of Hazardous Materials (Print), v. 176, p. 374-380, 2010.

2. NOGUEIRA, F ; LOPES, J ; SILVA, A ; GONCALVES, M ; ANASTACIO, A ; SAPAG, K ; OLIVEIRA, L . Reactive adsorption of methylene blue on montmorillonite via an ESI-MS study. Applied Clay Science (Print), v. 43, p. 190-195, 2009.

3. Silva, Adilson C. ; Oliveira, Diana Q.L. ; Oliveira, Luiz C.A. ; Anastácio, Alexandre S. ; Ramalho, Teodorico C. ; Lopes, João H. ; Carvalho, Hudson W.P. ; Torres, Claudia E. Rodriguez . Nb-containing hematites Fe2?xNbxO3: The role of Nb5+ on the reactivity in presence of the H2O2 or ultraviolet light. Applied Catalysis. A, General, v. 357, p. 79-84, 2009.

4. Lopes, J. H. ; Nogueira, F. G. E. ; Oliveira, L. C. A. ; Sapag, K. ; Golçalves, M. ; Pergher, S. (2009): Modified zeolite for removal of organic dye from aqueous medium: evidence of the mechanism via ESI-MS study. Environmental Chemistry Letters – ***submitted.***

Trabalhos em eventos - Expandidos

1. LOPES, J. H.; Gonçalves, M.; PERGHER, S.; Oliveira, L.C. A.. Modificações das zeólitas Na-Y e Na-beta com ferro e cobre para utilização como catalizadores na degradação de azul de metileno. In: XIV Congresso Brasileiro de Catálise, 2007, Cd-Room Anais do 14º CBCat, Porto de Galinhas**- poster.**

2. NOGUEIRA, F. G. E. ; LOPES, J. H.; SILVA, A. C.; Oliveira, L.C. A. Aplicação de rejeitos da indústria do couro como fertilizantes. In: XX congresso de Iniciação científica da UFLA: Cd-Room de Resumo do XX Congresso de Iniciação Científica da UFLA-CIUFLA, 2007, Lavras-MG,

Trabalhos em eventos - Resumos

1. Bioglass® 45S5 surface modification by Ca+2/Na+ ion Exchange; Lopes, J. H., Bertran, C. A., Mazali, I.O.: XII PNCS International Conference on the Physics of Non-Crystalline Solids, Iguaçu Falls, Brazil (2009) **- Combined (oral + poster presentation).**

2. Adsorção Reativa de azul metileno em atapulgita via estudo ESI-MS; LOPES, J. H.; Carcaioli, G. F.; BERTRAN, C. A.; In: 32a Reunião Anual da SBQ, 2009, Fortaleza **- poster.**

3. Estudo de adsorção de composto orgânico utilizando a torta de pinhão residual de pinhão manso (Jatropha curcas L.) proveniente da produção de biodiesel.; LOPES, J. H.; Quites F. J. ; Magriotis, Z. M.. In: 32a Reunião Anual da SBQ, 2009, Fortaleza**- poster.**

4. Estudo da dispersão de atrazina em Matriz polimérica de polihidroxibutirato.; GUARIEIRO, A. L. N., MARTINS, P. F. Q., MACHADO, A. R. T., OLIVEIRA, A. A., FONSECA, E. M. B., LOPES, J. H., REIS, K. C. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Águas de Lindóia, 2008**- poster.**

5. Influência da adição de ácidos orgânicos na estrutura de blendas poliméricas de amido/glicerol.;

FONSECA, E. M. B., LOPES, J. H., MARTINS, P. F. Q., MACHADO, A. R. T., REIS, K. C. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia**- poster.**

6. Síntese e caracterização de blendas de amido/glicerol incorporadas com triadimenol.; FONSECA, E. M. B., LOPES, J. H., MARTINS, P. F. Q., MACHADO, A. R. T., REIS, K. C., TEIXEIRA, A. R. In: 31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, 2008, Águas de Lindóia**- poster.**

7. Remoção do corante azul de metileno utilizando argilas naturais.; LOPES, J. H.; NOGUEIRA, F. G. E. ; SILVA, A. C.; Oliveira, L.C. A.; In: XX Congresso de Iniciação Científica da UFLA- CIUFLA: Cd-Room de Resumo do XX Congresso de Iniciação Científica da UFLA-CIUFLA, 2007, Lavras-MG**- poster.**

8. Scale-up do processo de recuperação de cromo de rejeitos de couro wet-blue e obtenção de colágeno purificado.; NOGUEIRA, F. G. E. ; LOPES, J. H.; Oliveira, L.C. A. In: XX Congresso de Iniciação Científica da UFLA-CIUFLA: Cd-Room de Resumo do XX Congresso de Iniciação Científica da UFLA-CIUFLA, 2007, Lavras-MG**- poster.**

9. Tratamento de rejeitos (couro wet blue) da indústria do couro: Scale-up do processo de extração de cromo e obtenção do colageno purificado.; LOPES, J. H.; NOGUEIRA, F. G. E. ; Lago, R. M.; Oliveira, L.C. A.; In: XXX Reunião Anual da sociedade Brasileira de Quimica, 2007, Aguas de Lindóia**- poster.**

10. Tratamento de Rejeitos Sólidos da Indústria do Couro em Escala Piloto: uma solução simples e economicamente Viável para os resíduos Contendo Cromo.; LOPES, J. H.; NOGUEIRA, F. G. E. ; Oliveira, L.C. A.. In: XX Encontro Regional da SBQ-MG, 2006, São João Del Rei-MG **- poster.**

Participação em eventos

1. XII International Conference on the Physics of Non-Crystalline Solids - PNCS XII (2009), Foz do Iguaçu - Brazil.
2. 9th International Symposium on Crystallization in Glasses and Liquids - Crystallization 2009 (2009), Foz do Iguaçu Brazil.
3. III Fórum de Pós-Graduação em Química (2009): Mudanças climáticas: Riscos e Desafios e Oportunidades, IQ-Unicamp , Campinas – Brasil.
4. 32ª Reunião Anual da SBQ, Fortaleza, 2009.
5. 1º Encontro Nacional do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Biofabricação (BIOFABRIS): Novos Desafios em Biofabricação, 2009.
6. XXI Congresso Nacional de Pós-Graduandos e da II Mostra Científica da ANPG, 2008.
7. II Fórum de Pós-Graduação em Química (2008): Química e os desafios da sustentabilidade, IQ-Unicamp, Campinas – Brasil.
8. 1ª Semana Acadêmica da UFLA, 2007.
9. 30ª Reunião Anual da SBQ. Águas de Lindóia, 2007.
10. I Fórum de Química Ambiental, Lavras. 2007.
11. XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
12. Educação Sexual na Contemporaneidade dos Diferentes Práticas Pedagógicas. 2006.
13. XXI Encontro Regional da Sociedade Brasileira de Química, 2007.
14. III Semana de Cursos da Química UFLA. 2005.

15. Mesa redonda: Química e Sociedade, UFLA, 2005.

Organização de eventos

1. **III Fórum de Pós-Graduação em Química** (2009): Mudanças climáticas: Riscos e Desafios e Oportunidades, IQ-Unicamp , Campinas – Brasil.
2. **XXI Congresso Nacional de Pós-Graduandos e da II Mostra Científica da ANPG.** 2008.
3. **1º Fórum Ambiental de Química- UFLA.** 2007.
4. **4ª Semana Acadêmica de Química-UFLA.** 2006.

Produção Técnica

Patentes

1. **Lopes, J. H.**, Bertran, C. A., Mazali, I. O.: Enriquecimento da superfície de vidros bioativos com cálcio para melhoria do desempenho em aplicações biomédicas – ***(Em processo de obtenção de registro).***

2. **Lopes, J. H.**, Bertran, C. A., Mazali, I. O.: Emprego de sais de ácidos graxos fundidos para troca iônica em vidros em baixas temperaturas – Método LBM – ***(Em processo de obtenção de registro).***

3. **LOPES, J. H., FONSECA, E. M. B., MARTINS, P. F. Q., MACHADO, A. R. T., REIS, K. C.,** "Composto biodegradável obtido a partir de amido e glicerol incorporado com ácidos orgânicos de cadeia curta com diferentes propriedade ópticas"**,** 20.03.2009 **– PI0903958-9.**

Mini-curso

Lopes, J. H., APLICAÇÃO DE VIDROS BIOATIVOS NA REGENERAÇÃO ÓSSEA. III semana acadêmica da UFLA, 2009 (Curso de curta duração).

RESUMO

Modificação da superfície de vidros bioativos com íons cálcio e tratamento térmico

Neste trabalho a superfície do biovidro Bioglass® 45S5 foi modificada pelo enriquecimento com íons cálcio através de processos de troca iônica seguida de tratamentos térmicos de curta duração em vários ciclos. A troca iônica foi realizada por dois métodos distintos usando misturas fundidas de sais de cálcio em duas temperaturas: uma próxima da Tg do biovidro e outra significativamente menor. As modificações na superfície do biovidro, resultantes da troca iônica, foram caracterizadas por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDX-XRF), Espectroscopia de Infravermelho por Reflexão Especular (IRRAS), Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS), Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM - EDS) e Difratometria de raios-X (DRX). Os dois métodos de troca iônica resultaram em diferenças no enriquecimento da superfície com cálcio, caracterizadas por diferentes concentrações superficiais do íon, assim como, espessuras diferentes da camada superficial modificada. O tratamento térmico de curta duração e por vários ciclos, realizado após a troca iônica promoveu a formação de sítios de nucleação na superfície dos biovidros. A presença desses sítios gerou uma redução no tempo de cristalização da apatita na superfície do biovidro, quando imerso em fluído corpóreo simulado (SBF), em comparação com o biovidro sem tratamento. Ainda com o objetivo de promover modificação no Bioglass® 45S5, foram realizados estudos preliminares de modificação da composição deste biovidro pela incorporação de pequenas quantidades óxido de nióbio (Nb_2O_5) na sua composição. As composições dos biovidros contendo óxido de nióbio que resultaram em materiais com propriedades vítreas foram caracterizados por espectroscopia na região do infravermelho por refletância especular.

ABSTRACT

Surface modification of bioactive glasses with calcium ions and heat treatment

The Bioglass® 45S5 surface modification by calcium enrichment through ionic exchange, followed by heat treatment, was the aim of this work. The ion exchange was carried out by two methods employing molten salts of calcium in two different temperatures: one close to Tg of the Bioglass® 45S5 and another lower. The distinct processes of ion exchange resulted in differences in the surface enrichment with calcium, characterized by different surface ion concentrations, as well as, different thicknesses of the surface layer modified by ion exchange. The heat treatment of short duration and several cycles performed after the ion exchange promoted the formation of nucleation centers. The nucleation centers changed the time for crystallization of apatite on the surface of the bioglass submitted to the *in vitro* biocompatibility test, represented by the immersion in simulated body fluid (SBF), showed a shorter time compared to Bioglass® 45S5 without treatment. The Bioglass® 45S5 surface changes were characterized by X-ray fluorescence spectrometry with energy dispersive (EDX-XRF), Infrared reflection absorption spectroscopy (IRRAS), X-rays Photoelectron Spectroscopy (XPS), Scanning Electron Microscopy (SEM -- EDS) and X-ray diffraction (XRD). Another aim of this work was the incorporation of small amounts of niobium oxide (Nb_2O_5) in the composition of Bioglass® 45S5. The materials, obtained after the incorporation of niobium oxide, which show vitreous properties, were characterized by spectroscopy in the infrared region (IRRAS).

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS xix

ÍNDICE DE TABELAS xxi

ÍNDICE DE FIGURAS xxiii

1 – INTRODUÇÃO 1

1.1 - Fundamentação Científica 2
1.1.1 - Biomateriais 2
1.1.2 - Vidros Bioativos 4
1.1.3 - Cinética de reação do biovidro 6
1.2 - Modificações da superfície de biovidros 8
1.2.1 - Troca iônica 8
1.2.1.1 - Difusões de íons em vidros 9
1.2.1.2 - “Insights” sobre a superfície de biovidro enriquecida com íons cálcio 10
1.2.2 - Tratamentos térmicos “flash” 13
1.2.2.1 - Estrutura química dos biovidros 14
1.3 - Biovidros com nióbio 15
1.4 - Testes de Biocompatibilidade: Imersão em Fluido Corpóreo Simulado (SBF) 16
1.5 – Profundidade da superfície modificada pela troca iônica. 19
1.6 – Modelos propostos para a alteração da cinética de formação da apatita na superfície de biovidros. 22

2 – OBJETIVO GERAL 25

2.1 - Objetivos específicos 25

3 – METODOLOGIA 26

3.1 - Obtenção do Bioglass® 45S5 26
3.2 - Processos de enriquecimento do Bioglass® 45S5 com íons 28
3.3 - Indução de cristalização na superfície dos biovidros enriquecidos com íon cálcio por tratamento térmico pulsado (Flash) 29
3.4 - Obtenção do biovidro Bioglass® 45S5 modificado com nióbio 31
3.5 - Caracterização dos biovidros 31
3.5.1 - Caracterização estrutural e química 31
3.5.1.1 - Difratometria de Raios X (XRD) 32
3.5.1.2 - Espectroscopia na região do Infravermelho (IR) 32
3.5.1.3 - Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) acoplada com análise elementar EDS 33
3.5.1.4 - Análise Termogravimétrica (TGA) 33
3.5.1.5 - Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDX-XRF) 33

3.5.1.6 - Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS) 34
3.5.2 - Imersão em Fluido Corpóreo Simulado Modificado (SBF) 34

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....35

4.1 - Parte I- Caracterização do Bioglass® 45S5 e biovidros com superfície modificada.....35
4.1.1 - Bioglass® 45S5 35
4.1.2 - Troca iônica.....38
4.1.3 - Tratamento térmico "flash" 53
4.1.4 – Propriedades gerais da superfície dos biovidros: Formação de fosfatos de carbonatos. 63
4.2 - Parte II- Teste *in vitro* por imersão em SBF.....73
4.3 - Parte III- Bioglass 45S5 com óxido de nióbio em sua composição.....79

5 – CONCLUSÃO 81

5.1 – Caracterização dos biovidros.....81
5.2 – Teste *in vitro* 81
5.3 – Inserção de Nb_2O_5 no Bioglass® 45S5.....82

6 – PERSPECTIVAS FUTURAS 83

7- REFERÊNCIAS 84

LISTA DE ABREVIATURAS

BO: (do inglês) Oxigênio Ligante

EDS: (do inglês) Espectroscopia de Energia Dispersiva

EDX-XRF: (do inglês) Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva

FTIR: (do inglês) Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier

HA: Hidroxiapatita

HCA: Hidroxiapatita Carbonatada

HEPES: Ácido Etanossulfônico 4-2 Hidroxietil Piperazina

IRRAS: (do inglês) Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier por Refletância Especular

K_α: representa a radiação X liberada após o prenchimento de uma camada K por um eletron da camada L

K_β: representa a radiação X liberada após o prenchimento de uma camada K por um eletron da camada M

L_α: representa a radiação X liberada após o prenchimento de uma camada L por um eletron da camada M

MAS-NMR: (do inglês) Rotação ao Ângulo Mágico - Ressonância Magnética Nuclear

NBO: (do inglês) Oxigênio Não-Ligante

NC: (do inglês) Conectividade de Rede

NMR: (do inglês) Ressonância Magnética Nuclear

pH: potencial hidrogeniônico

SBF: (do inglês) Fluído Corpóreo Simulado

SEM: (do inglês) Microscopia Eletrônica de Varredura

SEM-EDS: (do inglês) Microscopia Eletrônica de Varredura acoplada com Análise Elementar

Tc: Temperatura de Cristalização

TEM-EDS: (do inglês) Microscopia Eletrônica De Transmissão acoplada Com Análise Elementar

Tg: Temperatura de Transição Vítrea

TGA: (do inglês) Análise Termogravimétrica

Tris: tris(hidroximetil)aminometano

XPS: (do inglês) Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X

XRD: (do inglês) Difratometria de Raios-X

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Conseqüências das interações implante tecido. 3
Tabela 2: Mecanismo de ação dos biovidros pertencentes ao sistema SiO_2-CaO-Na_2O-P_2O_5 proposto por Hench 7
Tabela 3: Composição do SBF proposto por Oyane et al. (1991) [85]. 17
Tabela 4: Reagentes empregados na síntese do Bioglass® 45S5. 26
Tabela 5: Estágio preliminar de descarbonatação dos reagentes empregados na síntese do Bioglass® 45S5. 27
Tabela 6: Reagentes empregados no preparo dos banhos para troca iônica. 28
Tabela 7: Nomenclatura dos biovidros 30
Tabela 8: Composições químicas contendo Nb_2O_5 testadas no preparo de biovidros. 31
Tabela 9: Comparação da composição nominal e analisada do bulk para o BG45S5. 35
Tabela 10: Composição elementar do bulk e superfície para o BG45S5. 39
Tabela 11: Composições de biovidros com óxido de nióbio. 79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diagrama de fase do sistema SiO_2-CaO-Na_2O-6%P_2O_5 (* composição do biovidro Bioglass® 45S5). 5
Figura 2: Dependência da composição sobre a bioatividade de biovidros. 11
Figura 3: Estrutura química dos vidros silicatos soda-lime. 14
Figura 4: Região amostrada para diferentes técnicas. 19
Figura 5: Gráfico que descreve a Lei de Moseley. 20
Figura 6: Gráfico do comprimento de atenuação de raios-X para SiO_2. 21
Figura 7: Modelo para a formação do filme de HA na superfície do Bioglass® 45S5 em fluído corpóreo. 23
Figura 8: Modelo para a formação da camada de HA na superfície do Bioglass® 45S5 com superfície enriquecida com cálcio em fluído corpóreo. 23
Figura 9: Modelo de formação do filme de HA na superfície do Bioglass® 45S5 com superfície enriquecida com cálcio e tratamento térmico em fluído corpóreo. 24
Figura 10: Etapas do preparo do biovidro Bioglass® 45S5. 27
Figura 11: *Anneling* e seção de corte dos blocos dos biovidros. 27
Figura 12: Esquema do forno empregado no processo de troca iônica. 29
Figura 13: Fluxograma do trabalho realizado com o Bioglass® 45S5. 30
Figura 14: Curva TGA/DTA do BG45S5. 36
Figura 15: Espectro de infravermelho do pó Bioglass® 45S5 (BG45S5). 37
Figura 16: Possíveis interações dos grupos OH nos biovidros BG45S5. 38
Figura 17: Composição elementar dos biovidros obtida por EDX-XRF 5kV. 39
Figura 18: Composição elementar dos biovidros obtida por XPS. 40
Figura 19: Difração de raios-X do BG45S5 (a), BG45Es (b) e BG45Ca(c). 41
Figura 20: Espectro de absorção na região do infravermelho para o BG45S5. 42
Figura 21: Representação esquemática dos movimentos vibracionais de átomos de oxigênio (escuro) com relação aos átomos de silício em ponte (cinza): “rocking” (a) e (b), estiramento simétrico (c) e (d) e estiramento assimétrico (e) e (f). 43
Figura 22: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 b) BG45Es. 44
Figura 23: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 e b) BG45Ca. 46
Figura 24: Reorganização das cadeias de silício pela troca iônica. 48
Figura 25: Espectros de P_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Es e c) BG45Ca. 49
Figura 26: Espectros de Si_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Ca. 50
Figura 27: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45S5 a) 1.000x e b) 5.000x. 51
Figura 28: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45ES a) 1.000x e b) 20.000x. 52
Figura 29: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45ES a) 2.500x e b) 20.000x. 52
Figura 30: Perfil de troca iônica no biovidro BG45Ca obtida por EDS. 53
Figura 31: Difração de raios-X do a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000. 54
Figura 32: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 b) BG45S5_1000. 54

Figura 33: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5_1000 b) BG45Es_1000. 56
Figura 34: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5_1000 b) BG45Ca_1000. 57
Figura 35: Espectros de Si_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000. 58
Figura 36: Área deconvoluída do espectro C_{1s} XPS referente à presença de carbonato iônico. 59
Figura 37: Espectros de P_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000. 59
Figura 38: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45S5_1000. 61
Figura 39: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45Es_1000 a) 10.000x e b) 10.000x. 61
Figura 40: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45Ca_1000 a) 20.000x, b) 10.000x, c) 10.000x e 10 kV e d) 20.000x e 30 kV. 62
Figura 41: Esquema de coordenação do CO_2 com centro catiônico na superfície do vidro. ..64
Figura 42: Tipos de coordenação do CO_2 com centro catiônico na superfície do vidro e seus respectivos valores de absorção no infravermelho 65
Figura 43: Espectro IRRAS para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica (região 2500-1350 cm^{-1}). 66
Figura 44- Espectro XPS C_{1s} BG45S5. 67
Figura 45: Espécies de carbonatos presentes na superfície dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica. 68
Figura 46: Espectros de O_{1s} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Es e c) BG45Ca. ..69
Figura 47: Espectro IRRAS para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica e tratamento térmico (região 2500-1350 cm^{-1}). 70
Figura 48: Espécies de carbonatos presentes na superfície dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica e tratamento térmico. 71
Figura 49: Espectros de O_{1s} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000. 72
Figura 50: Espectro IR do BG45S5 imerso em SBF a) 0 Minutos b) 30 Minutos e c) 60 Minutos. 73
Figura 51:Espectro IR do BG45Es imerso em SBF a) 0 Minutos b) 30 Minutos e c) 60 Minutos. 74
Figura 52: Espectro IR do BG45S5 imerso em SBF a) 0 Minutos e b) 30 Minutos. 75
Figura 53: Micrografias do BG45S5: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos. 76
Figura 54: Micrografias do BG45Es: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos. 76
Figura 55: Micrografias do BG45Ca: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos. 76
Figura 56: Cristalização da apatita nos biovidros submetidos troca iônica imergidos em SBF por 4 dias. 77
Figura 57: Cristalização da apatita nos biovidros submetidos ao tratamento térmico após imersão em SBF. 78
Figura 58: Espectros IRRAS dos biovidros modificados com Nb_2O_5. 80

1 – INTRODUÇÃO

O desenvolvimento dos biovidros em 1971 pelo Prof. Hench marcou a gênese de uma nova classe de biomateriais, os bioativos. Os vidros bioativos foram os primeiros materiais sintéticos que apresentaram a capacidade de se ligar diretamente aos tecidos vivos. Acoplados a essa habilidade, estudos subseqüentes demonstraram a excelência desses materiais, considerando os critérios de biocompatibilidade, osteocondutividade e osteoestimulação [1,2,3].

Os biovidros desenvolvidos por Hench são vidros que pertencem ao sistema SiO_2 - CaO – Na_2O – P_2O_5. Para estes materiais bioativos, os íons cálcio estão sempre presentes nas fases formadas na superfície devido à ação de tratamentos térmicos ou pela ação do fluído corpóreo [4,6].

O sucesso dos biovidros como biomaterial está relacionado ao mecanismo que leva este material a estimular uma rápida regeneração óssea quando implantado [1,2]. Tal mecanismo demonstra a importância da superfície no processo da osteogênese, que resulta na regeneração óssea, e seu papel na formação da fase inorgânica presente na matriz óssea. Além disso, o estudo detalhado desse mecanismo abre possibilidades de intervenção na cinética e na capacidade destes materiais de se ligarem ao osso, através de modificações introduzidas em sua superfície [2,3,6]. Entre os biovidros com uso estabelecido, o Bioglass® 45S5 se destaca devido à grande excelência como material bioativo.

O enriquecimento da superfície deste material com íons Ca^{2+} e o tratamento térmico de curta duração são de especial interesse para se estudar a interferência que pode ser provocada na cinética do mecanismo do processo de regeneração óssea, considerando a bioatividade impar do Bioglass 45S5.

Outro aspecto pertinente é o estudo dos efeitos nas propriedades do Bioglass® 45S5 decorrentes da inserção de pequenas quantidades de nióbio, na forma de óxido, na sua composição. A presença desse elemento em biomateriais tem sido muito pouco explorada na literatura, entretanto, as poucas abordagens indicam que a presença do íon Nb^{5+} resulta no aumento da resistência mecânica, no aumento da velocidade de ligação e na formação de tecido ósseo ligado ao biovidro [7,8].

1.1 - Fundamentação Científica

1.1.1 - Biomateriais

O termo biomaterial tem sido empregado para qualquer substância ou combinação de substâncias, sintética ou natural, que possa ser usada por um período de tempo, completa ou parcialmente, como parte de um sistema que trate, aumente ou substitua qualquer tecido, órgão ou função do corpo [9].

Historicamente, pode-se considerar que os biomateriais são tão antigos quanto à existência humana, como indica a descoberta do uso de placas de ouro e prata para fechar os orifícios de trepanações e o uso de fios de seda como sutura em ferimentos de guerra no Egito Antigo [10].

Entretanto, somente na década de 60 é que materiais começaram a ser desenvolvidos para essa finalidade específica. Estes materiais marcaram a primeira geração de biomateriais, os quais almejavam uma semelhança entre as propriedades do tecido substituído e do material implantado para uma adequada interação. Além de satisfazer a esta premissa, os materiais a serem implantados, deveriam responder com uma toxicidade mínima. Desta maneira, esses materiais introduziram o conceito de “bioinerte” em biomateriais, ou seja, dispositivos que resultem numa ínfima resposta imunológica para o corpo [1]. O nome bioinerte advém do fato de que nenhum material pode ser totalmente inerte quando implantado no tecido vivo. Todo implante produz uma resposta na interface com o tecido hospedeiro que depende de vários fatores, tais como: sua composição química, propriedade mecânica, reatividade da superfície, entre outros [2].

As características dos biomateriais da década de 60 foram profundamente estendidas com a introdução do conceito de bioativos, aplicados inicialmente aos biovidros da década de 70. Os biomateriais bioativos apresentavam a habilidade de interagirem quimicamente com o tecido vivo através de uma região de interface. Esta segunda geração dos biomateriais foi assinalada pelo surgimento dos vidros bioativos, os quais produzem componentes bioativos devido a reações específicas em ambiente fisiológico. Outra classe de biomaterial desenvolvido na segunda geração foram os reabsorvíveis, os quais se decompõem de modo controlado em contato com o fluído corpóreo. Entretanto, sua aplicação é complicada, pois,

muitas vezes, exige a imobilização do paciente por longos períodos, o que inviabiliza seu emprego. Além disso, grande parte dos materiais sintéticos (primeira e segunda geração) tem vida útil limitada por não serem capazes de responder a estímulos bioquímicos e mudanças bruscas de carga [1].

De forma peculiar, o vidro bioativo Bioglass® 45S5, embora também seja de 2ª geração, apresenta a habilidade de estimular repostas específicas a nível molecular, o que o diferencia dos demais materiais dessa geração. Esse biovidro libera, de forma controlada, concentrações críticas dos íons Si, P, Ca e Na, o que tem sido relacionado ao aumento da formação óssea *in vitro* sobre Bioglass® 45S5, através de estimulações específicas dos processos de diferenciação e proliferação de células da linhagem osteoblástica [11-14]. Além disso, recentemente Hench et al. [15], Xynos et al. [16] e Loty et al. [17] demonstraram a influência deste material na expressão de genes relacionados a esses processos.

De forma semelhante, todos os materiais que têm a habilidade de ativar genes e que estimulam a regeneração de tecidos vivos pertencem à terceira geração dos biomateriais [1]. Assim, considerando seu grande potencial em aplicações biomédicas, o Bioglass® 45S5 foi o material de partida adotado neste trabalho.

Na Tabela 1 é possível visualizar de forma resumida exemplos de materiais de cada geração, bem como, o tipo de reação entre o tecido e o implante e as conseqüências dessas interações.

Tabela 1: Conseqüências das interações implante tecido.

Geração	Exemplo	Reação tecido/implante	Conseqüência
---	---	Tóxica	Morte do tecido
Primeira geração	Metais (Ti), ligas metálicas e cerâmicas (Al_2O_3 e ZrO_2)	Bioinerte	Formação de uma camada fibrosa não aderente ao redor do implante
Segunda geração	Bioglass® 45S5	Bioativos	Formação de uma ligação interfacial com o implante
	HA, polilactato (PLA)	Dissolução do implante	O tecido substitui o implante
Terceira geração	Bioglass® 45S5	Ativação de genes	Regeneração do tecido

1.1.2 - Vidros Bioativos

Atualmente, um crescente número de dispositivos médicos em desenvolvimento está relacionado ou foi inspirado nos biovidros de silicatos desenvolvidos pelo Professor Larry L. Hench na década de 70. Estes vidros têm sua ação química praticamente fundamentada na reatividade de superfície e solubilidade, através de uma seqüência de reações complexas que se iniciam com sua exposição ao meio fisiológico. Por outro lado, a atividade biológica destes biovidros é fortemente influenciada por diversos outros fatores tais como: tamanho de partícula, porosidade/área superficial e principalmente pela sua composição química [18-20].

Diversos estudos [21-24] envolvendo partículas de biovidros menores que 100 µm têm demonstrado que estes materiais exibem propriedades anti-microbiana e anti-inflamatória, potencialidades bastante apreciadas no campo da medicina regenerativa.

Vallet-Regi et al. e vários outros autores [25-27] têm mostrado que, além da composição química, a formação da camada de apatita sobre a superfície do vidro também pode ser governada pelas suas propriedades texturais, mais especificamente diâmetro de poros e área superficial.

A bioatividade dos vidros bioativos é fortemente dependente da composição, conforme investigado de forma pioneira por Hench e colaboradores [2]. Em seus estudos, Hench analisou uma série de vidros em sistema de quatro componentes, mantendo uma quantidade fixa de P_2O_5 (6 % em massa). Os resultados desse trabalho podem ser resumidos pelo diagrama ternário SiO_2-Na_2O-CaO da Figura 1. A região delimitada em branco (A) representa as composições dos vidros que apresentam a capacidade de se ligarem a tecidos duros (ossos). A pequena região demarcada pela linha tracejada dentro da região A representa a composição química dos vidros que tem habilidade de se ligarem tanto aos tecidos duros quanto aos tecidos moles (tendões e músculos). Na região B estão os vidros bioinertes que quando implantados são geralmente encapsulados por tecidos fibrosos. A região C corresponde às composições de vidros bioreabsorvíveis, os quais se decompõem na presença do fluído corpóreo e, por último, a região D referente às composições não passíveis de formar vidro.

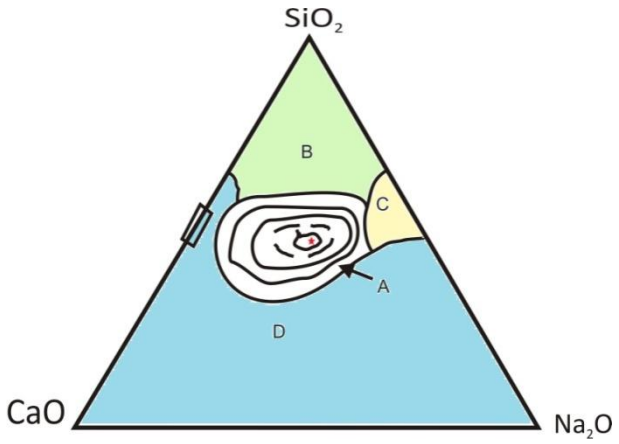

Figura 1: Diagrama de fase do sistema SiO_2-CaO-Na_2O-6%P_2O_5 (* composição do biovidro Bioglass® 45S5).

Dentre todos os biovidros estudados por Hench, o Bioglass® 45S5 com composição 45 % SiO_2, 24,5 % CaO, 24,5 % Na_2O e 6,0 % P_2O_5 (% mol) tornou-se mais difundido devido à facilidade de preparo e a excelente resposta bioativa (A composição do Bioglass 45S5 está representada pelo asterisco na Figura 1 [28, 29]. Ele é o mais bioativo de sua classe, pois cristaliza hidroxiapatita (HA) em poucas horas depois de implantado e forma ligação com tecidos, duros e moles, em aproximadamente uma semana [30]. Assim, o Bioglass® 45S5 tem sido definido como sendo *"padrão ouro"* para aplicação em procedimentos regenerativos ósseos [31].

Embora o entendimento da função individual de cada componente no sistema não seja tarefa fácil, é possível fazer alguns comentários observando os efeitos da inserção de cada componente em sistemas vítreos e a influência no processo de biomineralização [32].

O óxido de silício é o principal componente formador da matriz vítrea presente no Bioglass® 45S5 e sua participação em processos ligados a biomineralização ainda tem sido motivo de discussão. A formação de uma camada superficial rica em sílica e grupos silanóis (grupos Si-OH) na superfície do vidro é considerada essencial para induzir a nucleação de fosfato de cálcio e a cristalização da apatita na presença dos fluidos corpóreos [29,30,33]**.** A inatividade dos vidros de silicato contendo mais de 60% SiO_2 é conseqüência de uma menor solubilidade do material, o que resulta em uma taxa extremamente lenta de formação de HA, de modo que nenhum vínculo é produzido na interface osso-implante [1,33]. Os modificadores de rede (Na e Ca), considerando a rede de sílica que constitui o vidro, atuam

na solubilidade do vidro em um processo de troca iônica com o meio, promovendo assim aumento do pH local, indispensável para dissolução da rede de sílica [21,30,34].

