



**FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
HIDROXIAPATITA MODIFICADA COM BaTiO_3 E Zn^0
VIA *FREEZE-CASTING* VISANDO APLICAÇÕES EM
ENGENHARIA DE TECIDO ÓSSEO**

Rodrigo Nunes de Souza

**Dissertação de Mestrado
Ciências Mecânicas**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA

**Faculdade de Tecnologia
Departamento de Engenharia Mecânica**

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA

FABRICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE
HIDROXIAPATITA MODIFICADA COM BaTiO_3 E Zn^0 VIA
FREEZE-CASTING VISANDO APLICAÇÕES EM
ENGENHARIA DE TECIDO ÓSSEO

Rodrigo Nunes de Souza

Orientador: Prof. Dr. Alysson Martins Almeida Silva (ENM/ UnB)

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

PUBLICAÇÃO: ENM.DM - XXX.XXX

BRASÍLIA/DF: 14 de março de 2024

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE TECNOLOGIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA MECÂNICA

Fabricação e Caracterização de Hidroxiapatita Modificada com
BaTiO₃ e Zn⁰ via *Freeze-Casting* Visando Aplicações em
Engenharia de Tecido Ósseo

Rodrigo Nunes de Souza

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO SUBMETIDA AO DEPARTAMENTO DE
ENGENHARIA MECÂNICA DA FACULDADE DE TECNOLOGIA DA
UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA COMO PARTE DOS REQUISITOS PAR-
CIAIS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS
MECÂNICAS.

APROVADA POR:

Prof. Dr. Alysson Martins Almeida Silva (ENM/ UnB)
(Orientador)

Prof. Dr. Maximiliano Delany Martins (CDTN/ UFMG)
(Examinador Externo)

Prof. Dr. Leonardo Giordano Paterno (IQ/ UnB)
(Examinador Externo)

BRASÍLIA/DF, 14 DE MARÇO DE 2024

FICHA CATALOGRÁFICA

de Souza, R. N.
Fabricação e Caracterização de Hidroxiapatita Modificada com BaTiO₃ e Zn⁰ via *Freeze-Casting*
Visando Aplicações em Engenharia de Tecido Ósseo
[Distrito Federal] 2024.
ii, 88p. (ENM/FT/UnB, Mestre, Ciências Mecânicas, 2024.
Dissertação de Mestrado - Universidade de Brasília.
Faculdade de Tecnologia.
Departamento de Engenharia Mecânica.

Palavras-chave:

1. Biomateriais	2. Estrutura de Poros
3. Caracterização	4. Compressão
I. ENM/FT/UnB	II. Título (série)

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

de Souza, R. N. (2024). Fabricação e Caracterização de Hidroxiapatita Modificada com BaTiO₃ e Zn⁰ via *Freeze-Casting* Visando Aplicações em Engenharia de Tecido Ósseo. Dissertação de Mestrado, Publicação ENM.DM - XXX.XXX, Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade de Brasília, Brasília, Distrito Federal, ii, 88p.

CESSÃO DE DIREITOS

NOME DO AUTOR: Rodrigo Nunes de Souza.

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO: Fabricação e Caracterização de Hidroxiapatita Modificada com BaTiO₃ e Zn⁰ via *Freeze-Casting* Visando Aplicações em Engenharia de Tecido Ósseo.

GRAU / ANO: MESTRE / 2024

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação de mestrado e para emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado pode ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Rodrigo Nunes de Souza

Dedico este trabalho a um variado conjunto de pessoas que me influenciam, me apoiam e me abrem as portas para novas oportunidades. À minha mãe, Carolina, e minha vó, Nanci, à minha companheira Isadora, ao meu orientador e amigo, Alysson, aos meus demais amigos que me acompanham no caos rotineiro. Por fim, dedico este trabalho a mim, como um fruto do meu estudo e do meu árduo trabalho, em busca de um futuro brilhante.

Resumo

Fabricação e Caracterização de Hidroxiapatita Modificada com BaTiO₃ e Zn⁰ via *Freeze-Casting* Visando Aplicações em Engenharia de Tecido Ósseo

Autor: Rodrigo Nunes de Souza

Orientador: Prof. Dr. Alysson Martins Almeida Silva (ENM/ UnB)

Programa de Pós Graduação em Ciências Mecânicas

Brasília, 14 de março de 2024

Fraturas ósseas representam um crescente problema de saúde pública no mundo, principalmente a considerar o envelhecimento da população. Soluções possíveis para fraturas que não se regeneram naturalmente são os implantes artificiais. Implantes metálicos possuem boas propriedades mecânicas, porém problemas de acoplamento com o osso hospedeiro, bem como o fato de serem materiais bioinertes aumentam os riscos e a manutenção associados. *Scaffolds* cerâmicos representam uma classe de enxertos artificiais promissores em termos de regeneração do tecido ósseo. Neste âmbito, o presente trabalho foi voltado para a fabricação de *scaffolds* de hidroxiapatita (HPA), que é a matriz extracelular presente no esqueleto de mamíferos, utilizando-se BaTiO₃ e Zn⁰ como forma de modificar a estrutura e propriedades dos *scaffolds* fabricados por *freeze-casting*. Observou-se por meio de ensaios de compressão mecânica que a adição de 0,25 wt.% de BaTiO₃ provocou um aumento de resistência mecânica, em que a melhor amostra apresentou resistência à compressão acima de 7 MPa, enquanto a porosidade se manteve em torno de 40%. Além disso, observou-se uma redução na resistência à compressão com a adição de Zn⁰. Ademais, constatou-se por meio de DRX e FTIR uma redução da transformação de HPA em oxapatita (OCP) e fosfato tricálcio (α -TCP) promovida pela adição de BaTiO₃. Este efeito relaciona-se com a área superficial obtida por BET da perovskita de BaTiO₃. Por fim, amostras contendo Zn e BT apresentaram a formação da fase de hidroxiapatita com substituição de Zn²⁺ na HPA, cuja interação com o BaTiO₃ e com o ligante PVA se mostraram reduzidas por redução da ligação OH na HPA, formando-se defeitos observados por microtomografia.

Palavras-chaves: Biomateriais; Estrutura de Poros; Caracterização; Compressão.

Abstract

FABRICATION AND CHARACTERIZATION OF BaTiO_3 AND Zn^0 MODIFIED HYDROXYAPATITE VIA FREEZE-CASTING ENVISIONING BONE TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS

Author: Rodrigo Nunes de Souza

Supervisor: Prof. Dr. Alysson Martins Almeida Silva (ENM/ UnB)

Master in Mechanical Sciences

Brasília, 2024

Bone fractures represent a growing public health problem worldwide, especially considering the aging population. Possible solutions for fractures that do not heal naturally are artificial implants. metallic implants have good mechanical properties, but issues with coupling with the host bone, as well as being bioinert materials, increase associated risks and maintenance. Ceramic scaffolds represent a class of promising artificial grafts in terms of bone tissue regeneration. In this context, the present work was focused on the fabrication of hydroxyapatite (HPA) scaffolds, which is the extracellular matrix found in human bones, using BaTiO_3 and Zn^0 as a way to modify the structure and properties of the scaffolds manufactured by freeze-casting. It was observed through mechanical compression tests that the addition of 0.25 wt.% BaTiO_3 caused an increase in mechanical strength, with the best sample exhibiting compressive strength above 7 MPa, while the porosity remained around 40%. Additionally, a reduction in compressive strength was observed with the addition of Zn^0 . Furthermore, it was found through XRD and FTIR a reduction in the transformation of HPA into oxyapatite (OCP) and α -tricalcium phosphate (α -TCP) promoted by the addition of BaTiO_3 . This effect is related to the surface area obtained by BET of the BaTiO_3 perovskite. Finally, samples containing Zn and BT showed the formation of the hydroxyapatite phase with Zn^{2+} substitution in HPA, whose interaction with BaTiO_3 and with the PVA binder was reduced due to OH bond shortening within HPA, forming defects observed by microtomography.

Key-words: Biomaterials; Pore Network; Structure Characterization; Compressive Strength.

Sumário

1	INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	1
1.1	Introdução	1
1.2	Objetivos	3
1.2.1	Objetivo Geral	3
1.2.2	Objetivos Específicos	3
1.3	Organização do Trabalho	4
2	REVISÃO TEÓRICA	5
2.1	Engenharia de Tecido Ósseo	5
2.1.1	Aspectos Gerais	5
2.1.2	Células Mesenquimais, Diferenciação Celular e Regeneração Óssea	6
2.2	Biomateriais: Hidroxiapatita, Óxido de Zinco, Titanato de Bário e Combinações	9
2.2.1	Hidroxiapatita (HPA)	9
2.2.2	Óxido de Zinco	12
2.2.3	Hidroxiapatita com Substituição de Zinco (Zn/HPA)	13
2.2.4	Titanato de Bário (BT)	15
2.2.5	<i>Scaffolds</i> para Regeneração de Tecido Ósseo	16
2.3	Sol-Gel	17
2.4	<i>Freeze-Casting</i>	20
3	METODOLOGIA DE TRABALHO	25
3.1	Síntese do BaTiO ₃	25
3.2	Fabricação de <i>Scaffolds</i>	26
3.2.1	<i>Scaffolds</i> de Hidroxiapatita Pura	26
3.2.2	<i>Scaffolds</i> de Hidroxiapatita Modificada BaTiO ₃	27
3.2.3	<i>Scaffolds</i> de Hidroxiapatita Modificada Zn ⁰	28
3.2.4	Amostras e Nomenclatura	28
3.3	Técnicas de Caracterização Físico-Químicas e Morfo-Mecânicas	29
3.3.1	Difratometria de Raios-X (DRX)	29

3.3.2	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier . . .	30
3.3.3	Microtomografia Computadorizada (μ CT)	31
3.3.4	Ensaio de Compressão Mecânica	33
3.3.5	Adsorção Gasosa	34
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
4.1	Amostras HPA e HPA+BT	36
4.1.1	Caracterizações Físico-Químicas	36
4.1.2	Caracterização Morfo-Mecânica	44
4.2	Amostras BT/Zn/HPA	59
4.2.1	Caracterizações Físico-Químicas	59
4.2.2	Caracterização Morfo-Mecânica	65
5	CONCLUSÃO	79
	REFERÊNCIAS	82

Lista de Figuras

Figura 2.1 – Alguns tipos de diferenciação celular associadas a células tronco mesenquimais.	7
Figura 2.2 – Ilustração simplificada de um osso de mamífero, juntamente com intervalos de valores esperados para porosidade e resistência mecânicas à compressão.	9
Figura 2.3 – Estrutura da hidroxiapatita hexagonal, com fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$	10
Figura 2.4 – (a) Diagrama de fase do sistema $\text{P}_2\text{O}_5\text{-CaO}$ e (b) relação das fases no sistema $\text{SrO-P}_2\text{O}_5\text{-H}_2\text{O}$	11
Figura 2.5 – Célula unitária do óxido de zinco hexagonal.	13
Figura 2.6 – Vista isométrica de uma célula unitária da hidroxiapatita de arranjo hexagonal dopada com Zn.	14
Figura 2.7 – Exemplo de estrutura tipo pseudo-cúbica do titanato de bário, com átomo central de Ti.	15
Figura 2.8 – Microscopia eletrônica de varredura de um monólito cerâmico fabricado por <i>freeze-casting</i>	24
Figura 3.1 – Esquema da metodologia de fabricação de titanato de bário pela rota sol-gel.	25
Figura 3.2 – Sistema de <i>freeze-casting</i> com controle de temperatura do LMCNano (Laboratório de Materiais Cerâmicos e Nanoestruturados) utilizado para fabricação de amostras no presente trabalho.	27
Figura 3.3 – Amostras do lote 10Zn+100BT produzidas por <i>freeze-casting</i> e lixadas para ensaio de compressão mecânica.	28
Figura 3.4 – Fluxo de trabalho utilizado no <i>software</i> Amira-Avizo 3D para cálculos de porosidade, distribuição de tamanho de poro, interconectividade de poros, bem como modelagem da rede de poros e representações visuais em duas e três dimensões.	32
Figura 3.5 – Dados intermediários gerados pelo Avizo 3D, (a) o monólito como um todo, (b) o subvolume extraído para análise, (c) o <i>thresholding</i> e por fim, (d) a separação de objetos.	33

Figura 3.6 – Configuração dos parâmetros para o modelo de DFT empregado pelo <i>software</i> de análise de adsorção gasosa da <i>Quanta Chrome</i>	35
Figura 4.1 – Difractogramas das amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.	37
Figura 4.2 – FTIR das amostras de controle e modificadas com variadas concentrações de titanato de bário.	40
Figura 4.3 – Isotermas do titanato de bário puro. O ramo vermelho indica o ramo de adsorção e o ramo azul indica a dessorção.	42
Figura 4.4 – Regressão linear (<i>T-plot</i>) pela equação de BET em comparação com os dados obtidos.	42
Figura 4.5 – Diagrama da distribuição de tamanho de poro por NLDFT da amostra BT puro.	43
Figura 4.6 – Distribuição de tamanho de poro por μ -CT para as amostras contendo (a) apenas HPA com diferentes cargas de sólido e (b) HPA+BT.	45
Figura 4.7 – Ilustração das seções transversais e longitudinal realizadas no <i>software</i> Avizo 3D.	46
Figura 4.8 – Plano de corte longitudinal, realizado por μ -CT, na amostra HPA 40%. O retângulo vermelho, 1, referem-se à região densa da amostra, enquanto o retângulo azul delimita aproximadamente a área porosa de cada amostra. A seta vermelha indica a direção de avanço da frente de resfriamento.	47
Figura 4.9 – Ampliação da região de crescimento lamelar, a 3/4 do topo de uma amostra do lote 075BT.	48
Figura 4.10–Planos de corte transversal no plano médio e a 3/4 do topo das amostra (a),(b) 050BT e (c),(d) 075BT.	49
Figura 4.11–Planos de corte transversal das amostras (a), (b) 025BT e (c), (d) 100BT.	50
Figura 4.12–Diferentes seções de uma amostra de HPA 30% produzida em molde de cobre.	51
Figura 4.13–Corte longitudinal das amostras (a) 025BT, (b) 050BT, (c) 075BT e (d) 100BT evidenciando o surgimento de partículas com maior densidade (azul, branco e cinza claro).	52
Figura 4.14–Modelagem da rede de poros da amostra HPA 40%.	53
Figura 4.15–Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas apenas com titanato de bário.	55
Figura 4.16–Diagramas de tensão deformação das amostras mais interessantes: (a) a amostra de controle HPA 40%, (b) a amostra com maior resistência à compressão, 025BT.	56

