

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Escola de Engenharia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Minas, Metalúrgica e de
 Materiais
PPGE3M

Avaliação de cimentos ósseos de Fosfatos de Cálcio com adições de Aluminato e Silicato de Cálcio

Autor: MSc. Loreley Morejón Alonso

Orientador: Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos

Co-orientador: Prof. Dr. Raúl García Carrodegua

Área de Concentração: Ciência e Tecnologia de Materiais

Linha de Pesquisa: Biomateriais

Tese de Doutorado apresentada à comissão de Pós Graduação em Engenharia de Minas,
Metalúrgica e de Materiais, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Engenharia

Porto Alegre

Março 2011

“Todo grande progresso da ciência resultou de uma nova audácia da imaginação”

John Dewey

"A ciência se compõe de erros que, por sua vez, são os passos até a verdade."

Julio Verne

**Dedico este trabalho a todos aqueles que me ajudaram a chegar até aqui
e aqueles que confiaram em mim.....**

Agradecimentos

Um trabalho de esta magnitude não poderia ser concluído sem a ajuda de diversas pessoas as quais presto minha homenagem:

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Alberto dos Santos, pela acolhida, orientação, oportunidades e apoio para meu crescimento e formação profissional e pessoal durante o desenvolvimento deste trabalho. Mas acima de tudo, pela confiança depositada em mim e pela amizade e presença nos momentos mais difíceis.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Raúl García Carrodegua, por ser a pessoa que me iniciou no maravilhoso mundo da pesquisa, pela paciência para me ensinar durante todos estes anos e pelos conhecimentos transmitidos.

A Vânia Caldas de Souza, por me acolher como uma irmã e por ser minha amiga durante estes quatro anos.

Aos meus colegas de Labiomat. Aos que já não estão e que me receberam com os braços abertos quando ainda mal conseguia falar português: Marcelo, Jeferson, Samanta e Letícia; e aos novos que deixo em meu lugar e em boas mãos: Douglas, Oscar, Rafa, Mônica, Ju e Wilbur. Mais que meus colegas, aos meus amigos Rô, Tiago e Diego.

Ao LACER, pela ajuda e suporte na caracterização de grande parte dos materiais e aos colegas e amigos que fiz lá: Antonio, Cibele, Felipe, Juliana e Paula.

Ao LAMEF, pela ajuda na realização dos ensaios mecânicos dos materiais.

Ao centro de microscopia eletrônica da UFRGS (CME) e aos técnicos: Karina, Carlos, Leandro e Moema por sempre estarem presentes e dispostos a me ajudar.

Ao Hospital das Clínicas de Porto Alegre, HCPA, pela ajuda na esterilização dos materiais

A Prof. Nance Nardi por todo o apoio na realização dos testes biológicos e ensaios de citotoxicidade.

Ao pessoal do LABIOMECA da Universidade Estadual de Campinas pelo apoio na preparação de amostras e em especial a minha colega e amiga a Dra. Mariana Motisuke.

Aos professores e técnicos do Departamento de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul que de alguma forma colaboraram na realização desta pesquisa ou contribuíram na minha formação como profissional.

A toda a equipe da secretaria do PGGEM, pelo apoio, ajuda e amizade incondicional.

A CAPES, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior por ter acreditado no meu projeto e pela bolsa de doutorado concedida.

As minhas duas grandes amigas Tahi e Nina, sem as quais provavelmente houvesse desistido na metade do caminho. Brigada pela força e amizade.

A Ale, sempre presente, quem me deu forças, carinho e compreensão quando mais o necessitei.

A minha família toda, por o apoio incondicional que me permitiu alcançar este sonho; mas acima de tudo a meu pequeno Dani por entender apesar da sua curta idade e me esperar pacientemente.

A todos os que de uma forma ou outra estiveram presentes durante este tempo todo, convivendo, trabalhando e me dando forças para continuar e concluir esta grande obra.

A todos: Muchas Gracias

Resumo

O aumento da longevidade da população mundial e dos acidentes com consequências traumáticas nas últimas décadas provocaram um incremento na demanda de materiais e tecnologias destinados à substituição de alguma função ou porção do organismo humano para assegurar a qualidade de vida do ser humano. Neste contexto, o desenvolvimento de novos biomateriais para a ortopedia e odontologia baseados nos fosfatos de cálcio é relevante, uma vez que estes apresentam composição química semelhante à fase mineral de ossos e dentes.

Os cimentos de fosfatos de cálcio (CPC) possuem composição de fases cristalinas e resposta biológica similares às biocerâmicas de fosfato de cálcio utilizadas como material de implante por excelência devido à sua alta biocompatibilidade e excelente bioatividade; mas com a diferença de que estes podem ser facilmente moldados e adaptados ao local de implantação, injetados através de vias minimamente invasivas, ou misturados com diversos fármacos para obter uma ação terapêutica determinada e localizada no local de implantação.

Em geral, tanto as biocerâmicas como os CPC apresentam baixas resistências mecânicas, pelo qual o objetivo principal deste trabalho foi a obtenção de novas formulações de CPC com propriedades mecânicas melhoradas mediante a adição de componentes de cimento Portland tradicional ou de cimento de aluminato de cálcio. Outras propriedades que se pretende melhorar com a adição de compostos portadores de silício são a bioatividade e osteogenicidade dos materiais resultantes, uma vez que os cimentos baseados em silicato de cálcio são altamente osteogênicos.

Para isto, foi escolhido o sistema baseado em α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e foram desenhadas diferentes formulações através da introdução de Ca_3SiO_5 (C_3S) ou CaAl_2O_4 (CA), fases majoritárias dos cimentos Portland e cimentos de aluminato de cálcio que apresentam uma excelente resistência mecânica, além de ser biocompatíveis e bioativas.

Do estudo realizado verificou-se que a adição de um 5% de C_3S ao cimento baseado em α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ produz um incremento das propriedades mecânicas em longo prazo (14d) e melhora a bioatividade e citotoxicidade dos CPC tradicionais; no entanto, retarda a pega do cimento e a hidrólise do α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e aumenta a o grau de degradação dos materiais. A introdução de SiO_2 como modificação de esta formulação, embora diminuiu o pH resultante,

retardou a pega do cimento provocando uma perda notável da resistência mecânica durante os primeiros estágios da reação.

Por outro lado, a introdução de CA provocou uma diminuição da resistência à compressão dos cimentos, independente do teor adicionado, e não se observou a melhoria desta propriedade com o aumento do tempo. Contudo, a presença de CA permitiu a obtenção de materiais menos citotóxicos, e por conseguinte mais biocompatíveis, assim como o aumento da bioatividade em relação aos CPC tradicionais.

Palavras Chaves

Biomateriais, Biocompatibilidade, Cimentos de Fosfatos de Cálcio, Cimento Portland, Cimentos de Aluminatos de Cálcio.

Abstract

The increased longevity of the world population and the growth of traumatic accidents in last decades, led to an increase in demand of materials and technologies for replacement of any portion or function of the human body to ensure the quality of human life. In this context, the development of new biomaterials for orthopedics and dentistry based on calcium phosphates is relevant, since they have similar chemical composition to the mineral phase of bones and teeth.

The calcium phosphate cements (CPC) have composition of crystalline phases and biological response similar to calcium phosphate bioceramics used as implant material par excellence due to its high biocompatibility and excellent bioactivity; but with the difference that these can be easily shaped and adapted to the site, injected through minimally invasive means, or mixed with various drugs for a specific therapeutic action at the site of implantation.

In general, both bioceramics such as CPC have low mechanical strength; whereby, the main objective of this study was to obtain new formulations of CPC with improved mechanical properties by adding components of traditional Portland cement or calcium aluminate cement. Other properties that are intended to improve with the addition of silicon compounds, are the bioactivity and osteogenic potential of the resulting materials, as it cements based on calcium silicate are highly osteogenic.

For this, we chose a system based $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ and different formulations were designed by introducing Ca_3SiO_5 (C_3S) or CaAl_2O_4 (CA), majority phases of Portland cement and calcium aluminate cements that have an excellent mechanical strength, and are biocompatible and bioactive.

From the study it was found that the addition of a 5% C_3S to the $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ based cement, produces an increase in the mechanical properties in the long term (14d) and enhances bioactivity and cytotoxicity; however, enlarge the setting times and the degree of degradation of α and hydrolysis of materials. The introduction of SiO_2 as a modification of this formulation, resulted in a pH decreased, but in the increased of the setting times causing a noticeable loss of strength during the early stages of the reaction.

Moreover, the introduction of CA reduced the compressive strength of cements, regardless of content added, and there was no improvement of this property with increasing time. However, the presence of CA allowed the production of materials less cytotoxic, and thereby to more biocompatible, as well as the increase in bioactivity relative to traditional CPC.

Keywords

Biomaterials, Biocompatibility, Calcium Phosphates Cements, Portland Cement, Calcium Aluminates Cement.

Lista de Figuras

2.1. Desenvolvimento histórico da aplicação dos biomateriais e expectativas futuras. (Montero & San Román, 2004).....	4
2.2. Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C . (a) Isotermas de solubilidade mostrando $\log[\text{Ca}]$ e pH em equilíbrio com vários sais; (b) (a) Isotermas de solubilidade mostrando $\log[\text{P}]$ e pH em equilíbrio com vários sais.....	9
2.3. Processo de conversão dos hidratos de alumínio metaestáveis (Lööf, 2008).....	27
2.4. Diagrama de fase ternário do sistema $\text{CaO-Al}_2\text{O}_3\text{-SiO}_2$ a 1 atm de pressão em meio úmido.....	30
2.5. Taxa de hidratação ideal em função do tempo para a hidrólise do C_3S . (Bullard, 2008).....	38
2.6. Passos para a síntese esquemática das fases de cimento através de um processo sol-gel. (Stephan & Wilhelm, 2004).....	44
3.1. Fluxograma das etapas experimentais para o desenvolvimento do trabalho.....	49
3.2. Curva de calibração da fase $\beta\text{-TCP}$ para a análise quantitativa de Raios X.....	54
4.1. Difratoograma de Raios X do CaCO_3 utilizado na síntese do $\alpha\text{-TCP}$	57
4.2 Difratoograma de Raios X mostrando a decomposição térmica do DCPA em $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$. * DCPA, \blacklozenge $\gamma\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$, \bullet $\beta\text{-Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$	58
4.3. Diagrama de fases do sistema $\text{Mg}(\text{PO}_4)_2\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. (Carrodegas et al., 2008).....	59
4.4. Difratoograma de Raios X do $\alpha\text{-TCP}$ em função da temperatura de síntese.....	60
4.5. Difratoograma de Raios X do $\alpha\text{-TCP}$ a 1350°C e 1400°C . \blacklozenge $\alpha\text{-TCP}$, \bullet HA, \blacklozenge OCP.....	61
4.6. Difratoograma de raios X do $\alpha\text{-TCP}$	63
4.7. Distribuição granulométrica do $\alpha\text{-TCP}$ após 2h de moagem em meio alcoólico.....	64
4.8. Difratoograma de Raios X do CA após sinterização a 1000°C	65
4.9. Difratoograma de Raios X do C_3S 48h de sinterização, moagem intermediária e resfriamento brusco.....	67

4.10. Diagrama de fases do sistema CaO-SiO ₂	68
4.11. Evolução da reação de hidratação do α -TCP após 14d de imersão em SBF.....	70
4.12. Variação da massa do cimento α -TCP após imersão em SBF por vários períodos de tempo.....	72
4.13. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF, (c) 7d em SBF e (d) 14d em SBF.....	73
4.14. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF, (c) 7d em SBF e (d) 14d em SF.....	74
4.15. Evolução do pH em SBF do cimento de α -TCP.....	76
4.16. Viabilidade celular das PBMCs após cultivo por 24 e 48h.....	77
4.17 Micrografias eletrônicas de varredura mostrando a morfologia dos diferentes hidratos de alumínio. (Parr, 2008).....	78
4.18. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície do cimento de monoaluminato de cálcio antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF e (c) 7d em SBF.....	80
4.19. Tempos de pega dos cimentos mistos contendo CA em comparação ao α -TCP.....	81
4.20. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/CA 24h após pega.....	83
4.21. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/CA após 7d em SBF.....	84
4.22. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/CA após 14d em SBF.....	84
4.23. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de 5CA (a) e 10CA (b) antes (0d) e após imersão em SBF (7d) e (14d).....	86
4.24. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de 5CA (a) e 10CA (b) antes (0d) e após imersão em SBF (7d) e (14d).....	87
4.25. Análise elementar pontual por EDS da amostra 5CA após 7d em SBF.....	88
4.26. Mudanças no pH do α -TCP, 5CA e 10CA quando imersas em SBF.....	89
4.27. Variação da porosidade aparente do cimento de α -TCP e dos cimentos com CA em SBF.....	90

4.28. Variação da resistência a compressão do cimento de α -TCP e dos cimentos com CA em SBF.....	91
4.29. Variação da massa do cimento de α -TCP e dos cimentos com 5% de CA e 10% de CA após 21 dias em SBF.....	92
4.30. Difratoograma de Raios X do produto de degradação dos cimentos α -TCP/CA.....	93
4.31. Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. * indica que a viabilidade celular foi significativamente diferente do controle negativo ($p < 0.05$).....	94
4.32. Micrografias eletrônicas de varredura dos cimentos de C_3S 24h após pega, (a), (b) e (c) Superfície; (d) Superfície de fratura.....	96
4.33. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de C_3S 24h após imersão em SBF por 1h (a, b); 24h (c, d) e 7d (e, f).....	97
4.34. Tempos de pega dos cimentos mistos contendo C_3S em comparação ao α -TCP.....	99
4.35. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/ C_3S 24h após pega.....	100
4.36. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/ C_3S após 7d em SBF.....	101
4.37. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/ C_3S após 14d em SBF.....	102
4.38. Mudanças no pH das formulações contendo C_3S quando imersas em SBF. Comparação com o cimento de α -TCP.....	103
4.39. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de $5C_3S$ (a) e $10C_3S$ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.....	105
4.40. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de $5C_3S$ (a) e $10C_3S$ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.....	107
4.41. Variação da resistência a compressão do cimento de α -TCP e dos cimentos com C_3S em SBF.....	108
4.42. Variação da porosidade aparente do cimento de α -TCP e dos cimentos com C_3S em SBF.....	109
4.43. Variação da massa do cimento de α -TCP e dos cimentos com 5% de C_3S e 10% de C_3S após 21 dias em SBF.....	110

4.44. Difratoograma de Raios X do produto de degradação dos cimentos α -TCP/C ₃ S.....	111
4.45. Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. * indica que a viabilidade celular foi significativamente diferente do controle negativo (p<0.05).....	112
4.46. Difratoograma de Raios X do SiO ₂ utilizado como aditivo na formulação α -TCP/C ₃ S.....	113
4.47. Tempos de pega para os cimentos mistos α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ . Relação SiO ₂ :C ₃ S=2.....	114
4.48. Mudanças no pH das formulações contendo C ₃ S e SiO ₂ quando imersas em SBF.....	115
4.49. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ 24h após pega.....	116
4.50. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ após 7d em SBF.....	117
4.51. Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ após 14d em SBF.....	118
4.52. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de 5SiO ₂ (a) e 10SiO ₂ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.....	119
4.53. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície e superfície de fratura dos cimentos 5SiO ₂ (a) e 10SiO ₂ (b) após 24h imersos em SBF. (S) Superfície, (F) Fratura.....	120
4.54. Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de 5SiO ₂ (a) e 10SiO ₂ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.....	122
4.55. Variação da resistência a compressão do cimento α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ em SBF.....	123
4.56. Variação da porosidade aparente do cimento α -TCP/C ₃ S/SiO ₂ em SBF.....	124
4.57. Variação da massa dos cimentos 5SiO ₂ e 10SiO ₂ em relação ao cimento convencional de α -TCP.....	125
4.58. Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. Controle negativo: cimento convencional de α -TCP.....	126

Lista de Tabelas

2.1. Fosfatos de cálcio de interesse biológico.....	8
2.2. Cimentos comerciais de fosfatos de cálcio no mercado norte-americano e europeu.....	12
2.3. Nomenclatura utilizada na química dos cimentos.....	13
2.4. Nomenclatura utilizada na denominação dos óxidos no OPC.....	13
2.5. Fosfatos de cálcio que precipitam a temperatura ambiente ou corporal.....	15
2.6. Aditivos que podem ser empregados nas formulações de CPC. Acelerantes, retardadores, promotores da bioatividade etc. (Driessens et al., 1996).....	17
2.7. Principais métodos de obtenção de fosfato tricálcico. (Pankaew, 2010).....	22
2.8. Lógica por trás o uso dos CAC como materiais para restauração dentária. (Kraft, 2002).....	24
2.9. Substâncias químicas utilizadas como aceleradores e retardadores de pega de CAC. (García et al., 2007).....	29
2.10. Principais métodos de obtenção de aluminato monocálcico.....	31
2.11. Etapas na técnica Pechini (Gaki et al., 2007).....	32
3.1. Composição das diferentes formulações estudadas.....	49
3.2. Concentrações iônicas do SBF e do plasma humano sanguíneo (Kokubo, 2006).....	50
3.3. Reagentes e quantidades por 1L de solução de SBF (c-SBF) (Kim et al., 2001).....	51
4.1. Resultados da análise semi-quantitativa de FRX. *Valores em % massa expressados como óxidos. nd=não detectado.....	59
4.2. Principais resultados da caracterização do α -TCP.....	64
4.3 Principais resultados da caracterização do CA.....	66
4.4 Principais resultados da caracterização do C ₃ S.....	68
4.5 Principais resultados da caracterização do cimento de α -TCP.....	70

Relação de abreviaturas e símbolos

Abreviações

Símbolo	Descrição
α -TCP	α -fosfato tricálcico
β -TCP	β -fosfato tricálcico
ACP	Fosfato de cálcio amorfo
C ₂ S	Silicato dicálcico
C ₃ S	Silicato tricálcico
CA	Monoaluminato de cálcio
CaP	Fosfatos de cálcio
CAC	Cimentos de aluminato (s) de cálcio
CBC	Cerâmicas quimicamente enlaçadas
CDHA	Hidroxiapatita deficiente em cálcio
CPC	Cimento(s) de fosfato de cálcio
DCPA	Hidrogeno fosfato de cálcio
DCPD	Hidrogeno fosfato de cálcio diidratado
DRX	Difração de raios X
EDS	Espectroscopia por Dispersão de Energia
EG	Etilenglicol
FRX	Fluorescência de raios X
HA	Hidroxiapatita
ICP	Espectrometria de plasma indutivamente acoplado
JCPDS	Joint Comitee for Powder Diffraction Studies
L/P	Relação L/P
MCPA	Fosfato monocálcico anidro

MCPM	Fosfato monocálcico monoidratado
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
OCP	Fosfato octacálcico
OD	Densidade ótica
PA	Reagentes puros para análise
PBMCs	Células mononucleares do sangue periférico
SBF	Fluído biológico simulado
TEOS	Tetra etil ortosilicato
TTCP	Fosfato tetracálcico

Simbologia

Letras gregas

Símbolo	Descrição	Unidade
λ	Comprimento de onda	[nm]
σ	Resistência mecânica a compressão	[MPa]
ρ_{ap}	Porosidade Aparente	[g/cm ³]

Letras romanas

Símbolo	Descrição	Unidade
t_i	Tempo de Pega Inicial	[min]
t_f	Tempo de Pega Final	[min]
P_{ap}	Porosidade Aparante	[%]

Índice

Lista de Figuras.....	x
Lista de Tabelas.....	xiv
Relação de abreviaturas e símbolos.....	xv
1. Introdução.....	1
2. Revisão da Literatura.....	3
2.1. Biomateriais.....	3
2.1.1. Introdução e desenvolvimento histórico. Importância socioeconômica.....	3
2.1.2. Definição e classificação.....	5
2.2. Biocerâmicas.....	6
2.2.1. Biocerâmicas de fosfatos de cálcio.....	7
2.2.2. Cerâmicas quimicamente ligadas (CBC).....	10
2.3. Cimentos hidráulicos.....	10
2.3.1. Cimentos hidráulicos para aplicações biomédicas.....	11
2.3.2. Nomenclatura na química do cimento.....	12
2.4. Cimentos de fosfatos de cálcio (CPC).....	13
2.4.1. Química dos cimentos de fosfatos de cálcio.....	16
2.4.2. Fase sólida.....	16
2.4.3. Fase líquida.....	17
2.4.4. Tempos de pega e comportamento em ambiente fisiológico.....	18
2.4.5. Razão líquido-pó (L/P), porosidade e resistência mecânica.....	18
2.4.6. Liberação de calor e variação do volume durante a pega.....	19
2.4.7. Aplicações.....	19
2.4.8. Sistema α -Fosfato Tricálcico (α -TCP).....	20

2.4.9. Fosfato tricálcico.....	21
2.5. Cimentos de aluminato de cálcio (CAC).....	23
2.5.1. Hidratação e mecanismos de conversão dos CAC. Sistema $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_4$	24
2.5.2. Conversão.....	26
2.5.3. Variáveis que influem não processo de hidratação.....	27
2.5.4. Retardadores e aceleradores.....	28
2.5.5. Síntese do $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_4$	29
2.5.5.1. Técnica Pechini.....	32
2.5.5.2. Combustão.....	33
2.5.5.3. Síntese triboquímica.....	33
2.6. Cimento Portland (OPC).....	34
2.6.1. Aplicações.....	35
2.7. Silicatos de cálcio. Ca_3SiO_5	36
2.7.1. Hidratação.....	36
2.7.2. Retardadores e aceleradores.....	40
2.7.3. Pozolanas.....	41
2.7.4. Síntese do Ca_3SiO_5	42
2.7.4.1. Síntese por sol-gel.....	43
3. Materiais e Métodos.....	45
3.1. Materiais utilizados.....	47
3.2. Síntese dos pós utilizados na preparação dos cimentos.....	48
3.2.1. Síntese do α -fosfato tricálcico (α -TCP).....	48
3.2.2. Síntese do monoaluminato de cálcio (CA).....	48
3.2.3. Síntese do silicato tricálcico (C_3S).....	48
3.3. Preparação dos cimentos.....	49
3.4. Caracterização dos cimentos.....	50

3.4.1. Determinação dos tempos de pega.....	50
3.4.2. Testes <i>in vitro</i> . Bioatividade e Degradação.....	50
3.4.3. Citotoxicidade.....	51
3.5. Técnicas de caracterização.....	52
3.5.1. Área superficial e distribuição de tamanhos de partículas.....	52
3.5.2. Fluorescência de Raios X. (FRX).....	53
3.5.3. Difração de Raios X (DRX).....	53
3.5.3.1. Análise qualitativa.....	53
3.5.3.2. Análise quantitativa. Método do padrão interno.....	53
3.5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	54
3.5.5. Resistência mecânica a compressão.....	55
3.5.6. Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado. (ICP).....	55
3.5.7. Medidas de porosidade e densidade aparente.....	56
4. Resultados e Discussão.....	57
4.1. Caracterização dos pós utilizados na preparação dos cimentos.....	57
4.1.1. Determinação da temperatura de tratamento térmico, obtenção e caracterização do α -TCP.....	57
4.1.2. Monoaluminato de cálcio. (CaAl_2O_4).....	63
4.1.3. Silicato tricálcico. (Ca_3SiO_5).....	65
4.2. Desenvolvimento e caracterização dos cimentos ósseos mistos.....	67
4.2.1. Sistema α -TCP convencional.....	67
4.2.2. Sistema α -TCP/CA.....	75
4.2.2.1. Avaliação da bioatividade do CA/ Na_2HPO_4	75
4.2.2.2. Caracterização do sistema α -TCP/CA.....	79
4.2.3. Sistema α -TCP/ C_3S	92

4.2.3.1. Avaliação da bioatividade do C_3S/Na_2HPO_4	92
4.2.3.2. Caracterização do sistema α -TCP/ C_3S	95
4.2.4. Sistema α -TCP/ C_3S/SiO_2	113
5. Conclusões.....	127
Sugestões para trabalhos futuros.....	130
Referências.....	131
ANEXO A-Trabalhos originados da tese.....	152
ANEXO B-Resultados resumidos.....	154

1. Introdução

Os cimentos ósseos de fosfato de cálcio (CPC) se apresentam na atualidade como uma alternativa clínica frente às biocerâmicas convencionais de fosfatos de cálcio utilizadas como material de implante por excelência na substituição e reparo do tecido ósseo. A grande vantagem destes materiais se deve à capacidade de adaptação ao defeito ósseo a corrigir, devido à possibilidade de serem moldados ou injetados através de vias minimamente invasivas, conservando a resposta bioativa e osteocondutiva característica das mencionadas biocerâmicas (Bohner, 2000).

Dentre as diferentes formulações de CPC, resulta de particular interesse o cimento baseado em $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ($\alpha\text{-TCP}$), cuja pega produz a precipitação de cristais de hidroxiapatita deficiente em cálcio (CDHA, $\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5\text{OH}$) que crescem e se entrecruzam proporcionando resistência mecânica ao material resultante. No entanto, a principal desvantagem destes materiais vem dada pela baixa resistência mecânica, que no melhor dos casos, é igual à do osso trabecular ou alcança 20% da resistência do osso cortical, pelo que a sua aplicação encontra-se restringida a lugares com baixa solicitação de carga mecânica.

Numerosos esforços têm sido levados a cabo para aumentar a resistência mecânica deste tipo de cimento desde seu surgimento no mercado. Exemplo disto são os estudos realizados para regular a razão líquido/pó (L/P) mediante o uso de diferentes aditivos poliméricos redutores de líquido, ou pela adição de fibras de reforço (García et al., 1999; Santos et al., 2003; Santos et al., 2003; García, 2000). No entanto, a baixa resistência mecânica segue sendo o principal problema dos CPC em aplicações clínicas onde sejam requisitadas altas solicitações mecânicas.

Hipótese

A modificação dos cimentos de $\alpha\text{-TCP}$ mediante a adição controlada de componentes de cimento Portland, aluminatos de cálcio, ou componentes de ambos, pode ser uma via para o incremento da resistência do primeiro, sem afetar as outras propriedades físico-mecânicas ou biológicas dos cimentos tradicionais. Ademais, a incorporação de silicatos ao cimento de $\alpha\text{-TCP}$ pode proporcionar certa capacidade osteogênica ao material modificado.

Objetivos

Geral:

Obtenção e caracterização de cimentos de dupla pega hidráulica com propriedades mecânicas, bioativas e osteogênicas superiores aos cimentos de α -TCP convencionais, mediante a adição de silicatos e/ou aluminatos de cálcio.

Específicos:

- Estudo qualitativo e quantitativo das fases do equilíbrio nos sistemas: $C_3P-CS-H_2O$, $C_3P-C_3S-H_2O$ e $C_3P-CA-H_2O$
- Estudo e seleção dos métodos de síntese dos compostos modificadores do cimento
- Síntese e caracterização dos aditivos modificadores do cimento
- Desenho e preparação das formulações e estudo da cinética de pega
- Otimização dos tempos de pega, relação líquido/pó e resistência mecânica das formulações
- Caracterizações físicas, químicas e mecânicas dos materiais obtidos
- Avaliação citotóxica dos cimentos modificados
- Caracterização biológica *in vitro*

Novidade e originalidade da proposta

Embora os silicatos (Vasudev et al., 2003) e aluminatos cálcicos (Silva et al., 2000; Kraft, 2004; Lööf et al., 2003) tenham sido descritos em formulações de cimentos hidráulicos para aplicações dentais e de reparação óssea, não se conhecem antecedentes do emprego de Ca_3SiO_5 e $CaAl_2O_4$ como aditivos modificadores da resistência de cimentos de α -TCP, apesar de que até o momento se usaram inúmeros aditivos para melhorar as propriedades dos mesmos, tais como sais inorgânicos, polímeros sintéticos ou naturais e fibras (Doroskin, 2009). Também é pouco conhecida a contribuição de compostos de silício na bioatividade e osteogênese dos cimentos de α -TCP.

2. Revisão da Literatura

2.1. Biomateriais

2.1.1. Introdução e desenvolvimento histórico. Importância socioeconômica

Antigamente, quando uma pessoa se acidentava e tinha um tecido ou órgão gravemente danificado, os médicos dispunham de poucas alternativas e muitas vezes recorriam à amputação garantindo assim a sobrevivência do paciente, porém comprometendo a sua qualidade de vida posterior.

A utilização de biomateriais com a finalidade terapêutica se iniciou há milhares de anos. Relatos históricos da utilização de suturas, por exemplo, fazem referência há mais de 32 mil anos, enquanto o uso de materiais tais como bronze e cobre, na substituição de partes do osso, remonta a época pré-cristã.

Embora as aplicações dos biomateriais começassem se generalizar na metade do século XIX com a descoberta da anestesia e o desenvolvimento de novas técnicas cirúrgicas assépticas, não foi até meados do século XX que surgiu a Ciência dos Biomateriais em resposta à necessidade de tratamentos para um grande número de afecções como resultado do aumento da esperança de vida mundial, do aumento no número de acidentes e traumas e o surgimento de grandes desastres mundiais como a II Guerra Mundial (Park, 2000). A Figura 2.1 mostra de forma esquemática a evolução histórica do conceito e as técnicas aplicadas ao longo do tempo para o tratamento de doenças humanas.

Hoje em dia, o desenvolvimento do campo dos biomateriais é mais acentuado devido ao grande avanço que a Ciência dos Materiais tem experimentado. A disponibilidade de novos dispositivos poliméricos, metálicos, cerâmicos e compósitos é cada vez maior, permitindo: (i) a criação de novos implantes (que substituam tecidos duros e moles) que sejam bioestáveis ou bioreabsorvíveis; (ii) o desenvolvimento de dispositivos médicos; (iii) a construção de suportes celulares que guiem a regeneração óssea e; (iv) o desenvolvimento de dispositivos que tenham sua reabsorção *in vivo* controlada e que permitam a liberação gradativa de drogas e compostos bioativos (Monteiro & San Roman 2004).

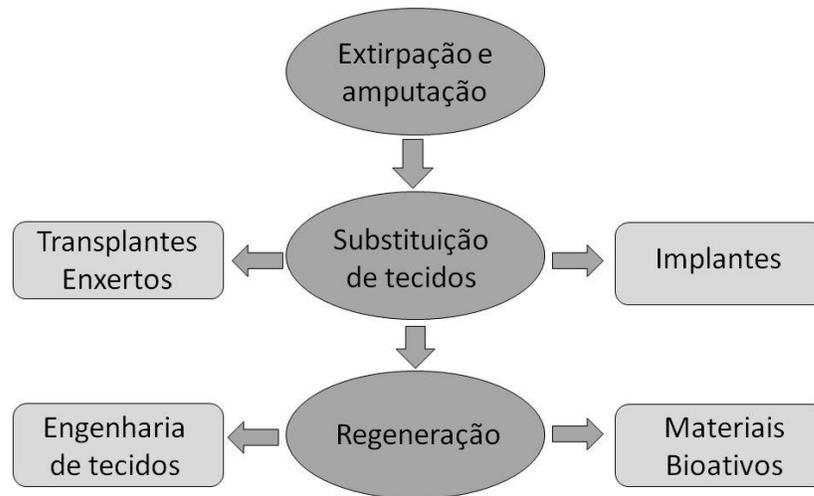


Figura 2.1 Desenvolvimento histórico da aplicação dos biomateriais e expectativas futuras. (Monteiro & San Román, 2004)

Dentre os materiais mais utilizados como biomateriais, encontram-se aqueles destinados ao reparo ou substituição dos tecidos ósseos. Dados publicados pelo iData Research Inc. mostram que o volume do mercado norte-americano de biomateriais para o setor no ano 2009 alcançou a cifra de \$3,5 bilhões e prevê um crescimento do 8,9% até o 2016; enquanto no mercado europeu essa cifra alcançou o valor de €271,4 milhões no mesmo ano (www.idataresearch.net, 2009).

Segundo a síntese de indicadores sociais divulgada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, no Brasil a população idosa atual representa 5,1% da população total, devido ao aumento da esperança média de vida durante a última década (70 anos em 1999 a 73,1 anos em 2009) (IBGE, 2010). Isso faz com que doenças crônicas como a osteoporose, caracterizada pela diminuição da resistência e da massa óssea tornando os ossos mais frágeis e propensos a fraturas, seja considerada um problema de saúde pública que demanda um incremento de materiais e tecnologias destinadas à substituição de alguma função ou parte do organismo humano para garantir uma melhora na qualidade de vida dos pacientes.

Em contrapartida, as diversas formas de violência e acidentes de trânsito com lesões graves estão entre as maiores causas de mortalidade e de permanência nos hospitais brasileiros, sendo que os óbitos por causas externas alcançaram valores de 1,250 para cada 100 mil habitantes entre a população total (2008). E os números continuam aumentando a cada ano, conforme o Ministério de Saúde.

Dados estatísticos obtidos pela ANVISA (2009) indicam que se encontram neste momento em circulação cerca de 300.000 produtos na área da saúde de origem biomaterial, sendo os setores mais privilegiados a cardiologia, ortopedia e oftalmologia. No entanto, nos últimos anos tem ocorrido um crescimento considerável nas aplicações músculo-esqueléticas, isto é, no estudo de materiais bioativos que favoreçam e facilitem o crescimento de osso e/ou cartilagens em áreas lesadas.

2.1.2. Definição e classificação

Os biomateriais podem ser definidos como materiais de origem sintética, natural ou natural modificada, destinados a estar em contato e interagir com o sistema biológico para avaliar, tratar, aumentar ou substituir qualquer tecido, órgão ou função do corpo. Segundo o Consenso em Biomateriais para aplicações clínicas, celebrado em 1982, os biomateriais podem ser definidos como: “Qualquer substância ou combinação de substâncias, exceto fármacos, de origem sintética ou natural, que podem ser usados durante qualquer período de tempo, como parte ou como sistemas para tratar, aumentar ou substituir quaisquer tecidos, órgãos ou funções do corpo” (Williams, 1987).

Para serem utilizados como implante, os biomateriais precisam atender alguns requisitos fundamentais tais como:

- **Biocompatibilidade.** Tanto os componentes, quanto os produtos gerados durante os processos biodegradativos devem ser tolerados pelos tecidos e não devem causar prejuízo a curto ou longo prazo. Capacidade de um determinado material para dar resposta apropriada em uma aplicação específica (Williams, 1990).
- **Biofuncionalidade.** Materiais com características mecânicas adequadas para cumprir a função desejada, pelo tempo desejado.
- Os tecidos não devem causar a degradação do material, como por exemplo, corrosão em materiais.
- O material deve ser esterilizável.

Os biomateriais podem ser classificados de acordo com sua composição química em naturais, metálicos, cerâmicos, poliméricos, e compósitos (De Groot, 1983). Também podem

ser classificados de acordo à resposta biológica causada no tecido hospedeiro (Hench, 1991), sendo esta classificação tida como a mais relevante e aceita pelos pesquisadores.

Classificação levando em consideração a resposta desenvolvida na interface tecido vivo/implante:

- **Biotoleráveis:** Materiais apenas tolerados pelo organismo que geralmente são isolados dos tecidos adjacentes por médio da formação de uma camada envoltória de tecido fibroso. Quanto maior a camada de tecido fibroso formada, menor a tolerabilidade dos tecidos ao material. Nesta classificação podem-se incluir a maioria dos metais e polímeros sintéticos.
- **Bioinertes:** Materiais tolerados pelo organismo, mas em que a formação do envoltório fibroso é praticamente inexistente. A alumina, a zircônia, o titânio e as ligas de titânio e carbono constituem os principais exemplos destes materiais.
- **Bioativos:** Materiais em que ocorrem ligações de natureza química entre o material e o tecido ósseo sem a formação de uma camada conectiva intermediária (osteointegração). Apresentam uma similitude química com a fase mineral do osso: vidros, vitrocerâmicos baseados em fosfatos de cálcio, hidroxiapatita e fosfatos de cálcio.
- **Absorvíveis:** Após certo período de tempo em contato com os tecidos são degradados, solubilizados ou fagocitados pelo organismo sendo o β -fosfato tricálcico (β -TCP) e o poli (ácido lático) são os exemplos mais clássicos.

2.2. Biocerâmicas

As biocerâmicas são definidas segundo Williams (1987) como: “cerâmicas utilizadas na reparação e reconstrução de partes do corpo danificadas ou doentes”, entretanto a norma ISSO/ TR 10993-9 (1994) define as biocerâmicas como um material cerâmico, projetado pra atingir um comportamento específico ao ser usado em implantes, próteses ou órgãos artificiais internos.

No conceito mais amplo consideram-se materiais cerâmicos aqueles produtos constituídos por compostos inorgânicos não metálicos. Neste sentido, a definição inclui os materiais cerâmicos propriamente ditos, os vidros, os vitrocerâmicos e os cimentos. Embora todos obtidos por tratamentos térmicos a altas temperaturas, os cerâmicos são cristalinos enquanto

os vidros são amorfos e os cimentos são consolidados mediante uma reação química ou hidráulica a temperatura ambiente (De Aza & De Aza, 2004).

As biocerâmicas têm sido utilizadas nos últimos 40 anos com sucesso na reconstrução de ossos, articulações e dentes, aumento de tecidos moles e duros e fabricação de válvulas cardíacas. Também podem ser usadas no preenchimento de cavidades, como revestimento de substratos ou como fase secundária dos materiais compósitos. Geralmente, são produzidas em uma variedade de formas e fases que permitem o uso em uma variedade de aplicações clínicas (Hench & Wilson 1993). Inicialmente, esperava-se que provocassem pouca ou nenhuma reação no tecido, características destes materiais em meios agressivos, mas o desenvolvimento do conhecimento na área dos biomateriais gerou uma nova proposta: as biocerâmicas deveriam provocar reações de formação de tecido e, se possível, com a formação de uma ligação íntima entre estas e os tecidos adjacentes (Zavaglia, 1993).

Muitas composições de cerâmica já foram testadas para possível uso no corpo, mas poucas chegaram a aplicações clínicas em humanos devido ao fato de que o sucesso clínico requer a formação de uma interface estável entre o material e o tecido conjuntivo, além de uma similaridade funcional entre o comportamento mecânico do implante e o tecido a ser substituído, sendo que poucos materiais satisficem esta severa exigência dupla (Hench & Best, 2004). As principais cerâmicas utilizadas como biomateriais são a alumina, a zircônia, o carbono, os fosfatos de cálcio, os biovidros e as vitrocerâmicas.

Tradicionalmente, o uso das biocerâmicas tem sido limitado devido a sua fragilidade, baixa resistência mecânica à tração e/ou à flexão e baixa resistência ao impacto; porém, o desenvolvimento de novas cerâmicas com propriedades melhoradas tem permitido a extensão do seu uso (De Aza & De Aza, 2004).

2.2.1. Biocerâmicas de fosfatos de cálcio

A utilização dos fosfatos de cálcio (CaP) na substituição de tecido ósseo ocorre em consequência da similaridade em termos de composição química com a matriz óssea, dentes e tecidos calcificados. Tal similaridade favorece a interação entre o tecido vivo e o biomaterial mediante a formação de uma ligação química entre estes. Além do mais, estes materiais apresentam uma excelente biocompatibilidade, osteocondutividade, bioatividade (em alguns casos), ausência de toxicidade e taxas de degradação variáveis.

A primeira aplicação exitosa de um material baseado em fosfato de cálcio para reparação de defeitos ósseos em humanos foi reportada a inícios do século passado, por volta de 1920 (Albee, 1920). Meio século mais tarde foi publicada a primeira aplicação odontológica do β -fosfato tricálcico (β -TCP) no tratamento de doenças periodontais (Levitt, 1969; Monroe, 1971) seguido pelo trabalho de Nery e colaboradores que introduz o conceito de porosidade como uma característica importante para estes tipos de biocerâmicas (Nery, 1975), enquanto Dennisen empregava Hidroxiapatita (HA) densa como substituto imediato de dentes (Dennisen, 1976). No entanto, não foi até inícios dos 80 que a HA e o β -TCP sintéticos se transformaram em produtos comerciais disponíveis para aplicações médicas e odontológicas graças ao esforço desenvolvido por Aoki, Jarcho e De Groot (Aoki & Kato, 1975; Jarcho, 1981; De Groot, 1983). Desde então, numerosas pesquisas têm sido desenvolvidas visando à melhora dos materiais utilizados como substitutos ósseos. A Tabela 2.1 relaciona diversos fosfatos de cálcio de interesse biológico (Guastaldi & Herrera, 2010).

Tabela 2.1 Fosfatos de cálcio de interesse biológico.

Composto	Sigla	Fórmula Química	Razão Ca/P
Fosfato de cálcio amorfo	ACP	--	--
Fosfato octacálcico	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33
α -Fosfato tricálcico	α -TCP	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
β -Fosfato tricálcico	β -TCP	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,5
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67

Biomateriais e biocerâmicas de fosfatos de cálcio são produzidas em forma de grânulos, blocos (densos ou porosos), composições injetáveis, cimentos, recobrimentos de implantes metálicos, compósitos de polímeros e assim por diante. Cerâmicas feitas de HA densa são um bom exemplo de materiais bioativos, enquanto *scaffolds* porosos de cerâmicas bifásicas de fosfatos de cálcio (β -TCP+HA) ou enxertos ósseos de β -TCP são tidos como materiais bioabsorvíveis.

Uma das propriedades mais importantes dos fosfatos de cálcio, a qual é explorada nas diversas aplicações e que pode predizer seu comportamento *in vivo*, é a solubilidade em água. De forma geral, quanto maior a razão Ca/P, menor será a solubilidade. Observando-se as

isotermas de solubilidade de sete fosfatos de cálcio (Figura 2.2), nota-se a inclinação negativa nas regiões neutras e ácidas do diagrama de fases. Isso reflete o fato de que todos os compostos são mais solúveis conforme o pH diminui. Na região alcalina, a concentração de cálcio aumenta com o aumento do pH. Dessa forma, em pH fisiológico, a solubilidade dos fosfatos de cálcio e, conseqüentemente, sua degradação *in vivo*, é dada pela seguinte ordem: MCPM > α -TCP > DCPD > DCP > OCP > β -TCP > HA.

Além da composição das fases, a reabsorção dos fosfatos de cálcio quando implantados é causada pela dissolução que depende do produto de solubilidade do material e do pH local no meio fisiológico, pela desintegração física em partículas menores e ainda por fatores biológicos, como a fagocitose, a presença de leucócitos e de mediadores químicos que causam a redução do pH local (Legeros, 1993).

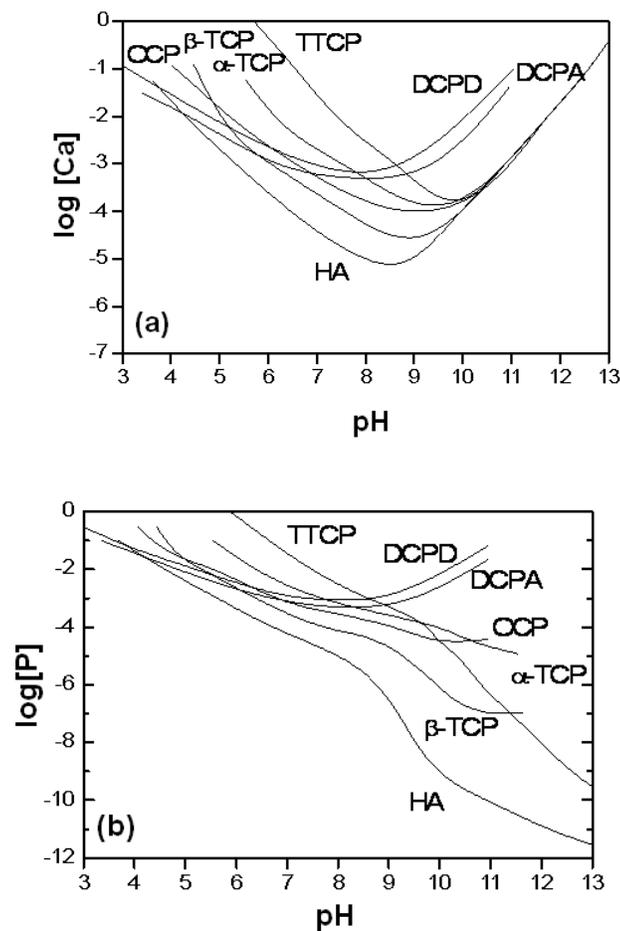


Figura 2.2 Diagrama de solubilidade para o sistema ternário $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ a 37°C . (a) Isotermas de solubilidade mostrando log[Ca] e pH em equilíbrio com vários sais; (b) Isotermas de solubilidade mostrando log[P] e pH em equilíbrio com vários sais.

A baixa resistência mecânica dos fosfatos de cálcio não permite a sua utilização como substitutos de ossos e dentes que sejam submetidos a elevadas solicitações mecânicas. Por outro lado a resistência mecânica diminui gradualmente durante o processo de reabsorção; portanto, a sua principal função é participar no processo dinâmico de formação e reabsorção que se produz nos tecidos ósseos, servindo como suporte para a infiltração e substituição pelo tecido novo.

Devido à sua similaridade química e estrutural com a fase mineral de ossos e dentes, durante os últimos 20 anos, a HA foi o principal material de escolha para a reposição do tecido ósseo em aplicações ortopédicas e odontológicas. Contudo, apesar de suas propriedades biológicas promissoras, seu baixo índice de bioatividade e sua lenta taxa de degradação passaram a se apresentar como fatores limitantes para sua utilização. Neste cenário, surge o interesse no conhecimento das propriedades e comportamento biológico de outros fosfatos de cálcio para o seu emprego como biomateriais para reposição óssea (Hench, 1998).

2.2.2. Cerâmicas quimicamente ligadas (CBC)

Existe um subgrupo dentro das cerâmicas composto principalmente por cinco sistemas: fosfatos de cálcio, silicatos de cálcio, aluminatos de cálcio, carbonatos de cálcio e sulfatos de cálcio (Roy, 1987). Estes sistemas são chamadas de cerâmicas quimicamente enlaçadas, (CBC) e são produzidas por reações químicas a baixas temperaturas, geralmente por combinação de um pó e um líquido, enquanto as cerâmicas tradicionais são obtidas por sinterização entre 700°C e 2000°C. As ligações nestes materiais são uma mistura de ligações covalentes, iônicas e forças de van der Waals sendo predominantes as duas primeiras, o que as diferencia dos cimentos tradicionais, nos quais os produtos de hidratação apresentam ligações do tipo van der Waals e pontes de hidrogênio.

2.3. Cimentos hidráulicos

Segundo a American Society for Testing and Materials, os cimentos hidráulicos podem ser definidos como misturas de materiais inorgânicos que dão pega e desenvolvem resistência mecânica ao reagir quimicamente com água mediante a formação de hidratos, sendo capazes

de resistir a ela (ASTM C219, 2007). A consolidação dos cimentos tem lugar em duas etapas chamadas de pega e endurecimento. Inicialmente, quando misturados com água, é formada uma pasta plástica que perde plasticidade com o tempo e vai aumentando sua resistência mecânica, de tal maneira que se moldado ou novamente misturado com água a plasticidade é restaurada ou restabelecida novamente. No segundo estágio tem lugar a consolidação, geralmente acompanhada da perda da permeabilidade da água, aonde o valor máximo de resistência é alcançado após várias horas, dias ou meses (Lea, 1970).

O mecanismo pelo qual ocorrem estas mudanças é diferente de um sistema a outro, porém encontra-se limitado a algum destes processos:

1. Cristalização de uma substância em forma de cristais entrecruzados a partir de uma dissolução sobresaturada. Ex: cimentos de fosfatos de cálcio.
2. Formação de um gel semi-sólido na qual o produto adquire uma estrutura coloidal. Ex: cimento Portland.
3. Reação química entre duas ou mais substâncias na presença de água, formando produtos cristalinos ou coloidais. Ex: cloreto de sódio e silicato de cálcio amorfo.
4. Transformação de um composto metaestável em outro mais estável. Ex: transformação de Aragonita (CaCO_3) em Calcita.

A hidratação dos cimentos com frequência é dividida em três fases diferentes chamadas período de indução, pega e endurecimento. Durante o período de indução, a hidratação é imperceptível; na fase de pega ocorre um incremento na velocidade de hidratação/precipitação; e na fase de endurecimento a hidratação é completada com uma diminuição na velocidade do processo. A água dissolve os grãos de cimentos em íons, que precipitam ao alcançar a supersaturação da solução formando hidratos sólidos. Estas três fases podem ser chamadas também de dissolução, precipitação e endurecimento em analogia a alguns sistemas de cimentos (Kraft, 2002).

2.3.1. Cimentos hidráulicos para aplicações biomédicas

No mercado existem diversos CPC comerciais (Tabela 2.2); todos eles comercializados principalmente nos Estados Unidos e Europa, e praticamente desconhecidos nos países latinos americanos devido à barreira que impõe o elevado preço de venda dos mesmos.

Tabela 2.2 Cimentos comerciais de fosfatos de cálcio no mercado norte-americano e europeu.

Produto Comercial	Fabricante
BoneSource [®]	Stryker Howmedical Osteonics Inc. (EUA)
α -BSM [®] (Biobon [®]), β -BSM [®] , γ -BSM [®] (Equivabone)	Etex Corporation (EUA)
Norian SRS [®] , Norian CRS [®]	Shyntes (EUA)
Callos [®]	Skeletal Kinetics LLC (EUA)
Mimix [®] , Mimix QS	Biomet Microfixation (EUA)
Biopex [®]	Mitsubishi Material Corporation (Japão)
Calcibon [®]	Biomet Merck (Alemanha)
Cementek [®] , Cementek [®] LV	Teknimed (França)

Igualmente, no mercado existem cimentos comerciais baseados em cimentos Portland e aluminatos de cálcio, cujas aplicações se encontram principalmente dirigidas à área odontológica. Entre estes materiais, os de maior uso são o ProRoot[®] MTA e o Doxadent[®]. Ambos os materiais possuem uma excelente resistência mecânica, e diversos trabalhos atestam sua biocompatibilidade e bioatividade (Hauman & Love, 2003; Oh et al., 2004; Zhao & Chang, 2004; Engqvist et al., 2004). No entanto, diferentemente dos CPC, os cimentos baseados em silicato de cálcio são altamente osteogênicos (Bryan e al., 2010) enquanto os cimentos baseados em aluminato de cálcio apresentam alta resistência mecânica desde o início da pega (Sunnegardh, 2004).

O cimento Portland ordinário (OPC), os cimentos de aluminato de cálcio (CAC) e os cimentos de fosfatos de cálcio (CPC) constituem exemplos típicos de cimentos hidráulicos.

2.3.2. Nomenclatura na química do cimento

Na química do cimento, é usual substituir os óxidos constituintes por letras simples ou fórmulas simples no caso de alguns óxidos complexos. Igualmente as fórmulas podem se expressar como a soma dos óxidos constituintes, o que não significa que os óxidos tenham

existência separada dentro da estrutura (Somayaji, 1995). Assim, é muito comum achar na literatura a descrição das fases presentes no OPC segundo se mostra nas Tabelas 2.3 e 2.4:

Tabela 2.3 Nomenclatura utilizada na química dos cimentos.

Componentes	Composto
H ₂ O	H
CaO	C
SiO ₂	S
Al ₂ O ₃	A
Fe ₂ O ₃	F

Tabela 2.4 Nomenclatura utilizada na denominação dos óxidos no OPC.

Composto	Óxidos constituintes	Fórmula Química	Nomenclatura
Silicato dicálcico	2CaO.SiO ₂	Ca ₂ SiO ₄	C ₂ S
Silicato tricálcico	3CaO.SiO ₂	Ca ₃ SiO ₅	C ₃ S
Aluminato tricálcico	3CaO.Al ₂ O ₃	Ca ₃ Al ₂ O ₆	C ₃ A
Ferroaluminato tetracálcico	4CaO. Al ₂ O ₃ . Fe ₂ O ₃	Ca ₄ Al ₂ Fe ₂ O ₁₀	C ₄ AF

2.4. Cimentos de fosfatos de cálcio (CPC)

Durante longo tempo, os materiais de excelência empregados no reparo e substituição do tecido ósseo foram as biocerâmicas de fosfato de cálcio devido a sua biocompatibilidade e bioatividade ao serem implantadas no osso. Entretanto, o cirurgião somente dispõe delas no formato pré-fabricado ou em grânulos, sendo que as formas pré-fabricadas somente são comercializadas em tamanhos padrões, enquanto os grânulos migram do local de implante com frequência.

Os cimentos de fosfatos de cálcio possuem composição de fases cristalinas e resposta biológica similares às biocerâmicas de fosfato de cálcio, mas com a diferença de que estes podem ser facilmente moldados e adaptados ao local de implantação, injetados através de vias

minimamente invasivas, ou misturados com diversos fármacos para obter uma ação terapêutica determinada e localizada no local de implantação.

A utilização dos fosfatos de cálcio na substituição de tecido ósseo ocorre em consequência da similaridade em termos de composição química com a matriz óssea. Tal similaridade favorece a interação entre o tecido vivo e o biomaterial mediante a formação de uma ligação química entre estes. Estes materiais possuem uma série de vantagens derivadas do processo de obtenção que permitem resolver os problemas de adaptação e fixação apresentados pelas cerâmicas de fosfatos de cálcio. Eles são de fácil manuseio, podem ser injetados por vias minimamente invasivas, podem ser usados como portadores de drogas para sua liberação dentro do organismo e são capazes de dar pega *in situ*, permitindo um ótimo contato osso-biomaterial desde o início (Driessens et al., 1998).