A incorporação de uma pequena fração de P_2O_5 contribui para a deposição de HA e interfere na capacidade do biovidro em se ligar no osso, embora não seja estritamente necessário para a bioatividade [35-38]. Diversas interpretações referentes a esse efeito têm sido propostas: a conectividade reduzida do fósforo incorporado nos biovidros facilita a liberação de espécies adicionais de fosfato solúvel em contato com o os fluídos corpóreos, o que pode aumentar a supersaturação local e acelerar a precipitação [35]. Os fosfatos solúveis podem ainda funcionar como um tampão, impedindo a acidez excessiva da superfície, o que poderia impedir a formação da ligação óssea [40]. Além disso, foi observado que a presença de fosfato no vidro leva à deposição de um filme de HA mais uniforme, que, por sua vez, determina uma ligação mais forte com o osso, em comparação com as composições sem fósforo [37,41].

1.1.3 - Cinética de reação do biovidro

Os vidros bioativos, depois de implantados *in vivo* ou em testes *in vitro*, em contato com uma solução fisiológica possuem a capacidade de desenvolver de forma rápida uma região de interface que permite sua ligação com o tecido hospedeiro. A chave dessa habilidade dos biovidros deve-se à formação de um filme cristalino de fosfato de cálcio (mesma composição da matriz óssea inorgânica) sobre sua superfície, o qual funciona como sinalizador para as células iniciarem suas atividades biológicas [2]. Deste modo, a dissolução parcial dos vidros na presença de fluido corpóreo é um processo essencial para liberação de íons cálcio e fosfato, que contribuem para o crescimento do filme de HA, além de ativar genes que controlam os processos de reparo celular [1,42,43].

O mecanismo proposto por Hench [3,34] para bioatividade desses biovidros, e que tem sido amplamente aceito, é composto por onze reações seqüenciais. Este mecanismo foi baseado em estudos de corrosão de vidros "*soda-lime*" e também por estudos espectroscópicos (FTIR), sendo fundamentado no comportamento deste material quando posto em contato com o fluído corpóreo [34].

De forma geral, a partir da imersão de um biovidro em solução aquosa similar aos fluidos corpóreos, pode ser esperada a ocorrência de três eventos expressos em 5 estágios: lixiviação, dissolução e precipitação. Assim, os biovidros inicialmente perdem íons sódio e cálcio por troca com íons H_3O^+ da solução. Tal lixiviação promove um aumento local do pH, ocasionando a quebra dos grupos Si-O-Si da superfície e liberando sílica solúvel para a solução. Esta dissolução culmina na formação de uma camada rica de sílica hidratada pela condensação dos grupos silanóis. Em seguida, ocorre a incorporação de PO_4^{3-} e Ca^{2+} advindos da migração desses grupos da solução para a superfície do biovidro, resultando na formação da camada de fosfato de cálcio. Esta camada, inicialmente não-cristalina, evolui gradualmente para uma camada policristalina pela incorporação adicional de ânions carbonato da solução e cristaliza-se em hidroxiapatita carbonatada (HCA) como fase principal. A Tabela 2 traz um sumário de todas estas etapas.

Tabela 2: Mecanismo de ação dos biovidros pertencentes ao sistema SiO_2-CaO-Na_2O-P_2O_5 proposto por Hench.

Estágios		Reação
I -	Troca iônica	Rápida troca do Na^+ e Ca^{2+} com H_3O^+ da solução $Si\text{-}O^-Na^+ + H_3O^+ \rightarrow Si\text{-}OH + Na^+_{(solução)} + H_2O$ $Si\text{-}O^-Ca^{2+} + {}^-O\text{-}Si + 2H_3O^+ \rightarrow Si\text{-}OH + Ca^{2+}_{(solução)} + 2H_2O$
II -	Hidrólise da rede vítrea	Perda de SiO_2 da superfície na forma $Si(OH)_4$ para a solução, resultante da quebra da ligação Si-O-Si e formação de grupos silanóis (Si-OH) na interface vidro solução. $2(Si\text{-}O\text{-}Si) + 2\,(OH) \rightarrow Si\text{-}OH + HO\text{-}Si$
III -	Policondensação de grupos silanóis	Condensação e re-polimerização de uma camada rica SiO_2 na superfície $-O\text{-}\overset{\vert}{\underset{\vert}{Si}}\text{-}OH + HO\text{-}\overset{\vert}{\underset{\vert}{Si}}\text{-}O- \rightarrow -O\text{-}\overset{\vert}{\underset{\vert}{Si}}\text{-}O\text{-}\overset{\vert}{\underset{\vert}{Si}}\text{-}O- + H_2O$
IV -	Formação de uma filme de CaP não cristalino	Migração dos grupos Ca^{2+} e PO_4^{3-} para a superfície do vidro através de uma camada rica SiO_2, formando um filme rico de CaO-P_2O_5 sobre a camada rica de SiO_2, seguido pela incorporação de cálcio e fosfato solúvel da solução.
V -	Cristalização de HCA	Cristalização do filme não-cristalino Ca-P_2O_5 pela incorporação dos ânions OH^-, CO_3^{2-} ou F^- da solução para formar uma camada heterogênea de HCA ou HidroxiCarbonatoFluorApatita (HCFA).
VI-XI -	Eventos biológicos	Formação da interface entre o biovidro e o tecido.

A camada formada, rica em fosfato de cálcio, é importante para que se estabilize o processo de dissolução do vidro e possibilite que processos físico-químicos ocorram, resultando na ligação da superfície vítrea com o tecido ósseo, que irá se formar após o implante [3,44-46].

A camada de HCA formada na superfície do biovidro é um ambiente ideal para dar início aos seis estágios das reações celulares, os quais incluem a colonização por osteoblastos, seguido pela proliferação e diferenciação das células para formar o novo tecido que tem uma ligação forte com a superfície do biovidro [1].

É interessante notar que as cinco etapas propostas pelo mecanismo de degradação dos biovidros ocorrem apenas em sua superfície. As etapas biológicas, para formação da interface com o tecido, ocorrem como conseqüência de uma alteração da composição química (formação HA) dessa superfície. Assim, a modificação prévia da composição dessa superfície, na direção da formação de núcleos de fosfatos de cálcio, mostra uma forma plausível de abreviar o início dos eventos biológicos e alterar sua bioatividade.

1.2 - Modificações da superfície de biovidros

1.2.1 - Troca iônica

Quando um vidro é colocado em meio contendo o sal fundido ou em solução aquosa, os íons metálicos podem trocar com os cátions presentes na estrutura vítrea. Os processos envolvendo troca iônica vêm sendo empregados em diversos campos das ciências dos materiais para diversas finalidades tais como: produção de janelas de cabine dos aviões, pára-brisas de trens de alta velocidade, óculos oftálmicos sofisticados, vidros para máquinas copiadoras, vidro substrato utilizado na fabricação da unidade de disco rígido de computadores e itens de vidro para os sistemas com a propriedade denominada "*entrega controlada de drogas*" [47].

Geralmente o processo de troca iônica é usado quando se deseja reforçar dispositivos vítreos sem alterar negativamente suas propriedades ópticas. Em comparação com o método convencional, "*thermal tempering"* o processo de troca iônica possui algumas vantagens que merecem ser destacadas: um maior incremento nas propriedades mecânicas dos vidros,

alterando apenas uma fina camada superficial e a manutenção da qualidade óptica do vidro original [47]. Comumente, no processo de troca iônica para os vidros, empregam-se temperaturas próximas à transição vítrea do material em estudo, seja para obter uma maior eficiência no processo de troca, ou seja, pela dificuldade de se obter banhos fundidos contendo o íon desejado em temperaturas inferiores.

Outra aplicação promissora, mas pouca explorada é representada pela modificação superficial de biovidros para uso em dispositivos biomédicos. Esta técnica pode ser empregada para modificar a composição química da superfície dos biovidros, promovendo alterações na cinética de formação de HCA em meio corpóreo ou mesmo incrementando-o com novas propriedades de interesse.

Di Nunzio et al. estudou a cinética de enriquecimento de prata na superfície de vidros bioativos empregando o processo de troca iônica. Foi observada uma forte dependência da bioatividade com a profundidade da composição modificada. Além disso, testes de micro-indentação revelaram que a troca do Na^+ pelo Ag^+ promove uma força de compressão na superfície, melhorando sua resistência mecânica [48].

Em resumo, o processo de troca iônica pode ser usado diretamente como método para modificação da composição superficial de dispositivos médicos finais baseados em vidros, podendo ainda ser facilmente aplicado em escala industrial [48].

1.2.1.1 - Difusões de íons em vidros

A difusão de íons para o interior da rede formadora de vidros através do processo de troca iônica é um fenômeno bastante estudado em diversos campos da ciência. A inserção de espécies na rede dos vidros pode modificar profundamente as suas propriedades e tais modificações têm sido exploradas em estudos de comportamento fotônico, elétrico e mecânico dos vidros, assim como, em estudos envolvendo a reatividade da superfície após a troca [49,50].

A difusão de cátions e ânions de grande valência para o interior da rede formadora dos vidros ocorre muito mais lentamente que a observada para os monovalentes. Tanguep Njiokep et al [51] realizaram medidas de difusão dos isótopos radiativos ^{22}Na e ^{45}Ca em sistemas vítreos SiO_2-NaO-CaO, em temperaturas que variaram de 200 a 510ºC. Os

resultados mostraram que a difusão do ^{22}Na é seis ordens de magnitude mais rápida em comparação ao ^{45}Ca. De forma similar, Frischat, medindo a difusão do íon cálcio no vidro Infrasil (Sílica Fundida) a 1000ºC, obteve um valor de 2,0 x 10^{-8} cm^2. s^{-1} para o cálcio, aproximadamente 400 vezes menor que do sódio na mesma temperatura, embora o raio iônico do cálcio e do sódio sejam próximos, 0,99 e 0,90 Å respectivamente [52]. Esses resultados evidenciam o grande efeito da carga do íon no processo de difusão. Para o fósforo na forma de fosfato, embora haja uma incerteza elevada na determinação, o coeficiente de difusão obtido é da ordem de 7,7 x 10^{-14} cm^2. s^{-1} a 1000ºC em sílica vítrea [53].

Em sistemas vítreos tipo SiO_2-Na_2O-CaO-P_2O_5, quando submetidos a banho de cálcio fundido, pode-se esperar a troca de dois sódios da estrutura vítrea por um cálcio do banho. O mecanismo para difusão sugere que, à medida que a interdifusão avança, a diferença na mobilidade dos íons sódio e cálcio na rede vítrea geram uma interface de carga elétrica negativa. Conseqüentemente, esse gradiente de potencial elétrico acelera o fluxo do cálcio e reduz o fluxo do sódio, assegurando a eletroneutralidade da difusão. [6].

De qualquer maneira, os resultados para a difusão de cálcio, obtidos nos trabalhos referenciados, indicam que em um processo de troca iônica envolvendo este íon, pode-se esperar que ela ocorra preferencialmente na superfície do vidro.

1.2.1.2 - “Insights” sobre a superfície de biovidro enriquecida com íons cálcio

Uma questão bastante interessante que pode ser levantada sobre as transformações químicas que ocorrem na superfície, para os diversos tipos de implantes ósseos, refere-se ao fato de todas as superfícies serem modificadas para uma apatita biológica (fosfato de cálcio presente nos tecidos) comum a todas elas. Tal observação indica que o estudo de superfícies modificadas pode permitir um considerável avanço no entendimento de fatores como a formação de centros de nucleação em potencial que determinarão a cinética de formação da camada de HA [54].

Conforme mencionado anteriormente, o mecanismo de formação da HA, em seu estágio inicial, é um processo limitado à superfície do biovidro, seguido da dissolução parcial da rede vítrea e da formação de uma camada rica de sílica hidratada ou grupos hidroxilas

(Si-OH). De forma geral, existe concordância na literatura no que diz respeito à relação entre a quantidade desses grupos Si-OH na superfície com a velocidade de nucleação do fosfato de cálcio e a cristalização da apatita [33, 55, 56].

O processo de troca iônica altera a composição química da superfície do biovidro Bioglass® 45S5 e, conseqüentemente, a concentração dos grupos silanóis na superfície. Para demonstrar esse efeito, pode-se utilizar o diagrama de fase apresentado na Figura 2, proposto por Larry L. Hench & June Wilson para os biovidros pertencentes ao sistema P_2O_5-CaO-SiO_2-Na_2O, que mostra as relações entre o índice de bioatividade I_B[1] e a composição do sistema quando a quantidade de P_2O_5 é igual a 6 % [2].

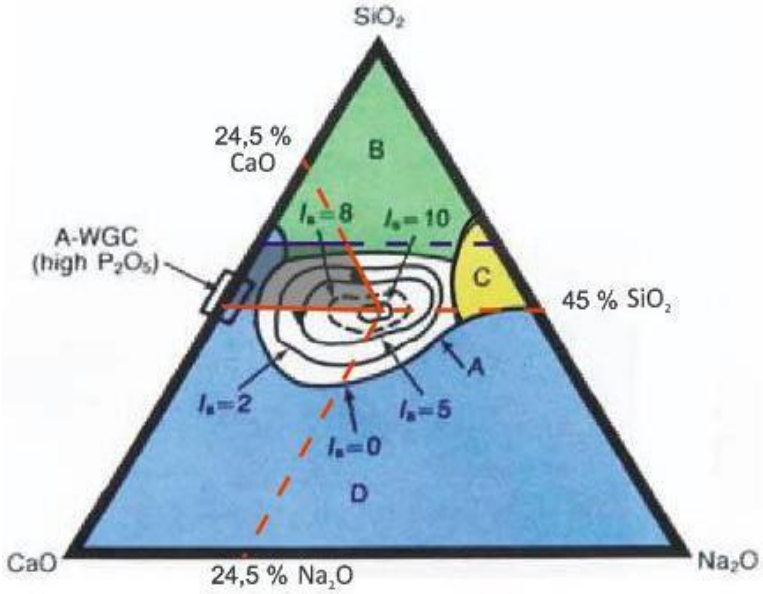

Figura 2: Dependência da composição sobre a bioatividade de biovidros [2].

Como pode ser observado, o I_B para a composição correspondente ao Bioglass® 45S5, apresenta o valor máximo para este índice. Neste diagrama de fases foi sobreposta uma área sombreada que representa possíveis composições para vidros com maior porcentual de cálcio, menor porcentual de sódio e conseqüentemente, maior porcentual de sílica em relação ao Bioglass® 45S5. Esta área contempla também as possíveis composições da superfície do Bioglass® 45S5 modificado pela troca iônica entre os íons sódio e cálcio,

[1] O índice de bioatividade de um material específico é relacionado com o tempo necessário para que mais de 50% interface possa estar ligada ao tecido $(t_{0,5bb})$.

Índice de Bioatividade, $I_B = 100/t_{0,5bb}$

realizadas neste trabalho. Como pode ser observado a partir do diagrama, o enriquecimento da superfície com cálcio associada à depleção da concentração de sódio nos limites estabelecidos pela área sombreada resulta também no enriquecimento da superfície em sílica [2].

Conforme mencionado, a formação, o crescimento e a estabilidade do filme de sílica gel, etapa fundamental para a velocidade na qual as demais etapas ocorrerão, dependem da competição entre as velocidades de dois processos: a solubilização do filme na forma de SiO_4^{4-} causada pelo aumento local de pH *versus* a velocidade do processo de condensação entre os silanóis livres do filme, processo que estabiliza e cresce o filme de sílica gel [2].

Como reportado por C. Foullet-Houtlemane et al. [32] e Koga et al. [57], os biovidros com composição próxima ao Bioglass® 45S5, porém ricos em cálcio e sílica (até o limite de 55% de sílica), formam o filme de sílica gel mais rapidamente que o próprio Bioglass® 45S5. A maior velocidade de formação do filme de sílica gel também foi observada em vidros Na_2O-CaO-SiO_2 com composições ricas em sílica (50%), como relatado por Kokubo et al. [58].

Naturalmente, os vidros com composição diferente do Bioglass® 45S5 apresentam um tempo total para formação da camada de hidroxiapatita carbonatada cristalina (tempo diretamente relacionado a um menor valor do índice I_B) maior que o 45S5 porque, após a formação rápida do filme de sílica gel, a interface filme de sílica gel / biovidro não tem a composição otimizada do 45S5, fato que justifica a inutilidade do preparo de biovidros com composição de "*bulk*" diferente do 45S5.

Dessa maneira, se a mudança de composição fosse estendida da superfície para o interior do vidro ("*bulk*") ou se a superfície vítrea não sofresse modificação pela ação do fluido corpóreo, haveria uma drástica redução do I_B, resultando em uma piora significativa das propriedades biocompatíveis do biovidro. Esse fato justifica o foco principal desse trabalho de se limitar a uma modificação estritamente superficial, tornando mais rápida à formação do filme de sílica gel, sem perder as características excepcionais da interface Bioglass 45S5® / tecido hospedeiro.

1.2.2 - Tratamentos térmicos “flash”

A presença do fósforo na composição da matriz vítrea contendo modificadores de rede é importante para induzir a separação de nano-agregados, devido à sua interação com esses íons ser bastante favorável. Dessa maneira, o fósforo aumenta a tendência de cátions modificadores de agregar-se e concentrar-se em certas regiões formando microdomínios. Além disso, existem muitas evidências de que microdomínios cristalinos de fosfatos atuam como sítios de nucleação heterogênea no processo de cristalização do vidro [30, 33, 59, 60].

De fato, Vallet-Regi et al. estudando superfície de vidros silicatos por XPS e TEM-EDS, observaram a presença de micro-domínios cristalinos de fosfatos de cálcio na superfície de vidros, formados pela associação preferencial de cálcio e fósforo. Do ponto de vista termodinâmico, o aparecimento desses micro-domínios de fosfatos de cálcio, ou mesmo silicatos de cálcio, na matriz vítrea não é surpreendente devido ao fato de essas fases serem bastante estáveis [25].

Lusvardi e colaboradores estudando sistemas vítreos silicatos propuseram diferentes forças que dirigem a nano-segregação em vidros bioativos. Em composições semelhantes ao Bioglass® 45S5 a separação de fase rica em fósforo na presença de modificadores de rede é favorecida da rede sílica [61].

Lammert & Heuer mostraram que a presença de micro-domínios de fosfato de cálcio afeta o transporte iônico dos íons na rede vítrea e por isso tem sido associado a uma redução da bioatividade dos biovidros [62]. Wu et al. e El-Ghannam et al. atribuíram a redução da bioatividade à redução da solubilidade do biovidro, devido à oclusão dos íons cálcio e fósforo nesses domínios, impedindo sua migração para a superfície na presença do líquido corpóreo [63, 64].

Neste trabalho, todavia, propõe-se a formação de fases ricas em fósforo apenas na superfície, o que não afetaria a migração dessas espécies para a superfície em contado com o fluído corpóreo. De fato, Vallet-Regi et al. mostrou que a presença de micro-domínios na superfície dos biovidros tem um impacto positivo sobre a bioatividade. Quando em contato com o fluído corpóreo, esses micro-domínios atuam como centros preferenciais para cristalização da apatita [25].

A formação de micro-domínios de fosfato de cálcio pode ser induzida em superfícies vítreas através de estímulos térmicos de curta duração. Por outro lado, tratamento térmico por longos períodos poderiam promover uma cristalização descontrolada, alterando negativamente as propriedades bioativas do material. Além disso, uma superfície enriquecida com íons cálcio poderia facilitar a formação dessas fases por estímulos térmicos.

1.2.2.1 - Estrutura química dos biovidros

Os vidros baseados em SiO_2 são de longe os mais estudados no campo dos biomateriais. Estes vidros são caracterizados por apresentarem uma estrutura sólida não-cristalina formada por uma rede de tetraedros SiO_4 como "*building blocks*". Os tetraedros são ligados covalentemente por um átomo de oxigênio Si-BO-Si (BO, *Bonding Oxygen*). No caso dos vidros bioativos, a presença de metais alcalinos e alcalinos terrosos quebra a rede silicato substituindo Si-BO-Si por Si-NBO (NBO, *Non-Bonding Oxygen*). A Figura 3 ilustra o efeito dos íons modificadores sobre a rede de SiO_2 [30, 65].

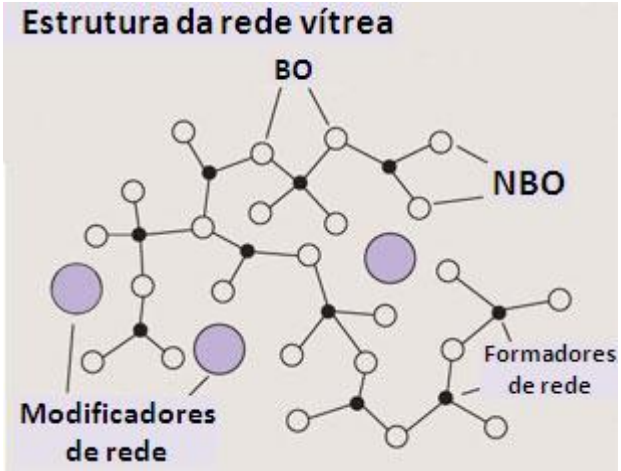

Figura 3: Estrutura química dos vidros silicatos soda-lime.

A estrutura aniônica básica de vidros silicatos tem sido amplamente estudada por Ressonância Magnética Nuclear de ^{29}Si (^{29}Si NMR) [66-69]. Essa técnica tem revelado, para esses vidros, uma estrutura principal formada por 5 estruturas aniônicas, as denominadas espécies Q^n: SiO_4^{-4} (Q^0, orto-silicatos), $Si_2O_7^{-6}$ (Q^1, di-silicatos), $Si_2O_4^{-6}$ (Q^2, meta-silicatos),

$Si_2O_5^{-2}$ (Q^3, filo-silicatos) e SiO_2 (Q^4, tecto-silicatos). Os resultados de NMR têm mostrado que para o Bioglass® 45S5 há a predominância de espécies ${}_{Si}Q^2$ e uma menor presença das espécies ${}_{Si}Q^3$ [33, 68].

A especiação do P no Bioglass® 45S5 tem sido determinada por experimentos de ^{31}P MAS-NMR, os quais tem revelado a presença de uma pequena fração de espécies de piro-fosfatos (${}_PQ^1$ ou Si-O-P(-O_3)) coexistindo com as espécies majoritárias de orto-fosfato (${}_PQ^0$) [69].

De forma a suplementar as idéias proposta por Hench para os mecanismos que justificam sua bioatividade, os vidros silicatos têm sido abordados como cadeias poliméricas inorgânicas de oxigênio e silício. Esse modelo foi proposto por Holliday [70] e tem sido empregado por diversos autores como Hill [69] e Ray [71]. Essa abordagem introduz o conceito da conectividade de rede, (NC, *network connectivity*) que é definida como o número médio de átomos BO por espécies formadoras do vidro. O Bioglass® 45S5, por exemplo, exibe uma NC de 1,9, ou seja, uma cadeia fortemente fragmentada [34].

A presença de modificadores de rede abre a rede silicato do vidro pela quebra das ligações Si-O-Si, reduzindo sua conectividade e aumentando sua reatividade e sua solubilidade [30, 72,73].

A literatura que constitui a parte inicial deste capítulo, envolvendo as propriedades e características dos biovidros e em particular do Bioglass® 45S5, demonstra que a maior parte dos trabalhos existentes foca nas propriedades de sólido estendido ("*bulk*") na busca de novas composições que apresentem bioatividade. Assim, este trabalho apresenta um caráter inovador por estudar o efeito de modificações da superfície de biovidros, em suas propriedades relacionadas á bioatividade, através do enriquecimento da superfície com íons cálcio, preservando as propriedades bioativas do "*bulk*".

1.3 - Biovidros com nióbio

Estudos sobre biocompatibilidade, envolvendo o elemento nióbio em biomateriais, têm sido realizados principalmente para o elemento na forma metálica como componente de ligas utilizadas em ortopedia. Para próteses metálicas, a presença do nióbio resulta no aumento da resistência à corrosão e à fadiga mecânica [74].

A introdução de nióbio na composição de diversos vidros silicatos e cerâmicas vítreas, bem como as conseqüências desta modificação no processo de formação de fases na superfície destes materiais, em função de tratamento térmico têm sido reportadas, ainda que de forma esporádica, na literatura recente: I.L Denry et al. [75], Graça et al. [76], Pernice et al. [77] e Golubkov et al. [78]. Embora apenas o trabalho de Denry e colaboradores abordem aspectos relativos à bioatividade de cerâmicas vítreas, os trabalhos de Graça, Pernice e Golubkov mostram que fases vítreas de silicatos quando submetidas a tratamento térmico segregam fases para as quais a composição mais provável pode ser atribuída a siliconiobatos ou niobatos.

Outro aspecto que deve ser considerado é a formação de hidroxiapatita pela imersão em SBF de superfícies nas quais o grupo Nb-OH esteja presente como mostrado por Miyazaki T. [79], Karlinsey R.L. et al. [80] e Miyazaki T. et al. [81].

Outras contribuições importantes envolvendo o óxido de nióbio e que assinalam na direção de um comportamento bioativo são, por exemplo: o trabalho de Miyazaki et al. onde foi observado que óxido de nióbio derivado do processo sol-gel tem capacidade de promover a formação de apatita em uma semana em líquido corpóreo simulado [82]; os estudos de Gross et al. [83], que sintetizaram vitro-cerâmicas $CaO-Nb_2O_5-P_2O_5$ e observaram em testes *in vitro* uma excelente biocompatibilidade para esse sistema, os estudos de Denry et al. [75], que mostraram que a presença de óxido de nióbio melhora a biocompatilidade e promove a bioatividade, além de promover uma nucleação finamente dispersa e submicroscópica em vidros $CaO-P_2O_5$.

A proposta de avaliar de forma preliminar a ação da introdução de óxido de nióbio na composição do Bioglass® 45S5 é, portanto, fundamentada no potencial que o óxido de nióbio apresenta como agente nucleante em vidros, que pode ter ação semelhante no Bioglass® 45S5 devido à presença de fosfato em sua composição, e por termos por objetivo obter vidros com superfícies cristalizadas. Outra motivação deve-se ao “gap” no conhecimento sobre o papel do Nb_2O_5 em biovidros e seus efeitos sobre a bioatividade.

1.4 - Testes de Biocompatibilidade: Imersão em Fluido Corpóreo Simulado (SBF)

A importância de se avaliar a bioatividade *in vitro* como procedimento antes da análise *in vivo* é bastante clara. Embora seja a forma ideal, estudos *in vivo* possuem algumas inconveniências tais como: elevado custo, menor facilidade de obter reprodutibilidade e, além disso, requererem o sacrifício do animal, o que envolve questões éticas. Por estas razões, ensaios preliminares *in vitro* em laboratórios são necessários, antes de testes *in vivo* de bioatividade [84].

A avaliação da bioatividade *in vitro* pode ser realizada por diversas maneiras. Contudo, a imersão em SBF (fluído corpóreo simulado), embora seja um meio acelular, tem se mostrado uma forma bastante reprodutível de avaliar a formação de apatita na superfície dos biovidros. O SBF é uma solução supersaturada[2] que possui composição próxima a do plasma sanguíneo [84, 85].

O SBF mais utilizado na literatura apresenta uma concentração de íons semelhante à composição do fluido biológico, diferindo apenas na concentração de Cl^- e CO_3^{-2}, e utiliza os tampões Tris ou HEPES (Tabela 3).

Tabela 3: Composição do SBF proposto por Oyane et al. [85].

Íons	Concentração no plasma sanguíneo humano (10^{-3}M)	Concentração no SBF (10^{-3}M)
Na^+	142,0	142,0
K^+	5,0	5,0
Mg^{2+}	1,5	1,5
Ca^{2+}	2,5	2,5
Cl^-	103,0	147,8
HCO_3^{2-}	27,0	4,2
HPO_4^{2-}	1,0	1,0
SO_4^{2-}	0,5	0,5

[2] O termo “solução supersaturada” em SBF é relativo à composição química da hidroxiapatita cristalina.

Na análise sobre as concentrações dos íons no SBF é possível perceber que essa solução apresenta-se supersaturada em relação ao fosfato de cálcio [85]. Dessa forma, a precipitação é um fenômeno termodinamicamente favorável. A cinética de precipitação sobre os biovidros, no entanto, pode ser alterada por vários fatores, dentre eles, a inserção de um material na solução, o que pode promover uma precipitação através da nucleação heterogênea do fosfato de cálcio. A nucleação heterogênea ocorre na superfície de um material quando imerso, diferenciando da nucleação homogênea que ocorre preferencialmente na solução.

De acordo com a teoria clássica para nucleação heterogênea a expressão da energia livre desse processo é dada pela equação I [86]:

$$\Delta G = -RT\ lnS + \sigma_{cl}A_{cl} + (\sigma_{cs} - \sigma_{sl})A_{cs} \quad \text{(Equação I)}$$

Onde: S: representa o grau de supersaturação da solução; R: constante universal dos gases; T: a temperatura absoluta; A: a área da partícula; σ: a sua energia interfacial com os índices $c,\ s$ e l: indicando a partícula cristalina, o substrato e a fase líquida respectivamente.

Uma análise de forma resumida dessa expressão nos permite dividi-la em duas partes. A primeira, composta por $-RT\ lnS$, é um termo bastante afetado pelo enriquecimento da superfície do biovidro, em virtude de sua contribuição extra com íons cálcio para a saturação da solução de SBF. Entretanto, à medida que a reação de precipitação da apatita ocorre, uma redução no grau de supersaturação pode ser esperada. Tal evento promove um aumento gradativo da seletividade da superfície, tendendo para um máximo em superfícies que possuam uma menor barreira para a nucleação [86]. Essa alteração da energia superficial pode ser obtida através de uma modificação estrutural da superfície dos biovidros.

A segunda parte é composta por $\sigma_{cl}A_{cl} + (\sigma_{cs} - \sigma_{sl})A_{cs}$. Esta parte da expressão representa a dependência das características do material a ser imerso na solução. Neste contexto, a redução da energia interfacial contribui para o sinal negativo da energia livre de Gibbs para o processo de formação de micro-domínios cristalinos na superfície do Bioglass® 45S5.

1.5 – Espessura da superfície modificada pela troca iônica.

A troca iônica na matriz vítrea do sódio pelo íon cálcio é um processo lento e, portanto, limitado a uma fina "casca" da superfície dos biovidros. Por isso a investigação dessas alterações exige o uso de técnicas compatíveis com a região a ser estudada. Além disso, o conhecimento da região amostrada por cada técnica permite discutir possíveis diferenças nos resultados encontrados nas análises. A Figura 4 resume o perfil amostrado das técnicas empregadas para caracterização da camada superficial modificada estudada nesta dissertação.

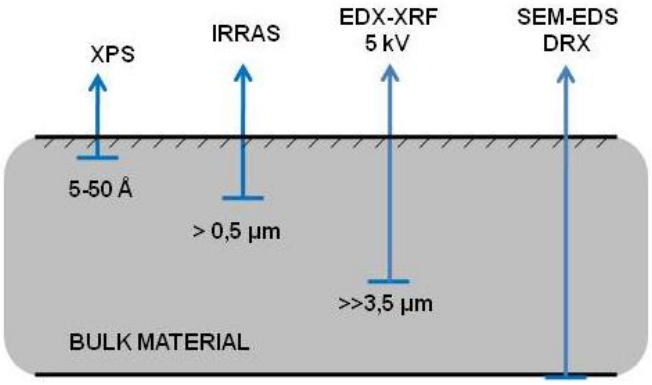

Figura 4: Região amostrada para diferentes técnicas.

A composição química dos biovidros foi inicialmente determinada por espectrometria de fluorescência de raios X por energia dispersiva (EDX) empregando uma diferença de potencial de 5kV para acelerar o feixe de elétrons que irá bombardear o alvo de Rh do equipamento de fluorescência. O uso desta diferença de potencial resulta na excitação predominante da camada L_α do alvo de Rh resultando em raios X de menor energia. A baixa energia foi empregada objetivando uma região de amostragem que favorecesse as camadas com menor profundidade. A profundidade analisada pode ser estimada pela energia usada para excitar o alvo de Rh para geração dos raios X. Para tal, recorre-se à lei de Moseley, que propôs uma fórmula empírica mostrando a dependência linear entre a raiz quadrada da freqüência dos raios X pelo número atômico dos elementos (Figura 5).