Figura 4.17–Gráfico de caixas para resistência à compressão dos lotes produzidos, em que a tensão média de cada lote está representada acima da linha média de cada caixa. As linhas verticais marcam os valores máximo e mínimo de cada tensão, enquanto o comprimento das caixas são referentes ao desvio padrão de cada lote de amostras.	57
Figura 4.18–Correlação entre o percentual de hidroxiapatita, tamanho de cristalito da hidroxiapatita e tensão de resistência à compressão para as amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.	58
Figura 4.19–Gráficos de correlação entre porosidade, resistência mecânica e composição das amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.	59
Figura 4.20–Difratogramas das amostras com 5 e 10 wt.% de Zn e variados conteúdos de BaTiO ₃	60
Figura 4.21–FTIR das amostras modificadas com 5% e 10% de Zn e variadas concentrações de BaTiO ₃	64
Figura 4.22–Diagrama da distribuição de tamanho de poro por NLDFIT da amostras de ZnO puro.	65
Figura 4.23–Distribuição de tamanho de poro para as amostras com (a) 5 wt.% de Zn e (b) 10 wt.%.	67
Figura 4.24–Corte transversal da seção lamelar das amostras (a) 5Zn+050BT, (b) 5Zn+075BT e (c) 5Zn+100BT.	69
Figura 4.25–Corte transversal da seção lamelar das amostras (a) 10Zn+050BT, (b) 10Zn+075BT e (c) 10Zn+100BT.	70
Figura 4.26–Comparação de aglomerados nas amostras (a) 5Zn+075BT e (b) 10Zn+100BT em corte longitudinal.	71
Figura 4.27–Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas com 5% zinco metálico e titanato de bário.	73
Figura 4.28–Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas com 10% zinco metálico e titanato de bário.	74
Figura 4.29–Diagramas de Tensão VS Deformação das amostras (a) 10Zn+075BT e (b) 10Zn+100BT.	75
Figura 4.30–Gráfico de caixas para resistência à compressão dos lotes produzidos, em que a tensão média de cada lote está representada acima da linha média de cada caixa. As linhas verticais marcam os valores máximo e mínimo de cada tensão, enquanto o comprimento das caixas são referentes ao desvio padrão de cada lote de amostras.	76
Figura 4.31–Gráficos de correlação (a) % Zn/HPA - Tensão de Compressão - Tamanho de cristalito, (b) Tamanho de cristalito - Porosidade - Tamanho médio de poro e (c) Tamanho de cristalito - Porosidade - Tamanho médio de poro.	78

Lista de Tabelas

Tabela 1 – Tabela com a nomenclatura das amostras, evidenciado a concentração percentual em volume de hidroxiapatita na suspensão precursora, bem como os percentuais de zinco metálico e titanato de bário em relação à massa de hidroxiapatita.	29
Tabela 2 – Tabela contendo detalhes dos resultados mais importantes obtidos através da técnica de refinamento de Rietveld para os sistemas de amostras HPA e HPA+BT.	38
Tabela 3 – Porosidades percentuais aproximadas e tamanho médio de poro para as amostras HPA+BT obtidas por μ -CT.	44
Tabela 4 – Tabela contendo detalhes dos resultados mais importantes obtidos através da técnica de refinamento de Rietveld para os sistemas com 5% Zn e 10% Zn.	61
Tabela 5 – Porosidades percentuais aproximadas e tamanho médio de poro para as amostras de 5 e 10% Zn.	66

Lista de Abreviaturas e Siglas

SUS	Sistema Único de Saúde
DFT	Teoria de densidade de funcionais (<i>density functional theory</i>)
NLDFT	Teoria de densidade de funcionais não-localizados (<i>non-local density functional theory</i>)
DMSO	Dimetilsulfóxido
PVA	Álcool polivinílico
α -TCP	Trifosfato de cálcio na fase α
h-OCP	Ortofosfato de cálcio em arranjo tipo hexagonal
h-HPA	Hidroxiapatita em arranjo tipo hexagonal
Zn/HPA	Hidroxiapatita com substituição de zinco
BT	Titanato de bário
COL-I	Colágeno tipo 1
BMP	Proteína morfogênica óssea (textitBone Morphogenic Protein)
BMP-2/-6/-9	Proteína morfogênica óssea subtipos 2, 6 e 9
TGF- β	Fator de crescimento transformador (<i>transforming growth factor</i>)
CTM	Células tronco mesenquimais
JMJD3	Proteína 3 contendo domínio Jumonji (<i>jumonji domain containing protein 3</i>)
DNA	Ácido desoxirribonucleico (<i>deoxyrribonucleic acid</i>)
RNA	Ácido ribonucleico (<i>ribonucleic acid</i>)
m,rRNA	RNA mensageiro e ribossômico
μ mHg	Micrômetros de mercúrio

DRX	Difratometria de raios-X
FTIR	Transformada de Fourier no espectro infravermelho
CT, μ -CT	Tomografia computadorizada, microtomografia computadorizada
PNM	Modelagem de rede de poros (<i>pore network modelling</i>)
MTS	Sistema de teste de materiais (<i>material test system</i>)
BET	Brunauer-Emmett-Teller
PDF	Arquivo de difração de pó (<i>powder diffraction file</i>)
ICSD	Base de dados de cristais inorgânicos (<i>Inorganic Crystal Structure Database</i>)

Lista de Símbolos

AS	Área superficial específica [m ² /g]
AST	Área da seção transversal do adsorbato [m ²]
C	Coefficiente de calor de adsorção [-]
C_p	Capacidade térmica à pressão constante [J/kg·K]
d	Tamanho de cristalito [nm]
D	Coefficiente de difusividade molar [m ² /s]
e	Número de Euler [-]
E_c	Energia cinética [J]
$\bar{\mathbf{F}}$	Campo médio de força [N]
inclinação	Inclinação da reta de BET [-]
interseção	Interseção da reta de BET com o eixo das abscissas [-]
k_{cf}, k_m	Resistência térmica co <i>cold finger</i> e do molde [K/W]
k	Constante de Boltzmann [J/K]
K	Fator de forma de Scherrer [-]
n^*	População de embriões críticos [-]
n_0	Número total de átomos [-]
m	Massa [kg]
P, P_0	Pressão aferida na amostra, pressão atmosférica [Pa]
\dot{Q}	Taxa de transferência de calor [W]
$\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_1$	Coordenadas de uma partícula [m]
T	Temperatura [K]

\mathbf{v}	Vetor velocidade [m/s]
V^N	volume de controle em análise [m ² /s]
\mathbf{W}	Ruído branco de um processo de Wiener [-]
X	Número de moléculas adsorvidas [-]
X_m	Número de moléculas necessárias para formar uma monocamada ideal [-]
\propto	Proporcional a [-]
∂	Operador derivada parcial [-]
∇	Operador gradiente [-]
β	Coefficiente de atrito [-]
β_{FWHM}	Largura à meia altura [°]
λ	Comprimento de onda da radiação característica [nm]
Φ	Campo potencial devido a um conjunto de forças
θ	Ângulo [°]
$\cos(\theta)$	Cosseno do ângulo θ [-]
$S(\theta)$	Função de forma de um embrião [-]
φ	Concentração volumétrica de determinada grandeza [-/m ³]
γ	Energia livre de superfície [J/m ²]
$\gamma_{\mathbf{LI}}, \gamma_{\mathbf{LM}}, \gamma_{\mathbf{SI}}, \gamma_{\mathbf{LS}}$	Tensões superficiais entre líquido e interface, líquido e matriz, sólido e interface, líquido e sólido [N/m]
ΔG^*	Energia crítica para formação de um núcleo [J]
$\Delta G_\nu, \Delta G_r, \Delta G$	Energia livre de volume, energia livre excedente e energia livre de Gibbs [J]

1 Introdução e Objetivos

1.1 Introdução

As fraturas ósseas são um grave problema de saúde pública no mundo. Estima-se que 50% das mulheres e 25% dos homens sofram pelo menos uma fratura durante a vida devido à fragilidade óssea com diferentes causas, sendo a osteoporose uma das mais importantes (DENNISON; COOPER; COLE, 2010; ROUX et al., 2014). O impacto epidemiológico dessas fraturas, considerando as taxas de morbidade e mortalidade, além dos custos de saúde, caracteriza-se como um problema de proporções globais, especialmente com o envelhecimento da população.

As fraturas proximais do fêmur são a principal causa de morte relacionada a quedas nos idosos, responsáveis por cerca de 340.000 internações/ano nos Estados Unidos e a um custo aproximado de três bilhões de dólares (ACS; DESAI; HESSELS, 2008; CORK, 2017). Este tipo de fratura atinge, com maior frequência, a população de idosos, sendo 95% acima de 60 anos e do sexo feminino (75%) (SOARES et al., 2014). Em virtude da frequente ocorrência de doenças associadas nesses pacientes, a taxa de mortalidade nos primeiros 30 dias após a fratura atinge de 5% a 10%, chegando a 15% a 30% no primeiro ano (ACS; DESAI; HESSELS, 2008; CORK, 2017; BRYSON et al., 2013).

Todos os métodos terapêuticos aplicados às fraturas baseiam-se no potencial de restauração morfofuncional do tecido ósseo (redução), neutralização das forças biomecânicas (imobilização), preservação da fisiologia, restauração do comprimento, alinhamento, reconstrução da superfície articular e preservação das partes (funcionalidade biomecânica) (SCHLICKEWEI et al., 2019).

O uso de diferentes materiais de fixação (osteossíntese), como fios metálicos, placas, parafusos, pregos intramedulares ou mesmo próteses, é utilizado por ocasião de lesões ósseas (GONÇALVES et al., 2018). A indicação do uso de materiais metálicos é baseada na capacidade de alcançar boa redução, estabilidade mecânica, eliminação de riscos de infecção e potencial de resposta biológica (consolidação). A presença de um material metálico estável, biologicamente inerte, pode funcionar como um substrato de adesão de proteínas para a formação de biofilme bacteriano e falha do processo regenerativo (pseudartrose).

A crescente demanda por métodos baseados em diferentes matérias-primas que

permitam a restauração funcional de tecidos lesionados tem sido o fator norteador na produção de materiais de implante. Entre estes, os mais comuns são aço inoxidável, ligas de titânio ou ligas à base de cromo-cobalto, molibdênio ou tântalo, cuja alta densidade, resistência, estabilidade física e compressibilidade são os fatores que suportam suas aplicações (PIRES; BIERHALZ; MORAES, 2015). No entanto, apesar da grande aplicabilidade desses materiais, uma vez implantados, eles se tornam suscetíveis à resposta imunológica do indivíduo e a ação de enzimas além de estarem expostas a diferentes cargas biomecânicas. Tais cargas podem gerar ciclos de fadiga, microfaturas e falhas estruturais, causando instabilidade do local lesionado, falha biológica do processo de consolidação, liberação de partículas metálicas (metástases), reação periosteal, osteólise e liberação do implante (SMITH, 2012; DAMIEN; PARSONS, 1991).

A ausência de biocompatibilidade dos implantes pode ser atribuída à falta de canais ou poros, impedindo a osteocondução, mas também porque são biologicamente inertes, não são capazes de promover a sua integração com as células osteoprogenitoras (osteoindução). O efeito mecânico da diferença do módulo de elasticidade entre os ossos (3 a 20 GPa) e as ligas metálicas (30 a 200 GPa) (STAIGER et al., 2006), induz o tecido ósseo ao efeito de reabsorção (osteopenia) e consequente desintegração na área de consolidação provocada pela menor distribuição da carga mecânica no tecido ósseo e redução do efeito piezoelétrico da captação de íons de cálcio (ZARKOUB et al., 2013). Outro fator relevante nos procedimentos que requerem o uso de implantes metálicos é a persistência de um processo inflamatório associado à colonização por agentes infecciosos multirresistentes. Quando há sinais de afrouxamento e falha estrutural do implante por infecção, é fundamental que o procedimento terapêutico de escolha considere que o implante nessas condições apresenta um perfil biológico que favorece a manutenção do processo inflamatório. Na população idosa, na qual a resposta imune é deficiente, a presença de materiais metálicos inertes pode levar à persistência de infecções crônicas que culminam na liberação e perda da prótese, além do desenvolvimento de sepse e morte (20 a 35%) (GUIMARAES et al., 2010; REIS et al., 2022; KUSHIOKA et al., 2023; NASCIMENTO et al., 2017).

Face ao problema apresentado, a investigação aplicada ao desenvolvimento de implantes biocompatíveis que possuam uma estrutura de poros interligados, permitindo a difusão de nutrientes e oxigênio (osteocondução) deve ser estimulada. Estes materiais devem ser não imunogênicos, com um coeficiente de elasticidade próximo a do osso e, além disso, proporcionar um microambiente adequado para a incorporação de células e fatores de crescimento necessários à reparação tecidual (HOLLISTER, 2005). No entanto, como a porosidade compromete a estabilidade estrutural desses materiais, é necessário um equilíbrio entre as propriedades mecânicas e o transporte de massa biologicamente eficaz para consolidação. Os fatores, assim, a serem considerados no desenvolvimento de implantes são a estrutura porosa, a fração volumétrica dos sólidos, as propriedades intrínsecas dos materiais (massa molar, calor específico, etc.), bem como a capacidade de

incorporação celular dentro da estrutura das retículas.

A relevância do desenvolvimento de materiais com as propriedades biocompatíveis pode ser observada no investimento disponível para a produção de dispositivos ortopédicos, que deve atingir US\$ 11,77 bilhões até 2023, com um crescimento de 7,38% na taxa anual segundo dados publicados pela Infoholic Reseach LLP, 2017 (RESEARCH, 2017). Nos últimos anos, vários métodos de processamento de materiais têm sido desenvolvidos na produção de implantes metalocerâmicos. Dentre esses métodos, destacam-se a replicação de espuma de polímero, pirólise precursora e sinterização (DEVI; RAWAT, 2021; TARİ; FERREIRA; LYCKFELDT, 1998). Um método especial, denominado *freeze-casting*, tem merecido especial atenção devido à sua simplicidade, flexibilidade e possibilidade de utilização de várias matérias-primas biocompatíveis e baixa toxicidade tecidual (SILVA et al., 2015b; SILVA et al., 2015a). Baseado nesta técnica e na metodologia descrita em detalhes ao longo deste projeto, têm-se por objetivo desenvolver novos materiais cerâmicos com estrutura porosa controlada que possa ser utilizado em substituição aos materiais hoje disponíveis no mercado, avaliando-se suas propriedades físico-químicas e morfo-mecânicas através de diversos ensaios de caracterização, como Difractometria de Raios-X (DRX), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), adsorção gasosa, compressão mecânica e microtomografia computadorizada (μ -CT).

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho visa desenvolver materiais com estrutura similar ao osso natural que sirvam como próteses totalmente biocompatíveis. Pretende-se, portanto, promover soluções viáveis a substituição de próteses atualmente metálicas disponíveis no mercado e em constante uso pelo Sistema Único de Saúde – SUS e que apresentam certa toxicidade e alto custo. Dessarte, destaca-se o objetivo principal do trabalho como segue:

Objetivo geral: Produzir e caracterizar diferentes suportes cerâmicos semelhantes ao osso natural pelo método de *freeze-casting*, utilizando-se a hidroxiapatita pura, modificada com titanato de bário e com zinco metálico para aplicações em Engenharia de Tecido Ósseo.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver, modelar e executar o crescimento dos cristais responsáveis pela estrutura de poros do suporte cerâmico sob diferentes parâmetros.

- Avaliar, a nível teórico, a influência da taxa de resfriamento no congelamento de amostras.
- Avaliar a influência da concentração de soluto na estrutura de poros e na resistência mecânica.
- Avaliar a influência dos modificadores BaTiO_3 e Zn^0 na estrutura dos poros e na resistência mecânica das amostras de hidroxiapatita (HPA) e trifosfato de cálcio (TCP).
- Avaliar a replicabilidade do método de fabricação das amostras.

1.3 Organização do Trabalho

O presente trabalho divide-se da seguinte maneira: o Capítulo 1 reserva-se à introdução e contextualização dos temas abordados, destacando-se os objetivos gerais e específicos deste trabalho, bem como a presente divisão de conteúdo entre os Capítulos aqui incluídos; no Capítulo 2, alguns aspectos teóricos que permeiam o funcionamento e fabricação de *scaffolds* de hidroxiapatita pelo método *freeze-casting*, seguido de uma breve abordagem matemática a fim de elucidar alguns pontos de vista; já no Capítulo 3, a metodologia de trabalho para fabricação e caracterização das amostras será exposta; então, no Capítulo 4, serão apresentados os resultados obtidos por meio das técnicas de caracterização empregadas para os lotes de amostras produzidos por *freeze-casting*, bem como discussões acerca de tais resultados serão propostas a fim de melhor elucidar as propriedades e fenômenos observados; e por fim, no Capítulo 5, uma síntese deste trabalho será realizada, derivando-se conclusões relacionadas com as características das amostras fabricadas e melhorias para possíveis futuros trabalhos serão sugeridas.