A grande diferença com os materiais cerâmicos de HA tradicionais consiste na cristalização direta *in vivo* sem a mediação de tratamento térmico para a sua obtenção. No entanto, igualmente a esses materiais, os cimentos são frágeis e apresentam baixas resistências mecânicas que no melhor dos casos conseguem igualar-se ao do osso trabecular, e que se encontram estreitamente relacionadas com a porosidade inerente ao material. As principais aplicações destes materiais encontram-se restringidas em locais de baixas solicitações mecânicas.

Para serem utilizados na prática clínica, os CPC devem possuir uma série de propriedades importantes tais como: ausência de toxicidade, capacidade de pega em contato com os fluidos biológicos corporais sem desintegração, tempos de pega *in vivo* razoáveis, pH aproximadamente igual ao neutro, ausência de efeitos exotérmicos, ausência de contração de volume, propriedades mecânicas adequadas após implantação e capacidade de induzir a formação e crescimento de novo tecido (Ginebra, 1996).

Embora os primeiros estudos sobre cimentos de fosfatos de cálcio fossem levados a cabo por Legeros e Gruninger (Legeros et al., 1982); o primeiro CPC comercial reconhecido foi desenvolvido por Brown (Brown & Chow, 1983) utilizando misturas de pós de fosfato tetracálcico [$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$; TTCP] e hidrogeno fosfato de cálcio anidro [Ca_2HPO_4 ; DCPA]. Este material foi patenteado em 1985 (Brown & Chow, 1985) e desde então tem sido publicados inúmeros trabalhos científicos sobre a química, as propriedades físico-químicas e o comportamento *in vivo* deste e outros materiais tipo cimentos.

Os CPC consistem em uma fase sólida: pós de fosfatos de cálcio, e uma fase líquida: água ou solução aquosa de sais de fosfatos, que ao serem misturados à temperatura ambiente ou fisiológica endurecem devido à formação de um precipitado que contém um ou mais fosfato de cálcio, ocorrendo à pega pelo inter cruzamento dos cristais deste precipitado (Driessens et al., 1998).

Nem todos os fosfatos de cálcio do sistema podem ser obtidos a temperatura ambiente ou corporal, o que limita o número de formulações teoricamente possíveis no sistema $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$ (Tabela 2.5). No entanto; são poucos ou praticamente nulos os estudos realizados sobre cimentos cujo produto final seja, fosfato monocálcico monohidratado [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$; MCPM], fosfato de cálcio amorfo (ACP) ou fosfato octacálcico [$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\cdot 5\text{H}_2\text{O}$; OCP]; limitando assim as formulações atuais a aquelas em que se forme uma hidroxiapatita deficiente em cálcio ou um fosfato de cálcio dihidratado [$\text{Ca}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$; DCPD] (Driessens et al., 1993). Sendo assim, as formulações de CPC existentes podem ser divididas em dois grandes grupos: cimentos de apatita e cimentos de brushita (Doroskhin, 2009).

Por razões de citotoxicidade são preferidos aqueles que precipitem em forma de fosfato octálcico e hidroxiapatita deficiente em cálcio, já que estes sistemas não produzem modificações no pH fisiológico quando precipitam e não provocam danos aos tecidos ao redor do implante. Dentre estes sistemas, os mais promissores, em virtude de apresentarem valores mais elevados de resistência mecânica, são os baseados no fosfato tetracálcico [$\text{Ca}_4\text{O}(\text{PO}_4)_2$, TTCP] e no α -TCP (Driessens et al., 1994).

Tabela 2.5 Fosfatos de cálcio que precipitam a temperatura ambiente ou corporal.

Composto	Sigla	Fórmula Química	Ca/P	pH
Fosfato monocálcico monohidratado	MCMP	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2\cdot\text{H}_2\text{O}$	0,5	0-2
Fosfato de cálcio dihidratado	DCPD	$\text{Ca}_2\text{HPO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1	2-6
Fosfato de cálcio Amorfo	ACP	--	--	4-9
Fosfato Octacálcico	OCP	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	5,5-7
Hidroxiapatita deficiente em cálcio	CDHA	$\text{Ca}_9(\text{HPO}_4)(\text{PO}_4)_5(\text{OH})$	1,5	6,5-9,5
Hidroxiapatita	HA	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	1,67	9,5-12

2.4.1. Química dos cimentos de fosfatos de cálcio

A reação de pega dos CPC é fixada pelos componentes da fase sólida. Quando os sais de fosfatos são misturados com o líquido de reação, eles começam a dissolver na solução até que a composição do líquido encontre um ponto invariante (interseção das isotermas de solubilidade dos componentes) ou um ponto de saturação no caso de um único sal de fosfato de cálcio. Nesse ponto, solubilizações adicionais poderão ocorrer somente se precipitar aquele fosfato de cálcio no qual a solução está supersturada. O pH desse ponto determinará então, o tipo de precipitado, com exceção das fases amorfas (Santos, 2002).

A solubilidade é uma das propriedades mais importantes dos compostos de fosfatos de cálcio; a mesma determina a direção de quase todas as reações químicas em que intervêm os fosfatos de cálcio à temperatura ambiente (dissolução, precipitação, ou transformações de fases). O parâmetro mais importante para descrever as propriedades de solubilidade dos compostos é a constante do produto de solubilidade termodinâmico K_{ps} o que permite, conjuntamente com outros parâmetros, calcular as isotermas de solubilidade dos fosfatos de cálcio (CaP) (Fig. 2.2) e prever a estabilidade relativa dos sais em vários valores de pH.

2.4.2. Fase sólida

A composição da fase sólida de um cimento depende do produto final que se deseje alcançar após pega. Só os ortofosfatos apresentam relevância como componentes sólidos do cimento, pois os metafosfatos e polifosfatos são hidrolizados e transformados em ortofosfatos em contato com os fluidos biológicos. Além do mais, ortofosfatos substituídos com íons biocompatíveis tais como Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Zn^{2+} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} e Cl possuem maior interesse, dado que, ao precipitar, permitem a obtenção de uma hidroxiapatita com características mais similares à HA biológica.

Na produção de um cimento com adequados tempos de pega e boas características mecânicas podem ser adicionadas, à fase sólida, sementes de CDHA ou HA que atuam como núcleos de precipitação. Embora não esteja totalmente esclarecido o mecanismo de atuação, acredita-se que o principal efeito seja a redução do tempo de pega. Neste sentido, pode ser

variado um sem-número de parâmetros, dentre os quais pode-se mencionar a quantidade de sementes adicionadas e a cristalinidade das sementes empregadas.

2.4.3. Fase líquida

A fase líquida atua como veículo para a dissolução dos reagentes e a precipitação dos produtos. De maneira geral, utiliza-se água destilada ou soluções aquosas de sais inorgânicas, embora possam ser usados também compostos orgânicos, que quando dissolvidos na fase líquida, podem modificar os tempos de pega acelerando-o ou retardando-o.

Dada a versatilidade dos sistemas de cimentos, existe um grande número de aditivos que podem ser incorporados tanto na fase líquida como na fase sólida como pode ser visto na Tabela 2.6. Entre estes, de relativa importância resulta o efeito causado pela presença de sais neutras de fosfatos, que quando adicionadas a α -TCP, aceleram a hidratação da fase sólida por efeito de íon comum (Fernández et al., 1994).

Tabela 2.6 Aditivos que podem ser empregados nas formulações de CPC. Acelerantes, retardadores, promotores da bioatividade, etc. (Driessens et al., 1996).

Componentes	Composto
Sódio	NaF, Na ₂ CO ₃ , NaHCO ₃ , Na ₂ SO ₄ , Na ₂ SiO ₃ , Na ₂ HPO ₄ , NaH ₂ PO ₄ , Na ₃ PO ₄
Potásio	KF, K ₂ CO ₃ , K ₂ SO ₄ , K ₂ SiO ₃ , K ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄ , K ₃ PO ₄
Magnésio	MgHPO ₄ , Mg ₃ (PO ₄) ₂ .xH ₂ O, Mg(OH) ₂ , MgSO ₄ , MgF ₂ , MgCO ₃ , MgO, CaMg(CO ₃) ₂
Zinco	Zn ₃ (PO ₄) ₂ .4H ₂ O, ZnF ₂ , ZnCO ₃ , ZnSO ₄ , ZnO, Zn(OH) ₂
Cálcio	CaSO ₄ , CaSO ₄ .1/2H ₂ O, CaSO ₄ .2H ₂ O, CaF ₂ , CaCO ₃
Biopolímeros	Proteínas, péptidos, proteoglicanos, glicosaminoglicanos, carboidratos
Ácidos Orgânicos	Ácido cítrico, ácido malônico, ácido pirúvico, ácido tartárico
Ácidos Inorgânicos	Ácido fosfórico
Polímeros Sintéticos	poli(ácido láctico, poli(ácido glicólico)
Antibióticos	Gentamicina
Fatores de Crescimento	TGF- β , osteocalcina, proteínas GLA, BMP

2.4.4. Tempos de pega e comportamento em ambiente fisiológico

A determinação dos tempos de pega é talvez o método mais rápido para determinar quando tem lugar a reação. Não existe um critério geral ou norma sobre o valor ótimo que deve ter este parâmetro para as diferentes aplicações clínicas, no entanto são aceitos tempos de pega iniciais entre 4-8min e tempos finais entre 10-15min (Driessens et al., 1996). De maneira geral, é conveniente que os cimentos endureçam em tempos curtos, embora o cirurgião deva ter tempo suficiente para moldar e implantar o cimento no sitio cirúrgico.

O tamanho de partícula no pó inicial desempenha um papel importante na pega e propriedades finais do cimento. Uma vez que a reação ocorre através de um mecanismo de dissolução-precipitação, quanto menores as partículas, mais rápida será a dissolução e maior será a velocidade de endurecimento devido à precipitação de uma nova fase.

Um dos requisitos que deve cumprir um cimento desenhado para aplicações biomédicas é a capacidade de dar pega e endurecer em condições fisiológicas que supõem, entre outras coisas, um alto grau de umidade. Não é suficiente que o material dê pega em condições atmosféricas, e sim também em contato com o sangue e os fluidos fisiológicos sem sofrer descoesão ou desintegração. A avaliação desta propriedade mediante técnicas experimentais (Fernández et al., 1996) tem permitido o desenho de formulações de cimentos estáveis quando submersos em uma fase líquida logo depois da mistura, dando solução, assim, a alguns problemas relacionados com a aplicabilidade do material.

2.4.5. Razão líquido-pó (L/P), porosidade e resistência mecânica

A razão L/P afeta a plasticidade inicial da pasta e como consequência a injetabilidade e os tempos de pega. A resistência mecânica é outra propriedade sensível a este parâmetro devido a que altas razões L/P aumentam a porosidade do sistema e esta se encontra diretamente relacionada à resistência mecânica.

A própria natureza dos cimentos impossibilita uma melhora substancial do seu comportamento mecânico ao existir um estreito vínculo com a porosidade destes. De fato, os valores relativamente elevados de porosidade intrínseca que apresentam os cimentos (Chow et al., 1991) explicam porque a resistência mecânica destes materiais é inferior à das cerâmicas

da mesma composição. Embora um procedimento para reduzir a porosidade seja a diminuição da relação L/P empregada, a necessidade de obter uma pasta trabalhável assinala um limite nesta redução. Ensaio mecânicos realizados a diferentes formulações de CPC mostram valores de resistência à compressão de até 60 MPa e 5MPa em tração.

Com o objetivo de melhorar a resistência mecânica, alguns autores sugeriram a incorporação de uma matriz polimérica (Miyazaki et al., 1993), porém o aumento das propriedades mecânicas mediante estes aditivos compromete o caráter bioativo dos cimentos. Outros aditivos empregados como reforços dos cimentos de fosfatos de cálcio incluem aloenxertos (Spiers et al., 2005); fibras de carbono, náilon e polipropileno (Santos et al., 2003); nanotubos de carbono (Wang et al., 2007), entre outros.

Ainda que a adição de polímeros reduza a habilidade dos cimentos de permitir o crescimento do novo tecido através dos poros e produza um aumento na densidade, trazendo como consequência uma diminuição da injetabilidade das pastas e uma diminuição na velocidade de reabsorção, a presença destes reforços, em alguns casos, permite obter cimentos com maiores valores de resistência à flexão e tenacidade à fratura (Doroskhin, 2009).

2.4.6. Liberação de calor e variação do volume durante a pega

Estudos calorimétricos realizados indicam que o intercâmbio de calor produzido durante a reação de pega é muito pequeno, embora alguns autores reportem temperaturas máximas de liberação de calor de aproximadamente 40°C. Por outro lado, a contração linear observada em algumas formulações de cimentos baseados em α -TCP não ultrapassa 0,1±0,5% (Fernández et al., 1995).

2.4.7. Aplicações

Devido à sua excelente biocompatibilidade e a capacidade osteocondutiva, os CPC são amplamente utilizados na substituição de tecido ósseo. As principais aplicações estão dirigidas ao campo da ortopedia, odontologia e cirurgia maxilofacial (Brown & Chow, 1985). Contudo, as abordagens mais modernas relatam o uso destes materiais em cranioplastias e

vertebroplastias (Lewis, 2006); engenharia de tecidos (Ginebra et al., 2010) e sistema de liberação de drogas (Ginebra et al., 2006).

2.4.8. Sistema α -Fosfato Tricálcico (α -TCP)

Dos diferentes fosfatos de cálcio o único composto capaz de formar CDHA como produto da reação de pega é o α -TCP. A formação de CDHA a partir da hidratação do α -TCP foi relatada pela primeira vez por Monma e colaboradores (Monma, 1976). Durante a hidratação do α -TCP a 37°C é possível a formação de diferentes fases em dependência do pH do meio; entretanto, a valores superiores a 7,5 pode ser obtida CDHA segundo a Equação 2.1.



À temperatura fisiológica, este processo é extremadamente lento. No entanto, com o controle do tamanho de partícula do pó inicial e a adição de aditivos que alterem a taxa de dissolução e/ou precipitação das fases presentes, é possível obter uma transformação completa em CDHA em um período de tempo clinicamente adequado (Ginebra et al., 1999).

O mecanismo que controla a hidrólise do α -TCP pode ser descrito como a combinação de dois mecanismos diferentes que dependem da espessura da camada de apatita formada na superfície dos grãos. Inicialmente, a reação é controlada pela área superficial dos grãos de α -TCP em contato com a solução (dissolução), enquanto a camada formada pelo produto da reação que envolve as partículas que estão reagindo é muito fina ou permeável ao transporte iônico. O processo continua até toda a superfície dos grãos estiver coberta por uma camada de apatita de espessura suficientemente grande para que o processo de difusão passe a ser mais lento que a taxa de dissolução do α -TCP. O momento no qual ocorre a mudança de mecanismo é dependente da área superficial do pó de partida: quanto maior a área superficial, mais rápido ocorrerá a mudança de processo predominante (Ginebra et al., 2004; Camiré et al., 2005; Bohner et al., 2006).

2.4.9. Fosfato tricálcico

O fosfato tricálcico [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; TCP] apresenta três polimorfos conhecidos: β -TCP, α -TCP e α' -TCP (Elliot, 1994). O β -TCP é a fase estável à temperatura ambiente e pode ser transformada reestruturativamente em α -TCP a 1125°C (retida durante esfriamento brusco a temperatura ambiente). Ambos são utilizados em inúmeras aplicações clínicas sendo que a fase beta é usada na composição de várias cerâmicas monofásicas ou bifásicas e em compósitos comerciais, enquanto a fase alfa é o principal constituinte do componente sólido dos cimentos hidráulicos ósseos (Doroshkin, 2007). A fase α' -TCP carece de interesse prático já que existe só a temperaturas superiores a 1430°C e reverte a fase α -TCP quando esfriado a temperaturas inferiores à temperatura de transição (Carrodeguas et al., 2008).

O β -TCP apresenta propriedades muito semelhantes às calcificações encontradas em cálculos patológicos (LeGeros, 1991) e é de fácil obtenção. Pode ser encontrado com substituições de íons magnésio nas posições dos íons cálcio o que provoca um aumento na temperatura de transição da fase $\beta \rightarrow \alpha$ a valores superiores a 1400°C e pode tornar-se um problema quando se necessita sintetizar o polimorfo α -TCP (Famery et al., 1994; Motisuke, 2010).

O α -TCP puro carece de interesse na área biomédica. A grande desvantagem do uso dele como biomaterial é sua alta taxa de reabsorção, o que limita sua aplicação nesta área. No entanto, o α -TCP estabilizado com silício (Si- α -TCP), tem sido comercializado como matéria prima na produção de *scaffolds* cerâmicos porosos e reabsorvíveis utilizados como enxertos ósseos artificiais (Langstaff et al., 1999; Langstaff et al., 2001) e o Si- α -TCP tem sido avaliado como matéria prima na obtenção de cimentos de fosfatos de cálcio (Reid et al., 2006; Camiré et al., 2006; Motisuke et al., 2009).

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

O α -TCP pode ser obtido por aquecimento do β -TCP acima de 1125°C e pode ser considerado como a fase de alta temperatura do β -TCP. As temperaturas de formação e transformação de fase já determinadas não são totalmente exatas e variam de acordo com as

características dos processos e da quantidade de impureza dos reagentes utilizados (TenHuisen & Brown, 1999; Jinlong et al., 2001). Contudo, é conhecido que quantidades de magnésio superiores a 115 ppm provocam a formação de misturas $\beta+\alpha$ e são suficientes para inibir a formação de α -TCP puro (Reid et al., 2007).

Várias rotas sintéticas têm sido desenvolvidas na preparação de pós de fosfatos de cálcio com cristalinidade, estequiometria, morfologia, área superficial e tamanho de partículas específicos (Salma et al., 2009). No entanto, elas podem ser agrupadas em dois grandes grupos: reações ao estado sólido e métodos úmidos. Os métodos úmidos, por sua vez, podem ser divididos em três grupos diferentes: precipitação, método hidrotermal e hidrólises de outros fosfatos de cálcio (Pankaew et al., 2010). Os métodos de síntese mais populares são apresentados na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 Principais métodos de obtenção de fosfato tricálcico (Pankaew et al., 2010).

Métodos de obtenção do fosfato tricálcico	
Reação ácido-base	$3\text{Ca}(\text{OH})_2 + 2\text{H}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 6\text{H}_2\text{O}$ (Rathje, 1939) Partículas pequenas ($< 1\mu\text{m}$), cristalinidade similar aos tecidos naturais (baixa cristalinidade)
Métodos por via úmida	$3\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 + 2(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 + 2\text{NH}_4(\text{OH}) \rightarrow \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 6\text{NH}_4\text{NO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ (Hayek & Newesely, 1963) $3\text{CaCl}_2 + 2(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 = \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 6\text{NH}_4\text{Cl} + 2\text{H}_2\text{O}$ $3\text{CaCl}_2 + 2\text{Na}_3\text{PO}_4 \rightarrow \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + 6\text{NaCl}$ (Nancollas & Mohan, 1970) Partículas pequenas ($< 10\mu\text{m}$), cristalinidade similar aos tecidos naturais (baixa cristalinidade)
Método Hidrotermal	Método idêntico à via úmida sob pressão e temperatura. Produto conformado, pó nanométrico ou milimétrico possível a obtenção de materiais com porosidade (hidroxiapatita de coral).
Reações de estado sólido	$2\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 + \text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}$ (Monma, 1976) $1000^\circ\text{C} < T < 1300^\circ\text{C}$ Alta cristalinidade, controle da estequiometria, grandes quantidades, método fácil

A maioria dos métodos de precipitação utilizados na síntese de fosfatos de cálcio são pouco reprodutíveis. Alguns problemas podem surgir devido à falta de um controle preciso sobre os fatores que regem a precipitação, como pH, temperatura, relação Ca/P dos reagentes,

o que pode levar a produtos com diferentes propriedades que contribuem aos diferentes comportamentos *in vivo* ou *in vitro*.

Outros métodos de síntese incluem técnicas sol-gel (Zhang et al., 2008; Sanosh et al., 2010), micro emulsão (Bow et al., 2004), reações em fase gasosa (Zhang et al., 2008), reações mecanoquímicas (Toriyama et al., 1995) e síntese por combustão (Tas, 2000; Volkmer et al., 2009).

2.5. Cimentos de aluminatos de cálcio (CAC)

Os cimentos de aluminatos de cálcio (CAC) surgiram na França a início do século XX em resposta aos problemas de desgaste exibidos pelo concreto em presença de águas com altos conteúdos de sulfatos (Juenger et al., 2010). Entre as principais características destes materiais podem ser citadas os rápidos tempos de pega, a alta resistência mecânica inicial e a boa resistência à corrosão (Neville, 1975).

Embora estes materiais apresentem grandes atrativos como materiais de construção, o uso deles é bem limitado devido a dois fatores fundamentais. Durante a hidratação inicial, é obtida uma fase metaestável que se transforma em uma de maior estabilidade com o tempo levando a um aumento da porosidade e conseqüente diminuição da resistência mecânica. A matéria prima utilizada no processo de fabricação é limitada, fazendo com que o preço de produção seja 5 vezes maior em relação ao cimento Portland (Taylor, 1990).

Na área biomédica, os CAC têm sido usados em aplicações odontológicas como preenchimento dentário devido a sua rápida pega, alta resistência mecânica inicial e a boa resistência à corrosão em meio ácido. Além destas propriedades eles apresentam boa compatibilidade, uma maior resistência à abrasão e são menos básicos que os OPC quando hidratados. Por outro lado, como a pega tem lugar à temperatura fisiológica, praticamente não se formam hidratos metaestáveis, evitando assim o processo de conversão. A Tabela 2.8 mostra o resumo das características dos CAC que permitem seu uso como materiais para restauração dentária.

Tabela 2.8 Lógica por trás o uso dos CAC como materiais para restauração dentária. (Kraft, 2002).

Composto	Fórmula Química
Química	Composto por elementos comuns, natureza hidrofílica e similaridade com as apatitas
Biologia	Biocompatível (ainda durante a pega) e ambientalmente amigável
Comportamento Térmico	Expansão e condutividade similar a do dente
Mecânica	Dureza e rigidez comparadas aos tecidos duros e ao osso, resistente à compressão
Processamento	Preparação <i>in situ</i> a temperatura ambiente, reologia e tempos de pega ajustáveis

Dentre estes, materiais o mais amplamente estudado é o Doxadent[®], Doxa Certex AB (Doxa Certex, 2001; Kraft & Hermansson, 2003). Constituído por vários aluminatos cálcicos, está indicado no tratamento permanente de obturações dentais, preenchimento de canais apicais e preenchimento de defeitos vertebrais (Sunnegårdh-Grönberg, 2004).

Os CAC estão compostos por várias fases, cujo mecanismo de hidratação ainda não está totalmente esclarecido. Nos cimentos com alto conteúdo de alumina, a fase ativa majoritária é o $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_4$ (CA), enquanto $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_7$ (CA₂, Grossita), pequenas quantidades de $\text{Ca}_{12}\text{Al}_{14}\text{O}_{33}$ (C₁₂A₇) e alumina livre podem ser encontradas nas formulações.

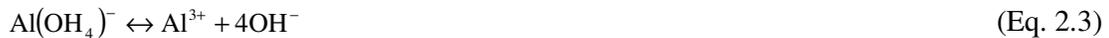
2.5.1. Hidratação e mecanismos de conversão dos CAC. Sistema $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_4$

O princípio básico por trás da hidratação do CA é o mesmo que o de todas as cerâmicas quimicamente ligadas (Kraft, 2002). Uma rota de reação esquemática é descrita a seguir:

- i. A água é usada para molhar o pó;
- ii. O pó dissolve em íons específicos para cada sistema;
- iii. A precipitação começa quando o limite de solubilidade para cada hidrato é atingido;
- iv. Ocorre a dissolução contínua do pó e a precipitação dos hidratos criando um corpo sólido

v. A hidratação continua enquanto exista pó sem reagir e este possa ser molhado pelo líquido ou até existir uma barreira energeticamente desfavorável que impeça a precipitação dos hidratos.

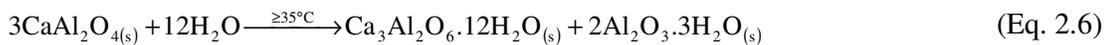
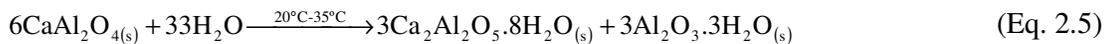
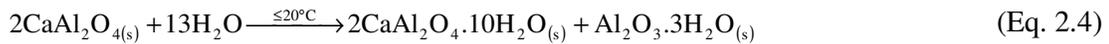
O processo de hidratação do cimento inicia-se quando a água entra em contato com a superfície das partículas do pó formando íons $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ os quais se dissociam em íons Al^{3+} e OH^- causando assim um aumento no pH do meio (Eq. 2.2-2.3). A ocorrência destas reações químicas provoca a dissolução das fases anidras proporcionando um aumento das concentrações em solução dos íons Ca^{2+} e $\text{Al}(\text{OH})_4^-$. O processo continua até alcançar o estado de saturação em relação à dissolução do cimento e seja atingido o equilíbrio químico; sendo assim, a dissolução do cimento é interrompida. Contudo, a solubilidade das diferentes fases cristalinas anidras é maior que a dos hidratos formados, pelo que o equilíbrio alcançado é instável. Neste ponto, a solução encontra-se supersaturada em relação aos hidratos, estando favorecida a precipitação dos mesmos (García et al., 2007).



Embora favorecida, a precipitação dos hidratos envolve um processo lento de nucleação, durante o qual não ocorre precipitação. Este tempo de espera, necessário para que se atinjam condições ideais para a precipitação dos hidratos é conhecido como “período de indução” e está caracterizado por um equilíbrio metaestável mantido até o sistema alcançar a barreira da energia de ativação (E_a) dos primeiros hidratos. Ao terminar o período de indução, ocorre a precipitação massiva a partir da formação dos primeiros núcleos estáveis, enquanto a velocidade de precipitação passa a não ser mais pela E_a .

Em contato com a água, o CA, pode formar três hidratos, cuja formação e quantidades são dependentes da temperatura, do tempo, e da relação L/P empregada. O $\text{CaAl}_2\text{O}_4 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ (CAH_{10}) se forma no início da precipitação, sendo o produto majoritário quando a pega é realizada em baixas temperaturas e com teor suficiente de água (Eq. 2.4). Também é o hidrato menos denso ($1,72\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$) e o segundo mais solúvel. O hidrato $\text{Ca}_2\text{Al}_2\text{O}_5 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (C_2A_8) forma-se em temperaturas entre 20 e 35°C. Este hidrato apresenta valor intermediário de densidade ($1,95\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$) e é o terceiro mais solúvel (Eq. 2.5). Já o $\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (C_3AH_6) é o hidrato

formado majoritariamente em temperaturas acima de 35°C ou na presença de teores reduzidos de água (Eq. 2.6). É o hidrato mais estável, mais denso (2,52 g.cm⁻³) e menos solúvel, cuja lenta formação é consequência da estrutura cristalina cúbica que requer organização simultânea dos átomos nas três direções durante a nucleação (Lee et al., 2001). A ordem crescente de densidade está associada à estabilidade dos hidratos e à energia de ativação da transformação.



O Al(OH)₃ (AH₃) pode ser considerado como um composto químico diferente dos demais hidratos. Forma-se em toda a faixa de temperatura e teores de água e é o mais solúvel entre os quatro. Com o aumento da temperatura e o envelhecimento do cimento, modifica sua estrutura de amorfa para cristalina, sofrendo uma diminuição da solubilidade e um aumento de densidade (Hart, 1957).

2.5.2. Conversão

O termo utilizado para definir a transformação dos hidratos metaestáveis nos compostos de maior estabilidade é conversão. Ocorra ou não este processo, ele é dependente da temperatura durante a pega e endurecimento. Este processo é de grande importância no desempenho do material em longo prazo, uma vez que representa uma mudança química e macroestrutural dentro do corpo do cimento já endurecido e uma mudança significativa na densidade e, por conseguinte, na porosidade e propriedades mecânicas. As fases metaestáveis possuem uma densidade menor do que as fases estáveis e, após a conversão, a porosidade do cimento aumenta, o que terá um efeito sobre as propriedades físicas e mecânicas do material.

O fenômeno da conversão pode ser evitado levando a cabo a hidratação a temperaturas superiores a 35°C. No entanto, deve ser considerada a composição inicial do cimento. Nas aplicações biomédicas, onde a pega do material ocorre a temperaturas fisiológicas e

geralmente são usados aceleradores, deve ocorrer a precipitação da fase mais estável sem a formação dos hidratos intermediários e, como consequência, a conversão pode ser praticamente inibida (Löf, 2008). O processo pode ser esquematizado segundo as reações seguintes (Eq. 2.7-2.8) e a Figura 2.2.

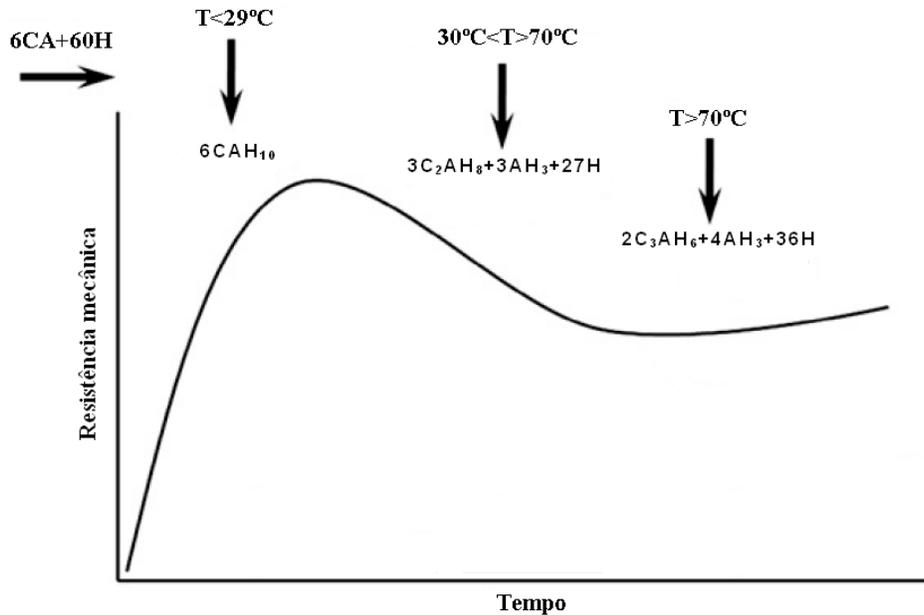
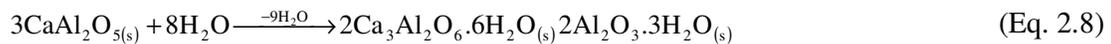
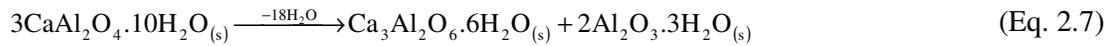


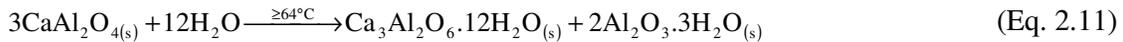
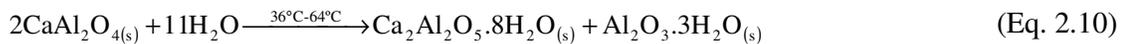
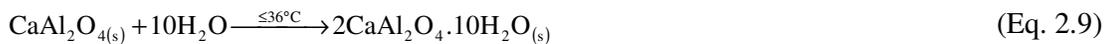
Figura 2.3. Processo de conversão dos hidratos de alumínio metaestáveis (Löf, 2008).

2.5.3. Variáveis que influem não processo de hidratação

O aumento da temperatura altera o tempo de pega do cimento uma vez que esse parâmetro define qual o caminho que o processo de hidratação irá tomar, ou seja, qual dos hidratos terá sua nucleação favorecida. A formação do hidrato mais estável não justifica a velocidade que o processo de pega do cimento se desenvolve. Este aspecto pode ser explicado considerando as diferenças de solubilidades dos hidratos. Desta forma, se durante a hidratação é favorecida a formação do CAH_{10} , o processo de precipitação deve passar por um tempo de nucleação

longo devido à alta solubilidade. Já quando o hidrato C_3AH_6 tem sua formação favorecida, o tempo de nucleação deve ser menor.

Alguns autores indicam que para a fase CA pura a temperatura influencia a formação do hidrato de acordo com as equações mostradas a seguir (Eq. 2.9-2.11) (Scriver & Capmas, 1998; Alt et al., 2003). Entretanto, quando se considera a influência da temperatura na formação dos hidratos a partir da hidratação de cimentos comerciais, o panorama mais aceito é o descrito na seção 2.5.1.



Esta diferença no comportamento da hidratação entre as fases puras e o material comercial (mistura de diferentes fases cristalinas) está relacionada à influência da razão C/A, que pode variar conforme a proporção entre as fases cristalinas no cimento comercial, mostrando, assim, que na análise do processo de hidratação do cimento, todas as variáveis devem ser levadas em consideração.

Também o teor de água pode determinar o tempo de pega do cimento, pois um excesso de água deve provocar um aumento no tempo de pega por favorecer o hidrato mais solúvel. Já a falta de água deve provocar uma aceleração no endurecimento do cimento por favorecer a nucleação do hidrato menos solúvel.

2.5.4. Retardadores e aceleradores

A adição de diferentes aditivos ao cimento pode acarretar um retardo ou aceleração dos tempos de pega. De maneira simplificada, as substâncias classificadas como retardadoras provocam um aumento no tempo requerido para que o processo de dissolução das fases anidras do cimento proporcione os valores de concentrações de Ca^{2+} e $Al(OH)_4^-$ necessárias para se iniciar o período de indução (saturação da solução). Ao contrário dos retardadores, os

aceleradores são aditivos que agem alterando o processo de precipitação dos hidratos, diminuindo o tempo necessário à nucleação que, ocorrendo mais facilmente, possibilita que a precipitação aconteça assim que o estado de saturação da solução seja atingido (García et al., 2007).

O mecanismo de atuação destas substâncias é complexo e em alguns casos uma mesma substância pode ser classificada como retardadora ou aceleradora, dependendo do teor utilizado, sendo esse comportamento claramente entendido por meio das propriedades químicas dessas substâncias.

Tabela 2.9 Substâncias químicas utilizadas como aceleradores e retardadores da pega dos CAC. (García et al., 2007).

Efeito	Substâncias Químicas	Compostos
Aceleradores	Sais de lítio	Li ₂ CO ₃ , LiOH
	Silicatos	Na ₂ SiO ₃
	Sais de cálcio	Ca(NO ₃) ₂
	Compostos alcalinos	NaOH, C ₆ H ₁₅ NO ₃
	Compostos contendo SO ₄ ²⁻	H ₂ SO ₄ , Na ₂ SO ₄
	Compostos contendo CO ₃ ²⁻	Na ₂ CO ₃ , K ₂ CO ₃
Retardadores	Ácidos hidroxí-carboxílicos e seus sais	C ₆ H ₈ O ₇ , Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ , C ₄ H ₄ O ₆ , C ₄ H ₄ Na ₂ O ₆ , EDTA
	Sais de fosfato	Tripolifosfato de sódio, Metafosfato de sódio
	Carboidratos	Açúcar, Amido, Celulose
	Aditivos defloculantes em geral	Poliacrilato de sódio, Polietilenoimina
	Ácido bórico e seus sais	Ácido bórico, Borax
	Compostos ácidos (exceção do H ₂ SO ₄)	HNO ₃ , HF
Composto contendo Cl ⁻	Ba ²⁺ , Mg ²⁺ , Na ⁺ , K ⁺ , Pb ⁴⁺ , Hg ²⁺ , Cu ²⁺ , Zn ²⁺ , etc	

2.5.5. Síntese do Ca₂Al₂O₄

As propriedades dos CAC e a velocidade de hidratação dos aluminatos são dependentes da composição inicial do cimento e do grau de cristalinidade das materiais primas, motivo pelo qual, em muitas ocasiões a síntese dos óxidos puros é necessária para realizar os estudos de hidratação.

O sistema cálcio-alumínio é muitas vezes apresentado como parte do sistema de fases ternário CaO-SiO₂-Al₂O₃ e contêm 5 fases estáveis obtidas a partir do CaO e o Al₂O₃. Usando

a notação de cimento as fases são denotadas como C_3A , $C_{12}A_7$, CA , CA_2 e CA_6 . Este diagrama somente é válido em atmosfera úmida, pois em atmosfera seca, a fase C_5A_3 é formada em lugar do $C_{12}A_7$ (Nurse et al., 1965).

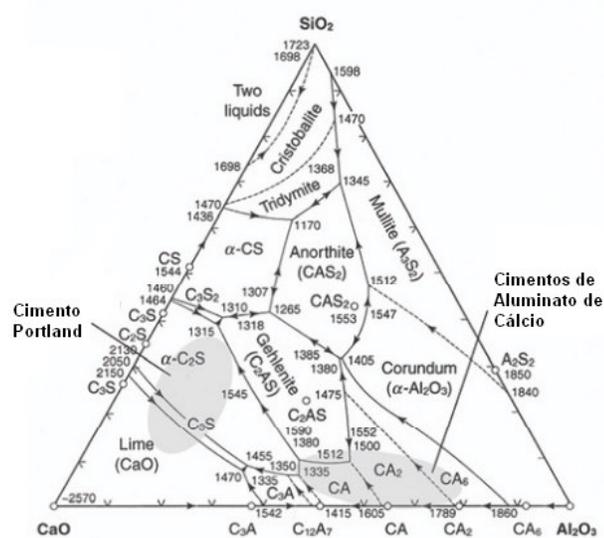


Figura 2.4 Diagrama de fase ternário do sistema $CaO-Al_2O_3-SiO_2$ a 1 atm de pressão em meio úmido.

De maneira geral, a síntese dos óxidos puros é levada a cabo mediante reações de estado sólido que envolve a sinterização ou fusão de misturas estequiométricas de $CaCO_3$ e Al_2O_3 a temperaturas entre $1315^\circ C$ e $1550^\circ C$. Geralmente, são necessários tempos de reação prolongados e tratamentos de moagem intermediários. Apesar da simplicidade da reação química, a formação dos óxidos ocorre de uma maneira complexa. Neste processo, a quantidade e o tipo de fase cristalina do aluminato de cálcio formado irá depender da razão entre CaO e Al_2O_3 na mistura; do tamanho de partícula e área superficial específica das matérias primas; da temperatura alcançada, e do procedimento de resfriamento do material obtido; uma vez que, dependendo do gradiente de temperatura dentro do bloco fundido, a cristalização ocorre em maior ou menor grau.

Os pós obtidos mediante esta técnica muitas vezes formam aglomerados, têm formas irregulares, apresentam baixa área superficial ($<1m^2/g$) e comumente contêm fases secundárias indesejáveis e matéria prima sem reagir, o que torna muito difícil obter produtos finais composicionalmente homogêneos (Gülğün et al., 1994; Fumo et al., 1996, Gaki et al., 2007).

Quando o CA é preparado por reações ao estado sólido, o produto final pode conter fases CaO, CA₂ e C₁₂A₇ como principais impurezas abaixo de 1300°C. É por tal motivo que, alternativamente, na síntese dos óxidos puros podem ser usadas outras técnicas por via úmida que fazem uso de temperaturas de síntese inferiores àquelas implicadas nos métodos convencionais. A Tabela 2.8 mostra as principais técnicas de obtenção, assim como as principais vantagens e desvantagens dos mesmos.

Tabela 2.10 Principais métodos de obtenção de aluminato monocálcico.

Métodos de obtenção do monoaluminato de cálcio	
Reações de estado sólido	$\text{CaCO}_3 + \text{Al}_2\text{O}_3 \rightarrow \text{CaAl}_2\text{O}_4 + \text{CO}_2 \quad 1450^\circ\text{C} < T < 1550^\circ\text{C} \text{ (García et al., 2007)}$ <p>Altas temperaturas e tempos de sinterização prolongados, pós aglomerados com formas irregulares, moagens intermediárias, baixa área superficial (<1m²/g), presença de fases secundárias indesejáveis</p>
Pechini	$2\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = \text{CaAl}_2\text{O}_4 + 8\text{NO}_2 + 26\text{H}_2\text{O} \text{ (Gaki et al., 2007)}$ <p>Simplicidade e baixo custo. Pós nanométricos de alta porosidade, alta energia superficial e alta energia livre</p>
Sol-Gel	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} + 2\text{Al}(\text{OC}_4\text{H}_9)_3 = \text{CaAl}_2\text{O}_4 + 6\text{C}_2\text{H}_6\text{O} + 2\text{NO}_2 + \text{H}_2\text{O} + 1/2\text{O}_2 \text{ (Stephan \& Wilhelm, 2004)}$ <p>Pós com alta área superficial, composições definida e distribuição homogênea dos elementos. Pequenas quantidades, altos custos, técnicas complexas e pouco reproduzíveis</p>
Síntese por combustão	$2\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O} + \text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} + \text{CH}_4\text{N}_2\text{O} = \text{CaAl}_2\text{O}_4 + 9\text{NO}_2 + \text{HCNO} + \text{NH}_3 + 22\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \text{ (Tas, 1998)}$ <p>Óxidos com alta pureza e cristalinidade, pós nanométricos, método rápido e de baixas temperaturas. Pequenas quantidades</p>
Síntese Mecanoquímica	$\text{CaCO}_3 + 2\text{Al}(\text{OH})_3 = \text{CaAl}_2\text{O}_4 + 3\text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \text{ (Rivas et al., 2005)}$ <p>Baixo custo e simplicidade. Pequenas quantidades e alto consumo de energia</p>

Estes métodos produzem sólidos com alta área superficial, composição química bem definida e controlada, além de uma distribuição homogênea dos elementos (Uberoi, 1990). Destes métodos, a síntese por sol-gel (Uberoi & Risbu, 1990; Goktas & Weinberg, 1991; Pati et al., 2002; Sthephan & Wilhelm, 2004), a síntese mediante polimerização de soluções orgânicas ou técnica Pechini (Gülgün et al., 1994; Aitasalo et al., 2004, Gaki et al., 2007), a síntese por combustão (Tas, 1998) e a síntese triboquímica (Senna, 1993; Temuujin et al., 2000, Rivas et al., 2005) são as mais promissoras.

2.5.5.1. Técnica Pecchini

A técnica Pecchini é uma das técnicas mais versáteis graças a sua simplicidade e baixo custo. É baseada na habilidade que apresentam alguns ácidos, como o ácido cítrico ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$), de formar complexos ácido-polibásicos com alguns íons metálicos. A solução cítrica, quando aquecida em presença de alcoóis polihidroxílicos como o etilenglicol ($C_2H_6O_2$), produz uma reação de poliesterificação onde a sinterização do polímero resultante resulta em óxidos de elevada pureza. Geralmente o método emprega sais de nitratos como fontes de cátions alumínio e cálcio (Gaki et al., 2007). Algumas variações desta técnica propõem o uso de bis (butan-2-olato)3-oxo-butanoato-0₁-0₃ de etilo na presença de álcool isopropílico (Goktas & Weinberg, 1991) ou a síntese em presença de sacarose (Mitchell et al., 2003).

A grande vantagem deste método deve-se à possibilidade de misturar os reagentes a níveis moleculares o que permite a formação de uma rede polimérica macromolecular que retém o solvente com um produto final de alta porosidade, alta energia superficial e alta energia livre. No entanto, este processo só pode ser trabalhado em pequena escala.

Esta técnica é utilizada na produção de pós ou filmes finos em estado amorfo a baixas temperaturas onde a cristalização é alcançada mediante tratamento térmico posterior, a temperaturas muito inferiores às usadas nos métodos convencionais.

Durante a síntese, os processos que ocorrem podem ser resumidos como segue:

Tabela 2.11 Etapas na técnica Pecchini (Gaki et al., 2007).

Temperatura (°C)	Processo
80	Formação dos complexos, remoção dos nitratos, esterificação
150	Formação do gel
400	Formação do xerogel, degradação orgânica em sítios carboxílicos
600	Queima dos compostos orgânicos, formação de $CaCO_3$ e grupos AlO_4^-
1000	Decomposição dos grupos CO_3^{2-} , desenvolvimento de alumínio tetraédrico

2.5.5.2. Combustão

Nos últimos anos, a síntese por combustão ou síntese por combustão autopropagada (SPCS) tem ganhado espaço entre os pesquisadores e tem sido usada na obtenção de óxidos com alta pureza e cristalinidade.

O processo foi levado a cabo pela primeira vez na obtenção de pós de $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ por Kinsley & Pati (Kingsley & Pati, 1988) e consiste na reação redox entre um oxidante forte e um combustível orgânico sem a decomposição de produtos intermediários ou as diferentes etapas de calcinação necessárias nos métodos convencionais. O combustível orgânico, geralmente amidas e hidrazidas, ao alcançar a temperatura de ebulição provoca a ignição do oxidante, nitratos metálicos, acontecendo, assim, uma rápida reação de combustão auto-sustentada que permite a obtenção de pós finos e secos dos óxidos desejados.

As reações de oxidação-redução que ocorrem durante o processo de combustão são grandemente exotérmicas e vêm acompanhadas de desprendimento de gases. Usualmente, elas produzem uma explosão não controlada por auto-propagação, o que provoca uma chama que, em algumas ocasiões, alcança temperaturas superiores aos 1000°C.

O método é muito rápido, auto-sustentado em reações químicas e onde o calor requerido para o início da reação é providenciado pela própria reação, não necessitando, assim, de uma fonte de calor externa e economizando uma boa quantidade de energia.

2.5.5.3. Síntese triboquímica

Métodos mais recentes, como o método de atrito de alta energia e tratamentos mecânico-químicos, são utilizados como alternativa de baixo custo na produção de aluminatos. A ativação mecânica dos óxidos e/ou mistura de óxidos usando técnicas de moagem de alta energia permite a reduzir o tamanho das partículas e incrementar o número de defeitos na estrutura cristalina (deslocações ou contorno de grão). O aumento das imperfeições cristalinas diminui as temperaturas de transformação de fases e melhora a densificação através da criação de maior número de caminhos de difusão (Rivas et al., 2004).

A base teórica deste método reside no controle da química das superfícies dos óxidos pela concentração de íons hidroxilo presentes. Misturas contendo altas concentrações de íons hidroxilo resultam em sistemas mais homogêneos que misturas de óxidos anidros;

consequentemente, a temperatura de transformação de fases diminui dependendo do grau de umectação das matérias primas (Temuujin et al., 1998).

Estudos comparativos mostram que a formação de CA por este método ocorre a temperaturas inferiores quando utilizado $\text{Al}(\text{OH})_3$ e meio alcoólico em lugar de Al_2O_3 como fonte de íons alumínio (Rivas et al., 2005).

2.6. Cimento Portland (OPC)

O cimento Portland (OPC) é o material de construção mais importante de nossa era com uma produção mundial aproximada de três bilhões de toneladas métricas (Kelly, 2010). É constituído por quatro fases fundamentais: silicato tricálcico (Ca_3SiO_5), silicato dicálcico (Ca_2SiO_4), aluminato tricálcico ($\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$) e ferroaluminato tetracálcico ($\text{Ca}_4\text{Al}_2\text{Fe}_2\text{O}_{10}$). Normalmente, estas quatro fases contêm traços de diferentes elementos a diferentes concentrações, pelo qual os termos empregados para os componentes dopados são Alita, Belita, Aluminato e Ferrita, respectivamente.

Alita é a denominação para o Ca_3SiO_5 modificado com íons Mg^{2+} , Al^{3+} e Fe^{3+} . Constitui 50-70% em massa do clínquer e é considerado o componente mais importante do OPC. Nas formulações normais do cimento, é o responsável pela resistência mecânica nas primeiras idades.

Belita constitui 15-30% do clínquer e é constituída majoritariamente por Ca_2SiO_4 na fase polimórfica beta ($\beta\text{-Ca}_2\text{SiO}_4$). A sua velocidade de hidratação é lenta quando comparada com o Ca_3SiO_5 ; sendo a fase que lhe confere resistência mecânica ao cimento em idades mais avançadas da pega. Após um ano, a resistência mecânica obtida para as fases Alita e Belita após hidratação é a mesma em condições semelhantes.

A fase aluminato representa 5-10% da mistura. Esta é constituída por $\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$ modificado em composição e estrutura por íons Si^{4+} , Fe^{3+} , Na^+ e K^+ . Devido à sua rápida reação com água, ele pode reduzir o tempo de pega e provocar um efeito indesejável. A adição de $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ permite controlar este efeito; no entanto, a presença de grande quantidade de sulfatos nos cimentos provoca a expansão destrutiva do mesmo, devido ao ataque das soluções de sulfato no concreto.

A fase ferrita é a fase minoritária do clínquer, 5-15%, e varia em composição devido à incorporação de íons estranhos que provocam uma variação na relação Al/Fe. A velocidade de hidratação desta fase pode variar dependendo das diferentes composições. Porém, de maneira geral é rápida e após certo tempo, diminui até valores intermediários entre os exibidos pelos silicatos.

No cimento Portland, os compostos de silício são os responsáveis pela resistência mecânica, enquanto os responsáveis pela pega são os componentes de alumínio. A velocidade da pega do cimento pode ser regulada controlando o conteúdo de aluminato, o tamanho de partícula dos pós no clínquer e mediante a otimização do processo de mistura das matérias primas.

A reação de hidratação do cimento é exotérmica e, embora isto constitua uma vantagem em alguns casos por provocar o aceleração da pega, de maneira geral resulta numa desvantagem. Uma menor evolução do calor pode ser alcançada diminuindo os conteúdos das fases Alita e Aluminato na mistura.

2.6.1. Aplicações

O ProRoot[®] MTA (Mineral Trioxide Agregate), Dentsply Tulsa, consiste num cimento Portland comum dopado com compostos de bismuto como agentes opacificantes (Torabinejad et al., 1998; Dentsply, 2002). Foi introduzido na prática clínica pela primeira vez em 1993 (Lee et al., 1993) e desde então a sua utilização expandiu-se em várias aplicações, principalmente no selamento de canais radiculares e no tratamento de insucessos de origem endodôntica e periodontal (Torabinejad et al., 1993; 1999). Outras aplicações deste material incluem sua utilização como material retrobturador para procedimentos de apicectomia, preenchimento do canal apical, e recobrimento pulpar (Glickman & Kotch, 2000), sendo que a literatura especializada lhe atribui características de estimulação apical e regeneração do tecido dental (Parirokh et al., 2005).

O MTA apresenta uma boa biocompatibilidade, toxicidade e irritação tecidual mínima, não mutagenicidade, ausência de neurotoxicidade, aderência e crescimento celular, atividade antimicrobiana e antifúngica e atividade mitogênica (Zanferrari, 2006).

2.7. Silicatos de cálcio. (Ca_3SiO_5)

Desde a descoberta em 1970 do Bioglass®, produto em uso clínico desde 1985 (Hench & Hench, 2004), inúmeros compostos que contêm em sua estrutura silicatos foram pesquisados como possíveis substitutos do tecido ósseo, encontrando-se que tais materiais apresentam uma excelente biocompatibilidade e são capazes de unir-se ao tecido ósseo vivo, induzindo uma resposta osteogênica através da estimulação e ativação dos osteoblastos (De Aza et al., 1994).

Tanto as cerâmicas de wollastonita ($\beta\text{-CaSiO}_3$) quanto as de $\beta\text{-Ca}_2\text{SiO}_4$ (C_2S), têm provado ser materiais bioativos e biocompatíveis, pelo que ambas resultam candidatas potenciais como biomateriais para reparo ósseo (De Aza et al., 1994; De Aza et al., 2004; Liu et al., 2002; Zhongru & Chang, 2004). Mais recentemente, estudos realizados mostraram que cerâmicas de Ca_3SiO_5 , análogo em componentes com a wollastonita e o C_2S , são capazes de induzir a formação de uma camada de CDHA quando imersos em fluido biológico simulado (SBF) e estimular o crescimento celular em determinada faixa de concentrações (Zhao et al., 2004).

Por outro lado, o Ca_3SiO_5 possui propriedades hidráulicas e desenvolvimento espontâneo de resistência mecânica (consolidação espontânea) ao entrar em contato com água e estudos recentes mostram que, quando utilizado como cimento, apresenta adequados tempos de pega, excelente biocompatibilidade e bioatividade o que sugere a possibilidade de uso como material de implante ósseo (Wang et al., 2005).

2.7.1. Hidratação

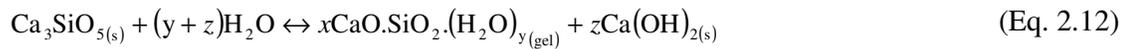
O Ca_3SiO_5 , C_3S na nomenclatura do cimento, é o constituinte majoritário de diferentes tipos de cimentos que incluem o OPC, o cimento branco e cimentos especiais utilizados na indústria do petróleo (Taylor, 1990). É conhecido que a reação entre o C_3S e a água é o fator dominante na pega e endurecimento destes materiais. Por tal motivo, o C_3S é utilizado com frequência como modelo para estudar a hidratação de pastas de cimentos. Nos últimos 40 anos, o sistema $\text{C}_3\text{S}/\text{H}_2\text{O}$ tem sido bastante estudado e na atualidade se tem grande informação sobre a química do equilíbrio de hidratação e composição de fases (Brown et al., 1984; Jennings, 1986), os mecanismos de dissolução (Barret & Menétriér, 1983), as taxas globais de

reação (Damidot et al., 1990; Livingston et al., 2001) e o desenvolvimento microestrutural (Ménétrier et al., 1979; Garrault et al., 2005).

Os hidratos de silicato de cálcio possuem um notável nível de complexidade estrutural, sendo conhecidas mais de 30 fases cristalinas deste hidrato. Quando obtidos à temperatura ambiente, podem apresentar estruturas que variam desde semicristalinas a quase amorfas, geralmente descritas pelo termo genérico C-S-H segundo a nomenclatura do cimento (Taylor, 1990). O C-S-H formado pela hidratação do silicato tricálcico é uma variedade particular desordenada, usualmente chamada de C-S-H gel para distingui-lo de CSH produzido por rotas sintéticas (Chen et al., 2004).