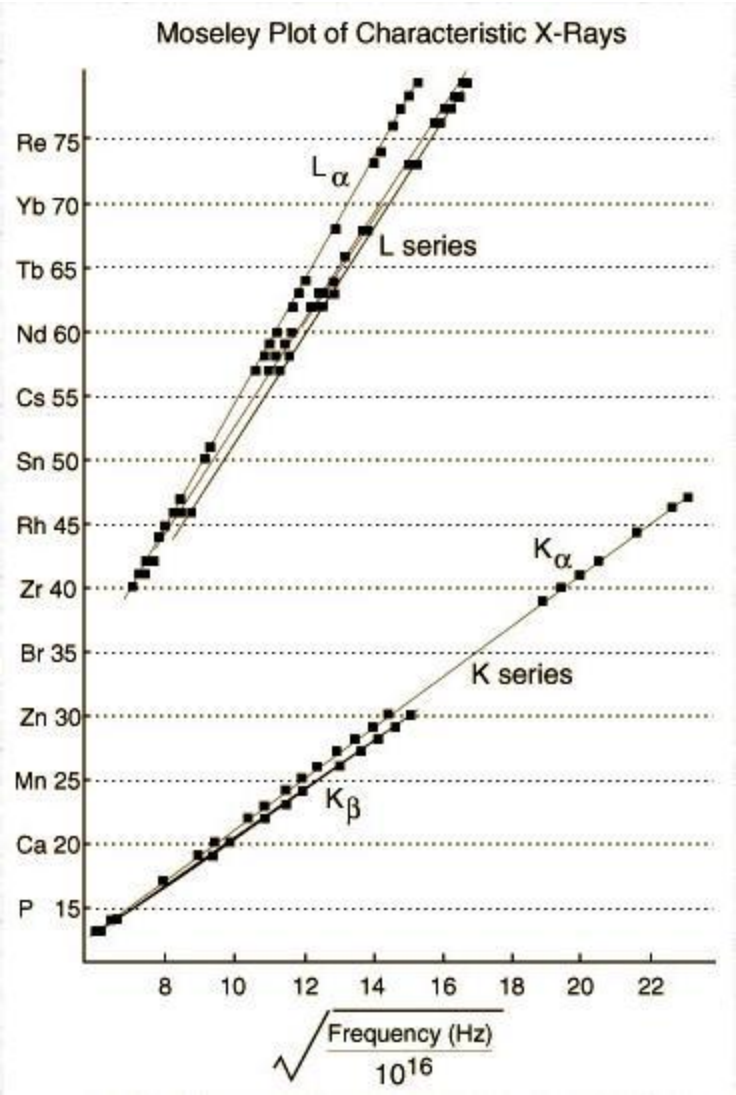

Figura 5: Gráfico que descreve a Lei de Moseley [87].

Analisando o gráfico da Figura 5 é possível obter a raiz quadrada da freqüência para cada elemento disposto para as linhas L_α e K_α. Para o Rh, número atômico 45, a radiação empregada (5kV) consegue excitar predominantemente a linha L_α. Logo, pode-se calcular a radiação emitida da seguinte forma [88]:

$$\nu_o = \sqrt{\frac{Frequência\ (Hz)}{10^{16}}} = 8 \quad \text{(Equação II)}$$

$$Frequência(Hz) = (8{,}0)^2 x\ 10^{16} = 6{,}4\ x\ 10^{17}\ Hz$$

A energia pode ser facilmente obtida pela relação seguinte:

$$E = \hbar\nu \qquad \text{(Equação III)}$$

Onde: ħ é a constante de Planck $(4{,}135\ x\ 10^{-15}\ eV.s)$

$$E = (4{,}135\ x\ 10^{-15} eV.s) x (6{,}4\ x\ 10^{17} s^{-1})$$
$$E = 2646{,}4\ eV$$

A Figura 6 mostra a relação entre o comprimento de atenuação do SiO_2 e a energia de raios X em eV [89].

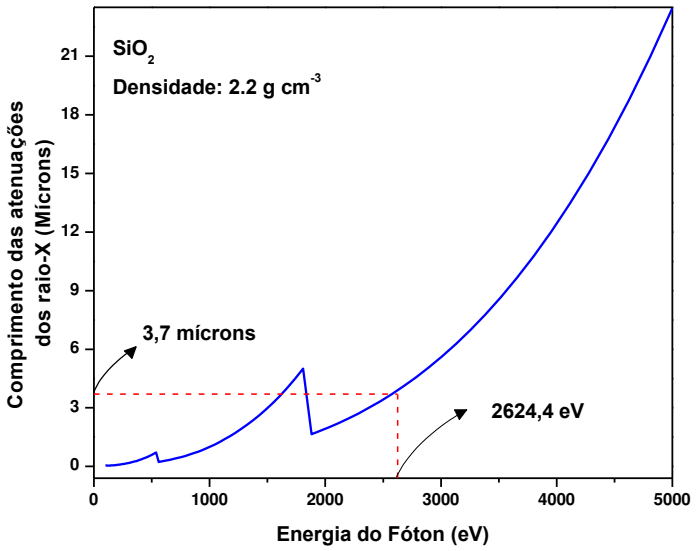

Figura 6: Gráfico do comprimento de atenuação de raios-X para SiO_2.

Tendo em vista que o Bioglass® 45S5 possui uma matriz silicato, pode-se considerar que o comprimento de atenuação para o SiO_2 é semelhante ao comprimento de atenuação do Bioglass 45S5. Contudo, a presença de elementos com número atômico superior, como fósforo e cálcio, por exemplo, aumenta o grau de atenuação dos raios-X. De fato, o Bioglass® 45S5 apresenta uma densidade de 2,82 g/cm^3 e conseqüentemente, pode-se esperar uma

profundidade amostrada pela técnica de fluorescência de raioX inferior a 3,7 μm para as amostras dos biovidros estudadas neste trabalho.

A IRRAS é uma técnica bastante versátil, rápida e não destrutiva para análise de superfície. Esta técnica amostra uma profundidade de aproximadamente 0,5 μm, dependendo do índice de refração e da densidade da superfície.

O XPS é uma técnica bastante eficiente para a caracterização de superfície com uma profundidade de análise de aproximadamente 30-40 Å [90]. A grande virtude do XPS é a possibilidade de determinação das ligações químicas presentes nas superfícies, através de medidas das energias de pico dos fotoelétrons. Porém, a determinação precisa da energia dessas ligações presentes na superfície deve ser feita pela comparação com compostos de referência. Esta comparação permite sondar as variações no ambiente químico dos átomos da superfície realizando a deconvolução e ajuste dos picos dos fotoelétrons. Desta forma, uma interpretação coerente dos espectros de XPS deve ser feita a partir de um modelo químico plausível previamente proposto pelo pesquisador.

A SEM é uma técnica rápida para estudos de superfícies e interfaces, fornecendo informações microestruturais e topologia da superfície, enquanto o EDS fornece informações elementares em uma profundidade de aproximadamente 100 μm operando a uma voltagem de 20 kV. O DRX provê conhecimento importante sobre o ordenamento dos planos cristalinos a médio e longo alcance na rede do material e analisa profundidades de dezenas de micrometros, por isso, é mais empregado para o "*bulk*" [2].

1.6 – Modelos propostos para a alteração da cinética de formação da apatita na superfície de biovidros.

Na Figura 7 estão representados esquematicamente os processos que ocorrem na superfície do biovidro para formação do filme de fosfato de cálcio, na presença do fluido corpóreo, conforme estabelecido pelo mecanismo proposto por Hench.

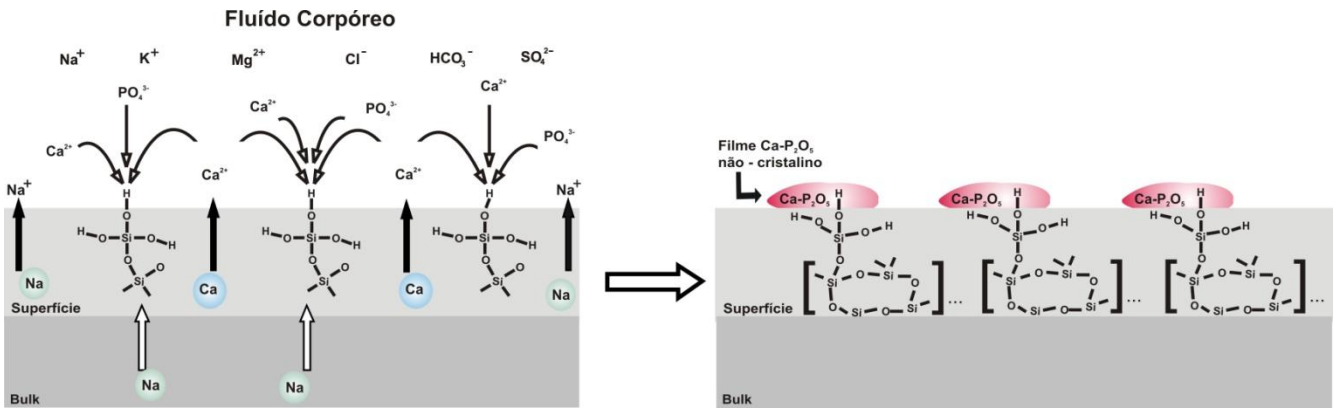

Figura 7: Modelo para a formação do filme de HA na superfície do Bioglass® 45S5 em fluído corpóreo.

Conforme apresentado em tópico anterior, a modificação da superfície dos biovidros pode alterar a cinética de formação da apatita. A superfície dos biovidros enriquecida com íons cálcio contribui fortemente para aumentar a força iônica da solução, tornando supersaturada a solução na vizinhança da superfície e, conseqüentemente, resultando na precipitação de fosfato de cálcio. Desta forma, esta nova superfície apresenta uma reatividade superior, diminuindo o tempo necessário para formação da apatita (Figura 8).

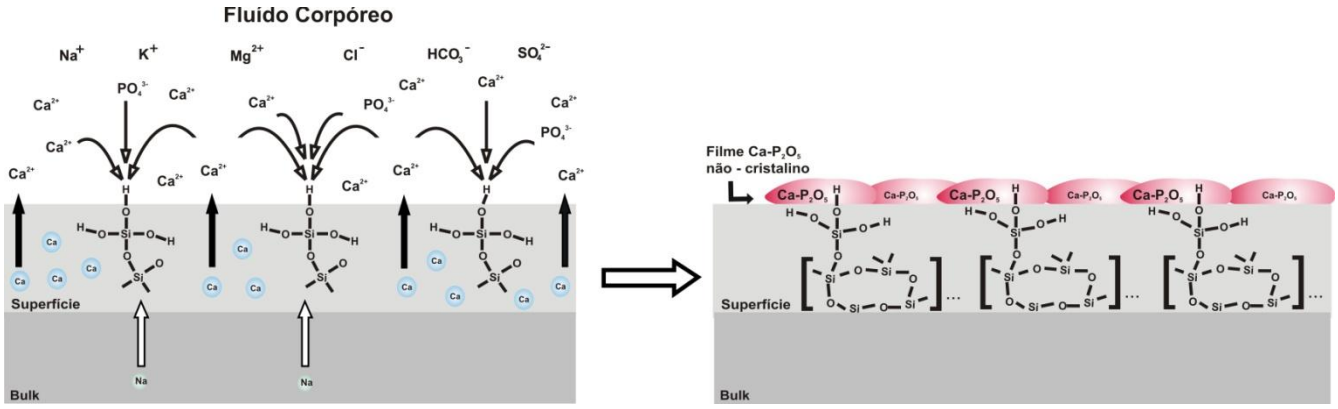

Figura 8: Modelo para a formação da camada de HA na superfície do Bioglass® 45S5 com superfície enriquecida com cálcio em fluído corpóreo.

Além disso, o enriquecimento da superfície dos vidros com íons cálcio possibilita obter e estudar superfícies vítreas, que não poderiam ser obtidas simplesmente pela síntese de vidros ricos em cálcio, devido a não formação de vidros estáveis e facilmente processáveis como o Bioglass® 45S5.

Conforme mecanismo proposto por Hench, os grupos silanóis na superfície do biovidro seriam sítios específicos de nucleação para a cristalização da apatita. Logo, o cálcio e o

fósforo presentes na rede vítrea seriam apenas um reservatório, que atuaria supersaturando ainda mais a solução fisiológica durante a dissolução parcial do biovidro [25].

Outro aspecto que pode modificar a velocidade e eficiência da formação da camada de HA é a formação de centros de nucleação que podem intervir no crescimento e cristalização da apatita, interferindo diretamente no processo de transformação da camada de apatita não-cristalina em apatita cristalina. O tratamento térmico proposto neste trabalho pode resultar na formação micro-domínios de fosfatos de cálcio na superfície dos biovidros enriquecidos com cálcio.

A Figura 9 mostra um esquema com a modificação esperada quando essa superfície vítrea entrar em contato com o líquido corpóreo que corresponde à Etapa V – (Tabela 2) para mecanismo proposto pro Hench antes do início dos processos biológicos.

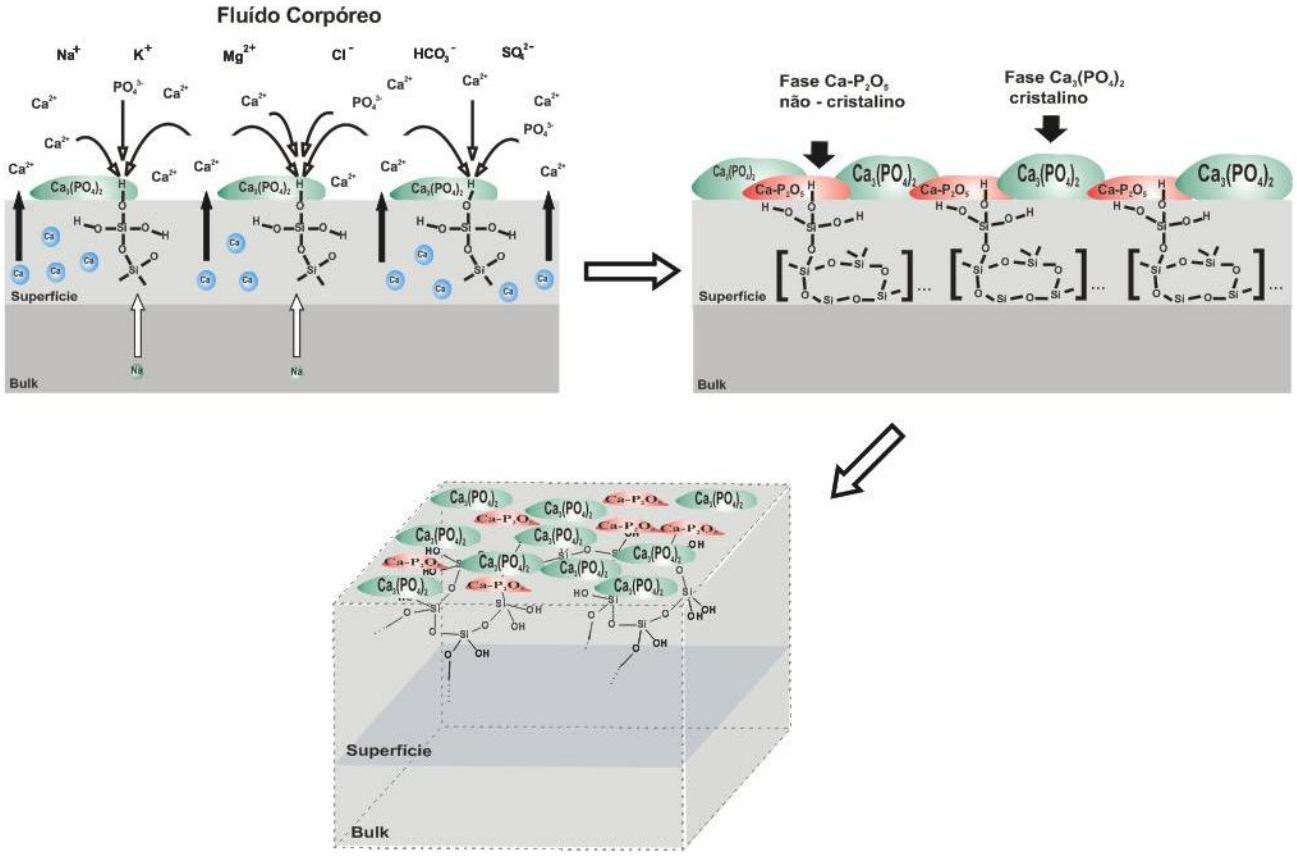

Figura 9: Modelo de formação do filme de HA na superfície do Bioglass® 45S5 com superfície enriquecida com cálcio e tratamento térmico em fluído corpóreo.

2 – OBJETIVO GERAL

O objetivo geral desta dissertação de mestrado foi propor modificações na superfície do biovidro Bioglass® 45S5, através dos métodos de troca iônica e tratamento térmico, almejando uma redução no tempo para cristalização da apatita na presença do fluído corpóreo.

2.1 - Objetivos específicos

1. Modificar a composição química da superfície do Bioglass® 45S5 enriquecendo-a com íons Ca^{2+} pelo processo de troca iônica.
2. Induzir, por tratamento térmico "flash", a formação de micro-domínios de fosfato de cálcio com energia interfacial suficientemente baixa para crescimento da apatita na superfície enriquecida de cálcio do Bioglass® 45S5.
3. Caracterizar os biovidros quanto à biotividade, realizando testes *in vitro* por imersão em SBF.
4. Preparar biovidros com a composição química próxima do Bioglass® 45S5 incorporando pequenas quantidades de Nb_2O_5.

3 – METODOLOGIA

3.1 - Obtenção do Bioglass® 45S5

Para obtenção do Bioglass® 45S5 foi utilizada a metodologia descrita por Lefebvre et al. [91] que baseia-se nos processos de preparação de vidros convencionais produzidos, tradicionalmente, através do método de fusão / resfriamento. Esse método envolve a fusão de uma mistura dos materiais de partida, no caso do Bioglass® 45S5, correspondente a 45% SiO_2, 24,5 % CaO, 24,5% Na_2O e 6,0% P_2O_5 em massa. Os óxidos Na_2O e CaO empregados na síntese foram obtidos a partir seus respectivos carbonatos. Os reagentes precursores e suas características estão dispostos na Tabela 4.

Tabela 4: Reagentes empregados na síntese do Bioglass® 45S5.

Reagente	Precursor	Marca	Pureza
SiO_2	SiO_2	Sigma-Aldrich	99,8%
CaO	$CaCO_3$	Merck	>99,5%
Na_2O	Na_2CO_3	Sigma-Aldrich	99,00%
P_2O_5	P_2O_5	Sigma-Aldrich	99,99%

Em uma etapa prévia à fusão, os reagentes SiO_2, $CaCO_3$ e Na_2CO_3 foram misturados e macerados em um graal de ágata para homogeneização dos materiais. Em seguida, essa mistura foi levada ao forno para descarbonatação conforme programa de temperaturas descrito na Tabela 5. A mistura dos óxidos obtida foi armazenada em frascos plásticos em dessecador até o momento do preparo do biovidro. O P_2O_5 foi acrescentado à mistura somente momentos antes do processo de fundição do Bioglass® 45S5, devido sua higroscopicidade [92]. A Figura 10 mostra esquematicamente todas as operações da preparação do Bioglass® 45S5.

Tabela 5: Estágio preliminar de descarbonatação dos reagentes empregados na síntese do Bioglass® 45S5.

Programa	Temperatura	Rampa	Patamar
Passo 1	500 ºC	5°C/ min.	60 minutos
Passo 2	950 ºC	5°C/ min.	90 minutos

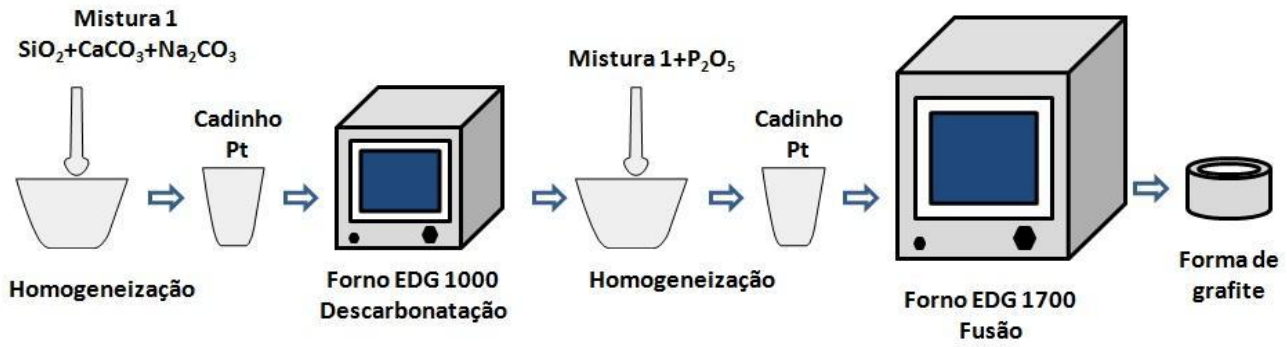

Figura 10: Etapas do preparo do biovidro Bioglass® 45S5.

A fusão do Bioglass® 45S5 foi realizada em forno a 1350 °C por 3 horas. O biovidro fundido foi vertido em forma de grafite e recozido a 500 °C (temperatura 50 °C abaixo da Tg do Bioglass® 45S5) por 12 horas para aliviar as tensões e evitar estresse em sua estrutura. O bloco de vidro obtido foi cortado em pastilhas de 3 mm de espessura e 30 mm de diâmetro. O polimento das pastilhas dos vidros foi realizado em três estágios empregando-se lixa d'água 600, 1200 e finalmente com pasta de diamante policristalina 6 µm (Figura 11).

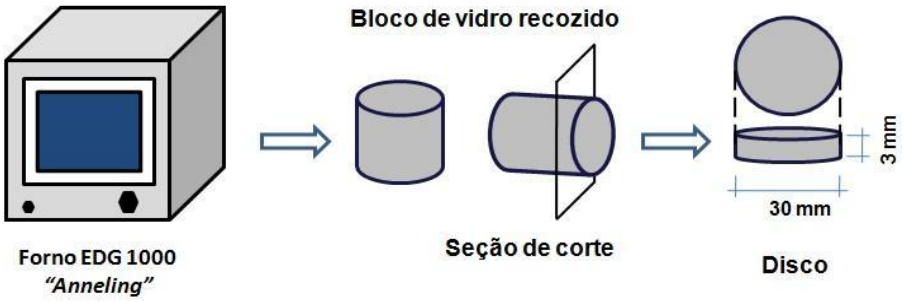

Figura 11: *Anneling* e seção de corte dos blocos dos biovidros.

3.2 - Processos de enriquecimento do Bioglass® 45S5 com íons

O processo de modificação superficial por troca iônica no Bioglass® 45S5 foi realizado utilizando sal fundido de cálcio como meio reacional, sendo empregadas duas metodologias. No método 1, distinguido pelo uso de baixa temperatura, o estearato de cálcio fundido foi utilizado como fonte de cálcio. No método 2, empregando temperatura alta, foi utilizada uma mistura pré-otimizada de nitrato de cálcio com nitrato de sódio. As propriedades dos reagentes empregados na modificação da superfície do Bioglass® 45S5 estão listadas na Tabela 6.

Tabela 6: Reagentes empregados no preparo dos banhos para troca iônica.

Reagente	Precursor	Marca	Pureza
$Ca(NO_3)_2$	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	Merck	99%
$NaNO_3$	$NaNO_3$	Synth	95%
Ac. Esteárico	Ac. Esteárico	Vetec	95%
NH_4OH	NH_4OH	Synth	--

Metodologia 1

O estearato de cálcio foi obtido a partir da reação de nitrato de cálcio com ácido esteárico em amônia, conforme a equação IV:

$$2\ C_{17}H_{35}COO^- + Ca^{2+} \xrightarrow{NH_4OH} Ca(C_{17}H_{35}COO)_2 \quad \text{(Equação IV)}$$

Os discos de biovidro obtidos dos blocos sintetizados foram imersos em estearato de cálcio fundido a 150 °C por 8 horas em forno tubular vertical sob atmosfera de argônio (Figura 12).

Metodologia 2

A composição da mistura ≈ $0.7Ca(NO_3)_2$ / $0.3NaNO_3$ foi previamente ajustada para se obter uma mistura com temperatura de fusão por volta de 450 ºC, correspondendo a aproximadamente 100 ºC abaixo da Tg do biovidro. Os discos de biovidro foram imersos na mistura fundida a 450 °C por 30 minutos em forno tubular vertical em atmosfera de argônio (Figura 12).

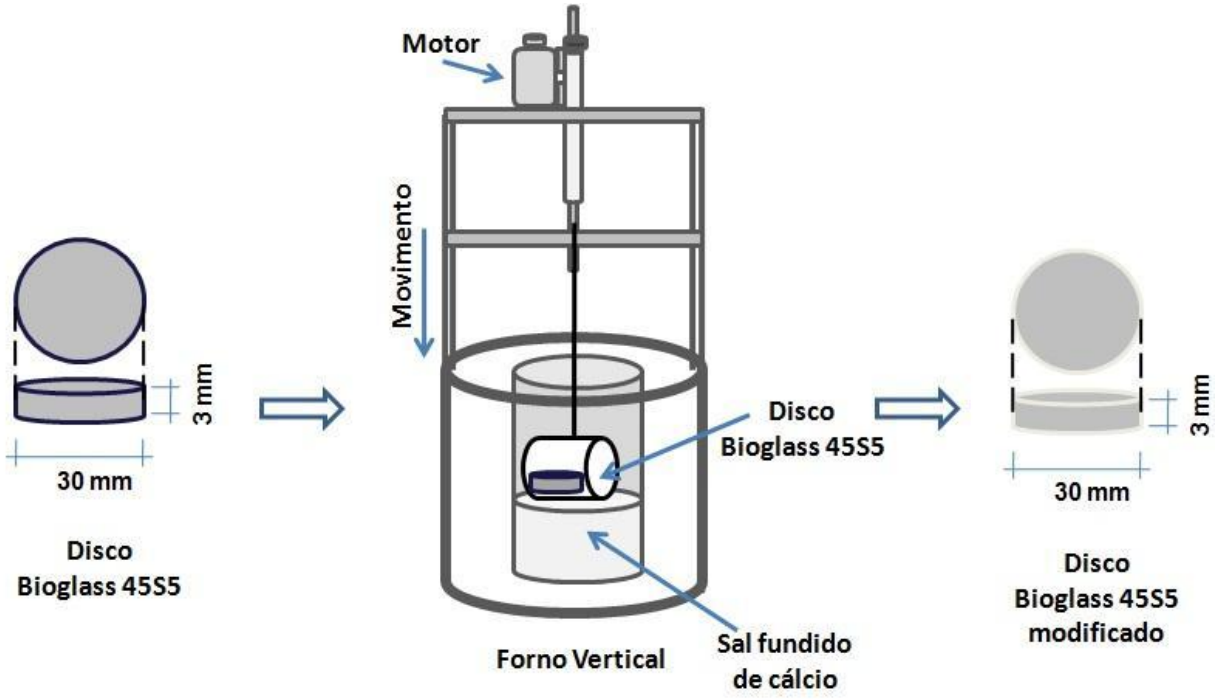

Figura 12: Esquema do forno empregado no processo de troca iônica.

3.3 - Indução de cristalização na superfície dos biovidros enriquecidos com íon cálcio por tratamento térmico pulsado (Flash)

Os discos de biovidro enriquecidos com íons cálcio foram dispostos em cadinho contendo sílica em pó, de modo que durante o tratamento térmico necessário para a indução da cristalização, apenas a superfície a ser tratada fosse exposta ao calor. A sílica em pó age como isolante térmico, o que reduziu a variação da temperatura das faces do disco não exposta diretamente ao ambiente do forno durante o tratamento térmico pulsado e de curta duração. A face exposta dos discos de biovidro foi tratada termicamente por exposição por 5

segundos à atmosfera de um forno aquecido a 1000 ºC (Figura 12). Este processo foi repetido por 10 ciclos. A descrição e a nomenclatura dos materiais vítreos envolvidos nesse estudo estão apresentadas na Tabela 7.

Tabela 7: Nomenclatura dos biovidros.

Nomenclatura	Descrição
BG45S5	Biovidro precursor
BG45S5_1000	Biovidro precursor tratado termicamente a 1000ºC por 10 ciclos de 5s
BG45Ca	Biovidro submetido à troca iônica por 30 min a 450ºC em mistura $Ca(NO_3)_2/NaNO_3$
BG45Ca_1000	Biovidro submetido à troca iônica por 30 min a 450ºC em mistura $Ca(NO_3)_2/NaNO_3$ e tratado termicamente a 1000ºC por 10 ciclos de 5s
BG45Es	Biovidro submetido à troca iônica por 8 h a 150ºC em estearato de cálcio
BG45Es_1000	Biovidro submetido à troca iônica por 8 h a 150ºC em estearato de cálcio e tratado termicamente a 1000ºC por 10 ciclos de 5s

O fluxograma apresentado na Figura 13 resume o procedimento empregado na síntese e tratamento dos biovidros.

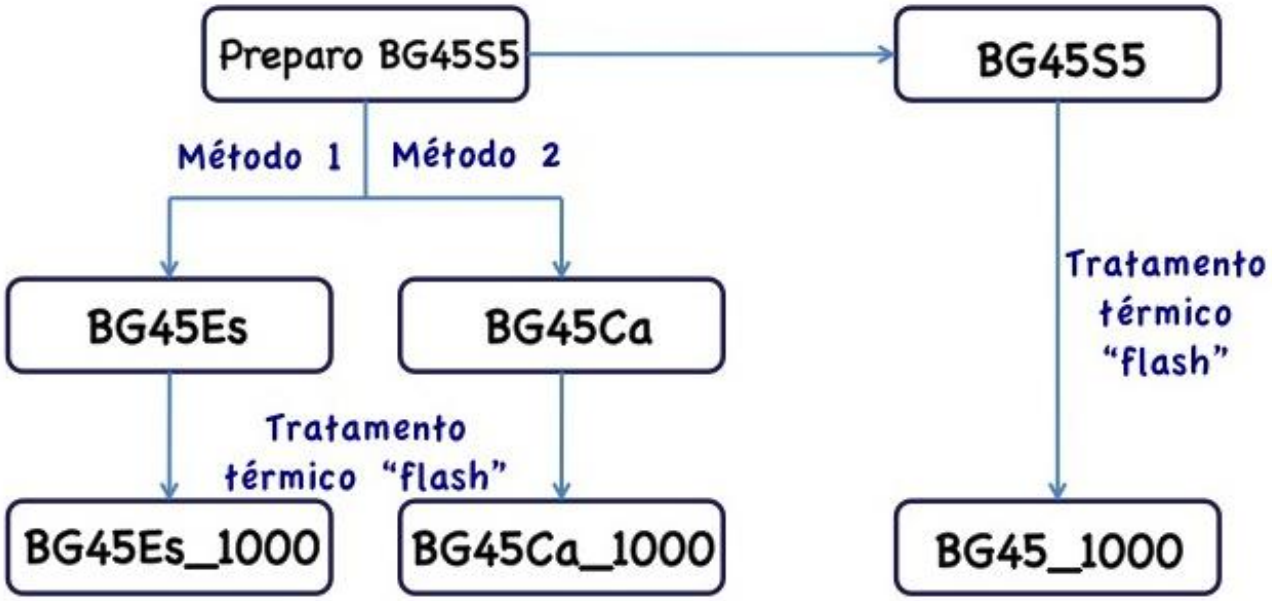

Figura 13: Fluxograma do trabalho realizado com o Bioglass® 45S5.

3.4 - Obtenção do biovidro Bioglass® 45S5 modificado com nióbio

O processo de síntese dos biovidros com óxido de nióbio foi o mesmo adotado para o Bioglass® 45S5. O óxido de nióbio nesses vidros estará substituindo parte do P_2O_5 ou SiO_2 na matriz vítrea, com as seguintes composições: (45 - x)% SiO_2, 24,5% CaO, 24,5% Na_2O, 6,0% P_2O_5 e x% Nb_2O_5 (% em massa), onde $0 < x < 5$ e 45% SiO_2, 24,5 % CaO, 24,5% Na_2O, (6,0 - y)% P_2O_5 e y% Nb_2O_5 (% em massa), onde $0 < y < 5$. A Tabela 8 dispõe as composições químicas e as respectivas nomenclaturas de todos os vidros contendo óxido de nióbio estudados neste trabalho.

Tabela 8: Composições químicas contendo Nb_2O_5 testadas no preparo de biovidros.