2 Revisão Teórica

*Science cannot solve the ultimate mystery of nature
And that is because, in the last analysis, we ourselves
Are a part of the mystery that we are trying to solve.*
- Max Planck

2.1 Engenharia de Tecido Ósseo

2.1.1 Aspectos Gerais

A Engenharia de Tecidos é um campo de estudos e desenvolvimento científico-tecnológico cujas raízes remontam ao início década de 90, caracterizada pela fusão da biologia com a engenharia, como maneira de encontrar novos meios de recuperar tecidos danificados, seja por lesões, acidentes, predisposição genética ou por doenças (LANGER; VACANTI, 1993; HOLLINGER et al., 2011). Os tecidos humanos dividem-se em quatro grandes grupos: tecido nervoso, tecido epitelial, tecido conjuntivo e tecido muscular. Cada um desses grupos contém suas particularidades, que merecem atenção dedicada, daí surgem diferentes tipos de engenharia de tecidos, como engenharia de tecido muscular (DONG; MA; GUO, 2020) ou tecido do sistema nervoso (HE et al., 2012). Em particular, o tecido conjuntivo se subdivide em diversos outros tipos de tecidos, como tecido cartilaginoso, tecido adiposo, tecido sanguíneo e tecido ósseo. Então, para desvendar as nuances bioquímicas, biofísicas e biomecânicas dos tecidos ósseos, bem como promover o desenvolvimento de soluções para danos a este tecido, o ramo Engenharia de Tecido Ósseo surgiu.

Inicialmente, para compreender a atuação na Engenharia de Tecido Ósseo, primeiramente é necessário compreender o tecido ósseo em si. Conforme dito, este tecido é um tipo de tecido conjuntivo, sendo composto por células de tecido ósseo, conhecidas como osteócitos (último estágio de diferenciação celular mesenquimal), e a matriz extracelular, composta por fosfato de cálcio na forma de hidroxiapatita (HPA) e colágeno tipo I (COL-I), em uma proporção aproximada de 30% de colágeno e 70% de hidroxiapatita. Além disso, existem dois tipos principais de ossos na anatomia de mamíferos, os corticais, com alta resistência à compressão mecânica (100-230 MPa), e os trabeculares, com menor resistência mecânica (2-12 MPa). Entretanto, ossos corticais apresentam baixa porosidade (5-30%)

enquanto os ossos trabeculares apresentam porosidades entre 30 e 90% (KAČAREVIĆ et al., 2020; TURNER; BURR, 1993).

Encontrar substitutos artificiais para os ossos humanos é uma tarefa complexa, visto que tanto a geometria quanto as propriedades desse tecido são extremamente complexas de maneira geral, e por isso, diversos materiais são atualmente avaliados como possíveis candidatos para implantes. Como mencionado no Capítulo 1 (Introdução), ligas metálicas apresentam diversos problemas relacionados à osteocondução, *stress-shielding* e biocompatibilidade de forma geral, apesar de apresentar excelente resistência mecânica. Dessa forma, para obtenção de um material com boas propriedades, pode-se lançar mão de materiais poliméricos, cerâmicos ou compósitos (ZHANG et al., 2019; DEVILLE; SAIZ; TOMSIA, 2006; DONNALOJA et al., 2020).

2.1.2 Células Mesenquimais, Diferenciação Celular e Regeneração Óssea

As células tronco, em um embrião, são responsáveis por expressar os genes de determinado tipo celular que comporá um tecido específico. Dependendo dos estímulos externos e internos à célula (sinalização bioquímica), tal diferenciação ocorrerá de acordo com uma rota específica. É consentido que existem três tipos de células tronco: as totipotentes, que podem se diferenciar em qualquer tipo celular de um determinado organismo, uma vez que são células embrionárias (mórula); células pluripotentes: podem se dividir em células de qualquer tecido humano, com exceção de células que compõem os anexos embrionários (placenta e afins), uma vez que essas células surgem na fase de blastocisto; multipotentes são as células mesenquimais (em um organismo já totalmente diferenciado essas células também podem ser compreendidas como células pluripotentes) utilizadas para regenerar tecidos específicos, tais como músculos, ossos, cartilagem, dentre outros. As células multipotentes são as células de interesse do presente trabalho, uma vez que são aquelas que apresentam potencial para aplicação em regeneração de tecido ósseo de um organismo completamente diferenciado (CAPLAN, 1991; GAVAZZO et al., 2021). A Figura 2.1 apresenta um esquema com algumas das diferentes células/tecidos possíveis de se obterem a partir da diferenciação celular em tecidos danificados por meio de células mesenquimais.

Os mecanismos de diferenciação celular são semelhantes em células pluripotentes e células totipotentes, porém cada célula passa por um processo de diferenciação específico em que determinados sinalizadores estimulam a célula a expressar genes específicos do tecido em questão. Relativo ao tecido ósseo, células mesenquimais indiferenciadas deverão se diferenciar em condrócitos (células de tecido cartilaginoso) e osteoblastos (primeiro estágio de diferenciação dos osteócitos). Um dos principais fatores envolvidos na diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos e condrócitos é a proteína morfogênica óssea (BMP), que surge de células osteoprogenitoras e também é encontrada na matriz extracelular óssea (GARG et al., 2017). Essa proteína regula de maneira mais eficiente os heterodímeros

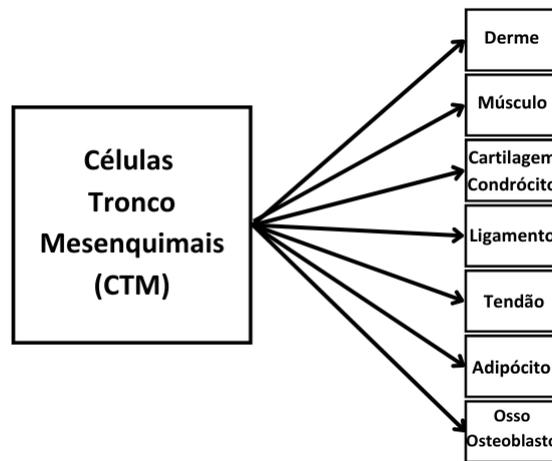


Figura 2.1 – Alguns tipos de diferenciação celular associadas a células tronco mesenquimais. Adaptado de (CAPLAN, 1991).

(polímero com duas subunidades semelhantes, porém diferentes) contendo as proteínas BMP-4/-7, BMP-2/-7 e BMP-2/-6/-9 (dentre outras 11 moléculas), que controlam a diferenciação celular em osteoblastos (DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005).

A BMP atua na diferenciação celular ao promover uma reação em cascata que resulta em quimiotaxia (aproximação ou afastamento da célula em relação aos sinalizadores químicos), proliferação celular, angiogênese (tecido vascular) e síntese controlada de matriz extracelular (hidroxiapatita). Baixos níveis de BMP resultarão na diferenciação celular em adipócitos (BESSA; CASAL; REIS, 2008). Inicialmente, as citocinas fator de crescimento transformador β (TGF- β) e fator de crescimento derivado de plaquetas são proteínas ativadas por plaquetas nos estágios iniciais de uma fratura, em que o TGF- β sinaliza a produção de BMP em células osteoprogenitoras, inibindo a ativação de osteoclastos e promovendo a apoptose dessas células, responsáveis pela quebra e reabsorção de tecido ósseo. Este processo é conhecido como reabsorção óssea, fenômeno que ocorre simultaneamente com angiogênese e reações inflamatórias (tempestade de citocinas). Em outras palavras, TGF- β possui potencial osteoindutivo (indução da diferenciação de CTM em osteoblastos).

A diferenciação de CTM em osteoblastos, como dito, compõe a primeira fase de regeneração do tecido ósseo, uma vez que os osteoblastos são responsáveis por produzir e secretar a matriz óssea de hidroxiapatita. Inicialmente, os osteócitos produzem o osteoide, que é o composto da matriz extracelular ainda não mineralizado, que futuramente ocorre pela deposição de hidroxiapatita sobre a matriz não mineralizada, regulada também por osteoblastos (ROBERT et al., 2020). Após o estágio de mineralização, a presença das citocinas inibidoras de osteoclastos apresenta uma baixa considerável, permitindo que tanto osteoblastos como osteoclastos trabalhem em conjunto com a função de osteorremodelação, processo no qual o osso danificado volta a tomar a forma anterior à fratura. O equilíbrio entre esses dois tipos celulares é fundamental para a manutenção da resistência mecânica e morfologia óssea (SUN et al., 2022; GAVAZZO et al., 2021). Então, após a formação do calo ósseo, uma parcela dos osteoblastos são incorporados ao osso na forma de osteócitos,

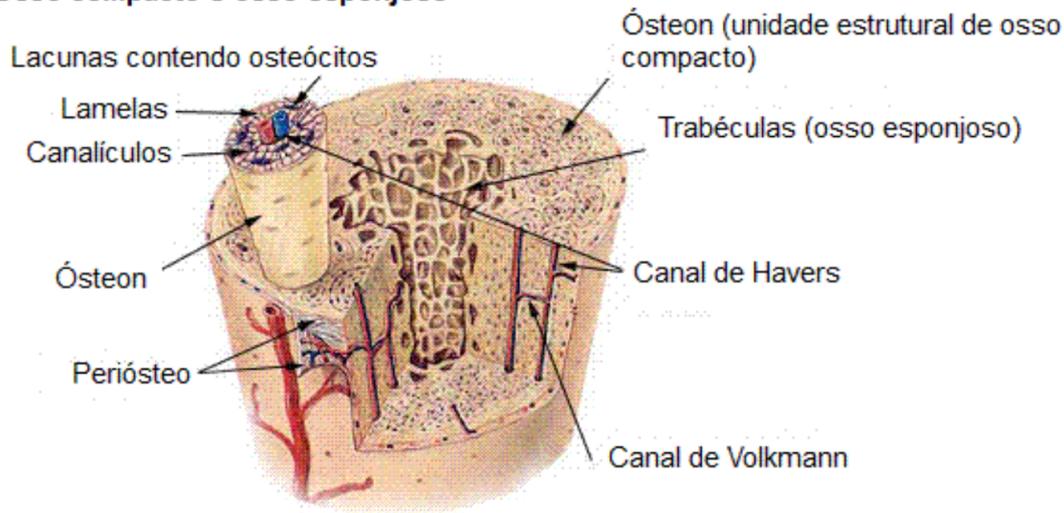
que é o último estágio de diferenciação celular do tecido ósseo (BESSA; CASAL; REIS, 2008; HANNA; MIR; ANDRE, 2018).

Notadamente, outro fator importante da regeneração óssea reside na diferenciação de CTM em condrócitos, que produzirão COL-I, responsável por melhorar as propriedades mecânicas do osso, dentre outras funções (SUN et al., 2022; DIMITRIOU; TSIRIDIS; GIANNOUDIS, 2005). Assim como no caso da diferenciação em osteoblastos, a presença de TGF- β sinaliza a diferenciação de CTM em condroblastos, porém outros 4 sinalizadores são necessários para tal diferenciação, em contraste com os 8 sinalizadores necessários para a diferenciação em osteoblastos.

A reação em cascata para a regeneração óssea baseia-se na produção da histona de-metilase JMJD3, que assim como a TGF- β regula a diferenciação de CTM em osteoblastos. Além disso essa histona (proteínas as quais as fitas duplas de DNA se ligam para formar a cromatina, matéria-prima dos cromossomos) é expressa em osteoblastos, que ativamente promove a transcrição da proteína Runx2, que por sua vez estimula a diferenciação de CTM em osteoblastos e o crescimento ósseo (ROBERT et al., 2020; HANNA; MIR; ANDRE, 2018).

Abordando-se o tecido ósseo de um ponto de vista mais amplo, a Figura 2.2 apresenta um exemplo de estrutura óssea básica de um mamífero. Os ósteons são as unidades básicas do osso, dentro dos quais encontram-se os osteoblastos e os canais de Havers, responsáveis pela irrigação do tecido na direção longitudinal. Por outro lado, os canais de Volkmann são responsáveis pela irrigação do osso no sentido transversal. A região mais externa é recoberta pelo perióstio, dando aspecto denso e maior resistência mecânica, enquanto as regiões mais internas tendem a ser bem mais porosas, o trabéculo, de forma a abrigar a medula óssea e demais componentes do órgão. Ademais, para que diferentes estruturas cresçam no interior dos ossos, uma distribuição de diversos tamanhos de poros é necessária, a depender do tamanho de tais estruturas. Por exemplo, a condrogênese necessita de poros menores do que a osteogênese, que por sua vez necessita de poros menores do que aqueles necessários para a angiogênese. Como consequência de tamanhos diferentes de poros, regiões diferentes apresentarão resistência mecânica e porosidade distintas, e a Figura 2.2 exemplifica intervalos de valores esperados para ossos corticais e trabeculares.

Osso compacto e osso esponjoso



Tipo de Osso	Porosidade	Resistência Mecânica
Trabecular	30 a 80%	0,5 a 12 MPa
Cortical	5 a 30%	10-120 MPa

Figura 2.2 – Ilustração simplificada de um osso de mamífero, juntamente com intervalos de valores esperados para porosidade e resistência mecânicas à compressão.

2.2 Biomateriais: Hidroxiapatita, Óxido de Zinco, Titanato de Bário e Combinações

2.2.1 Hidroxiapatita (HPA)

Desde os primórdios de nossa história, os humanos realizam tentativas de substituir dentes perdidos por materiais como corais, conchas, marfim, metais e ossos de outros animais ou cadáveres (LEGEROS, 2008; RING, 1985). É interessante que atualmente alguns biomateriais utilizados pela Engenharia de Tecidos derivem dos mesmos materiais que historicamente nos acompanha, como é o caso dos fosfatos de cálcio e carbonato de cálcio manufacturados a partir de corais ou de conchas (SHAVANDI et al., 2015).

Em particular, a biomineralização do fosfato de cálcio ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) no corpo de mamíferos produz a hidroxiapatita (Figura 2.3, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) (WANG et al., 2018), que pode ser sinteticamente produzida por diferentes rotas químicas, como sol-gel ou síntese hidrotérmica. Como a matriz óssea de mamíferos é constituída por hidroxiapatita, colágeno e alguns outros tipos de proteínas (LEGEROS, 2008), é de interesse tecnológico que se busque por biomateriais compostos de hidroxiapatita.