A composição do C-S-H pode variar, e os traços na fórmula do composto indicam que nenhuma composição específica está implícita. A nanoestrutura da C-H-S é definida pelas variações na estequiometria, e um entendimento global da mesma requer o entendimento da relação entre as variações da Ca/Si, a estrutura do silicato, e os teores de Si-OH e Ca-OH.

A hidratação do C_3S segue aproximadamente o seguinte esquema de reação (Eq. 2.12); sendo $x+z=3$, embora x , y , z não necessariamente sejam números inteiros.



De maneira simplificada a Equação 2.12 pode ser escrita como:



O silicato de cálcio hidratado é o produto majoritário formado e sua estequiometria, como resulta evidente da Equação 2.12, pode variar ao longo de uma grande faixa de composições (Bye, 1983). O composto, originalmente chamado de gel de Tobermorite, exibe uma baixa cristalinidade e se apresenta em várias formas morfológicas associadas aos diferentes estágios da reação. Durante o início da hidratação, o C-S-H tem uma microestrutura amorfa mal definida, enquanto que estágios posteriores apresentam cristais interconetados em forma de longas fibras ocas (Double et al., 1978).

No século passado, foi proposto por Le Chatelier um mecanismo para a hidratação do C_3S no qual o silicato de cálcio hidratado e o hidróxido de cálcio, produtos da reação, precipitam a partir de uma solução supersaturada de C_3S . Análogo ao mecanismo de precipitação dos CaP , o C-S-H formado no início da reação cobre a superfície das partículas de C_3S não hidratadas. Após depositada a camada superficial do hidrato, a velocidade de reação decresce e se torna fortemente dependente das velocidades de difusão das espécies reativas através de dita camada (Le Chatelier, 1905).

A hidratação do C_3S progride por várias fases diferentes, nas quais a taxa de reação varia linearmente por várias ordens de magnitude. Estes estágios são mostrados de uma forma genérica na Figura 2.5.

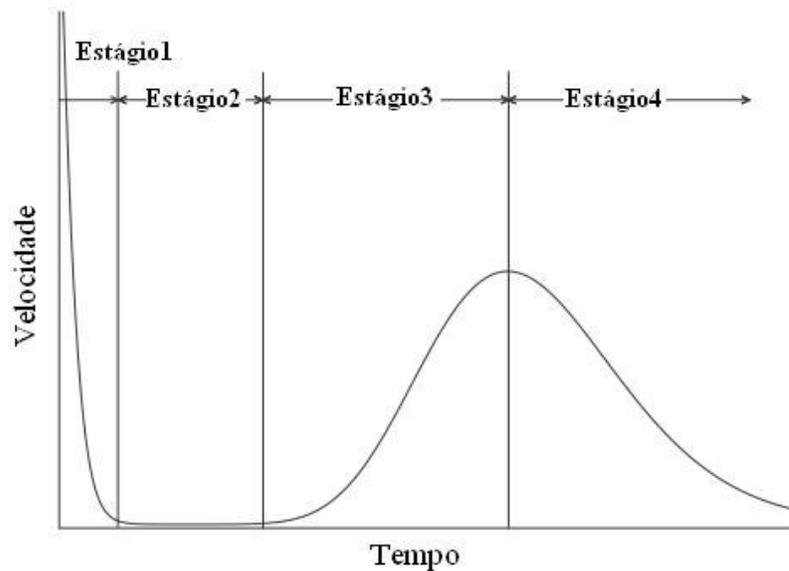


Figura 2.5 Taxa de hidratação ideal em função do tempo para a hidrólise do C_3S . (Bullard, 2008).

O primeiro estágio ou “período de pré-indução” é caracterizado por uma rápida dissolução do sólido logo após entrar em contato com a água. Nos primeiros 30s, aproximadamente, o pH da solução aumenta de 7 a 12-12,5; os íons cálcio em solução alcançam concentrações de 10-20 mmol/L, enquanto a concentração de os íons silício pode aumentar até uns 200 mmol/L (Eq. 2.15). Entretanto, imediatamente depois, a taxa de dissolução diminui drasticamente e o sistema entra num período de repouso denominado “período de indução” (Estágio 2) que pode durar de 1-2h e no qual a dissolução é extremamente lenta. O início do período de indução é caracterizado por uma discrepância cinética entre os valores de concentrações achados e os

calculados para uma dissolução congruente, indicando uma inibição cinética no processo de dissolução (Bullard, 2008).



Uma das teorias que permite explicar este fato está baseada na rápida formação de uma camada contínua de C-S-H, de não mais de alguns nanômetros, sobre a superfície dos grãos de C_3S . Embora fina, a camada do hidrato apresenta baixa permeabilidade, o que impede a dissolução dos grãos anidros por restrição do contato com a água (Stein & Stevels, 1964; Jennings & Pratt, 1979). Uma segunda teoria propõe que os íons dissolvidos a partir da superfície do C_3S se encontram hidroxilados antes de desprender-se da superfície, sendo esta hidroxilação o passo limitante na velocidade de reação (Barret et al., 1980; 1983). Uma terceira e mais recente hipótese é baseada na idéia de que as espécies em solução, como Ca^{2+} e OH^- absorvem e envenenam os sítios de dissolução ativos da superfície do C_3S (Damidot et al., 2007).

O estágio 3 ou “período de aceleração”, está caracterizado por um incremento exponencial na velocidade da reação. No entanto, esta taxa nunca é maior que no Estágio 1. A velocidade de reação aumenta com o tempo e está controlada pelo crescimento do grão, uma vez que a área disponível para crescimento aumenta com o volume de sólidos, indicando que o crescimento do C-S-H é o passo limitante na velocidade neste estágio.

O último estágio está caracterizado pela diminuição na velocidade de hidratação causado pela combinação de dois fatores: (i) uma mudança na velocidade da difusão dos reagentes através da camada de C-S-H que envolve as partículas de C_3S ; e (ii) uma diminuição na área superficial do C-S-H disponível devido à presença de outras camadas crescidas sobre outros grãos que interferem uma com outra (Gartner & Gaidis, 1989).

A duração de cada estágio de reação, assim como da velocidade de reação de cada período depende da composição química da solução e pode ser afetada pela presença de agentes retardadores ou aceleradores (Young, 1972; Peterson & Juenger, 2006). Os aceleradores aceleram a pega e o desenvolvimento da resistência inicial das pastas, devido ao efeito produzido na taxa de reação, enquanto os retardadores somente afetam os tempos de cura durante o período de indução (Peterson & Juenger, 2006).

2.7.2. Retardadores e aceleradores

Aditivos retardadores são substâncias químicas que quando adicionadas a concretos proporcionam um atraso no processo de hidratação do cimento, retardando, assim, o endurecimento do material. De uma maneira geral, o mecanismo de atuação desses aditivos é atribuído a um aumento no tempo requerido para que o processo de dissolução das fases anidras do cimento proporcione os valores de concentrações de Ca^{2+} e $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ necessárias para se iniciar o período de indução (saturação da solução).

Retardadores orgânicos comuns incluem açúcares, lignosulfonatos e ácidos hidroxicarboxílicos. Os retardadores orgânicos possuem um ou mais pares de átomos de oxigênio adjacentes ou próximo de carbonos vizinhos capazes de complexar íons metálicos. O efeito retardador dos açúcares ácidos se incrementa com o número de grupos carboxílicos α ou β , e no caso de moléculas aromáticas, com o número de pares dihidroxi (Taplin, 1960). A sacarose é um dos compostos mais efetivos, sendo que a adição de 0,075% em massa ao OPC incrementa o tempo de pega de 2,5-3h. No entanto, estudos recentes mostram que um 0,40% em massa de sorbitol apresenta o mesmo efeito que 0,15% de sacarosa, retardando a pega do OPC por dois dias. Ao contrário da sacarosa, o sorbitol é capaz de aumentar o grau de hidratação do cimento e a resistência mecânica final do mesmo por redução da porosidade devido a seu efeito plastificante e por outro lado impede a precipitação da fase Etringita (Cody et al., 2004).

Devido ao fato que os retardadores são efetivos em baixas concentrações, se pensa que o mecanismo de ação dos mesmos ocorra via adsorção nos sítios ativos de nucleação e crescimento dos grãos de cimento em vez de complexação de espécies em solução (Zhang et al., 2010). Além do mais, a dissolução do cimento continua mesmo quando o retardador inibe a formação dos produtos de hidratação. Em relação a esta teoria, Young propôs que os retardadores orgânicos são adsorvidos na superfície do C_3S em forma de grupos $\text{Ca}(\text{OH})$ capazes de formar compostos RO-OH que envenenam os sítios de nucleação (Young, 1972), embora interações bidentadas parecem mais possíveis (Taplin, 1960).

Alguns autores preferem chamar estes compostos de “aceleradores atrasados” (Milestone, 1979), uma vez que terminado a inibição durante o período de indução, a hidratação procede tão rápida quanto na ausência destas substâncias, confirmando, assim, a teoria de que no

período de indução à hidratação é controlada pela lenta formação e/ou envenenamento dos núcleos estáveis de C-S-H.

Ao contrário dos retardadores, os aceleradores agem sobre o processo de precipitação dos hidratos, diminuindo o tempo necessário à nucleação e favorecendo o processo de precipitação, assim que o estado de saturação da solução é atingido.

O CaCl_2 é um dos mais eficazes aceleradores da hidratação e da pega do C_3S . O poder da aceleração deste sal se incrementa com a concentração, produzindo um aumento na velocidade de formação dos produtos hidratados, que produz um incremento na evolução do calor durante a hidratação. O CaCl_2 acelera a taxa de crescimento do C-S-H menos denso, devido em parte à sua capacidade na floculação de colóides hidrofílicos como o C-S-H. Durante o período inicial controlado pela difusão, o CaCl_2 provoca um aumento no diâmetro médio dos poros facilitando assim a difusão dos íons e da água através da camada inicial de produto (Juenger et al., 2005). Outros aditivos como sílica ativa e C-S-H sintéticos também podem acelerar moderadamente a reação de hidratação do C_3S (Thomas et al., 2009).

2.7.3. Pozolanas

As pozolanas são materiais silicosos ou sílico-aluminosos, naturais ou artificiais, que contêm um elevado teor de sílica em forma reativa e finamente pulverizada. São materiais com pouca qualidade cimentante intrínseca, uma vez que por si são ligantes pobres, mas na presença de água reagem com o hidróxido de cálcio à temperatura normal, formando então silicatos de cálcio estáveis com apreciável capacidade cimentante (Neville, 1975).

A reatividade da sílica de um material, geralmente designada como *grau de pozolanicidade* do material, depende da proporção dos silicatos que se encontram em forma amorfa e da dimensão das partículas, uma vez que a reatividade aumenta com a superfície específica do material, sendo esta tanto maior quanto menores forem as partículas que os compõem. Por essa razão, é essencial que as pozolanas estejam finamente pulverizadas, caso contrário o *grau de pozolanicidade* do material é baixo, não permitindo a utilização do material que as contenha como ligante.

As principais vantagens que resultam da adição de pozolanas ao cimento comum são a sua hidratação lenta, logo com baixa libertação de calor, e o aumento de resistência do concreto resultante aos sulfatos e a outros agentes agressivos ácidos.

O dióxido de silício também conhecido como sílica, $[\text{SiO}_2, \text{S}]$ é um material altamente reativo com propriedades pozolânicas utilizado comumente na química do cimento Portland para acelerar a reação de hidratação do C_3S mediante o consumo de CH, incrementando, assim, a resistência mecânica inicial do cimento resultante (Zhao, 1984).

Embora existam questionamentos sobre o papel desempenhado pelas pozolanas na química do cimento, os mecanismos mais comumente discutidos podem ser enumerados da seguinte forma (Duchesne & Berubé, 1994): (i) redução da permeabilidade impedindo, assim, a entrada de água e o transporte de álcali e íons hidroxilos; (ii) incremento da resistência e da dureza, resultando em maior resistência à fratura e menor expansão; (iii) substituição de uma parte do cimento por material pozolânico diminui a quantidade total de álcalis presentes; e (iv) formação de um silicato de cálcio hidratado com uma menor relação Ca/SiO_2 que permite o aprisionamento de álcalis.

O mecanismo pelo qual opera a sílica não está totalmente elucidado. No entanto, três tipos de interações principais podem ser levados em consideração (Baltakis, 2007):

- i. As partículas de sílica causam a obstrução dos poros no cimento hidratado o que densifica a estrutura do gel de C-S-H,
- ii. A reação ocorre entre as partículas de sílica e o CH, subproduto da hidratação do C_3S ;
- iii. As partículas de sílica agem como sítios de nucleação para a hidratação do cimento; acelerando o processo

O C-S-H é de grande importância nas características do cimento após pega. Devido à sua morfologia, o CH formado na hidratação do C_3S é frágil e não apresenta características cimentantes. Além do mais, o C-S-H formado através das reações pozolânicas apresenta morfologia similar à desenvolvida durante a hidratação do OPC (Cheng & Feldman, 1985).

Por outro lado, a presença de dióxido de silício em cimentos baseados em α -TCP pode incrementar as propriedades mecânicas do material final (Watanabe, 2006).

2.7.4. Síntese do Ca_3SiO_5

Os silicatos de cálcio tradicionalmente são obtidos mediante reação de estado sólido entre o óxido de cálcio/carbonato de cálcio e o óxido de silício em diversas proporções a partir da mistura de pós muito finos, repetidos processos de sinterização, temperaturas superiores a 1400°C e moagens intermediárias (Zhao & Chang, 2004). Por outro lado, temperaturas inferiores a 1250°C decompõem a Ca_2SiO_4 e CaO , pelo que a obtenção da fase pura resulta difícil.

No entanto, o uso de técnicas alternativas tais como sol-gel, permite a simplificação do processo, o uso de temperaturas de síntese menores com a consequente economia de energia e a obtenção de pós mais reativos e com uma elevada pureza (Roy & Oyefesobi, 1977; Li & Roy, 1988; Wang & Thompson, 1996; Zhao & Chang, 2005; Chrysafi et al., 2007).

A velocidade de formação dos silicatos é afetada pela granulometria e homogeneidade das matérias primas. Nas reações de estado sólido, a reação é controlada pela difusão, enquanto nas reações feitas por sol-gel a reação ocorre em dois passos identificados como controladas por nucleação e crescimento de grão.

2.7.4.1. Síntese por sol-gel

O processo sol-gel é conhecido pelos químicos há mais de um século. A química do processo é baseada em reações de polimerização inorgânica onde os precursores usualmente empregados são soluções aquosas de sais inorgânicos ou alcóxidos dissolvidos em solventes orgânicos. Após as reações de hidrólise e subsequente condensação das espécies hidratadas, pode-se ter a formação de partículas coloidais ou de cadeias poliméricas lineares. As reações químicas envolvidas nesse processo podem ser descritas em duas etapas definidas como:

- i. Hidrólise do precursor, obtida pela adição da água e modificação da solução aquosa que resulta na protonação ou deprotonação dos diferentes íons;
- ii. Condensação dos íons mediante olação ou oxolação catalisada por ácidos ou bases com estrito controle do pH

Na obtenção do C_3S via sol-gel podem ser utilizados sais de nitratos com fontes de íons cálcio e $Si(OC_2H_5)_4$ (TEOS) como fonte de íons silício na presença de ácido nítrico como catalisador (Zhongru & Chang, 2004). Igualmente pode ser utilizado SiO_2 como fonte de silício, porém a reação não é completada e o produto final se encontra impurificado com CaO (Li & Roy, 1988).

A fonte de íons silício (sílica coloidal ou TEOS) é misturada com o $Ca(NO_3)_2$ e o pH ajustado a valor apropriado. Durante o processo de gelificação é formada a rede polimérica, que ao ser aquecida, evapora água num primeiro estágio para formar o xerogel e precipitar o nitrato sobre a superfície da rede. Na segunda etapa, o $Ca(NO_3)_2$ decompõe, formando CaO que reage com a rede polimérica para formar o C_3S . A Figura 2.6 mostra esquematicamente os passos através do processo sol-gel.

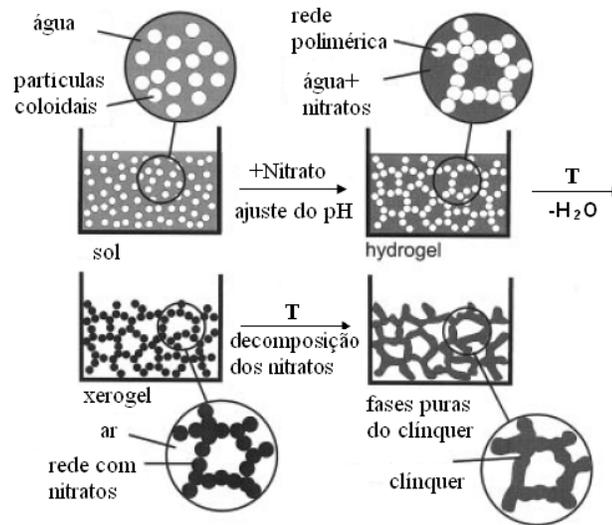


Figura 2.6 Passos para a síntese esquemática das fases de cimento através de um processo sol-gel. (Sthephan & Wilhelm, 2004)

3. Materiais e Métodos

Para atingir o objetivo proposto, a parte experimental deste trabalho foi dividida em várias etapas listada a seguir e resumidas no fluxograma da Figura 3.1.

1) Escolha dos aditivos modificadores do cimento baseado em α -fosfato tricálcico.

Segundo a revisão da literatura, foram escolhidos os aditivos modificadores do cimento baseado em α -TCP levando-se em consideração os critérios de resistência mecânica e biocompatibilidade (demonstrada ou potencial).

2) Síntese e caracterização das matérias primas e dos aditivos.

Baseados na revisão da literatura, foram escolhidos os métodos de síntese mais promissores levando em consideração os critérios de pureza e reatividade dos produtos finais, complexidade do método e a factibilidade técnico-econômica (custos e disponibilidade de matérias primas). Esta etapa foi dividida em três sub-etapas listadas a seguir: (I) síntese e caracterização do α -fosfato tricálcico; (II) síntese e caracterização do monoaluminato de cálcio; e (III) síntese e caracterização do silicato tricálcico.

3) Obtenção dos cimentos mistos α -TCP/C₃S, α -TCP/C₃S e α -TCP/CA.

As diferentes formulações de cimentos foram desenhadas tendo em conta os tempos de pega, a coesão e o pH quando imersos em fluido biológico simulado, determinando assim as formulações mais promissoras.

4) Caracterização dos cimentos mistos α -TCP/C₃S, α -TCP/C₃S e α -TCP/CA.

Os materiais resultantes da etapa (3) foram caracterizados para determinar a influência da adição dos diferentes componentes nas características físicas, químicas e mecânicas após imersão em fluido biológico simulado. Os cimentos modificados foram avaliados também em quanto a sua biocompatibilidade, bioatividade e citotoxicidade *in vitro*.

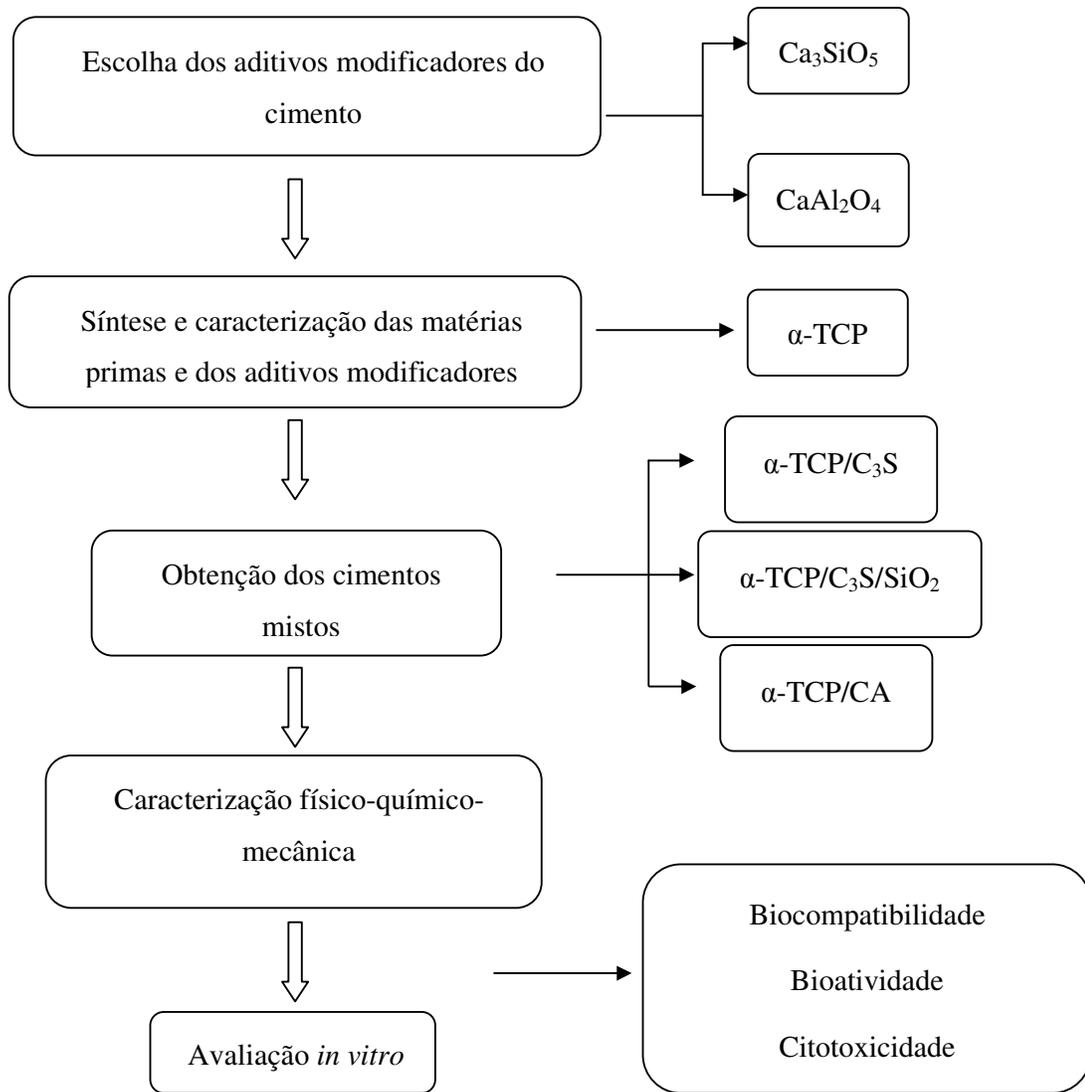


Figura 3.1 Fluxograma das etapas experimentais para o desenvolvimento do trabalho.

3.1. Materiais utilizados

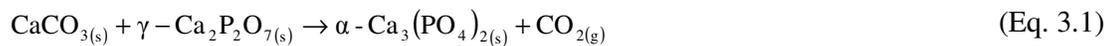
- ✓ Alfa Alumina (α -Al₂O₃). ACP-Alcoa Alumínio S.A.
- ✓ Nitreto de sódio (NaN₃). Dinâmica Química Contemporânea Ltda, PA
- ✓ Carbonato de cálcio (CaCO₃). PA Nuclear.
- ✓ Acido cítrico (C₆H₈O₇.H₂O). Synth, PA-ACS.
- ✓ Acido clorídrico (HCl). F. Maia, PA
- ✓ Acido nítrico 65% (HNO₃). F. Maia, PA
- ✓ Carbonato de Cálcio (CaCO₃). Synth, PA
- ✓ Cloreto de cálcio dihidratado (CaCl₂.2H₂O). Synth, PA-ACS.
- ✓ Cloreto de magnésio hexahidratado (MgCl₂.6H₂O). VETEC, PA
- ✓ Cloreto de potássio (KCl). VETEC PA
- ✓ Cloreto de sódio (NaCl). F. Maia, PA
- ✓ Dihidrogenofosfato de sódio (NaH₂PO₄). Synth, PA
- ✓ Dióxido de silício WL180 (SiO₂). Auriquímica Ltda-Brazil.
- ✓ Etanol 99,5%. Cromoline, PA.
- ✓ Etilenoglicol (C₂H₆O₂). Synth, PA.
- ✓ Hidrogeno carbonato de sódio (NaHCO₃). Synth, PA-ACS.
- ✓ Hidrogenofosfato de cálcio diidratado (DCPD). Dyne®, grau farmacéutico.
- ✓ Hidrogeno fosfato de potássio trihidratado (K₂HPO₄.3H₂O). VETEC, PA
- ✓ Hidrogenofosfato de sódio dodecahidratado (Na₂HPO₄.12H₂O), Synth, PA.
- ✓ Nitrato de alumínio nonohidratado (Al(NO₃)₃.9H₂O). Synth, PA-ACS.
- ✓ Nitrato de cálcio tetrahidratado (Ca(NO₃)₂.4H₂O). Synth, PA-ACS.
- ✓ Tetraetil ortosilicato 99% Si(OC₂O₅)₄ (TEOS). Merck.
- ✓ Sulfato de sódio (Na₂SO₄). Synth, PA-ACS.
- ✓ Tris-hidroximetil amino metano (TRIS). Merck ACS.

3.2. Síntese dos pós utilizados na preparação dos cimentos

3.2.1. Síntese do α -fosfato tricálcico (α -TCP)

O α -TCP foi sintetizado por reação ao estado sólido utilizando γ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ e CaCO_3 como matérias primas (Monma et al., 1984). O γ - $\text{Ca}_2\text{P}_2\text{O}_7$ foi obtido previamente através da decomposição térmica do DCPD a 550°C (Legeros, 1991).

Depois da homogeneização da mistura mediante moagem dos reagentes, se levou a cabo a calcinação a uma temperatura de 1300°C por um período de 5h e posterior resfriamento brusco à temperatura ambiente. A temperatura de calcinação foi determinada mediante o estudo do diagrama de fase do sistema $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ e após determinação das impurezas dos reagentes mediante a análise quantitativa por FRX.



3.2.2. Síntese do monoaluminato de cálcio (CA)

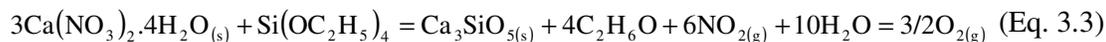
O CA foi obtido mediante a técnica Pechini utilizando como fonte de cátions Ca^{2+} e Al^{3+} o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ e $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ respectivamente (Gaki et al., 2007). Quantidades estequiométricas dos reagentes foram previamente dissolvidas e posteriormente misturadas com ácido cítrico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$) e etilenoglicol ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}_2$) para levar a cabo a gelificação. O gel obtido nesta etapa foi seco, pré-sinterizado a 400°C e calcinado posteriormente a 1000°C por um período de 3h. A Equação 3.2 mostra a reação geral durante o processo.



3.2.3. Síntese do silicato tricálcico (C_3S)

O C_3S foi sintetizado através da rota sol-gel utilizando $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ and $\text{Si}(\text{OC}_2\text{H}_5)_4$ (TEOS) como precursores (Zhao & Chang, 2004). Após hidrólise do TEOS, o $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ foi adicionado em quantidade estequiométrica em presença de um catalisador

(HNO₃). Duas moagens e duas calcinações a 1400°C por 24h foram necessárias para alcançar o produto o mais monofásico possível. A reação geral do processo de síntese pode ser visualizada na Equação 3.3.



3.3. Preparação dos cimentos

Para avaliar as diferentes formulações de cimentos mistos, foram desenhados quatro sistemas: α -TCP; α -TCP/CA; α -TCP/ C₃S e α -TCP/C₃S/SiO₂. A solução líquida empregada para o α -TCP foi uma solução ao 2,5% de Na₂HPO₄; enquanto para as formulações mistas se empregou uma solução tampão de pH=7,4 preparada a partir de NaH₂PO₄ e Na₂HPO₄.12H₂O. Cada amostra preparada foi devidamente pesada (os componentes sólidos) e posteriormente misturada com a fase líquida na relação líquido-pó (L/P) apropriada. À relação L/P utilizada foi escolhida em função da trabalhabilidade e molhabilidade das pastas de cimentos. Após mistura, as formulações foram colocadas em moldes de silicone ou aço com as dimensões adequadas para os ensaios de compressão, e estocadas a 36,5°C durante 24h em ambiente com umidade relativa igual a 100%.

Tabela 3.1 Composição das diferentes formulações estudadas.

Formulação	Composição (% em massa)				Solução líquida	Relação L/P (g/mL)
	α -TCP	CA	C ₃ S	SiO ₂		
α -TCP	100	--	--	--	Na ₂ HPO ₄	0,4
5CA	95	5	--	--	Na ₂ HPO ₄ /	0,45
10CA	90	10	--	--	NaH ₂ PO ₄	0,47
5C ₃ S	95	--	5	--	Na ₂ HPO ₄ /	0,42
10 C ₃ S	90	--	10	--	NaH ₂ PO ₄	0,44
5SiO ₂	95	--	5	2,5	Na ₂ HPO ₄ /	0,42
10SiO ₂	90	--	10	5	NaH ₂ PO ₄	0,47

3.4. Caracterização dos cimentos

3.4.1. Determinação dos tempos de pega

Os tempos de pega foram medidos de acordo a norma internacional ASTM C266-89 utilizando o método das agulhas de Gillmore (ASTM, 1995). O tempo de pega inicial (t_i) foi definido como o tempo final da moldabilidade do cimento sem graves danos na sua estrutura e o tempo final (t_f) como o tempo depois do qual é possível manipular o cimento sem causar danos severos (Driessens et al., 1996). Três amostras de cada formulação foram testadas e o desvio padrão foi utilizado como critério para determinar a dispersão das medições.

3.4.2. Testes *in vitro*. Bioatividade e Degradação

Para avaliar a bioatividade *in vitro*, as diferentes formulações foram imersas em SBF a 36,5°C por diferentes períodos de tempo; 1h, 24h, 7d e 14d empregando uma relação área/volume igual a 0,1 mL/mm². Os corpos-de-prova utilizados foram discos de 6mm de diâmetro por 1mm de altura e desmoldados após 24h em ambiente com 100% de umidade relativa.

O SBF foi preparado segundo o protocolo descrito por Kokubo (Kokubo, 2006). No entanto, foi utilizado o SBF corrigido (c-SBF) cujas concentrações de íons diferem ligeiramente das do plasma sanguíneo segundo se mostra na Tabela 3.2. A fim de evitar a contaminação da solução por bactérias e o crescimento destas durante o estudo, nitreto de sódio (NaN₃) foi adicionada à solução de SBF (Helebrant et al., 2002; Muller, 2006). As quantidades e reagentes utilizados na preparação do SBF são mostradas na Tabela 3.3.

Tabela 3.2 Concentrações iônicas do SBF e do plasma humano sanguíneo (Kokubo, 2006).

Concentração iônica (mmol/L)	Na ⁺	K ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	HPO ₄ ²⁻	SO ₄ ²⁻
Plasma humano sanguíneo (Gamble, 1967)	142,0	5,0	1,5	2,5	103,0	27,0	1,0	0,5
SBF corrigido (c-SBF) (Kim, 2001)	142,0	5,0	1,5	2,5	147,8	4,0	1,0	0,5

Tabela 3.3 Reagentes e quantidades por 1L de solução de SBF (c-SBF) (Kim et al., 2001).

Reagentes	Quantidades
NaCl	8,036g
NaHCO ₃	0,352g
KCl	0,225g
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	0,238g
MgCl ₂ ·6H ₂ O	0,482g
HCl (1M)	20 (mL)
CaCl ₂ ·2H ₂ O	0,388g
Na ₂ SO ₄	0,072g
NaN ₃	0,5 (g/L)
TRIS	6,118g

Após imersão in SBF, as amostras foram lavadas com água deionizada seguido de desidratação com etanol e secagem em estufa a 100°C por 24h. Durante o experimento, tomou-se o cuidado de deixar as amostras sempre na mesma posição (com a face de maior dimensão paralela à superfície do líquido).

Para o teste de degradação, os discos foram pesados com precisão de $\pm 0,001$ antes e após imersão em SBF. A perda de massa (WL) foi calculada de acordo com a Equação 3.4, sendo W_0 a massa inicial da amostra e W_d a massa da amostra seca após os diferentes tempos de degradação (7, 14 e 21 dias). Cada medida foi realizada em triplicata e o valor médio dos valores foi calculado.

$$WL(\%) = [(W_0 - W_d) / W_0] \times 100 \quad (\text{Eq. 3.4})$$

3.4.3. Citotoxicidade

O estudo de citotoxicidade foi realizado no Laboratório de Células Tronco e Terapia Gênica da Universidade Luterana do Brasil (ULBRA) sob supervisão da Prof.^a Melissa Camassola.

Antes de realizar o ensaio, as amostras foram incubadas em SBF por sete dias, e após incubação, esterilizadas com óxido de etileno (Oxifume-20) utilizando um fluxo de 1000mg/L a uma temperatura de 55°C. O período de exposição foi de 5h e os materiais foram posteriormente aerados durante 24h utilizando o equipamento MiRAX, LUFERCO.

O ensaio de viabilidade celular foi realizado pelo método de contato direto de acordo com a norma ISO 10993-5 (1999), utilizando células mononucleares do sangue periférico (PBMCs). As PBMCs foram cultivadas em *Dulbecco's modified Eagle's Medium* (DMEM) (Sigma) com uma solução tampão de *HEPES* (Sigma) (ácido livre, 2,5-3,7 g/l), suplementado com 10% de soro fetal bovino (FBS) (Cultilab, São Paulo, Brasil), a 37°C em atmosfera de 5% CO₂ durante 24-48h. A suspensão celular foi ajustada para uma densidade de 10⁵ células em 0,5 ml de meio de cultivo e foi adicionada a cada poço contendo as amostras a ensaiar. Como controles positivo e negativo, Latex (1cm²) e meio de cultura foram utilizados respectivamente.

O número de células viáveis foi avaliado quantitativamente pelo teste de MTT (Mosmann, 1983). Decorrido o tempo de cultivo, 150µl de uma solução de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil brometo de tetrazolina (MTT) de concentração 3mg/mL foi adicionada para a extração das células, as quais foram cultivadas por 3h a 37°C. Em seguida, 100µl de dimetilsulfóxido (DMSO) foi adicionado a cada poço, e o produto final foi aspirado e medido colorimetricamente mediante medidas de absorvância no comprimento de onda de 540nm.

Os valores experimentais foram analisados estatisticamente utilizando o teste One-way ANOVA, seguido do teste de comparação múltipla de Tukey.

3.5. Técnicas de caracterização

3.5.1. Área superficial e distribuição de tamanhos de partículas

A área superficial específica das matérias primas foi determinada por adsorção de nitrogênio utilizando o método BET em um analisador Nova 1000. Enquanto a distribuição de tamanhos de partículas foi determinada por difração de laser em um analisador de partículas CILAS 1180 usando álcool isopropílico como dispersante.

3.5.2. Fluorescência de Raios X (FRX)

A técnica de FRX foi utilizada na análise semi-quantitativa das matérias primas sólidas usadas na síntese do α -TCP com o objetivo de determinar o conteúdo de Magnésio e Silício e estabelecer a temperatura de queima. A análise foi realizada utilizando as curvas de calibração de fosfatos para o DCPD e de carbonatos para o CaCO_3 em um espectrômetro sequencial de fluorescência de raios-X por comprimento de onda Shimadzu XRF-1800.

3.5.3. Difração de Raios X (DRX)

3.5.3.1. Análise qualitativa

A difração de raios X foi utilizada na caracterização qualitativa dos reagentes empregados; das matérias primas sintetizadas e dos fosfatos de cálcio obtidos nas diferentes etapas do estudo. Na obtenção dos difratogramas utilizou-se um difratômetro PHILLIPS® modelo X'Pert MPD com radiação de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$) e filtro de Ni ajustada a 40kV e 40mA. As medições foram realizadas com um passo angular de $0,05^\circ$ e um tempo de integração de 1s. O intervalo angular empregado (2θ) foi de 20 - 50° .

3.5.3.2. Análise quantitativa. Método do padrão interno

O método do padrão interno é baseado no fato de que a porcentagem em massa de fases presentes em uma dada amostra é diretamente proporcional à relação entre as intensidades dos picos no seu difratograma de difração de raios X (Cullity, 1977). Assim, pode ser utilizada a relação entre as intensidades do β -TCP e a de um padrão, por exemplo, o Al_2O_3 para determinar a porcentagem da fase beta no pó de α -TCP sintetizado segundo a seção 3.2.1.

A partir de amostras de composição conhecida de β -TCP e de Al_2O_3 , realizam-se medidas a fim de se construir uma curva $I_{\beta\text{-TCP}}/I_{\text{Al}_2\text{O}_3}$ vs fração mássica de β -TCP (Figura 3.1). Uma vez determinada a curva de calibração, utiliza-se a Equação 3.5 para calcular a fração em massa do β -TCP presente na amostra.

$$I_{\beta\text{-TCP}}/I_{\text{Al}_2\text{O}_3} = KW_{\beta\text{-TCP}} + A \quad (\text{Eq. 3.5})$$

Sendo:

$I_{\beta\text{-TCP}}$: Intensidade da linha de difração (2 1 0) do β -TCP. Área calculada por deconvolução de curvas ajustadas com a função Pseudo-Voigth.

$I_{\text{Al}_2\text{O}_3}$: Intensidade da linha de difração (1 0 4) do Al_2O_3 . Área calculada por deconvolução de curvas ajustadas com a função Pseudo-Voigth.

$W_{\beta\text{-TCP}}$: Fração mássica do β -TCP

K: coeficiente angular da reta na curva de calibração

A: constante igual ao coeficiente linear da reta na curva de calibração

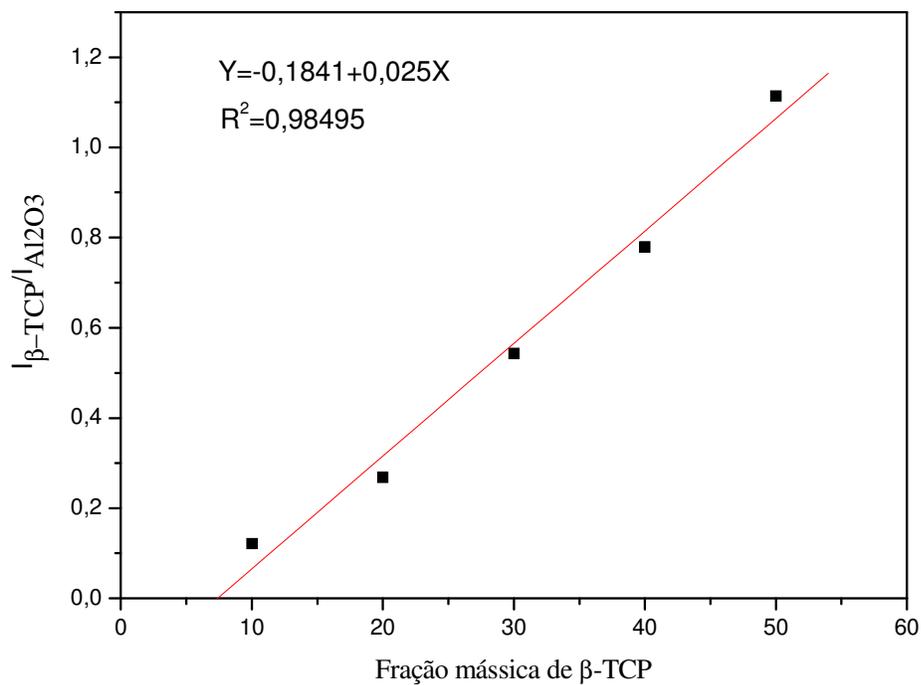


Figura 3.2 Curva de calibração da fase β -TCP para a análise quantitativa de Raios X.

Na obtenção dos difratogramas da curva de calibração foi utilizado o mesmo equipamento nas mesmas condições, sendo que as medições foram adquiridas com um passo angular de $0,02^\circ$ e um tempo de integração de 2s.

3.5.4. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As variações microestruturais durante o processo de hidratação do cimento e durante a imersão em SBF foram acompanhadas por microscopia eletrônica de varredura em um microscópio JEOL (JSM-6060). A composição química dos materiais foi analisada mediante Espectroscopia por Dispersão de Energia (EDS) em um microscópio JEOL-JSM 5800 acoplado a um analisador de Raios X da NORAN Instruments com capacidade de detecção de elementos entre B e U.

3.5.5. Resistência mecânica à compressão

Os ensaios de resistência à compressão foram realizados em máquina de teste universal de ensaios servo-hidráulica (MTS 810) utilizando uma célula de carga de 10kN e velocidade de 1mm/min. Os corpos-de-prova usados foram cilindros de 6mm de diâmetro por 12mm de altura. Foram ensaiados 10 corpos-de-prova por cada tempo de imersão (0; 7d; 14d) e os resultados foram tratados estatisticamente com o Student Multiple Comparison Test.

O ensaio de resistência mecânica permite determinar a carga máxima que suportam os corpos-de-prova. Assim, a resistência à compressão pode ser determinada em função da tensão de ruptura máxima, que por sua vez dependente da força atuante (F) na área efetiva da seção reta do corpo-de-prova (A) mediante a Equação 3.6.

$$\sigma = \frac{F}{A} \quad (\text{Eq. 3.6})$$

3.5.6. Espectrometria de Emissão Atômica com Plasma Indutivamente Acoplado (ICP)

Na determinação dos perfis de liberação de íons alumínio, cálcio e fósforo durante a imersão em SBF após 7 e 14 dias foi utilizada a técnica de ICP. As medições foram realizadas em um espectrômetro OPTIMA™ 2000 DV (ICP OES) da Perkim-Elmer e os comprimentos de onda utilizados foram: 396,53nm; P: 213, 617n e Ca: 317, 933nm.

3.5.7. Medidas de porosidade e densidade aparente

Para calcular a porosidade aparente das amostras foi utilizado o procedimento descrito na norma ASTM C 20-00 (2005) baseado no princípio de Arquimedes. A porosidade aparente (P_{ap}) foi calculada após determinação da massa seca (m_s), a massa úmida (m_u) e a massa imersa (m_i) de cada uma das amostras (Eq. 3.7) enquanto a densidade aparente (ρ_{ap}) foi calculada pela Equação 3.8, sendo $\rho_l=1$ por ser a água o líquido utilizado no ensaio.

$$P_{ap} (\%) = \frac{(m_u - m_s)}{(m_u - m_i)} \times 100 \quad (\text{Eq. 3.7})$$

$$\rho_{ap} = \frac{(m_s \times \rho_l)}{(m_s - m_i)} \quad (\text{Eq. 3.8})$$

4. Resultados e Discussão

4.1. Caracterização dos pós utilizados na preparação dos cimentos

4.1.1. Determinação da temperatura de tratamento térmico, obtenção e caracterização do α -TCP

A Figura 4.1 mostra o difratograma do CaCO_3 utilizado na síntese do α -TCP, onde pode ser observada a presença dos dois polimorfos mais comuns deste composto: a Calcita (JCPDS 24-0027) e a Aragonita (JCPDS 05-0453).

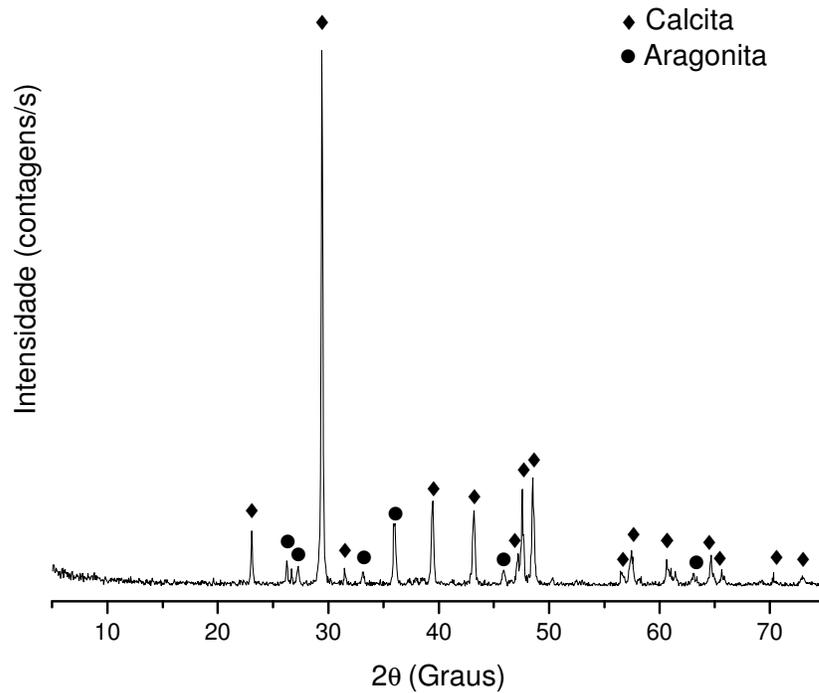


Figura 4.1 Difratograma de raios X do CaCO_3 utilizado na síntese do α -TCP.

A Figura 4.2 apresenta os difratogramas do DCPD antes da queima e após calcinação em diferentes tempos e temperaturas. O pó, inicialmente identificado como DCPD, apresentou picos característicos de DCPA (JCPDS 09-0080), sendo esta a única fase cristalina presente na amostra. A presença desta fase pode ser consequência da desidratação à temperatura ambiente do DCPD, segundo tem sido reportados por alguns autores (Elliot, 1994).

Após calcinação a 550°C/2h, observou-se a formação de γ -Ca₂P₂O₇ (JCPDS 15-0197). Contudo, a transformação não foi completada e tempos de patamar maiores (4h) ou temperaturas superiores (600°C) foram necessários para alcançar a total conversão. Nestas condições de queima, conjuntamente com o γ -Ca₂P₂O₇ foi observada a incipiente formação da fase β -Ca₂P₂O₇ (JCPDS 33-0297).

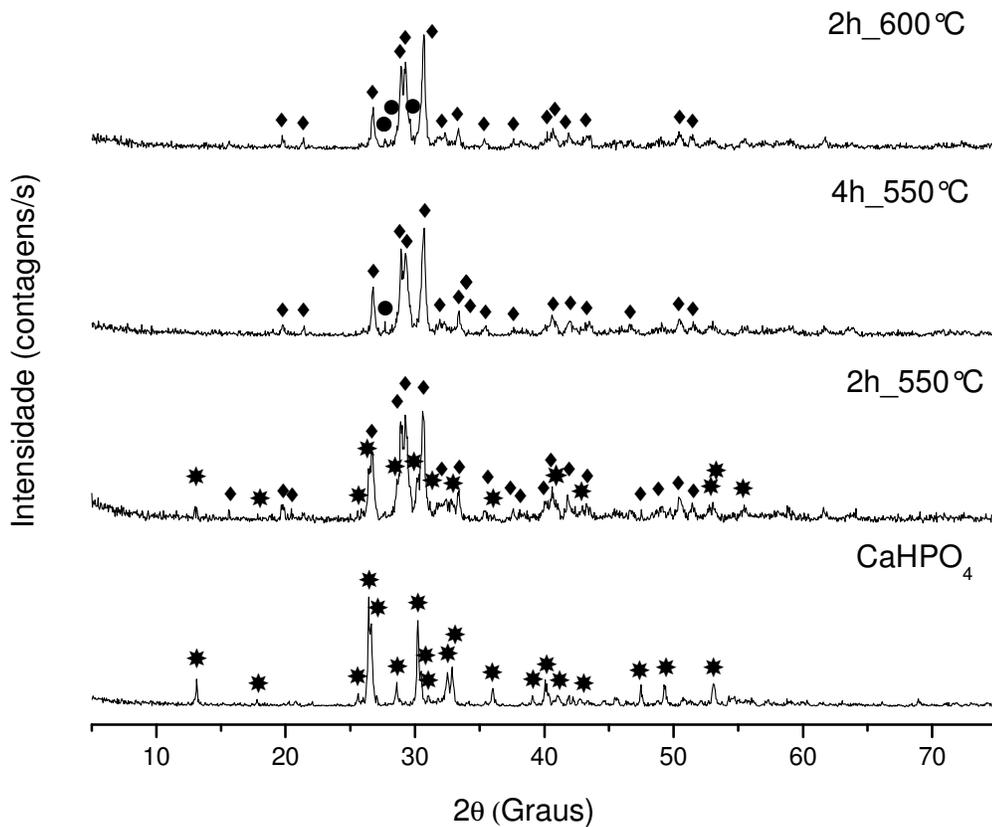


Figura 4.2 Difratograma de Raios X mostrando a decomposição térmica do DCPA em Ca₂P₂O₇. * β -Ca₂P₂O₇, \blacklozenge DCPA, \bullet γ -Ca₂P₂O₇.

Por tal motivo, ao ser utilizado o γ -Ca₂P₂O₇ obtido mediante calcinação a 550°C/2h, como reportado na literatura, para a síntese de α -TCP, (Santos, 2002) observaram-se grandes quantidades de hidroxiapatita no produto final como resultado da não estequiometria da reação e foi necessário um reajuste na relação Ca/P teórica durante a síntese, sendo então esta fixada a 1,45 para garantir a formação do fosfato tricálcico.

Levando em consideração que a presença de pequenas quantidades de Mg e Si nos reagentes empregados na síntese do α -TCP afetam a temperatura da transição $\beta \rightarrow \alpha$ (Enderle et al., 2005; Carrodeguas et al., 2008; Motisuke et al., 2008), foi realizada a análise semi-quantitativa para determinar as quantidades destas impurezas nos pós iniciais. Os resultados obtidos são mostrados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1 Resultados da análise semi-quantitativa de FRX. *Valores em % massa expressados como óxidos. nd=não detectado.

Elemento*	DCPA (%)	CaCO ₃ (%)	α -TCP (%)
Al ₂ O ₃	0,037	nd	0,096
CaO	41,5	55,8	53,2
Fe ₂ O ₃	0,057	0,036	0,051
K ₂ O	0,059	nd	0,045
MgO	0,20	0,30	0,28
P ₂ O ₅	50,5	0,056	45,1
SiO ₂	0,13	0,13	0,16
TiO ₂	0,011	0,003	0,013
SrO	0,039	0,22	0,094
Na ₂ O	0,093	0,007	0,07
Perda ao fogo	7,30	--	--

De acordo aos resultados da análise semi-quantitativa e segundo o diagrama de fases do sistema Mg(PO₄)₂-Ca₃(PO₄)₂ apresentado na Figura 4.3, para uma percentagem de aproximadamente 0,3% em massa (0,75% mol) deveria ser possível a obtenção de α -TCP livre do polimorfo β -TCP a temperaturas próximas a 1400°C.

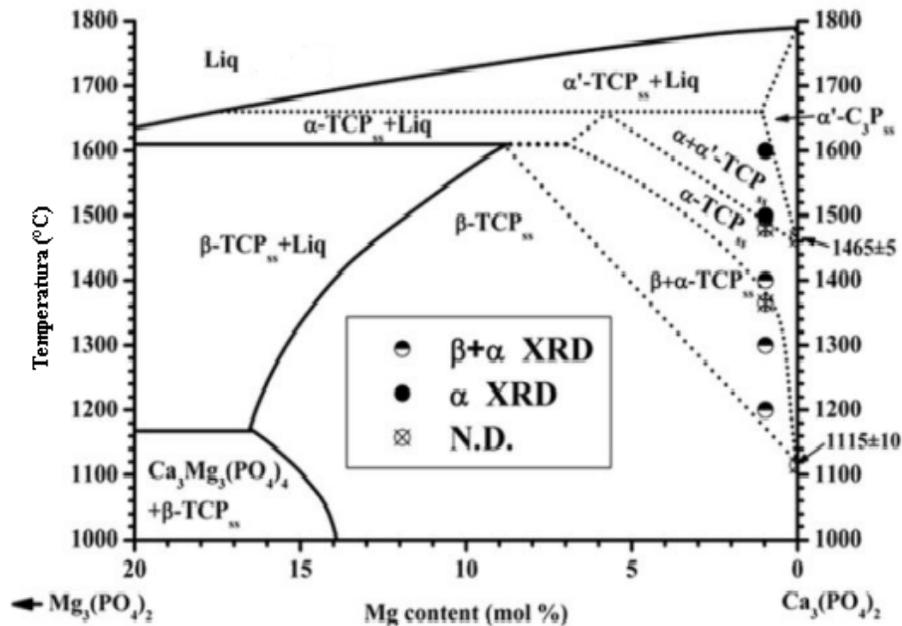


Figura 4.3 Diagrama de fases do sistema Mg(PO₄)₂-Ca₃(PO₄)₂. (Carrodeguas et al., 2008).

Segundo os resultados obtidos mediante DRX, após queima a diferentes temperaturas (Figura 4.4), o α-TCP começa a formar-se a partir de 1250°C e torna-se a fase cristalina majoritária a 1300°C, acompanhado do β-TCP em menor quantidade. A análise semiquantitativa realizada mediante o método do padrão interno mostrou que, nessa temperatura, a quantidade de β-TCP presente é de aproximadamente 18,17%, valor similar ao reportado por vários autores para métodos de síntese similares (Fernandez et al., 1995; Ginebra et al., 1997; Motisuke, 2010).

A temperaturas superiores a 1300°C (Figura 4.5), junto à fase α-TCP precipitam HA (JCPDS 09-0432) e OCP (JCPDS 26-1056), esta última fase apenas visível no difratograma, porém, detectada mediante o *software* X'Pert Graphic& Identifier.