Nomenclatura dos biovidros	Composição em porcentagem molar				
	SiO_2	CaO	Na_2O	P_2O_5	Nb_2O_5
	%	%	%	%	%
BG45S5	46,13	26,91	24,35	2,61	-
BN26	46,13	26,91	24,35	-	2,61
BPN13	46,13	26,91	24,35	1,305	1,305
BPN25	43,63	26,91	24,35	2,61	2,5
BPN50	41,13	26,91	24,35	2,61	5,0
BN6	46,71	27,25	24,63	-	1,41
BPN3	46,42	27,09	24,48	1,31	0,70
BPN5	42,71	28,03	25,34	2,71	1,21
BG45N5	-	26,91	24,35	2,61	46,13
BG45S5	46,13	26,91	24,35	2,61	-

3.5 - Caracterização dos biovidros

3.5.1 - Caracterização estrutural e química

Os diversos biovidros foram caracterizados quanto sua composição, composição da superfície enriquecida, microestrutura e cristalinidade após cada etapa dos tratamentos realizados. Para tal, foram empregadas as seguintes técnicas: Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDX-XRF), Espectroscopia de

Infravermelho por Reflexão Especular IRRAS (*Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy*) e Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS), Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) e Difratometria de raios-X (DRX). Além das caracterizações das propriedades físicas e químicas dos biovidros, eles foram avaliados quanto à bioatividade por imersão em SBF conforme protocolo estabelecido por Kokubo [84] e aceito como teste preliminar de comportamento bioativo.

3.5.1.1 - Difratometria de Raios X (XRD)

Para análises de difração de raios-X foi utilizado o difratômetro Shimadzu 7000, com radiação do alvo de cobre (λ=1,5418Å), operando a uma voltagem de 40 kV e 30 mA de corrente, e usando filtro de níquel para a radiação α, adotando velocidade de varredura de 2º min^{-1} em um intervalo de varredura de 5º < 2θ < 60º.

3.5.1.2 - Espectroscopia na região do Infravermelho (IR)

Todos os espectros apresentados nesta dissertação foram obtidos em espectrômetro interferométrico com transformada de Fourier da marca Bomem série MB-101, equipado com janelas de KBr. O sistema de detecção utilizado foi um detector piroelétrico de DTGS (Sulfato de Triglicina Deuterado). O mecanismo de detecção desse sistema é fundamentado na mudança de polarização elétrica desse material em função da temperatura.

O espectro de absorção na região do infravermelho do BG45S5 foi inicialmente obtido pelo método pó, empregando pastilhas de KBr. Para tal, foi usado para a confecção da pastilha a proporção de 100 de KBr para 1 de Bioglass® 45S5. O espectro adquirido foi de 4000 a 1500 cm^{-1}, aplicando um total de 64 varreduras e resolução espectral de 4 cm^{-1}.

Os experimentos de reflexão especular IRRAS (*Infrared Reflection-Absorption Spectroscopy*) foram realizados usando um acessório para reflectância especular externa de fabricação da Specac com ângulo de incidência variável de 10º a 80º. O espectro de referência foi obtido com um espelho de alumínio limpo e empregando os mesmos parâmetros utilizados na obtenção dos espectros das amostras.

Em todos os experimentos foram empregados ângulo de incidência de 20º com a normal e resolução de 4 cm^{-1}. A faixa espectral monitorada foi de 4000 a 400 cm^{-1} e acumulações de 256 scans.

A transformada de Kramers-Krönig foi aplicada nos espectros de reflectância especular dos biovidros, com a finalidade de converter os espectros de reflectância especular em espectros tipo "transmitância". Para tal, foi empregado o software Grans® / AI, disponível no equipamento.

3.5.1.3 - Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM) acoplada com análise elementar EDS

A microscopia eletrônica de varredura foi empregada para sondar a morfologia e as mudanças na superfície de vidros bioativos. As micrografias apresentadas neste trabalho foram obtidas por Microscópio Eletrônico de Varredura com voltagem de aceleração do feixe de elétrons de 10 kV, 20 kV ou 30 kV. As amostras foram metalizadas com carbono e ouro utilizando-se um metalizador Bal-Tec Med 020. Após a metalização, as amostras foram presas ao porta-amostra empregando-se fita de carbono, pasta de carbono e pasta de prata.

3.5.1.4 - Análise Termogravimétrica (TGA)

As análises termogravimétricas foram feitas no equipamento Universal V2.3C TA Instruments TGA, na faixa de temperatura entre 100 e 800 ºC, com taxa de aquecimento de 10 ºC / minuto em atmosfera oxidante (ar sintético). A temperatura de transição vítrea (Tg) e a temperatura de cristalização (Tc) para cada vidro foram obtidas a partir de seus traços correspondentes.

3.5.1.5 - Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDX-XRF)

A composição química dos biovidros foi feita utilizando a florescência de raios-X em um espectrômetro de Fluorescência de raios-X por Energia Dispersiva Shimadzu EDX 720

com gerador de raios-X com radiação do alvo de Rh, operando com uma tensão no tubo de 5 kV, corrente de 1000 µA e colimador de 10 mm. Estas condições foram adotadas para privilegiar a determinação da composição superficial dos biovidros em detrimento da composição do "bulk". A composição da superfície foi avaliada por um software que possui uma variedade de métodos de parâmetros fundamentais (FP) e que fornece quantificação não-padrão de qualquer tipo de amostra.

3.5.1.6 - Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS)

O XPS é uma técnica bastante eficiente para a caracterização de superfície uma vez que pode dar informações sobre a composição da superfície elementar, bem como os átomos da superfície circundante.

As análises de XPS foram realizadas utilizando-se um espectrômetro VSW HA100, operando com analisador hemisférico em modo de transmissão constante, resultando numa largura da linha para Au $4f_{7/2}$ de 1,6 eV.

Efeitos de carregamento foram corrigidos através da linha de C1s cuja energia de ligação foi fixada em 284,6 eV presente em hidrocarbonetos que contaminam a superfície.

Como fonte excitadora foi empregada a radiação $K\alpha$ do Al, 1486,6 eV e a pressão durante as medidas foi sempre inferior a $2x10^{-8}$ mBar. Os ajustes dos picos foram feitos usando o software OriginLab 8.0 licenciado pelo Instituto de Química da Unicamp.

3.5.2 - Imersão em Fluido Corpóreo Simulado Modificado (SBF)

A solução denominada fluido corpóreo simulado (SBF), com composição iônica semelhante ao do plasma sanguíneo, foi preparada com a composição descrita na Tabela 8. O valor de pH 7,40 foi obtido empregando o agente tamponante Hepes na concentração de 50,69 $mmolL^{-1}$. Os discos de biovidros foram imersos em SBF a 37 ºC em vários intervalos de tempo. Após imersão, as amostras foram lavadas com água deionizada, secas e caracterizadas por microscopia eletrônica de varredura (SEM) e por espectroscopia de energia dispersiva (EDS).

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para uma melhor organização dos dados, o capítulo será dividido em três partes. Na primeira, serão mostrados e discutidos os resultados das caracterizações do Bioglass® 45S5 e dos biovidros com superfícies modificadas. Na segunda parte, serão apresentados e discutidos os resultados correspondentes aos testes de imersão em SBF. Na terceira parte serão apresentados os resultados preliminares referentes aos biovidros preparados com composição próxima à do Bioglass® 45S5, mas com adição de pequenas quantidades de óxido de nióbio.

4.1 - Caracterização do Bioglass® 45S5 e biovidros com superfície modificada.

4.1.1 - Bioglass® 45S5

A composição química do "bulk" do BG45S5 foi determinada por via úmida empregando os métodos por absorção atômica (AAS) e colorimetria (Tabela 9).

Tabela 9: Comparação da composição nominal e analisada do bulk para o BG45S5.

	Composição bulk (% em massa)	
Óxidos	**Nominal**	**Determinada**
CaO	24,5	24,4
Na_2O	24,5	24,2
SiO_2	45,5	45,3
P_2O_5	6,0	5,6

Os valores referentes à composição do bulk do BG45S5 obtidos por AAS e colorimetria estão dentro do erro experimental da composição nominal do biovidro Bioglass® 45S5.

As propriedades, temperatura de transição vítrea e temperatura de cristalização, usuais na caracterização de vidros, foram determinadas por DTA, enquanto que as alterações químicas referente à estabilidade térmica foram avaliadas por TGA (Figura 14).

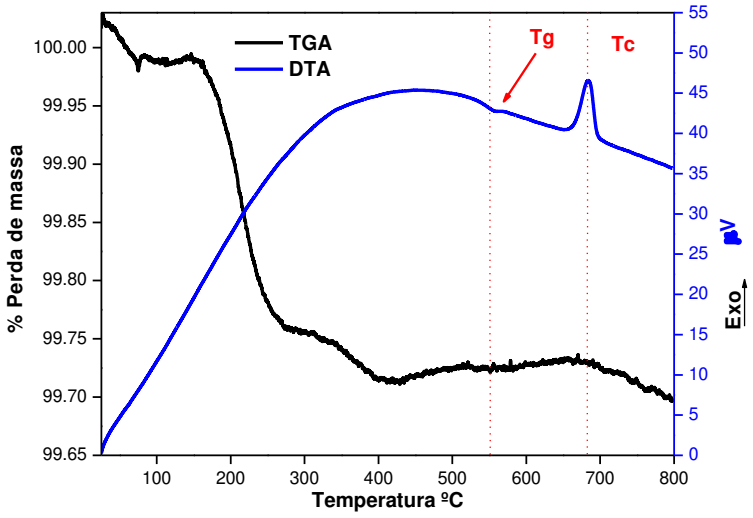

Figura 14: Curva TGA/DTA do BG45S5.

A curva DTA para o BG45S5 mostra a ocorrência de dois eventos: um processo endotérmico em 550 ºC referente à Tg e outro evento exotérmico em 680 ºC atribuído a cristalização. Os valores para essas temperaturas estão em plena concordância com vários trabalhos da literatura para o Bioglass® 45S5 [91]. Neste trabalho esses valores são importantes para a escolha da temperatura de anneling (recozimento) e da temperatura de troca iônica.

A curva TGA mostra uma redução total de massa de 0,3%, a qual pode ser dividida em duas perdas de massas principais: em 150 ºC e outra em 350 ºC. Essas perdas de massas são devido à água adsorvida e aos grupos –OH (Si-OH - silanóis da superfície do vidro). Esta suposição é suportada pelos resultados obtidos pela espectroscopia na região do infravermelho.

Os espectros na região do infravermelho do BG45S5 e KBr utilizado no preparo das pastilhas são mostrados na Figura 15.

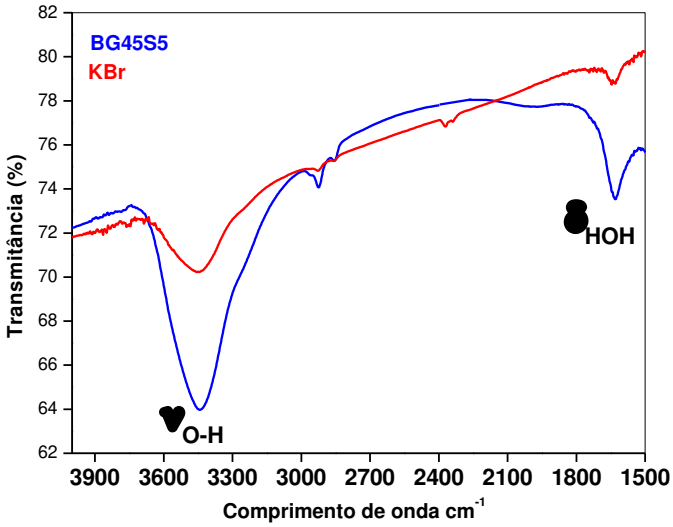

Figura 15: Espectro de infravermelho do pó Bioglass® 45S5 (BG45S5).

O espectro de absorção na região do infravermelho do BG45S5 revela a presença de uma banda bastante assimétrica na região de 3000-3730 cm^{-1}. Diversos estudos envolvendo superfície de vidros silicatos por infravermelho têm atribuído esta banda como sendo a região referente aos diferentes modos de vibração -OH [67,93,94]. A presença desses grupos em vidros silicatos pode gerar bandas em diversas freqüências dependendo de suas ligações e configuração. Brinker & Scherer [95] descreveram os modos vibracionais de estiramentos para Si-OH na superfície associado a várias configurações, definindo como silanóis *non-hydrogen-bonded* e *hydrogen-bonded*. Este primeiro caso estaria relacionado aos grupos silanóis separados por uma distância que não permite quaisquer interações com os Si–OH vizinhos, formando espécies Si-OH isoladas na superfície (Figura 16-a). Enquanto no segundo caso, os grupos silanóis vizinhos podem formar uma configuração através de forte interação entre o átomo de hidrogênio de um grupo hidroxila e um oxigênio de um grupo -OH vizinho (Figura 16-b). A região de absorção do modo de estiramento para *non-hydrogen-bonded* ocorre por volta 3750 cm^{-1}, contudo a banda absorção do BG45S5 está na região de 3000-3730 cm^{-1}. Deste modo, a presença de grupos silanóis isolados nesse biovidro pode ser descartada, sendo essa absorção interpretada exclusivamente como uma sobreposição dos modos de estiramento *hydrogen-bonded* [67]. Conforme proposto por Iler [96], o ambiente do silício na presença das interações dos grupos silanóis pode existir nas configurações vicinais (Figura 16-b) ou germinais (Figura 16-c) e absorver em freqüências

próximas a 3660 cm^{-1}. Outra banda associada a Si-OH refere-se à presença de água na superfície, onde o hidrogênio do grupo silanol forma ligação com o oxigênio da água (Figura 16-d) [97]. Esta interação absorve em freqüências 3540 cm^{-1}, além disso, a água molecular adsorvida no biovidro pode ser detectada pela presença de um pico largo na região 3350-3500 cm^{-1} [67,97].

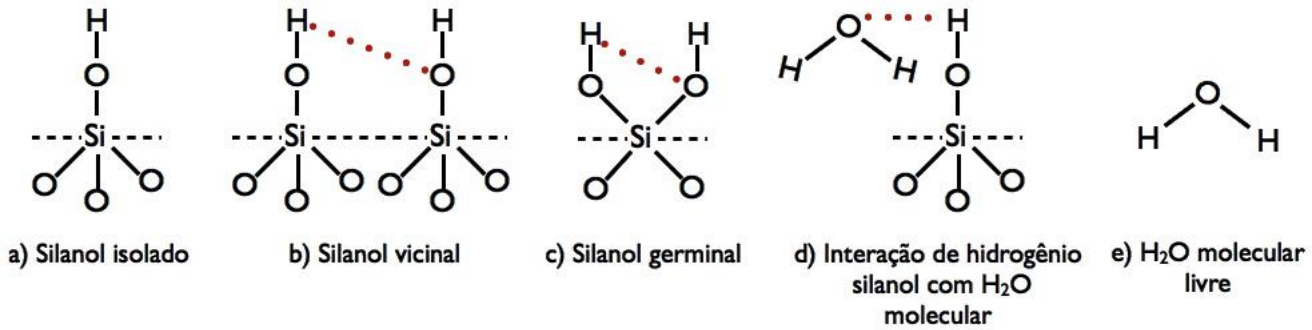

Figura 16: Possíveis interações dos grupos OH nos biovidros BG45S5.

Outra banda característica da água no biovidro aparece na região 1620-1640 cm^{-1}, sendo atribuída ao modo de deformação da água envolvendo as moléculas não-dissociadas (Figura 16-e) [67].

4.1.2 - Troca iônica

O efeito da troca iônica sobre a composição química da superfície dos biovidros pode ser observada no gráfico da Figura 17. A determinação química da superfície foi realizada usando Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva (EDX-XRF) com baixa energia 5 kV.

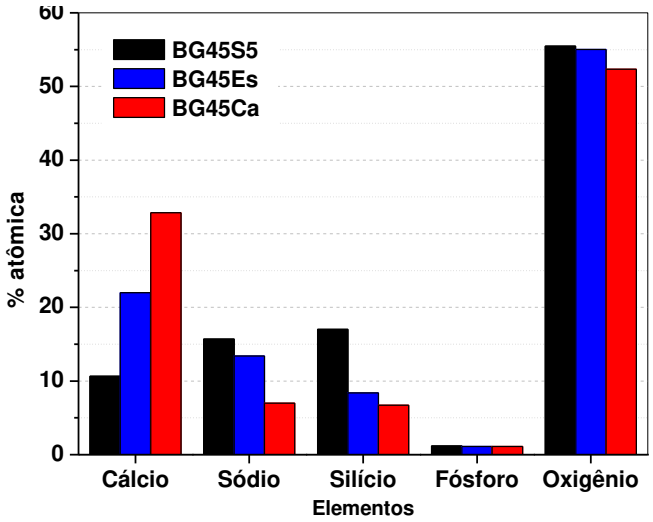

Figura 17: Composição elementar dos biovidros obtida por EDX-XRF 5kV.

O gráfico da Figura 17 mostra a variação da composição na camada superficial dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica. Os dados obtidos por EDX-XRF mostram um aumento da concentração de cálcio concomitantemente com a diminuição da concentração de sódio para essa região analisada. Com esse resultado é possível inferir o sucesso da difusão de íons cálcio na rede do biovidro segundo um processo de troca entre estes íons. Além disso, esse resultado demonstra o grande efeito da temperatura na eficiência do processo, justificando a maior eficácia do método 2 (BG45Ca) em relação ao método 1 (BG45Es).

A confiabilidade da análise elementar por Espectrometria de Fluorescência de Raios-X por Energia Dispersiva usando o método não-padrão (software com métodos de parâmetros fundamentais) pode vista na Tabela 10.

Tabela 10: Composição elementar do bulk e superfície para o BG45S5.

	Composição bulk		Composição superfície			
Elementos	**Nominal**	**Via úmida**	**EDX-XRF (5 kV)**	**XPS**		**Linha**
Ca	9,49	9,1	10,6	2,3	3,7	Ca_{2p}
Na	17,18	16,4	15,7	4,3	6,9	Na_{1s}
Si	16,27	15,8	17,0	21,8	34,9	Si_{2p}
P	1,84	1,6	1,2	0,1	0,2	P_{2p}
O	55,22	57,1	55,5	33,9	54,3	O_{1s}
C	-	-	-	37,6	-	C_{1s}

Os valores referentes à composição do “bulk” do BG45S5 obtidos por via úmida estão próximos dos valores determinados por EDX-XRF, dando credibilidade para as variações das composições encontradas nos biovidros analisados após o processo de troca iônica.

Outra informação fornecida pela Tabela 10 é referente à composição elementar da superfície determinada por Espectroscopia de Fotoelétrons Excitados por Raios-X (XPS). A composição química da superfície difere consideravelmente da apresentada pelo bulk. Adicionalmente, a composição determinada por XPS mostra a presença de uma elevada concentração de carbono, que representa um elemento contaminante freqüente em análises por esta técnica, embora também possa indicar a presença de carbonatos na superfície do biovidro.

A composição da superfície do biovidro, desconsiderando a concentração de carbono também é mostrada na Tabela 10. Apesar da correção da composição da superfície do biovidro, desconsiderando a presença de carbono, pode-se notar uma diferença significativa em relação à concentração do Na, Ca e Si. Tal discrepância nas concentrações está ligada a grande solubilidade do BG45S5. O processo de corte do disco do biovidro foi realizado na presença de água, logo, uma possível lixiviação dos íons Na^+ e Ca^{2+} poderá ter ocorrido, formando grupos silanóis na superfície dos biovidros. Considerando a profundidade de análise do XPS (Figura 18) essa variação na concentração dos íons Na^+ e Ca^{2+} se torna bastante plausível. O efeito da troca iônica na composição da superfície do BG45S5 determinada por XPS pode ser visualizada no gráfico da Figura 18.

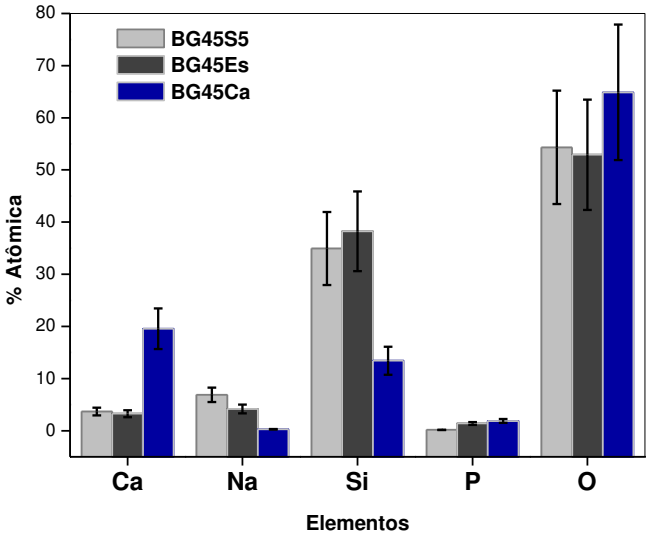

Figura 18: Composição elementar dos biovidros obtida por XPS.

Embora o XPS confirme um enriquecimento de cálcio para o BG45Ca, a concentração desse elemento para o BG45Es estaria dentro do erro experimental. Tendo em vista, a região e a profundidade analisada por XPS, pode-se inferir que o processo de remoção dos resíduos do banho de troca pode ter ocasionado a lixiviação de parte dos íons cálcio trocado, presentes nas primeiras camadas atômicas, deixando as alterações além da profundidade de detecção dessa técnica. Contudo, para o BG45Ca, a grande quantidade de cálcio presente ou um ambiente químico diferenciado para esse elemento, pode ter contribuído para amenizar essa perda pelo processo de limpeza. Essa suposição se torna mais evidente quando se observa o aumento da concentração de silício na superfície (Figura 18).

De forma exploratória, o biovidro BG45S5 foi inicialmente caracterizado quanto a sua cristalinidade aos raios-X (Figura 19-a). Esta informação é bastante importante para esse precursor, uma vez que a cristalização é um processo indesejado, durante o processo de preparação do biovidro por resfriamento e "*anneling*" da massa fundida. A cristalização resultaria em uma superfície heterogênea e inviabilizaria o processo de troca iônica [30]. O difratograma de raios-X para o BG45S5 confirma a natureza não-cristalina desse biovidro pela ausência de picos de difração. É possível observar apenas uma região (halo) larga de difração de $25 < \theta < 35$, peculiar de materiais silicatos vítreos com ordenamento a curto alcance [2].

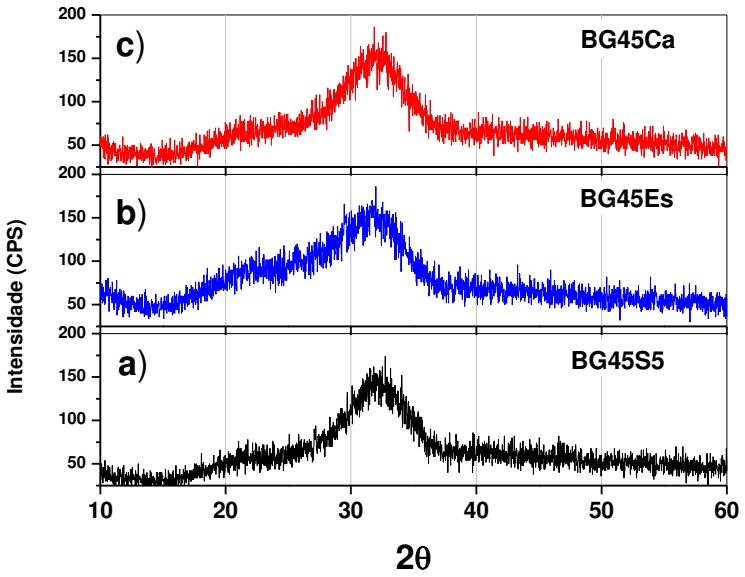

Figura 19: Difração de raios-X do BG45S5 (a), BG45Es (b) e BG45Ca(c).

Com a finalidade de verificar se a troca iônica induziu algum ordenamento na rede biovidro, análises de difração de raios-X também foram realizadas para os biovidros após a troca iônica (Figuras 19-b e 19-c). Os resultados de difração mostram que os processos de troca iônica nos biovidros, realizada pelas duas metodologias propostas, mantêm a natureza não-cristalina desses biovidros. Todavia, uma análise minuciosa dos difratogramas, mostra para todos os biovidros submetidos ao processo de troca iônica a presença de halo assimétrico com um ombro para valores menores de 2θ. Para o BG45Es esse ombro é menos deslocado para valores menores de 2θ e apresenta uma maior intensidade. A presença do ombro para os biovidros que sofreram troca sugere um aumento da ordem a médias ou longas distâncias [66].

As determinações por espectroscopia na região do infravermelho por refletância especular foram realizadas, por ser esta técnica, uma ferramenta poderosa para sondar estruturas de forma não destrutiva em materiais vítreos, além disso, com baixa profundidade de penetração. O espectro de reflexão no infravermelho para o BG45S5 está apresentado na Figura 20. A absorbância relativa para biovidro foi corrigida a partir do espectro de refletância especular empregando a transformação de Krames-Kronig [98].

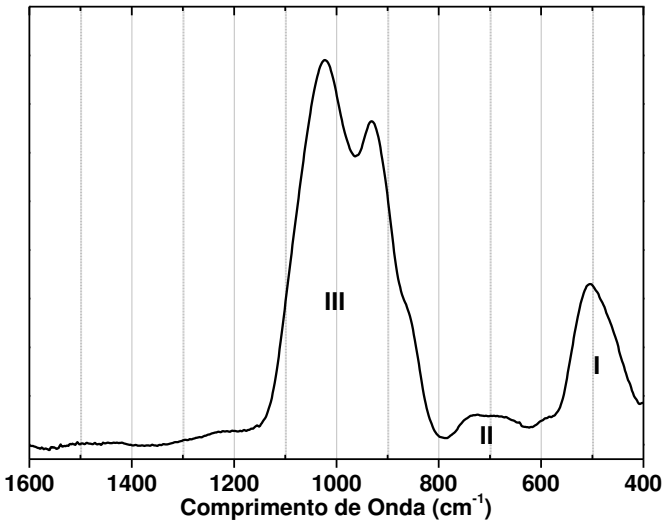

Figura 20: Espectro de absorção na região do infravermelho para o BG45S5.

O espectro de absorção no infravermelho para o BG45S5 é típico de materiais silicatos vítreos com a presença de três bandas principais [6].

A primeira banda (I) é composta de um máximo em 500 cm^{-1} e uma cauda próxima ao número de onda 600 cm^{-1}. Esta absorção próxima a 600 cm^{-1} tem sido atribuída ao “bending”

de PO_4^{3-} em espécies $_PQ^0$, enquanto que a absorção em menor freqüência é atribuída aos movimentos "rocking" dos oxigênios ligados a dois átomos de silício adjacentes, perpendiculares ao plano Si-O-Si em espécies $_{Si}Q^2$ (Figura 20-a e 20-b) [99-106].

A segunda banda (II) compreende o intervalo de 800–650 cm^{-1} representado por duas absorções. Uma absorção em 750 cm^{-1} atribuída ao modo de flexão de BO-Si-BO e outra em 730 cm^{-1}, que é referente ao estiramento simétrico do átomo de oxigênio ao longo da linha que bissecciona o ângulo θ no grupo Si-O-Si simultaneamente com alguns movimentos dos átomos de silício (Figura 20-c e 20-d) [104,107].

A terceira a banda (III) em maior energia aparece com dois máximos bem definidos centrados em 1020 e 930 cm^{-1}. A absorção de maior intensidade está relacionada ao estiramento assimétrico do grupo Si-O-Si em todas espécies $_{Si}Q^n$ envolvendo o movimento do oxigênio ao longo da direção dos átomos de silício (Figura 20-e e 20-f). [104-109]. Essa intensa absorção cobre as bandas de estiramento assimétrico Si-O-Si de $_{Si}Q^2$ ligados a $_{Si}Q^2$ e $_{Si}Q^3$, além disso, a absorção referente Si-NBO em espécies $_{Si}Q^3$. A outra absorção, centrada em 930 cm^{-1}, pode ser atribuída ao estiramento assimétrico de NBO-Si-NBO da espécie $_{Si}Q^2$ [105].

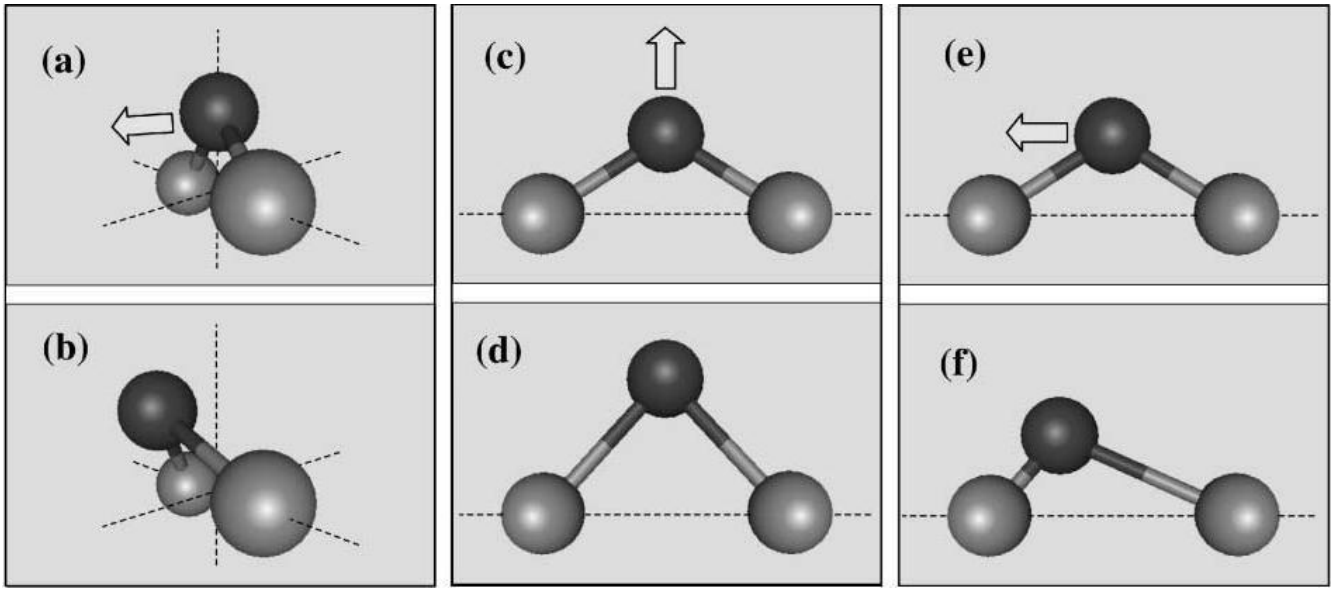

Figura 21: Representação esquemática dos movimentos vibracionais de átomos de oxigênio (escuro) com relação aos átomos de silício em ponte (cinza): "rocking" (a) e (b), estiramento simétrico (c) e (d) e estiramento assimétrico (e) e (f) [109].

Outra observação que pode ser feita para essa banda refere-se à presença de um ombro bastante pronunciado para baixas freqüências ≈885 cm^{-1} e um cauda para maiores números de onda 1240-1200 cm^{-1}. Este intervalo pode ser atribuído ao estiramento da dupla ligação P=O (≈1240 cm^{-1}) em espécies $_PQ^0$ e ao P=O (≈1222 cm^{-1}) em espécies $_PQ^1$. O ombro em 885 cm^{-1} pode estar ligado ao modo estiramento assimétrico P-BO-Si de unidades de PO_4 ligada a rede, sobrepondo as bandas 853 e 817 cm^{-1} referente a estiramento assimétrico Si-O-Si de $_{Si}Q^2$ ligadas a espécies $_{Si}Q^2$ [105-106].

Os espectros de IRRAS para os biovidros modificados, embora continuem sendo vidros silicatos apresentam uma interpretação complexa em virtude de dois fatores: a manutenção de sua natureza não-cristalina e a quebra de degenerescência de níveis vibracionais [105,106]. Além disso, a presença dos grupos fosfato, os quais apresentam modos vibracionais próximos dos silicatos, gera sobreposição de bandas, o que dificulta ainda mais sua interpretação [107].

O espectro de absorção no infravermelho para o BG45Es exibe um notável alargamento como observado na Figura 22, oriundo do incremento da concentração de íon cálcio na superfície e do seu caráter de íon modificador de rede.

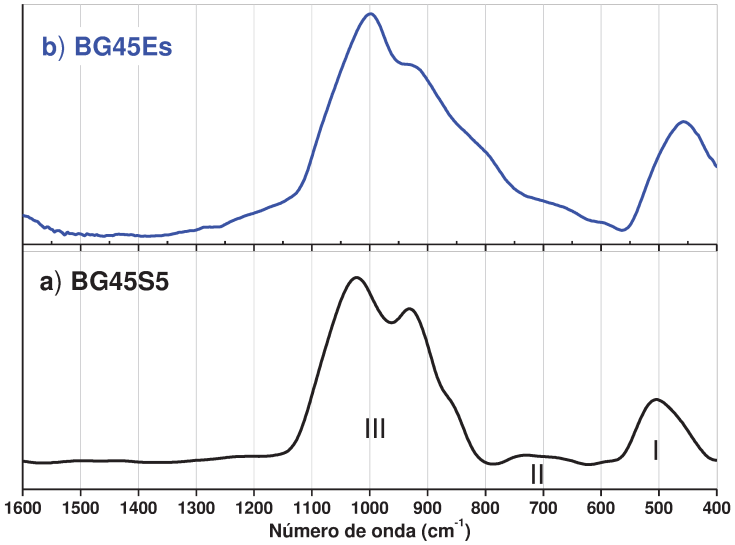

Figura 22: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 b) BG45Es.