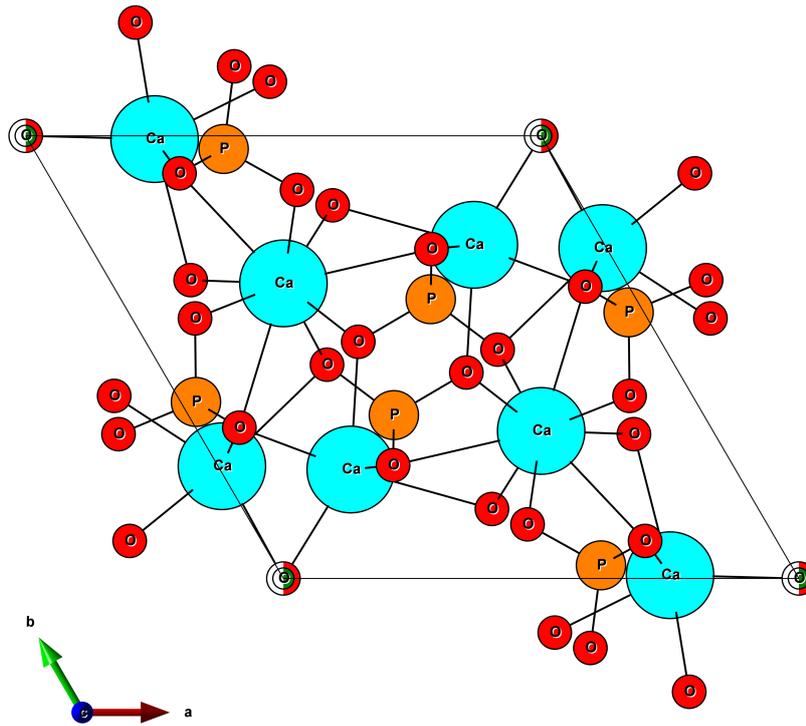
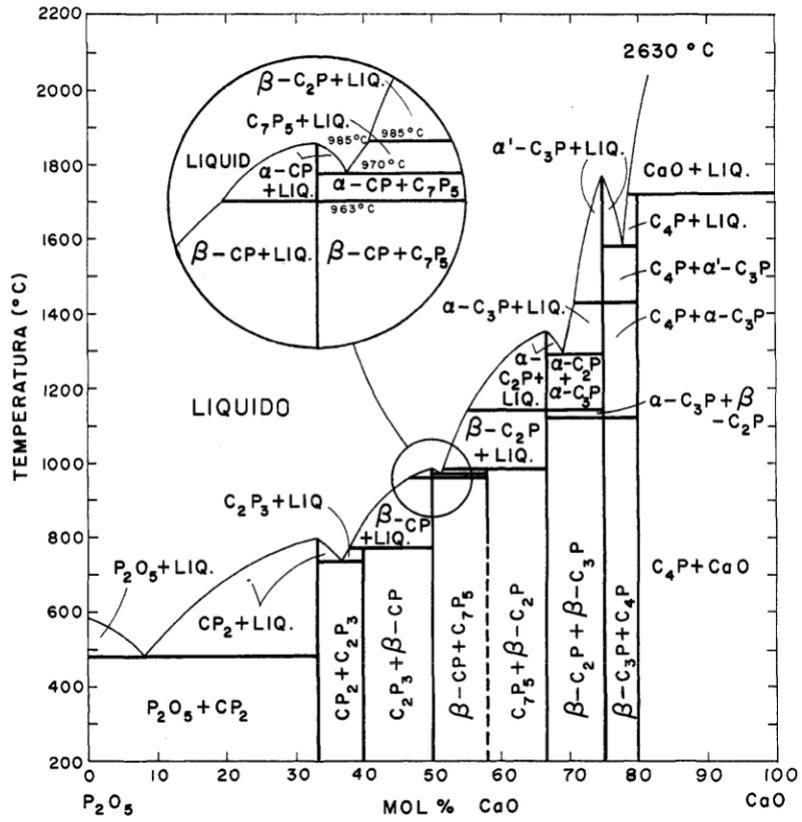


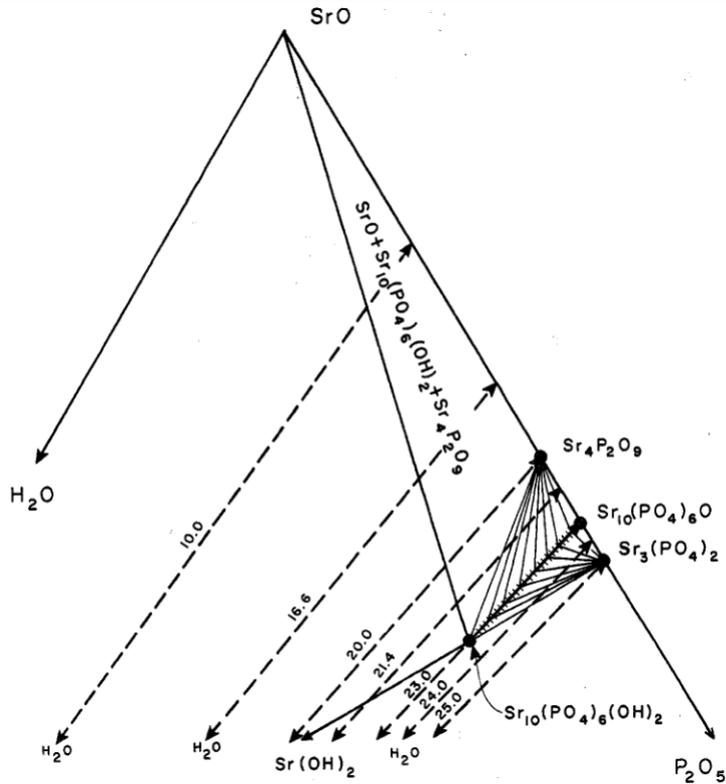
Figura 2.3 – Estrutura da hidroxiapatita hexagonal, com fórmula $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$.

A hidroxiapatita sintética é primordialmente empregada na engenharia de tecido ósseo por sua alta biocompatibilidade e excelente potencial osteoindutivo (diferenciação de células mesenquimais em osteoblastos) quando utiliza-se a morfologia adequada ou com a introdução de proteínas morfogênicas ósseas (BMP). Entretanto, a hidroxiapatita sintética é obtida na forma de um pó branco, e diferentes métodos de fabricação podem ser empregados como forma de moldar um volume sólido (HALIM; HUSSEIN; KANDAR, 2021), sendo também possível obter-se diferentes valores para resistência mecânica ao passo em que modula-se a porosidade. Especificamente sobre a porosidade, pode-se empregar *templates* para a formação da estrutura de poros, ou utilizar técnicas que permitam a formação de rede de poros por meio da solidificação e sublimação de um solvente em uma suspensão líquida (*freeze-casting*).

Frequentemente, na fabricação de peças de hidroxiapatita provenientes do pó cerâmico, é necessário realizar a sinterização dos grãos do pó por meio de tratamento térmico. O diagrama de fase de Kreidler-Hummel, conforme a Figura 2.4, apresenta as transições observadas para P_2O_5 - CaO, donde se extrai as fases α e β do trifosfato de cálcio (TCP, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), bem como hidroxiapatita, que pode ter estequiometria rica ou pobre em cálcio (KREIDLER; HUMMEL, 1967; MORENO et al., 2020). Ainda com relação à Figura 2.4, ressalta-se que o comportamento da relação entre as fases do sistema SrO- P_2O_5 - H_2O é teoricamente análogo ao sistema CaO- P_2O_5 - H_2O . Esta analogia é acurada o suficiente para que se continue a utilizá-la em trabalhos envolvendo a hidroxiapatita de cálcio, em vez da hidroxiapatita de estrôncio (MORENO et al., 2020).



(a) Diagrama de fase P_2O_5 -CaO.



(b) Relação de fases no sistema SrO- P_2O_5 - H_2O .

Figura 2.4 – (a) Diagrama de fase do sistema P_2O_5 -CaO e (b) relação das fases no sistema SrO- P_2O_5 - H_2O . Adaptado de: (KREIDLER; HUMMEL, 1967).

Tipicamente, observa-se uma dependência da dinâmica dos grupos hidroxila na transformação da hidroxiapatita. A água adsorvida no material é perdida até cerca de 200 a 400 °C, temperatura a qual inicia-se a perda de hidroxilas quimicamente ligadas na hidroxiapatita. A desidroxilação da hidroxiapatita induz vacâncias na rede e contração do parâmetro de rede a , que em seguida estabiliza-se entre 800 e 1050 °C na fase de oxiapatita (doravante OCP, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{O}$) quando não há hidroxila presente, cuja estrutura se assemelha à hidroxiapatita. Enfim, após a completa desidroxilação, inicia-se o estágio de transição da oxiapatita em trifosfato de cálcio na fase β . A fase β é predominante até 1100 °C, e acima desta temperatura, predomina-se a fase α (TõNSUAADU et al., 2012; KREIDLER; HUMMEL, 1967). Enfatiza-se que também há relação da formação das fases α e β com a velocidade de resfriamento (MIAO et al., 2008).

2.2.2 Óxido de Zinco

O óxido de zinco (ZnO) é um material cerâmico que vem sendo implementado em uma variedade de aplicações biomédicas, desde incorporação em filtros solares e cremes dentais a revestimentos de implantes (LIAO et al., 2020). Entretanto, é possível salientar diferentes possibilidades de aplicações para o óxido de zinco em termos de biomateriais, tais como propriedades potencialmente anticâncer e antimicrobial, especialmente efetivo contra *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*, superbactéria causadora de infecção hospitalar (HUSSAIN et al., 2019; SIRAJUNISHA; SAKTHIVEL; BALAKRISHNAN, 2021).

Sob esta ótica, o óxido de zinco vem se mostrando como uma alternativa viável para o recobrimento de enxertos poliméricos e cerâmicos (CHO et al., 2020). Há também um crescente desenvolvimento de biomateriais compósitos ou modificados com óxido de zinco, visto que sua fabricação pode ser bem simples, por meio da oxidação do zinco metálico em forno, ou até mesmo pela rota sol-gel (SHAFIEE et al., 2021).

Com relação às propriedades biológicas, é seguro dizer que o óxido de zinco é amplamente utilizado na indústria farmacêutica e dos cosméticos pelas propriedades de filtragem de radiação ultravioleta (NEWMAN; STOTLAND; ELLIS, 2009), além de apresentar atividade antimicrobiana (SIDDIQI et al., 2018). Apesar das propriedades potencialmente benéficas, sob certas circunstâncias o ZnO também pode apresentar citotoxicidade *in vitro* (LIAO et al., 2020; ITO et al., 2000), a depender de uma série de fatores (*e.g.* tamanho de partícula e concentração).

Em conjunto com a hidroxiapatita, o óxido de zinco hexagonal (Figura 2.5), como dito, promove atividade antimicrobiana quando utilizado no revestimento de ligas de titânio (MAIMAITI et al., 2020), e quando cultivado em meio celular, pode ser fonte de íons de Zn^{2+} . Os íons de zinco no corpo humano são majoritariamente encontrados no sistema músculo-esquelético, e é um íon fundamental no estímulo de crescimento ósseo. Esses íons, na realidade, são responsáveis por participar em uma série de processos bioquímicos, tais como: mediar o início e o avanço do processo de transcrição de RNA; fornecer estabilidade

estrutural às histonas; regular a porção de DNA que encontra-se enovelada ou desenvolvida, permitindo assim o acoplamento de ribossomos para leitura da fita de nucleotídeos (LIAO et al., 2020; SIRAJUNISHA; SAKTHIVEL; BALAKRISHNAN, 2021). Pode-se dizer, assim, que o zinco participa da expressão gênica de um indivíduo.

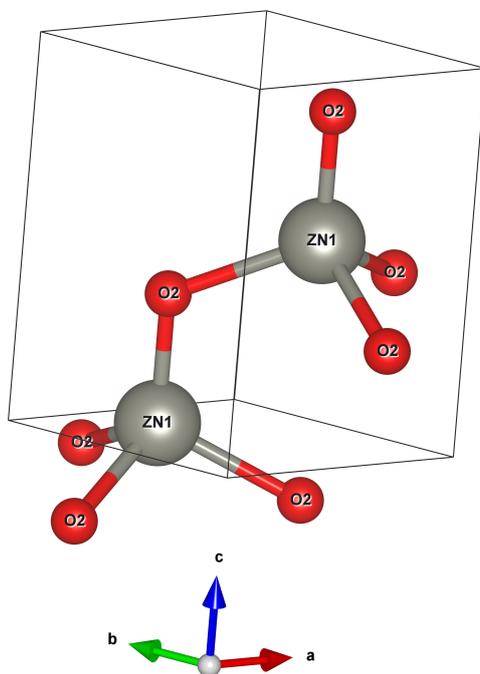


Figura 2.5 – Célula unitária do óxido de zinco hexagonal.

A obtenção do óxido de zinco a partir do zinco metálico ocorre pela reação com o oxigênio presente na atmosfera sob aquecimento. Essa oxidação começa a ocorrer próximo à temperatura de fusão do material (407 °C) e se acentua uma vez que ocorre a fusão inicial. Em seguida, conforme o zinco se converte em óxido de zinco, cuja temperatura de fusão é de 1950 °C, núcleos de material cristalino começam a surgir e se propagar conforme há manutenção da temperatura, eventualmente promovendo a cristalização de todo o material fundido em óxido de zinco.

Apesar de se demonstrar um promissor biomaterial, as pesquisas envolvendo compósitos de hidroxiapatita com óxido de zinco ainda são escassas na literatura. Os estudos acerca desse material, em comparação com estudos de BaTiO₃ é um tópico relativamente recente, tendo sido inicialmente abordado no início dos anos 2000 (ITO et al., 2000). Daí surge a necessidade de maiores investigações científicas contendo este tipo de *scaffold*.

2.2.3 Hidroxiapatita com Substituição de Zinco (Zn/HPA)

Além da possibilidade de utilização do zinco na forma de óxido de zinco para formação de compósitos com a hidroxiapatita, também é possível a combinação de Zn/HPA

por meio da substituição de íons de zinco nos sítios Ca2 da hidroxiapatita (TANG et al., 2009; MATSUNAGA et al., 2010), conforme é possível ver na Figura 2.6. Tal incorporação pode trazer benefícios à osteogênese tal qual o óxido de zinco, como no fornecimento de íons de zinco para processos bioquímicos do tecido ósseo. No caso do óxido de zinco, a preparação de um meio celular específico é necessário para que se tenha a disponibilização de íons de zinco. Alternativamente, uma vez incorporado à hidroxiapatita, o zinco pode ser fornecido às células através da atividade de macrófagos e osteoclastos, para a captura de íons de cálcio, que fazem parte do processo de degradação da hidroxiapatita *in vivo* (WENISCH et al., 2003).

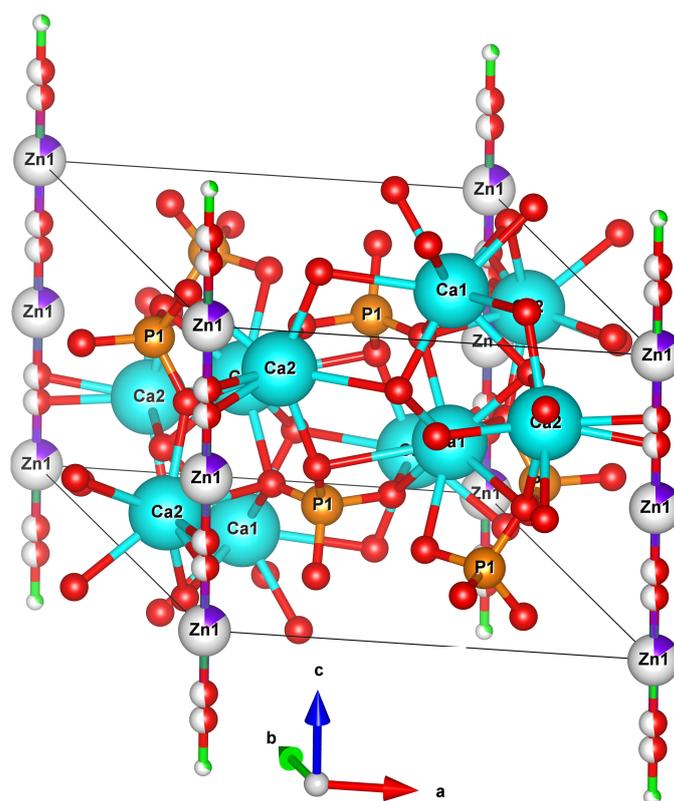


Figura 2.6 – Vista isométrica de uma célula unitária da hidroxiapatita de arranjo hexagonal dopada com Zn.

Na realidade, o processo de incorporação do zinco à hidroxiapatita pode estar ligado à existência de vacâncias de cálcio na hidroxiapatita, e o fato de a solubilidade do zinco na hidroxiapatita ter um grande intervalo de valores (cerca de 2 mol% até 15 mol%) na literatura mostra que o mecanismo de incorporação do zinco à hidroxiapatita não é tão simples como uma substituição usual (MATSUNAGA et al., 2010).