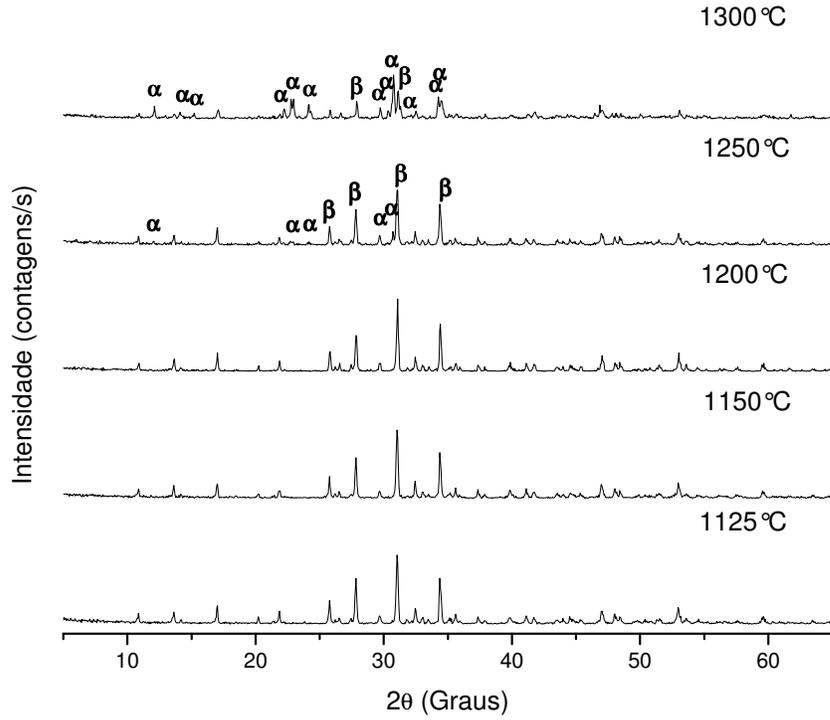


Figura 4.4 Difratoograma de Raios X do α -TCP em função da temperatura de síntese.

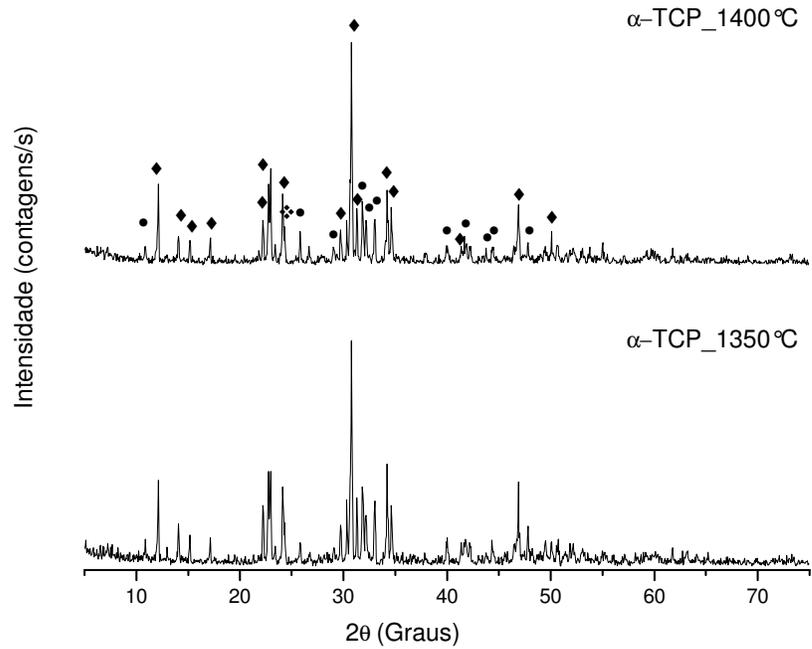
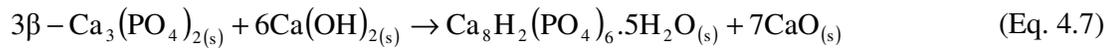
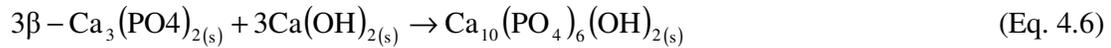
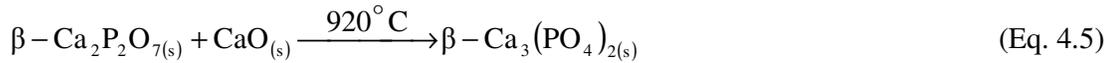
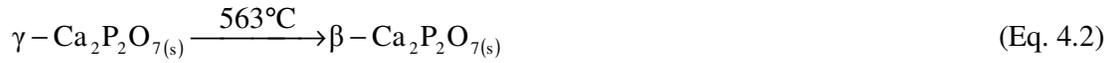
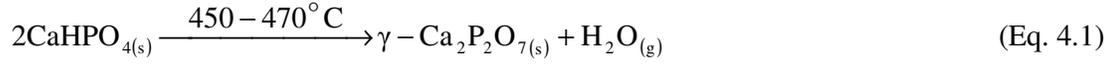


Figura 4.5 Difratoograma de raios X do α -TCP a 1350°C e 1400°C. \blacklozenge α -TCP, \bullet HA, \blacklozenge OCP.

A formação indesejada destas duas fases poderia ser explicada devido à presença de pequenas quantidades de DCPA na matéria prima e segundo o seguinte esquema de reações:



Baseado na análise qualitativa e semi-quantitativa obtida mediante DRX para as diferentes temperaturas de queima e em comparação com os dados recolhidos na literatura, a temperatura de síntese do α -TCP foi fixada em 1300°C. A Figura 4.6 mostra o difratograma do α -TCP utilizado nas diferentes formulações após mistura de todos os lotes sintetizados.

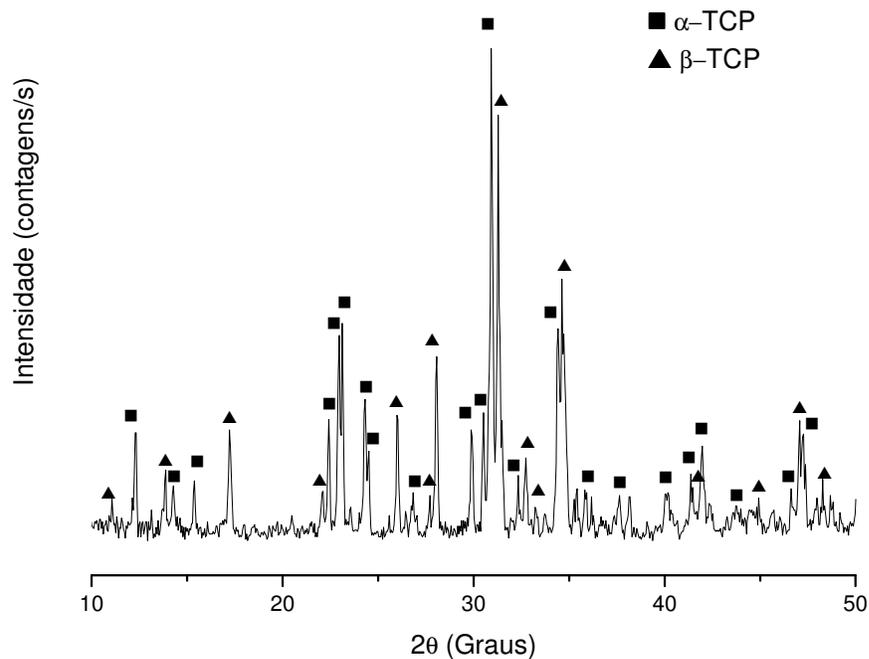


Figura 4.6 Difratoograma de raios X do α -TCP.

A presença de β -TCP como fase indesejada em pós de α -TCP obtidos por diversos métodos tem sido reportada na literatura (Famery et al., 1994; Fernández et al., 1995; Tampieri et al., 1997) e poucos são os registros sobre a obtenção de α -TCP puro (Volkmer et al., 2009). Os materiais mais puros alcançados até o momento continham aproximadamente um 5% em massa de β -TCP e foram reportados por Bermúdez (Bermúdez et al., 1994) e Motisuke (Motisuke et al., 2008). No primeiro caso, o fator determinante na síntese foi a rápida velocidade de resfriamento, enquanto que no segundo método os resultados alcançados foram atribuídos à preparação de matérias primas livres de magnésio.

Após 120min de moagem, o pó apresentou uma distribuição bimodal de tamanhos de partícula devido à presença de duas fases de diferente dureza: fase alfa e fase beta, sendo esta última a fase de menor dureza e conseqüentemente a de menores tamanhos de partícula. Os valores de interesse obtidos desta análise foram d_m : 8,08 μ m; d_{90} : 16,64 μ m; d_{50} : 7,29 μ m; d_{10} : 0,96 μ m o que está de acordo com os valores adequados reportados na literatura que sugerem a utilização de pós com tamanhos de partículas médios inferiores aos 10 μ m a fim de otimizar

a relação L/P que determina os tempos de pega e propriedades finais do cimento (Ginebra et al., 1996).

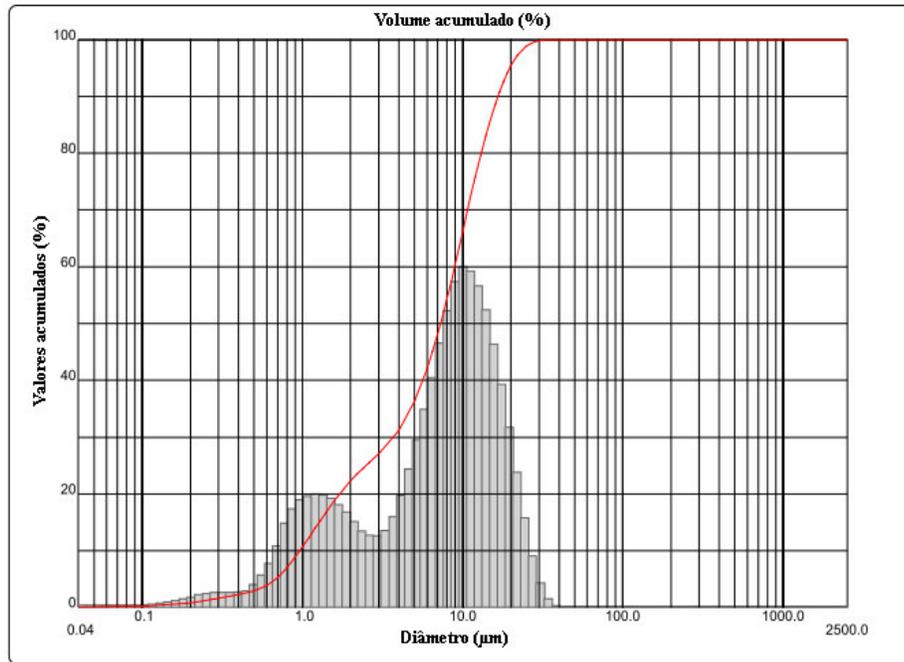


Figura 4.7 Distribuição granulométrica do α -TCP após 2h de moagem em meio alcoólico.

A Tabela 4.2 apresenta um resumo das principais características do pó de α -TCP sintetizado e utilizado nas diferentes formulações avaliadas durante o estudo. As propriedades apresentadas são uma média de todos os lotes obtidos durante o desenvolvimento do trabalho.

Tabela 4.2 Principais resultados da caracterização do α -TCP.

	Relação Ca/P	Análise Quantitativa (% em masa)		Diâmetro médio (μm)	Área Superficial (m^2/g)
α -TCP	1,5	α -TCP	81,83	8,08	5,51
		β -TCP	18,17		

4.1.2. Monoaluminato de cálcio. (CaAl_2O_4)

A Figura 4.8 mostra o padrão de difração do CA após sinterização a 1000°C . Nele, pode ser observada a presença de CaAl_2O_4 monoclinico (JCPDS 23-1036) como fase majoritária em coexistência com pequenas quantidades de CaAl_4O_7 (JCPDS 23-1037).

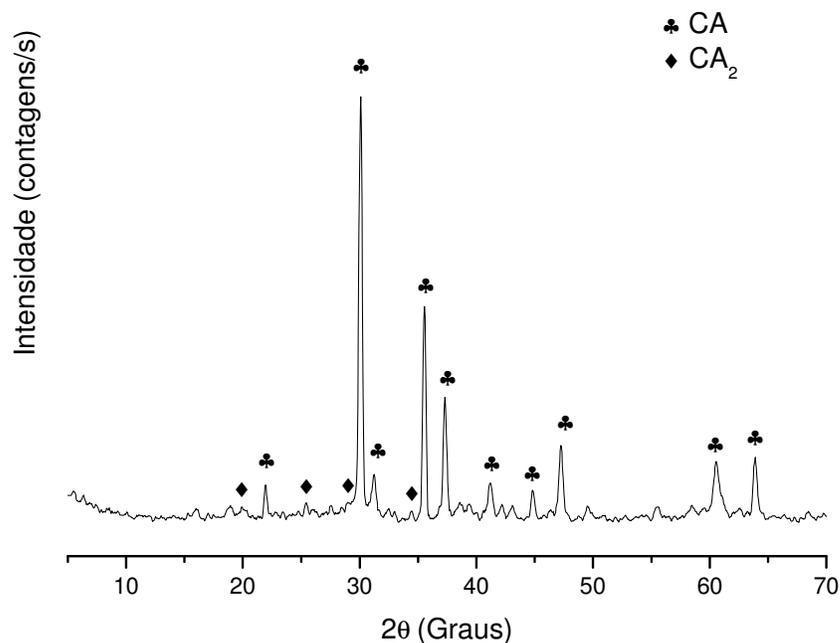
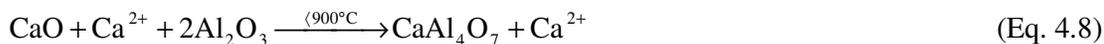


Figura 4.8 Difratoograma de raios X do CA após sinterização a 1000°C.

De maneira geral, durante a obtenção de CA por reações ao estado sólido, o CA₂ é formado como fase intermediária e pode aparecer como impureza no produto final (Rivas et al., 2005). No entanto, a presença de CA₂ no produto final obtido via Pechini pode ser explicada levando em consideração a maior reatividade dos íons Ca²⁺ em meio aquoso. Os mesmos podem sofrer uma complexação preferencial na rede polimérica e ficar retidos no carbono pirolisado durante o processo de decomposição a uma temperatura de cerca de 900°C. Assim, o excesso de Al³⁺ na matriz promove a formação inicial de fases ricas em alumínio, como o CA₂, que posteriormente reagem com o cálcio liberado durante a decomposição térmica do carbono para obter como produto final o CA (Gülgün et al., 1994). O processo pode ser descrito segundo as equações:



Segundo esta teoria, a presença de oxigênio no sistema durante o processo de queima, favoreceria a formação de CA, em detrimento da concentração de CA₂.

Na técnica original, para a obtenção do CA puro, é necessário realizar uma pre-sinterização a 400°C e posterior sinterização a 1000°C (Gaki et al., 2007). No entanto, na prática foi necessária uma segunda queima na temperatura de sinterização para remover traços de carbono aprisionados no interior do produto final, sendo adotado este esquema de calcinação nas sínteses posteriores. A Tabela 4.3 apresenta um resumo das principais características do CA sintetizado.

Tabela 4.3 Principais resultados da caracterização do CA.

	Análise Qualitativa	Diâmetro médio (µm)	Área Superficial (m²/g)
CA	CaAl ₂ O ₄ CaAl ₄ O ₇	7,0	11,88

4.1.3. Silicato tricálcico. (Ca₃SiO₅)

O padrão de difração do C₃S após sucessivas calcinações a 1400°C (Fig. 4.9) mostrou a presença de C₃S como fase cristalina majoritária (JCPDS 13-0209, 09-0352) e pequenas quantidades do CaO (JCPDS 37-1497), embora a reação tenha acontecido em condições estequiométricas. Visualmente, não foi possível a identificação das linhas de difração correspondentes ao Ca₂SiO₄ (JCPDS 33-0302) devido à proximidade dos picos de difração deste composto com os do C₃S. No entanto, a presença desta fase foi detectada mediante o uso do software X'Pert Graphic& Identifier.

O C₃S é uma fase metaestável de alta reatividade à temperatura ambiente; normalmente a produção da fase pura é dificultada pela ausência de fase líquida que acelera a difusão de íons em direção ao C₂S no clínquer (Lea, 1970). Segundo o diagrama de fases do sistema CaO-SiO₂ (Fig. 4.10), o C₂S é o primeiro composto formado, de maneira que, em misturas estequiométricas, toda a sílica combinada está presente na forma de 2CaO.SiO₂ a 1200°C. A formação do C₃S se inicia a temperaturas da ordem de 1400°C, seguindo estável até 1500°C (Soares et al., 2003).

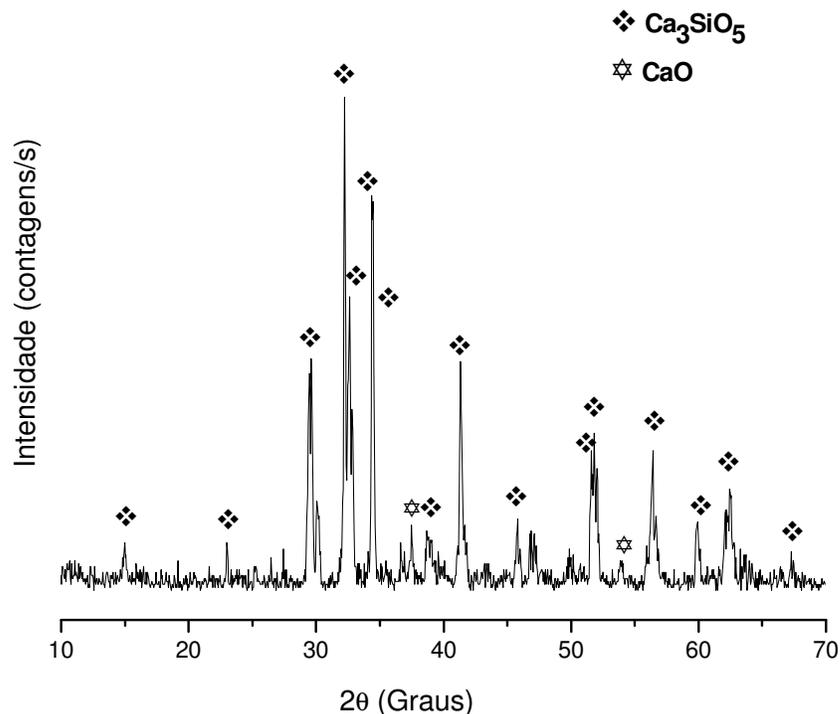


Figura 4.9 Difratoograma de raios X do C_3S 48h de sinterização, moagem intermediária e resfriamento brusco.

A maior estabilidade do C_3S ocorre em temperaturas acima de $1400^{\circ}C$, de maneira que, a temperaturas mais baixas, essa fase tende a se decompor em CaO e C_2S o que explicaria a presença destas fases no difratograma. Na obtenção de altos teores de C_3S podem ser utilizadas elevadas taxas de resfriamento (ou resfriamento brusco), evitando assim a decomposição da fase (Soares et al., 2003). Alguns experimentos foram realizados baseados neste princípio, no entanto não foram observadas diferenças significativas com o processo normal de queima, sem resfriamento brusco.

Os resultados obtidos diferem dos resultados relatados por alguns autores, em que C_3S pode ser obtido pelo método sol-gel livre de CaO após 2h de calcinação a $1400^{\circ}C$ (Zhao & Chang, 2004). A Tabela 4.4 apresenta os resultados da caracterização do C_3S .

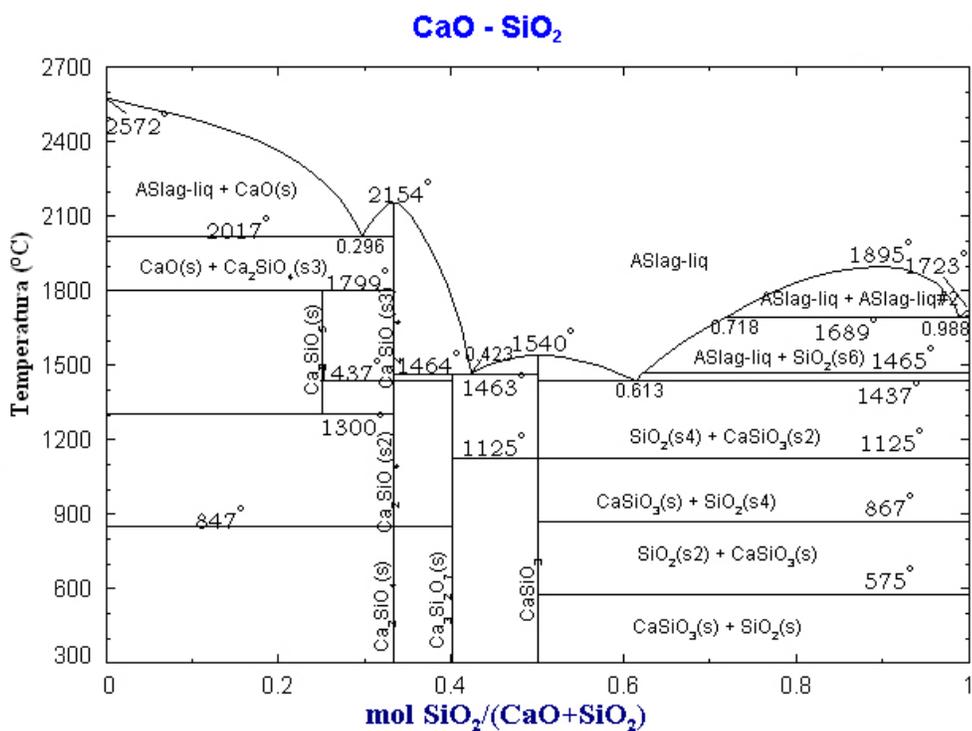


Figura 4.10 Diagrama de fases do sistema CaO-SiO₂.

Tabela 4.4 Principais resultados da caracterização do C₃S.

	Análise Qualitativa	Diâmetro médio (µm)	Área Superficial (m ² /g)
C ₃ S	Ca ₃ SiO ₅	7,11	5,46
	Ca ₂ SiO ₄		
	CaO		

4.2. Desenvolvimento e caracterização dos cimentos ósseos mistos

4.2.1. Sistema α-TCP convencional

Na preparação do cimento convencional foi utilizado o pó de α-TCP misturado com uma solução de 2,5% em massa de Na₂HPO₄ e uma relação L/P=0,4 mL/g. Esta relação é

ligeiramente superior aos valores reportados na literatura de 0,32mL/g para formulações similares (Driessens et al., 1994; Fernández et al., 1995; Ginebra et al., 1997; Santos, 2002) devido à maior quantidade de pó fino obtido durante a moagem que precisa de mais líquido para alcançar uma boa molhabilidade.

Os tempos de pega inicial e final do cimento foram superiores aos reportados na literatura para formulações similares (Driessens et al., 1998). Os valores obtidos foram de 17 minutos e 40 minutos respectivamente, o que restringe o uso desta formulação em aplicações imediatas (Ginebra et al., 1994). Os tempos de pega iniciais dos CPC usualmente variam de 5 a 8 minutos quando é utilizada um sal de fosfato neutro como o Na_2HPO_4 ou o NaH_2PO_4 como parte da solução líquida (Fernández et al., 1994; Ambard & Meuninghoff, 2006). A presença de grandes quantidades de β -TCP pode provocar um retardo na reação de hidratação, e conseqüentemente nos tempos de pega, devido a que esta fase não participa do processo de formação de hidroxiapatita. Por outro lado, a maior relação L/P utilizada e a ausência de outros aditivos capazes de acelerar a reação de pega, como pequenas quantidades de hidroxiapatita precipitada (PHA) (Ginebra et al., 1995), podem ter contribuído ao incremento dos tempos de pega, explicando assim as diferenças encontradas.

Embora o tempo de pega forneça informações sobre as taxas de reação inicial, ele não indica as extensões ou taxas de reação do cimento. A evolução da reação de pega do cimento pode ser acompanhada qualitativamente por difração de raios X segundo se mostra na Figura 4.11. Após 24h de pega, a reação de hidratação do α -TCP ainda não foi completada e, junto às principais linhas de CDHA (JCPDS 46-0905), podem ser observados alguns picos correspondentes ao α -TCP sem reagir. Somente após sete dias de imersão em SBF, o pico mais intenso do α -TCP desaparece, permitindo concluir que, só após este tempo, a conversão $\alpha \rightarrow$ CDHA aparentemente está completada. O difratograma também mostra a presença da fase β -TCP que não participa na reação e permanece inalterada durante todo o processo.

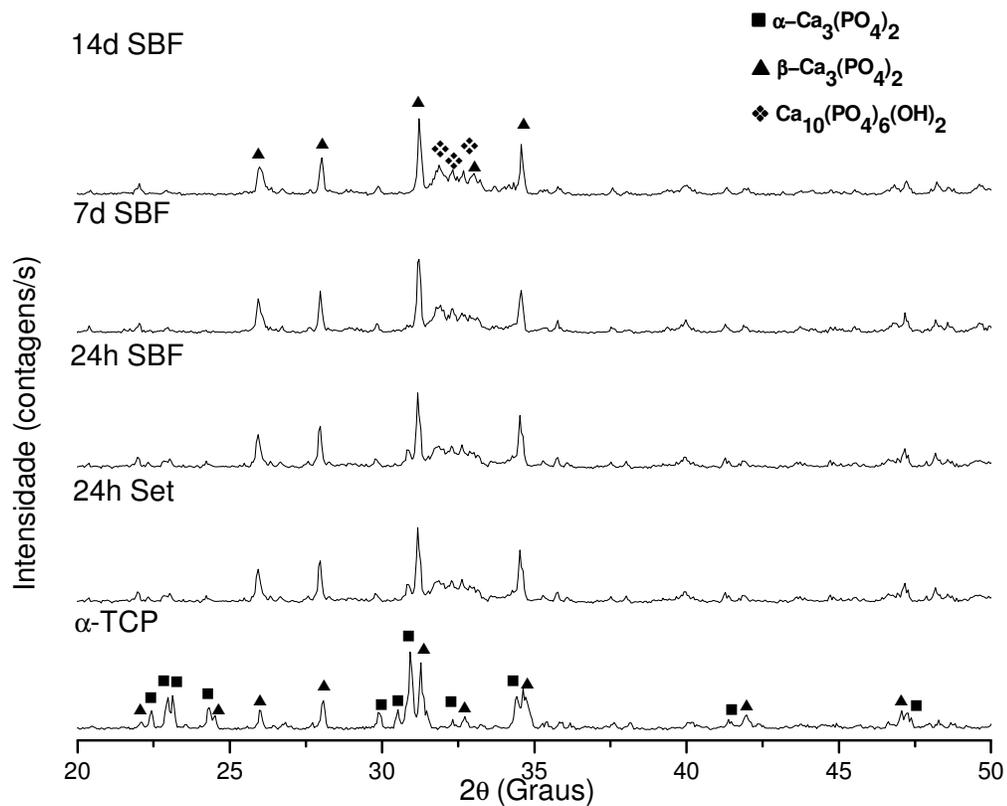


Figura 4.11 Evolução da reação de hidratação do α -TCP após 14d de imersão em SBF.

A Tabela 4.5 mostra os valores de porosidade aparente, densidade aparente e resistência à compressão do cimento α -TCP antes e depois de imersão em SBF por um período de 7 e 14 dias. Após imersão em SBF, a porosidade aparente aumenta provavelmente como resultado da dissolução das partículas de α -TCP e, conseqüentemente, os valores médios da resistência mecânica diminuem.

Tabela 4.5 Principais resultados da caracterização do cimento de α -TCP.

Formulação	Tempo de imersão (dias)	Porosidade Aparente (%)	Densidade Aparente (g/cm ³)	Resistência a compressão (MPa)
α -TCP	0	38,32±1,56	1,59±0,04	16,92±2,99
	7	42,61±1,60	1,58±0,04	14,39±2,49
	14	42,11±1,67	1,60±0,05	13,09±1,76

A reação de pega começa com a dissolução das partículas de α -TCP na fase líquida do cimento. A fase líquida passa a receber íons Ca e P até se tornar sobresaturada nestes íons precipitando assim a fase mais estável, CDHA, sobre a superfície das partículas de α -TCP, por ser o local de maior concentração de íons e também o de menor energia superficial. As partículas de α -TCP continuam a solubilizar, entretanto os íons têm agora de vencer a barreira de CDHA precipitada, que se torna mais espessa à medida que a reação de pega evolui (Ginebra et al., 1997). No final da reação, quando praticamente todo α -TCP foi consumido, haverá uma casca de hidroxiapatita (CDHA) com um vazio em seu interior (Grãos de Hadley), local onde originalmente se encontrava a partícula de α -TCP totalmente solubilizada (Hadley et al., 2000).

O aumento da resistência mecânica dos cimentos ocorre em consequência da formação do entrecruzamento dos cristais de hidroxiapatita precipitados após solubilização do α -TCP (Gruninger et al., 1984). De maneira geral, a resistência a compressão dos CPC aumenta com o aumento do tempo de imersão em SBF devido ao crescimento e entrelaçamento destes cristais. No entanto, devido ao retardo na hidrólise do α -TCP, a precipitação e crescimento dos cristais são tardios, e os materiais apresentam valores de resistência inferiores aos reportados na literatura para iguais tempos de imersão (Ginebra et al., 1997; Santos, 2002). Por outro lado, a presença de β -TCP (Bermúdez et al., 1994; Nakagawa et al., 2007) e de aceleradores como o Na_2HPO_4 (Ginebra et al., 1994) também podem produzir uma diminuição das propriedades mecânicas.

Não foram observadas variações significativas nos valores de densidade aparente durante a imersão. Segundo o esperado, a densidade deveria diminuir como consequência do aumento da porosidade; no entanto, o valor permaneceu praticamente invariável. Uma possível explicação para estes resultados seria a presença de alguns poros fechados nos corpos-de-prova que provocariam erros na determinação do volume aparente.

A Figura 4.12 apresenta os resultados do estudo de degradação do cimento após 21 dias de imersão em SBF. No gráfico pode-se observar que o cimento experimenta um ganho de massa desde a primeira semana de imersão, continuando o incremento de massa até o fim do experimento.

As alterações na massa do cimento são consequência da variação combinada da dissolução da matriz e da formação da nova camada de apatita. Os CPC tradicionais usualmente apresentam baixas taxas de degradação e com frequência experimentam um ganho de massa

após longos períodos de imersão como resultado de hidrólise tardia do α -TCP ou devido à formação de apatita sobre a superfície das amostras (Ishikawa et al., 1994; Liu et al., 2008). Por outro lado, a cinética da hidrólise do α -TCP é mais lenta em SBF que em água deionizada (TenHuisen & Brown, 1998; Wei et al., 2007) o que, somado ao fato do retardo inicial do processo de precipitação de CDHA, devido à presença de β -TCP, permite explicar as variações de massa observadas.

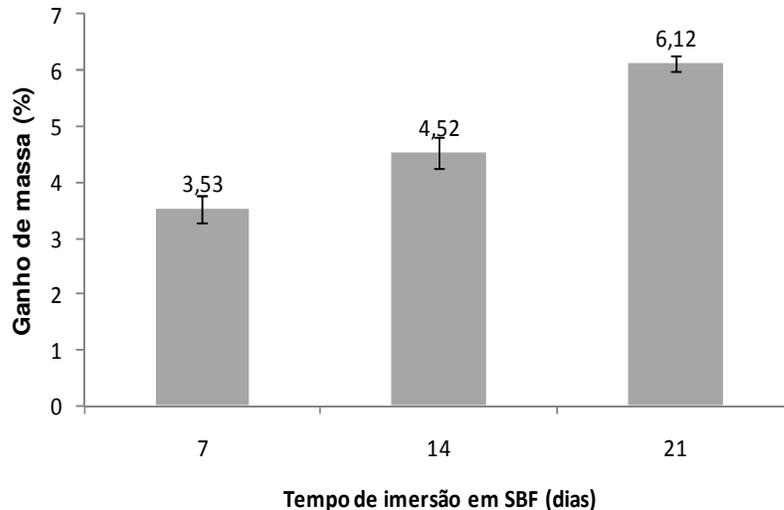


Figura 4.12 Variação da massa do cimento α -TCP após imersão em SBF por vários períodos de tempo.

Sendo a CDHA o principal produto na hidratação do cimento baseado em α -TCP, resulta difícil prever a capacidade deste material em induzir a deposição de apatita em SBF. No entanto, a observação da microestrutura por MEV é um método eficaz para estimar a bioatividade dos materiais, tendo em vista que os cristais de CDHA precipitados como resultado da hidratação do α -TCP apresentam uma microestrutura diferente às camadas de CDHA depositadas a partir da solução de SBF.

A Figura 4.13 mostra a evolução da microestrutura da superfície do cimento durante a imersão em SBF. Antes da imersão, 24h após pega (Fig. 4.13a) pode ser observada uma fina camada de pequenos cristais de CHDA depositados sobre os maiores grãos de α -TCP. Neste estágio, as partículas de α -TCP de menor tamanho foram dissolvidas totalmente e a camada de CHDA produz um retardo na reação de hidrólise (Ginebra et al., 1997). Após 24h em SBF, a superfície dos cimentos aparece lisa devido à dissolução das fases presentes. Para tempos de imersão superiores (Fig. 4.13c) são observados cristais petalóides e em forma de hastes,

similares aos encontrados na superfície de fratura, enquanto para tempos superiores (Fig. 4.13d) é possível observar a formação de uma camada de CDHA de estrutura globular característica de materiais bioativos quando imersos em SBF (Li et al., 1993; Carrodeguas et al., 1997; Kokubo, 2006). O tempo de deposição desta camada foi o mesmo que o observado para a deposição de osso neoformado na superfície de implantes de CPC durante experimentos *in vivo* (Duan et al., 2005).

Embora tenham sido tomadas medidas para manter condições assépticas durante o todo o estudo, não foi possível evitar a contaminação superficial das amostras por colônias de bactérias Bacillis e Cocci. Este fato é muito comum em amostras cobertas com apatitas imersas em SBF por mais de 4 dias, devido que o SBF, à temperatura fisiológica, é um meio ideal para o crescimento bacteriano, a menos que medidas muito rigorosas sejam tomadas (autoclave, radiação UV, etc.) (Gil et al., 2002).

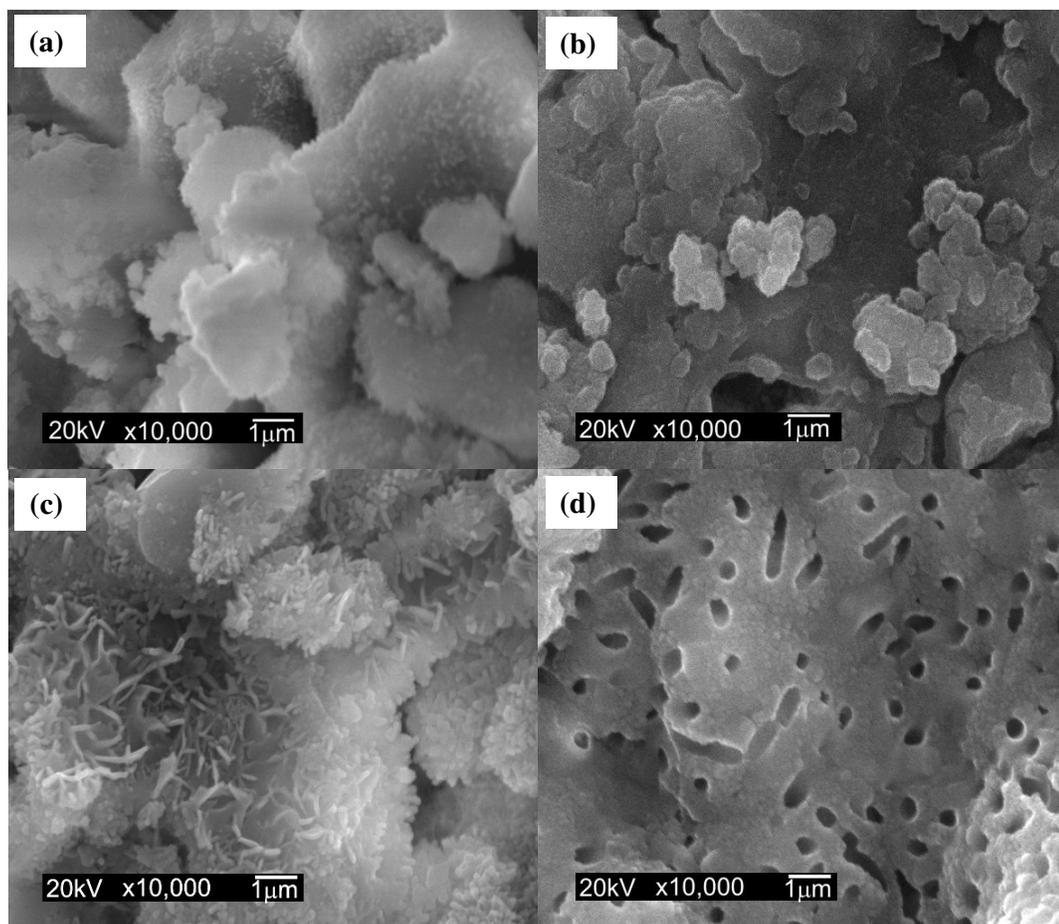


Figura 4.13 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF, (c) 7d em SBF e (d) 14d em SBF.

As micrografias da superfície de fratura do cimento antes e durante a imersão em SBF são mostradas na Figura 4.14. Antes da imersão em SBF, 24h após pega, (Fig. 4.14a) podem ser observados cristais petalóides crescendo em forma de rede emaranhada, característicos de cimentos baseados em α -TCP (Driessens et al., 1997). Com a imersão em SBF (Fig. 4.14b-d), os cristais crescem nos interstícios da superfície de fratura, a expensas dos inicialmente formados, e observa-se uma mudança na microestrutura como consequência da maior cristalinidade, sendo observados cristais em forma de hastes. Ainda, após vários dias de imersão, é possível observar na superfície de fratura algumas partículas de α -TCP ou β -TCP sendo cobertas por cristais de CDHA (Fig. 4.14c e 4.14d).

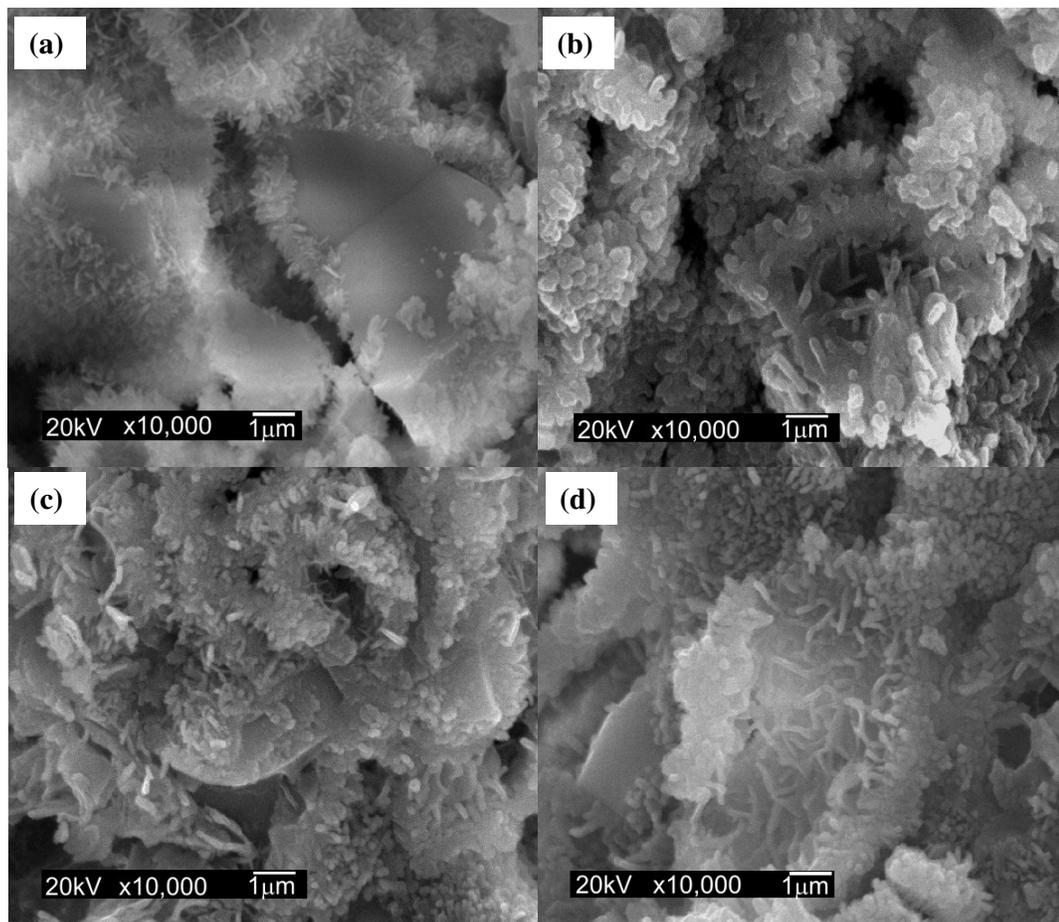


Figura 4.14 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF, (c) 7d em SBF e (d) 14d em SBF.

Usualmente, após pega, cristais em forma de agulhas ou pétalas precipitam e crescem epitaxialmente, sendo os responsáveis pela aderência e entrecruzamento dos grãos, o que resulta na pega do cimento. Com o tempo, a microestrutura muda a formato de hastes, como resultado da maior cristalinidade e uma maior quantidade de cristais preenchendo os vazios que podem ser altamente compactos em algumas áreas de alta densidade e mais separados em áreas com maior porosidade (Ambard & Meuninghoff, 2006). Diferentemente do crescimento epitaxial observado em cimentos baseados em TTCP e DCP (Brown et al., 1991), os cristais de CDHA não crescem diretamente na superfície das partículas de α -TCP, mas há um vazio entre os cristais e as partículas de α -TCP. Por esse motivo, pode ser observada em quase todos os tempos de imersão a presença de uma casca vazia de CDHA, dentro da qual têm reagido os grãos de α -TCP.

As mudanças experimentadas no pH do cimento após imersão em SBF podem ser observadas na Figura 4.15. As medições foram realizadas na própria solução de SBF e os resultados mostraram pequenas variações não significativas nos valores de pH durante o ensaio, mantendo-se os valores próximos ao pH fisiológico.

Segundo a literatura, ao começar o processo de hidratação, o sistema α -TCP- H_2O experimenta um aumento de pH (9,6) devido à dissolução inicial das partículas de α -TCP. Nos primeiros estágios da reação, este valor diminui gradualmente em meio aquoso até 8,6, como consequência do lento processo de hidratação do α -TCP (Fernández et al., 1999). Entretanto, como o α -TCP possui uma relação Ca/P inferior à da HA, durante a hidrólise pode ocorrer também à formação de H_3PO_4 o que explicaria a diminuição do pH nas primeiras 24h após imersão em SBF (Santos et al., 2002). Com o tempo, o H_3PO_4 pode reagir com os íons Ca^{2+} presentes na solução, produzindo novamente HA, uma vez que este composto é o menos solúvel a $pH \geq 4,2$. Contudo, este comportamento não foi observado no material estudado.

O pH do cimento é o fator principal que controla a dissolução de íons Ca^{2+} e PO_4^{3-} na solução do cimento, afetando grandemente a taxa da reação da pega. Outros parâmetros que podem afetar o pH durante a pega incluem a composição química dos principais constituintes do cimento (Fernández et al., 1994; Fernández et al., 1996; Doi et al., 1987; Brown et al., 1991), a proporção relativa dos reagentes na mistura (Monma et al., 1988), o tamanho de partícula dos componentes (Chow et al., 1991), o tamanho de partícula das sementes adicionadas (Bermúdez et al., 1994), o uso de aceleradores ou retardadores da pega e as

proporções usadas (Fernández, 1994; Doi, 1987; Tenhuisen, 1994), a relação L/P (Takezawa, 1987) e a temperatura (Monma, 1976).

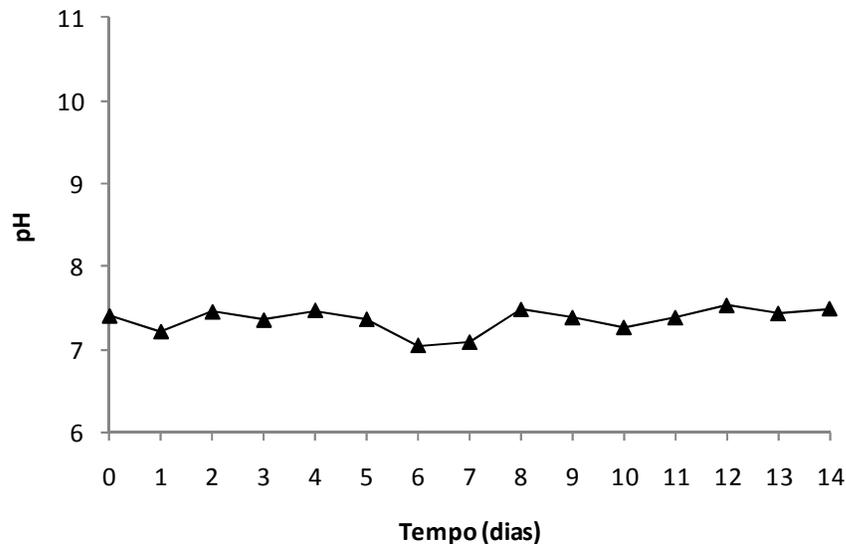


Figura 4.15. Evolução do pH em SBF do cimento de α -TCP.

O primeiro nível de testes na avaliação da biocompatibilidade dos biomateriais é a determinação da citotoxicidade *in vitro*. Quando comparado com investigações *in vivo*, este método apresenta melhor reprodutibilidade e pode ser controlado mais facilmente. A avaliação da citotoxicidade *in vitro* nem sempre representa o comportamento real do material quando implantado; no entanto, pode fornecer resultados rápidos a respeito das interações do material em ambientes biológicos.

Para a maioria das células humanas, é geralmente aceito que uma exposição a longo prazo, quer em meio ácido ($\text{pH} \leq 6,0$) ou básico ($\text{pH} \geq 9,0$) teria um efeito adverso sobre o crescimento e proliferação das células (Harrison & Rae, 1977). Por tal motivo, para realizar o estudo, o cimento de α -TCP foi previamente incubado durante sete dias em SBF, uma vez que o processo de hidratação é concluído aproximadamente neste período e durante a hidratação podem ocorrer mudanças no pH que afetam o crescimento celular.

O cimento de α -TCP mostrou uma leve resposta citotóxica (Fig. 4.16), uma vez que o número de células viáveis foi menor que o apresentado pelo controle negativo. Entretanto, este aumento não foi estatisticamente significativo nem mesmo após 24h de cultivo e os materiais podem ser considerados como não citotóxicos. O leve aumento na citotoxicidade pode

ser atribuído à liberação de íons decorrente da continuação da reação de hidratação do cimento (dissolução do α -TCP e precipitação de apatita) durante imersão no meio de cultivo, induzindo uma alteração no pH do meio e influenciando na viabilidade celular.

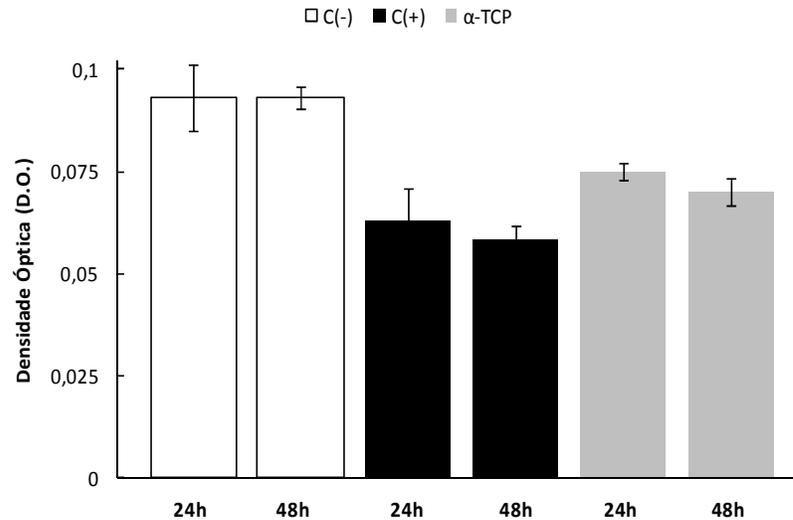


Figura 4.16 Viabilidade celular das PBMCs após cultivo por 24 e 48h.

4.2.2. Sistema α -TCP/CA

4.2.2.1. Avaliação da bioatividade do CA/ Na_2HPO_4

A química dos CAC é complexa como discutido anteriormente na revisão da literatura. O cimento Doxadent utilizado na área odontológica é baseado no SECAR 71[®] (mistura de CA e CA_2) com pequenas adições de sílica e cimento Portland (Kraft, 2002). Estas composições também contêm um sal de lítio, numa concentração aproximada de 30-90ppm, o que permite acelerar o processo de pega, e 15% de ZrO_2 para alcançar uma radiopacidade adequada. A maioria destas formulações apresenta 28% de Al_2O_3 inerte, o que produz um incremento na relação L/P durante a mistura e influi na taxa de hidratação dos materiais (Kraft & Hermansson, 2004).

Segundo alguns autores, compostos contendo Al_2O_3 na estrutura não são capazes de induzir a formação de uma camada superficial de apatita quando imersos em SBF (Kitsugi et al., 1989; Kokubo et al., 1990). No entanto, estudos mais recentes têm demonstrado que os

cimentos baseados nas fases puras CA e/ou CA₃ são bioativos e permitem a formação de uma camada superficial de hidroxiapatita em presença de SBF, ainda em tempos inferiores aos observados para os cimentos tradicionais (Oh et al., 2003; Oh et al., 2004).

Com o intuito de verificar o possível potencial bioativo deste aditivo, foi realizado um estudo preliminar sobre o comportamento de um cimento baseado em monoaluminato de cálcio em condições similares às do cimento convencional de α -TCP. Um estudo anterior realizado pelos mesmos autores reportou a possibilidade da precipitação de uma camada de apatita durante a imersão em SBF, baseado nos resultados dos perfis de liberação de íons Ca e P; no entanto, não foi observada a formação de CDHA nas superfícies das amostras (Morejón-Alonso et al., 2009).

Como discutido anteriormente, durante a hidratação do CA a temperaturas próximas a 37°C, junto com o AH₃ deve precipitar o hidrato mais estável CAH₆. Devido à lenta cinética de formação do mesmo, por vezes é possível detectar a presença de pequenas quantidades dos hidratos metaestáveis CAH₁₀ e C₂AH₈. Estas estruturas geralmente são observadas nas superfícies de fratura dos materiais (Heikal et al., 2004; Nilforoushan & Talebiaan, 2007) enquanto morfologias folhadas são características das superfícies dos CAC (Oh et al., 2003). A Figura 4.17 apresenta as morfologias típicas dos principais hidratos de alumínio obtidos durante a hidratação de pastas de cimentos (Parr, 2008).

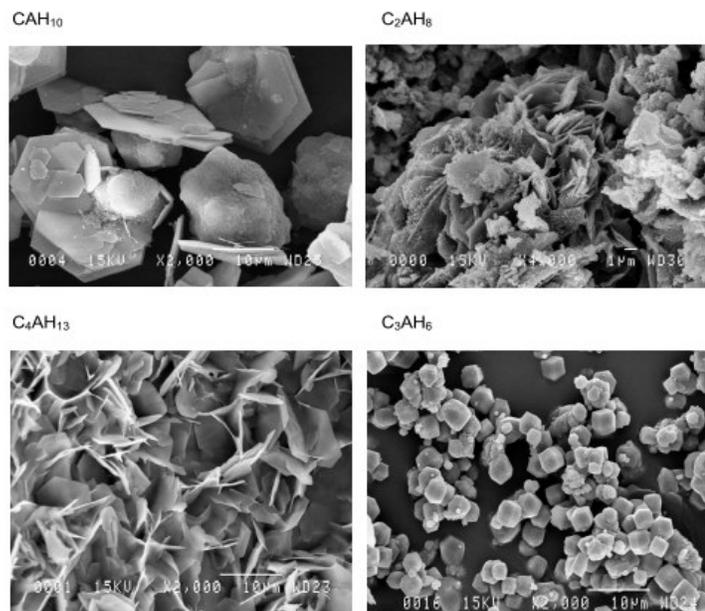


Figura 4.17 Micrografias eletrônicas de varredura mostrando a morfologia dos diferentes hidratos de alumínio (Parr, 2008).

Durante a hidratação e imersão em SBF, na superfície dos materiais não foram observadas nenhuma das morfologias típicas dos hidratos de alumínio característicos das pastas hidratadas (Fig. 4.18). A microestrutura superficial apresentada pelo cimento 24h após pega e incubação em atmosfera úmida não ofereceu nenhuma informação sobre as fases presentes. No entanto, após 24h de imersão em SBF, verificou-se a deposição de minúsculos cristais de hidroxiapatita com formato de esferulitas (Zhang et al., 2010). Com o aumento do tempo de imersão as partículas inicialmente formadas crescem gradualmente, formando esferas de maior tamanho, e novos agregados de esferulitas podem ser observados sobre a superfície do material.

A rápida formação de hidroxiapatita sobre estes materiais pode ser explicada com base na formação do hidrato C_3AH_6 ($Ca_3[Al(OH)_4]_2(OH)_4$) (Eq. 2.6) que atua como sítio de nucleação para a precipitação dos cristais de HA. Os íons Ca^{2+} and $Al(OH)^{4-}$ liberados durante a hidratação do CA são liberados ao SBF e precipitam através da troca iônica com os íons H_3O^+ em forma de uma camada de hidroxila. Esta camada fornece sementes para a nucleação e posterior precipitação e crescimento cristalino da HA mediante o consumo de íons cálcio e fósforo da solução de SBF. Quanto maior o tempo de imersão, maior a porção da superfície coberta sem mudança apreciável na microestrutura da HA (Oh et al., 2003).