Comparando o espectro BG45Es com BG45S5 é possível notar uma alteração considerável na banda (III), referente ao aumento da assimetria para maiores números de onda concomitante com um decréscimo da freqüências de absorção de ≈1020 cm^{-1} para

1000 cm^{-1}. Além disso, um claro alargamento da banda centrada em ≈930 cm^{-1} para menores energias pode ser observado. Todas essas alterações sugerem estar relacionadas com a presença de espécies fosfatos $_PQ^0$ na superfície e uma possível despolimerização da rede de sílica da superfície do biovidro [107]. De fato, a vibração em 1000 cm^{-1} tem sido atribuída ao estiramento assimétrico do PO_4^{3-}, [105,106] enquanto que o *shift* para menores energia é bastante conhecido para os modos de estiramento em Si-NBO [107]. Estudos diversos em vidros soda-lime mostram que a inserção de metais alcalinos ou alcalinos terrosos na rede de sílica promove um alargamento na banda III, deslocando-as para menores números de onda [105-108]. Esse "shift" é atribuído à quebra de degenerescência de modos vibracionais do silício pela redução de sua simetria ($T_d \xrightarrow{Na,Ca} C_{3\upsilon} \xrightarrow{Na,Ca} C_{2\upsilon}$ ou $T_d \xrightarrow{Na,Ca} C_{2\upsilon}$) [110]. Assim, modos de estiramentos referentes a Si-O, com um oxigênio não ligante (Si-O-NBO) ou dois oxigênios não ligantes (Si-O-2NBO) por tetraedro SiO_4, manifestam sua presença espectral sobrepondo diversos modos vibracionais [105,106, 109,110].

A outra modificação no espectro IRRAS para o BG45Es é um deslocamento de sua banda de absorção III para freqüências inferiores bem como uma clara fusão com a banda II. Esse deslocamento sugere uma despolimerização da rede de sílica pela quebra da ligação Si-O-Si para formar Si-NBO, levando à redução da simetria do silício [109, 110].

A banda I do BG45Es mostrou deslocamento de 500 cm^{-1} para 475 cm^{-1} com o processo de troca iônica. Esse fato pode estar relacionado a um aumento das espécies de grupos PO_3^{4-} na região analisada que alarga a banda I para maiores freqüências deslocando o máximo para menores energias. Em concordância com essa suposição, a banda referente ao grupo $_PQ^0$ em 1200 cm^{-1} mostrou um visível aumento de intensidade. Em geral, a assimetria gerada nesta banda é peculiar em materiais vítreos que tem sua composição incrementada com modificadores de rede e grupos fosfatos [105,107]. Desse modo, o processo de modificação da superfície do biovidro em sal fundido de cálcio sugere não promover somente a troca iônica, mas também, um enriquecimento superficial com cálcio e de espécies fosfatos.

As alterações na microestrutura para o BG45Ca são menos perceptíveis quando comparadas com as alterações para o BG45Es.

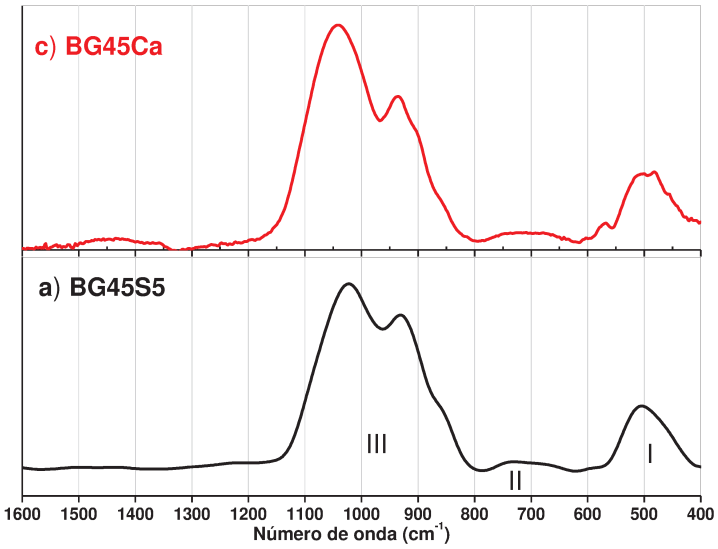

Figura 23: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 e b) BG45Ca.

Em comparação com o BG45S5, a banda I para o BG45Ca modificou seu aspecto com um indício de divisão de seu máximo de absorção. Esse evento pode estar ligado ao aumento do tamanho dos cristalitos na camada superficial desse biovidro (Figura 23). Além disso, a banda em 570 cm^{-1} se torna mais definida, isso sugere uma maior quantidade de espécies fosfatos PO_3^{4-} ($_PQ^0$). Outra pequena banda em 600 cm^{-1} pode ser vista, a qual tem sido atribuída ao modo de flexão da ligação P-O no cristal [59,111, 112]. Para a banda II no BG45Ca, não foi observada nenhuma alteração em comparação com o BG45S5_1000.

Comparando o espectro de absorção no infravermelho do BG45Ca com BG45S5 um efeito interessante pode ser observado. A troca iônica promove um pequeno deslocamento da banda ≈1020 cm^{-1} e ≈930 cm^{-1} para ≈1040 cm^{-1} ≈940 cm^{-1}, respectivamente. Além disso, pode ser observado um visível aumento da relação entre intensidade dessas bandas. Essas alterações poderiam indicar à presença de espécies fosfatos na rede silicato ($_PQ^1$) na camada superficial do biovidro [105, 111]. Porém, estudos por NMR para o ^{31}P no BG45S5 realizados por Linati et al. (2008) e Lockyer et al. (1995) mostraram uma grande relutância do fósforo em entrar na rede de sílica ou polimerizar-se na presença de modificadores de rede (Na e Ca) [30, 113, 114]. Esse dado exclui a possibilidade desse evento para esse biovidro, pela grande quantidade de cálcio determinada por EDX-XRF (Figura 17).

Outra possibilidade para o aumento na freqüência de vibração no espectro IRRAS para o BG45Ca seria uma polimerização da rede da sílica, uma vez que nenhuma alteração

da banda III em direção a banda II pode ser observada. Entretanto, o aumento de cálcio que foi observado para esse biovidro na camada superficial não condiz com essa possibilidade (Figura 17). De forma oposta, espera-se uma despolimerização da rede de sílica, formando espécies isoladas de silicato de cálcio $_{Si}Q^0$. De fato, a presença da banda referente a espécie $_{Si}Q^0$ centrada em ≈ 860 cm^{-1} não seria observada pelo espectro IRRAS, pois estaria sendo encoberta pelas absorções dos modos de estiramento assimétrico de NBO-Si-NBO da espécie $_{Si}Q^2$ [106].

Outro fenômeno que poder resultar em um possível deslocamento para maiores energias estaria associado a uma tensão das ligações na região amostrada pelo IRRAS. De fato, a introdução do Ca na rede do BG45S5 em substituição ao sódio (raio iônico 0,90) leva a uma tensão residual, que é caracterizada por uma força de superfície que comprime o "bulk". O fato que poderia gerar tensão estaria relacionado a uma reorganização da rede vítrea causada pela troca de dois sódios, em posições distintas, por um cálcio. A Figura 24 mostra como a troca iônica poderia gerar as tensões.

A reorganização na rede cria uma tensão na superfície deslocando as absorções no infravermelho para maiores freqüência. De fato, estudos realizados por Velde et al. [115] empregando espectroscopia por infravermelho em vidro de sílica sob alta pressão, mostraram um afinamento do sinal e o surgimento de novas bandas na região entre 1400 e 400 cm^{-1}. Adicionalmente, todas as bandas apresentam mudanças positivas de freqüência de absorção ou igual a zero [115]. Esses efeitos espectrais são devido à compressão das estruturas e não devido às alterações na ligação das unidades de Si-O.

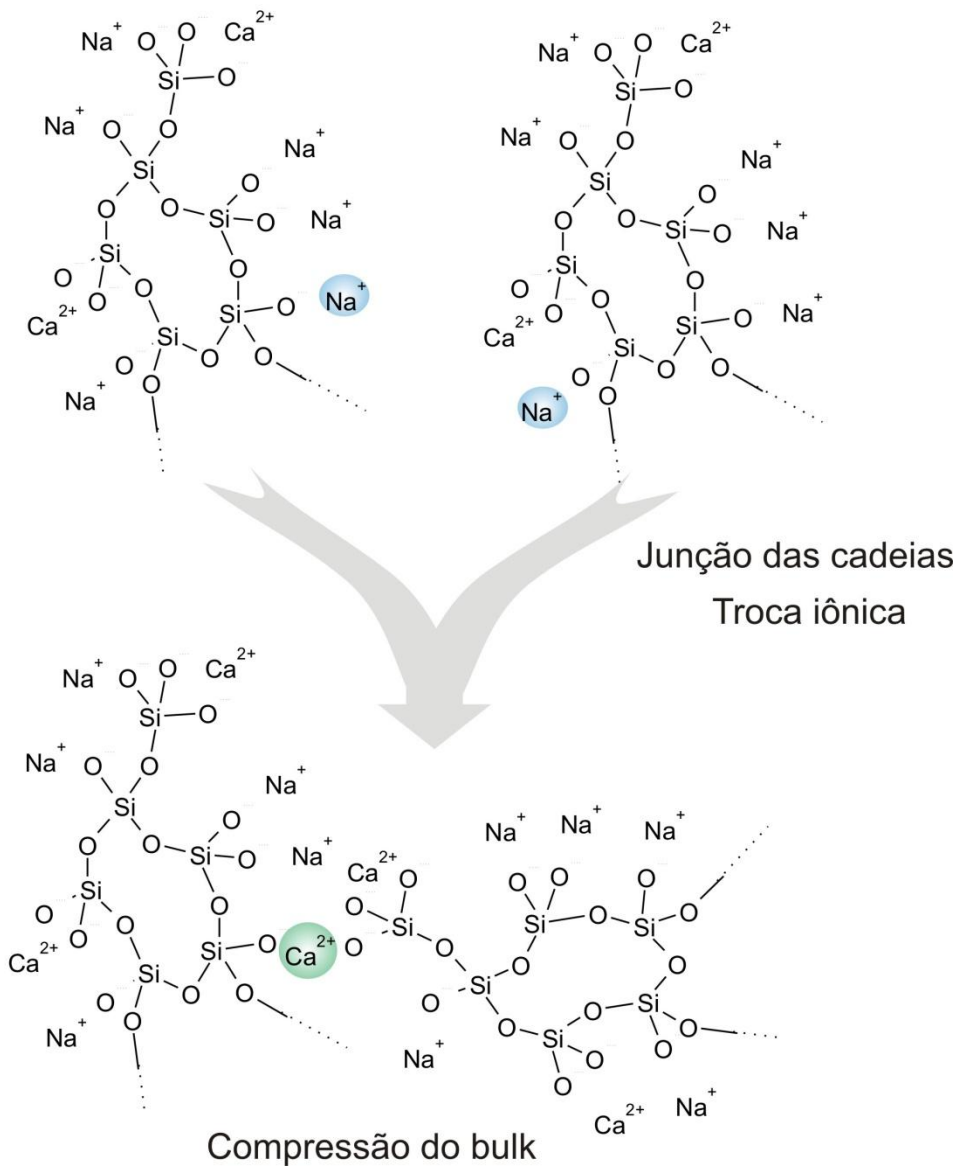

Figura 24: Reorganização das cadeias de silício pela troca iônica.

Embora a região amostrada pelo IRRAS seja bastante distinta do XPS (Figura 4), os resultados desta técnica podem ser empregados de forma complementar para o entendimento da estrutura atômica dos átomos em uma camada próxima a superfície. Com esse propósito, a superfície dos biovidros foi analisada por espectroscopia de elétrons excitados por raios-X (XPS) a fim de se estudar o ambiente químico dos componentes presentes nos biovidros e buscar uma complementação com os resultados originados das outras técnicas de caracterização.

Os espectros de P_{2p} XPS para o BG45S5 e para os biovidros submetidos à troca iônica são mostrados na Figura 25.

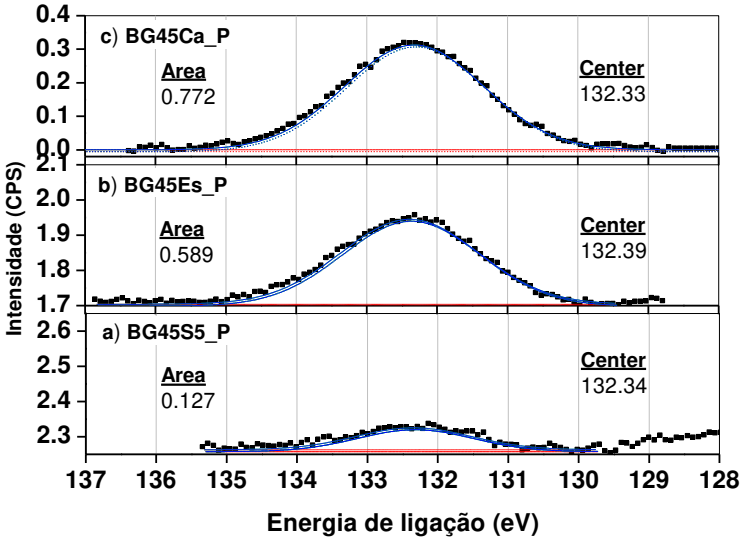

Figura 25: Espectros de P_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Es e c) BG45Ca.

Em comparação com o BG45S5, o espectro de P_{2p} XPS para o biovidro BG45Es e BG45Ca exibem um aumento de espécies fosfato em suas superfícies. Além disso, ele mostra uma manutenção de ambiente químico para esse elemento nos biovidros. Lockyer e colaboradores (1995) [114] e Linati et al. 2008 [113], estudaram o bulk do BG45S5 por ^{31}P NMR e encontraram o orto-fosfato ($_PQ^0$) como a espécie fosfato predominante na estrutura do biovidro. De fato, essa energia de ligação encontrada para o fósforo por XPS tem sido a atribuída em vários trabalhos para espécies de orto-fosfato [116, 117]. Assim pode-se esperar um ambiente químico para o fósforo com maior densidade eletrônica em todos os biovidros, típico das espécies Na_3PO_4, $CaNaPO_4$ e $Ca_3(PO_4)_2$. Estes resultados para os biovidros BG45Ca e BG45Es, que possuem suas composições incrementadas por íons cálcio, permitem inferir a presença de microdomínios de orto-fosfato de cálcio em suas superfícies [67, 116].

O espectro de XPS do Si_{2p} para o BG45S5 e para o biovidro submetido à troca iônica é mostrado na Figura 26:

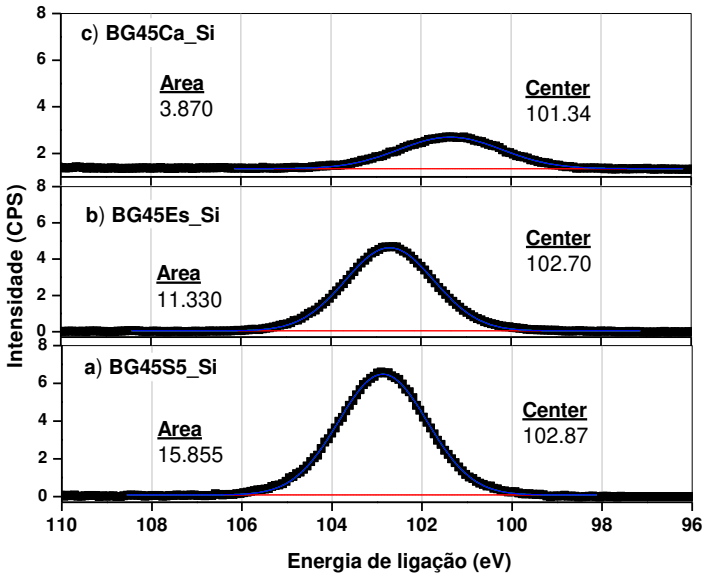

Figura 26: Espectros de Si_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Ca.

Em comparação com o BG45S5, o espectro de Si_{2p} XPS para o biovidro BG45Es mostra um pequeno deslocamento para menores energias de ligação, indicando um aumento da densidade eletrônica no ambiente químico do silício (Figura 26-a e 26-b). Contudo, devido esse deslocamento ser muito pequeno, não se pode inferir qualquer alteração no ambiente químico do silício no biovidro BG45Es.

Por outro lado, para o BG45Ca, o espectro desloca consideravelmente para menores energias de ligação, indicando um aumento da densidade eletrônica no ambiente químico do silício (Figura 26-a). Esse dado está plena concordância com as análises elementares (Figura17 e 18), que indicam uma quantidade maior do cálcio na superfície do biovidro BG45Ca. Esse deslocamento no espectro XPS do Si sugere uma grande desruptura da rede de sílica (Si-O-Si $\rightarrow$ Si-NBO). Serra et al. (2003) estudou o sinal Si_{2P} em função da composição em sistemas vítreos, observando que este sinal é expresso inicialmente por uma função simétrica que se desloca para baixas energias quando aumenta o teor dos íons metálicos sódio e cálcio no ambiente do silício [107]. Assim, a energia de ligação de 101,34 eV para o silício indica um enriquecimento da atmosfera com elétrons que pode ser atribuído à presença de elementos com baixa afinidade eletrônica, por exemplo, o cálcio ou sódio.

Assim, podemos concluir que o processo de imersão em sal fundido para o BG45Ca resulta não somente na troca iônica, mas também promove uma fragmentação da rede de

sílica da superfície (Figura 26-c). Além disso, uma migração de espécies fosfato do bulk para superfície é observada claramente para ambos os métodos de troca iônica empregada (Figura 19). Contudo, esse evento é mais pronunciado para o BG45Ca que está relacionado ao uso de uma maior temperatura no banho imersão. Esse fato reforça a presença de espécies isoladas de PO_4^{3-} na rede de sílica. Assim essas espécies migram para a superfície pela diferença de potencial químico devido às mobilidades distintas do cálcio e do sódio em um processo de troca iônica.

Em relação à natureza dos fosfatos presentes na superfície, em ambos os biovidros (BG45Es e BG45Ca), a espécie predominante é a mesma encontrada no BG45S5, ortofosfato (Figura 25). Levando em conta o enriquecimento da superfície dos biovidros com cálcio e fósforo, e a conhecida afinidade química desses elementos, pode-se inferir a presença de microdomínios de orto-fosfato de cálcio em ambos biovidros. Vale à pena ressaltar que o predomínio de ortofosfato (espécies $_PQ^0$) nesses biovidros não exclui a presença de piro-fosfato (espécies $_PQ^1$) em quantidades inferiores.

A morfologia da superfície foi avaliada depois do processo de troca iônica por microscopia eletrônica de varredura acoplada com EDS. As micrografias referentes ao biovidros BG45S5 e aos biovidros modificados pela imersão em banho de cálcio são mostradas abaixo (Figuras 27-29):

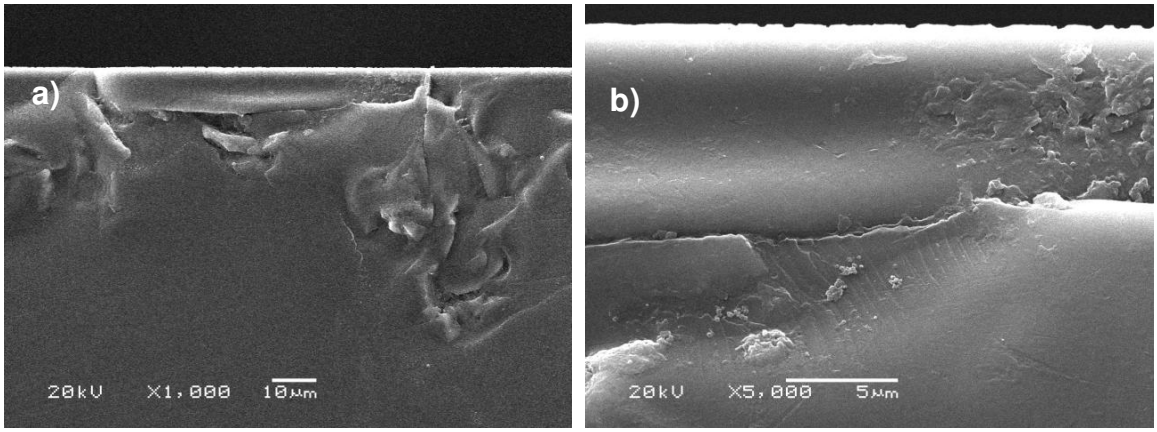

Figura 27: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45S5 a) 1.000x e b) 5.000x.

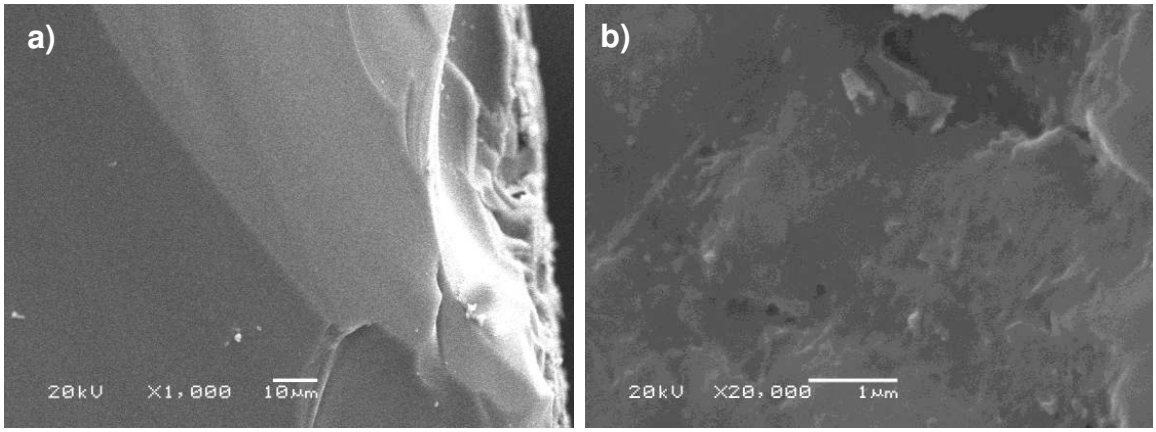

Figura 28: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45ES a) 1.000x e b) 20.000x.

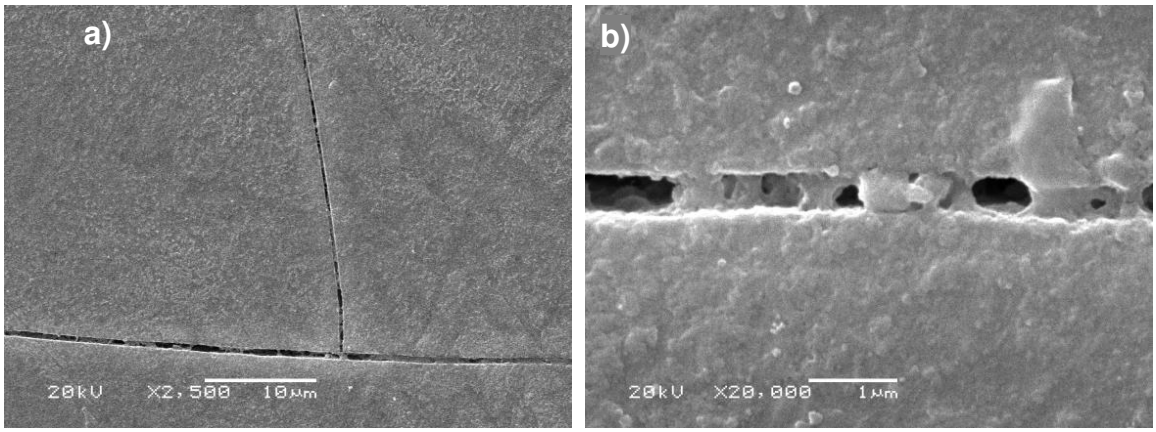

Figura 29: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45ES a) 2.500x e b) 20.000x.

A morfologia do BG45S5 obtida por microscopia eletrônica de varredura (Figura 27) mostra uma superfície bastante homogênea e lisa como esperado pelo polimento do biovidro precursor. Todavia, os resultados mostrados pelas micrografias obtidas para os biovidros BG45Es e BG45Ca, após troca iônica (Figura 28 e 29), evidenciam uma grande modificação em sua superfície quando comparado com o biovidro, BG45S5. As micrografias mostram que tanto o BG45Es, quanto o BG45Ca apresentam uma morfologia de superfície com um aspecto rugoso e não uniforme. A presença de microdomínios para o BG45Es e BG45Ca não pode ser observada, entretanto isso não exclui sua existência em uma escala de tamanho nanométrica. Além disso, a morfologia do BGCa sugere que o processo de troca iônica provoca um desgaste ou uma dissolução da rede sílica da superfície, contudo o banho de troca foi analisado não sendo detectado a presença de silício.

Outra questão importante a ser considerada é o efeito da temperatura sobre a espessura da camada com composição modificada do biovidro pelo processo de troca iônica. Na Figura 30 mostra o perfil da concentração de Si, Ca, Na, P e O, obtido para a seção de corte do disco do biovidro BG45Ca, determinado por SEM-EDS. o que permitiu encontrar a espessura modificada. Um aumento na concentração de cálcio pode ser observado na linha em direção a borda do biovidro (Figura 30). O aumento da concentração de cálcio é acompanhado da redução na concentração de sódio (em decorrência da troca iônica) e de silício (em decorrência do aumento da razão atômica Ca/Si). O perfil de concentração obtido por SEM / EDS permitiu estimar a espessura da camada modificada com sendo aproximadamente de 15 μm.

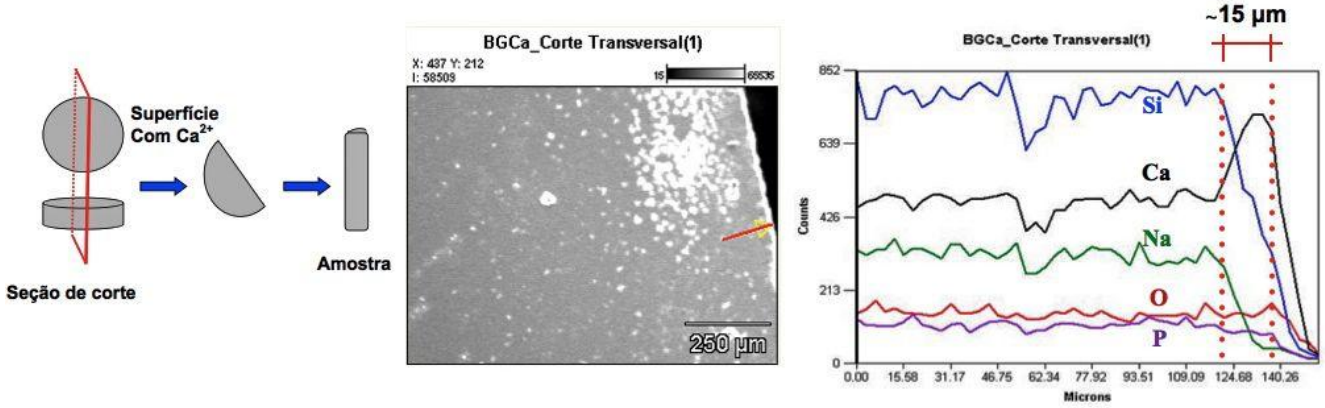

Figura 30: Perfil de troca iônica no biovidro BG45Ca obtida por EDS.

A troca iônica para BG45Ca resulta em uma modificação de uma “casca” de aproximadamente de 15 μm. Esse resultado justifica a drástica modificação na morfologia para esse biovidros com a troca iônica. Experimento similar foi realizado para o BG45Es, contudo, nenhuma alteração foi observada. Isso indica uma espessura modificada extremamente fina para esse biovidro. Além disso, sugere uma relação entre a intensidade da modificação da morfologia do biovidro com a espessura da casca modificada.

4.1.3 - Tratamento térmico “flash”

O tratamento térmico do BG45S5 e dos biovidros com a superfície enriquecida com cálcio não promove alterações na natureza vítrea dos biovidros. Os difratogramas de raios-X

para todos os biovidros confirmam a natureza não-cristalina destes materiais pela ausência de picos de difração (Figura 31).

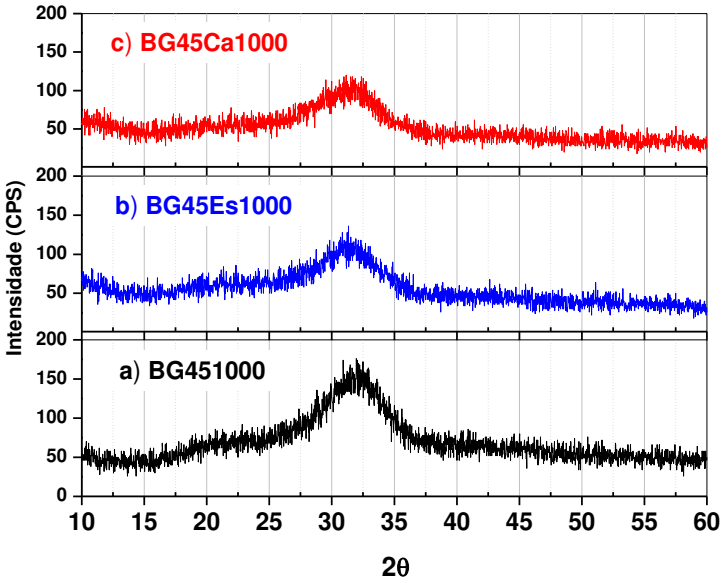

Figura 31: Difração de raios-X do a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000.

É possível observar apenas uma região (halo) larga de difração de 25 < θ < 35, peculiares de materiais silicatos vítreos sem ordenamento a médios e longo alcance [2].

O efeito do tratamento térmico flash sobre as bandas de absorção no infravermelho do Bioglass® 45S5 é mostrado na Figura 32.

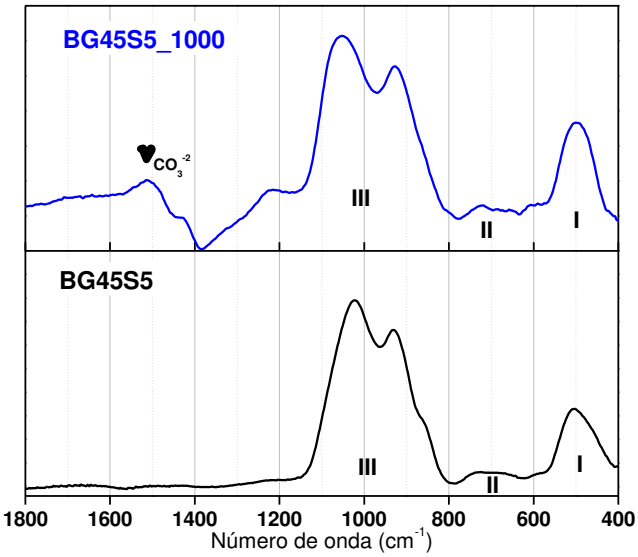

Figura 32: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5 b) BG45S5_1000.

O espectro para BG45S5_1000 não apresenta grandes alterações nas posições das bandas, comparado ao BG45S5. A banda I se torna mais simétrica e mais afinada, porém sem qualquer deslocamento em seu máximo de absorção. Na banda II, é possível notar os surgimentos de pequenas bandas de absorção semelhante a ruídos espectrais. Esses aspectos são peculiares de materiais com maior ordenamento estrutural. Outra alteração é referente ao modo vibracional "bending" da ligação P-O em grupos PO_4^{3-} com a banda centrada em 600 cm^{-1} e ao modo de estiramento assimétrico do PO_4^{3-} com banda em 1200 cm^{-1} se tornam mais pronunciadas. A banda III referente ao estiramento Si-O de todas as espécies $_{Si}Q^n$, apresenta um deslocamento para maiores freqüências ≈1055 cm^{-1}.

O deslocamento do modo estiramento Si-O para maiores números de ondas está relacionada a uma polimerização da rede ou a possibilidade da criação de uma força de compressão do bulk pela cristalização de sua superfície [6]. Embora a composição do BG45S5_1000 exiba uma grande quantidade de modificadores de rede em sua composição, uma polimerização neste caso não pôde ser descartada devido o aparecimento de uma nova banda bastante alargada na região de 1400-1500 cm^{-1}. Essa banda está relacionada presença de carbonatos, que podem estar competindo com os átomos de silício e fósforo pelos modificadores de rede, especialmente cálcio [97, 111, 118]. Desta forma, não podemos discriminar ou descartar a contribuição desses dois eventos para o aumento da freqüência de absorção do BG45S5_1000.