O fato de a introdução do zinco estar ligado a vacâncias de cálcio na estrutura da hidroxiapatita sugere deficiência de cálcio, que pode ter uma grande valia para a engenharia de tecidos, tendo em vista que as vacâncias na estrutura da HPA podem promover trocas iônicas com o meio extracelular (OFUDJE et al., 2019).

2.2.4 Titanato de Bário (BT)

O titanato de bário (BaTiO_3) é uma perovskita amplamente conhecida por suas propriedades, que permitem com que esse material seja utilizado em uma ampla gama de aplicações. Dentre suas principais propriedades, destacam-se seu elevado *band gap*, permitindo implementações em capacitores, sua ferroeletricidade e piezoeletricidade, que permitem a aplicação em equipamentos de SONAR, ultrassom e também como biomaterial, além de apresentar efeito fotoelétrico (MEGAW, 1945; BRODY, 1975; DHARMADHIKARI; GRANNEMANN, 1982). Essas propriedades surgem como consequência do arranjo de perovskita, conforme verificado na Figura 2.7. O átomo central de titânio, responsável pelo equilíbrio da estrutura, produz um momento de dipolo elétrico diferente de zero para fases de tipos não simétricos, *i.e.* fases com a ou $b \neq c$.

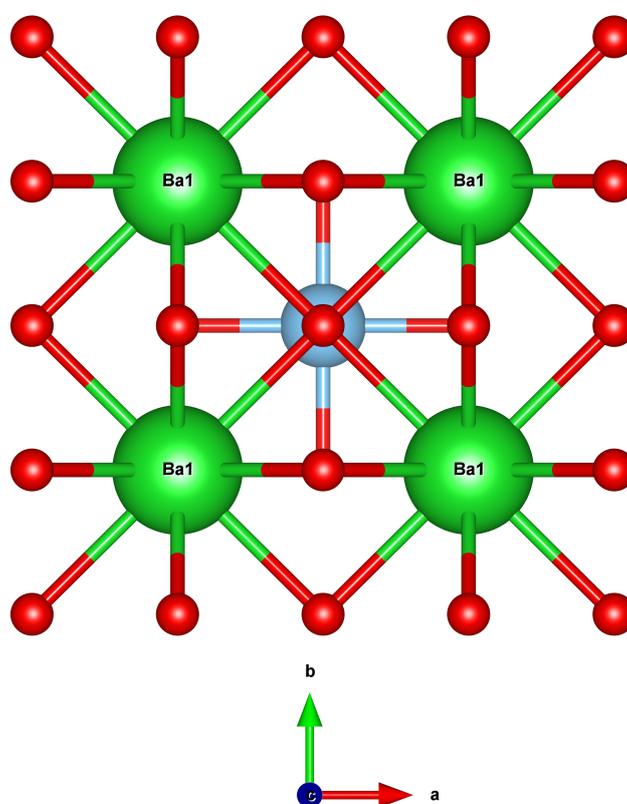


Figura 2.7 – Exemplo de estrutura tipo pseudo-cúbica do titanato de bário, com átomo central de Ti.

O titanato de bário puro pode ocorrer nas fases tipo romboédrica, ortorrômbica, tetragonal, pseudo-cúbica, cúbica e hexagonal, a depender da temperatura submetida. Normalmente, as estruturas dos tipos ortorrômbica e romboédrica surgem em temperaturas abaixo de $-40\text{ }^\circ\text{C}$ e $-120\text{ }^\circ\text{C}$ respectivamente, enquanto que a fase do tipo cúbica normalmente é estável a temperatura ambiente. Quando ocorre o tratamento térmico desse material, até $700\text{ }^\circ\text{C}$ predominam as fases tipo cúbica e pseudo-cúbica, e até os $1250\text{ }^\circ\text{C}$ estabiliza-se a fase do tipo tetragonal, acima da qual é estável a fase análoga à hexagonal (ALMEIDA et al., 2023).

Do ponto de vista biológico, a piezoelectricidade está presente nas fibras de colágeno que permeiam os ossos de mamíferos (MINARY-JOLANDAN; YU, 2009), e é necessário para determinadas trocas iônicas e de macromoléculas. Daí, este efeito caracteriza-se como fundamental para o correto desempenho de funções como desenvolvimento embrionário, regeneração de lesão e regeneração neuronal (RAJABI; JAFFE; ARINZEH, 2015). Nos ossos, este é um efeito conhecido por promover o fluxo de íons que são aderidos ou removidos das lacunas lamelares, que auxilia em processos osteoindutivos e osteocondutivos (AHN; GRODZINSKY, 2009). Então, conclui-se que o titanato de bário, tanto puro como aliado à hidroxiapatita, vem se mostrando um eficiente biomaterial devido às propriedades de piezoelectricidade, resistência mecânica à compressão que pode atingir até cerca de 280 MPa, e sua área superficial, que contribui para uma maior osseointegração e osteocondutividade (PARK et al., 1977; PRADO et al., 2016).

2.2.5 *Scaffolds* para Regeneração de Tecido Ósseo

O tecido ósseo de um humano adulto saudável comum possui capacidade de regenerar danos e traumas com até 3,0 cm de extensão (KAČAREVIĆ et al., 2020), fazendo com que lesões mais extensas que tal valor necessitem de algum tipo procedimento médico para que ocorra a recuperação da lesão, como a implantação de peças metálicas ou a utilização de enxertos. Normalmente, implantes metálicos são utilizados com o intuito de suportar esforços mecânicos e garantir o posicionamento dos demais ossos adjacentes ao implante, de forma que a mobilidade não seja prejudicada. Em contrapartida, enxertos são utilizados quando há a necessidade de regenerar uma grande região danificada, ou como forma de reestruturar um osso com deformidades causadas por doenças ou traumas.

Autoenxertos, aloenxertos, xenoenxertos e enxertos aloplásticos têm sido usados no processo de reparo e regeneração óssea. Um autoenxerto é derivado do mesmo indivíduo que receberá o enxerto. Embora seja considerado o padrão ouro dos enxertos ósseos, uma vez que induz formação e regeneração ósseas através de osteogênese, osteoindução e osteocondução, sua utilização é limitada devido a disponibilidade limitada de tecido ósseo e também devido a adição de processos cirúrgicos ao qual o indivíduo tem que ser submetido. Aloenxerto é quando o tecido a ser enxertado é proveniente de outro indivíduo da mesma espécie do recipiente. Também possui propriedades osteoindutivas devido à presença de componentes naturais e fatores de crescimento. Os xenoenxertos são provenientes de espécies diferentes daquela do receptor, apesar disso, esse tipo de enxerto ainda fornece uma matriz arquitetônica natural e é uma excelente fonte de cálcio e fosfato para a regeneração.

Aloenxertos e xenoenxertos têm o risco potencial de transmissão de doenças. Aloplásticos são materiais sintéticos que podem ser desenhados com várias composições químicas, formas físicas e configurações de superfície para o reparo de defeitos ósseos ou para o estímulo de crescimento ósseo. Esta apresenta apenas propriedades osteocondutoras,

assim limitando sua capacidade reparadora. No caso de regeneração óssea, os enxertos são eventualmente remodelados e substituídos por osso novo no tecido hospedeiro. Devido a limitação de materiais para esses enxertos ósseos, a Engenharia de Tecidos procura uma nova abordagem através da interação entre suportes inorgânicos e células vivas.

Em termos de enxertos artificiais, os materiais utilizados têm como finalidade prover suporte bioquímico e mecânico às células mesenquimais para otimizar a diferenciação celular e os processos osteorregenerativos, conhecidos como *scaffolds*. Idealmente, os *scaffolds* apresentam propriedades de bioatividade, além de serem biocompatíveis e promoverem a osteoindução, osteocondução, osseointegração e osteorremodelação no tecido lesionado. Para que tais critérios sejam cumpridos, uma série de necessidades devem ser atendidas referentes à composição química e morfologia (QU et al., 2019).

A porosidade percentual, bem como a resistência à compressão mecânica dos enxertos devem ser semelhante à região afetada, de forma a permear células e moléculas por sua estrutura, cujos poros devem satisfazer um critério de tamanho. Não há um consenso em relação ao tamanho de poro, apesar de que muito se discute acerca de poros com mais de 100 μm serem ideais para osteocondução, mas não somente o tamanho de poro em si como a interconectividade, orientação e o tamanho dos canais de conexão, portanto o valor de 100 μm torna-se parcialmente simbólico (CHANG et al., 2000). Restrições físicas são impostas ao crescimento ósseo com poros menores do que 80 μm , porém observa-se condrogênese. Acima de 200 μm , observa-se, e todos estas gêneses são processos fisiológicos essenciais para uma recuperação saudável do hospedeiro (YAO et al., 2021).

Os *scaffolds* cerâmicos enquadram-se na categoria de biomateriais cujas propriedades mecânicas podem ser modificadas de maneira a se aproximarem às reais.

2.3 Sol-Gel

O sol-gel é uma rota de reações químicas pela qual é possível a síntese de óxidos metálicos, como óxido de alumínio, pentóxido de nióbio, ferrita de cobalto (óxido de ferro e cobalto) e o óxido de bário e titânio (titanato de bário) (HENCH; WEST, 1990). Uma das maiores vantagens da utilização deste método reside na capacidade de densificação em baixas temperaturas, com custo de fabricação relativamente baixo (DAVE; LOCKWOOD, 2012). Além disso, a via de reação sol-gel elimina a necessidade de atmosfera controlada para a síntese do titanato de bário, além de permitir certo controle sobre propriedades como tamanho de cristalito, densidade, grau de cristalinidade, dentre outros (MOSSET et al., 1988).

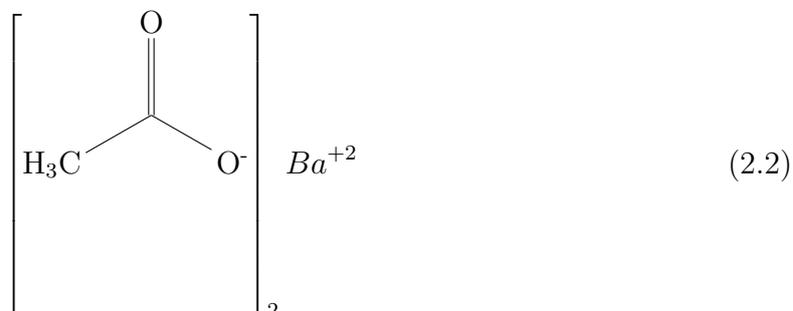
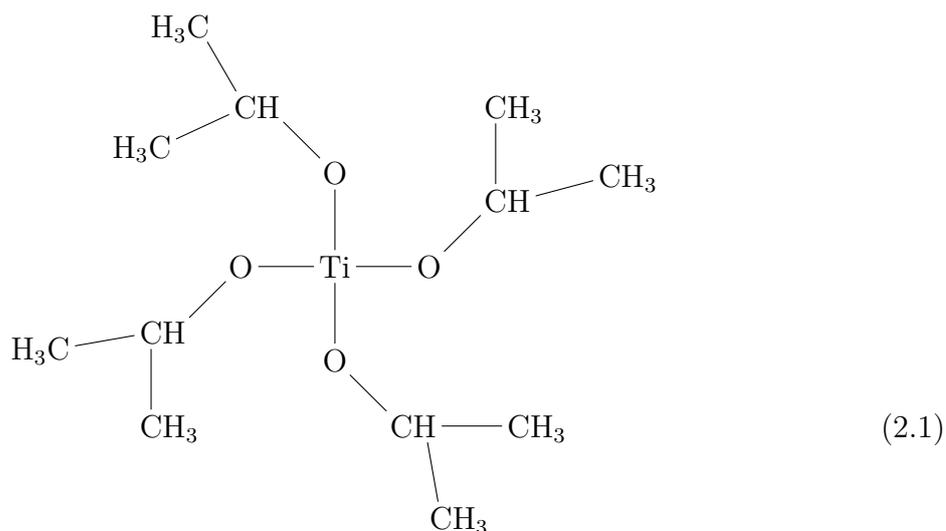
Por definição, um sol é uma dispersão de partículas coloidais em um meio líquido, e partículas coloidais são definidas como sólidos entre de 1 a 100 nanômetros, de acordo com Hench e West (HENCH; WEST, 1990). Por sua vez, de acordo com Flory (FLORY, 1953), gel é uma rede rígida e interconectada de poros sub-micrométricos, com cadeias

poliméricas, cujos comprimentos são, normalmente, maiores do que 1 micrômetro.

Existem três rotas possíveis para a produção de materiais via sol-gel, conforme segue (HENCH; WEST, 1990):

- Rota 1: gelificação de uma suspensão de pós coloidais.
- Rota 2: hidrólise e policondensação dos precursores alcóxido ou nitrato, seguida por secagem hiper-crítica do gel.
- Rota 3: hidrólise e policondensação de precursores alcóxido, seguido por envelhecimento e secagem sob atmosfera ambiente.

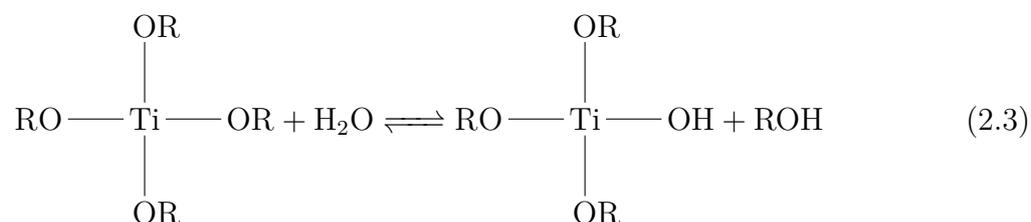
Para os fins deste trabalho, a rota 3 será abordada em maiores detalhes. Essa rota consiste na preparação de dois sóis precursores, no caso do titanato de bário, utiliza-se isopropóxido de titânio (IV) em meio aquoso, e outra solução de acetato de bário em meio ácido, conforme sugere Andrade (ANDRADE et al., 2012). As moléculas de isopropóxido de titânio e acetato de bário são mostradas nas Figuras 2.1 e 2.2.



Para simplificar a representação, doravante, denotar-se-á o isopropóxido na forma $\text{Ti}(\text{O} - \text{R})_x$, em que R é um grupo alquil, com fórmula geral $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. No presente caso, o grupo alquil é um isopropil, logo $n = 3$.

ETAPA 1: A hidrólise consiste na quebra de ligações com grupos OH^- , enquanto a policondensação envolve a condensação simultânea de moléculas de água em diversos

sítios das moléculas de isopropóxido de titânio (IV), conforme agita-se a suspensão, de maneira semelhante à apresentada. A etapa de hidrólise ocorre conforme exemplificado pela Reação 2.3:



A substituição nucleofílica representada pela Reação 2.3 ocorre até que não restem mais grupos isopropil no alcóxido.

Por outro lado, a policondensação ocorre quando o acetato é ionizado, formando íons de Ba^{2+} e grupos acetato $(\text{H}_3\text{CCOO}^-)_2$.

ETAPA 2: as soluções hidrolisadas e policondensadas são, então, vertidas num mesmo recipiente, provocando a protonação dos radicais acetatos por intermédio do hidrogênio do alcóxido hidrolisado. Por conseguinte, a ausência do hidrogênio no alcóxido atrai íons de bário livres no sol. Cada bário passará a se ligar a dois alcóxidos adjacentes.

ETAPA 3: nesta etapa, o alcóxido hidrolisado e o bário ionizado passam a se ligar em longas cadeias, num processo de polimerização. Denomina-se esta etapa de gelificação, onde há aumento de viscosidade e mudança de cor.