As diferenças encontradas com os resultados previamente obtidos pelos mesmos autores foram consequência das condições experimentais em que teve lugar à hidratação do cimento. No estudo realizado por Morejón-Alonso e colaboradores (Morejón-Alonso et al., 2009) a pega do cimento foi realizada a 20°C e posterior imersão em SBF, sendo o principal produto da hidratação o CAH_{10} . Embora o CAH_{10} se transforme com o tempo em C_3AH_6 , este processo não é cineticamente favorecido e levando em consideração que não se observou a formação de apatita ainda depois de 14 dias em SBF, pode-se concluir que somente a presença de CAH_6 acelera a formação de apatita nos cimentos de aluminato de cálcio induzindo um caráter bioativo a estes materiais.

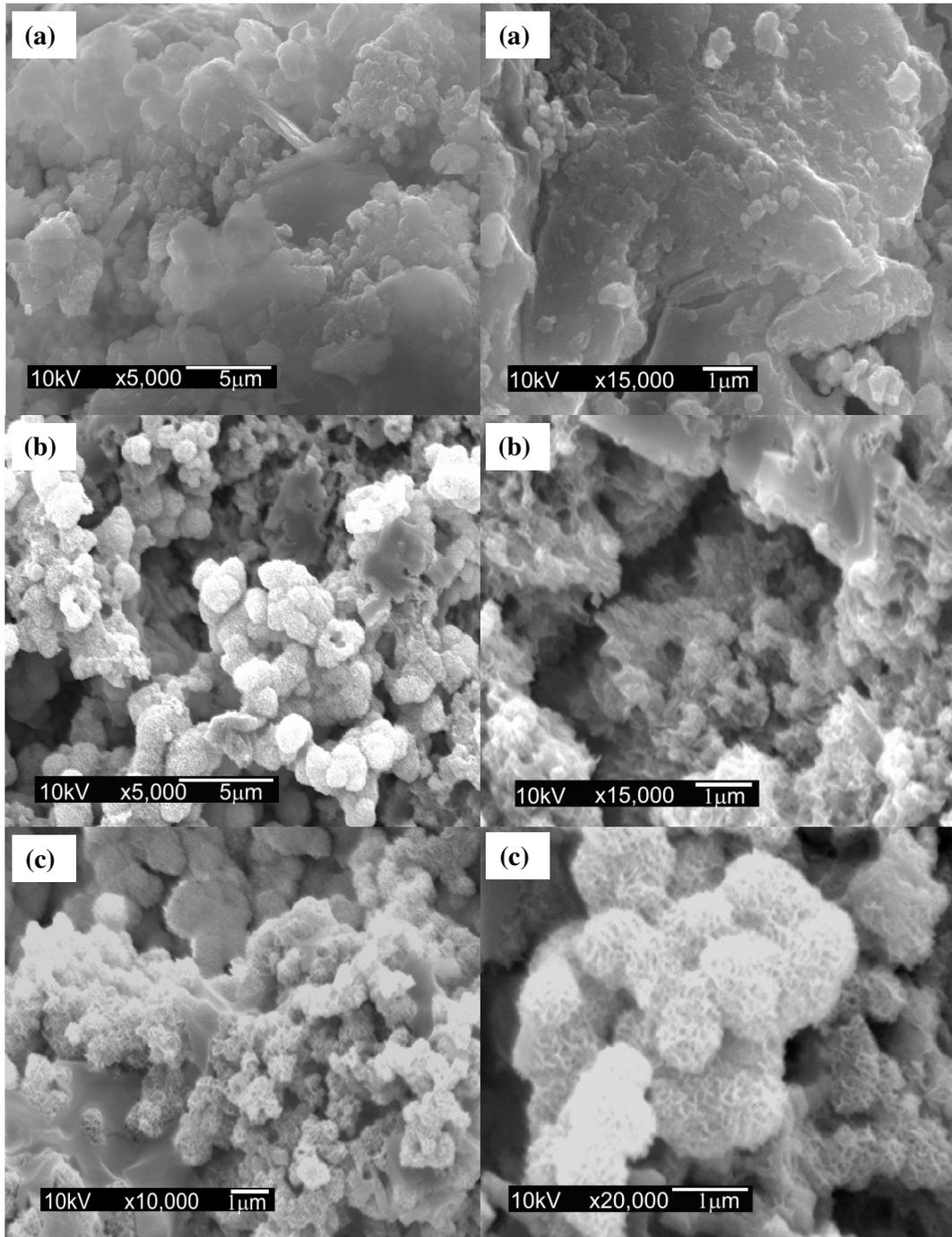


Figura 4.18 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície do cimento de monoaluminato de cálcio antes e após imersão em SBF. (a) 24h após pega, (b) 24h em SBF e (c) 7d em SBF.

4.2.2.2. Caracterização do sistema α -TCP/CA

Os tempos de pega dos CPC dependem em grande medida da relação L/P empregada durante a mistura da fase líquida e a fase sólida (Driessens et al., 2000). Embora considerada menos reativa quando comparadas às fases ricas em cálcio C_3A e $C_{12}A_7$, o CA apresenta um rápido endurecimento após ter início o processo de pega, o qual pode ser acelerado pela presença da fase CA_2 (Lee et al., 2001). Por outro lado, o pó de CA apresentou um menor tamanho de partícula e uma maior área superficial específica que os pós de α -TCP, o que justificaria, então, sua maior reatividade em relação a esta fase.

Por essa razão, quantidades maiores de líquido (solução tampão de fosfato) foram necessárias para obter uma consistência adequada e as relações L/P utilizadas na preparação dos cimentos foram 0,45 e 0,47mL/g para 5% e 10% de CA respectivamente.

Com a adição de CA ao cimento de α -TCP, os tempos de pega inicial e final aumentaram consideravelmente, sendo este aumento proporcional à quantidade de CA adicionada (Fig. 4.19). Contudo, não houve diferenças significativas entre os valores de tempo de pega final dos cimentos mistos, independentemente do teor de CA adicionado.

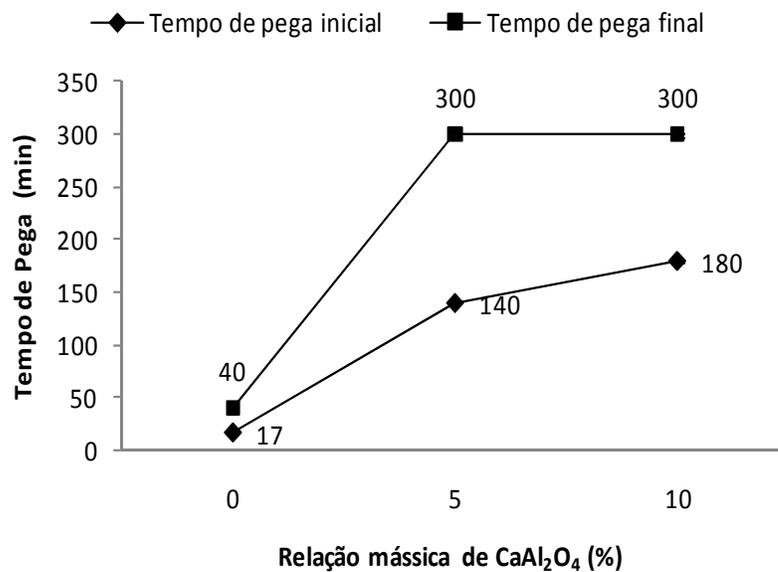


Figura 4.19 Tempos de pega dos cimentos mistos contendo CA em comparação ao α -TCP

Quando misturados com água, os aluminatos de cálcio reagem mediante uma reação ácido-base, em que o pó cerâmico atua como base e a água como o ácido fraco liberando íons Ca^{2+} (Eq. 2.2). Na presença de sais de fosfato, os íons PO_4^{3-} reagem com os íons Ca^{2+} liberados durante a hidratação, formando sais insolúveis tais como o $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ que precipitam sobre a superfície das partículas do cimento, criando assim uma camada que dificulta a reação de hidratação e conseqüentemente retarda os tempos de pega. Por outro lado, é geralmente aceito que a existência de íons Na^+ no meio também produz um aumento nos tempos de pega. No entanto, a ação dos íons metálicos como retardadores não é muito pronunciada e existem controvérsias sobre o efeito deste íon (García et al., 2007).

Outros fatores que podem ter influenciado o tempo de pega são o teor de H_2O empregado e a natureza e solubilidade do hidrato formado. Para o CA puro, o mecanismo de hidratação mais aceito, na temperatura de trabalho, segundo alguns autores (Bensted, 1993; Scriver & Capmas, 1998), é aquele em que precipitam os hidratos metaestáveis e de maior solubilidade (Eq. 2.9-2.11). Altos teores de H_2O também favorecem a formação dos hidratos metaestáveis, e devido à maior solubilidade destes, sendo necessários maiores tempos de nucleação, o que provoca um retardo nos tempos de pega (García et al., 2007).

Por outro lado, levando em consideração que o mecanismo de hidratação do α -TCP após certo tempo passa a ser limitado pela difusão da solução através da camada dos produtos formados sobre a superfície das partículas de α -TCP, a formação do gel de AH_3 sobre a superfície dos grãos de cimento pode provocar o retardo na dissolução das partículas de α -TCP e impedir a precipitação inicial das partículas de CDHA.

A evolução da reação de hidratação dos cimentos mistos contendo CA pode ser acompanhada mediante DRX segundo se mostra nas Figuras 4.20-4.22. Em presença de CA, a reação de hidratação do α -TCP encontra-se inibida mesmo após longos períodos de imersão em SBF. O difratograma obtido 24h após pega (Fig. 4.20) é bem similar ao do α -TCP sintetizado e a presença de CDHA não foi detectada neste tempo de reação como usualmente observado no cimento convencional de α -TCP. Com a imersão em SBF (Fig. 4.21), observa-se a formação de CDHA à custa de uma ligeira diminuição na intensidade das linhas do α -TCP. No entanto, duas semanas após imersão (Fig. 4.22) ainda é possível identificar claramente as linhas de α -TCP, indicando que o processo de hidratação do α -TCP encontra-se praticamente inibido ou retardado.

Como discutido anteriormente, é possível observar em todos os padrões de difração a presença do β -TCP que não se envolve na reação de hidrólise do α -TCP. Nenhuma prova da presença de C_3AH_6 ou AH_3 , fases mais prováveis durante a hidratação e envelhecimento das pastas de CA, foram encontradas; embora o caráter amorfo destes materiais e a pequena quantidade possivelmente formada dificultem a identificação mediante esta técnica.

Com a adição de CA e o incremento nos tempos de pega, a formação de CDHA como resultado da transformação α -TCP \rightarrow CDHA é inibida, provavelmente devido à formação dos hidratos de alumínio sobre as partículas de α -TCP, suprimindo, assim, a dissolução desta fase e a precipitação de CDHA.

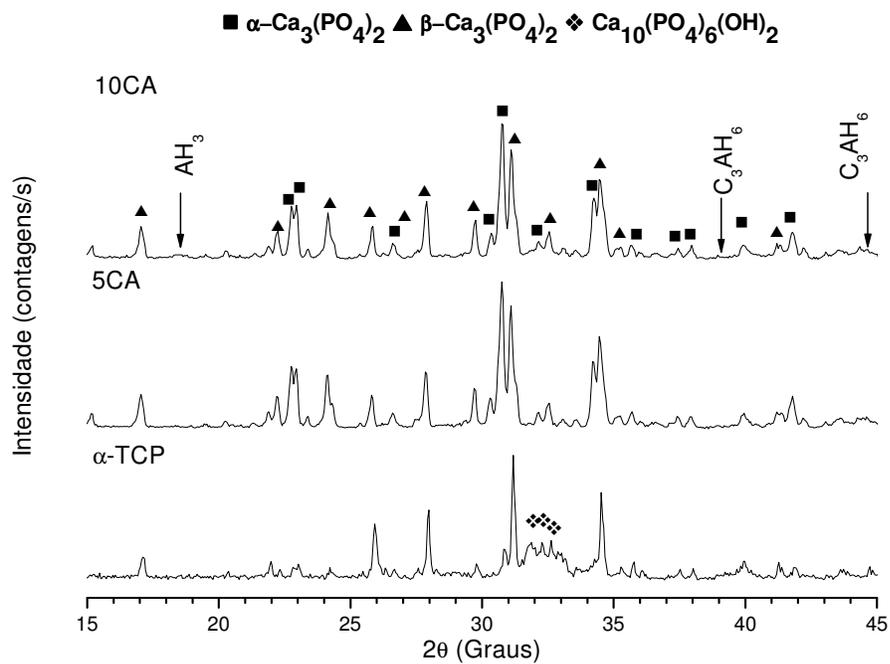


Figura 4.20 Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/CA 24h após pega.

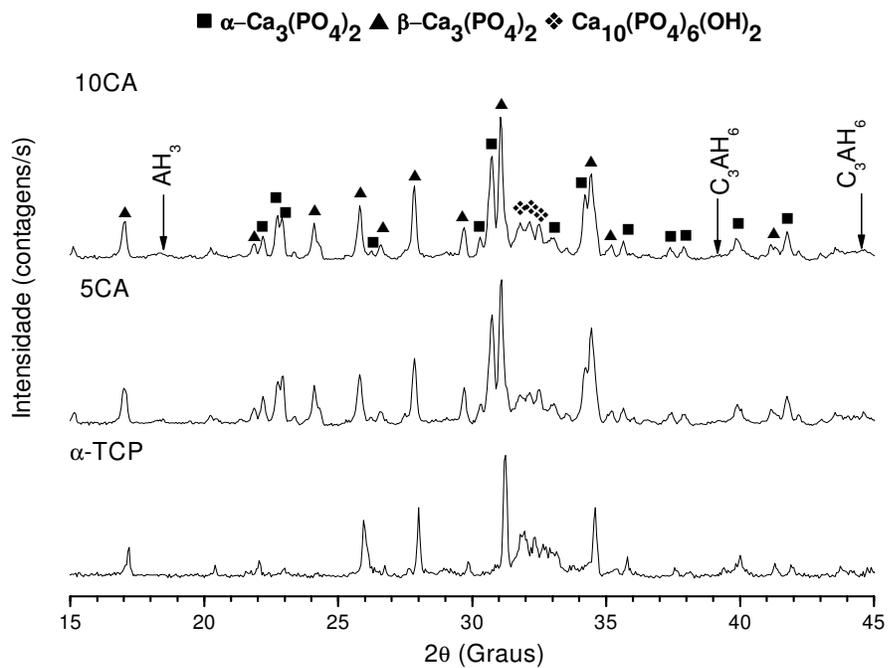


Figura 4.21 Evolução da reação de hidratação do cimento $\alpha\text{-TCP/CA}$ após 7d em SBF.

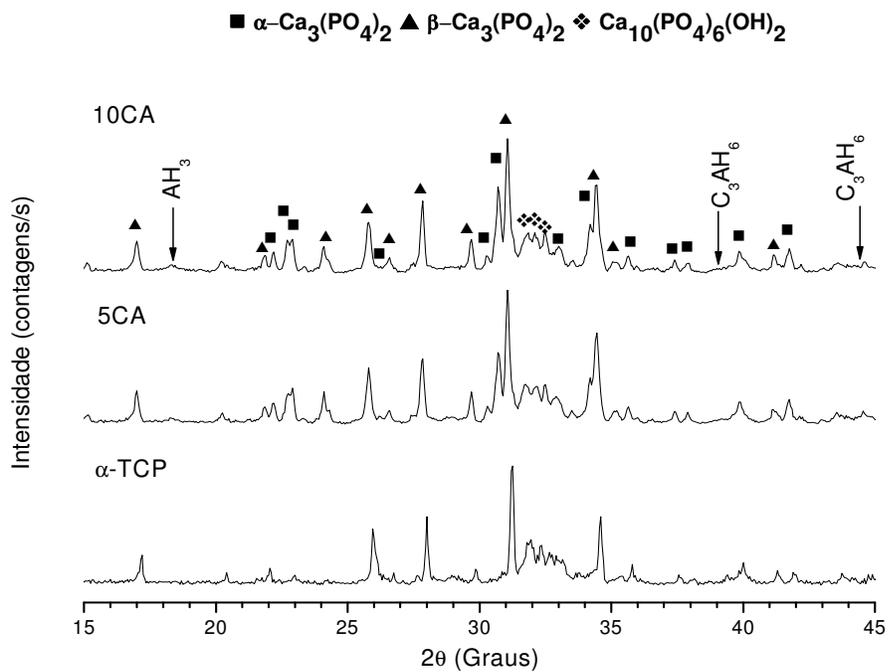


Figura 4.22 Evolução da reação de hidratação do cimento $\alpha\text{-TCP/CA}$ após 14d em SBF.

A Figura 4.23 apresenta as micrografias de MEV da superfície dos cimentos contendo CA antes e depois da imersão em SBF. Após pega (24h), a superfície do cimento, para ambas as composições, apresentou uma morfologia similar à observada pro α -TCP antes da mistura com a fase líquida (Santos, 2002; Motisuke, 2010). Não foi observada a microestrutura petalóide ou em forma de agulhas característica dos cimentos baseados em α -TCP após hidrólise, nem a microestrutura típica dos produtos de hidratação do CA. Com a imersão em SBF, verificou-se a deposição de pequenas partículas esféricas identificadas por análise de EDS como um composto com cálcio e fósforo na sua composição. No entanto, maiores tempos de imersão não levaram à precipitação de novos cristais ou ao crescimento dos já formados. O aumento no conteúdo de CA não influenciou significativamente o tempo de deposição da apatita ou a quantidade de produto precipitado. Após 14 dias de imersão em SBF, não foram observados os cristais de CDHA característicos da hidratação do α -TCP nem a camada superficial de apatita, típica dos materiais bioativos.

Como explicado anteriormente, a rápida formação de hidroxiapatita é consequência da formação de uma camada intermediária de C_3AH_6 que atua como núcleo de precipitação para os cristais de apatita. A formação desta camada intermediária é de grande importância, uma vez que apresenta grupos hidroxilas na estrutura, similares aos grupos Si-OH, Ti-OH, e Ta-OH encontrados em camadas intermediárias de compostos altamente bioativos (Cho et al., 1995; Takadama et al., 2001).

As superfícies de fratura dos cimentos 5CA e 10CA podem ser observadas na Figura 4.24. A superfície de fratura dos cimentos 24h após pega não mostrou grandes diferenças com a superfície do material e a microestrutura observada foi a dos cristais de α -TCP sem reagir. No entanto, pequenas partículas de morfologia não identificada foram observadas depositadas sobre os grãos de α -TCP. Após sete dias de imersão em SBF, observou-se a formação de pequenos cristais aciculares de CDHA envolvendo partículas de maior tamanho de α -TCP (Fig. 4.24a) e a presença de partículas que não participam da reação, provavelmente de β -TCP (Fig. 4.24b). Duas semanas mais tarde ainda podem ser observadas as partículas de α -TCP para a formulação 5CA, enquanto vazios causados pela solubilização das partículas de α -TCP ou resultado do processo de fratura podem ser observados nas micrografias do cimento 10CA.

A ausência de cristais de CDHA nos primeiros estágios de reação é produto da baixa taxa de hidrólise do α -TCP em presença de CA, resultando nos incrementos nos tempos de pega. Independentemente do teor de CA adicionado, a formação dos diferentes hidratos de

alumínio, mesmo que não comprovada sua existência, produz um retardo considerável na precipitação do CHDA e impede o crescimento dos cristais após precipitados.

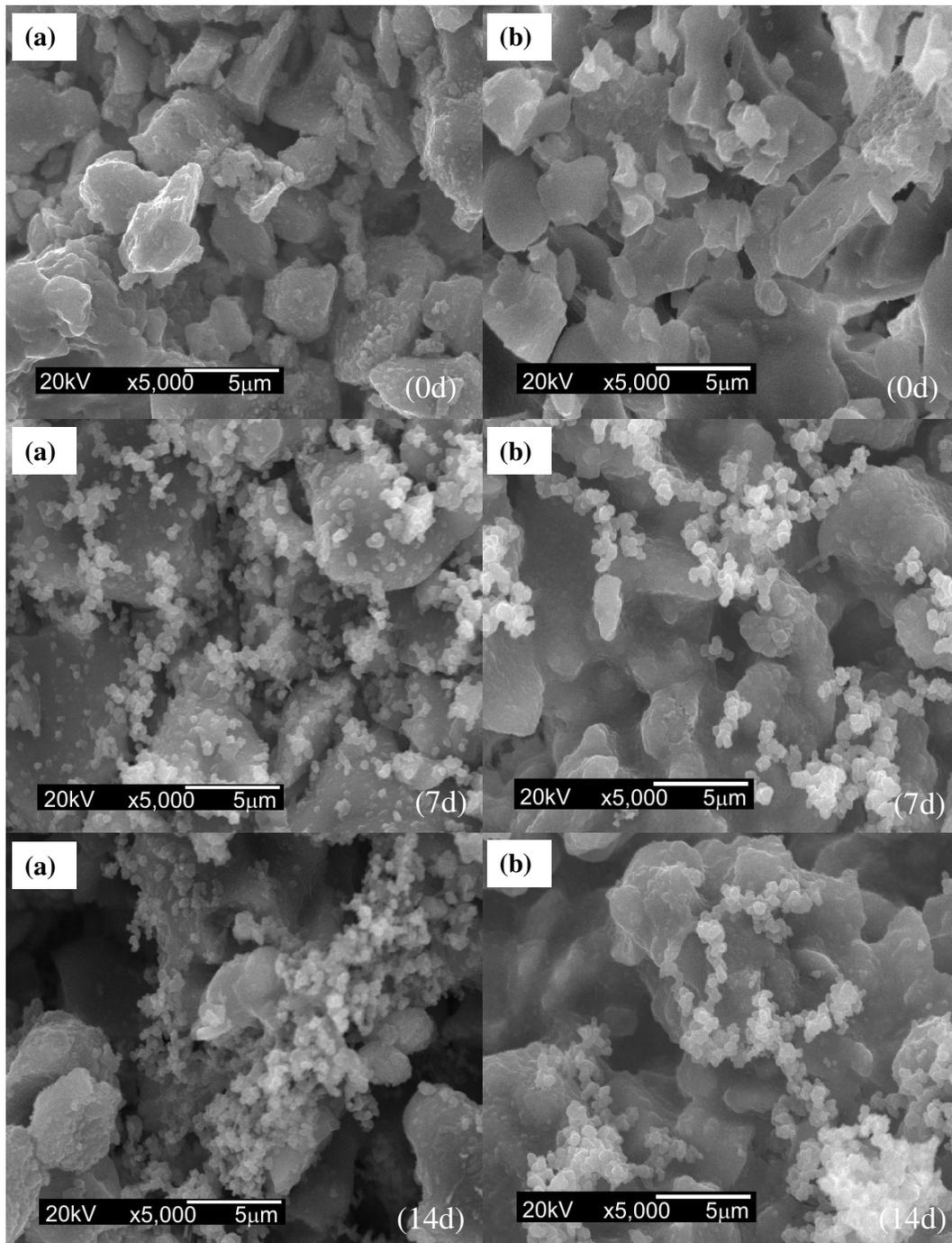


Figura 4.23 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de 5CA (a) e 10CA (b) antes (0d) e após imersão em SBF (7d) e (14d).

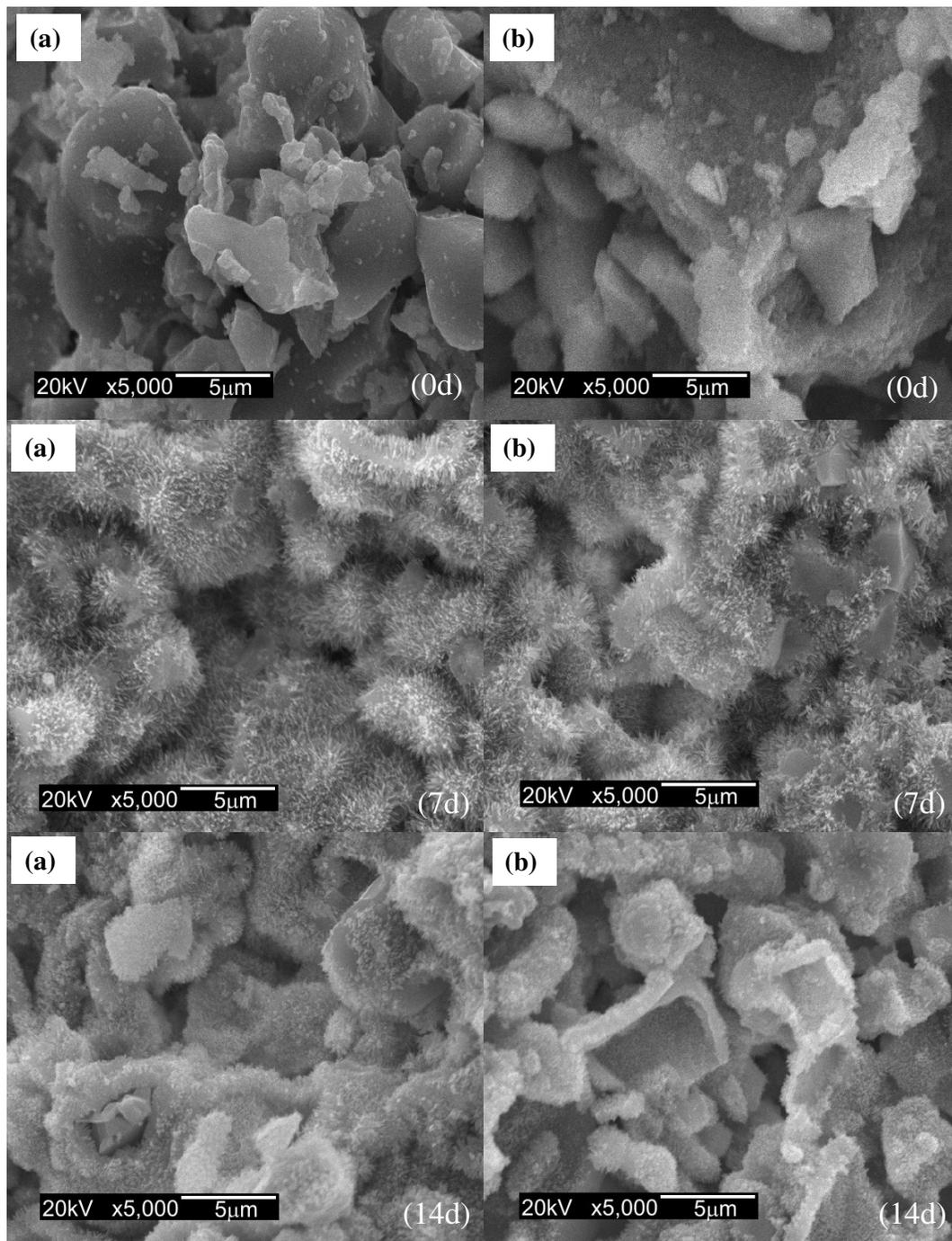


Figura 4.24 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de 5CA (a) e 10CA (b) antes (0d) e após imersão em SBF (7d) e (14d).

A análise elementar pontual da amostra 5CA após sete dias em SBF (Fig. 4. 25) mostrou a deposição de uma nova fase contendo cálcio e fósforo sobre a superfície do cimento. A deposição desta nova fase somente foi detectada naqueles pontos em que foi identificado o íon alumínio, pelo que podemos supor que o hidrato de alumínio, provavelmente C_3AH_6 , atua como ponto de nucleação para a precipitação de uma nova camada de apatita.

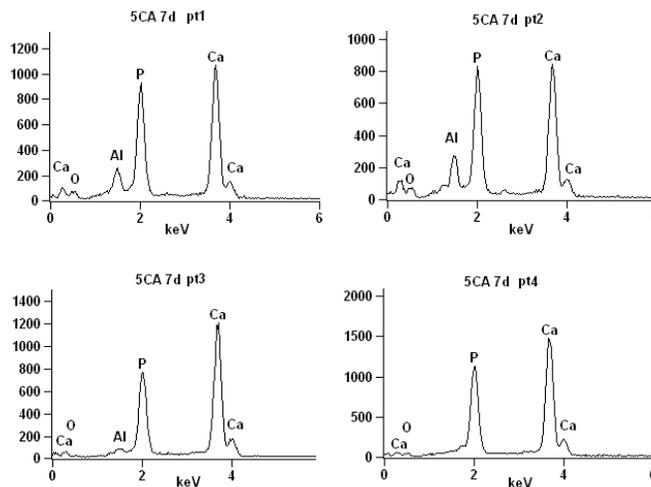
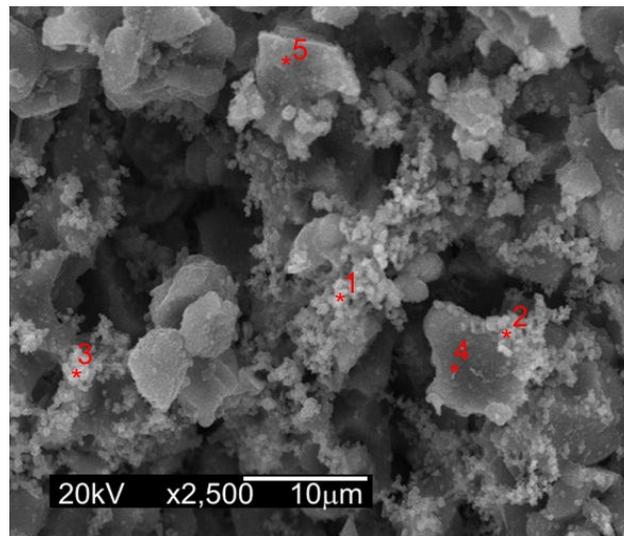


Figura 4.25 Análise elementar pontual por EDS da amostra 5CA após 7d em SBF.

Embora não significativo, a presença de CA no cimento de α -TCP provocou um ligeiro aumento no pH nas primeiras 24h após imersão em SBF, estabilizando-se posteriormente a valores próximos ao pH fisiológico (Fig. 4.26).

O aumento do pH devido à liberação de íons OH^- durante a dissociação do $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ formado durante os primeiros estágios da hidratação parece produzir um ambiente desfavorável para o crescimento de bactérias, como pode ser comprovado nas micrografias dos cimentos. Contudo, a liberação de íons Ca^{2+} e OH^- ao meio pelo cimento, pode ser associada também à decomposição do hidrato formado (CAH_{10} ou C_3AH_6), uma vez que o hidrato AH_3 é insolúvel em água. Este fato, então, explicaria o menor aumento de pH destes materiais quando comparados aos cimentos baseados em C_3S (Oliveira et al., 2010).

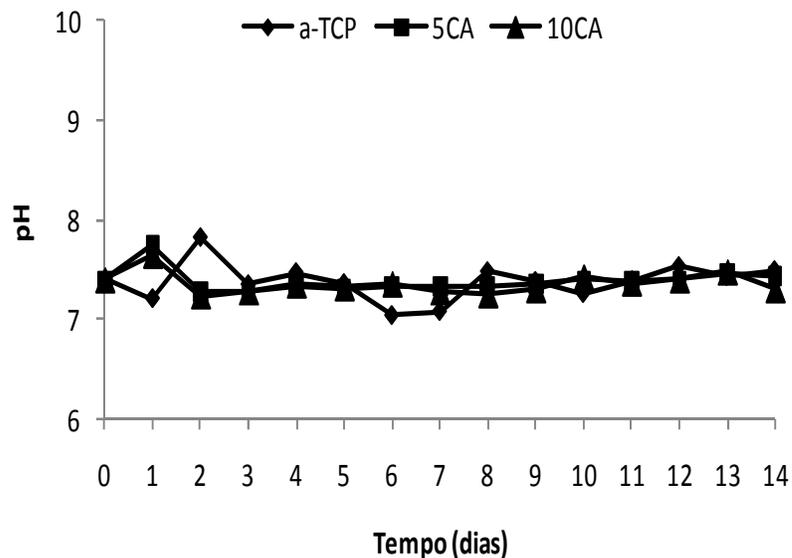


Figura 4.26 Mudanças no pH do α -TCP, 5CA e 10CA quando imersas em SBF.

Uma das grandes limitações dos CPC em relação às cerâmicas de fosfatos de cálcio são suas pobres propriedades mecânicas relacionadas com a sua porosidade intrínseca. Após pega, os CPCs usualmente apresentam uma porosidade total que varia na faixa de 40-50% em massa, sendo esta porosidade controlada mediante o ajuste da relação L/P ou o tamanho de partícula inicial (Fukase et al., 1990; Ambard & Meuninghoff, 2006).

Os cimentos mistos α -TCP/CA mostraram uma maior porosidade aparente em relação ao cimento convencional de α -TCP, e a mesma não apresentou grandes variações durante o processo de imersão em SBF (Fig. 4.27). Conhecendo que a porosidade intrínseca é altamente

dependente da relação L/P utilizada na mistura do cimento, o incremento na porosidade inicial dos materiais poderia ser atribuído ao uso de uma maior quantidade de líquido durante a preparação dos materiais. No entanto, deve-se levar em consideração que com o tempo, os hidratos metaestáveis inicialmente formados se transformam em uma mistura de $\text{Ca}_3\text{Al}_2(\text{OH})_{12}$, $\text{Al}(\text{OH})_3$ gel e H_2O , o que pode causar um incremento na porosidade e uma diminuição na resistência mecânica do cimento devido à perda de água (Lea, 1970).

Diferentemente do cimento de α -TCP, não se observou um acentuado aumento estatisticamente significativo na porosidade aparente das amostras com CA com o aumento do tempo de imersão em SBF. Isto poderia ser resultado do impedimento na reação de hidratação do α -TCP que usualmente encontra-se acompanhado de um aumento inicial da porosidade como resultado da dissolução das partículas de α -TCP como visto nos resultados anteriores.

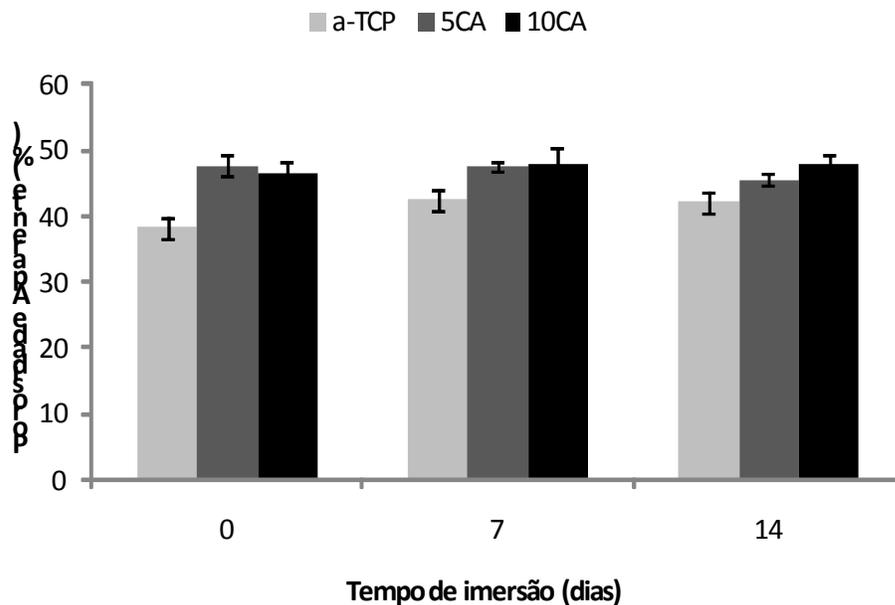


Figura 4.27 Variação da porosidade aparente do cimento de α -TCP e dos cimentos com CA em SBF.

A resistência à compressão dos cimentos mistos α -TCP/CA mostrou uma drástica diminuição como esperado a partir dos resultados de DRX e MEV (Fig. 4.28). Embora a porosidade das amostras com CA fosse maior que a do cimento tradicional de α -TCP, a diminuição da resistência mecânica associa-se ao baixo grau de extensão da reação de

hidratação do cimento, uma vez que a resistência mecânica está ligada à formação, crescimento e entrelaçamento dos cristais de hidroxiapatita precipitados a partir da solubilização do α -TCP.

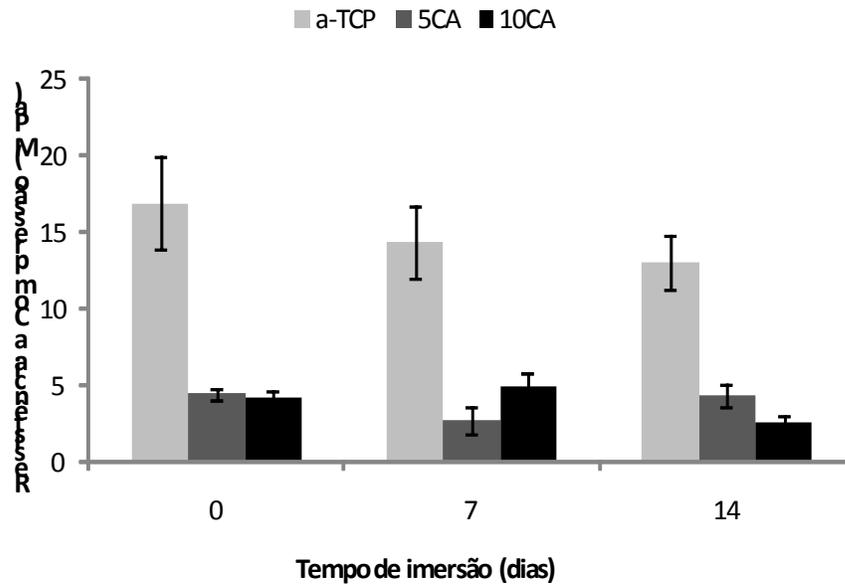


Figura 4.28 Variação da resistência à compressão do cimento de α -TCP e dos cimentos com CA em SBF.

Mesmo depois de duas semanas em SBF, a precipitação de CHDA ainda é incipiente e a resistência mecânica do cimento não sofre qualquer alteração em relação aos valores iniciais. Os valores médios das resistências não superaram os 5MPa e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas com o aumento do tempo de envelhecimento. O grande desvio padrão observado, é típico da presença de defeitos (poros) produzidos durante a preparação das amostras como resultado da presença de ar aprisionado.

A adição de CA ao cimento de α -TCP provocou um aumento na taxa de degradação dos materiais durante as primeiras duas semanas de imersão em SBF (Fig. 4.29), sendo este aumento proporcional à quantidade de CA adicionada. No entanto, verificou-se uma inversão deste comportamento depois de transcorrido este período, observando-se um ligeiro ganho de massa em ambas as formulações em decorrência da formação de CDHA a partir da hidratação do α -TCP.

Com a adição de CA, existe uma maior quantidade de íons Ca^{2+} disponíveis que podem ser dissolvidos na solução, criando microporos na superfície do cimento, o que aumenta a área de contato deste com a solução de SBF e, conseqüentemente, a taxa de dissolução dos materiais (Guo, 2006). Quanto maior a quantidade de CA adicionada, maior o grau de degradação do composto. Por outro lado, com a diminuição na taxa de hidratação do α -TCP, este composto poderia-se dissolver na solução em lugar de transformar-se em hidroxiapatita.

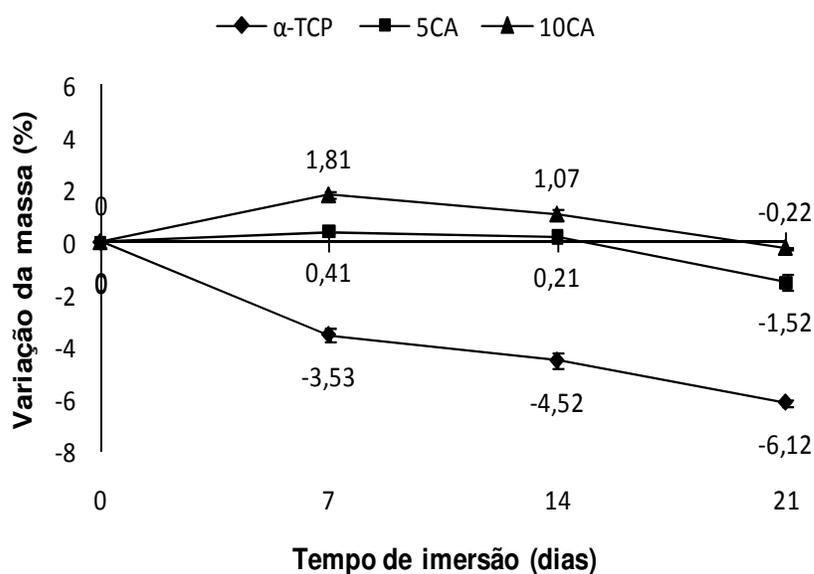


Figura 4.29 Variação da massa do cimento de α -TCP e dos cimentos com 5% de CA e 10% de CA após 21 dias em SBF.

Nos primeiros estágios do ensaio de degradação, um gel de fosfato de cálcio amorfo, identificado por DRX (JPCPDF 09-0348) (Fig. 4.30), foi observado na solução sobrenadante durante as primeiras 24h. A presença deste composto na solução poderia ser consequência da dissolução do $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ formado durante a interação da solução líquida com os íons Ca^{2+} liberados na hidratação do CA ou poderia ser o resultado da solubilização de uma fase apatítica formada a partir da solução sobresaturada de SBF que não precipita inicialmente, como resultado do aumento do pH local em consequência da liberação de íons OH^- .

Ca₃(PO₄)₂
JPCPDF 09-0348

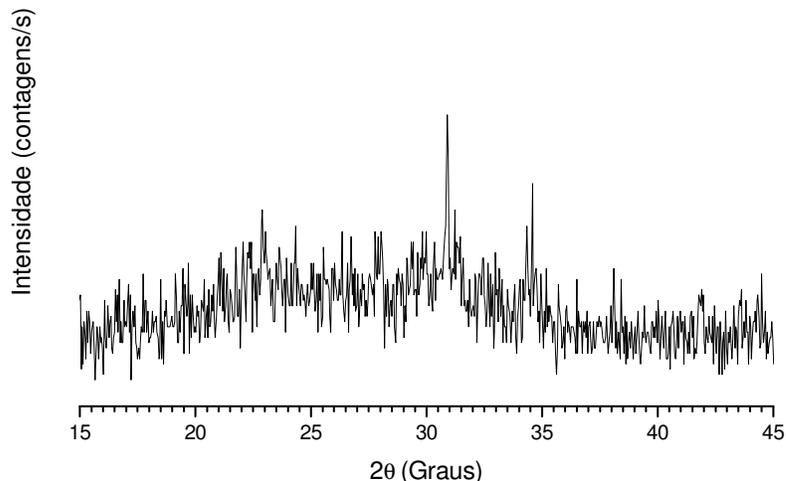


Figura 4.30 Difratoograma de raios X do produto de degradação dos cimentos α -TCP/CA.

Os resultados do ensaio de citotoxicidade mostraram uma maior biocompatibilidade dos materiais compostos α -TCP/CA em relação ao cimento convencional de α -TCP (Fig. 4.31). A citotoxicidade dos cimentos mistos foi inferior a do controle positivo, e embora observado um ligeiro aumento da citotoxicidade em relação ao controle negativo, as diferenças encontradas não foram estatisticamente significativas. Além disso, verificou-se uma tendência a uma diminuição da viabilidade celular com o aumento de tempo de cultivo.

A diminuição da citotoxicidade em relação ao controle positivo e aos cimentos de α -TCP pode ser consequência da precipitação de CDHA na superfície dos materiais durante a pre-incubação *in vitro*.

O envelhecimento influencia significativamente a citotoxicidade dos materiais, uma vez que eles tornam-se menos citotóxicos ao longo do tempo (Khashaba, 2010). Quando as células são cultivadas por períodos de tempos curtos, a atividade mitocondrial é reprimida provavelmente devido à sensibilidade da célula à superfície morfológica do material ou à sua composição, o que sugere uma alteração na viabilidade celular (Julien, 2007). Esta alteração é transitória e desaparece quando as células são cultivadas em longo prazo. Neste caso, o efeito

oposto foi observado durante o ensaio de viabilidade celular, onde um aumento da citotoxicidade de todas as formulações foi observado com o aumento do tempo de cultivo.

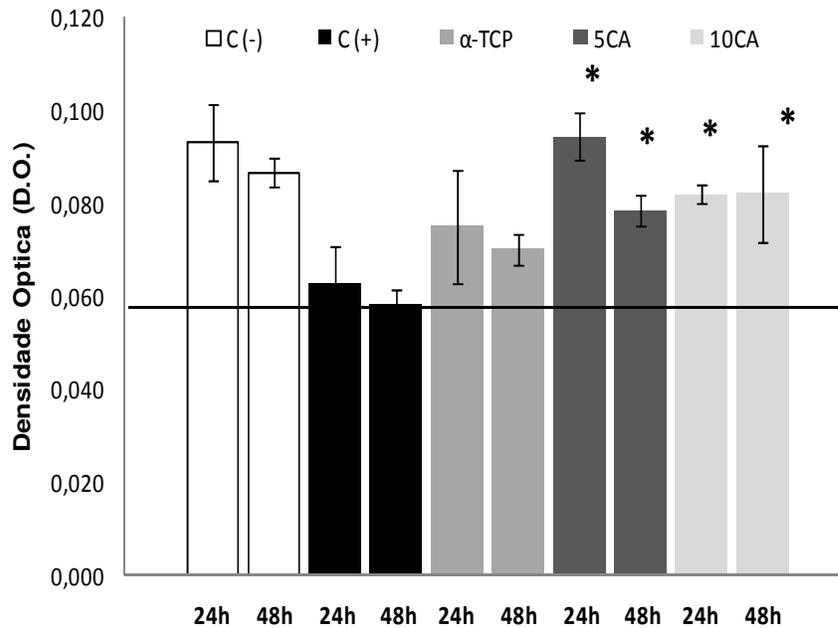


Figura 4.31 Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. * indica que a viabilidade celular foi significativamente diferente do controle negativo ($p < 0.05$).

O aumento da toxicidade após 48h pode ser explicado com base em: (i) variações químicas nos materiais durante o ensaio que acarretam mudanças no pH do meio de cultura, resultando em mais danos celulares (representados pela redução da viabilidade celular); e (ii) um incremento na liberação de alguns componentes do material, que não teve lugar inicialmente, tornando o material mais citotóxico ao longo do tempo.

O ensaio de citotoxicidade direta por MTT mostrou a maior biocompatibilidade da formulação 5CA em relação aos outros materiais. A maior biocompatibilidade apresentada por este material devido à estimulação da atividade metabólica das células durante o cultivo não pode ser explicado totalmente e futuras pesquisas serão necessárias para esclarecer este fato.

4.2.3. Sistema α -TCP/C₃S

4.2.3.1. Avaliação da bioatividade do C₃S/Na₂HPO₄

Antes de desenhar as novas formulações mistas α -TCP/C₃S procedeu-se ao estudo do sistema Ca₃SiO₅/Na₂HPO₄ com o objetivo de compreender o processo de hidratação do material em condições similares ao do cimento α -TCP e entender a evolução da microestrutura durante a imersão em SBF.

Durante a hidratação do C₃S é possível identificar dois tipos de produtos dependendo do lugar onde eles podem ser encontrados. Os produtos internos (IP) encontram-se dentro das partículas do clínquer, enquanto os produtos externos (OP) podem ser encontrados fora (Powers & Brownyard, 1948; Powers, 1958, Taplin, 1959). Em meados dos anos 70, foram descritas quatro morfologias diferentes para o C-S-H presente em pastas de cimentos Portland, sendo três delas características dos OP e uma de IP (Diamond, 1977).

O C-S-H tipo I é a estrutura mais abundante em pastas novas e pode ser descrita como partículas de aspecto fibroso assemelhadas a folhas laminadas que apresentam comprimentos entre de 0,5 e 2 μ m. O C-S-H tipo II é uma estrutura reticular ou entrecruzada vista em pastas de cimento Portland, mas não durante a hidratação do C₃S ou C₂S puro. O C-S-H tipo III se apresenta como grãos de morfologia indefinida irregular de aproximadamente 300nm em diâmetro e finalmente o tipo IV, característico dos IP encontrados nos cimentos envelhecidos. Este sistema é conhecido como classificação de Diamond e comumente as microestruturas podem ser nomeadas como Diamond tipo I, II, III ou IV.

As diferentes morfologias podem ser encontradas em períodos de hidratação específicos. No entanto, as restrições espaciais, a umidade relativa, os tratamentos térmicos utilizados durante a preparação das amostras para observação ao microscópio eletrônico e a velocidade em que ocorrem estes processos, afetam a microestrutura do C-S-H (Neubauer & Jennings, 1996; Jennings, 2000; Gevrenov, 2005; Thomas et al., 2008). A microestrutura do C-S-H também depende da escala utilizada na observação ao microscópio eletrônico. Na escala atômica, o C-S-H é descrito como camadas desordenadas de silicato de cálcio análogas ao mineral Tobermorita misturado com Jennita (Taylor, 1990). Na escala nanométrica, o C-S-H

se comporta como um precipitado coloidal com propriedades mecânicas similares às de um gel (Scherer, 1999; Thomas & Jennings, 2006).

A Figura 4.32 apresenta as micrografias da superfície e superfície de fratura do cimento de C_3S após 24h de pega. Na superfície do cimento, verificou-se a presença de agregados cristalinos de agulhas características do gel de silicato de cálcio hidratado (C-S-H) tipo I (Fig. 4.32a) e cristais tabulares tipo II (Fig. 4.32b). Maiores magnificações da superfície (Fig. 4.32c) mostraram a presença de típicos hábitos cristalinos hexagonais do $Ca(OH)_2$ nos vazios onde as restrições de espaço são mínimas, permitindo assim o desenvolvimento de formas euédricas (Stutzman, 2001). A superfície de fratura apresentou uma maior porosidade em relação à superfície do cimento e na mesma observaram-se minúsculas partículas agregadas, provavelmente do gel C-S-H (Fig. 4.32d).

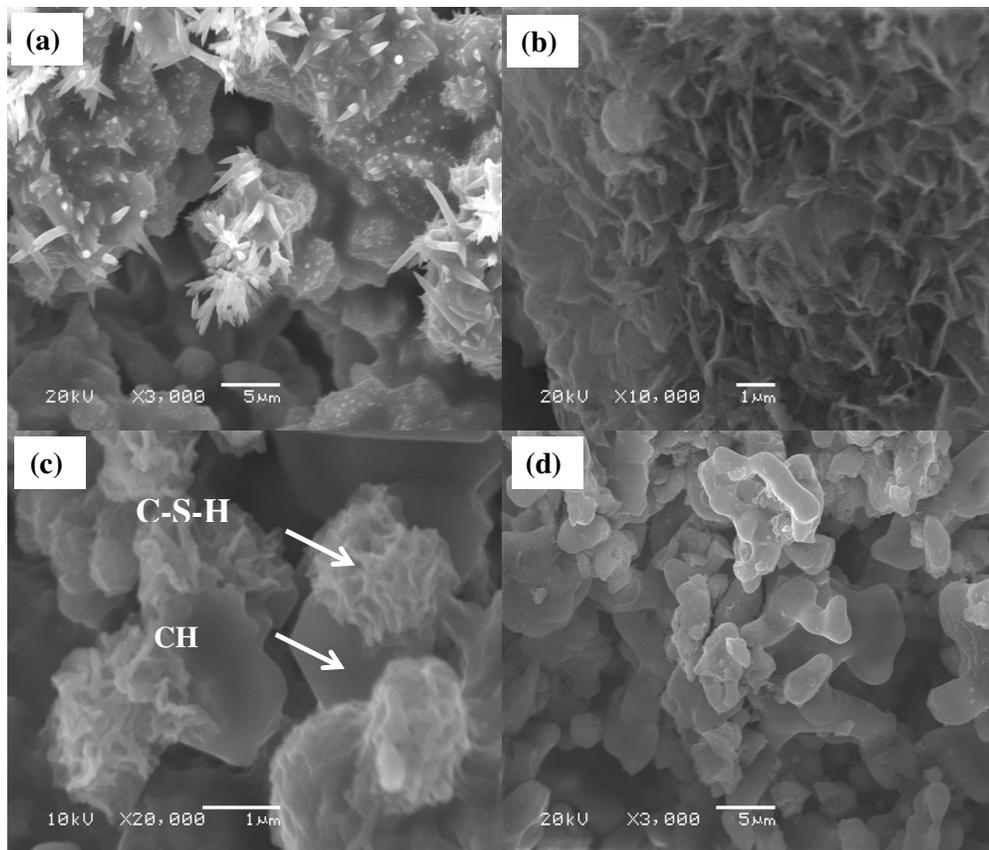


Figura 4.32 Micrografias eletrônicas de varredura dos cimentos de C_3S 24h após pega, (a), (b) e (c) Superfície; (d) Superfície de fratura.

As micrografias de cimento de C_3S após diferentes tempos de imersão podem ser observadas na Figura 4.33.