O espectro de IRRAS para o BG45Es_1000 (Figura 33-b) mostra que o tratamento térmico não promoveu grandes alterações em comparação com seu precursor BG45Es (Figura 22-b). Entretanto as bandas referentes aos grupos fosfatos ficaram mais intensas e visíveis, conforme pode ser observado pelo aumento do ombro em 1200 cm^{-1} [110, 111]. Em comparação com o BG45S5_1000, o espectro obtido por IRRAS para BG45Es_1000 apresente grandes diferenças (Figura 33).

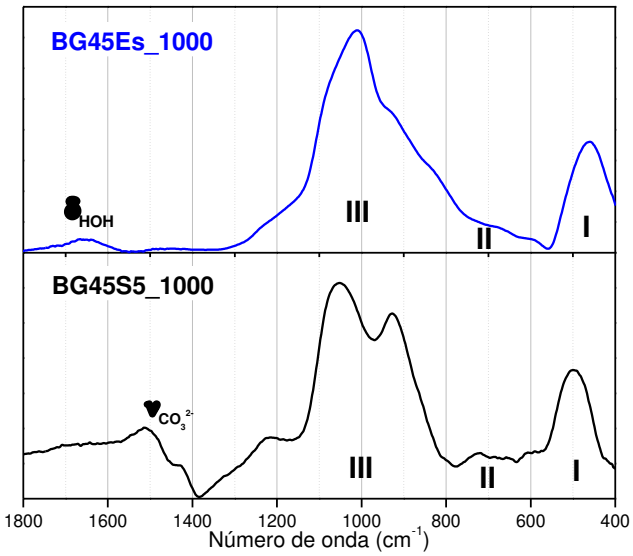

Figura 33: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5_1000 b) BG45Es_1000.

A banda I para o BG45Es_1000 possui um formato assimétrico e alargado, indicando os modos de "rocking" de Si-O-Si na presença de modificadores de rede [98, 101, 108, 109, 111]. Além disso, pode ser observado de forma mais evidente a presença de espécies orto-fosfatos, expressa pela banda intensa centrada em 1000 cm^{-1} e outra banda em 600 cm^{-1} [67, 105, 106, 111, 112]. A presença de espécies carbonatos não foi observada, assim, o pequeno ombro para 1080 cm^{-1} em maiores freqüências estaria relacionado ao modo de vibração Si-O na presença de uma tensão da rede, embora, uma polimerização não possa ser descartada [98, 101]. Neste caso, essa tensão na camada superficial estaria relacionada a uma cristalização de superfície que poderia promover uma força de compressão do bulk. Essa suposição é reforçada pela banda intensa referente espécies orto-fosfato presente neste biovidro que apresenta um aspecto típico de composto com grande grau de ordenamento. A presença da água é observada pelo seu modo de deformação em 1630 cm^{-1} [94, 97, 111].

A presença de espécies cristalizadas são mais evidente para o BG45Ca_1000 como pode ser observado pela espectroscopia de absorção no infravermelho (Figura 34).

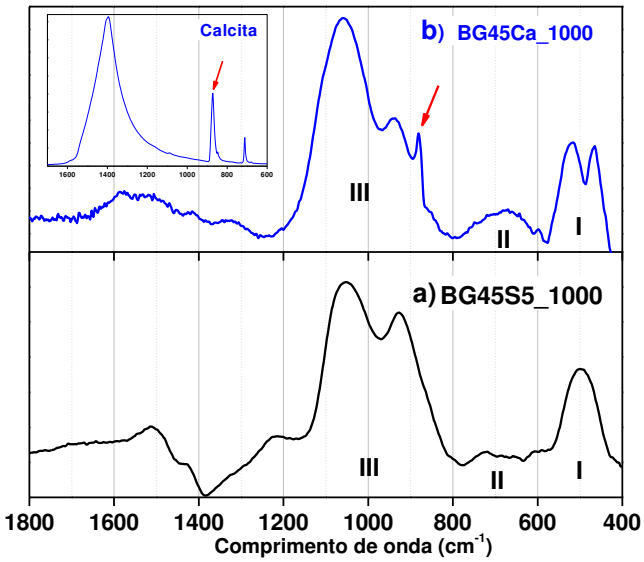

Figura 34: Espectros IRRAS dos biovidros modificados por troca iônica a) BG45S5_1000 b) BG45Ca_1000.

Em comparação com o BG45S5_1000, a banda I do espectro BG45Ca_1000 sofre uma divisão em duas bandas bem definidas em 570 e 465 cm^{-1}. Essas bandas podem ser atribuídas à presença de duas espécies de silício com polimerização distinta. A primeira referente ao modo δ(O-Si-O) em espécies $_{Si}Q^2$ e a segunda referente ao modo vibracional δ(O-Si-O) em espécies $_{Si}Q^1$, a presença de ambas sugerem um ambiente cristalino [105,106]. A banda II sofre um aumento de intensidade além do aparecimento de uma pequena banda centrada em 600 cm^{-1} relacionada a grupos fosfato (*bending* P-O) em espécies $_PQ^0$ [105, 106, 111, 112]. O aumento dessa intensidade pode estar relacionada à formação de um filme de $CaCO_3$ na superfície desse biovidro. Reforçando essa suposição, o espectro mostra uma banda bastante definida e fina com máximo ≈880 cm^{-1} e uma banda larga na região 1410-1510 cm^{-1}semelhante à encontrada para a calcita (espectro de infravermelho da calcita em detalhe Figura 34).

Em comparação com o seu precursor, o BG45Ca_1000 apresentou uma única alteração no espectro de absorção no infravermelho, que pode ser justificada como sendo efeito do tratamento térmico, o qual promoveu uma maior cristalização do filme de $CaCO_3$.

A análise da superfície para os biovidros submetidos ao tratamento térmico também foi realizada por XPS. A Figura 35 mostra os espectros para esses biovidros.

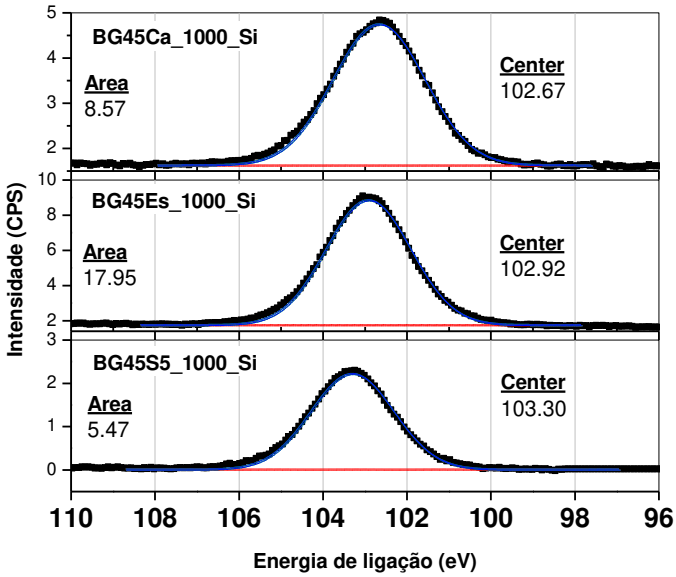

Figura 35: Espectros de Si_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000.

O espectro de Si_{2p} XPS para os biovidros com superfície modificada com íons cálcio mostra um deslocamento para menores energias em comparação com o BG45S5_1000. Esse resultado sugere uma maior densidade eletrônica para o silício nos biovidros modificados por cálcio em relação BG45S5_1000.

Em relação a seu precursor BG45Es (Figura 27-b), o espectro Si_{2p} para o BG45Es_1000 mostrou uma manutenção do ambiente químico para o silício, depois do tratamento térmico. Por outro lado, um efeito oposto é observado para o BG45Ca_1000 quando comparado com o seu precursor BG45Ca. O tratamento térmico do BG45Ca, promove um grande aumento da energia de ligação. Embora a região amostrada seja diferente, os resultados obtidos por infravermelho também indicam para esse biovidro uma polimerização associada à formação de um filme carbonato de cálcio. De fato, o C_{1s} mostra uma quantidade superior da espécie carbonato iônico na superfície do biovidro BG45Ca_1000. A Figura 36 relaciona a área do espectro do C_{1s} XPS deconvoluída referente ao carbonato iônico (carbonato de cálcio) para cada biovidro submetido ao tratamento térmico [97].

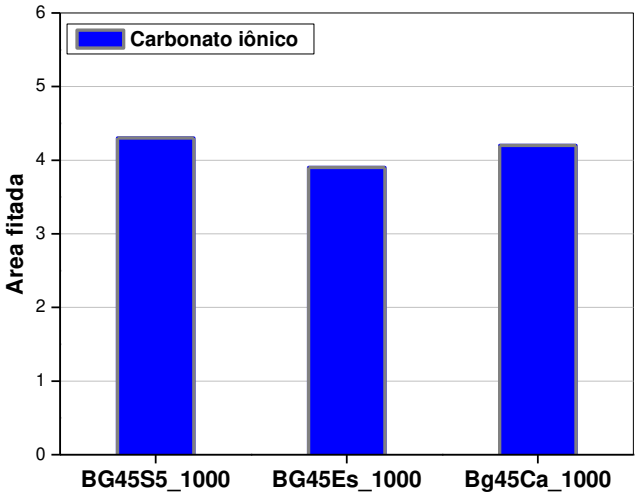

Figura 36: Área deconvoluída do espectro C_{1s} XPS referente à presença de carbonato iônico.

A área da curva ajustada do C_{1s} XPS indica uma relação entre quantidade de carbonato iônico com o grau de polimerização da rede sílica na superfície do biovidro.

A Figura 37 mostra os espectros de XPS para o fósforo nos biovidros submetidos ao tratamento térmico.

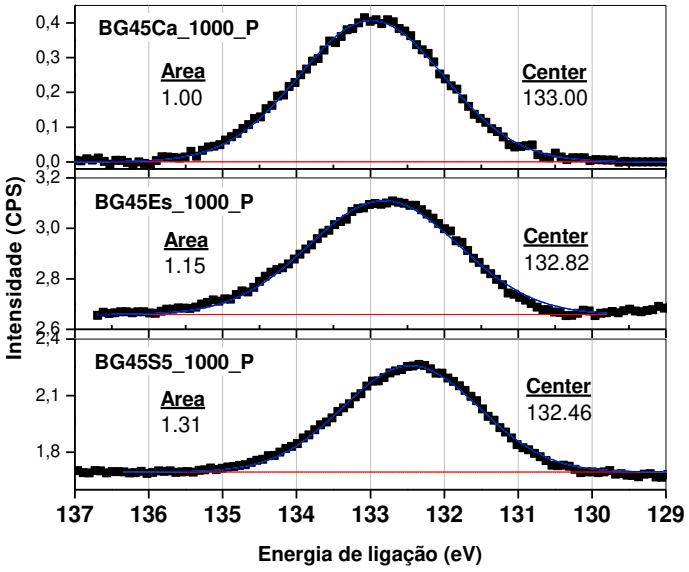

Figura 37: Espectros de P_{2p} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000.

Comparando os espectros de P_{2p} XPS é possível notar que o tratamento térmico para todos biovidros promove uma redução na densidade eletrônica no ambiente do fósforo. Esta redução corrobora com o aumento de íons carbonatos na superfície (Figura 37). Os resultados de XPS mostram que a energia de ligação encontrada para o BG45Ca_1000 se aproxima da energia de ligação encontrada por P_{2p} XPS para a hidroxiapatita (Figura 38).

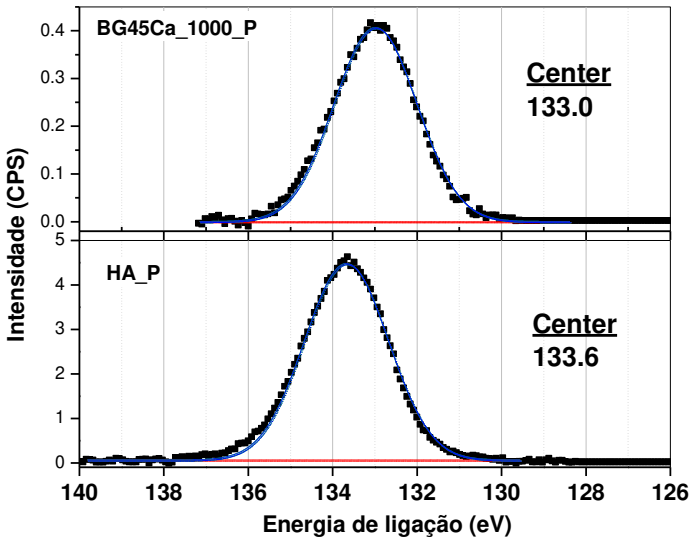

Figura 38: Espectros de P_{2p} XPS a) HA, b) BG45Ca_1000.

Desta maneira, podemos considerar que o tratamento térmico resulta em uma competição entre o carbonato e os ânions silicatos e fosfatos pelos átomos de cálcio. Além disso, esse resultado sugere que além das espécies de orto-fosfatos presentes na superfície dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica, o tratamento térmico promove uma migração desta espécie na direção da superfície para a formação da HA. Para o BG45Ca_1000 esse efeito é mais evidente.

Assim podemos resumir as alterações na superfície dos biovidro da seguinte forma: para o todos os biovidros o tratamento térmico promove uma polimerização da rede de sílica. Contudo o grau de polimerização está diretamente relacionado à formação da camada de $CaCO_3$, ou seja, a quantidade de carbonatos iônicos disponíveis na superfície dos biovidros. Esse evento é mais evidente para o BG45Ca_1000, no qual as bandas referentes a calcita pode ser observadas no espectro absorção no infravermelho. Além disso, os resultados sugerem que tanto para o BG45S5_1000 quanto para o BG45Ca_1000 a presença de uma stress de compressão sobre o bulk pode ter um papel coadjuvante com a polimerização da

rede sílica no deslocamento das freqüências de absorção desses biovidros. O tratamento térmico afeta diretamente energia de ligação do fosfato que inicialmente estava em ambiente químico tipo orto-fosfato transformando o para um ambiente semelhante a da HA.

O efeito do tratamento térmico sobre a morfologia da superfície do Bioglass® 45S5 e dos biovidros com superfície enriquecida por cálcio pode ser observado nas micrografias mostradas nas Figuras 38 a 40.

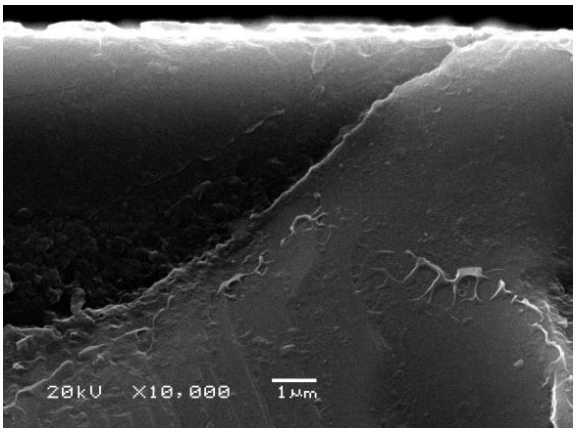

Figura 38: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45S5_1000.

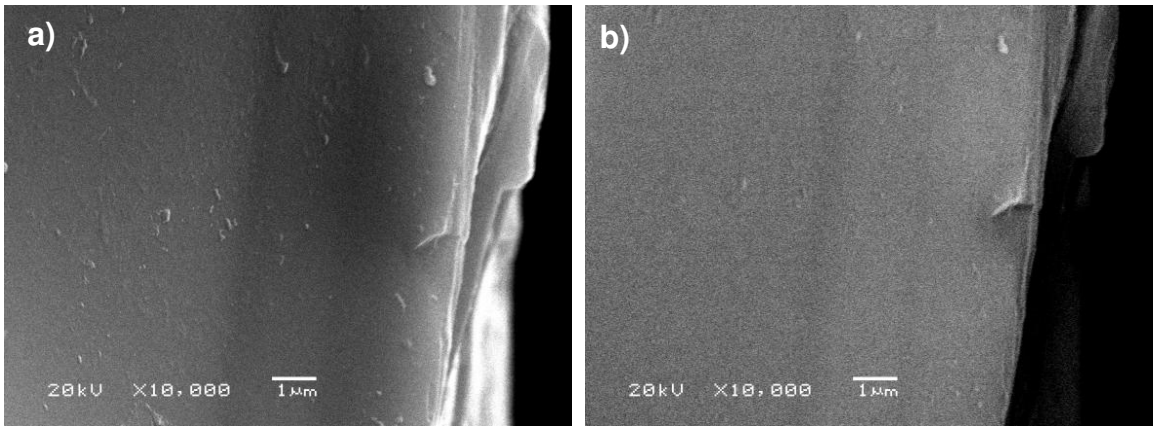

Figura 39: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45Es_1000 a) 10.000x e b) 10.000x.

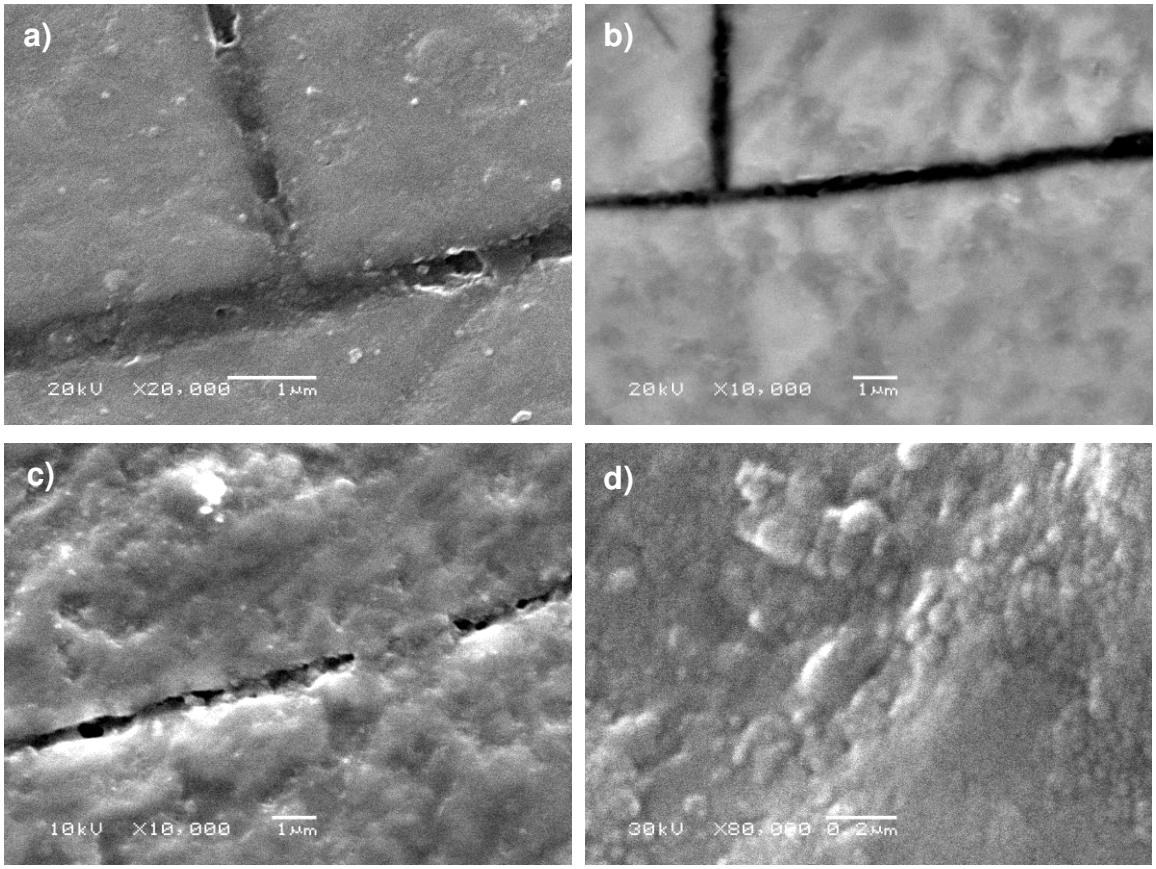

Figura 40: Micrografia microscopia eletrônica de varredura do BG45Ca_1000 a) 20.000x, b) 10.000x, c) 10.000x e 10 kV e d) 20.000x e 30 kV.

A Figura 38 refere-se à micrografia do BG45S5_1000 e mostra que o tratamento térmico no Bioglass® 45S5 não causa nenhuma alteração em sua morfologia. A manutenção de superfície lisa e homogênea pode ser observada do processo de polimento.

A morfologia do BG45Es_1000 pode ser observada nas micrografias presente na Figura 39 (a) e (b). Em relação ao seu precursor BG45Es (Figura 28-a e 28-b), o tratamento térmico para esse material provoca uma homogeneização de sua superfície. Esse fato pode indicar um amolecimento da superfície com o tratamento térmico devido sua composição estar enriquecida com cálcio. O incremento de modificadores de rede alterar o seu ponto de fusão ocasionando esse evento. Na micrografia por elétron retroespalhado (Figura 29-b) não há indicação de variação da composição ao longo da superfície do BG45Es_1000.

Para o biovidro BG45Ca_1000 é notável um “softening” de sua superfície, apesar do tratamento térmico ter sido realizado à temperatura inferior à da fusão do vidro. As

micrografias mostram que a superfície fundiu e preencheu as trincas originadas no tratamento térmico. Este fato, mostra uma maior modificação na “casca” da superfície pelo emprego do método 2 , (Figura 40). Esse resultado confirma uma profunda modificação na composição da superfície para esse biovidro. Na micrografia por elétron retroespalhado (Figura 40-b) pode ser observado uma variação da composição na superfície do BG45Ca_1000. A micrografia (Figura 40-c) foi obtida com uma menor aceleração dos elétrons permitindo obter uma visão detalhada da topologia acidentada dessa amostra. Enquanto a micrografia (Figura 40-d) em maior aceleração dos elétrons mostra a presença de agregados da ordem de 100 nm de diâmetro.

A comparação das superfícies após o tratamento térmico para os biovidros que sofreram troca de íons cálcio pela imersão em estearato de cálcio (BG45Es_1000) ou pela imersão na mistura de nitratos (BG45Ca_1000) mostra que a troca mais efetiva, causada pelo último tratamento, resulta em uma modificação mais profunda das propriedades da superfície dos biovidros.

Essa suposição é suportada pelos resultados obtidos por fluorescência de raios X que indicam um aumento na concentração de cálcio na superfície do biovidro na seguinte ordem: BG45S5 < BG45ES < BG45Ca (Figura 17).

4.1.4 – Propriedades gerais da superfície dos biovidros

No mecanismo de degradação para biovidros, proposto por Hench, a incorporação de íons carbonatos do meio fisiológico é um evento importante para a cristalização da HCA, a qual fornece um ambiente ideal para o início dos processos biológicos na formação da interface com o tecido. No entanto, Busca & Lorenzelli [118] mostraram que ocorre a formação de carbonatos na superfície de biovidros, com composição rica em cálcio, como conseqüência do processo de preparação do material. De fato, a formação de carbonatos em superfícies em minerais contendo cálcio é bastante conhecida o que justifica, por exemplo, o uso industrial de silicatos de cálcio como seqüestradores de CO_2.

Cerruti e colaboradores [97] estudaram o mecanismo de formação de carbonatos na superfície de biovidros por FTIR. Os resultados mostraram uma forte dependência entre o tipo de interação da molécula de CO_2 e o caráter ácido-básico da superfície.

O tipo de interação da molécula de CO_2 com a superfície pode ser determinado por espectroscopia na região do infravermelho, baseando na possibilidade da molécula de CO_2 se comportar como ácido ou base de Lewis na interação com o óxido metálico na superficie [118].

a) Comportamento básico: A molécula de CO_2 é uma base de Lewis fraca e por isso pode coordenar de forma insaturada com o cálcio da superfície mantendo sua forma linear. Essa espécie pode ser observada com uma absorção na região de 2400-2300 cm^{-1} do infravermelho (Figura 41).

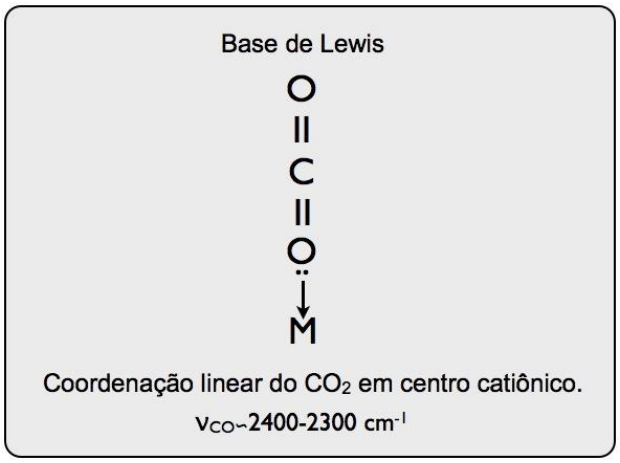

Figura 41: Esquema de coordenação do CO_2 com centro catiônico na superfície do vidro [118].

b) Comportamento Ácido: Se a superfície for suficiente básica, as espécies de íons O^{2-} e OH^- estarão presentes na superfície dos biovidros. Logo, a molécula de CO_2 pode coordenar-se com esses íons básicos, formando diferentes formas de espécies tipo-carbonato com absorção específica no infravermelho (Figura 42).

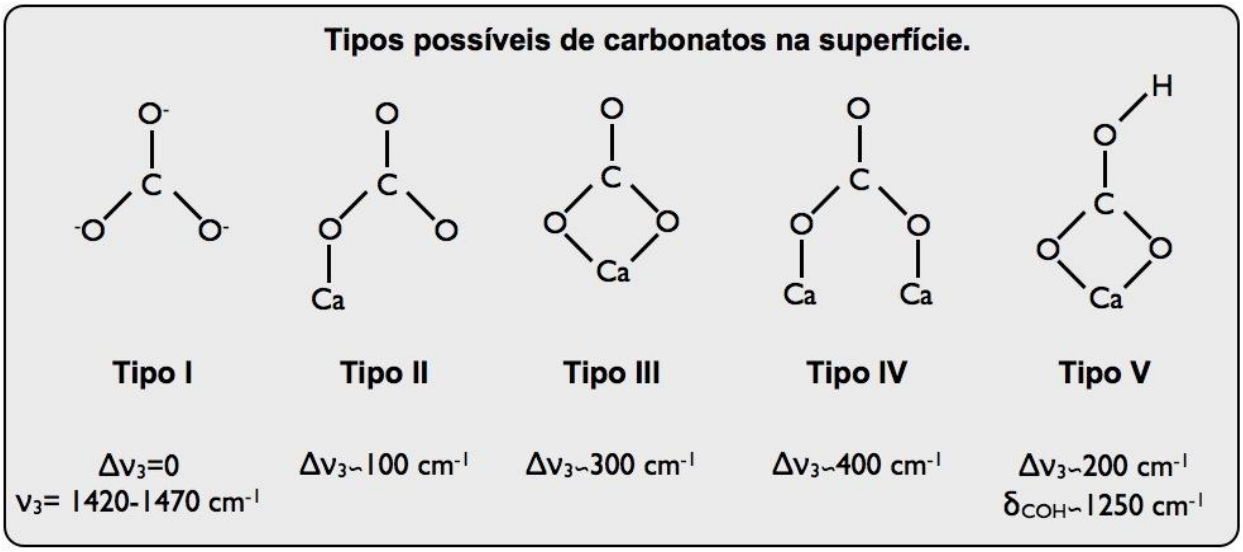

Figura 42: Tipos de coordenação do CO_2 com centro catiônico na superfície do vidro e seus respectivos valores de absorção no infravermelho [118].

A Figura 42 mostra as possíveis formas de carbonatos resultantes da reação com os íons básicos O^{-2} e OH^-, bem como, estabelecem o comportamento observado no espectro de IR que permitem discriminar as diferentes espécies carbonatos pelos seus modos vibracionais.

Deste modo, fundamentado na proposta de determinação de acidez por Cerruti e colaboradores [119], empregou-se FTIR combinado com XPS para a mesma finalidade, associar o tipo interação da molécula de CO_2 formada na superfície com as propriedades ácido-base dos biovidros.

A Figura 42 mostra as possíveis formas de carbonatos com os íons básicos O^{-2} e OH^-, bem como, o fundamento para discriminação das diferentes espécies carbonatos pelos seus modos vibracionais distintos.

Os espectros de absorção no infravermelho na região de 2500-1350 cm^{-1} para o BG45S5 e para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica com cálcio são mostrados na Figura 43.

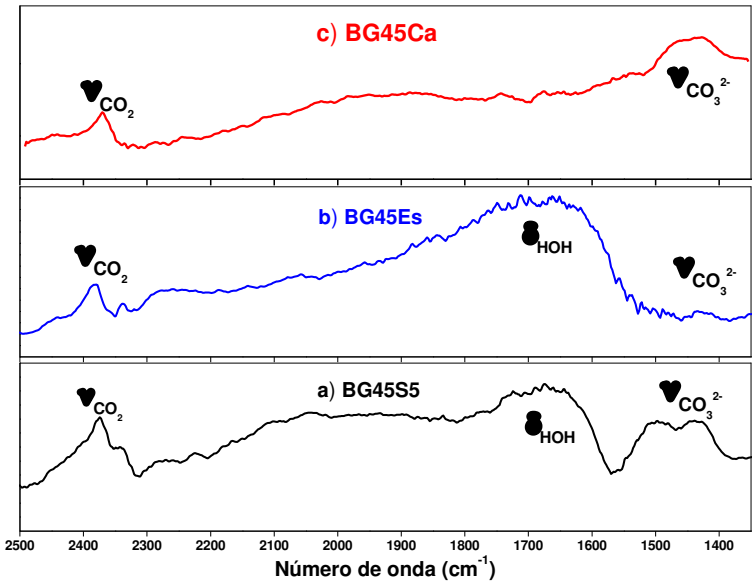

Figura 43: Espectro IRRAS para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica (região 2500-1350 cm^{-1}).

Observa-se para todos os biovidros a presença da banda em ~2370 cm^{-1} que está relacionada à presença da espécie CO_2 provavelmente advindo do ambiente, coordenado insaturadamente com o cálcio na superfície. Essa coordenação da molécula de CO_2 indica o seu comportamento como base de Lewis (Figura 41) [97, 118].

Além dessa banda em 2400 cm^{-1}, o biovidro BG45S5 apresenta uma absorção na região de 1400-1580 cm^{-1} que se subdivide em duas bandas, separadas por um $\Delta\nu$~100 cm^{-1} (Figura 43-a). Esta absorção associada a esta separação entre as bandas permitem inferir a presença predominante do carbonato do tipo II na superfície do biovidro (Figura 42) [118].

Para o BG45Es o espectro de absorção no infravermelho exibe apenas uma pequena ondulação em 1450 cm^{-1} que pode ser atribuída a espécie carbonato tipo I, ou seja, carbonato puramente iônico (Figura 42). Esse resultado mostra um comportamento predominante da molécula de CO_2 coordenada linearmente com o cálcio na superfície, ou seja, um caráter mais ácido dos óxidos presentes na superfície desse biovidro (Figura 41) [97, 117].

Outra informação fornecida pela espectroscopia no infravermelho, refere-se a presença de uma banda larga em 1630 cm^{-1} que pode ser atribuída ao modo de deformação da água não-dissociada na superfície dos biovidros BG45S5 e BG45Es [97].

A Figura 43-c mostra o espectro de absorção no infravermelho para o BG45Ca. Esse espectro exibe predominantemente espécies de carbonato puramente iônicas, carbonato do tipo I [118]. Com esse resultado é possível inferir um caráter básico superior para os óxidos presentes na superfície do biovidro BG45Ca em relação aos biovidros BG45S5 e BG45Es (Figura 42).

Tendo em vista que a formação de carbonatos é um evento de superfície, os dados obtidos por espectroscopia no infravermelho foram refinados com estudos de superfície por XPS. A quantidade de carbonato nas primeiras camadas atômicas do BG45S5 e dos biovidros submetido à troca iônica foi estimada pela deconvolução da área do C_{1s} presente em todos os espectros de XPS. A especiação do carbonato foi realizada considerando a diferença entre a energia de ligação para carbonato iônico e as demais espécies de carbonato. A Figura 44 mostra o espectro XPS para o carbono e as gaussianas que representam as energias de ligações das espécies de carbonato iônico e das espécies coordenadas, conforme proposto por Cerruti et al. [119].