ETAPA 4: a etapa de envelhecimento do gel já formado, em atmosfera ambiente, consiste em simplesmente deixar a amostra repousando, ao longo de horas, podendo levar até alguns dias. Nesse caso, o líquido não reagido entra em contato com o gel, re-precipitando o titânio e consumindo reagentes não utilizados na primeira etapa. A massa da amostra reduz aos poucos, aumentando cada vez mais a viscosidade.

ETAPA 5: a última etapa consiste na densificação do gel, passando de um estado gelatinoso para o estado sólido. Mais massa é perdida, as redes poliméricas, agora secas e envelhecidas, dão origem à estrutura primordial da perovskita, no caso, o titanato de bário. Porém, essa via de reação gera um produto amorfo, necessitando-se realizar tratamento térmico posterior. É de bom tom que se realize a purga de produtos orgânicos não reagidos por meio de um pré tratamento térmico.

Fatores como temperatura de gelificação, agitação e pH são propícios a alterar as características do produto final. No caso, a pureza é um dos fatores mais relevantes para o caso da cerâmica BaTiO_3 (GOMI; TANAKA; KAMIYA, 2004).

2.4 Freeze-Casting

O *freeze-casting* é uma técnica que consiste no congelamento de uma suspensão líquida, em seguida sublima-se o solvente na fase sólida, e por fim sinteriza-se o sólido obtido (corpo verde) como forma de consolidar-se a estrutura de poros, cuja geometria é uma réplica dos cristais do solvente (DEVILLE, 2008). Inicialmente, o *freeze-casting* era principalmente utilizado para fabricação de materiais cerâmicos com geometria complexa (KOCH et al., 2003), e com o passar do tempo as características de estrutura de poros únicas passaram a ser mais amplamente estudadas.

Normalmente, a configuração de um *freeze-casting* envolve um tarugo ou chapa (*cold finger*) em contato direto com nitrogênio líquido no interior de um recipiente isolante, e no topo do *cold finger* repousa-se um molde de material desejado, onde a suspensão é então vertida. Há diversas variações deste processo, podendo-se ter temperatura controlada, por meio da inserção de um termopar e resistências no *cold finger*, diferentes materiais para *cold finger* e molde, e assim por diante.

Alguns problemas relativos ao *freeze-casting* devem ser evitados, como o caso de frentes de resfriamento que avançam rápido o suficiente para gerar uma camada sólida instável (PEPPIN; ELLIOTT; WORSTER, 2006), que pode levar ao surgimento de trincas no material ainda congelado, e visto que há replicação da estrutura do solvente sólido, a estrutura final irá apresentar defeitos.

Esse fenômeno ocorre, do ponto de vista experimental, quando a troca de calor da suspensão com o *cold finger* é muito abrupta, daí a importância de uma deposição controlada e uma temperatura adequada. Entretanto, empiricamente é possível observar que, diferentemente do que pode-se encontrar na literatura (DEVILLE; SAIZ; TOMSIA, 2006; DEVILLE, 2008), a estrutura de poros não depende explicitamente do solvente utilizado, uma vez que tal estrutura está mais diretamente relacionada com a taxa de transferência de calor com a suspensão precursora.

Certamente, o congelamento da fase líquida na suspensão para *freeze-casting* assemelha-se com o processo de solidificação de certos materiais, como metais, visto que este é um processo intrinsecamente físico, e não químico. Daí, pode-se depreender que a teoria de nucleação rege a formação da frente de resfriamento, bem como a teoria de crescimento rege a propagação desta frente (CALLISTER, 2019). Mais especificamente, ao entrar em contato com a superfície do *cold finger*, ocorre nucleação heterogênea, de modo que a frente de resfriamento assume um certo formato com um ângulo de molhabilidade θ . Levando-se em consideração as energias de superfícies, 3 tensões superficiais surgem: a tensão de interação entre a superfície do *cold finger* e a camada congelada da suspensão (γ_{SI}), as tensões superficiais entre a suspensão e o *cold finger* e o molde ($\gamma_{LI} + \gamma_{LM}$), e a tensão entre a frente de resfriamento e a suspensão (γ_{LS}). O balanço de forças neste caso é expresso pela Equação 2.4:

$$\gamma_{\text{LI}} = \gamma_{\text{SI}} + \gamma_{\text{LS}} \cos \theta - \gamma_{\text{LM}}. \quad (2.4)$$

Ainda de acordo com (CALLISTER, 2019), o raio crítico de nucleação e a energia livre de ativação (energia necessária para a formação de um núcleo) são dados pelas Equações 2.5 e 2.6

$$r^* = -\frac{2\gamma_{\text{LS}}}{\Delta G_\nu}, \quad (2.5)$$

$$\Delta G^* = \left(\frac{16\pi\gamma_{\text{LS}}^3}{3\Delta G_\nu^2} \right) S(\theta), \quad (2.6)$$

em que $S(\theta)$ é uma função que define a forma da partícula e assume valores entre 0 e 1. ΔG_ν é a energia livre de volume, e é expressa em termos da energia livre de Gibbs ΔG , o raio da partícula (aproximadamente esférica), conforme a Equação 2.7:

$$\Delta G = \frac{4}{3}\pi r^3 \Delta G_\nu + 4\pi r^2 \gamma. \quad (2.7)$$

de forma que γ é a tensão superficial.

Conforme reportado (PEPPIN; ELLIOTT; WORSTER, 2006; DEVILLE, 2008), a frente de resfriamento para temperaturas criogênicas assume formato horizontal, que representa a região densa do monólito, e então, neste momento, o ângulo θ assume valor 0° , que é um valor não definido no domínio da função S, portanto, avalia-se apenas a partir da formação de estruturas provenientes da camada densa.

Apesar de não se saber em um sistema real a taxa de nucleação, é possível estimar a população de embriões críticos através da Equação 2.8, dada por

$$n^* = n_0 e^{-\frac{\Delta G_r}{kT}} \quad (2.8)$$

de tal modo que n_0 é o número total de partículas no sistema, k é a constante de Boltzmann, T é a temperatura em K e ΔG_r é a energia livre em excesso associada ao aglomerado. Para o caso de resfriamento, ΔG_r assume valores negativos, uma vez que o *cold finger* atua como um sumidouro de calor, e então, quanto maior a temperatura, maior tende a ser a taxa de nucleação.

Neste momento, destaca-se que a temperatura do volume é descrita pela distribuição de velocidade das partículas no meio, considerando-se um sistema com número de mols, volume e energia constantes para um determinado campo potencial Φ . Para melhor compreender a correlação entre a estrutura do sólido e a temperatura de *freeze-casting*, é interessante abordar alguns aspectos matemáticos.

A equação de Langevin que governa a distribuição de velocidades das partículas é dada pela Equação 2.9 (SINGH; RAMKRISHNA, 2014),

$$d\mathbf{v}_1 = -\frac{\beta}{m}\mathbf{v}_1 dt - \frac{1}{m}\nabla\Phi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N)dt + \frac{\beta\sqrt{D}}{m}d\mathbf{W}(t), \quad (2.9)$$

sendo que \mathbf{v}_1 é a velocidade de uma partícula com massa m localizada em \mathbf{r}_1 , D é a difusividade molar, β é o coeficiente de atrito, Φ é o potencial total atuante sobre esta molécula e $\mathbf{W}(t)$ é uma função tal cuja derivada é um ruído branco, associado à aleatoriedade do movimento browniano. Pode-se assumir que as partículas estão uniformemente distribuídas através do volume de controle, então é possível integrar a Equação 2.9 em função de $\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N$, que gera a Equação 2.10, representando o perfil de velocidade para N moléculas.

$$d\mathbf{v} = -\frac{\beta}{m}\mathbf{v}dt + \frac{1}{m}\bar{\mathbf{F}}dt + d\mathbf{W}(t), \quad (2.10)$$

sob um campo médio descrito pela Equação 2.11

$$\bar{\mathbf{F}} = -\frac{1}{V^N} \int_{\mathbf{r}_1} \int_{\mathbf{r}_2} \dots \int_{\mathbf{r}_N} \nabla\Phi(\mathbf{r}_1, \mathbf{r}_2, \dots, \mathbf{r}_N) d\mathbf{r}_1 d\mathbf{r}_2 \dots d\mathbf{r}_N. \quad (2.11)$$

Conforme frisado, os processos aqui descritos são puramente físicos (transformação de fase), não há colisão efetiva entre partículas, daí pode-se dizer que todas as colisões são perfeitamente elásticas. Ao fazer tal suposição, é possível deduzir intuitivamente que a variação no calor fornecido à amostra provoca uma variação na energia cinética, conforme a Relação 2.12:

$$\dot{Q} \propto \Delta E_c. \quad (2.12)$$

Nesta situação, uma menor energia cinética se traduz em uma menor distribuição de velocidade entre as partículas, fazendo que a contribuição do potencial eletrostático proveniente de intermoleculares entre partículas seja mais relevante para o potencial Φ . Simultaneamente, a frente de resfriamento avança, promovendo uma redução de distância entre partículas. As tensões presentes na estrutura sólida após o congelamento se dão efetivamente pela distância entre moléculas, e por isso altas taxas de resfriamento promovem maiores tensões na estrutura formada, o que pode gerar a formação de trincas caso a tensão residual no sólido seja superior ao limite de escoamento do material (o escoamento em estruturas vítreas e cerâmicas é um regime curto e rapidamente promove a nucleação e propagação instável de trincas que geram a fratura do material).

Certamente, a suspensão ao congelar tende a equilibrar as tensões da maneira mais adequada, de tal maneira que a estrutura estabilizada é aquela com maior área superficial e menor volume ou, analogamente, maior perímetro e menor área (HALES, 2006). Naturalmente, esse processo não é instantâneo, e o tempo levado para tal é dado pela segunda Lei de Fick aplicada ao calor, conforme a Equação 2.13:

$$\frac{\partial\varphi}{\partial t} = D \frac{\partial^2\varphi}{\partial x^2}, \quad (2.13)$$

em que φ é representa uma concentração volumétrica (no presente caso, esta quantidade é a energia térmica associada), t é a variável tempo, D é o coeficiente de difusividade molar e x é a posição em análise, levando a crer que nem sempre o processo de equilíbrio de tensões no rearranjo da estrutura ocorre por completo, o que explica diferentes geometrias de poros. De modo conciso, a conversão de taxa de transferência de calor em energia cinética é afetada pela capacidade térmica à pressão constante (C_p), que por sua vez varia com a temperatura, e depende também da resistência térmica do *cold finger* (k_{cf}) e das paredes do molde (k_m). Novamente, de maneira intuitiva, podemos relacionar a taxa de variação de transferência de calor com essas grandezas conforme a Equação 2.14.

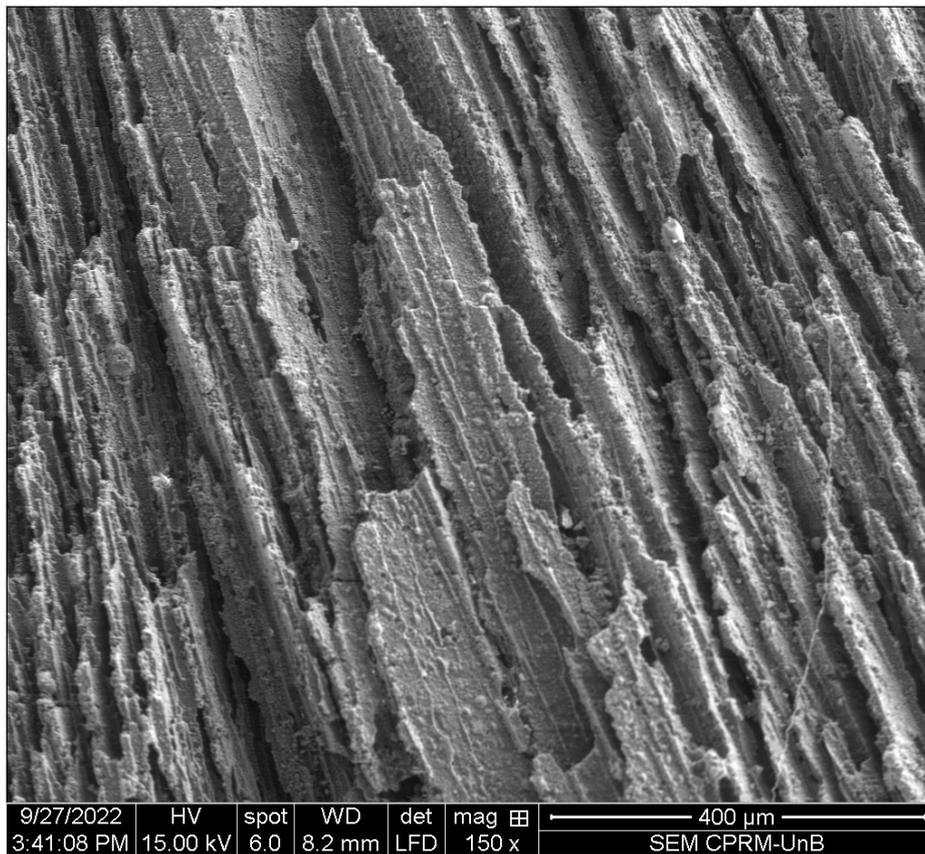
$$\dot{Q} \propto \frac{(k_{cf} + k_m)}{C_p(T)} E_c. \quad (2.14)$$

Então de fato há relação entre a natureza do solvente e o equilíbrio de tensões no congelamento, porém, a temperatura é a grandeza que de fato rege a geometria do sólido formado.

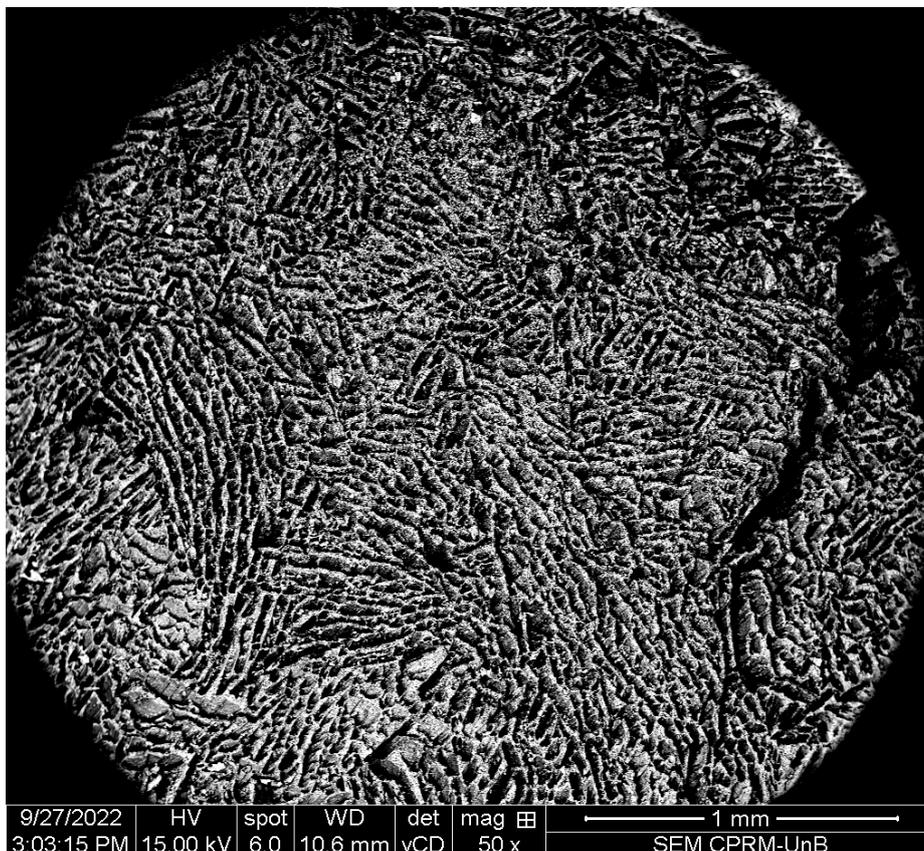
Ademais, há de se levar em consideração a resistência térmica da porção já congelada, que aumenta conforme a frente de resfriamento avança, o que torna o processo de prever a taxa de calor trocada deveras complexo.