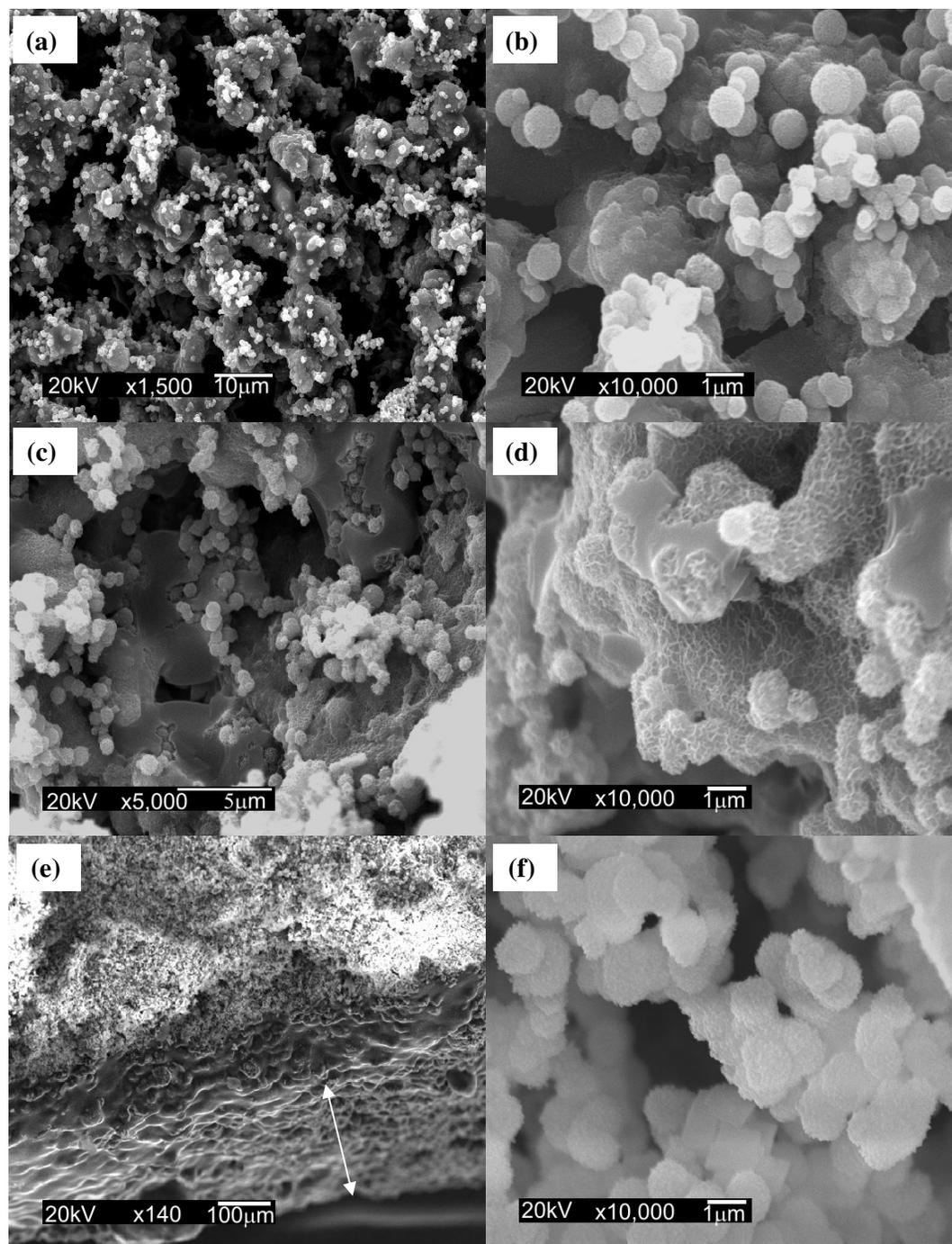


Figura 4.33 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de C_3S 24h após imersão em SBF por 1h (a, b); 24h (c, d) e 7d (e, f).

Quando submersos por 1 hora, partículas minúsculas de CDHA, em forma de esferas, são depositadas na superfície das amostras a partir da solução de SBF, (Fig. 4.33a e 4.33b). Após a imersão por 24h em SBF, a camada de CDHA se torna mais densa (Fig. 4.33c) e maiores magnificações indicam que as partículas de CDHA apresentam formato de hastes e muitas dessas partículas encontram-se formando aglomerados (Fig. 4.33d). Sete dias depois, pode ser observada uma camada compacta de CDHA de aproximadamente 250 μ m de espessura formada na superfície do cimento (Fig. 4.33e e 4.33f).

4.2.3.2. Caracterização do sistema α -TCP/C₃S

A adição de C₃S ao cimento de α -TCP produz um incremento notável nos tempos de pega inicial e final (Fig. 4.34), sendo este aumento proporcional à percentagem de C₃S adicionado. Os tempos obtidos resultam extremadamente longos para a utilização do cimento em aplicações imediatas, levando em consideração que os mesmos devem-se encontrar na faixa de 5-8min para o tempo inicial e 10-15min para o tempo final (Driessens et al., 1996).

Embora a necessidade do uso de uma relação L/P maior que a estabelecida para o cimento convencional (0,42 e 0,44mL/g) influencie de alguma forma os tempos de pega, o aumento desta propriedade deve-se à diminuição da solubilidade do α -TCP em presença dos produtos de hidratação do C₃S. Durante a hidratação do C₃S (Eq. 2.14), se forma CH que produz um aumento do pH e circunstâncias alcalinas que retardam a dissolução das partículas de α -TCP. Além disso, a formação de um gel de silicato de cálcio denso sobre a superfície dos grãos de α -TCP (Fig. 4.39a) deve impedir ou retardar a dissolução dos mesmos, adiando assim a precipitação de CDHA, responsável pela pega do cimento.

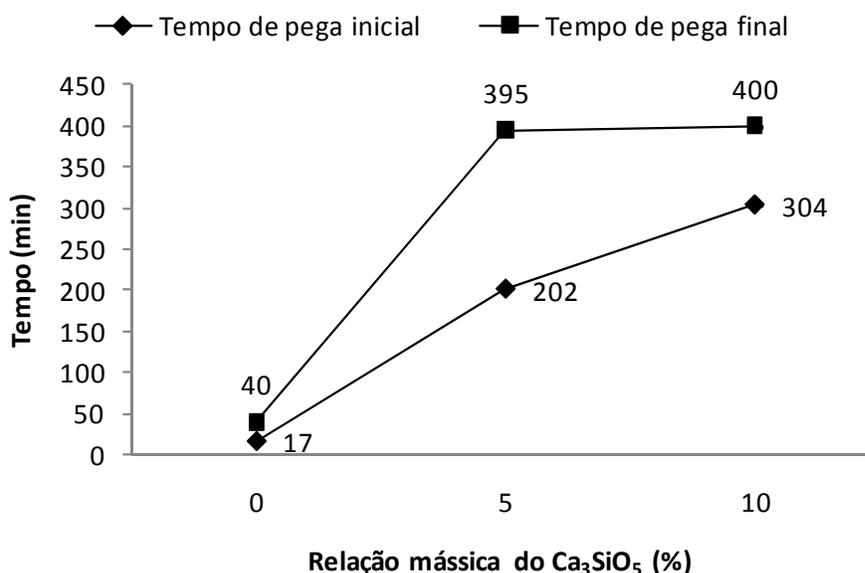


Figura 4.34 Tempos de pega dos cimentos mistos contendo C_3S em comparação ao α -TCP.

Como resultado do retardo na dissolução do α -TCP em presença de C_3S e levando em consideração que para ambas as substâncias o mecanismo de hidratação é limitado pela difusão das espécies reativas através da camada do produto formado (Greenberg & Chang, 1965; Ginebra et al., 1999), a taxa de hidratação (grau de extensão da hidratação) do α -TCP, geralmente de 80% após 24h de reação, resultou ser menor em presença do C_3S , como pode ser observado no difratograma da Figura 4.35, onde picos característicos de α -TCP de grande intensidade são detectados 24h depois de começado o processo de pega.

Em todas as formulações, verificou-se a formação de CDHA após 24h de reação. Entretanto, com a adição de C_3S , as linhas de difração características da CDHA apresentaram-se menos intensas, acompanhadas das principais linhas de difração do α -TCP. Quanto maior a quantidade de C_3S adicionado, menor a intensidade dos picos de difração correspondentes a CDHA e maior a intensidade dos picos de α -TCP sem reagir.

Todos os difratogramas, independente do teor adicionado do C_3S e do tempo de imersão em SBF, apresentaram os picos de difração característicos do β -TCP presente como fase secundária no pó inicial de α -TCP e que não participa da reação de hidratação como discutido anteriormente. Além disso, não foi detectada a presença dos produtos característicos da

hidratação C₃S, C-S-H e CH, provavelmente devido ao baixo conteúdo deles nas amostras (inferior ao limite de detecção da técnica) ou ao caráter amorfo dos mesmos.

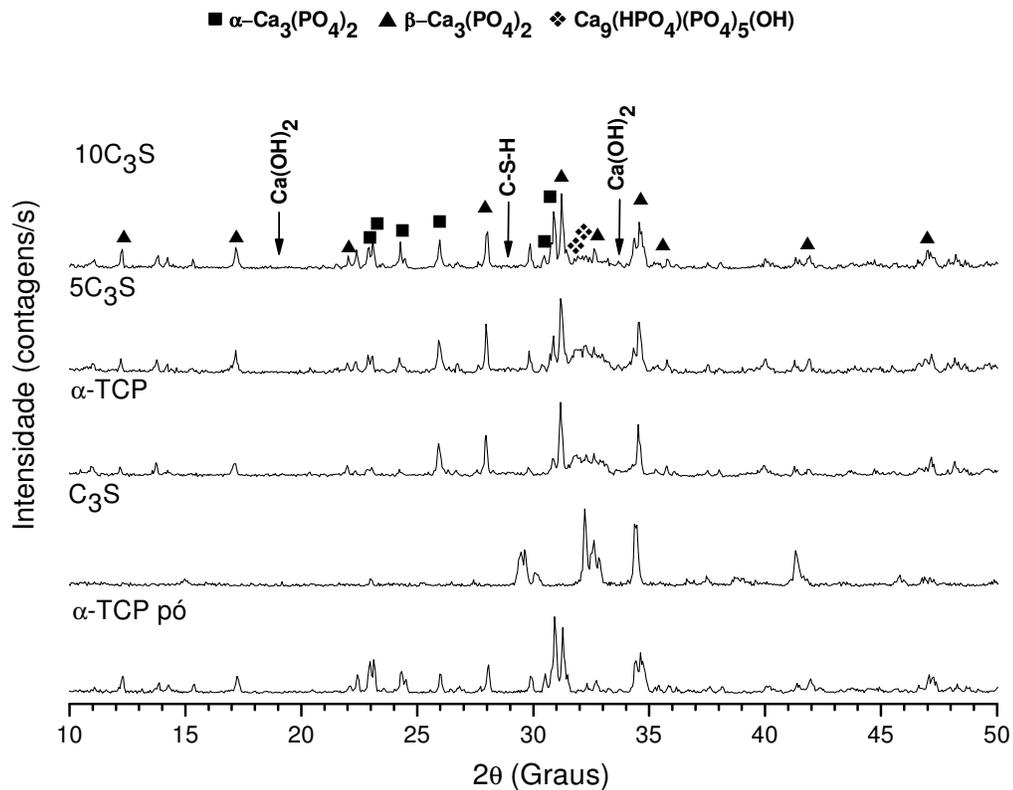


Figura 4.35 Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/C₃S 24h após pega.

Após sete dias em SBF (Fig. 4.36), o difratograma do 5C₃S apresentou os picos característicos da CDHA e poucas diferenças com o difratograma do cimento de α -TCP. As linhas do α -TCP não foram observadas para este tempo de imersão, o que sugere que a reação de hidrólise foi completada ou o α -TCP encontra-se em quantidades inferiores a 5%. Outro comportamento foi observado para o a formulação 10C₃S, onde para este tempo de imersão os picos de α -TCP continuam visíveis e a formação de CDHA é mínima.

Após duas semanas em SBF (Fig. 4.37), o padrão de difração do 5C₃S não apresenta mudanças significativas em relação ao obtido após sete dias. A formulação 10C₃S apresenta grandes quantidades de α -TCP em adição aos picos característicos do CDHA, o que indica que a reação de hidrólise foi inibida pelo maior aumento do pH (Fig. 4.38) ou a formação de

maior quantidade de gel de C-S-H. Entretanto, os picos de CDHA aparecem com uma maior intensidade, provavelmente devido à presença de CHDA precipitada a partir da solução de SBF como será discutido em seções posteriores.

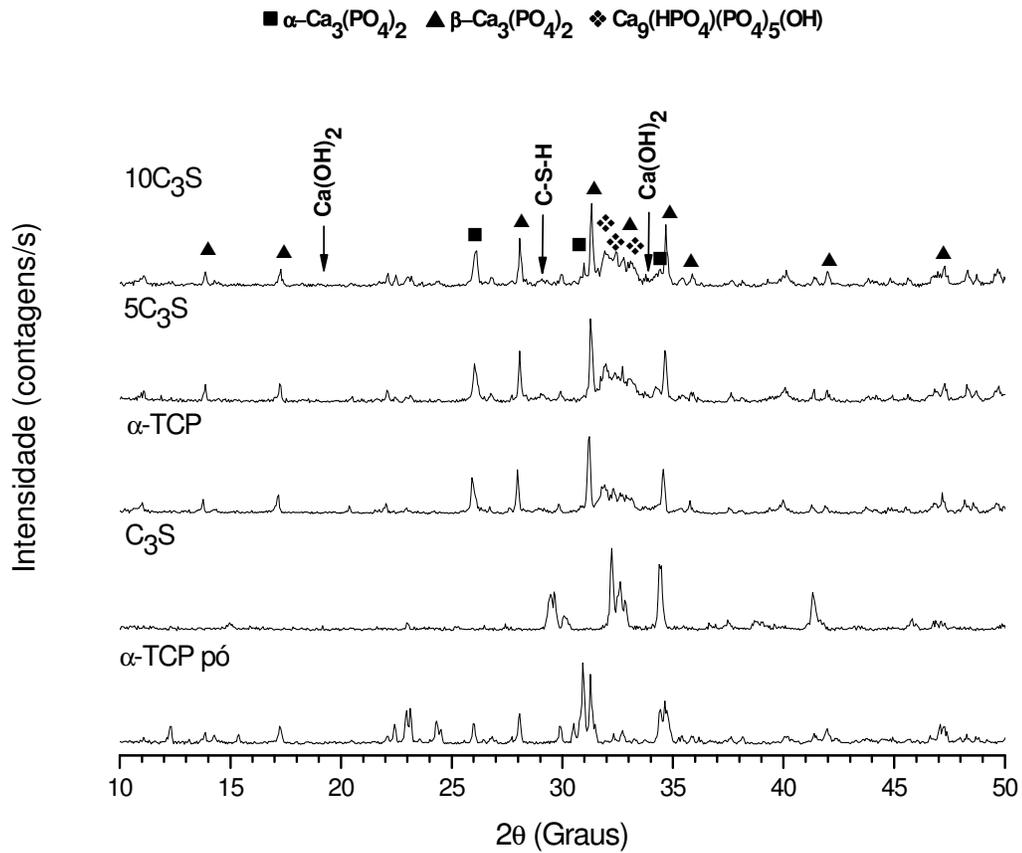


Figura 4.36 Evolução da reação de hidratação do cimento $\alpha\text{-TCP/C}_3\text{S}$ após 7d em SBF.

Ainda que a presença de íons silicato formados a partir do C_3S promova a nucleação de apatita (Kokubo et al., 1991), o principal efeito da adição de C_3S em estágios iniciais da hidratação do $\alpha\text{-TCP}$ parece ser o retardo na dissolução de $\alpha\text{-TCP}$ e precipitação de CDHA. Com a imersão em SBF, a reação de hidratação do $\alpha\text{-TCP}$ é completada, e os picos de $\alpha\text{-TCP}$ desaparecem aos sete dias, resultando em picos mais intensos de CDHA. Nas formulações com maior teor de C_3S (10C₃S) é possível identificar picos de $\alpha\text{-TCP}$, mesmo após 14 dias de imersão; contudo os picos de CDHA aparecem com uma maior intensidade, provavelmente devido à precipitação desta fase a partir da solução de SBF.

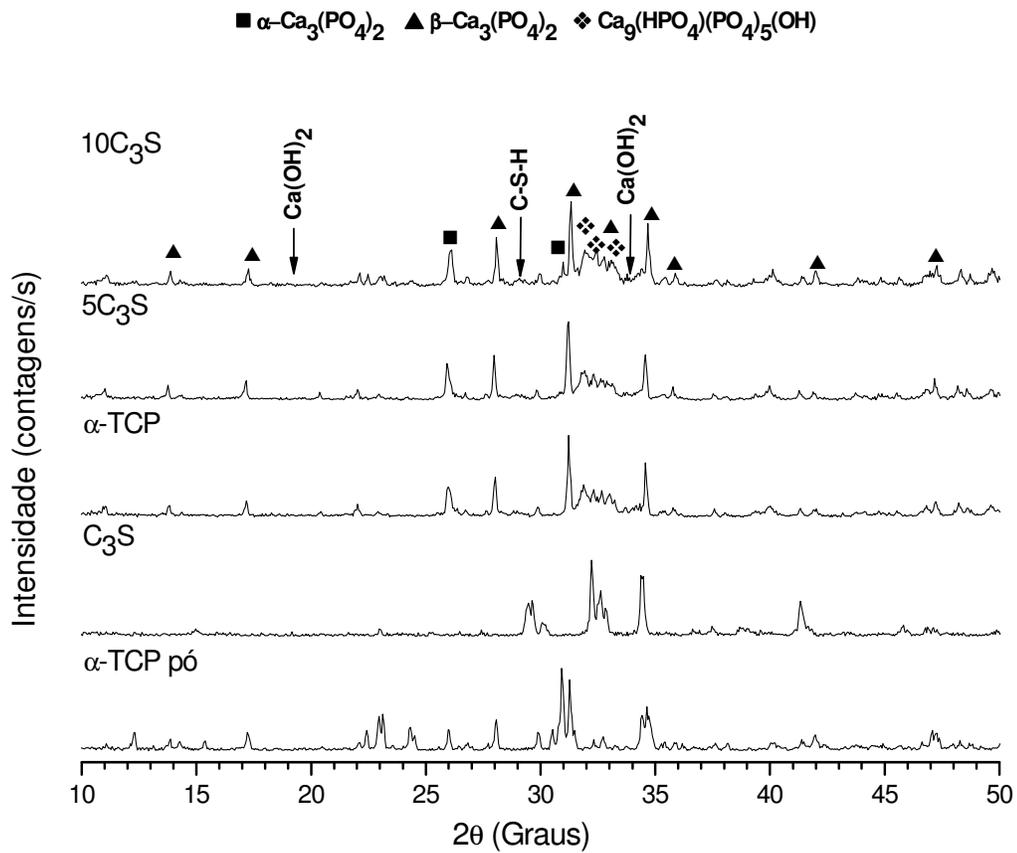


Figura 4.37 Evolução da reação de hidratação do cimento $\alpha\text{-TCP/C}_3\text{S}$ após 14d em SBF.

As mudanças no pH da solução de SBF provocadas pela presença dos cimentos contendo C_3S pode ser observada na Figura 4.38. Como discutido anteriormente, o $\alpha\text{-TCP}$ não provoca mudanças significativas no pH da solução e o mesmo permanece na faixa do pH fisiológico. No entanto, com a adição de C_3S o pH aumenta rapidamente nas primeiras 24h atingindo um máximo de 10,4 para uma adição de 10% em massa. Após este tempo o pH diminui gradualmente e se estabiliza depois de 72h de reação, alcançando valores similares aos do $\alpha\text{-TCP}$.

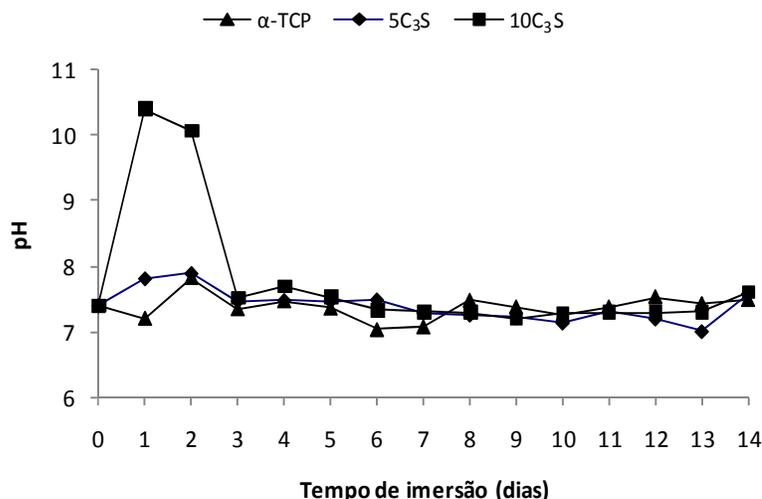


Figura 4.38 Mudanças no pH das formulações contendo C₃S quando imersas em SBF. Comparação com o cimento de α-TCP.

A dissolução dos íons cálcio em fluidos corpóreos desempenha um papel importante na nucleação e crescimento de camadas de hidroxiapatita na superfície de um material. Com a adição de C₃S, íons OH⁻ são liberados ao meio como resultado da formação de CH durante a hidrólise, causando assim a elevação do pH da solução de SBF nas primeiras 72h. Este aumento da alcalinidade impede a solubilização α-TCP e a liberação dos íons Ca²⁺ necessários para alcançar a sobresaturação da solução e posterior precipitação da hidroxiapatita nos primeiros estágios da reação de hidrólise. Neste ponto, o aumento do pH parece ser o fator de peso que influi negativamente na cinética inicial da hidrólise do α-TCP.

O aumento do pH observado para o 5C₃S não é significativo e, provavelmente, para esta formulação o aumento nos tempos de pega devido ao retardo na precipitação da CDHA é resultado conjunto do aumento do pH e a formação do C-S-H sobre a superfície das partículas de α-TCP.

A Figura 4.39 mostra as imagens de MEV da superfície do 5C₃S e 10C₃S em diferentes tempos de imersão. A capacidade de um material de formar apatita na superfície quando imerso em fluido fisiológico pode prever o grau de bioatividade do material quando implantado no osso vivo. Quanto mais curto o período de formação desta camada superficial em SBF, menor o tempo que demora o material em enlaçar-se ao tecido vivo através da mesma quando implantado.

Ao adicionar 5% em massa de C_3S ao cimento de α -TCP (Fig. 4.39a), 24h após pega e antes da imersão em SBF, observou-se a formação de uma camada superficial de C-S-H de aspecto gelatinoso cobrindo os grãos de α -TCP que ainda não reagiram. Após sete dias de imersão em SBF a morfologia da superfície $5C_3S$ mudou e foi observada uma microestrutura em forma de agulhas característica de C-S-H tipo I (Fonseca & Jennings, 2010). Uma camada homogênea de CDHA com morfologia globular, típica de materiais bioativos e similar à obtida em óxidos metálicos de SiO_2 após imersão em SBF (Kokubo, 2006), foi detectada aos 14 dias de imersão. Com maiores adições de C_3S (Fig.4.39b), a superfície do cimento 24h após pega aparece coberta ou salpicada com pequenos cristais de características similares aos de CDHA observados no início da cristalização no cimento de α -TCP (Fig. 4.13a). Contudo, os cristais observados respondem à estrutura do C-S-H, características de amostras observadas mediante MEV convencional (Neubauer & Jennings, 1996). Após sete dias de imersão em SBF se observou a deposição de uma camada de apatita sobre a superfície do cimento que aumentou em densidade e homogeneidade com o incremento do tempo de imersão (14d).

Os materiais contendo C_3S não mostraram contaminação superficial por colônias de bactérias como foi observado no cimento de α -TCP. Este fato pode ser consequência do aumento do pH nas primeiras 72h como resultado da liberação de íons OH^- durante a hidrólise do C_3S .

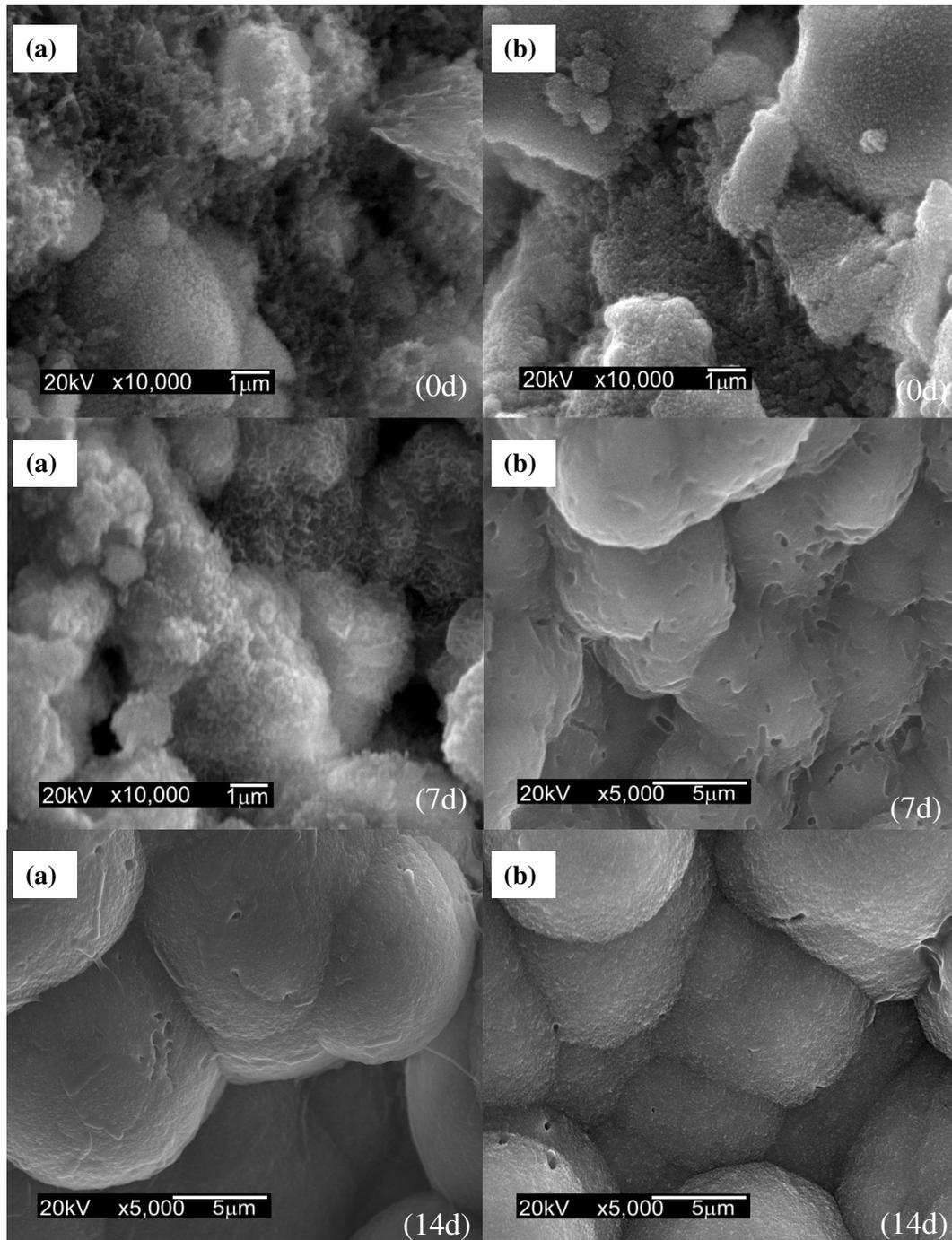


Figura 4.39 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de 5C₃S (a) e 10C₃S (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.

As superfícies de fratura dos materiais apresentaram microestruturas bem diferentes das tradicionalmente observadas para os cimentos de α -TCP (Fig. 4.40). Não foram observados os cristais petalóides ou em forma de agulhas característicos do início da pega dos CPC nem a microestrutura tipo hastes de sistemas mais envelhecidos (Ambard & Meuninghoff, 2006).

Antes da imersão em SBF, a formulação 5C₃S (Fig. 4.40a) mostrou a formação de pequenos cristais de CDHA sobre a superfície das partículas de α -TCP de maior tamanho que ainda não foram dissolvidas totalmente. Esta micrografia apresenta grande semelhança com a superfície de cimento de α -TCP (Fig. 4.13a) e provavelmente a microestrutura observada seja resultado do retardo da precipitação de CHDA devido à presença do C-S-H e CH.

Com o avanço da reação e o tempo de imersão em SBF, nota-se a presença de cristais aciculares crescidos a partir dos inicialmente formados, e a formação de grãos de Hadley característicos de pastas de cimentos de C₃S e α -TCP (Brown, 1999). Também é possível observar a presença de grãos de β -TCP sem reagir sendo envolvidos pelas agulhas de CDHA.

Para adições de maiores teores de C₃S (Fig. 4.40b) não se observou variações significativas da microestrutura com o tempo de imersão em SBF, sendo que a morfologia mais comumente encontrada uma mistura de C-S-H amorfo e C-S-H fibrilar tipo I. Este tipo de estrutura forma parte do estado natural úmido do OP e tende a se formar quando há mais espaço disponível como nos poros do cimento.

Quando comparados com materiais bioativos tais como vitro cerâmicas A-W ou o Bioglass®, os CPC apresentam uma menor capacidade de indução da formação de uma camada superficial de apatita com características similares ao osso (Kobayashi et al., 1998). A deposição de apatita sobre a superfície dos CPC é altamente dependente da supersaturação de íons Ca²⁺ e PO₄³⁻ e de fato este processo avança com uma baixa taxa de velocidade resultando na ausência de uma camada de apatita homogênea na fase inicial da implantação (Kokubo, 2006).

Com a presença do C₃S no cimento, íons HSiO³⁻ são liberados durante a hidratação atuando como sítios de nucleação dos cristais de apatita e conseqüentemente, acelerando a deposição da camada superficial (Huan & Chang, 2009). Os resultados do MEV mostraram que as pastas α -TCP/C₃S induzem a deposição de uma camada superficial de hidroxiapatita de maior homogeneidade e o tempo de formação da mesma é dependente do teor adicionado: quanto maior o teor de C₃S, menor o tempo de indução da camada superficial de hidroxiapatita.

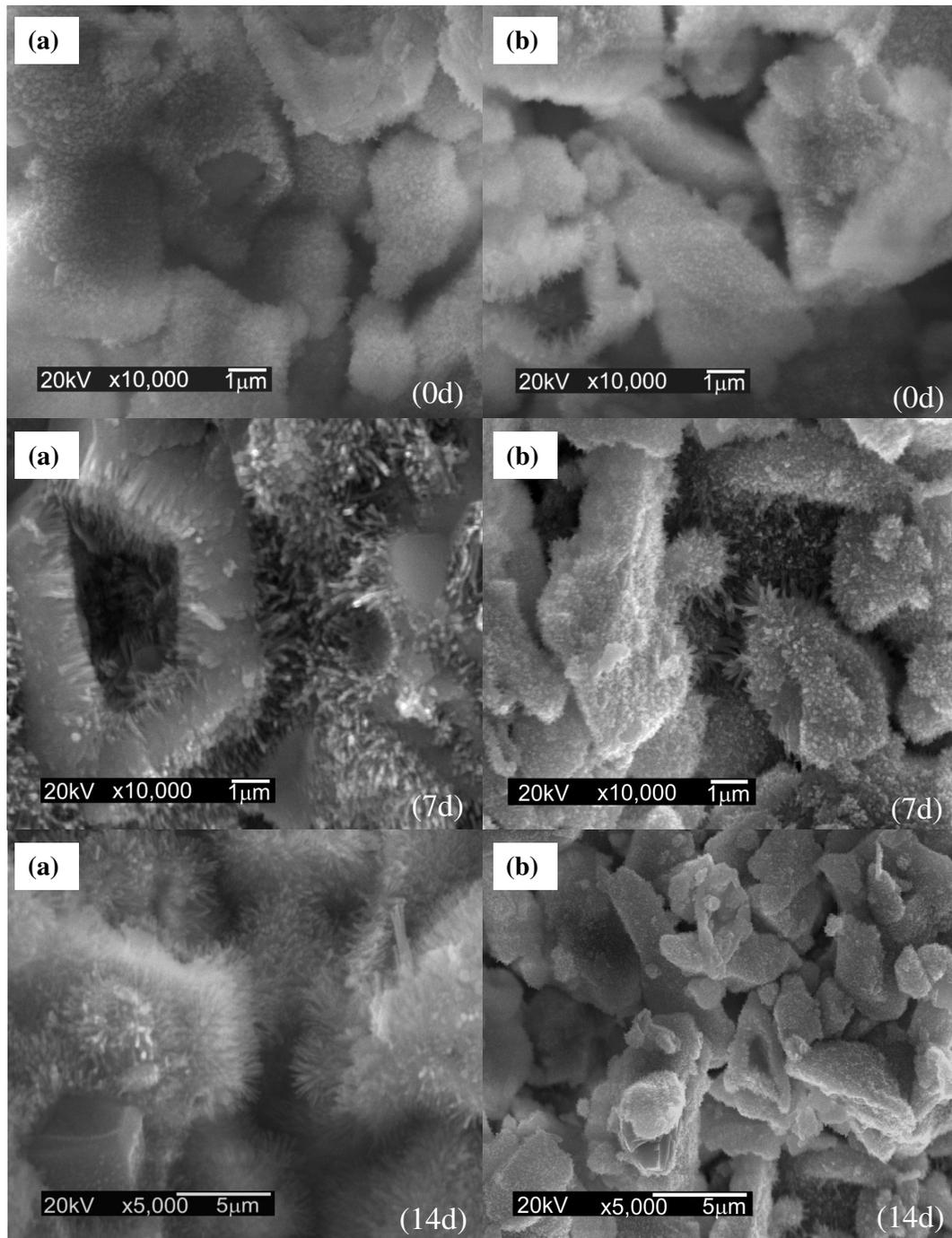


Figura 4.40 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de 5C₃S (a) e 10C₃S (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.

A Figura 4.41 mostra os resultados da resistência mecânica dos cimentos mistos antes e depois da imersão em SBF. Com a adição de C₃S, a resistência à compressão dos materiais

diminui drasticamente nas primeiras 24h após pega. Para o 5C₃S, na medida em que aumenta o tempo de imersão, a resistência mecânica se incrementa, chegando a alcançar valores médios superiores aos do cimento tradicional, embora não sejam estatisticamente significativos. Para a formulação 10C₃S, o valor da resistência a compressão não variou com o tempo de imersão e os valores máximos alcançados foram de 3MPa.

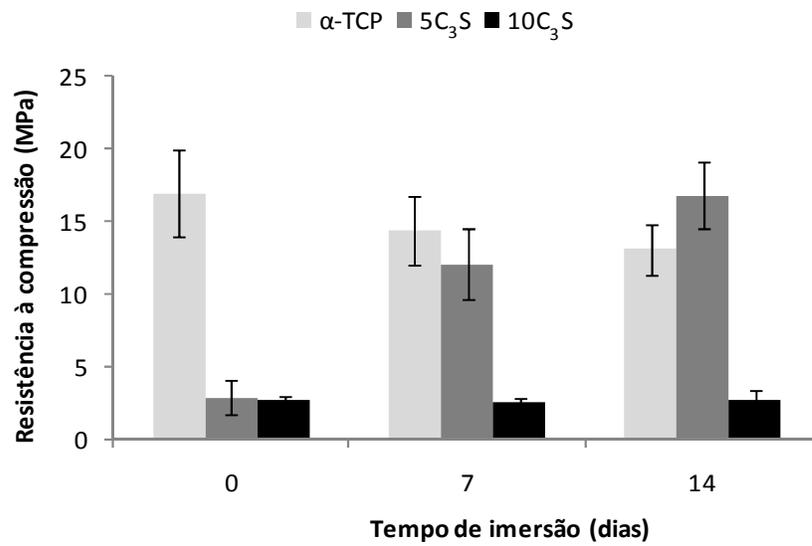


Figura 4.41 Variação da resistência à compressão do cimento de α -TCP e dos cimentos com C₃S em SBF.

A resistência mecânica está estreitamente relacionada com a porosidade dos CPC, sendo esta última altamente dependente da relação L/P utilizada durante a mistura dos materiais (Ishikawa & Asaoka, 1995). Para alcançar altos valores de resistência, geralmente são utilizados redutores de líquido, que permitem obter materiais menos porosos e mais resistentes. Na preparação dos cimentos mistos foi necessário aumentar a quantidade de líquido para alcançar uma pasta de consistência adequada. Contudo, a queda da resistência mecânica inicial não está associada a um aumento da porosidade dos materiais com C₃S como pode ser observado na Figura 4.42. Mesmo com o aumento na quantidade de líquido utilizado, os valores de porosidade aparente não foram significativamente diferentes ao do cimento convencional e não sofreram alterações durante o processo de imersão em SBF, o que também não justifica as variações nos valores de resistência obtidos após duas semanas de imersão em SBF para as formulações 5C₃S e 10C₃S.

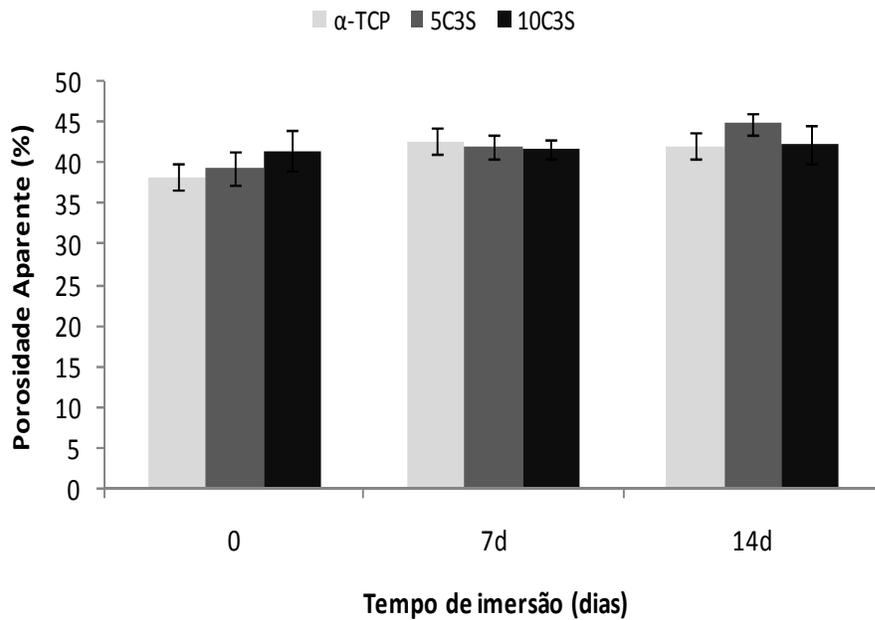


Figura 4.42 Variação da porosidade aparente do cimento de α -TCP e dos cimentos com C_3S em SBF.

A resistência mecânica e o grau de extensão da reação de hidratação do cimento encontram-se fortemente correlacionados, uma vez que as mudanças microestruturais, que ocorrem enquanto a reação progride, são as responsáveis pelo comportamento mecânico do cimento (García, 2000). Devido ao efeito negativo do C_3S sobre os tempos de pega e sobre a taxa de hidratação do α -TCP durante as primeiras 24h de reação, a resistência mecânica diminui, devido à pouca precipitação de CDHA como resultado do aumento do pH pela presença de CH e da formação do gel de C-S-H sobre as partículas de α -TCP. Com o consumo de C_3S e o crescimento dos cristais de CDHA, a resistência mecânica começa a aumentar. No entanto, a morfologia dos cristais formados difere dos cristais petalóides característicos dos cimentos de apatita, uma vez que os íons silício podem inibir o crescimento dos cristais precipitados (Pietak et al., 2007), o que poderia explicar que os valores de resistência mecânica alcançados sejam similares após imersão em SBF e não se observe uma melhoria substancial destas propriedades.

A incorporação de 10% de C_3S resulta em um maior aumento do pH e uma maior formação de C-S-H, o que produz um importante retardo no processo de dissolução-precipitação do cimento de α -TCP, com queda inicial das propriedades mecânicas do cimento composto.

Para determinadas aplicações clínicas, é necessário que os materiais de substituição óssea apresentem propriedades mecânicas adequadas a curto e longo prazo que permitam o processo de cura do defeito ósseo reparado. Contrariamente à maioria dos CPC, a resistência mecânica dos cimentos mistos se incrementa com a imersão em SBF (Charriere et al., 2001; Huan & Chang, 2009). Esta habilidade de auto-reforço é atribuída ao fato de que o processo de hidratação contínua do C_3S resulta na polimerização progressiva do gel C-S-H e no desenvolvimento de uma rede sólida que aumenta a resistência em longo prazo dos materiais compostos (Wang et al., 2007; Huan & Chang, 2007). Esta propriedade é de grande importância, já que um sistema com estas características pode tolerar melhor os efeitos adversos do processo de degradação sobre a estrutura do material, propiciando um suporte mecânico estável em longo prazo durante o processo de regeneração óssea.

A adição de C_3S ao cimento de α -TCP provocou um aumento na solubilidade e degradação dos materiais durante os primeiros sete dias de imersão em SBF (Fig. 4.43), sendo que a taxa de degradação dos cimentos mistos incrementou-se com o aumento do conteúdo de C_3S adicionado. No entanto, verificou-se uma inversão deste comportamento depois de transcorrido uma semana e observou-se um ganho de massa nos materiais muito mais acentuado no caso da formulação $5C_3S$.

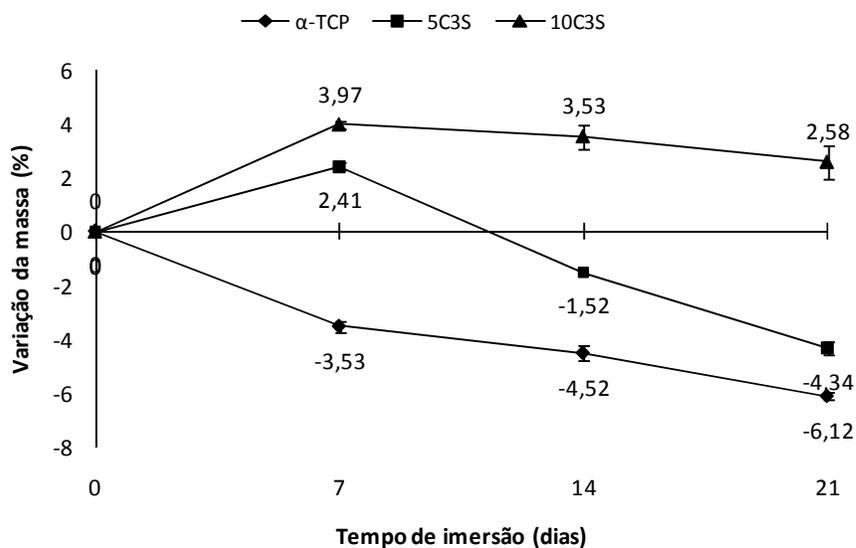


Figura 4.43 Variação da massa do cimento de α -TCP e dos cimentos com 5% de C_3S e 10% de C_3S após 21 dias em SBF.

Considerando o fato de que o processo de degradação é regulado essencialmente pela composição química, características físicas do material e a cristalinidade (Lu et al., 2002), a razão para a maior taxa de degradação dos cimentos mistos α -TCP/C₃S, poderia ser a maior solubilidade do C-S-H em relação à solubilidade da CDHA. Durante as primeiras 72h em solução de SBF, observou-se a presença de um precipitado gelatinoso amorfo na solução sobrenadante, identificado por DRX após secagem (Fig. 4.44) como uma mistura de silicatos de cálcio hidratados: $1,5\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2\cdot x\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS 33-0306) e $2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2\cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS 12-0199), o que indica a solubilização da fase C-S-H formada durante a hidratação do C₃S.

Após sete dias de imersão em SBF, uma inversão na degradação dos cimentos foi observada devido à quantidade de apatita formada, como resultado da hidratação do α -TCP ou como consequência da precipitação sobre a superfície do cimento a partir da solução de SBF; sendo esse efeito maior que a perda de massa pelo efeito da dissolução do C-S-H ou das outras fases presentes. Assim, os cimentos experimentaram um aumento na massa total.

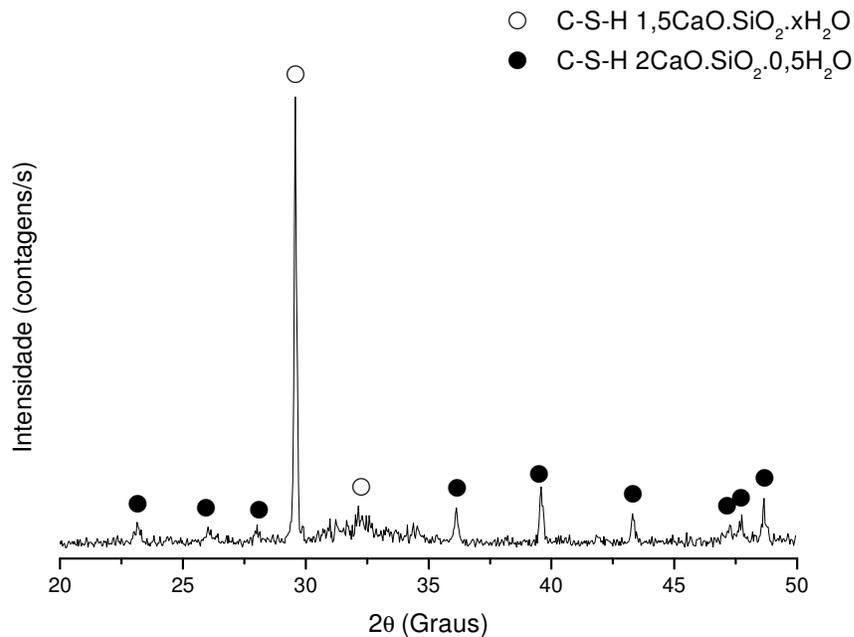


Figura 4.44 Difratograma de raios X do produto de degradação dos cimentos α -TCP/C₃S.

A interação *in vitro* das células com os materiais é um critério de grande utilidade na avaliação da biocompatibilidade dos novos biomateriais. Os resultados do ensaio de citotoxicidade utilizando PBMCs podem ser vistos na Figura 4.45. Para os cimentos com C₃S,

às 24h de incubação, e observou-se que a citotoxicidade foi significativamente menor do que o controle positivo ($p < 0,05$) e menor que a dos cimentos de α -TCP. Além disso, verificou-se que a viabilidade de PBMCs diminuiu em todas as composições, após incubação por 48h.

Os resultados do teste de citotoxicidade mostraram que os cimentos mistos são menos citotóxicos e apresentam uma maior biocompatibilidade que o cimento de α -TCP. Esta diminuição está associada à presença de íons silicato presentes nas pastas α -TCP/C₃S que, como é sabido, estimula a proliferação celular (Hench & West, 1996; Zhao et al., 2005). O ligeiro aumento da citotoxicidade após 48h pode ser o resultado da ocorrência de algumas transformações químicas do material no meio de cultura, uma vez que a hidratação dos materiais continua após sete dias, como foi comprovado pela DRX.

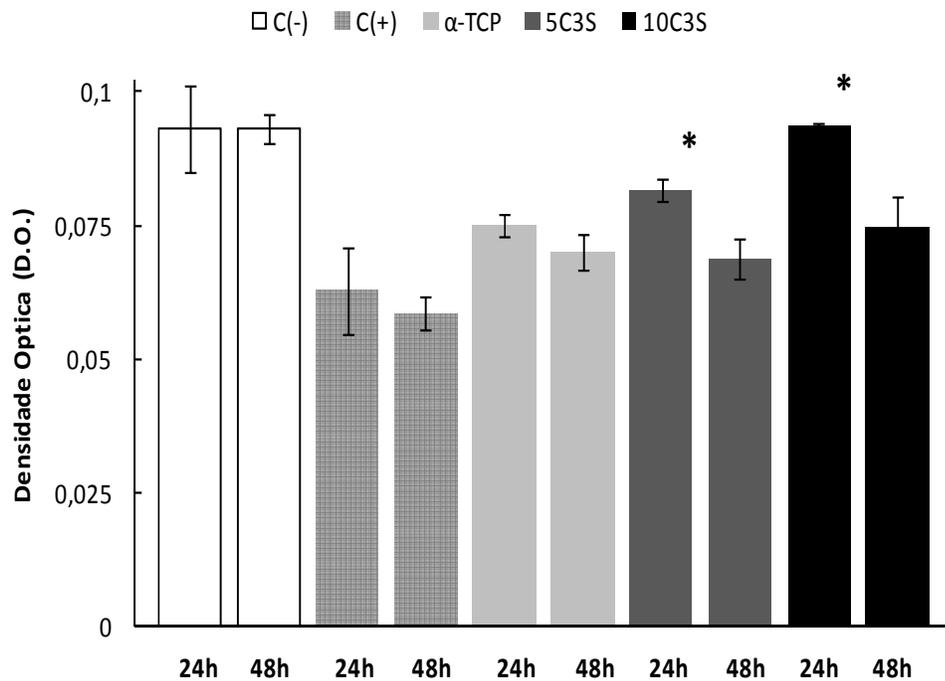


Figura 4.45 Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. * indica que a viabilidade celular foi significativamente diferente do controle negativo ($p < 0,05$).

4.2.4. Sistema α -TCP/C₃S/SiO₂

Com o intuito de diminuir os tempos de pega; diminuir o pH local; e aumentar a resistência mecânica inicial dos cimentos mistos contendo C₃S, foi adicionado SiO₂ às formulações; uma vez que, o SiO₂ acelera a reação de hidratação do C₃S mediante o consumo do CH formado.

A sílica utilizada no estudo mostrou uma mistura de diferentes polimorfos além da forma amorfa (Fig. 4.46), apesar de que o α -quartzo é a única forma estável em condições normais e é a forma cristalina mais comum do dióxido de silício. As fases encontradas foram: Cristobalita (JCPDS 76-0936); Tridimita M (JCPDS 76-0894), Quarzo (JCPDS 79-1913), SiO₂ (JCPDS 16-0980).

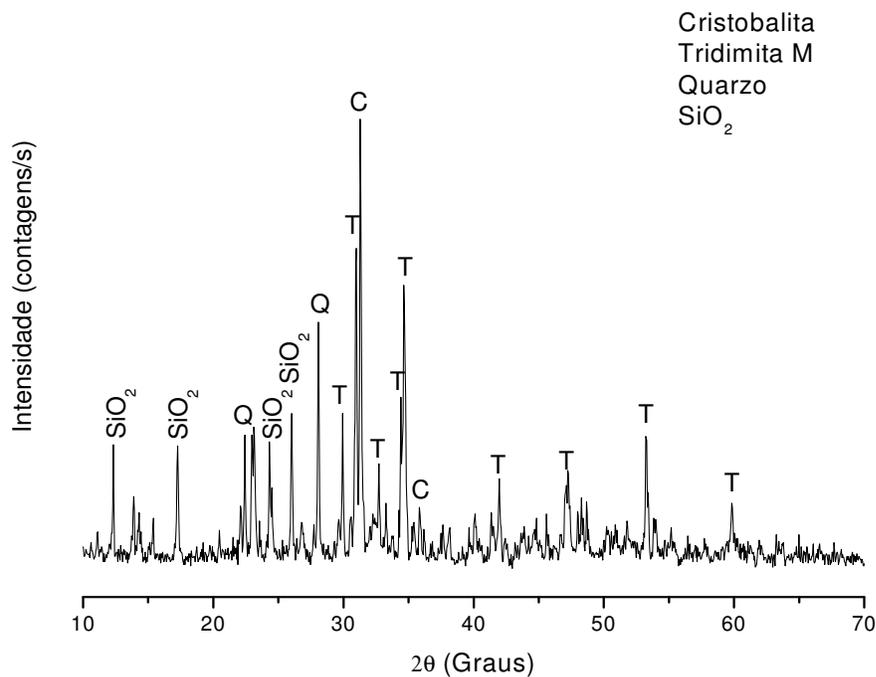


Figura 4.46 Difratoograma de raios X do SiO₂ utilizado como aditivo na formulação α -TCP/C₃S.

A análise da distribuição de tamanhos de partículas do SiO₂ mostrou um tamanho médio de 19,54 μ m, possivelmente devido à agregação das partículas de menor tamanho, e uma área superficial específica igual a 133g/cm³.

Os resultados das medições dos tempos de pega, após adição de SiO_2 são mostrados na Figura 4.47. O ensaio foi realizado utilizando a mesma quantidade de líquido que as formulações de $\alpha\text{-TCP}/\text{C}_3\text{S}$ para fixar este parâmetro. A relação L/P utilizada foi de 0,44 para 5SiO_2 e de 0,46 para 10SiO_2 . O número na identificação das amostras representa o teor de C_3S adicionado.

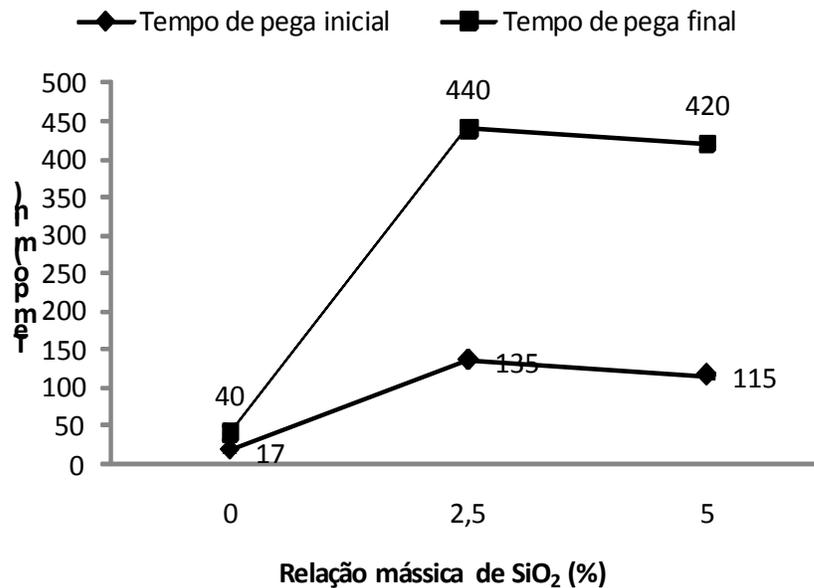


Figura 4.47 Tempos de pega para os cimentos mistos $\alpha\text{-TCP}/\text{C}_3\text{S}/\text{SiO}_2$. Relação $\text{SiO}_2:\text{C}_3\text{S}=2$

Quando comparados ao cimento de $\alpha\text{-TCP}$, observou-se um aumento importante nos tempos iniciais e finais de pega, o que resulta em materiais não aptos para aplicações imediatas. No entanto, verificou-se uma redução dos tempos de pega iniciais em relação às formulações $\alpha\text{-TCP}/\text{C}_3\text{S}$. Esta diminuição pode estar associada à maior reatividade do SiO_2 em relação aos pós de $\alpha\text{-TCP}$ e C_3S respectivamente devido à alta área superficial do material empregado.