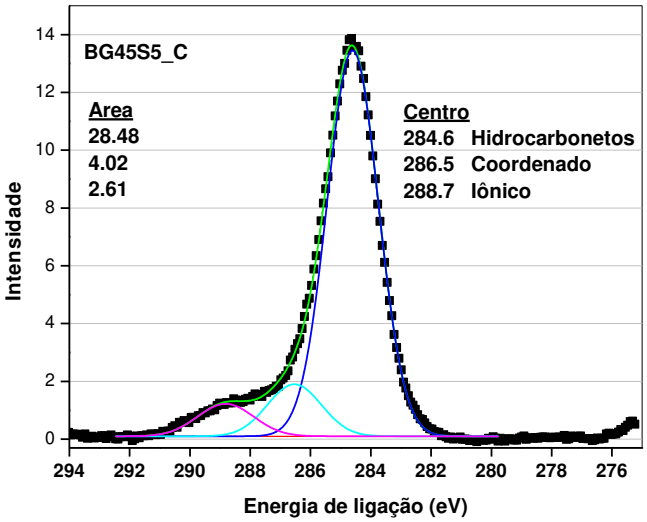

Figura 44- Espectro XPS C_{1s} BG45S5.

A Figura 45 mostra a área integrada para as duas espécies carbonatos presente nos biovidros submetidos à troca iônica.

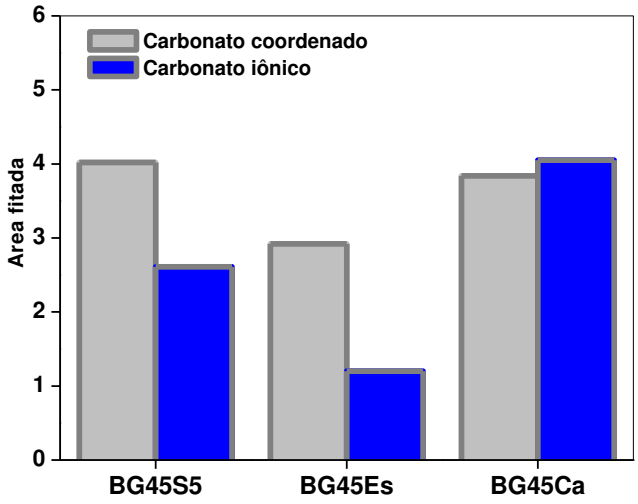

Figura 45: Espécies de carbonatos presentes na superfície dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica.

Os resultados mostrados na Figura 45 confirmam a maior concentração do carbonato iônico na superfície para o BG45Ca, seguido do BG45S5 e BG45Es. Como a concentração de carbonato iônico na superfície dos biovidros é proporcional ao caráter básico, podemos inferir uma maior basicidade para o BG45Ca. Além da basicidade, outro fato que determina a maior concentração de carbonato iônico é a quantidade de cálcio presente na superfície (Figura 18), ou seja, a quantidade de espécies de íons básicos O^{-2} presente nas primeiras camadas atômicas dos biovidros [120]. Deste modo, os resultados permitem propor uma ordem para a basicidade da superfície dos biovidros: BG45Ca > BG45S5 > BG45Es.

Tendo em vista que as propriedades acido-base estão relacionadas com a variação na densidade eletrônica do O^{-2}, podemos através dos espectros de XPS O_{1s} obterem informações sobre a carga eletrônica ao redor do ânion do oxido (O^{-2}) ligado ao cátion. O deslocamento no espectro de XPS para o oxigênio permite estimar o caráter iônico dos óxidos presentes na superfície. Desta maneira, um deslocamento para menores energias de ligação do espectro de XPS para o oxigênio indica um maior caráter iônico e maior caráter básico do óxido (O^{-2}) [120, 121, 122].

A Figura 45 mostra o espectro de XPS O_{1s} do BG45S5 e dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica com íons cálcio.

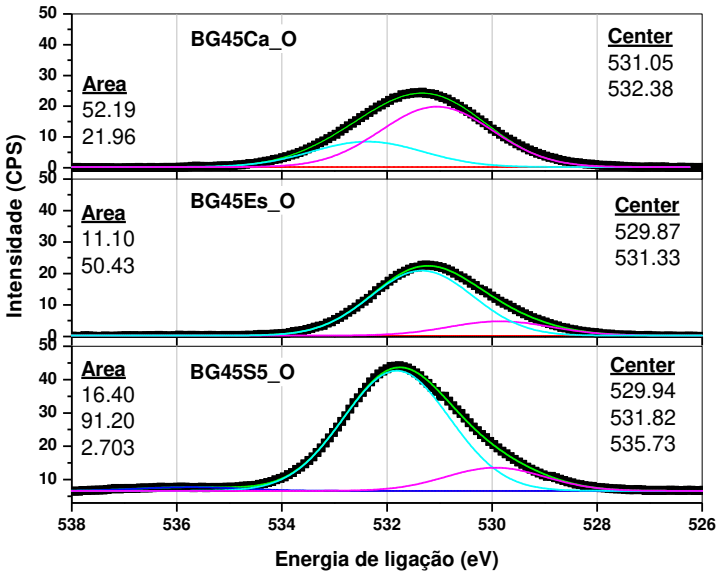

Figura 46: Espectros de O_{1s} XPS para os biovidros a) BG45S5, b) BG45Es e c) BG45Ca.

O melhor ajuste da curva do espectro de XPS O_{1s} para o BG45S5, BG45Es e BG45Ca é mostrado na Figura 46-a, 46-b e 46-c. Analisando os espectros é possível observar que a troca iônica promove um deslocamento do máximo para menores valores energia de ligação. Examinando a área deconvoluída para espectro de XPS O_{1s} relativa aos três biovidros é possível estabelecer uma ordem no caráter iônico, baseando na área integrada referente as espécies O^{-2} com maior densidade eletrônica (menores energias de ligação), BG45Ca > BG45S5 > BG45Es. Assim o caráter iônico para o O^{2-} para os biovidros segue a ordem: BG45Ca > BG45S5 > BG45Es. Esta ordem é mesma para a basicidade da superfície dos biovidros. De fato, os dados apresentados acima estão em concordância com os dados obtidos por infravermelho.

De maneira semelhante aos biovidros submetidos à troca iônica, estudos foram realizados para os biovidros submetidos ao tratamento térmico. Os espectros de absorção na região do infravermelho para esses materiais são mostrados na Figura 47.

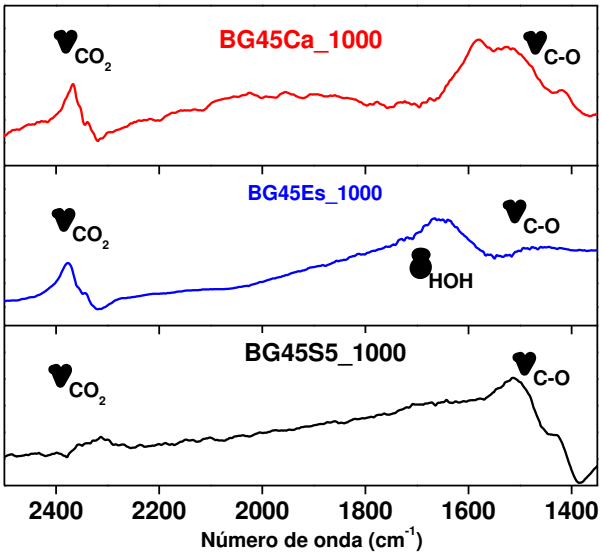

Figura 47: Espectro IRRAS para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica e tratamento térmico (região 2500-1350 cm^{-1}).

Como observado na Figura 47, todos os biovidros apresentaram a banda de absorção na região de 2400-2300 cm^{-1} referente ao modo de estiramento assimétrico C-O, da molécula de CO_2 coordenada linearmente com o cálcio (centro metálico). Esta interação está representada na Figura 41. Além disso, como pode ser observado o BG45S5_1000 apresenta essa banda de absorção menos pronunciada [97, 118].

A Figura 47-a mostra o espectro de absorção no infravermelho para o BG45S5_1000. Para esse biovidro, a região de absorção referente aos carbonatos é caracterizada por dois máximos bem definidos e separados por um $\Delta\nu$ ~100 cm^{-1}. Logo, podemos inferir a presença do carbonato do tipo II na superfície desse biovidro (Figura 42). Contudo, a banda de absorção da espécie carbonato tipo I pode estar sobreposta pela banda do carbonato do tipo II. Por este motivo não se pode descartar a presença do carbonato puramente iônico no biovidro BG45S5_1000 [97, 118].

O espectro de absorção no infravermelho para o BG45Es_1000 (Figura 46-b) mostra apenas uma pequena ondulação em 1450 cm^{-1} que pode ser atribuída a espécie carbonato tipo I, ou seja, carbonato puramente iônico (Figura 42). Esse resultado mostra a predominância da molécula de CO_2 coordenada linearmente com o cálcio na superfície, assim, um caráter ácido mais acentuado pode ser inferido para os óxidos presentes no

BG45Es_1000 (Figura 41). A presença da banda em 1630 cm^{-1} está relacionada ao modo de deformação da água não-dissociada na superfície do biovidro BG45Es_1000 [97, 118].

A Figura 46-c mostra o espectro de absorção no infravermelho para o BG45Ca_1000. A região de absorção (1600-1400 cm^{-1}) referentes às espécies carbonatos apresenta uma banda alargada, logo, pode-se esperar a presença de misturas das espécies de carbonato tipo I, IV e V (Figura 42) [118].

Assim, os dados obtidos para os carbonatos por espectroscopia de absorção no infravermelho não permitem inferir qualquer conclusão sobre a superfície, em relação ao seu caráter ácido ou básico.

Da mesma forma como foi realizado para a superfície dos biovidros sem tratamento térmico, podemos analisar os resultados por XPS C_{1s} para carbonatos iônicos. A quantidade de carbonato da superfície dos biovidros submetidos ao tratamento térmico foi estimada pela área deconvoluída do C_{1s}, como pode ser observado na Figura 48 [120].

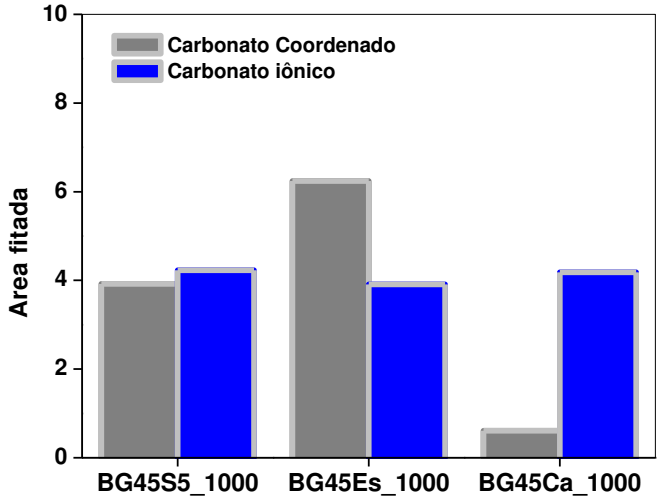

Figura 48: Espécies de carbonatos presentes na superfície dos biovidros submetidos ao processo de troca iônica e tratamento térmico.

Os resultados de carbonato iônico para os biovidros submetidos ao tratamento térmico evidenciam uma quantidade superior de carbonato iônico (Tipo I) para o BG45S5_1000, seguido pelo BG45Ca_1000 e o BG45Es_1000. Esses dados mostram que o caráter básico da superfície dos biovidros submetidos ao tratamento térmico é dado pela seqüência: BG45S5_1000 > BG45Ca_1000 > BG45Es_1000.

Para os biovidros submetidos ao tratamento térmico também foram analisadas as densidades eletrônicas ao redor do ânion óxido O^{-2} ligado ao cátion através dos espectros de XPS O_{1s} [120, 121, 122]. A Figura 49 mostra o espectro de XPS O_{1s} para os biovidros submetidos ao processo de troca iônica com íons cálcio e tratamento térmico.

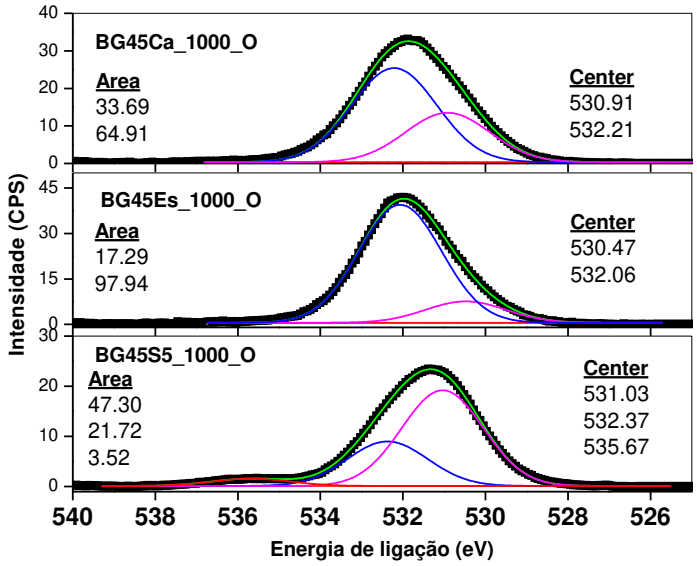

Figura 49: Espectros de O_{1s} XPS para os biovidros a) BG45S5_1000, b) BG45Es_1000 e c) BG45Ca_1000.

O melhor ajuste da curva do espectro de XPS O_{1s} para os biovidros BG45S5_1000, BG45Es_1000 e BG45Ca_1000 é mostrado na Figura 49-a, 49-b e 49-c. Analisando os espectros é possível observar que o tratamento térmico promove um deslocamento do máximo para maiores valores energia de ligação. Este efeito é oposto ao observado para os biovidros submetidos à troca iônica (Figura 38).

Examinando a área deconvoluída para o espectro de XPS O_{1s} referente aos três biovidros é possível estabelecer uma ordem no caráter iônico baseado na área integrada, referente às espécies O^{-2} com maior densidade eletrônica. Sendo assim, a ordem do caráter iônico é BG45S5_1000 > BG45Ca_1000 > BG45Es_1000. Assim, podemos esperar essa mesma ordem para a basicidade da superfície dos biovidros, concordando com a concentração de carbonato iônico presente nas primeiras camadas atômicas dos biovidros (Figura 48).

4.2 – Parte II- Teste *in vitro* por imersão em SBF

Os espectros de infravermelho mostrado nas Figura 50-53 representam as modificações ocorridas na superfície dos biovidros em função do tempo de imersão em SBF. Os espectros para o BG45S5 imersos por 0, 30 e 60 minutos em SBF a 37ºC são mostrados na Figura 50 indicam que ocorreram modificações significativas nas superfícies depois de 60 minutos de imersão (Figura 50-c), resultado que concorda com o reportado na literatura [3].

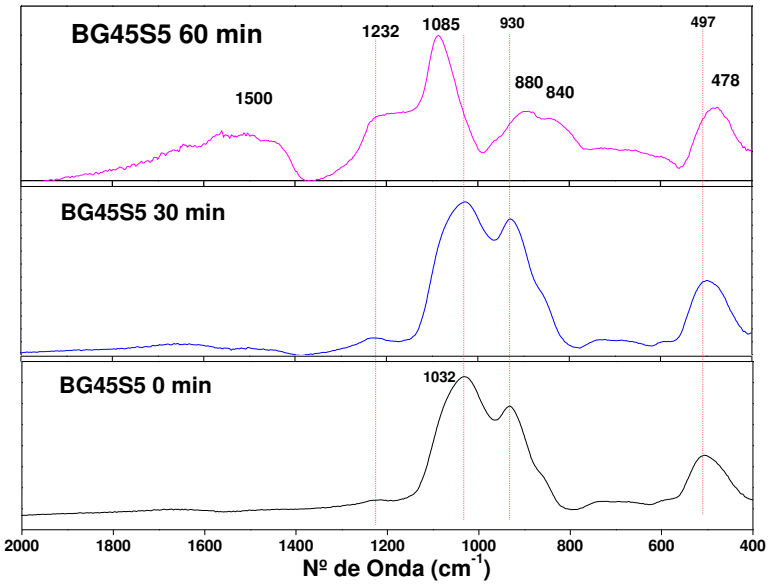

Figura 50: Espectro IR do BG45S5 imerso em SBF a) 0 Minutos b) 30 Minutos e c) 60 Minutos.

A lixiviação dos íons metálicos sódio e cálcio da rede silicato, correspondente ao primeiro estágio do mecanismo de dissolução dos biovidros (Tabela 2), pode ser visualizado pela redução das bandas ν~930 e 1020 cm^{-1} e um leve aumento da simetria da banda em 500 cm^{-1}, a qual está associada aos modos vibracionais do Si-O-Na e Si-O-Ca. O segundo estágio, a hidrólise da rede vítrea pode observada pelo deslocamento das ν~930 e 1020 cm^{-1} para freqüências de 1085 cm^{-1}. Além dessa modificação, o deslocamento para menores freqüências da banda referente aos modos de deformação e ν~475 cm^{-1} é evidente. Tais alterações estão associadas à presença da vibração Si-O resultante da formação de uma camada de sílica-gel, pela reação de policondensação entre grupos silanóis vizinhos na superfície. A banda em 1232 cm^{-1} está relacionada à formação de uma camada de fosfato de

cálcio. Finalmente a presença de carbonatos pode ser visualizada pelas absorções em e ν~1450 cm^{-1} e ν~880 cm^{-1}.

A modificação da superfície com cálcio altera consideravelmente a cinética de formação do fosfato de cálcio na superfície do biovidro como mostram as Figuras 52 e 53, nas quais a banda correspondente aos fosfatos pode ser vista após imersão por 30 minutos.

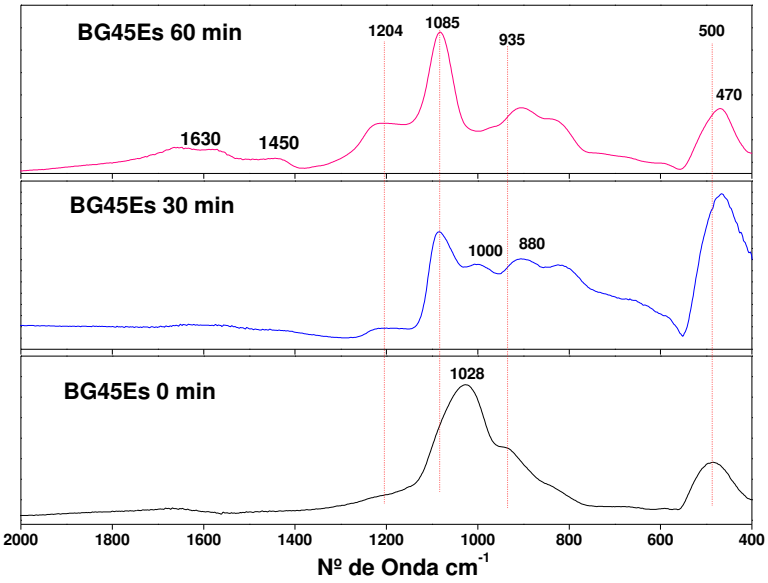

Figura 51: Espectro IR do BG45Es imerso em SBF a) 0 Minutos b) 30 Minutos e c) 60 Minutos.

Alterações similares ocorreram no espectro do BG45Es, contudo tais modificações para esse biovidro aconteceram na metade do tempo do biovidro, comparado com o BG45S5. A lixiviação dos íons cálcio e sódio e a dissolução da rede vítrea pode ser observada pela redução da banda ν~935 cm^{-1}. A formação da camada sílica-gel está relacionado à banda em ~1085 cm^{-1} e com o deslocamento para menores freqüências da banda referentes aos modos de deformação de 500 para 470 cm^{-1}. Enquanto as bandas em ~1200 e 1000 cm^{-1} estão relacionadas à formação da camada de fosfato de cálcio, referente ao estágio IV do mecanismo do Hench (Tabela 2). A presença de carbonatos pode ser visualizada pelas absorções em e ν~1450 cm^{-1} e ν~880 cm^{-1} e a banda em 1630 cm^{-1} a presença da água adsorvida. Todas essas alterações são claras para o BG45Es após 30 minutos de imersão e se tornam mais pronunciadas com 60 minutos de imersão em SBF.

Para o BG45Ca a imersão por 30 minutos mostra resultados semelhantes ao BG45Es (Figura 52).

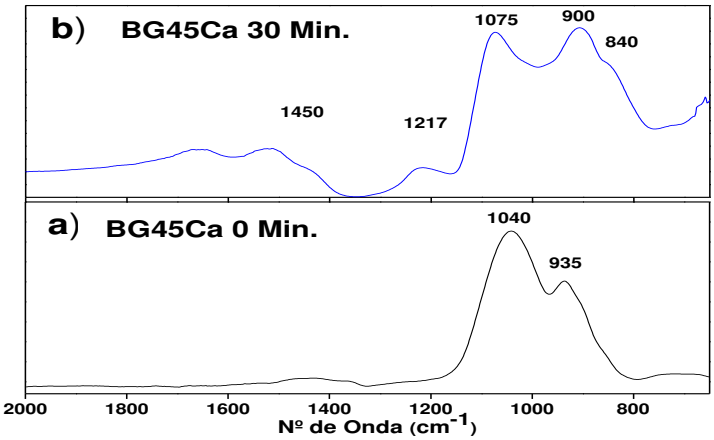

Figura 52: Espectro IR do BG45S5 imerso em SBF a) 0 Minutos e b) 30 Minutos.

A formação da camada de sílica-gel pode ser observada pela absorção em ~1085 cm^{-1} e a presença do filme de fosfato sobre a camada de sílica-gel pela banda em ~1217 cm^{-1} após 30 minutos de imersão em SBF, bem como, a presença dos carbonatos pode ser visualizada pelas absorções em ν~1450 cm^{-1}.

Um fato interessante e que vale apena ser mencionado é o pequena redução e deslocamento da banda referente ao estiramento Si-2NBO ou espécies $_{Si}Q^2$ de ν~935 cm^{-1} para ν~900 cm^{-1}. Esse evento sugere que a formação do fosfato de cálcio e da camada de sílica-gel ocorre sem uma dissolução completa da Si-2NBO. Isso ocorre devido a uma redução no tempo dos processos de estabilização da dissolução. Resultado semelhante pode ser observado para o BG45Es (Figura 52), contudo com menor intensidade.

A tentativa de realização do espectro de infravermelho do vidro modificado com cálcio e após imersão em SBF por 60 minutos mostrou que a intensidade de reflexão pela superfície da amostra apresentava valores próximos de zero. Este resultado indica que a superfície do vidro absorve a radiação incidente intensamente ou a superfície após imersão no SBF apresenta elevada rugosidade, inviabilizando a medida por refletância especular.

As modificações ocorridas na topografia dos biovidros durante o tempo de imersão em SBF foram monitoradas por SEM, podendo ser visualizada pelas micrografias presentes nas Figuras 53 a 55.

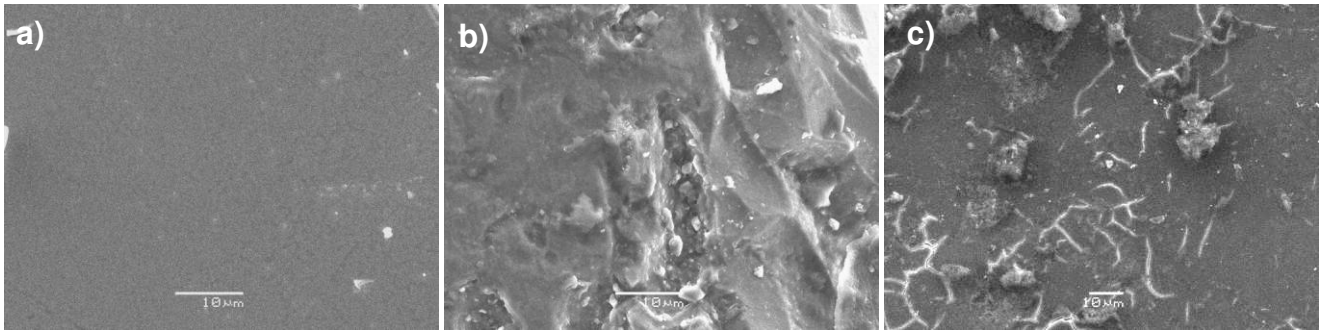

Figura 53: Micrografias do BG45S5: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos.

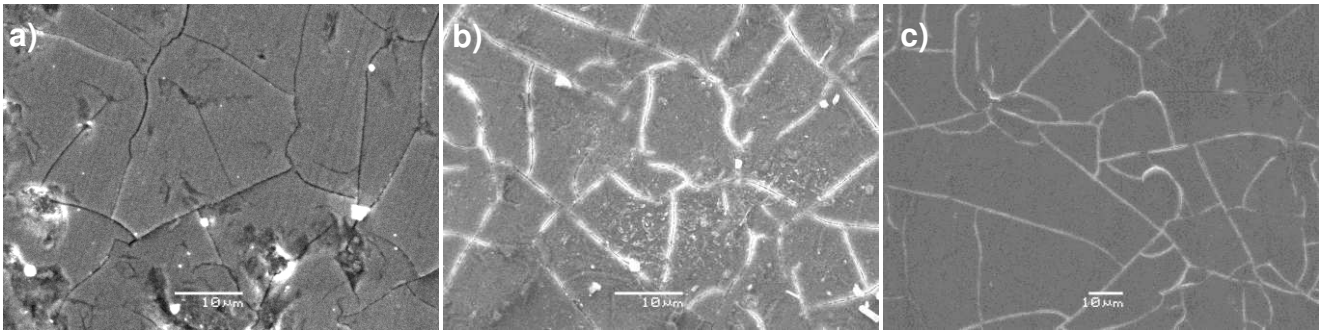

Figura 54: Micrografias do BG45Es: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos.

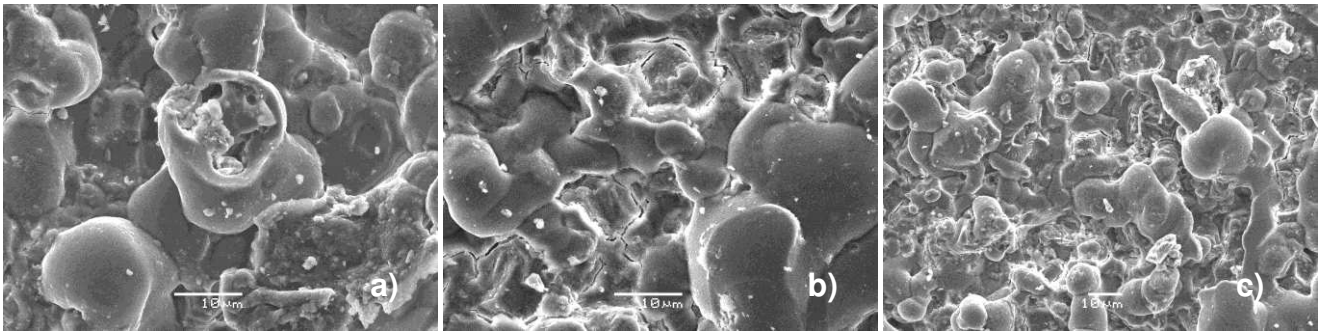

Figura 55: Micrografias do BG45Ca: a) 0 minutos, b) 30 minutos e c) 60 minutos.

As micrografias mostram para o BG45S5 uma superfície lisa em 0 minuto, perdendo esse aspecto em 30 minutos de imersão e finalmente é possível visualizar depois de 60 minutos uma deposição em sua superfície (Figura 53). Para o BG45Es a deposição já pode ser vista após apenas 30 minutos de imersão, confirmando a alteração na solubilidade desse biovidro (Figura. 54). A topografia do BG45Ca dificulta essa observação, mas uma análise minuciosa confirma a deposição depois de 30 minutos de imersão. Contudo em 60 minutos de imersão ambos biovidros modificados com cálcio mostram um aumento dessa deposição.

O tempo para cristalização da apatita na superfície do biovidro por imersão em SBF pode visto pela difratometria de raios-X (Figura 56).

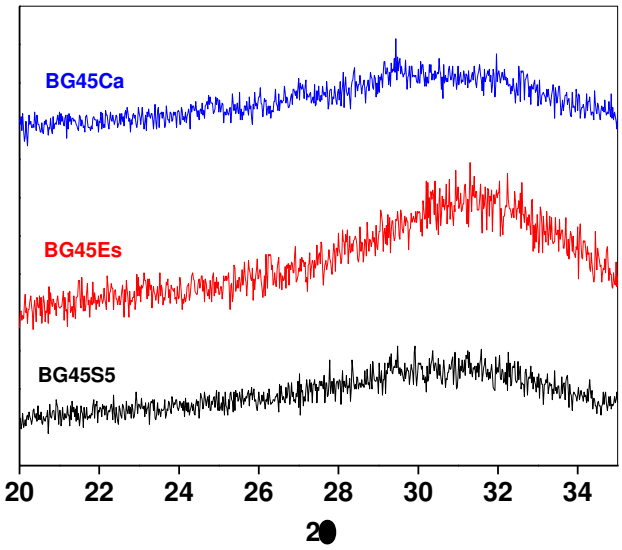

Figura 56: Cristalização da apatita nos biovidros submetidos troca iônica imergidos em SBF por 4 dias.

O difratograma para os biovidros enriquecidos com cálcio não mostra alteração na natureza vítrea dos biovidros mesmo depois de 4 dias de imersão, exceto o BG45Ca que mostra um indícios de cristalização. Isso mostra que embora o espectro de absorção no infravermelho indique a formação do filme de fosfato de cálcio, este permanece não-cristalino ou em quantidade suficiente para ser observado por difração.

O efeito do tratamento térmico no tempo para cristalização da apatita na superfície do biovidro por imersão em SBF foi monitorado pela difratometria de raios-X (Figura 57).

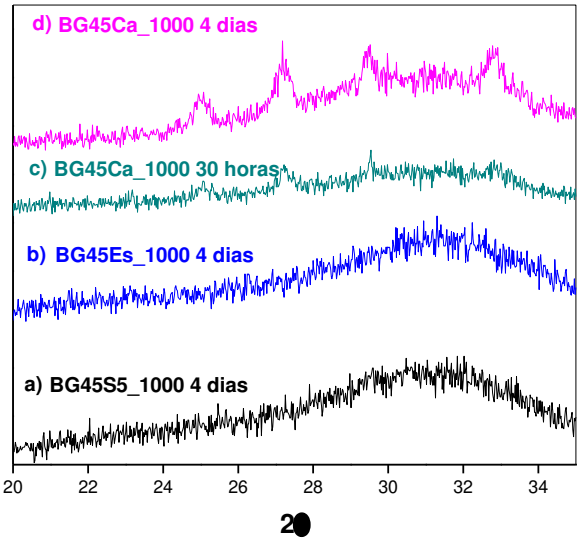

Figura 57: Cristalização da apatita nos biovidros submetidos ao tratamento térmico após imersão em SBF.

Os difratogramas revelam que o tratamento térmico para o BG45S5_1000 e para o BG45Es_1000, não resulta em uma alteração no tempo de cristalização da apatita, mesmo depois de 4 dias de imersão (Figura 57-a e 57-b). Enquanto para o BG45Ca_1000 picos de difração começam aparecer depois de 30 horas de imersão em SBF (Figura 57-c) e se tornam mais intensos depois de 4 dias de imersão (Figura 57-d). Esse fato mostra que para esse biovidro a presença de núcleos no processo de nucleação desempenha um papel fundamental no processo de cristalização. A não detecção de fase cristalina para o BG45Es_1000 pode ser relacionada a quantidade de núcleos necessários para crescimento da apatita.

Assim a maior quantidade de apatita cristalizada para o BG45Ca_1000 pode ser justificado pela energia livre de Gibbs para nucleação heterogênea (equação 1). A presença de uma maior concentração de íons cálcio contribui para a saturação local da solução de SBF o que afeta primeira parte da equação 1 ($-RT\ lnS$), contribuindo para o sinal negativo da energia livre de Gibbs. Enquanto que e a formação de micro-domínios cristalinos na superfície reduz a energia interfacial afetando a segunda parte da equação 1 ($\sigma_{cl}A_{cl} + (\sigma_{cs} - \sigma_{sl})A_{cs}$), fornecendo também uma contribuição para o sinal negativo da energia livre de Gibbs. Outro fator que deve mencionado que tem efeito sobre a energia de Gibbs é a textura do biovidro, que para o BG45Ca_1000 e BG45Ca poderia contribuir para um menor tempo de cristalização.

4.3 - Parte III- Bioglass 45S5 com óxido de nióbio em sua composição

A Tabela 11 resume as composições de biovidros modificados com óxido de nióbio (Nb_2O_5) preparados neste trabalho.

Tabela 11: Composições de biovidros com óxido de nióbio.

Biovidros	Composição em porcentagem molar					Situação da síntese
	SiO_2 %	CaO %	Na_2O %	P_2O_5 %	Nb_2O_5 %	
BG45S5	46,13	26,91	24,35	2,61	-	Vidro
BN26	46,13	26,91	24,35	-	2,61	Material não vítreo
BPN13	46,13	26,91	24,35	1,305	1,305	Vidro
BPN25	43,63	26,91	24,35	2,61	2,5	Vidro
BPN50	41,13	26,91	24,35	2,61	5,0	Material não vítreo
BN6	46,71	27,25	24,63	-	1,41	Material não vítreo
BPN3	46,42	27,09	24,48	1,31	0,70	Vidro
BPN5	42,71	28,03	25,34	2,71	1,21	Vidro
BG45N5	-	26,91	24,35	2,61	46,13	Material não vítreo
BG45S5	46,13	26,91	24,35	2,61	-	Vidro

As composições que resultaram em materiais vítreos contendo óxido de nióbio, tiveram sua microestrutura avaliada por espectroscopia na região do infravermelho (Figura 58).