Por fim, destaca-se que a modelagem aqui feita supõe uma primeira camada homogênea de fluido em contato com a superfície do *cold finger*, e experimentalmente, utilizando-se deposição manual da suspensão, não é o que se observa. Ao entrar em contato com o sumidouro de calor, porções de suspensão congelam em instantes diferentes, gerando crescimento irregular da frente de resfriamento e, conseqüentemente, descontinuidade geométrica entre essas duas diferentes porções. Sabendo-se que descontinuidades geométricas são concentradores de tensão, neste caso é possível que mesmo as tensões residuais na estrutura seja inferior ao limite de escoamento do material, os elementos concentradores de tensão aumentem efetivamente a tensão nestas regiões, fazendo-se com que haja a nucleação e propagação de trincas ainda no material congelado, que se consolidam e crescem durante o processo de sinterização do corpo verde.

A Figura 2.8, de autoria própria, mostra uma microscopia eletrônica de varredura de um material fabricado por *freeze-casting*, e é possível observar o empilhamento de grãos de sólido em uma direção preferencial, como resultante da direção do gradiente de calor proporcionado pelo sumidouro de calor (*cold finger*). Depreende-se também que, por estar em corte, o canal visto estaria previamente fechado em um canal tubular, e nota-se também que suas paredes tentaram arranjar-se de maneira geométrica, porém o tempo para equilíbrio de tensões não fora suficiente, e uma geometria intermediária fora formada. O quadro (b) da Figura 2.8 confirma a geometria lamelar com tendências prismáticas.



(a) Corte longitudinal.



(b) Corte transversal.

Figura 2.8 – Microscopia eletrônica de varredura de um monólito cerâmico fabricado por *freeze-casting*. Fonte: produção própria do autor.

3 Metodologia de Trabalho

3.1 Síntese do BaTiO₃

O titanato de bário utilizado para a modificação da hidroxiapatita foi produzido segundo a metodologia sol-gel apresentada por Andrade (ANDRADE et al., 2012), visto que a geometria de interesse é a tetragonal e o material obtido em pó, em vez de filmes finos. A Figura 3.1 apresenta um esquema do processo de fabricação do material.

Inicialmente, dois sóis foram preparados em béqueres diferentes: um contendo solução aquosa (água de osmose reversa de produção própria) de ácido acético glacial ($\text{CH}_3\text{COOH} \geq 97\%$ Sigma-Aldrich) e acetato de bário ($\text{Ba}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \geq 99,999\%$ Sigma-Aldrich); outro contendo álcool isopropílico ($((\text{CH}_3)_2\text{CHOH} \geq 98\%$, Sigma-Aldrich) e tetraisopropil ortotitanato ($\text{Ti}((\text{CH}_3)_2\text{CHO}) \geq 99,0\%$). Em ambos os sóis, a agitação foi mantida até que os conteúdos ficassem homogêneos. Em seguida, verteu-se o béquer contendo isopropóxido de titânio sobre o béquer contendo acetato de bário, e a agitação mantida a 400 RPM e aquecimento de 100 °C, até que o gel formado solidificasse e secasse

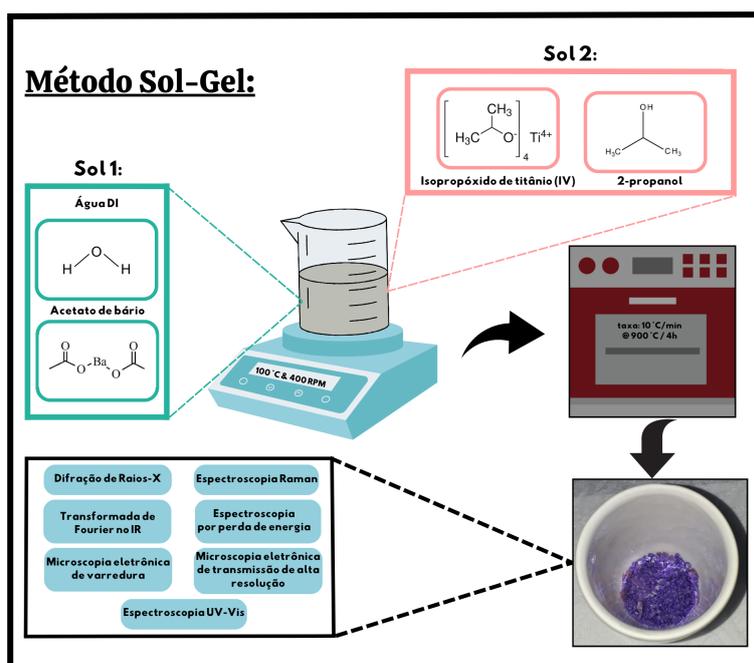


Figura 3.1 – Esquema da metodologia de fabricação de titanato de bário pela rota sol-gel.

por completo. A agitação foi mantida até que o sólido resultante fosse reduzido a um pó fino pela barra magnética.

Após a produção do pó precursor pelo método sol-gel, o material foi levado ao forno para tratamento a 900 °C por 4 horas, com uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. O produto obtido foi um pó fino de coloração branca, que foi subsequentemente caracterizada pelas técnicas de Difractometria de Raios-X, espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e adsorção gasosa.

3.2 Fabricação de *Scaffolds*

3.2.1 *Scaffolds* de Hidroxiapatita Pura

Scaffolds de hidroxiapatita foram fabricados na forma de monólitos pela metodologia de *freeze-casting* com temperatura controlada.

Assim como representado na Figura 3.2 sistema consiste em um tarugo de cobre com perfil circular (*cold finger*), inserido em uma caixa de isopor em que despeja-se o nitrogênio líquido (*cold bath*). A parte superior do tarugo, para fora da caixa de isopor, possui 4 furos diametralmente dispostos e igualmente espaçados ao redor da circunferência para a inserção de resistências elétricas, ao passo que um quinto furo de menor diâmetro é utilizado para inserir o termopar que realiza a medição da temperatura em tempo real. Todos esses dispositivos foram conectados a uma central de controle, cujas opções de temperatura desejada são digitadas com um auxílio de teclas no painel do controlador.

Para a fabricação de amostras, foram utilizados moldes de Technyl, com dimensões: 13,5 mm de altura por 14 mm de diâmetro. Os moldes foram revestidos com graxa de silicone em sua área interior, como maneira de facilitar o processo de desmolde após o congelamento. O mínimo possível de graxa foi utilizado, evitando a formação de pelotas ou desníveis de graxa, que potencializam o aparecimento de trincas e defeitos nos monólitos.

A suspensão precursora, contendo 40% em volume de HPA, 3,0 wt.% de álcool polivinílico (PVA) e 3,75 ml de dimetilsulfóxido (DMSO), foi colocada sob agitação magnética a 400 RPM e temperatura ambiente por 10 minutos. Então, a suspensão foi vertida rapidamente pelas paredes do molde, buscando-se uma superfície inferior o mais suave possível, sem formação de estrias. O congelamento foi realizado a -130 °C, e cada amostra levou cerca de 8 minutos até que a frente de resfriamento atingisse a parte superior da amostra.

Após o congelamento, as amostras foram mantidas resfriadas em um recipiente contendo nitrogênio líquido, até que fossem levadas ao liofilizador (Terroni LS 3000), para sublimação do solvente.

Após a liofilização, os monólitos foram cuidadosamente colocados sobre uma placa

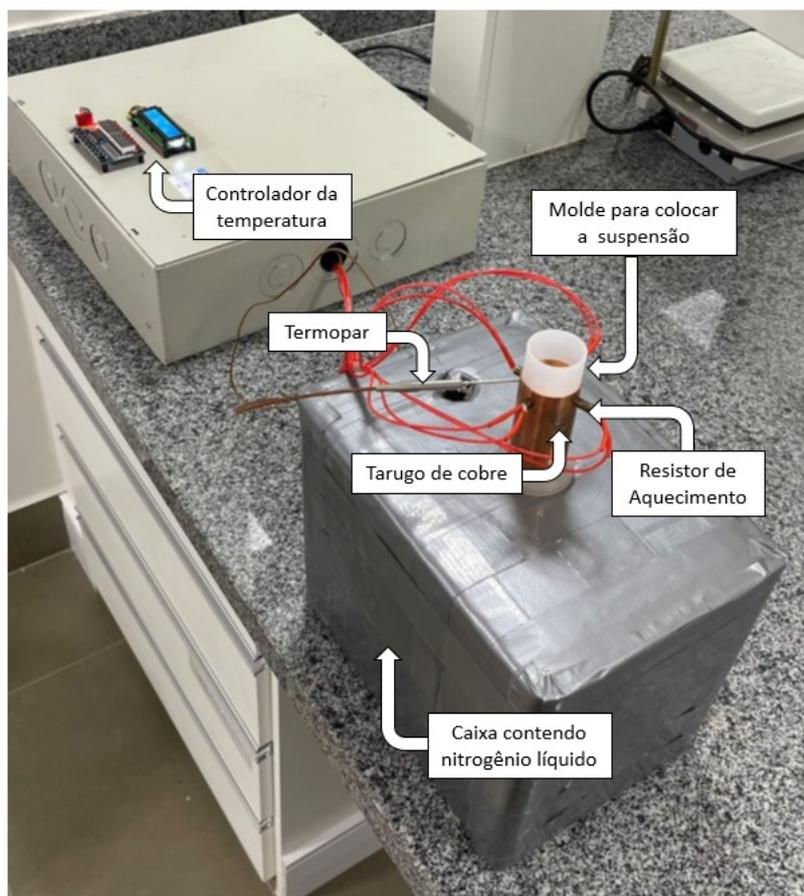


Figura 3.2 – Sistema de *freeze-casting* com controle de temperatura do LMCNano (Laboratório de Materiais Cerâmicos e Nanoestruturados) utilizado para fabricação de amostras no presente trabalho.

de material refratário, e levados ao forno a uma temperatura de 1250 °C por 4 horas, com taxa de aquecimento de 2 °C/min.

3.2.2 *Scaffolds* de Hidroxiapatita Modificada BaTiO₃

As concentrações de titanato de bário de 0,25, 0,50, 0,75 e 1,00 wt.% foram utilizadas como forma de investigar a influência dessa perovskita em *scaffolds* de hidroxiapatita comercial. Para realizar a modificação da hidroxiapatita, procedeu-se inicialmente igual às amostras de hidroxiapatita pura até a etapa de agitação a 400 RPM, e neste momento, pesou-se na seguinte ordem: titanato de bário e em seguida álcool polivinílico (PVA), intercalando-se cada pesagem com agitação a 400 RPM durante 5 minutos. Então, procedeu-se com a moagem por 20 minutos e 10 Hz em um moinho misturador MM 400 da Retsch, colocando-se novamente a suspensão sob agitação após a moagem. A agitação foi mantida a todo o momento em ambos os béqueres, tanto naquele contendo a solução pré moagem como no de solução após a moagem. Ao fim, a suspensão moída foi vertida dentro do molde de Technyl, mantendo-se a agitação na suspensão restante. Daí, o restante do processo novamente se iguala às amostras produzidas apenas com HPA, DMSO e PVA.

3.2.3 *Scaffolds* de Hidroxiapatita Modificada Zn⁰

O zinco metálico serviu a duas propostas diferentes: a calcinação da cerâmica ZnO (óxido de zinco) e para o fornecimento de íons de Zn²⁺ substituintes na hidroxiapatita. Para a fabricação do óxido de zinco, tratou-se termicamente o zinco metálico precursor sob as mesmas condições dos monólitos de hidroxiapatita. O zinco metálico fundido, ao reagir com a atmosfera, forma o óxido de zinco. O processo de modificação dos *scaffolds* com zinco metálico consistiu no mesmo processo utilizado para a modificação apenas com titanato de bário. Adicionou-se, após o titanato de bário e antes da adição de PVA, o zinco metálico, nas concentrações de 5 e 10 wt.% às amostras com 0,50, 0,75 e 1,00 wt.% de titanato de bário. Em seguida, o restante do processo fora idêntico àquele empregado para *scaffolds* de hidroxiapatita modificada com titanato de bário.

3.2.4 Amostras e Nomenclatura

A Figura 3.3 exemplifica a geometria e dimensões de algumas amostras fabricadas por *freeze-casting*, a fim de colaborar com a visualização dos materiais fabricados. É importante ressaltar que as amostras desta Figura pertencem ao lote 10Zn+100BT.

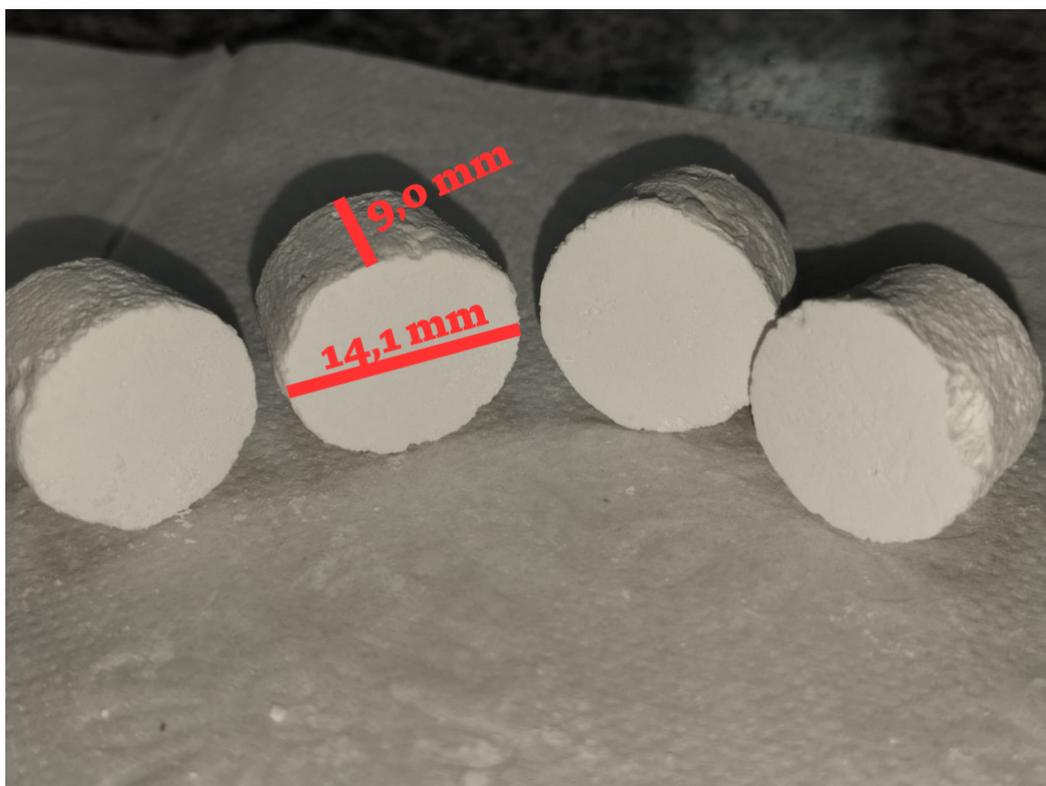


Figura 3.3 – Amostras do lote 10Zn+100BT produzidas por *freeze-casting* e lixadas para ensaio de compressão mecânica.