Com a adição de C_3S , a solubilidade do $\alpha\text{-TCP}$ diminui devido à formação do C-S-H e CH durante a hidrólise do silicato, aumentando assim os tempos de pega do cimento convencional. A adição de SiO_2 reduz a alcalinidade do meio, em relação aos cimentos contendo C_3S (Fig. 4.48), como resultado da reação com o CH formado; contudo, ao reagir, aumenta a quantidade de C-S-H formada sobre a superfície das partículas de $\alpha\text{-TCP}$,

evitando, assim, a dissolução das mesmas e conseqüentemente, a precipitação de hidroxiapatita.



As mudanças observadas no pH durante a imersão em SBF mostraram que a adição de SiO_2 reduz significativamente os valores de pH em relação aos cimentos de α -TCP/ C_3S como resultado do consumo de CH. Entretanto, observou-se um ligeiro incremento em relação ao cimento de α -TCP nas primeiras 72h de reação, tempo no qual deve transcorrer a hidrólise do C_3S e devem existir em solução alguns íons hidroxila. Após este tempo, o pH permanece praticamente constante em valores próximos ao pH fisiológico e não se observam mudanças em relação ao cimento convencional.

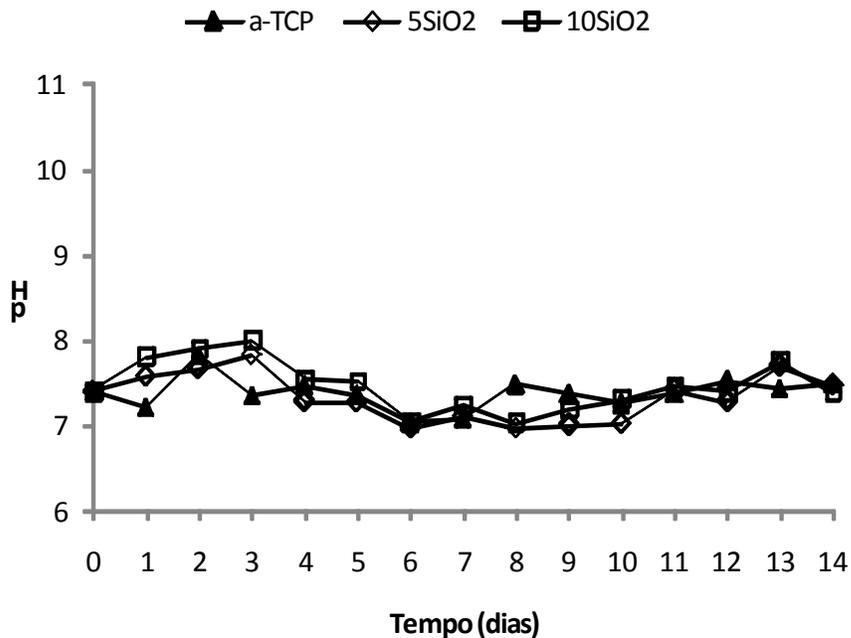


Figura 4.48 Mudanças no pH das formulações contendo C_3S e SiO_2 quando imersas em SBF.

Os padrões de difração dos cimentos mistos após 24h de pega mostraram algumas diferenças dependendo do teor de $\text{C}_3\text{S}/\text{SiO}_2$ adicionado (Fig. 4.49). A formulação 5SiO₂ mostrou os picos característicos de CDHA, embora acompanhados de picos de α -TCP sem

reagir. Quanto maior o teor de C_3S/SiO_2 adicionado, maior a intensidade dos picos de α -TCP, e maior a semelhança com o difratograma do α -TCP. No cimento $10SiO_2$, o pico mais intenso da CDHA observou-se com uma intensidade bem reduzida, resultado da não hidratação do α -TCP.

Como já visto anteriormente, todos os difratogramas apresentaram as linhas de difração características do β -TCP e não foi observado o C-S-H devido a seu caráter amorfo ou a pequena quantidade presente na amostra.

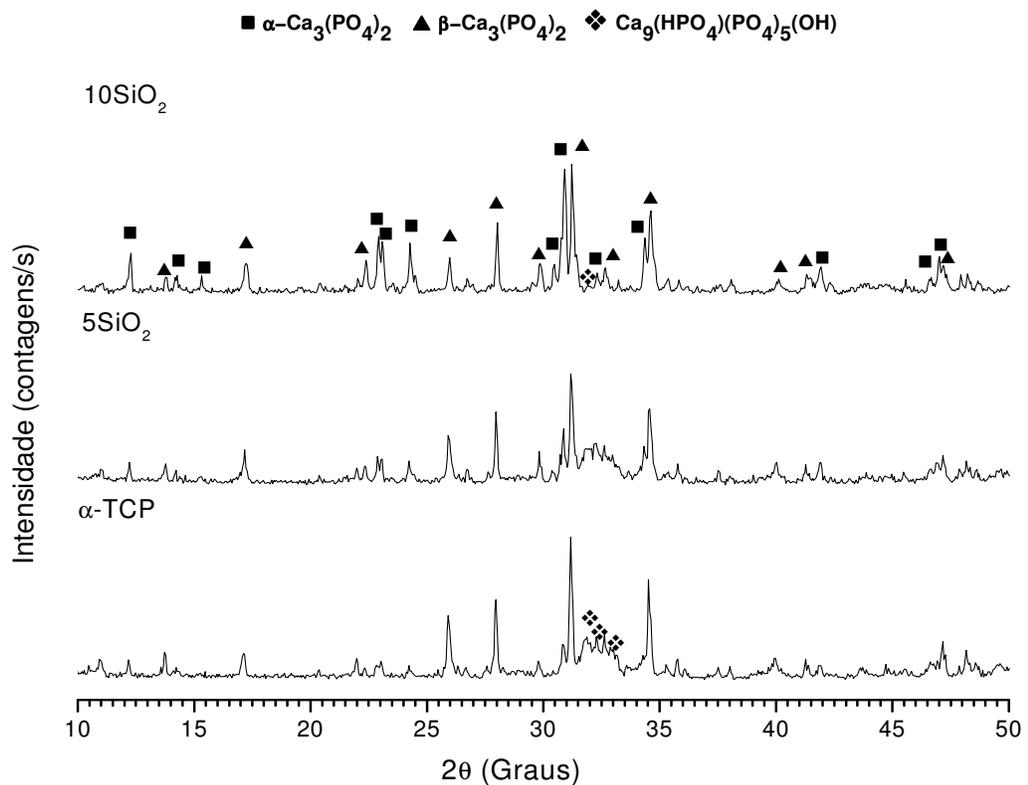


Figura 4.49 Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/ C_3S/SiO_2 24h após pega.

Após sete dias em SBF (Fig. 4.50), na formulação $5SiO_2$ verificou-se um avanço na reação de hidrólise do α -TCP que resulta na diminuição e quase desaparecimento do pico de maior intensidade do α -TCP, enquanto o difratograma do $10SiO_2$ mostrou poucas diferenças com o cimento 24h após pega, evidenciando que a reação de hidratação do α -TCP foi inibida,

mesmo que a adição de SiO_2 tenha diminuído o pH do meio mediante a eliminação/redução do CH.

Duas semanas após imersão em SBF (Fig. 4.51) observou-se pouca mudança no difratograma da formulação 5SiO_2 e junto aos picos de difração da CDHA verificou-se a presença de α -TCP. No entanto, para a formulação 10SiO_2 constatou-se o surgimento das linhas de difração características da CDHA e uma pequena quantidade de α -TCP ainda sem reagir.

O método de difração utilizado não permitiu diferenciar entre a hidroxiapatita depositada na superfície e a produzida durante a pega do cimento, sendo necessárias observações por MEV das superfícies e superfícies de fratura para uma melhor compreensão do processo de pega e para determinar o possível caráter bioativo dos materiais.

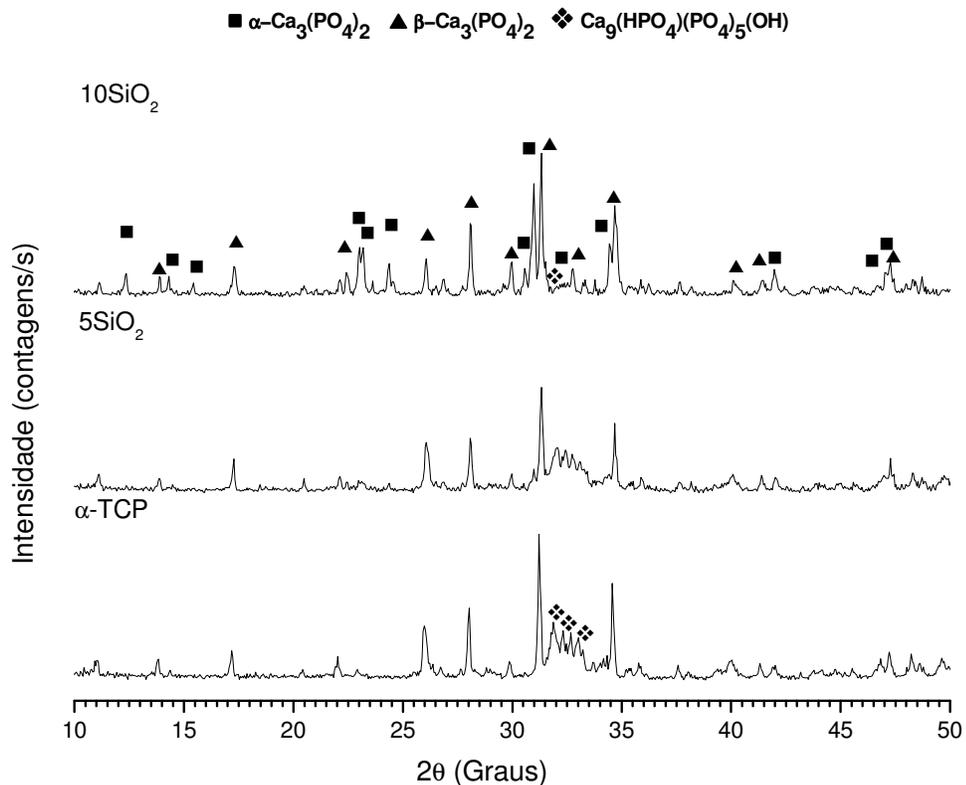


Figura 4.50 Evolução da reação de hidratação do cimento α -TCP/ $\text{C}_3\text{S}/\text{SiO}_2$ após 7d em SBF.

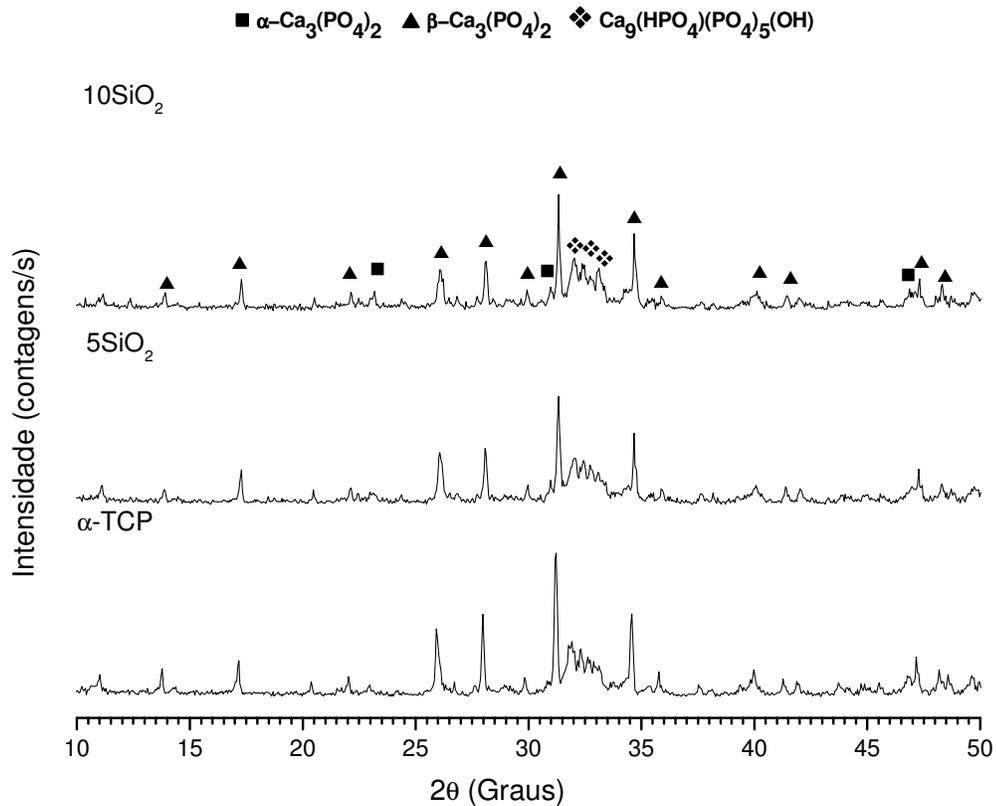


Figura 4.51 Evolução da reação de hidratação do cimento $\alpha\text{-TCP/C}_3\text{S/SiO}_2$ após 14d em SBF.

A Figura 4.52 exibe as micrografias da superfície dos cimentos com $\alpha\text{-TCP/C}_3\text{S/SiO}_2$ após diferentes tempos de imersão. Devido ao retardo produzido na hidratação do $\alpha\text{-TCP}$, o cimento misto, 24h após pega, mostrou uma morfologia irregular, similar à encontrada em pós de $\alpha\text{-TCP}$ com a deposição de pequenos cristais na superfície de algumas das partículas. Nenhuma estrutura cristalina ou amorfa, característica dos produtos de hidratação do $\alpha\text{-TCP}$ ou do C_3S foi identificada para este tempo de reação.

A adição de pequenas quantidades de SiO_2 (5SiO_2) produz uma aparência irregular e amorfa após sete dias em SBF e uma camada homogênea de CDHA com morfologia globular típica de materiais bioativos, após 14 dias de imersão. Quanto maior o teor de $\text{C}_3\text{S/SiO}_2$ no composto, menor o tempo necessário para a formação da camada superficial de CDHA. Nenhum morfologia característica do C-S-H tipo I ou da CDHA precipitada mediante hidrólise do $\alpha\text{-TCP}$ foram observadas na superfície das partículas.

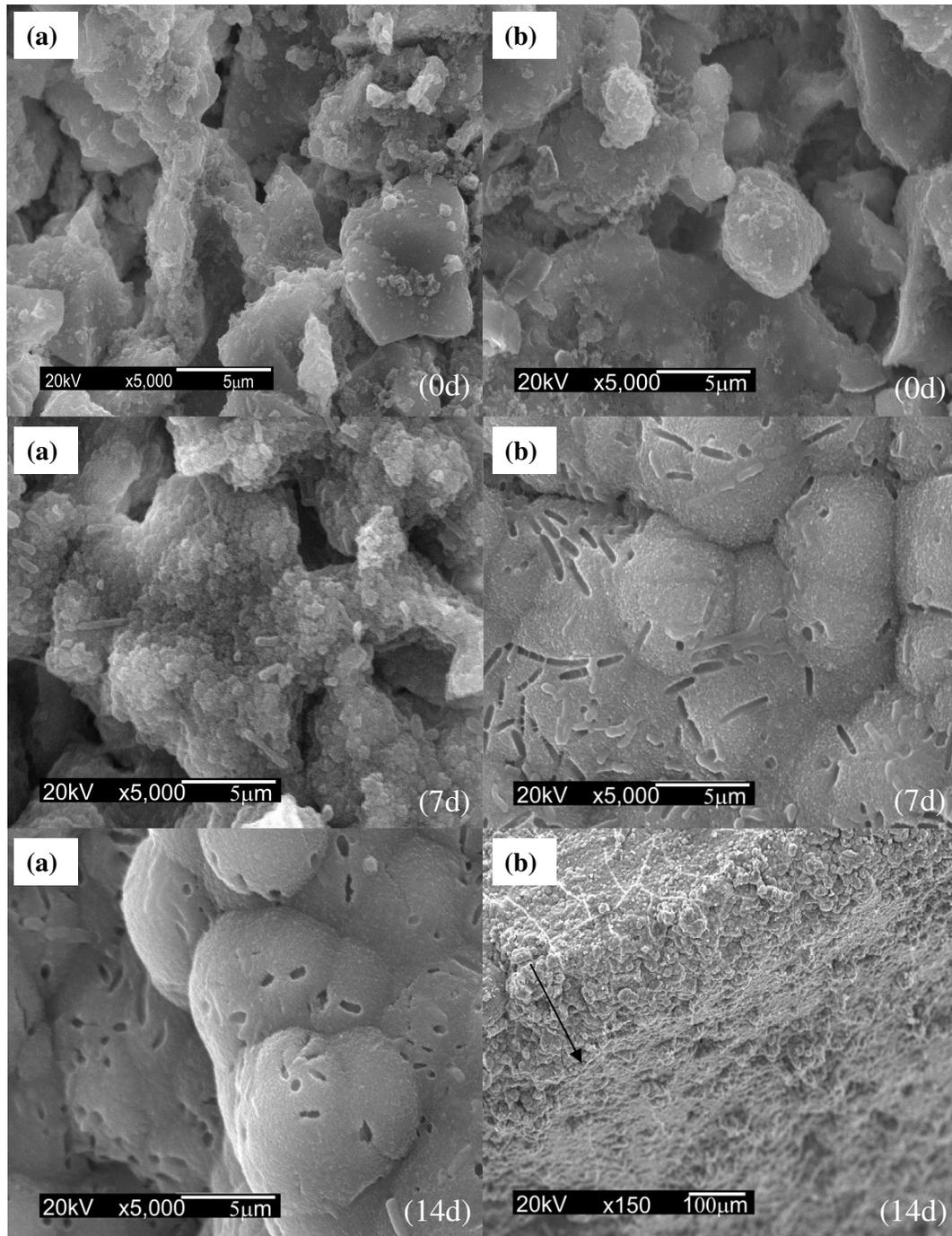


Figura 4.52 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície dos cimentos de 5SiO₂ (a) e 10SiO₂ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.

Entretanto, após 24h em solução de SBF (Fig. 4.53) observou-se a formação do gel de C-S-H na superfície dos materiais, encontrando-se este composto em maior abundância nas formulações com maior conteúdo de C_3S . A superfície de fratura dos materiais neste tempo mostrou a precipitação de cristais em forma de agulhas para $5SiO_2$ encobrindo as partículas de α -TCP de maior tamanho. No entanto, uma morfologia irregular com pequenas regiões de precipitação de CDHA foi observada para a formulação $10SiO_2$.

Da mesma forma que nos cimentos convencionais, observou-se contaminação superficial por colônias de bactérias Bacillus e Cocci, devido provavelmente à redução do pH do meio por consumo dos íons hidroxila em presença de SiO_2 .

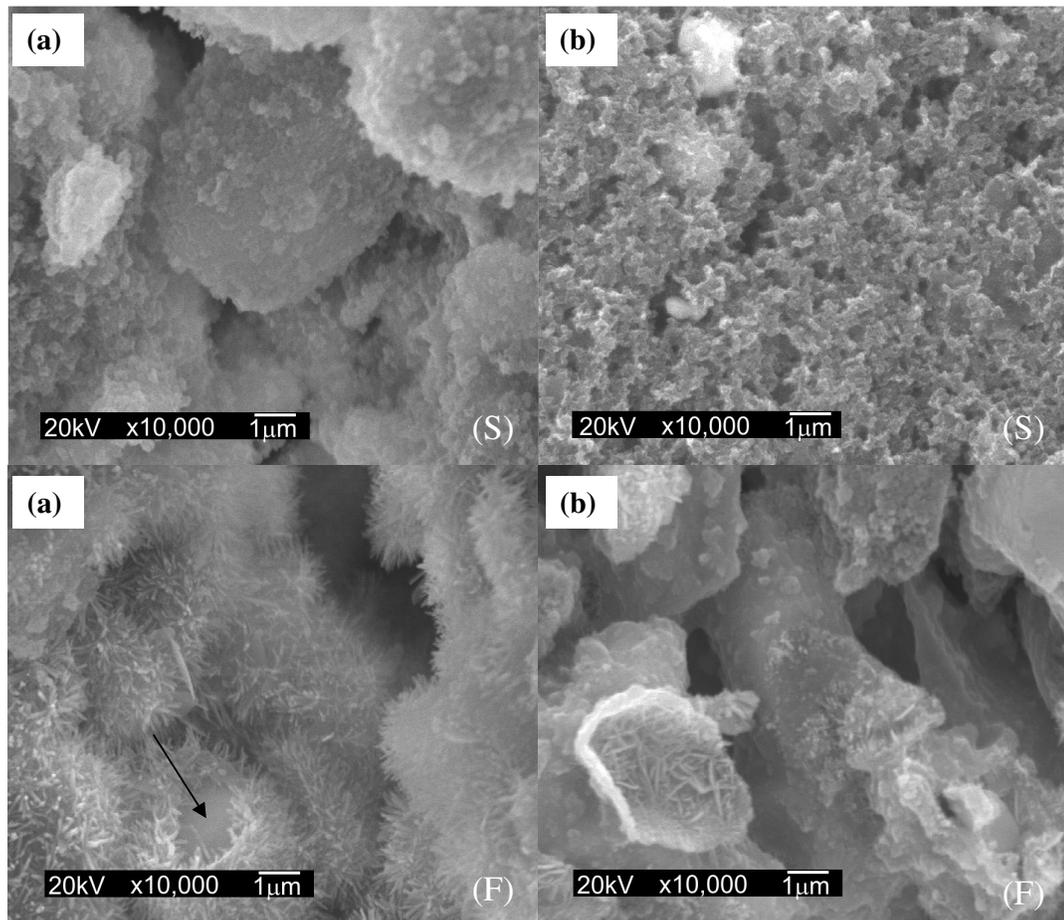


Figura 4.53 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície e superfície de fratura dos cimentos $5SiO_2$ (a) e $10SiO_2$ (b) após 24h imersos em SBF. (S) Superfície, (F) Fratura

Com a presença de maior quantidade de íons HSiO_3^- em solução atuando como sítios de nucleação dos cristais de apatita, deveria ocorrer uma aceleração na formação da camada superficial de CDHA. Entretanto, não houve uma diferença significativa no tempo de deposição da mesma com o aumento do conteúdo de fontes de silício ou uma densificação aparente diferenciada em relação aos cimentos α -TCP/ C_3S . A espessura da camada depositada alcançou dimensões de $200\mu\text{m}$ em algumas regiões da superfície, valores similares aos do cimento baseado em C_3S após 7d em SBF.

A superfície de fratura dos cimentos mistos mostrou características morfológicas diferentes às observadas na superfície dos materiais (Fig. 4.54). Com baixo conteúdo de SiO_2 (5SiO_2) observou-se a precipitação de cristais de CDHA em algumas regiões do cimento. Estes cristais apresentaram um menor tamanho em relação ao cimento de α -TCP convencional e não foram observados na totalidade da superfície de fratura, observando-se ainda a presença de grãos de α -TCP sem reagir em algumas áreas.

Para maiores adições de SiO_2 (10SiO_2), as micrografias não apresentaram diferenças significativas com o aumento do tempo de imersão em SBF e observou-se a deposição de pequenos cristais identificados como C-S-H sobre os grãos de α -TCP sem reagir. Não foram identificados os cristais em forma de agulha ou petalóides característicos das pastas hidratadas de α -TCP, comportamento atribuído ao pouco grau de avanço da reação de hidratação em presença de altos conteúdos de C_3S e SiO_2 .

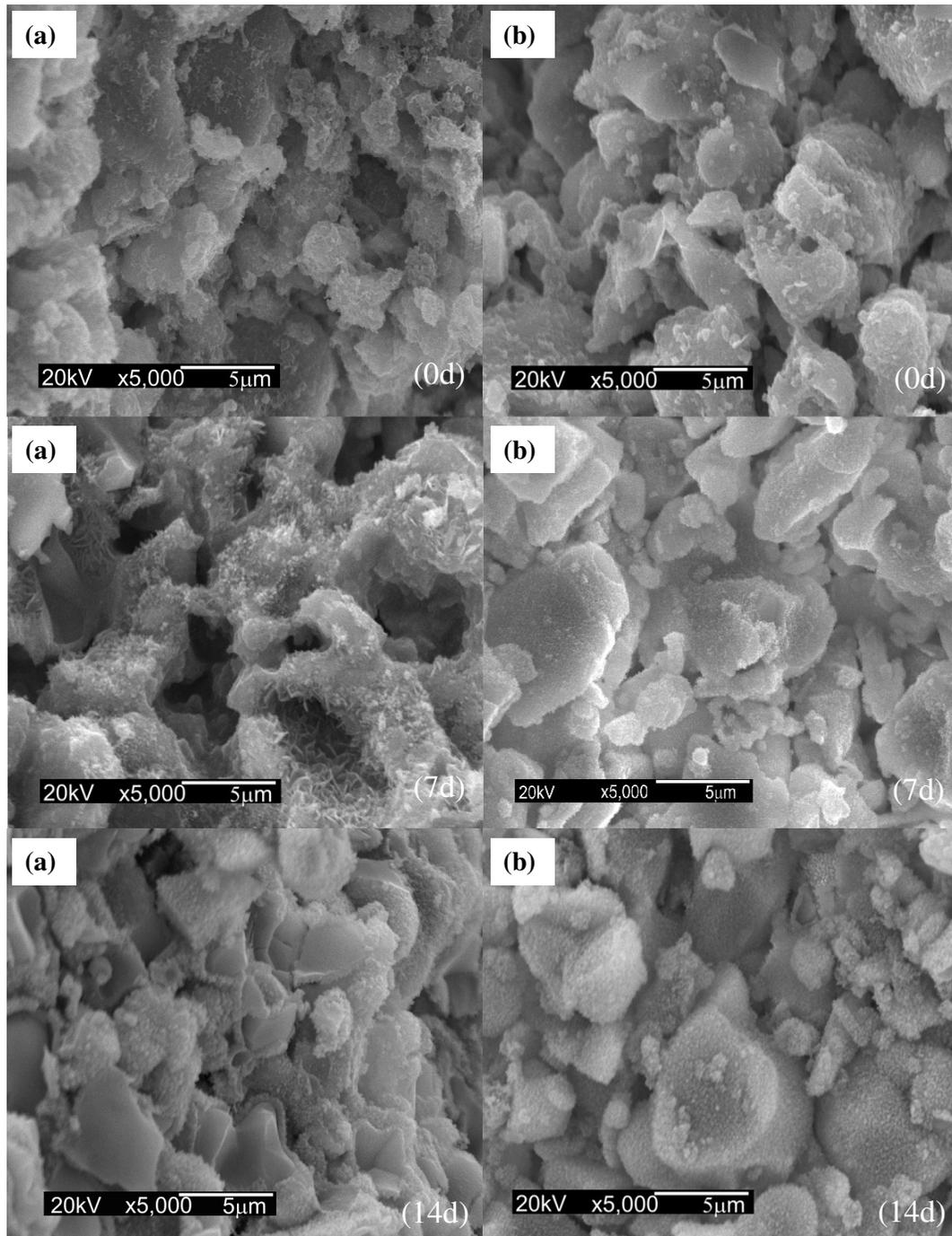


Figura 4.54 Micrografias eletrônicas de varredura da superfície de fratura dos cimentos de 5SiO₂ (a) e 10SiO₂ (b) antes (24h após pega) e após imersão em SBF 7d e 14d.

A resistência mecânica dos cimentos após adição de SiO₂ foi praticamente nula e os valores obtidos, tanto para 5SiO₂ como para 10SiO₂, ainda depois de sete dias em SBF, foram inferiores a 1MPa (Fig. 4.55). Somente depois de duas semanas em SBF a resistência mecânica do 5SiO₂ aumentou, chegando a alcançar valores similares ao cimento de α-TCP, enquanto pequenas variações foram observadas para o 10SiO₂.

A porosidade dos materiais compostos também foi maior que a do cimento convencional em todos os tempos (Fig. 4.56). Para 5SiO₂, observou-se uma diminuição aos 14 dias de imersão, enquanto verificou-se um ligeiro aumento da porosidade aparente para a composição 10SiO₂ após uma semana de imersão em SBF.

Alguns autores afirmam que para conseguir um reforço nas propriedades mecânicas dos CPC, o aditivo deve enlaçar-se à apatita formada durante a reação de pega, caso contrário os aditivos podem funcionar como poros e diminuir as propriedades mecânicas dos cimentos (Ishikawa et al., 2002; Nakagawa et al., 2007).

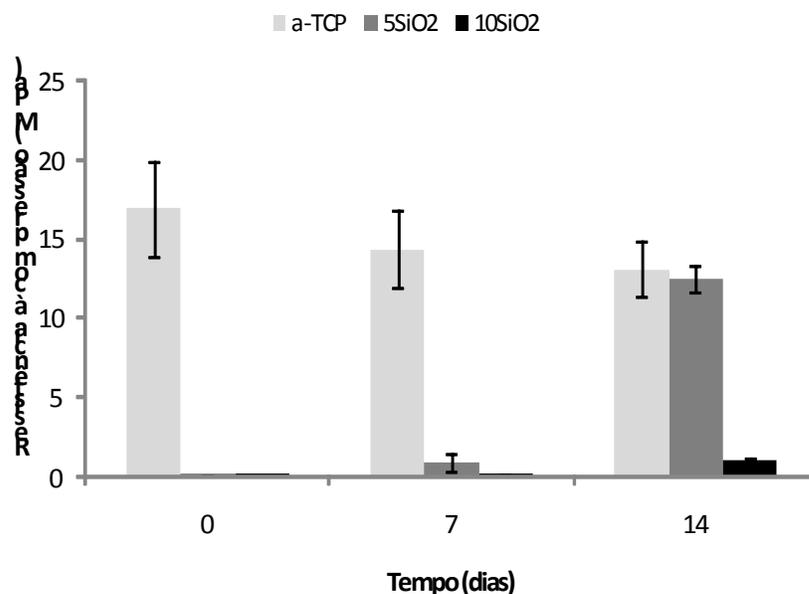


Figura 4.55 Variação da resistência a compressão do cimento α-TCP/C₃S/SiO₂ em SBF.

Ainda que foi possível diminuir o pH do meio mediante a adição de SiO₂, a resistência mecânica não foi melhorada. Levando em consideração que o aumento da resistência mecânica dos cimentos durante a reação de pega e endurecimento é consequência direta do

entrecruzamento dos cristais de CDHA, produzidos durante a hidratação do α -TCP, a presença de altos teores de C_3S , mesmo com a adição de SiO_2 , provoca um retardo considerável na dissolução das partículas de α -TCP e inibe a formação de CDHA.

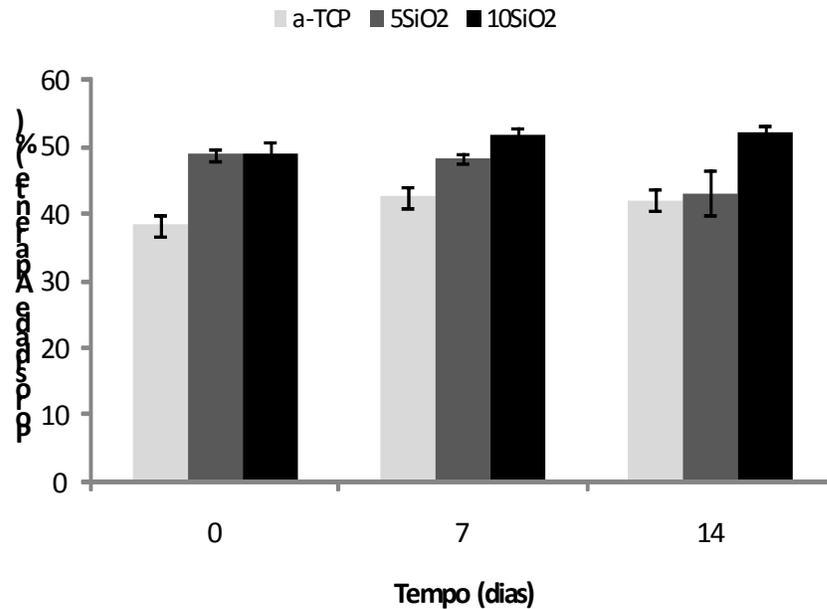


Figura 4.56 Variação da porosidade aparente do cimento α -TCP/ C_3S / SiO_2 em SBF.

O SiO_2 parece atuar como sítios de nucleação para a formação de C-S-H durante a hidratação do C_3S , causando o bloqueio dos poros e densificando a estrutura do gel formado. Conseqüentemente, a formação de uma densa camada de C-S-H sobre a superfície das partículas de α -TCP impede a dissolução dos grãos e, portanto, impede também a precipitação da hidroxiapatita causando a baixa resistência mecânica inicial dos materiais. Para o $5SiO_2$, com o avanço da reação de hidratação e o crescimento dos cristais de CDHA, a resistência mecânica do material aumenta. Por outro lado, embora menos significativo, a diminuição da porosidade com o tempo de imersão também contribui ao incremento observado da resistência à compressão.

A variação da massa dos cimentos depois de imersos em SBF (Fig. 4.57) mostrou a maior degradabilidade dos materiais compostos em relação ao cimento de α -TCP. Quando comparados ao cimento sem adição de SiO_2 (Fig. 4.43), a formulação $5SiO_2$ mostrou um

ganho de massa desde o início da reação, chegando este a ser maior que o do cimento tradicional após 21 d. Embora demonstrada a maior solubilidade do C_3S em relação à CDHA, este aumento de massa inicial pode estar relacionado à diminuição do tempo de pega do cimento em presença de SiO_2 , o que provocaria a precipitação de CDHA nos primeiros estágios da reação. Por outro lado, o maior ganho de massa em relação ao α -TCP pode estar associado à maior quantidade de C-S-H formado, e a densificação ou polimerização do mesmo durante o transcurso da reação. Para maiores adições de C_3S , em presença de SiO_2 , observou-se uma perda de massa constante, provavelmente consequência da inibição da reação de pega do cimento em presença de altos conteúdos de C-S-H, o que provocaria a dissolução desta fase.

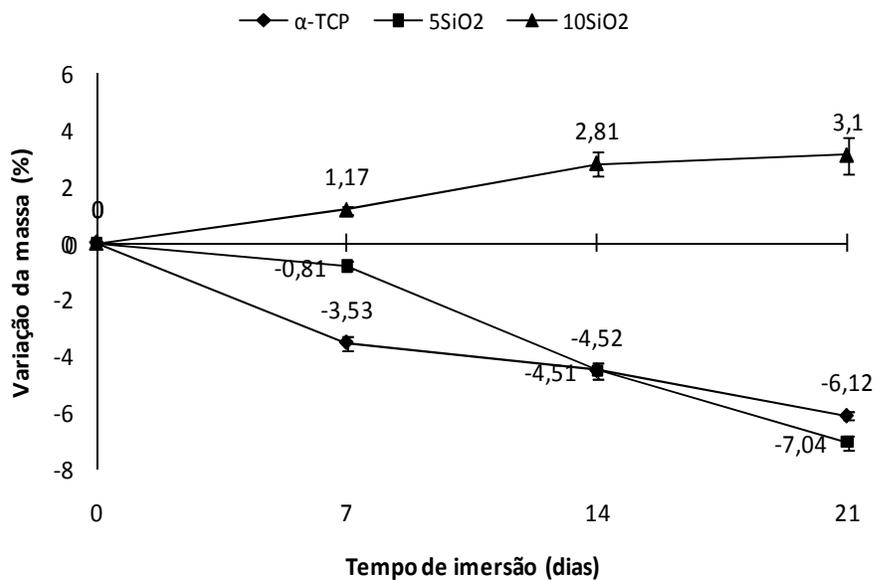


Figura 4.57 Variação da massa dos cimentos 5SiO₂ e 10SiO₂ em relação ao cimento convencional de α -TCP.

Os cimentos mistos α -TCP/ C_3S / SiO_2 mostraram uma maior citotoxicidade em relação ao cimento de α -TCP, embora esta diferença seja estatisticamente não significativa (Fig. 4.58). A viabilidade das PBMCs mostrou uma tendência à diminuição com o aumento do tempo de envelhecimento, provavelmente devido às transformações químicas do material durante o tempo de incubação no meio de cultura, uma vez que a hidratação das pastas continua após sete dias de imersão em SBF, tempo escolhido para a pré-incubação.

Quando apenas o C_3S é adicionado, as composições resultantes são menos tóxicas e mais compatíveis do que o cimento α -TCP convencional, como resultado da dissolução dos íons silicatos que estimulariam a proliferação celular. Com a presença de SiO_2 , mais C-S-H é formado e mais $HSiO_3^-$ poderiam ser liberados durante a hidratação, acelerando assim a deposição da apatita sobre a superfície do material e melhorando a biocompatibilidade. No entanto, contrariamente ao esperado, os resultados mostraram uma queda na viabilidade celular e novos estudos estão sendo realizados para esclarecer esses fatos. Durante os testes, foi difícil realizar a contagem das células viáveis devido à alta solubilização dos materiais como resultado da pouca coesão do cimento em presença de SiO_2 , fato que pode ter mascarado os resultados reais.

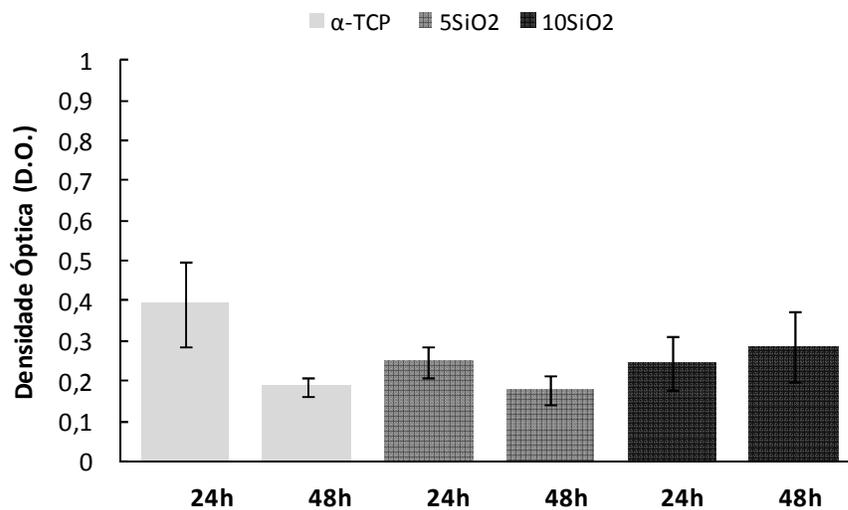


Figura 4.58 Viabilidade celular das PBMCs em contato direto com os materiais após cultivo por 24 e 48h. Controle negativo: cimento convencional de α -TCP.

5. Conclusões

Os objetivos propostos para este trabalho foram atingidos. Foi possível o desenvolvimento de novas formulações com biocompatibilidade e bioatividades superiores aos cimentos tradicionais de α -TCP convencionais. No entanto, somente foi possível a obtenção de cimentos com propriedades mecânicas melhoradas em longo prazo, uma vez que os aditivos adicionados retardam a hidrólise do α -TCP, e conseqüentemente, a precipitação de HA.

1. Para a composição do cimento de α -fosfato tricálcico convencional observou-se que:

- Os tempos de pega inicial e final foram superiores aos reportados na literatura
- O taxa de hidratação e o grau de extensão da reação de hidrólise do α -TCP foram inferiores às reportadas na literatura
- A resistência à compressão observada é inferior à relatada na literatura para cimentos baseados em α -TCP
- O cimento apresenta resposta bioativa após duas semanas em SBF, resultado análogo aos observados em estudos *in vivo* realizados com cerâmicas de fosfatos de cálcio
- Não se observou degradação dos materiais durante o estudo realizado. O cimento mostrou um aumento de massa após 21 dias de imersão em SBF
- O cimento não é citotóxico e apresenta boa biocompatibilidade após sete dias de pré-incubação em SBF. No entanto, a citotoxicidade aumenta após 48h de contato das células com o material.

2. Com a adição de CA ao cimento baseado em α -TCP observou-se que:

- Os tempos de pega são superiores aos do cimento convencional, sendo este aumento proporcional à quantidade de CA adicionada
- A hidrólise do α -TCP é retardada em presença de CA, como resultado da provável precipitação de C_3AH_6 , AH_3 e Ca_3PO_4 sobre as partículas do cimento, o que impediria a solubilização dos grãos de α -TCP e a precipitação da hidroxiapatita

- A resistência à compressão diminui de forma significativa e não supera os 3MPa, independentemente do conteúdo de CA adicionado e do tempo de imersão em SBF
- A presença de CA promove a precipitação de um fosfato de cálcio sobre a superfície dos materiais logo após imersão em SBF, através, provavelmente, da formação de uma camada intermediária de C_3AH_6 , produto de hidratação do CA. No entanto, a morfologia dos cristais precipitados é diferente a hidroxiapatita comumente precipitada em condições fisiológicas e não se observa a formação de uma camada homogênea após longos períodos de imersão
- Os cimentos compostos parecem apresentar propriedades antibacterianas, como resultado da liberação de íons OH^- durante a hidratação do monoaluminato de cálcio
- Houve um aumento na degradação dos materiais em SBF, como provável resultado da maior solubilidade dos produtos de hidratação do C_3S
- Os cimentos mistos são menos citotóxicos e mais biocompatíveis que o cimento convencional.

3. Com a adição de C_3S ao cimento baseado em α -TCP observou-se que:

- Os tempos de pega inicial e final aumentaram em relação ao cimento α -TCP e foram extremadamente longos
- A presença de C_3S retarda a dissolução dos grãos de α -TCP e conseqüentemente a precipitação da hidroxiapatita
- A resistência à compressão diminuiu durante os primeiros estágios da reação, porém aumenta com o avanço da reação de hidratação do α -TCP, o que permite a obtenção de materiais compostos com propriedades mecânicas reforçadas em longo prazo
- O aumento do pH produzido pela liberação de íon hidroxila parece inibir a proliferação de bactérias na superfície dos materiais
- Os materiais resultantes apresentam maior bioatividade que os cimentos convencionais e a camada de hidroxiapatita depositada na superfície dos mesmos é mais homogênea
- Houve um aumento na degradação dos materiais como resultado provável da maior solubilidade dos produtos de hidratação do C_3S

- Os cimentos compostos são menos citotóxicos e mais biocompatíveis que o cimento convencional.

4. Com a adição de SiO_2 nas composições de cimento contendo Ca_3SiO_5 observou-se que:

- Houve uma diminuição nos tempos de pega em relação aos materiais contendo C_3S . No entanto, os valores alcançados ainda continuam sendo muito altos em relação aos descritos segundo normas internacionais para aplicações clínicas imediatas

- A presença de SiO_2 provocou um retardo ainda maior na dissolução das partículas de α -TCP e na precipitação da hidroxiapatita

- O pH do médio diminuiu, devido à reação entre o SiO_2 e o $\text{Ca}(\text{OH})_2$, e observou-se o crescimento de bactérias na superfície dos materiais quando imersos em fluido biológico simulado

- Não houve melhoria da resistência à compressão dos materiais; pelo contrário, a resistência mecânica não ultrapassou o valor de 1MPa durante a primeira semana e só depois de 14 dias alcançou valores similares aos do cimento convencional

- Não houve uma melhoria aparente da bioatividade dos materiais com o aumento da quantidade de silício adicionado. Os cimentos mostraram a deposição de uma camada de CDHA de características similares a depositada em presença de C_3S e não houve uma diminuição no tempo de deposição de dita camada

- Os materiais resultantes apresentam maior bioatividade que os cimentos convencionais e a camada de hidroxiapatita depositada na superfície dos mesmos foi mais homogênea

- Houve um aumento na degradação e na citotoxicidade dos materiais o que provocou que materiais extremamente frágeis e com pouca coesão.

Sugestões para trabalhos futuros

- Estudo mais detalhado da cinética de reação dos cimentos de α -TCP, e α -TCP contendo silicato de cálcio, aluminato de cálcio e sílica.
- Estudos complementares de citotoxicidade utilizando outras linhagens celulares e métodos de avaliação
- Implantação das composições mais promissoras de cimentos de dupla pega hidráulica em animais
- Influência da cristalinidade da sílica em adição aos cimentos de α -TCP + silicato de cálcio
- Influência da adição de redutores de líquido nas composições de cimento de dupla pega hidráulica
- Utilização de cimentos de dupla pega hidráulica como suportes tridimensionais para crescimento celular e tecidual
- Adição de hidrogéis acrílicos a cimentos de dupla pega hidráulica (tripla pega)

Dos resultados obtidos pode concluir-se que o C_3S é um material que apresenta excelente bioatividade, sendo capaz de induzir a formação de CHDA após 1h de imersão em SBF. Sendo assim, pode-se afirmar que a adição deste composto deve produzir uma melhora substancial na bioatividade do cimento tradicional de α -TCP.

Referências Bibliográficas

1. Aitasalo, T.; Holsa, J.; Jungner, H. Lastusaari, M.; Niittykoski, J.; Parkkinen, M.; Valtonen, R. Eu²⁺ doped calcium aluminates prepared by alternative low temperature routes. **Optical Materials**, v. 26, p. 113-116, 2004.
2. Albee, F; Morrison, H. Studies in bone growth: triple calcium phosphate as a stimulus to osteogenesis. **Annals of Surgery**, v. 71, p. 32-38, 1920.
3. Alt, C.; Wong, L.; Parr, C. Measuring castable rheology by exothermic profile. **Refractories Applications and News**, v. 8, p. 15-18, 2003.
4. Ambard A, Mueninghoff L. Calcium Phosphate Cement: Review of mechanical and biological properties. **Journal of Prosthodontics**, v. 15, p. 321-328, 2006.
5. Aoki, H.; Kato, K. Study on application of apatite to dental materials. **Japan Ceramic Society**, v.10, p. 469, 1975.
6. ASTM C-266-89 A. Standart test method for time of setting of hydraulic-cement paste by Gillmore needles. 1995.
7. ASTM C20-00: Standard Test Methods for Apparent Porosity, Water Absorption, Apparent Specific Gravity, and Bulk Density of Burned Refractory Brick and Shapes by Boiling Water, 2010.
8. Baltakis, K.; Jauberthie, R.; Siauciunas R.; Kaminskas, R. Influence of modification of SiO₂ on the formation of calcium silicate hydrate. **Materials Science-Poland**, v. 25, n. 3, 2007.
9. Barret, P.; Ménétrier, D. Filter dissolution of C₃S as a function of the lime concentration in a limited amount of lime water. **Cement and Concret Research**, v. 10, p. 521-534, 1980.
10. Barret, P.; Ménétrier, D.; Bertrandie, D. Mechanism of C₃S dissolution and problem of the congruency in the very initial period and later on. **Cement and Concrete Research**, v. 13, p. 728-738, 1983.
11. Bensted, J., High alumina cement. Present state of knowledge. **Zement-Kalk-Gips**, v. 46, p. 560-566, 1993.
12. Bermudez, O.; Boltong, M. G.; Driessens, F. C. M.; Planell, J. A. Development of Some Calcium Phosphate Cements from Combinations of α-TCP, MCPM and CaO. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 5, p. 160-163, 1994.

13. Bohner, M. Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements. *International Journal of Care Injured*, v. 31(S-D), p. 37-47, 2000.
14. Bohner, M.; Malsy, A.K.; Camire, C.L.; Gbureck, U. Combining particle size distribution and isothermal calorimetry data to determine the reaction kinetics of a α -tricalcium phosphate-water mixtures. *Acta Biomaterialia*, v. 2, p. 343-348, 2006.
15. Bow, J.S.; Liou, S.C.; Chen, S.Y. Structural characterization of room-temperature synthesized nano-sized β -tricalcium phosphate. *Biomaterials*, v. 25, p. 3155-3161, 2004.
16. Brown, W.E.; Chow L.C. A new calcium phosphate setting cement. *Journal of Dental Research*, v. 62, p. 672, 1983.
17. Brown, P.W.; Franz, E.; Frohnsdorff, G.; Taylor, H.F.W. Analyses of the aqueous phase during early C_3S hydration, *Cement and Concrete Research*, v. 14, p. 257-262, 1984.
18. Brown, W.E.; Chow L.C. Dental restorative cement pastes, U.S. Patent No. 4,518,430, May 21, 1985.
19. Brown, P.W.; Fulmer, M. Kinetics of hydroxyapatite formation at low temperature, *Journal of the American Ceramic Society*, v. 74, p. 934-40, 1991.
20. Brown, P.W.; Hocker, N.; Hoyle, S. Variations in solution chemistry during the low-temperature formation of hydroxyapatite. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 74, p. 1848-1854, 1991.
21. Brown, P. Hydration behavior of calcium phosphates is analogous to hydration behavior of calcium silicates. *Cement and Concrete Research*, v. 29, p. 1167-1171, 1999.
22. Bryan, T.E.; Khechen, K.; Brackett, M.G.; Regina, L.W.; El-Awady, A.; Primus, C.M.; Gutmann, J.L.; Tay, F.R. In vitro osteogenic potential of an experimental calcium silicate-based root canal sealer. *Journal of Endodontic*, v. 36, n. 7, p. 1163-1169, 2010.
23. Bullard, J.W. A determination of hydration mechanisms for tricalcium silicate using a kinetic cellular automaton model. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 91, n. 7, p. 2088-2097, 2008. Doi: 10.1111/j.1551-2916.2008.02419.x.
24. Bye, G.C. Portland Cement: composition, production and properties In: Pergamon Press, p. 19, 1983.
25. Camiré, C.L.; Gbureck, U., Hirsiger, W.; Bohner, M. Correlating crystallinity and reactivity in an α -tricalcium phosphate. *Biomaterials*, v. 26, n. 16, p. 2787-2794, 2005.
26. Camiré, C.L.; Saint-Jean, S.J.; Mochales, C.; Nevsten, P.; Wang, J.; Lidgren, L.; McCarthy, I.; Ginebra, M.P. Material characterization and in vivo behavior of Silicon

- substituted α -tricalcium phosphate cement. **Journal of Biomedical Material Research Part B: Applied Biomaterials**, v. 76(B), n. 2, p. 424-431, 2006.
27. Cardenas, L.J.; Takeuchi, A.; Matsuya, S.; Ishikawa, K. Effects of tricalcium silicate addition on basic properties of α -tricalcium phosphate cement. **Journal of the Ceramic Society of Japan**. v. 116, n. 1, p. 83-87, 2008.
 28. Carrodegua, R.G.; Rigo, E.C.; Oliveira, L.C.; Santos L.A.; Boschi, A.O. Recubrimiento de hidroxiapatita sobre cerámicas de Titanato de Bario. In: Proceedings of BIOMAT' 97- Congreso Internacional de Biomateriales, La Habana, Cuba, 1997.
 29. Carrodegua, R.G.; De Aza, A.H.; Turrillas, X.; Pena, P.; De Aza, S. New approach to the β - α polymorphic transformation in magnesium-substituted tricalcium phosphate and its practical implications. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 91, n. 4, p. 1281-1286, 2008.
 30. Charriere, E.; Terrazzoni, S.; Pittet, C.; Mordasini, P.; Dutoit, M.; Lemaitre, J. Mechanical characterization of brushite and hydroxyapatite cements. **Biomaterials**, v. 22, p. 2937-2945, 2001.
 31. Chen, J.; Thomas, J.; Taylor, H.F.W.; Jennings, H.M. Solubility and structure of calcium silicate hydrate. **Cement and Concrete Research**, v. 34, p. 1499-1519, 2004.
 32. Cheng-Yi, H. Feldman, R.F. Hydration reactions in Portland cement-silica fume blends. **Cement and Concrete Research**, v. 15, n. 4, p. 585-592, 1985.
 33. Cho, S.B.; Nakanishi, K.; Kokubo, T. Soga, N.; Ohtsuki, C.; Nakamura, T.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T. Dependence of apatite formation on silica gel on its structure: effect of heat treatment. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 78, n. 7, p. 1769-1774, 1995.
 34. Chow, L.C.; Takagi, S.; Costantino, P.D.; Friedman, C.D. Self-setting calcium phosphate cements. In: Specialty cements with advanced properties. Pennsylvania: Material Research Society, p. 3-24, 1991.
 35. Chrysafi, R. Perraki, T.; Kakali, G. Sol-Gel preparation of $2\text{CaO}\cdot\text{SiO}_2$. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, p. 1707-1710, 2007.
 36. Cody, A.M.; Lee, H.; Cody, R.D.; Spry P.G. The Effects of chemical environment on the nucleation, growth, and stability of Ettringite $[\text{Ca}_3\text{Al}(\text{OH})_6]_2(\text{SO}_4)_3\cdot 26\text{H}_2\text{O}$. **Cement and Concrete Research**, v. 34, p. 869-881, 2004.
 37. Cullity, B.D. Elements of X-Ray Diffraction. Indiana: Addison-Wesley Publishing Company, 1977.