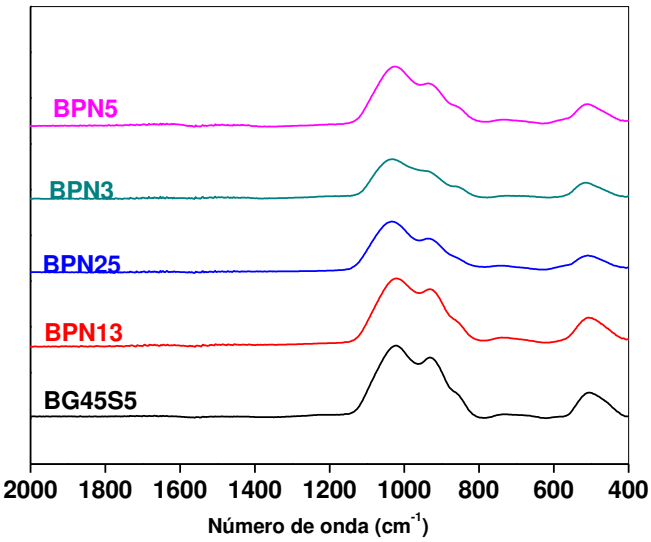

Figura 58: Espectros IRRAS dos biovidros modificados com Nb_2O_5.

Em comparação com o espectro do vidro base BG45S5 não é possível observar as bandas de absorção referente ao Nb-O, pois elas estão sobrepostas com as absorções da rede sílica. O modo Nb-O-Nb absorve na região de 560-590 cm^{-1}, enquanto que a presença dos modificadores de rede no BG45S5 fornece uma banda larga em torno de 500 cm^{-1} [123].

Os biovidros BPN25, BPN3 E BPN5 apresentam uma cauda na banda para menores freqüências na região 1200-800 cm^{-1} nos espectros IRRAS. Esta modificação para os biovidros contendo Nb_2O_5 estão relacionadas ao incremento das quantidades de modificadores na composição (Tabela 11). Esse “shift” é atribuído à quebra de degenerescência de modos vibracionais do silício pela redução de sua simetria [110].

Os biovidros obtidos neste trabalho de mestrado serão objeto de estudo como parte do projeto que será desenvolvido no doutorado.

5 – CONCLUSÃO

5.1 – Caracterização dos biovidros

Os resultados obtidos por EDX-XRF e XPS confirmam o processo de troca iônica com íons cálcio para os biovidros pelos dois métodos empregados nesta dissertação. O método 2 se mostrou mais eficiente, contudo promove uma drástica alteração da superfície do biovidro. Análises por infravermelho e XPS mostraram ocorrência não somente da troca iônica, mas também a promoção do enriquecimento da superfície com cálcio. Além disso, uma possível migração dos grupos fosfatos para superfície dos biovidros submetidos à troca iônica.

O tratamento térmico promove um amolecimento das fases ricas em cálcio que se formam após troca iônica e também uma mudança de sua composição química. Adicionalmente, observa-se a formação de um filme de carbonato de cálcio que ocorre devido alterações nas propriedades ácido-base da superfície desses biovidros.

5.2 – Teste *in vitro*

Os testes *in vitro* por imersão em SBF mostraram um aumento na solubilidade dos biovidros enriquecidos com cálcio em relação ao BG45S5. Assim, o processo de precipitação de fosfato de cálcio em sua superfície em SBF foi de aproximadamente de 30 minutos, enquanto para o BG45S5 foi de 60 minutos.

O tratamento térmico promoveu uma redução no tempo de cristalização da apatita. No BG45Ca_1000, estudos de difração mostraram a formação de uma mistura de fosfatos de cálcio depois de 30 horas de imersão. Entretanto, para o BG45Es_1000 não foi possível observar qualquer sinal de difração indicando a formação da apatita, mesmo depois de 4 dias de imersão. Esse resultado sugere que embora para esse biovidro tenha ocorrido a formação de núcleos, estes são muito pequenos ou em menor número necessário para formar a apatita cristalina.

5.3 – Inserção de Nb_2O_5 no Bioglass® 45S5

Os diversos vidros com composições próximas do Bioglass 45S5 contendo pequenas quantidades de Nb_2O_5 foram preparadas. Contudo, algumas composições não formaram vidros estáveis, apresentando em materiais não transparentes e com aparência de cerâmica. Os materiais com aparências vítreas foram caracterizadas por IRRAS, entretanto, as bandas referentes ao Nb-O não foram observadas. Para os biovidros BPN25, BPN3 E BPN5 a quantidade de modificadores de rede na composição apresentou uma cauda para menores freqüências da banda referente aos modos do estiramento da rede sílica, indicando uma rede vítrea com maior fragmentação.

6 – PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados obtidos nesta dissertação de mestrado são bastante promissores, estando em sua grande parte em processo de patente. Para a certeza do ganho nas propriedades bioativas do novo biovidro, se faz necessário o estudo com células e ensaios *in vivo* para complementar e confirmar os resultados em SBF.

O sucesso dos métodos estudados e as modificações das propriedades do Bioglass® 45S5 deles resultantes, deverão ser mais bem investigados em Doutorado contemplando as seguintes etapas:

- Realizar enriquecimento da superfície de Bioglass® 45S5 puro e com óxido de nióbio utilizando as metodologias já empregadas e otimizar o tempo de troca iônica.
- Realizar novas análises, complementares às realizadas no Mestrado, para explorar as possíveis mudanças de ambiente químico dos íons presentes na superfície dos biovidros tratados.
- Propor mecanismos que contemplem os processos de troca iônica pelas duas metodologias propostas neste trabalho.
- Investigar o efeito de mudanças nas misturas utilizadas para troca iônica e no tempo do tratamento térmico.
- Encontrar composições para o biovidro com óxido de nióbio para se obter, de forma estratégica, materiais vítreos com melhores propriedades mecânicas, sem contudo perder a bioatividade e facilidade de processamento apresentadas pelo Bioglass® 45S5.
- Avaliar as propriedades mecânicas dos biovidros.
- Realizar novos testes *in vitro* usando SBF com o intuito de avaliar a influência da superfície dos biovidros rica em cálcio ou com fosfatos de cálcio cristalizados sobre sua bioatividade.
- Avaliar o efeito *in vivo* das modificações propostas nos biovidros sobre o reconhecimento celular e a velocidade de integração (ligação) tecido/implante.

7- REFERÊNCIAS

[1] Hench, L. L.; Polak, J. M. Third-generation biomedical materials. *Science*, **2002**, 295, 1014-1017.

[2] Hench, L. L.; Wilson, J. *An Introduction to Bioceramics*, World Scientific, **1993,** 41-75.

[3] Hench, L. L. Bioceramics : from concept to clinic. *Journal of the American Ceramic Society*, **1991**, 74, 1487-1510.

[4] Hench, L. L.; Splinter, R. J.; Allen, W. C.; Greenlee, T. K. Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. *Biomedical Materials Symposium*, **1971**, 117-141.

[5] Mastelaro, V. R.; Zanotto, E. D.; Lequeux, N.; Cortes, R. Relationship between short-range order and ease of nucleation in Na2Ca2Si3O9, CaSiO3 and PbSiO3 glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2000**, 262, 191-199.

[6] Doremus, R. H. *Glass science*. 2 ed. New York: J. Wiley, **1994**. 339p.

[7] Plenk, H.; Pfluger, G.; Bohler, N. *Long term anchorage of cementless tantalum and niobium femoral stems in canine hip-joint replacement, in biomaterials and biomechanics*, Elsevier Science Publishers B. V., Amsterdan, The Netherlands, **1984**, 61-66.

[8] Stefanovich, S. Yu.; Sigaev, V. N. Application of the optical second harmonic generation method in the study of the crystallization of noncentrosymmetric phases in glasses. *Glass Physics Chemistry*, **1995**, 21, 253.

[9] Park, J. *Biomaterials Science and Engineering*, Plenum Press, New York, **1984**, 510p.

[10] Silver, F.; Doillon, C. Biocompatibility: Interactions of Biological and Implantable Materials (Volume 1: Polymers), *Vch Pub, **1989**, 306p.*

[11] Xynos, I. D.; Hukkanen, M. V. J.; Batten, J. J.; Buttery, L. D.; Hench, L. L.; Polak, J. M. Bioglass 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation *in vitro*: implications and applications for bone tissue engineering. *Calcified Tissue International*, **2000**, 67, 321-329.

[12] Xynos, I. D.; Edgar, A. J.; Buttery, L. D. K.; Hench, L. L.; Polak, J. M. Ionic Products of Bioactive Glass Dissolution Increase Proliferation of Human Osteoblasts and Induce Insulin-like Growth Factor II mRNA Expression and Protein Synthesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2000**, 276, 461-465.

[13] Lossdorfer, S.; Schwartz, Z.; Lohmann, C. H.; Greenspan, D. C.; Ranly, D. M.; Boyan, B. D. Osteoblast response to bioactive glasses *in vitro* correlates with inorganic phosphate content. *Biomaterials*, **2004**, 25, 2547-2555.

[14] Hattar S.; Asselin A.; Greenspan D.; Oboeuf M.; Berdal A.; Sautier J-M. Potential of biomimetic surfaces to promote *in vitro* osteoblast-like cell differentiation. *Biomaterials*, **2005**, 26, 839-848.

[15] Hench, L. L.; Polak, J. M.; Xynos, I. D.; Buttery, L. D. K. Bioactive materials to control cell cycle. *Materials Research Innovations*, **2000**, 3, 313-323.

[16] Xynos, I. D.; Edgar, A. J.; Buttery, L. D. K.; Hench, L. L.; Polak, J. M. Gene -expression profiling of human osteoblasts following treatment with the ionic products of Bioglass 45S5 dissolution. *Journal of Biomedical Materials Research*, **2001**, 55, 151-157.

[17] Loty, C.; Sautier, J. M.; Tan, M. T.; Oboeuf, M.; Jallot, E.; Boulekbache, H.; Greenspan, D.; Forest, N. Bioactive glass stimulates *in vitro* osteoblast differentiation and creates a favorable template for bone tissue formation. *Journal of Bone and Mineral Research*, **2001**, 16, 231-239.

[18] Tilocca, A.; Cormack, A. N. Surface Signatures of Bioactivity: MD Simulations of 45S and 65S Silicate Glasses. *Langmuir*, **2010**, 26, 545-551.

[19] Brunner, T. J.; Grass, R. N.; Stark, W. J. Glass and bioglass nanopowders by flame synthesis. *Chemical Communications*, **2006**, 13, 1384-1386.

[20] Leonova, E.; Izquierdo-Barba, I.; Arcos, D.; Lopez-Noriega, A.; Hedin, N.; Vallet-Regi, M.; Eden, M. Multinuclear Solid-State NMR Studies of Ordered Mesoporous Bioactive Glasses. *Journal of Physical Chemistry C*, **2008**, 112, 5552-5562.

[21] Cerruti, M.; Greenspan, D.; Powers, K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass 45S5. *Biomaterials*, **2005**, 26, 1665-1674.

[22] Stoor, P.; Soderling, E.; Salonen, J. I. Antibacterial effects of a bioactive glass paste on oral microorganisms. *Acta odontologica Scandinavica*, **1998**, 56, 161-165.

[23] Allan, I.; Newman, H.; Wilson, M. Antibacterial activity of particulate Bioglass against supra- and subgingival bacteria. *Biomaterials*, **2001**, 22, 1683-1687.

[24] Rectenwald, J. E.; Minter, R. M.; Rosenberg, J. J.; Gaines, G. C.; Lee, S.; Moldawer, L. L. Bioglass attenuates a proinflammatory response in mouse peritoneal endotoxicosis. *Shock*, **2002**, 17, 135-138.

[25] Perez-Pariente, J.; Balas, F.; Vallet-Regi, M. Surface and Chemical Study of SiO2-P2O5-CaO-(MgO) Bioactive Glasses. *Chemistry of Materials*, **2000**, 12, 750-755.

[26] Li, R.; Clark, A. E.; Hench, L. L. An investigation of bioactive glass powders by sol-gel processing. *Journal of applied biomaterials : an official journal of the Society for Biomaterials*, **1991**, 2, 231-239.

[27] Pereira, M. M.; Hench, L. L. Mechanisms of hydroxyapatite formation on porous gel-silica substrates. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, **1996**, 7, 59-68.

[28] Hench, L.L.; Ethridge, E.C. *Biomaterials: an interfacial approach*, New York, Academic Press, **1982,** 386p.

[29] Stroganova, E. E.; Mikhailenko, N. Yu.; Moroz, O. A. Glass-Based Biomaterials: Present and Future (A Review). *Glass and Ceramics*, **2003**, 60, 315-319p.

[30] Tilocca, A. Structural models of bioactive glasses from molecular dynamics simulations. *Proceedings of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, **2009,** 465, 1003-1021.

[31] Moura Neto, J. Osteogênese *in vitro* sobre uma nova vitrocerâmica bioativa 100% cristalina (Biosilicato®). USP – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, **2006**. *Dissertação de Mestrado*, p2.

[32] Lebecq, I.; Desanglois, F.; Leriche, A.; Follet-Houttemane, C. Compositional dependence on the *in vitro* bioactivity of invert or conventional bioglasses in the Si-Ca-Na-P system. *Journal of biomedical materials research Part A*, **2007**, 83, 156-168.

[33] Tilocca, A.; Cormack, A. N. Structural effects of phosphorus inclusion in bioactive silicate glasses. *The journal of physical chemistry B*, **2007**, 111, 14256-14264.

[34] Hill, R. An alternative view of the degradation of bioglass. *Journal of Materials Science Letters*, **1996**, 15, 1122-1125.

[35] Ebisawa, Y.; Ohura, K.; Kokubo, T. ; Nakamura, T. Bioactivity of CaO–SiO2-based glasses:*in vitro* evaluation. *Journal of Biomedical Materials Research*, **1990**, 1, 239–244.

[36] Peitl, O.; Zanotto, E. D.; Hench, L. L. Highly bioactive P2O5–Na2O–CaO–SiO2 glassceramics. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2001**, 292, 115–126.

[37] Brink, M.; Turunen, T.; Happonen, R.-P.; Yli-Urpo, A. Compositional dependence of bioactivity of glasses in the system Na2O–K2O–MgO–CaO–B2O3–P2O5–SiO2. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **1997**, 37, 114–121.

[38] Zhang, K.; Yan, H.; Bell, D. C.; Stein, A.; Francis, L. F. Effects of materials parameters on mineralization and degradation of sol–gel bioactive glasses with 3D-ordered macroporous structures. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, **2003**, 66, 860–869.

[39] Vallet-Regı´, M.; Salinas, A. J.; Ramirez-Castellanos, J.; Gonzalez-Calbet, J. M. Nanostructure of bioactive sol–gel glasses and organic–inorganic hybrids. Chemistry of Materials, **2005**, 17, 1874–1879.

[40] Karlsson, K. H.; Froerg, K.; Ringbom, T. A structural approach to bone adhering of bioactive glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1989**, 112, 69.

[41] Andersso¨n, O. H.; Liu, G.; Kangasniemi, J.; Juhanoja, J. Evaluation of the acceptance of glass in bone. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* **1992**, 3, 145–150.

[42] Hench, L. L. Stimulation of bone repair by gene activating glasses. *Key Engineering Materials*, **2004**, 254-256.

[43] Hench, L. L. Bioceramics. *Journal of American Ceramic Society*, **1998**, 81, 1705–1728.

[44] Movshovich, I. A.; Troianker, M. Ia.; Voskresenskii, G. L. Experience with total endoprosthesis of the hip joint using the first Soviet-made metal-polymer prosthesis, *Ortopediia travmatologiia i protezirovanie*. **1987**, 10, 25-28.

[45] Lin, F.H.; Hon, M.H. High Strength Bioglass Ceramic Containing Ca2P2O7, *Journal of the Australian Ceramic Society*, **1989**, 25, 41-49.

[46] McMillan, P.W. *Glass Ceramics*, 2 ed., **1979**, 285p.

[47] Gy, R. Ion exchange for glass strengthening. *Materials Science & Engineering, B: Advanced Functional Solid-State Materials*, **2008**, 149, 159-165.

[48] Di Nunzio, S.; Vitale Brovarone, C.; Spriano, S.; Milanese, D.; Verne, E.; Bergo, V.; Maina, G.; Spinelli, P. Silver containing bioactive glasses prepared by molten salt ion-exchange. *Journal of the European Ceramic Society*, **2004**, 24, 2935-2942.

[49] Barbosa, L. C.; Aranha, N.; Alves, O. L.; Srivastava, R. Ag^{+}-Na^{+} exchanged waveguides from molten salts in a chemically durable phosphate glass. *Electronics Letters*, **1996**, 32, 1919-1920.

[50] Rivera, V. A. G.; Chillcce, E. F.; Rodriguez, E.; Mazali, I. O.; Cesar, C. L.; Barbosa, L. C. Waveguides produced by ion-exchange in Er^{3+}-doped tellurite glass. *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering*, **2006**, 6116.

[51] Njiokep, E. M. T.; Imre, A. W.; Mehrer, H. Tracer diffusion of 22Na and 45Ca, ionic conduction and viscosity of two standard soda-lime glasses and their undercooled melts. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2008**, 354, 355-359.

[52] Frischat, G. H. Evidence for calcium and aluminum diffusion in SiO2 glass. *Journal of the American Ceramic Society*, **1969**, 52, 625p.

[53] Mackenzie, J. D. *Modern aspects of the vitreous state, v.2,* Butterworths, London, **1960,** 1-70.

[54] Ducheyne, P.; Qiu, Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*, **1999**, 20, 2287-2303.

[55] Kokubo, T.; Kim, Hyun-Min; Kawashita, M. Novel bioactive materials with different mechanical properties. *Biomaterials*, **2003**, 24, 2161-2175.

[56] Cho, S. B.; Miyaji, F.; Kokubo, T.; Nakanishi, K.; Soga, N.; Nakamura, T. Apatite formation on silica gel in simulated body fluid: effects of structural modification with solvent-exchange. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **1998**, 9, 279-284.

[57] Koga, N.; Strnad, Z.; Sestak, J.; Strnad, J. Thermodynamics of non-bridging oxygen in silica bio-compatible glass-ceramics. Mimetic material for the bone tissue substitution. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, **2003**, 71, 927-937.

[58] Kim, Hyun-Min; Miyaji, F.; Kokubo, T.; Ohtsuki, C.; Nakamura, T. Bioactivity of Na2O-CaO-SiO2 glasses. *Journal of the American Ceramic Society*, **1995**, 78, 2405-11.

[59] ElBatal, H. A.; Azooz, M. A.; Khalil, E. M. A.; Soltan Monem, A.; Hamdy, Y. M. Characterization of some bioglass-ceramics. *Materials Chemistry and Physics*, **2003**, 80, 599-609.

[60] James, P. F. Glass ceramics: new compositions and uses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1995**, 181, 1-15.

[61] Lusvardi, G.; Malavasi, G.; Cortada, M.; Menabue, L.; Menziani, M. C.; Pedone, A.; Segre, U. Elucidation of the structural role of fluorine in potentially bioactive glasses by experimental and computational investigation. *Journal of Physical Chemistry B*, **2008**, 112, 12730–12739.

[62] Lammert, H.; Heuer, A. Contributions to the mixed-alkali effect in molecular dynamics simulations of alkali silicate glasses. *Physical Review B: Condensed Matter and Materials Physics*, **2005**, 72, 214202/1-214202/9.

[63] Wu, H.-F.; Lin, C.-C.; Shen,P. Structure and dissolution of CaO–ZrO2–TiO2–Al2O3–B2O3–SiO2 glass (II). *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1997**, 209, 76–86.

[64] El-Ghannam, A.; Hamazawy, E.; Yehia, A. Effect of thermal treatment on bioactive glass microstructure, corrosion behavior, *z* potential, and protein adsorption. Journal of Biomedical Materials Research, **2001**, 55, 387–395.

[65] Shelby, J. E. Introduction to glass science and technology, 2 ed. London, UK: The Royal Society of Chemistry, **2005**.

[66] Lin, Chung-Cherng; Huang, Li-Chen; Shen, P. Na2CaSi2O6-P2O5 based bioactive glasses. Part 1: Elasticity and structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2005**, 351, 3195-3203.

[67] Aguiar, H.; Solla, E. L.; Serra, J.; Gonzalez, P.; Leon, B.; Almeida, N.; Cachinho, S.; Davim, E. J. C.; Correia, R.; Oliveira, J. M.; Fernandes, M. H. V. Orthophosphate

nanostructures in SiO2-P2O5-CaO-Na2O-MgO bioactive glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2008**, 354, 4075-4080.

[68] Lippmaa, E.; Maegi, M.; Samoson, A.; Engelhardt, G.; Grimmer, A. R. Structural studies of silicates by solid-state high-resolution silicon-29 NMR. *Journal of the American Chemical Society*, **1980**, 102, 4889-4893.

[69] O'Donnell, M. D.; Watts, S. J.; Law, R. V.; Hill, R. G. Effect of P2O5 content in two series of soda lime phosphosilicate glasses on structure and properties - Part I: NMR. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2008**, 354, 3554-3560.

[70] Holliday, L. *Ionic Polymers*, Wiley, New York, **1975**.

[71] Ray, N. H. *Inorganic Polymers*, Academic, London, **1978**.

[72] Greaves, G. N. EXAFS and the structure of glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1985**, 71, 203–217.

[73] Greaves, G. N.; Sen, S. Inorganic glasses, glass-forming liquids and amorphizing solids. *Advances in Physics*. **2007**, 56, 1–166.

[74] Ward, L. P.; Strafford, K. N.; Wilks, T. P.; Subramanian, C. The role of refractory element based coatings on the tribological and biological behaviour of orthopaedic implants. *Journal of Materials Processing Technology*, **1996**, 56, 364 –374.

[75] Denry, I. L.; Holloway, J. A.; Nakkula, R. J.; Walters, J. D. Effect of niobium content on the microstructure and thermal properties of fluorapatite glass-ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, **2005**, 75B, 18-24.

[76] Graca, M. P. F.; Ferreira da Silva, M. G.; Sombra, A. S. B.; Valente, M. A. Electrical and dielectrical properties of SiO2-Li2O-Nb2O5 glass and glass-ceramics obtained by thermoelectric treatments. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2006**, 352, 5199-5204.

[77] Pernice, P.; Aronne, A.; Sigaev, V.; Kupriyanova, M. Crystallization of the K2O-Nb2O5-2SiO2 glass: evidences for existence of bulk nanocrystalline structure. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2000**, 275, 216-224.

[78] Golubkov, V. V.; Dymshits, O. S.; Zhilin, A. A.; Redin, A. V.; Shepilov, M. P. Crystallization of glasses in the K2O-Nb2O5-SiO2 system. *Glass Physics and Chemistry,* **2001**, 27, 504-511.

[79] Miyazaki, T. Development of bioactive materials based on bone-bonding mechanism on metal oxides. *Journal of the Ceramic Society of Japan,* **2008**, 116, 260-264.

[80] Karlinsey, R. L.; Yi, K. Self-assembly and bioactive response of a crystalline metal oxide in a simulated blood fluid. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, **2008**, 19, 1349-1354.

[81] Miyazaki, H.; Kubobuchi, K.; Yamaguchi, K.; Iseki, T.; Yano, T. Tensile deformation of both ZrO2/TiC composite and Al2O3/TiC composite at high temperature. *Key Engineering Materials*, **2000**, 171-174.

[82] Miyazaki, T.; Kim, H. M.; Kokubo, T.; Ohtsuki, C.; Nakamura T. Apatite-forming ability of niobium oxide gels in a simulated body fluid. *Journal of the Ceramic Society of Japan*, **2001**, 109, 929-933.

[83] Gross, K. A.; Hart, J.; Rodriguez-Lorenzo, L. M. Fluor-hydroxyapatite solid solutions as alternative bioceramics. *Bioceramics*, **2002**, 14, 165-168.

[84] Kokubo, T.; Takadama, H. How useful is SBF in predicting *in vivo* bone bioactivity? *Biomaterials*, **2006**, 27, 2907-2915.

[85] Oyane, A.; Kim, H. M.; Furuya, T.; Kokubo, T.; Miyazaki, T.; Nakamura, T.; Preparation and assessment of revised simulated body fluids. *Journal of Biomedical Materials Research*, **1991**, 65, 188-195.

[86] Bunker, B. C.; Rieke, P. C.; Tarasevich, B. J.; Campbell, A. A.; Fryxell, G. E.; Graff, G. L.; Song, L.; Liu, J.; Virden, J. W.; McVay, G. L. Ceramic thin-film formation on functionalized interfaces through biomimetic processing. *Science*, **1994**, 264, 48-55.

[87] Moseley, H. G. J. *Philosophical Magazine*, **1914**, 27, 703. Disponível em: <http://hyperphysics.phyastr.gsu.edu/hbase/quantum/imgqua/moseley.gif>, acesso em 04/02/2010.

[88] Skoog, D. A.; West, D. M. *Analytical chemistry: an introduction.* New York: Holt, Rinehart and Winston, **1965**, 527p.

[89] Site <http://henke.lbl.gov/optical_constants/atten2.html>, acesso em 04/02/2010.

[90] Cerruti, M.; Sahai, N. Silicate biomaterials for orthopaedic and dental implants. *Reviews in Mineralogy & Geochemistry*, **2006**, 64, 283-313.

[91] Lefebvre, L.; Chevalier, J.; Gremillard, L.; Zenati, R.; Thollet, G.; Bernache-Assolant, D.; Govin, A. Structural transformations of bioactive glass 45S5 with thermal treatments. *Acta Materialia*, 55, **2007**, 3305-3313.

[92] Stachel, D.; Barz, A. Structure investigations of ultraphosphate glasses with some water content. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, **2007**, 68, 1021-1023.

[93] Herzog, K.; Scholz, K.; Thomas, B. Structure of hydrated layers on silicate electrode glasses. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance*, **1994**, 3, 1-15.

[94] Kuzuu, N.; Kokubo, Y.; Nishimura, T.; Serizawa, I.; Zeng, Ling-Hai; Fujii, K.; Yamaguchi, M.; Saito, K.; Ikushima, A. J. Structural change of OH-free fused quartz tube by blowing with hydrogen-oxygen flame. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2004**, 333, 115-123.

[95] Brinker, C. J.; Scherer, G. W. *Sol–Gel Science: The Physics and Chemistry of Sol–Gel Processing*, Academic, London, **1990**.

[96] Iler, R. K. *The Chemistry of Silica: Solubility, Plymerization, Colloid and surface Properties and Biochemistry*, John Wiley, New York, **1979**.

[97] Cerruti, M.; Morterra, C. Carbonate formation on bioactive glasses. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, **2004**, 20, 6382-6388.

[98] Trasferetti, B. C.; Davanzo, C. U. Introduction to the specular reflection and reflection-absorption techniques in the infrared : (2) reflection-absorption. *Quimica Nova*, **2001**, 24, 99-104.

[99] Roman, J.; Padilla, S.; Vallet-Regi, M. Sol-gel glasses as precursors of bioactive glass ceramics. *Chemistry of Materials*, **2003**, 15, 798-806.

[100] Arcos, D.; Greenspan, D. C.; Vallet-Regi, M. A new quantitative method to evaluate the *in vitro* bioactivity of melt and sol-gel-derived silicate glasses. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, **2003**, 65A, 344-351.

[101] Galeener, F. L.; Lucovsky, G. Longitudinal optical vibrations in glasses: germania and silica. *Physical Review Letters*, **1976**, 37, 1474-1478.

[102] Jung, H. Y.; Gupta, R. K.; Oh, E. O.; Kim, Y. H.; Whang, C. M. Vibrational spectroscopic studies of sol-gel derived physical and chemical bonded ORMOSILs. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2005**, 351, 372-379.

[103] Kim, C. Y.; Clark, A. E.; Hench, L. L. Compositional dependence of calcium phosphate layer formation in fluoride bioglasses. *Journal of Biomedical Materials Research*, **1992**, 26, 1147-1161.

[104] Pryce, R. S.; Hench, L. L. Tailoring of bioactive glasses for the release of nitric oxide as an osteogenic stimulus. *Journal of Materials Chemistry*, **2004**, 14, 2303-2310.

[105] Corno, M.; Pedone, A.; Dovesi, R.; Ugliengo, P. B3LYP Simulation of the Full Vibrational Spectrum of 45S5 Bioactive Silicate Glass Compared to v-Silica. *Chemistry of Materials*, **2008**, 20, 5610-5621.

[106] Tilocca, A.; de Leeuw, N. H. Ab Initio Molecular Dynamics Study of 45S5 Bioactive Silicate Glass. *Journal of Physical Chemistry B*, **2006**, 110, 25810-25816.

[107] Serra, J.; Gonzalez, P.; Liste, S.; Serra, C.; Chiussi, S.; Leon, B.; Perez-Amor, M.; Ylanen, H. O.; Hupa, M. FTIR and XPS studies of bioactive silicate-based glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2003**, 332, 20-27.

[108] Chrissanthopoulos, A.; Bouropoulos, N.; Yannopoulos, S. N. Vibrational spectroscopic and computational studies of sol-gel derived CaO-MgO-SiO2 binary and ternary bioactive glasses. *Vibrational Spectroscopy*, **2008**, 48, 118-125.

[109] Innocenzi, P. Infrared spectroscopy of sol-gel derived silica-based films: a spectra-microstructure overview. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2003**, 316, 309-319.

[110] Sanders, D. M.; Person, W. B.; Hench, L. L. Quantitative analysis of glass structure with the use of infrared reflection spectra. *Applied Spectroscopy*, **1974**, 28, 247-55.

[111] Aguiar, H.; Serra, J.; Gonzalez, P.; Leon, B. Structural study of sol-gel silicate glasses by IR and Raman spectroscopies. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2009**, 355, 475-480.

[112] Meyer, K. Characterization of the structure of binary zinc ultraphosphate glasses by infrared and Raman spectroscopy. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1997**, 209, 227-239.

[113] Linati, L.; Lusvardi, G.; Malavasi, G.; Menabue, L.; Menziani, M. C.; Mustarelli, P.; Pedone, A.; Segre, U. Medium - range order in phosphosilicate bioactive glasses: Insights from MAS - NMR spectra, chemical durability experiments and molecular dynamics simulations. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **2008**, 354, 84-89.

[114] Lockyer, M. W. G.; Holland, D.; Dupree, R. NMR investigation of the structure of some bioactive and related glasses. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1995**, 188, 207-19.

[115] Velde, B.; Couty, R. High - pressure infrared spectra of silica glass and quartz. *Journal of Non-Crystalline Solids*, **1987**, 94, 238-250.

[116] Franke, R.; Chasse, T.; Streubel, P.; Meisel, A. Auger parameters and relaxation energies of phosphorus in solid compounds. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, **1991**, 56, 381-388.

[117] Swift, P. Adventitious carbon - the panacea for energy referencing? *Surface and Interface Analysis*, **1982**, 4, 47-51.

[118] Busca, G.; Lorenzelli, V. Infrared spectroscopic identification of species arising from reactive adsorption of carbon oxides on metal oxide surfaces. *Materials Chemistry*, **1982**, 7, 89-126.

[119] Cerruti, M.; Bianchi, C. L.; Bonino, F.; Damin, A.; Perardi, A.; Morterra, C. Surface modifications of bioglass immersed in tris -buffered solution a multitechnical spectroscopic study. Journal of Physical Chemistry B, **2005**, 109, 14496-14505.

[120] Pacchioni, G.; Bagus, P. S. Theoretical analysis of the O(1s) binding-energy shifts in alkaline-earth oxides: chemical or electrostatic contributions. *Physical Review B: Condensed Matter and Materials Physics*, **1994**, 50, 2576-2581.

[121] Barr, T. L.; Brundle, C. R. Bonding and electronic structure in high-Tc superconducting oxides: a case for the importance of the cations. *Physical Review B: Condensed Matter and Materials Physics*, **1992**, 46, 9199-204.

[122] Barr, T. L.; Brundle, C. R.; Klumb, A.; Liu, Y. L.; Chen, L. M.; Yin, M. P. Novel bonding concepts for superconductive oxides: an XPS study. *AIP Conference Proceedings*, **1989**, 182, 216-231.

[123] Santos, L. F.; Wondraczek, L.; Deubener, J.; Almeida, R. M. Vibrational spectroscopy study of niobium germanosilicate glasses. Journal of Non-Crystalline Solids, **2007**, 353, 1875-1881.