38. Damidot, D.; Nonat, A.; Barret, P. Kinetics of tricalcium silicate hydration in diluted suspensions by microcalorimetric measurements. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 73, n. 11, p. 3319-3322, 1990.
39. Damidot, D.; Bellmann, F.; Möser, B.; Svoidnich, T. Calculation of the dissolution rate of tricalcium silicate in several electrolyte compositions. *Cement Wapno Beton*, v. 12/74, p. 57-67, 2007.
40. De Aza, P.N.; Guitián, F.; De Aza, S. Bioactivity of wollastonite ceramics: in vitro evaluation. ***Scripta Metallurgica et Materialia***, v. 31, n. 8, p. 1001-1005, 1994.
41. De Aza, P.N.; De Aza, S. Biocerámicas. In: *Biomateriales*, Capítulo III, p. 41-64, 2004.
42. De Aza, P.N.; Fernandez-Pradas, J.M.; Serra, P. In vitro bioactivity of laser ablation pseudowollastonite coating. ***Biomaterials***, v. 25, p. 1983-90, 2004.
43. De Groot, K. Ceramics of calcium phosphate: preparation and properties. In: *Bioceramics of calcium phosphates*. Boca Raton, Florida: CRC Press, p. 100-114, 1983.
44. Denissen, H.W. Dental root implant of apatite ceramic, experimental investigations and clinical use of dental root apatite ceramics, PhD Thesis, Amsterdam, Vrije Universiteit, 1979.
45. Dentsply Tulsa Dental Web Page <http://store.tulsadental.com/catalog/>, acceso Janeiro 31, 2011.
46. Diamond, S. Cement paste microstructure: An overview at several levels. In: *Hydraulic cement pastes: Their Structure and Properties*, Proceedings of the Symposium of Cement and Concrete Association, p. 2-31, 1977.
47. Disponível em < <http://biomateriais.com.br> >, acesso em: 24 Jan. 2011.
48. Disponível em www.idataresearch.net, European Markets for Orthopedic Biomaterials 2011, acesso em: 25 Jan. 2011.
49. Doi, Y.; Takezawa, Y.; Shibata, S.; Wakamatsu, N.; Kamemizu, H.; Goto, T.; Iijima, M.; Moriwaki, Y.; Uno, K.; Kubo, F.; and Haeuchi, Y. Self-setting Apatite Cement, I. Physicochemical Properties. ***Journal of Japan Society Dental Material Devices***, v. 6, p. 53-58, 1987.
50. Dorozhkin, S.V. Calcium orthophosphates. ***Journal of Materials Science***, v. 42, p. 1061-95, 2007.
51. Dorozhkin, S.V. Calcium Orthophosphate Cements and Concretes. ***Materials***. v. 2, 221-291, 2009.

52. Dos Santos, L.A.; De Oliveira, L.C.; Da Silva, E.C.; García, R.; Ortega A.; Fonseca de Arruda C.; Fiber reinforced calcium phosphate cement. **Artificial Organs**, v. 24, n.3, p. 212-216, 2003.
53. Doxa Certex. Commercial brochure Det biokeramiska fyllningsmaterialet. Doxa AB, Kristallen, 754 51 Uppsala, Sweden, 2001.
54. Driessens, F.M.C., Boltong, M.G., Bermúdez, O., Planell, J.A., Formulations and setting times of some calcium orthophosphate cements: a pilot study. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 4, p. 503-508, 1993.
55. Driessens, F.C.M.; Van Loon, J.A.; Van Sliedregt, A.; Planell, J.A. Cytotoxicity testing of five calcium and one magnesium phosphate cement *in vitro*. Proceedings of the 11th European Conference on Biomaterials, Pisa, Italy, p. 344-346. 1994.
56. Driessens, F.M.C.; Planell, J.A.; Gil, F.G.; Calcium phosphate bone cements. Enciclopedic Handbook of biomaterials and bioengineering, Part B: Applications, Ed. Marcel Decker, NY, USA, 855-77, 1996.
57. Driessens, F.C.M.; Fernández, E.; Ginebra, M.P.; Boltong, M.G.; Planell, J.A. Calcium phosphates and ceramic bone cements vs acrylic cements. **Anales de Química International Edition**, v. 93, p. S38-S43, 1997.
58. Driessens, F.C.M.; Planell, J.A.; Boltong, M.G.; Khairum, I.; Ginebra, M.P. Osteotransductive bone cements. **Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers**, v. 212 (Part H), p. 427-435, 1998.
59. Driessens, F.C.M.; Boltong, M.G.; De Maeyer, E.A.P.; Verbeeck, R.M.H.; Wenz, R. Effect of temperature and immersion on the setting of some calcium phosphate cements. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v. 11, p. 453-457, 2000.
60. Double, D.D.; Hellawell, A.; Perry, J. Proceedings of the Royal Society of London. A(359), p. 435, 1978.
61. Duan. Y.R.; Zhang, Z.R.; Chen, C.Y. Zhang, X.D. Dynamic study of calcium phosphate formation on porous HA/TCP ceramics. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 16, p. 795-801, 2005.
62. Duchesne, J.; Bérubé, M.A. The effectiveness of supplementary cementing materials in suppressing expansion due to ASR: Another look at the reaction mechanisms part 1: Concrete expansion and Portlandite depletion. **Cement and Concrete Research**, v. 24, n. 1, p. 73-82, 1994.

63. Elliot, J.C. Structure and chemistry of the apatites and other calcium orthophosphates. Elsevier Science B. V., Amsterdam, 1994.
64. Enderle, R.; Götz-Neunhoeffler, F.; Göbbels, M.; Muller, F.A.; Greil, P. Influence of Magnesium doping on the phase transformation temperature of β -TCP ceramics examined by Rietveld refinement. **Biomaterials**, v. 26, p. 3379–3384, 2005.
65. Engqvist, H.; Schultz-Walz, J.E.; Lööf, J.; Botton, G.A.; Mayer, D.; Phaneuf, M.W.; Ahnfelt, N.O.; Hermansson, L. Chemical and biological integration of a mouldable bioactive ceramic material capable of forming apatite in vivo in teeth. **Biomaterials**, v. 25, p. 2781-2787, 2004.
66. Famery, R.; Richard, N.; Boch, P. Preparation of α and β -tricalcium phosphate ceramics with and without magnesium addition. **Ceramic International**, v. 20, p. 327-336, 1994.
67. Fernández, E.; Boltong, M.G.; Ginebra, M.P.; Bermúdez, O.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A. Common ion effect on some calcium phosphate cements. **Clínical Materials**, v. 16, p. 99-103, 1994.
68. Fernández, E.; Boltong, M.G.; Ginebra, M.P.; Planell, J.A.; Driessens, F.C.M. Effect of Ca_2SiO_4 on the stability of α -TCP down to low temperatures. In: Proceedings of the 4th Euro Ceramics Conference, October 2-6 1995, Riccione, 103-108.
69. Fernández, E.; Ginebra, M.P.; Bermúdez, O.; Boltong, M.G.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A. Dimensional and thermal behaviour of calcium phosphate cements during setting compared with PMMA bone cements. **Journal of Material Science Letters**, v. 14, p. 4-5, 1995.
70. Fernández, E.; Boltong, M.G.; Ginebra, M.P.; Driessens, F.C.M.; Bermúdez, O.; Planell, J.A. Development of a method to measure the period of swelling of calcium phosphate cements. **Journal of Material Science Letters**, v. 15, p. 1004-1005, 1996.
71. Fernández, E.; Gil, J.F.; Ginebra, M.P.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A.; Best, S.M. Production and characterization of new calcium phosphate bone cements in the CaHPO_4 - α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ system: pH, workability and setting times. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 10, p. 223-230, 1999.
72. Fonseca, P.C.; Jennings, H.M. The effect of drying on early-age morphology of C–S–H as observed in environmental SEM. **Cement and Concrete Research**, v. 40, p. 1673-1680, 2010.

73. Fukase, Y; Eanes, E.D.; Takagi, S. Chow, L.C. Setting reactions and compressive strengths of calcium phosphate cements. **Journal of Dental Research**, v. 69, n. 12, p. 1852-1856, 1990.
74. Fumo, D.A.; Morelli, M.R.; Segadaes, A.M. Combustion synthesis of calcium aluminates. **Material Research Bulletin**, v. 31, n. 10, p. 1243-1255, 1996.
75. Gaki, A.; Perraki, T.; Kakali, G. Wet chemical synthesis of monocalcium aluminate. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, p. 1785-1789, 2007.
76. Gaki, A.; Perraki, T.; Kakali, G. Chemical synthesis of hydraulic calcium aluminate compounds using the Pechini technique. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 27, p. 1781-1784, 2007.
77. Gamble, J.L. Chemical anatomy, physiology and pathology of extra-cellular fluid. Cambridge, Massachusetts: **Harvard University Press**, p. 1-17, 1967.
78. Garrault, S.; Finot, E.; Lesniewska, E. Nonat, A. Study of C-S-H growth on C3S Surface during its early hydration. *Material Structure*, v. 38, p. 435-442, 2005.
79. Garcia, J.R.; de Oliveira, I.R., Pandolfelli, V.C. Processo de hidratação e os mecanismos de atuação dos aditivos aceleradores e retardadores de pega do cimento de aluminato de cálcio. **Cerâmica**, v. 53, p 42-56, 2007.
80. García, R.; Santos, L.A.; De Oliveira, L.C.; Da Silva, E.C.; Ortega, A.; Padilla, S.; Cementos de -fosfato tricálcico de fraguado doble. **Revista CENIC**, v. 30, n. 3, p. 153-158, 1999.
81. García, R.; De Oliveira, L.C.; Dos Santos, L.A.; Da Silva, E.C.; Ortega, A.; Padilla, S. Effect of Polymeric Additions on the Properties of Calcium Salts Cements. **Revista CENIC**, v. 31, n. 1, p. 57-62, 2000.
82. García, R. Cementos óseos de fosfatos de cálcio. Tese doutoral, Havana, 2000.
83. Gartner, E.M.; Gaidis, J.M. Hydration mechanisms I. In: *Materials Science of Concrete Vol 1*, Ed. Skalny J. American Ceramic Society, Westerville, OH, p. 95-125, 1989.
84. Gil, J.; Padrós, A.; Manero, J.M.; Aparicio, C.; Nilsson, M.; Planell, J.A. Growth of bioactive surfaces on titanium and its alloys for orthopaedic and dental implants. **Material Science Engineering**, v. C22, p. 53-60, 2002.
85. Ginebra, M.P.; Fernández, E.; Boltong, M.G.; Bermúdez, O.; Planell, J.A.; Driessens, F.C.M. Compliance of an apatitic calcium phosphate cement with the short-term clinical requirements in bone surgery, orthopaedics and dentistry. **Clinical Materials**, v. 17, n. 2, 99-104, 1994.

86. Ginebra, M.P.; Boltong, M.G.; Fernandez, E.; Planell, J.A.; Driessens, F.C.M. Properties Profile of Biocement H. In: 21st Annual Meeting of the Society of Biomaterials, San Francisco, EUA, 1995.
87. Ginebra M.P., Desarrollo y caracterización de un cemento óseo basado en fosfato tricálcico- α para aplicaciones quirúrgicas, Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España, 1996.
88. Ginebra, M.P.; Fernandez, E.; De Maeyer, E.A.P.; Verbeeckl, R.M.H.; Boltong, M.G.; Ginebra, J.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A. Setting reaction and hardening of an apatitic calcium phosphate cement. **Journal of Dental Research**, v. 76, n. 4, p. 905-912, 1997.
89. Ginebra, M.P.; Fernandez, E.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A. Modeling of the hydrolysis of α -tricalcium phosphate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 82, n. 10, p. 2808-2812, 1999.
90. Ginebra, M.P.; Driessens, F.C.M.; Planell, J.A. Effect of particle size on the micro and nanostructural features of a calcium phosphate cement: a kinetics analysis. **Biomaterials**, v. 25, p. 1141-1150, 2004.
91. Ginebra, M.P.; Traykova, T.; Planell, J.A. Calcium phosphate cements: Competitive drug carriers for the musculoskeletal system?. **Biomaterials**, v. 27, p. 2171-2177, 2006.
92. Ginebra, M.P.; Espanol, M.; Montufar, E.B.; Perez, R.A.; Mestres, G. New processing approaches in calcium phosphate cements and their applications in regenerative medicine. **Acta Biomaterialia**, v. 6, p. 2863-2873, 2010.
93. Glickman, G.; Kotch, K. 21st-Century Endodontics. **JADA**, v. 131, p. 39-46, 2000.
94. Goktas, A.A.; Weinberg, M.C. Preparation and crystallization of sol-gel calcio-alumina compositions. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 1066-1070, 1991.
95. Greenberg, S.A.; Chang, T.N. The hydration of tricalcium silicate. **Portland Cement Association**, v. 69B, p. 553-561, 1965.
96. Gevrenov, J.S. Microstructure and drying shrinkage of ordinary Portland cement and alkali-activated slag pastes as a function of relative humidity. Master's thesis, Northwestern University, 2005.

97. Gruninger, S. E.; Siew, C.; Chow, L. C.; O'Young, A.; Ts'ao, K.; Brown, W.E. Evaluation of the biocompatibility of a new calcium-phosphate setting cement. **Journal of Dental Research**, v. 63, p. 200, 1984.
98. Guastaldi, A.C.; Herrera, A.A. Fosfatos de cálcio de interesse biológico: importância como biomateriais, propriedades e métodos de obtenção de recobrimentos. *Química Nova*, v. 33, no. 6, p. 1352-1358, 2010.
99. Guo, H.; Wei, J.; Liu, C.S. Development of a degradable cement of calcium phosphate and calcium sulfate composite for bone reconstruction. *Biomedical Materials*, v. 1, p. 193-197, 2006.
100. Gulgun, M.A.; Popoola, O.O.; Kriven, W.M. Chemical Synthesis and Characterization of Calcium Aluminate Powders. **Journal of the American Ceramic Society**. v. 77, n. 2. p. 531-539, 1994.
101. Hadley, D.W.; Dolch, W.L.; Diamond, S. On the occurrence of hollow-shell hydration grains in hydrated cement paste. **Cement and Concrete Research**, v.30, p. 1-6, 2000.
102. Harrison, M.A.; Rae, I.F. General Techniques for Cell Culture, **Cambridge University Press**, p. 7, 1977.
103. Hart, R.K. The formation of films on Aluminium immersed in Water. *Transactions of the Faraday Society*, v. 53, p. 1020-1027, 1957.
104. Hauman, C.H.J.; Love, R.M.; Biocompatibility of dental materials used in contemporary endodontic therapy: a review. Part 2. Root-canal-filling materials. **International Endodontic Journal**, v. 36, p. 147-160, 2003.
105. Heikal, M.; Radwan, M.M.; Morsy, M.S. Influence of curing temperature on the physico-mechanical, characteristics of calcium aluminate cement with air-cooled slag or water-cooled slag. **Ceramics-Silikáty**, v. 48, n. 4, p. 185-196, 2004.
106. Helebrant, A.; Jonášová, L.; Sanda, L. The influence of simulated body fluid composition on carbonated hydroxyapatite formation. **Ceramics-Silikáty**, v. 46, n. 1, p. 9-14, 2002.
107. Hench, L.L. Bioceramics: From concept to clinic. **Journal of American Ceramic Society**, v. 74, n. 7, p. 1487-1510, 1991.
108. Hench, L.L.; Wilson, J. An introduction to Bioceramics. In: *Advances series in ceramics*, vol. 1, Chap 1, p. 1-15, 1993, Singapore: World Scientific Publishing Co.
109. Hench, L.L.; West, J.K. Biological applications of bioactive glasses. **Life Chemistry Reports**, v. 13, p. 187-241, 1996.

110. Hench, L.L. Biomaterials: a forecast for the future. **Biomaterials**, v. 19, p. 1419-1423, 1998.
111. Hench, L.L.; Best, S. Ceramics, Glasses and Glass-Ceramics. In: Biomaterials science: an introduction to materials in medicine. Ratner, B.D. (Ed.), Chap. I, p. 153-170, 2004.
112. Hench L.L., Hench J., Greenspan D.C., Bioglass®, A short history and bibliography, J. Aust. Ceram. Soc., 2004; 40 (1): 1-42.
113. Huan, Z.G.; Chang, J. Self-setting properties and in vitro bioactivity of calcium sulfate hemihydrate–tricalcium silicate composite bone cements. **Acta Biomaterialia**, v. 3, p. 952-60, 2007.
114. Huan, Z.; Chang, J. Novel bioactive composite bone cements based on the β -tricalcium phosphate–monocalcium phosphate monohydrate composite cement system. **Acta Biomaterialia**, v. 5, p. 1253-1264, 2009.
115. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, IBGE. Síntese de indicadores sociais. Uma análise das condições de vida da população brasileira, 2010.
116. ISO 10993-5: Biological evaluation of medical devices: Tests for in vitro Cytotoxicity, 1999.
117. Ishikawa, K.; Takagi, S.; Chow, L.C., Ishikawa, Y.; Eanes, E.D., Asaoka, K. Behavior of a calcium phosphate cement in simulated blood plasma in vitro. **Dental Materials**, v. 10, n. 1, p. 26-32, 1994.
118. Ishikawa K.; Asaoka, K. Estimation of ideal mechanical strength and critical porosity of calcium phosphate cement. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 29, p. 1537-1543, 1995.
119. Ishikawa K.; Miyamoto, Y.; Yuasa, T.; Ito, A.; Nagayama, M.; Suzuki, K. Fabrication of Zn containing apatite cement and its initial evaluation using human osteoblastic cells. **Biomaterials**, v. 23, n. 2, p. 423-428, 2002.
120. Jarcho M. Calcium phosphate ceramics as hard tissue prosthetics. **Clínical Orthopaedics and Related Research**, v. 157, 259-278, 1981.
121. Jennings, H.M. Pratt, P.L. An experimental argument for the existence of a protective membrane surrounding Portland cement during the induction period. **Cement and Concret Research**, v. 9, p. 501-506, 1979.
122. Jennings, H.M. Aqueous solubility relationships for two types of Calcium Silicate Hydrate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 69, n. 8, p. 618, 1986.
123. Jennings, H.M. A model for the microstructure of calcium silicate hydrate in cement paste. **Cement and Concrete Research**, v. 30, p.101-105, 2000.

124. Jinlong, N.; Zhenxi, Z.; Dazong, J. Investigation of phase evolution during the thermochemical synthesis of tricalcium phosphate. **Journal of Materials Synthesis and Processing**, v. 9, n. 5, 2001.
125. Juenger, M.C.G.; Monteiro, P.J.M.; Gartner, E.M.; Denbeaux, G.P. A soft X-Ray microscope investigation into the effects of calcium chloride on tricalcium silicate hydration. **Cement and Concrete Research**, v. 35, n. 1, p. 19-25, 2005.
126. Juenger, M.C.G.; Winnefeld, F.; Provis, J.L.; Ideker, J.H. Advances in alternative cementitious binders. **Cement and Concrete Research**, 2010, doi: 10.1016/j.cemconres.2010.11.012.
127. Julien, M.; Khairoun, I.; Legeros, R.Z.; Delplace, S.; Pilet, P.; Weiss, P.; Daculsi, G.; Bouler J.M.; Guicheux, J. Physico-chemical-mechanical and in vitro biological properties of calcium phosphate cements with doped amorphous calcium phosphates. **Biomaterials**, v. 28, p. 956-965, 2007.
128. Khashaba, R.; Moussa, M.; Mettenburg, D.; Rueggeberg, F.; Chutkan, N.; Borke, J. Polymeric-Calcium Phosphate Cement Composites-Material Properties: *In Vitro* and *In Vivo* Investigations. **International Journal of Biomaterials**, 2010, doi:10.1155/2010/691452.
129. Kelly, T.D.; van Oss, H.S. Historical statistics for mineral and material commodities in the United States: U.S. Geological Survey Data Series 140. Disponível em <http://pubs.usgs.gov/ds/2005/140/>, acesso em Fevereiro 7, 2011.
130. Kim, H.M.; Miyazaki, T.; Kokubo, T.; Nakamura, T. Revised simulated body fluid. **Key Engineering Materials**, v. 192-195, p. 47-50, 2001.
131. Kingsley, J. Patil, K.C. A novel combustion process for the synthesis of fine particle α -alumina and related oxide materials. **Material Letters**, v. 6, n. 11-12, p. 427-432, 1988.
132. Kitsugi T, Yamamuro T, Nakamura T, Kokubo T. The bonding of glass ceramics to bone. **International Orthopedics**, v. 13, p. 199-206, 1989.
133. Kobayashi, M.; Nakamura, T.; Okada, Y.; Fukumoto, A.; Furukawa, T. H.; Kokubo, T.; Kikutani, T. Bioactive bone cement: Comparison of apatite and wollastonite containing glass-ceramic, hydroxyapatite, and β -tricalcium phosphate fillers on bone-bonding strength. **Biomedical Material Research**, v. 42, p. 223-237, 1998.
134. Kokubo, T.; Ito, S.; Huang, T., Hayashi, T.; Sakka, S.; Kitsugi, T.; Yamamuro, T. Ca,P-rich layer formed on high-strength bioactive glass-ceramic A-W. **Journal Biomedical Material Research**, v. 24, p. 331-343, 1990.

135. Kokubo, T. Bioactive glass-ceramics: properties and applications. **Biomaterials**, v. 12, n. 2, p. 155-163, 1991.
136. Kokubo, T.; Takadama, H. How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity? **Biomaterials**, v. 27, p. 2907-15, 2006.
137. Kraft L. Calcium Aluminates based cements as dental restorative materials: Tese, Uppsala; 2002.
138. Kraft L., Hermansson L., US006620232B1, Dimension stable binding agent system for dental application, Doxa Aktiebolag Uppsala (SE), 2003.
139. Kraft, L.; Engqvist, H.; Hermansson, L. Early-age deformation, drying shrinkage and thermal dilation in a new type of dental restorative material based on calcium aluminate cement. **Cement and Concrete Research**, v. 34, p. 439–446, 2004.
140. Kraft, L.; Hermansson, L. Deformation characteristics in various calcium aluminate cement admixtures investigated with three different methods. In: Proceedings of the International Symposium on Ultra-High Performance Concrete, Kassel, Germany, September 13-15, pp.495-506, 2004.
141. Langstaff, S.D.; Sayer, M.; Smith, T.J.N.; Pugh, S.M.; Hesp, S.A.M.; Thompson, W.T. Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part I: Rational design, sample preparation and material characterization. **Biomaterials**, v. 20, p. 1727-1741, 1999.
142. Langstaff, S.D.; Sayer, M.; Smith, T.J.N.; Pugh, S.M. Resorbable bioceramics based on stabilized calcium phosphates. Part II: Evaluation of biological response. **Biomaterials**, v. 22, p. 135-150, 2001.
143. Lea, F.M.; The chemistry of cement and concrete, 3rd Ed. London: Arnold E., 1970.
144. Le Chatelier, H. Experimental researches on the constitution of hydraulic mortars. McGraw-Hill Publishing Co., New York, 1905.
145. Lee, S.J.; Monsef, M.; Torabinejad M. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate for repair of lateral root perforations. **Journal of Endodontics**, v. 19, p. 541-544, 1993.
146. Lee, W.E.; Vieira, W.; Zhang, S.; Ahari, K.G.; Sarpoolaky, H.; Parr, C. Castable refractory concretes. *International Materials Reviews*, v. 46, p. 145-167, 2001.
147. Lee, W.E.; Vieira, W.; Zhang, S.; Ahari, K.G.; Sarpoolaky, H.; Parr, C; Castable refractory concretes. **International Materials Reviews**, v. 46, p. 145-167, 2001.

148. LeGeros, R.Z.; Chohayeb, A.; Shulman, A.; Apatitic calcium phosphates: possible dental restorative materials. **Journal of Dental Research**, v. 61, 343, 1982.
149. LeGeros, R.Z. Calcium phosphates in oral biology and medicine. Nova Iorque: Karger, 3-8055-5236-X, 1991.
150. LeGeros, R.Z. Biodegradation and bioresorption of calcium phosphate ceramics. **Clinical Materials**, v.14, p. 65-88, 1993.
151. Levitt, G.E. Forming methods for apatite prosthesis. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 3, n. 4, p. 683-685, 1969.
152. Lewis G. Injectable bone cements for use in vertebroplasty and kyphoplasty: state-of-the-art review. **Journal of Biomedical Material Research: B**, v. 76, 456-468, 2006.
153. Li, P.; Ohtsuki, C. Kokubo, T. Processo f formation of bone-like apatite layer on sílica gel. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 4, p. 127-131, 1993.
154. Li, S.; Roy, D.; Preparation and characterization of high and low CaO/SiO₂ ratio “pure” C-S-H for chemically bonded ceramics. **Journal of Material Research**, v. 3, n. 2, p. 380-38, 1988.
155. Liu, X.Y.; Tao, S.Y.; Ding, C.X. Bioactivity of plasma sprayed dicalcium silicate coatings. **Biomaterials**, v. 23, p. 963, 2002.
156. Liu, C.; Chen, C.; Ducheyne, P. In vitro surface reaction layer formation and dissolution of calcium phosphate cement-bioactive glass composites. **Biomedical Materials** 3, v. 3, 2008. Publisher URL: <http://dx.doi.org/10.1088/1748-6041/3/3/034111>.
157. Livingston, R.A.; Schweitzer, J.S.; Rolfs, C.; Becker, H.W.; Kubsy, S. Characterization of the induction period in tricalcium silicate hydration by nuclear resonance reaction analysis. *Journal of Material Research*, v.16, n. 3, p. 687-693, 2001.
158. Lööf, J.; Engqvist, H.; Ahnfeld, N. Mechanical properties of a permanent dental restorative material based on calcium aluminate. **Journal of Material Science: Materials in medicine**, v. 14, p. 1033-1037, 2003.
159. Lööf, J. Calcium-Aluminate as Biomaterial. Synthesis, Design and Evaluation. Uppsala Universitet, 2008.
160. Lu, J.; Descamps, M.; Dejou, J.; Koubi, G.; Hardouin, P.; Lemaitre, J.; Proust J.P. The biodegradation mechanism of calcium phosphate biomaterials in bone. **Journal of Biomedical Material Research: Applied Biomaterials**, v. 63, p. 408-412, 2002
161. Ménétrier, D.; Jawed, I.; Sun, T.S.; Skalny, J. ESCA and SEM studies on early C3S hydration. *Cement and Concret Research*, v. 9, p. 473–482, 1979.

162. Milestone, N.B. Hydration of tricalcium silicate in the presence of Lignosulfonates, Glucose, and Sodium Gluconate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 62, p. 321–324, 1979.
163. Mirtchi, A.; Lemaitre, J.; Munting, G. Calcium phosphates cements: action of setting regulators on the properties of α -tricalcium phosphate-monocalcium phosphate cements. **Biomaterials**, v. 10, p. 634-638, 1989.
164. Mitchell, L.D.; Margeson, J.; Beaudoin, J.J. Synthesis and characterization of nanonoparticulate calcium aluminates. **Proceedings of the Nanotechnology in Construction Conference**; 2003: p. 227-37, Paisley, Scotland, June 2003.
165. Miyazaki, K.; Horibe, T.; Anntonucci, J.M.; Takagi, S.; Chow, L.C. Polymeric calcium phosphate cements: setting reaction modifiers. **Dental Materials**, v. 9, p. 46-50, 1993.
166. Monma H. The hydration of alpha-tricalcium phosphate. **Yogo-kyokai-shi**, v. 84, p. 209-213, 1976.
167. Monma, H.; Goto, M.; Kohmura, T. Effect of additives on hydration and hardness of tricalcium phosphate. **Gypsum Lime**, v. 188, p. 11-16, 1984.
168. Monma, H.; Makishima, A.; Mitomo, M.; Ikegami, T. Hydraulic properties of the tricalcium phosphate-dicalcium phosphate mixture. **Journal of the Ceramic Society of Japan**, v. 96, n. 8, p. 878-880, 1988.
169. Monroe, E.A.; Votava, W.; Bass, D.B.; McMullen, J. New calcium phosphate ceramic material for bone and tooth implants. **Journal of Dental Research**, v. 50, n. 4, p. 860-862, 1971.
170. Monteiro, F.J, San Román, J. Introducción y desarrollo histórico. In: Biomateriales, Capítulo I, p. 1-..R. Ed. Sastre R., de Aza S e San Román J, Faenza Editrice Iberica s.l., 2004.
171. Morejón-Alonso, L.; Dos Santos, L.A.; Carrodegua, R.G. Influence of mixing liquid on the properties of Calcium Aluminate Cement. **Key Engineering Materials**, v. 396-398, p. 241, 2009.
172. Morejón-Alonso, L.; Costella, R.; Bareiro, O., Garcia, R. Santos, L.A. Development and characterization of α -tricalcium phosphate based cement modified with monocalcium aluminate. Anais do 6º Congresso Latinoamericano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 17-20 Agosto, Gramado, RS, Brasil, 2010.

173. Mosmann, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of Immunological Methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.
174. Motisuke, M.; Carrodeguas, R.G.; Zavaglia, C.A. A comparative study between α -TCP and Si- α -TCP calcium phosphate cement. **Key Engineering Materials**, v 396-398, p. 201-204, 2009.
175. Motisuke, M. Síntese de cimento ósseo a base de α -TCP e estudo da influência do Mg e do Si em suas propriedades finais. Tese Doutoral, Campinas, 2010.
176. Muller, L.; Muller, F. Preparation of SBF with different HCO_3^- content and its influence on the composition of biomimetic apatites **Acta Biomaterialia**, v. 2, p. 181-189, 2006.
177. Nakagawa, A. Matsuya, S.; Takeuchi, A.; Ishikawa, K. Comparison of the effects of added α - and β -Tricalcium phosphate on the basic properties of apatite cement. **Dental Materials Journal**, v. 26, p. 342-347, 2007.
178. Neubauer, C.; Jennings, H. The role of the environmental scanning electron microscope in the investigation of cement-based materials. *Scanning*, v.18, p. 515-521, 1996.
179. Nery, E.B.; Lynch, K.L.; Hirthe, M.J. Bioceramics implants in surgically produced infrabony defects. **Journal of Periodontology**, v. 46, n. 6, p. 328-347, 1975.
180. Neville, A.M. High Alumina Cement Concrete: John Wiley & Sons, 1975.
181. Neville, A.M. Properties of concrete: Pitman Publishing; London, 1975.
182. Nilforoushan, M.R.; Talebiaan, N. The hydration products of a refractory calcium aluminate cement at low temperatures. **Iranian Journal of Chemistry&Chemistry Engineering**, v. 26, n. 2, p. 71-76, 2007.
183. Nurse, R.W.; Welch, J.H.; Majumdar, A.J. The CaO- Al_2O_3 system in a moisture-free atmosphere. **Transactions and Journal of the British Ceramic Society**, v.64, p. 409, 1965.
184. Oh, S.H.; Choi, S.Y.; Lee, Y.K.; Kim, K.N. Chi, S.H. Effects of lithium fluoride and maleic acid on the bioactivity of calcium aluminate cement: Formation of hydroxyapatite in simulated body fluid. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 67A, p. 104-111, 2003.
185. Oh, S.H.; Finones, R.; Jin, S.; Choi, S.Y.; Kim, K.N. Influence of tricalcium aluminate phase on in vitro biocompatibility and bioactivity of calcium aluminate bone cement. **Journal of Material Research**, v. 19, n. 4, p. 1062-1067, 2004.

186. Oliveira, I.R.; Pandolfelli, V.C.; Jacobovitz, M. Chemical, physical and mechanical properties of a novel calcium aluminate endodontic cement. **International Endodontic Journal**, v. 43, p. 1069-1076, 2010. doi:10.1111/j.1365-2591.2010.01770.x
187. Pankaew, P.; Hoonivathana E.; Limsuwand, P.; Naemchanthara, K. Temperature effect on calcium phosphate synthesized from chicken eggshells and ammonium phosphate. **Journal of Applied Science**, v. 10, p. 3337-3342, 2010.
188. Parirokh, M.; Asgary, S.; Jafar, M.; Stowe, S.; Eslami, B.; Eskandarizade, A.; Shabahang, S. A comparative study of white and grey mineral trioxide aggregate as pulp capping agents in dog's teeth. **Dental Traumatology**, v. 21, p. 150–154, 2005.
189. Park, J.B. Biomaterials Introduction. In: The biomedical material handbook Bronzino J.D. (Ed), Second Ed. vol. 2, Section IV, Germany, CRC Press. 2000.
190. Parr, C. Calcium aluminate cements. What happens when things go wrong?. In: IRE Annual Conference, September, Rotherham, UK, 2008.
191. Pati, R.K.; Panda, A.B.; Pramanik, P. Preparation of nanocrystalline calcium aluminate powders. **Journal of Material Synthesis Process**, v. 10, n. 4, p. 157-161, 2002.
192. Pietak, A.M., Reid, J.W., Scott, M.J., Sayer, M. Silicon substitution in the calcium phosphate bioceramics. **Biomaterials**, v. 28, p. 4023-4032, 2007.
193. Powers, T.; Brownyard, T. Studies of the physical properties of hardened Portland cement paste. **Portland Cement Association**, v. 22, p. 992-1043, 1948.
194. Powers, T. Structure and physical properties of hardened Portland cement paste. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 41, n. 1, p. 1-6, 1958.
195. Peterson, V.K.; Juenger, M.C.G. Hydration of tricalcium silicate: effects of CaCl_2 and sucrose on reaction kinetics and product formation. **Chemical Material**, v. 18, p. 5798–5804, 2006.
196. Reid, J.W.; Tuck, L.; Sayer, M.; Fargo, K.; Hendry, J.A. Synthesis and characterization of single-phase silicon substituted α -tricalcium phosphate. **Biomaterials**, v. 27, p. 2916-2925, 2006.
197. Reid, J.W.; Fargo, K.; Hendry, J.A.; Sayer, M. The synthesis mechanism of $\text{Ca}_3\text{Al}_2\text{O}_6$ from soft mechanochemically activated precursors studied by time-resolved neutron diffraction up to 1000°C. **Journal of Solid State Chemistry**, v. 177, n. 3, p. 866-874, 2004.
198. Rivas, J.M.; De Aza, A.H.; Pena, P. Synthesis of CaAl_2O_4 from powders: Particle size effect. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 25, p. 3269-3279, 2004.

199. Rivas, J.M.; De Aza, A.H.; Pena, P. Synthesis of CaAl_2O_4 from powders: Particle size effect. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 25, p. 3269-3279, 2005.
200. Roy, D.M.; Oyefesobi, S.O. Preparation of very reactive Ca_2SiO_4 powder. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 60, v. 3-4, p. 178-180, 1977.
201. Roy, D.M. New strong cement materials: Chemically bonded Ceramics. **Science**, v. 235, p. 651-658, 1987.
202. Salma, K.; Berzina-Cimdina, L.; Borodajenko, N. Calcium phosphate bioceramics prepared from wet chemically precipitated powders. **Processing and Application of Ceramics**, v. 4, n. 1, p. 45-51, 2010.
203. Sanosh, K.P.; Min-Cheol, C.; Balakrishnan, A. Kim, T.N.; Seong-Jai, C. Sol-gel synthesis of pure nano sized β -tricalcium phosphate crystalline powders. **Current Applied Physics**, v. 10, p.68-71, 2010.
204. Santos, L.A. Desenvolvimento de fosfato de cálcio reforçado por fibras para uso na área médico-odontológica. Tese de Doutorado, Campinas, SP, 2002.
205. Santos, L.A.; Carrodegua, R.G.; Rogero, S.O.; Higa, O.Z.; Boschi, A.O.; de Arruda, A.C.F. α -Tricalcium phosphate cement: in vitro cytotoxicity. **Biomaterials**, v. 23, p. 2035-2042, 2002.
206. Santos, L.A.; García, R.; De Oliveira, L.C.; Da Silva, E.C.; Ortega, A.; Arruda, A.C. Dual-setting calcium phosphate cement modified with ammonium polyacrylate. **Artificial Organs**, v. 27, n. 5, p. 412-418, 2003.
207. Santos, L.A.; Garcia, R.; Boschi, A.O.; De Arruda, A.C.F. Fiber-enriched double setting calcium phosphate bone cement. **Journal of Biomedical Material Research: Part A**, v. 65, p. 244-250, 2003.
208. Senna, M. Incipient chemical interaction between fine particles under mechanical stress a feasibility of producing advanced materials via mechanochemical routes. **Solid State Ionics**, v. 63-65, p. 3-9, 1993.
209. Scherer, G. Structure and properties of gels. **Cement and Concrete Research**, v. 29, p. 1149-1157, 1999.
210. Scriver, K.L.; Capmas, A. Calcium aluminate cements In: Lea's Chemistry of Cement and Concrete, 4th Ed., Ed. Hewlett, P.C., John Wiley and Sons, Nova York, 1998.

211. Silva, D.; Andrade, L.M.; Méndez, V.; Medellín, F. J.; Benavidez, M.V.; González, V. Análisis fisicoquímico del mineral trióxido agregado (MTA) por difracción de rayos X calorimetría y microscopia electrónica de barrido. **Revista ADM**, v. LVII, n. 4, p. 125-131, 2000.
212. Soares, J.A.; da Silva, F.G.; Sônego, S.; Vidal, A.; Croce, D.; Barros, A. Decomposição da fase majoritária do cimento Portland-Parte I: Alita Pura. **Revista Escola de Minas**, v. 56, n. 2, p. 87-90, 2003.
213. Somayaji, S. Civil engineering materials, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, Ed. DeLorenzo R, New Jersey, 1995.
214. Speirs, A.D; Oxland, T.R.; Masri, B.A.; Poursartip, A.; Duncan, C.P.; Calcium phosphate cement composites in revision hip arthroplasty. **Biomaterials**, v. 26, p. 7310-7318, 2005.
215. Stein, H.N.; Stevels, J.M. Influence of Silica on the hydration of $3\text{CaO},\text{SiO}_2$. **Journal of Applied Chemistry**, v. 14, p. 338–346, 1964.
216. Stephan, D.; Maleki, H.; Knöfel, D.; Eber, B.; Hardtl, R. Influence of Cr, Ni and Zn on the properties of pure clinker phases. Part I. C3S. **Cement Concrete Research**, v. 29, n. 4, p. 545–552, 1999.
217. Stephan, D.; Wilhelm, P. Synthesis of pure cementitious phases by sol–gel process as precursor. **Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie**, v. 630, p. 1477-1483, 2004.
218. Stutzman, P. Scanning electron microscopy in concrete petrography. In: Materials Science of Concrete: Calcium Hydroxide in Concrete. Florida: The American Ceramic Society, p.59-72, 2001.
219. Sunnegårdh-Grönberg, K. Calcium aluminate cement as dental restorative. Mechanical properties and clinical durability. Umeå university odontological dissertations, 2004. Takezawa, Y.; Doi, Y.; Shibata, S.; Wakamatsu, N.; Kamemizu, H.; Goto, T.; Iijima, M.; Moriwaki, Y.; Uno, K.; Kubo, K.; Haeuchi, Y. Self-setting apatite accelerator, II. Hydroxyapatite as setting accelerator. **Journal of Japan Society of Dental Material Devices**, v. 6, p. 426-431, 1987.
220. Takadama, H.; Kim, T.; Kokubo, T.; Nakamura. An X-ray photoelectron spectroscopy study of the process of apatite formation on bioactive titanium metal. **Journal of Biomedical Material Research**, v. 55, p. 185-193, 2001

221. Tampieri, A.; Celotti, G.; Szontagh, F.; Landi, E. Sintering and characterization of HA and β -TCP bioceramics with control of their strength and phase purity. **Journal of Material Science: Materials in Medicine**, v. 8, p. 29-37, 1997.
222. Taplin, J. H. A method for following the hydration reaction in Portland cement paste. **Australian Journal of Applied Science**, v. 10, p. 329-345, 1959.
223. Taplin, J.H. Some chemical additions and admixtures in cement paste and concrete; **Proceedings of the 4th International Congress Chemistry of Cement**, Washington, Vol. VII, p. 924–945, 1960.
224. Tas, A.C. Chemical Preparation of the Binary Compounds of CaO-Al₂O₃ System by Self-propagating Combustion Synthesis. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 81, n. 11, p. 2853-2863, 1998.
225. Tas, A.C. Combustion synthesis of calcium phosphate bioceramic powders. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 20, p. 2389-2394, 2000.
226. Taylor, H.F.W. *Cement Chemistry*, Academic Press, London, 1990.
227. Temuujin, J.; Okada, K.; Mackenzie, K.J.D. Formation of mullite from mechanochemically activated oxides and hydroxides. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 18, p. 831, 1998.
228. Temuujin, J.; Mackenzie, K.J.D. Effect of mechanochemical treatment on the synthesis of calcium dialuminate. **Journal of Material Chemistry**, v. 10, p. 1019-1023, 2000.
229. TenHuisen, K.S.; Brown, P.W. Formation of Calcium-deficient hydroxyapatite from α -tricalcium phosphate. **Biomaterials**, v. 19, 1998.
230. Thomas, J.J.; Jennings, H.M. A colloidal interpretation of chemical aging of the C-S-H gel and its effects on the properties of cement paste. **Cement and Concrete Research**, v. 36, p. 30-38, 2006.
231. Thomas, J.; Allen, A.; Jennings, H. Structural changes to the calcium–silicate–hydrate gel phase of hydrated cement with age, drying, and resaturation. *Journal of the American Ceramic Society*, v. 91, n. 10, p. 3362-3369, 2008.
232. Thomas, J.J.; Jennings, H.M.; Chen, J.J. Influence of nucleation seeding on the hydration mechanisms of tricalcium silicate and cement. **Journal of Physical Chemistry C**, v. 113, n. 11, p. 4327-4334, 2009, doi: 10.1021/jp809811w.
233. Torabinejad, M.; Watson, T.F.; Pitt, T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. **Journal of Endodontics**, v. 19, p. 591-595, 1993.

234. Torabinejad, M.; White, D. Tooth filling material and method of use. US Patent 5769638, Loma Linda University, 1998.
235. Torabinejad, M.; Chivian, N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. **Journal of Endodontics**, v. 25, p. 197-205, 1999.
236. Toriyama, M.; Ravaglioli, A.; Krayewski, A. Slip casting of mechanochemically sized hydroxyapatite. **Journal of Materials Science**, v. 30, p. 3216-3221, 1995.
237. Uberoi, M.; Risbu, S. Processing of Amorphous Calcium Aluminate Powders at $< 900^{\circ}\text{C}$, **Journal of the American Ceramic Society**, v. 13, n. 6, p. 1760-1770, 1990.
238. Vasudev, S.K.; Goel, B.R.; Tyagi, S. Root end-filling materials. A review. **Endodontology**, v. 15, p. 12-18, 2003.
239. Volkmer, T.; Bastos, L.L.; Sousa, V.C.; Santos, L.A. Obtainment of α -tricalcium phosphate by solution combustion synthesis method using urea as combustible. **Key Engineering Materials**, v. 396-398, 2009.
240. Wang, Y.; Thomson, W.J. Kinetic studies of tricalcium silicate formation from sol-gel precursors. **Journal of Material Science**, v. 31, p. 1319, 1996.
241. Wang, X.; Ye, J.; Wang, Y.; Chen, L. Reinforcement of calcium phosphate cement by biomineralized carbon nanotube. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 90, p. 962-964, 2007.
242. Wang XP, Ye JD, Wang YJ, Chen L. Self-setting properties of a β -dicalcium silicate reinforced calcium phosphate cement. **Journal of Biomedical Material Research Part B Applied Biomaterials**, v. 82, p. 93-99, 2007.
243. Watanabe, M.; Tanaka, M.; Sakurai, M.; Maeda, M. Development of calcium phosphate cement. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 26, p. 549-552, 2006.
244. Wei, X.; Ugurlu, O.; Akinc, M. Hydrolysis of α -tricalcium phosphate in simulated body fluid and dehydration behavior during the drying process. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 90, n. 8, p. 2315–2321, 2007. doi: 10.1111/j.1551-2916.2007.01682.x
245. Williams, D.F. Definitions in Biomaterials. In: Progress in biomedical engineering. Williams D.F. (Ed.), vol. 4, Chap. 6, p. 49-59. Amsterdam, Elsevier, 1987.
246. Williams, D.F. An Introduction to Medical and Dental Materials. In Williams D (ed). Concise encyclopedia of medical & dental materials. Pergamon Press and The MIT Press: 1990.
247. Williams, D.F. On the nature of biomaterials. **Biomaterials**, v. 30, 5897–5909, 2009.
248. Williams, D.F. Definitions of Biomaterials. Elsevier, Amsterdam, 1987.

249. Wu, Z., Young, J.F. The hydration of tricalcium silicate in the presence of colloidal silica. **Journal of Materials Science**, v. 19, p. 3477-3486, 1984.
250. Disponível em <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Biomaterial>>, acesso em: 24 Jan. 2011.
251. Young, J.F. A review of the mechanisms of set-retardation in Portland cement pastes containing organic admixtures. **Cement and Concrete Research**, v. 2, n. 5, p. 415–433, 1972.
252. Zanferrari, F.L. Reações ósseas a implantes de cimento Portland em fase sólida. Pontifícia Universidade Católica do Paraná. Dissertação de Mestrado, 2006.
253. Zavaglia, C. A. C. Aplicações de Biocerâmicas em Próteses Ortopédicas. Campinas: Unicamp, 1993. Tese de Livre Docência.
254. Zhang, J.; Guo, J., Suqin, L.; Bangcai, S.; Kaisheng, Y. Synthesis of β -tricalcium phosphate using sol-gel self-propagating combustion method. **Frontiers of Chemistry in China**, v. 3, n. 4, p. 451-453, 2008, doi: 10.1007/s11458-008-0080-6.
255. Zhang, F.; Lin, K.; Chang, J.; Lu, J. Ning, C. Spark plasma sintering of macroporous calcium phosphate scaffolds from nanocrystalline powders, **Journal of European Ceramic Society**, v. 28, p. 539-545, 2008.
256. Zhang, L.; Catalan, L.; Balec, R.; Larsen, A.; Esmaili, H.; Kinrade, S. Effects of saccharide set retarders on the hydration of ordinary Portland cement and pure tricalcium silicate. **Journal of the American Ceramic Society**, v. 93, n. 1, p. 279-287, 2010. doi: 10.1111/j.1551-2916.2009.03378.x.
257. Zhang, M.; Liu, J.K.; Miao, R.; Li, G.M.; Du, Y.J. Preparation and characterization of fluorescence probe from assembly hydroxyapatite nanocomposite. **Nanoscale Research Letter**, v.5, p. 675-679, 2010. Doi: 10.1007/s11671-010-9530-4
258. Zhao, W.; Chang, J. Sol–gel synthesis and in vitro bioactivity of tricalcium silicate powders. **Materials Letters**, v. 58, p. 2350-2353; 2004.
259. Zhao, W.; Chang, J. Preparation and characterization of novel tricalcium silicate bioceramics, **Journal of Biomedical Research: Part A**, v. 73A, n. 1, p. 86-89, 2005.
260. Zhao, W.Y.; Wang, J.Y.; Zhai, W.Y.; Wang, Z.; Chang, J. The self-setting properties and in vitro bioactivity of tricalcium silicate. **Biomaterials**, v. 26, p. 6113-6121, 2005.
261. Zhao-Qi, W., Young, J.F. The hydration of tricalcium silicate in the presence of colloidal silica. **Journal of Materials Science**, v. 19, p. 3477-3486, 1984.
262. Zhongru, G.; Chang J. Synthesis and in vitro bioactivity of dicalcium silicate powders. **Journal of the European Ceramic Society**, v. 24, p. 93-99, 2004.

ANEXO A-Trabalhos originados da tese

Morejón-Alonso, L.; Carrodegua, R.G.; Dos Santos, L.A. In vitro behavior of calcium aluminate cement. In: Anais do 5º Congresso Latinoamericano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 22-25 de Junho, Ouro Preto, MG, Brasil, 2008.

Morejón-Alonso, L.; Dos Santos, L.A.; Carrodegua, R.G. Influence of mixing liquid on the properties of Calcium Aluminate Cement. In: 21st Internacional Symposium of Bioceramics in Medicine-Bioceramics 21, 21-24 Outubro, Buzios, RJ, Brasil, 2008.

Morejon-Alonso, L.; Bareiro, O.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. *In vitro* bioactivity of a tricalcium silicate cement. In: Anais do 53º Congresso Brasileiro de Cerâmicas, 7-10 Junho, Guarujá, SP, Brasil, 2009. ISSN 2175-8891.

Morejon-Alonso, L.; Bareiro, O.; Garcia Carrodegua R.; Santos, L. A. In vitro behaviour of a tricacalcium silicate cement for their use in medical applications. In: First Workshop on Artificial Organs, Biomaterials and Tissue Engineering, 25-27 Agosto, Rosario, Santa Fé, Argentina, 2009.

Morejon-Alonso, L.; Bareiro, O.; Garcia Carrodegua R.; Santos, L. A. Development and characterization of new dual setting calcium phosphate cement. *In vitro* behavior. In: 54º Congresso Brasileiro de Cerâmicas, 30 Maio-2 Junho, Foz de Iguaçu, PR, Brasil, 2009.

Bareiro, O.; Morejon-Alonso, L.; Volkmer, T.; Santos, L.A. Avaliação da reatividade do cimento ósseo baseado em α -fosfato tricálcico obtido por diferentes métodos de sínteses. Caracterização físico-química. Comportamento in vitro. In: Anais do 54º Congresso Brasileiro de Cerâmicas, 30 Maio-2 Junho, Foz de Iguaçu, PR, Brasil, 2009. ISSN 2175-8891.

Morejón-Alonso, L.; Ferrari, M.; Camassola, M.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. In vitro cytotoxicity of a modified calcium phosphate cement. In: Anais do 6º Congresso Latinoamericano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 17-20 Agosto, Gramado, RS, Brasil, 2010.

Morejón-Alonso, L.; Costella, R.S.; Bareiro, O.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Development and characterization of α -tricalcium phosphate based cement modified with monocalcium aluminate. In: 6° Congresso Latinoamericano de Órgãos Artificiais e Biomateriais, 17-20 Agosto, Gramado, RS, Brasil, 2010.

Morejón-Alonso, L.; Mantovani, A.C.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Effects of the addition of silica on chemical and mechanical properties of a new α -tricalcium phosphate/tricalcium silicate cement. In: Anais do 19° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 21-25 Novembro, Campos de Jordão, SP, Brasil, 2010.

Ferrari, M.B.; Morejón-Alonso, L.; Santos, L.A.; Garcia Carrodegua, R.; Nardi, N.B.; Camassola, M. Avaliação citotóxica de novas formulações de cimentos para biomateriais baseados em fosfato de tricálcio e silicato de cálcio. In: V Congresso Brasileiro de Células-tronco e Terapia Celular, 29 Set-2 Out, Gramado, RS, Brasil, 2010.

Morejón-Alonso, L.; Dos Santos, L.A.; Carrodegua, R.G. Influence of mixing liquid on the properties of Calcium Aluminate Cement. **Key Engineering Materials**, v. 396-398, p. 241, 2009.

Morejón-Alonso, L.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Development and characterization of α -tricalcium phosphate/monocalcium aluminate composite bone cement. *Material Science & Engineering: C*. **(Aceito)**

Morejón-Alonso, L.; Ferreira, O.J.B.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Bioactive composite cement based on α -tricalcium phosphate/tricalcium silicate cement. *Journal of Biomedical Material Research: B*. **(Aceito)**

Morejón-Alonso, L.; Ferrari, M.; Camassola, M.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Cytotoxic evaluation of new formulations of bone cements based on α -tricalcium phosphate and monocalcium aluminate. *Journal of Biomedical Science and Engineering*. **(Enviado)**

Morejón-Alonso, L.; Garcia Carrodegua, R.; Santos, L.A. Effects of the addition of silica on chemical and mechanical properties of a new α -tricalcium phosphate/tricalcium silicate cement. *Material Research*. **(Aceito)**

ANEXO B-Resultados resumidos

	Tempo de pega (min)		pH			Resistencia à compressão (MPa)			Porosidade (%)			Perda de massa (%)		
	t _i	t _r	24h	48h	72h	24h	7d	14d	24h	7d	14d	7d	14d	21d
α-TCP	17	40	7,40	7,21	7,82	16,92	14,39	13,09	38,32	42,61	42,11	3,53	4,52	6,12
5CA	140	180	7,40	7,74	7,28	4,42	2,72	4,32	47,66	47,65	45,54	-0,41	-0,21	1,52
10CA	300	300	7,40	7,65	7,24	4,15	4,90	2,62	46,69	47,90	48,00	-1,81	-1,07	0,22
5C₃S	202	395	7,40	7,81	7,89	2,88	12,08	16,84	39,37	41,93	44,79	-2,41	1,52	4,34
10C₃S	304	400	7,40	10,40	10,07	2,68	2,58	2,7	41,44	41,67	42,22	-3,97	-3,53	-2,58
5SiO₂	135	440	7,40	7,57	7,67	0,03	0,89	12,15	48,96	48,21	43,15	0,81	4,52	7,04
10SiO₂	115	420	7,40	7,81	7,90	0,06	0,14	1,00	49,12	51,67	52,13	-1,17	-2,81	-3,10

Formulação	Tempo de deformação da camada superficial de CDHA	Citotoxicidade comparada ao cimento de α-TCP
α-TCP	14d	--
5CA	1h	Menor
10CA	1h	Menor
5C₃S	14d	Menor
10C₃S	7d	Menor
5SiO₂	14d	Maior
10SiO₂	7d	Maior