Os lotes de amostras produzidos foram separados de acordo com a quantidade de titanato de bário e zinco metálico, conforme a Tabela 1. As amostras contendo apenas

hidroxiapatita (além de DMSO e PVA) na suspensão precursora foram nomeadas de acordo com a concentração deste material em v/v. As amostras foram HPA 30%, HPA 40% e HPA 50%. Entretanto, devido às propriedades dessas amostras, descartou-se cargas de sólido de 30 e 50%. As amostras de titanato foram nomeadas de acordo com o wt.% de titanato utilizado. Por exemplo, as amostras 025BT e 100BT representam as amostras de HPA 40%, modificadas com 0,25 e 1,00% de BaTiO₃ respectivamente. Por fim, para amostras com zinco, a nomenclatura se deu baseando-se nas concentrações em wt.% de Zn e BaTiO₃. Por exemplo, a amostra de 5Zn+050BT representa amostra com 5 wt.% de zinco e 0,50 wt.% de BaTiO₃ respectivamente.

Nome da Amostra	% de HPA v/v	% de Zn ⁰ m/m	% de BaTiO ₃ m/m
HPA 30%	30	0	0
HPA 40%	40	0	0
HPA 50%	50	0	0
025BT	40	0	0,25
050BT	40	0	0,50
075BT	40	0	0,75
100BT	40	0	1,00
5Zn+05BT	40	5	0,50
5Zn+075BT	40	5	0,75
5Zn+100BT	40	5	1,00
10Zn+05BT	40	10	0,50
10Zn+075BT	40	10	0,75
10Zn+100BT	40	10	1,00

Tabela 1 – Tabela com a nomenclatura das amostras, evidenciado a concentração percentual em volume de hidroxiapatita na suspensão precursora, bem como os percentuais de zinco metálico e titanato de bário em relação à massa de hidroxiapatita.

3.3 Técnicas de Caracterização Físico-Químicas e Morfo-Mecânicas

3.3.1 Difratomia de Raios-X (DRX)

A técnica de Difratomia de Raios-X foi empregada como uma técnica de caracterização física das amostras, no sentido de identificação e quantificação de fases cristalinas formadas por meio do refinamento de Rietveld. Outros resultados também puderam ser extraídos de tal técnica, como avaliação de mudanças nos parâmetros de rede e cálculo de tamanho de cristalito.

O DRX foi realizada em um equipamento Shimadzu XRD-6000, com fenda solar de 1 mm e tubo com alvo de cobre (CuK α), e configuração do tipo Bragg-Bentano. As amostras foram varridas entre 20 e 60°, com velocidade de 1°/min e step de 0,02°. A identificação de fases e o refinamento de Rietveld foram realizados com o auxílio do

software Profex, alimentado com as base de dados do próprio programa, a *Crystallography Open Database* de 2023, e alguns arquivos de informação cristalográfica (CIF's) foram extraídos manualmente da *Inorganic Crystal Structure Database* (ICSD), notadamente as fases de hidroxiapatita dopada com zinco.

Para o refinamento de Rietveld, o critério escolhido foi o teste do χ^2 , cujos valores representam um melhor ajuste do modelo quanto mais próximo de 1 (ajuste perfeito). No presente trabalho, deu-se preferência para valores próximos ou inferiores a 2,00, porém, duas amostras com valores acima deste foram consideradas razoáveis, visto que a diferença de ajuste se deu apenas por formato de picos, e não pela presença de fases camufladas, já que não haviam picos sobressalentes.

Ademais, para o cálculo de tamanho de cristalito, fora utilizado o modelo de Scherrer, que é representado pela Equação 3.1:

$$d = \frac{K\lambda}{\beta_{FWHM} \cos \theta}. \quad (3.1)$$

Nesta equação, d representa o tamanho de cristalito em nanômetros, K é o fator de forma de Scherrer, que relaciona-se com a geometria do cristalito e será assumido como 0,91 para fins computacionais, λ é o comprimento de onda da radiação, que no caso corresponde à radiação-X por emissão em cobre e vale 1,54 nm. Adiante, β_{FWHM} é a largura a meia altura dos picos desejados, e θ é a metade do ângulo em que se encontra o pico no difratograma.

Nenhum difratograma fora suavizado durante as análises, e os únicos tratamentos matemáticos realizados foram a subtração de *background* para viabilizar uma melhor análise de fases, e ocasionalmente a normalização das curvas com o critério de divisão pela máxima ordenada para melhor visualização do gráfico, porém sem fins de análise matemática e/ou estatística. A representação gráfica dos difratogramas foi realizada utilizando-se os *softwares Origin Pro* e *Profex*.

3.3.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

A técnica de FTIR foi realizada como forma de constatar quaisquer mudanças consideráveis nos harmônicos das ligações de hidroxiapatita, e auxiliar na interpretação de dados obtidos pela Difractometria de Raios-X. A técnica foi performada utilizando-se um espectrômetro Thermo Fisher Scientific Nicolet is-50.

As amostras analisadas por FTIR foram diluídas com KBr analítico (previamente secado por 3h a 150 °C) numa proporção de 1:20. Os parâmetros de análise foram varredura de 390 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 acumulações. Novamente, o único tratamento de dados realizado foi a normalização, porém desta vez utilizando-se uma injeção dos valores das ordenadas no intervalo compacto [0,1]. O *software* utilizado para gráficos fora o mesmo apresentada na Subseção 3.3.2.

3.3.3 Microtomografia Computadorizada (μ CT)

A microtomografia computadorizada foi utilizada como uma técnica de identificação de defeitos, caracterização morfológica, análises de interconectividade, porosidade e distribuição de tamanho de poros. O equipamento utilizado foi um FEI/Thermo Fisher Scientific *HeliScan Mark I*, com filamento de tungstênio. A técnica de microtomografia foi escolhida como primária para avaliação de porosidade em detrimento da técnica do princípio de Arquimedes, uma vez que esta não distingue poros de demais cavidades formadas por defeitos, como trincas e bolhas. Trincas da ordem de grandeza do tamanho médio de poro e bolhas na mesma escala podem se mesclar com os reais poros da amostra, porém defeitos maiores são prontamente excluídos durante o processo de segmentação, tornando a análise de porosidade comparativa mais fidedigna em diferentes amostras.

As imagens foram adquiridas com trajetória helicoidal, 3600 projeções por revolução, com 5 *frames* para média, 5 imagens de campos escuros, 10 imagens de campos claros, 0,25 s de tempo de exposição, tensão de 80 kV e 50 μ A (corrente no tubo) e foco médio (cerca de 35 μ A de corrente no alvo). Os tamanhos de voxel variaram entre: 5,6 e 6,1 μ m. Em seguida, as projeções foram reconstruídas em baixa resolução utilizando-se o *software* Qmango (*Python*), com correção de *beam-hardening* de 5%.

As reconstruções de baixa resolução foram úteis para a identificação morfológica das regiões porosas de cada amostra. Além disso, essas reconstruções também foram fundamentais para observar a formação de defeitos como trincas, bolhas, aglomerados e homogeneidade de densificação. Em seguida, as imagens foram transferidas do *cluster* de trabalho para a *workstation* em que se encontra instalado o *software* Thermo Fisher Scientific Amira-Avizo 3D. Esse software foi utilizado para as demais avaliações relativas à morfologia das amostras.

O tratamento computacional foi realizado através do fluxo de trabalho apresentado na Figura 3.4:

De forma geral, o fluxo de trabalho produziu dados intermediários, conforme a Figura 3.5, que consistiu na retirada de um subvolume do volume total, seguido do *thresholding*, etapa na qual o *software* utiliza o histograma do subvolume para computar e diferenciar material do vazio. Nesta etapa, pode-se calcular o percentual de sólido (valor 1 atribuído) presente na amostra, e o complementar de tal valor representa o percentual de poros (valor 0 atribuído). Em seguida, utiliza-se o módulo *Axis Connectivity* para avaliar os voxels de valor 1 que estão conectados, criando-se assim um conjunto de dados conectados. O módulo *Subtract Image* é utilizado para visualização de tais regiões. Em seguida, utiliza-se o módulo *Separate Objects*, cujo *output* é definido como "objetos conectados" e a espessura do marcador (ferramenta de separação) é fixada como 1 (escala de 0 a 5, sendo 0 menores divisões e 5 maiores divisões). O valor de 1 é adequado para as amostras do presente trabalho, uma vez que o tamanho médio de poros foi relativamente alto, como futuramente abordado. Então, utilizou-se o módulo *Label Analysis*, com métrica customizada para

cálculo de tamanho de poro. Por fim, com o resultado da separação de objetos, utilizou-se o módulo *Generate Pore Network* para a exibição da rede de poros modelada.

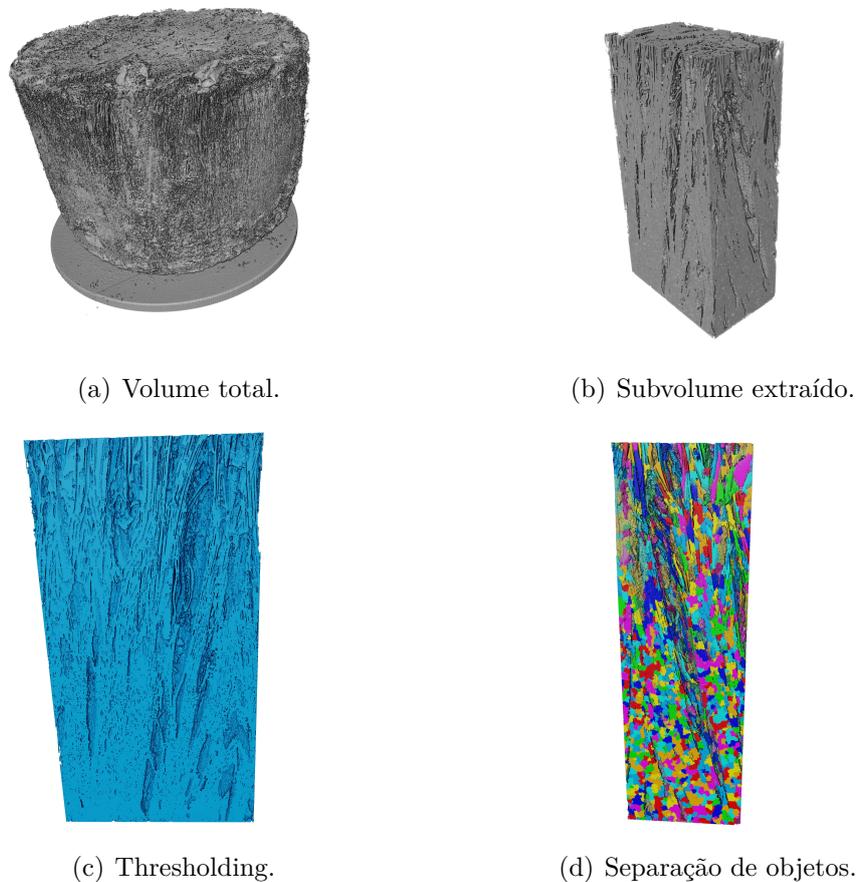


Figura 3.5 – Dados intermediários gerados pelo Avizo 3D, (a) o monólito como um todo, (b) o subvolume extraído para análise, (c) o *thresholding* e por fim, (d) a separação de objetos.

Observando-se as trincas presentes no subvolume extraído, é possível notar que tais defeitos não são considerados nas etapas de *thresholding* e separação de objetos, como fica explícito nas Figuras 3.5 (b), (c) e (d).

3.3.4 Ensaio de Compressão Mecânica

Os ensaios de compressão mecânica foram conduzidos em uma *Material Test System* (MTS) 810, com célula de carga de 2500 N acoplada e avanço de 0,1 mm/min (ZHANG et al., 2014). As amostras foram previamente lixadas com uma lixa convencional de gramatura 1000, buscando a remoção de relevos e imperfeições, de forma a tornar as superfícies da amostra o mais perpendiculares à aplicação da força possível. Os lotes de amostras preparados para este ensaio continham entre 7 e 10 amostras, como forma de mitigar desvios e variáveis ambientais no tratamento estatístico dos dados.

Neste ensaio, foi possível avaliar a influência da qualidade das amostras refletida na resistência à compressão de cada uma, por meio de uma avaliação do comportamento das curvas de Força X Deslocamento e Tensão X Deformação, bem como avaliações qualitativas de tenacidade e resiliência.

3.3.5 Adsorção Gasosa

Ensaio de adsorção gasosa foram realizados para amostras de titanato de bário e óxido de zinco puros como forma de averiguar a área superficial específica e a existência de redes micro (≤ 2 nm), meso (≥ 2 nm ≤ 50 nm) ou macroporosas (≥ 50 nm) e distribuição de tamanho de poros nesses materiais. O equipamento utilizado foi um Anto-Paar Quanta Chrome AutoSorb iq, com transdutor de pressão de 0,1 Torr. Como a rede de poros da hidroxiapatita pura é de escala micrométrica, não faz sentido analisar este tipo de material por meio desta técnica, daí a utilização da microtomografia computadorizada.

A degaseificação das amostras foi performada em células de 6 mm com bulbo, sendo que devido à baixa massa de titanato de bário optou-se pela utilização do bastão de preenchimento (*filler rod*), como meio de reduzir o volume vazio da célula e reduzir desvios de medida. Ademais, os parâmetros de degaseificação foram os seguintes:

- Aquecimento até 80 °C com rampa de 2 °C/min.
- Isotherma a 80 °C por 1 hora.
- Aquecimento de 80 a 120 °C com taxa de 2 °C/min.
- Isotherma a 120 °C por 1 hora.
- Aquecimento de 120 a 300 °C com rampa de 5 °C/min.
- Isotherma a 300 °C por 30 minutos.
- Teste de vazamento a 300 °C por 5 minutos.

Em seguida, após a devida pesagem das amostras posterior à degaseificação, o ensaio de adsorção foi conduzido em pressões relativas de 1×10^{-5} até 0,95 Pa, e a dessorção fora realizada para os mesmos pontos, com tolerância 0 e tempo de equilíbrio de 12 minutos para os pontos de pressão mais baixa. Para o cálculo de área superficial mesoporosa foi utilizado o modelo de BET (Brunauer-Emmett-Teller), descrito pela Equação 3.2 que leva em consideração os pontos de pressão relativa de 0,05 a 0,35, utilizando-se o nitrogênio como adsorbato.

$$\frac{1}{X[(P_0/P) - 1]} = \frac{1}{X_m C} + \frac{C - 1}{X_m C} \left(\frac{P}{P_0} \right), \quad (3.2)$$

tal que X representa o número de moléculas adsorvidas, X_m é o número de moléculas necessários para formar uma monocamada de gás adsorvido na superfície do material, P/P_0 é o termo de pressão relativa e C é um parâmetro relacionado ao calor de adsorção.

Este modelo representa um gráfico linear entre $1/[X(P_0/P)-1]$ VS. P/P_0 , de maneira que a área superficial pode ser calculada através da relação

$$AS = \frac{1}{\text{inclinação} + \text{interseção}} \cdot AST, \quad (3.3)$$

em que AS é a área superficial específica e AST é a área da seção transversal do adsorbato (nitrogênio).

Para cálculos de DFT (*density functional theory*), foi utilizada a função interna do programa *ASIQWin*, produzido pela *Quanta Chrome*. Para configurar o método de cálculo, utiliza-se a janela ilustrada pela Figura 3.6. Para a presente metodologia, considerou-se o adsorbato como nitrogênio, o adsorbente como sílica, poros com formato de fendas, e utilizou-se a região de adsorção das isotermas. Ademais, para o presente trabalho, empregou-se a variação da modelagem DFT utilizando-se o NLDFT, que é o equivalente ao DFT considerando-se o funcional densidade como um funcional não localizado.

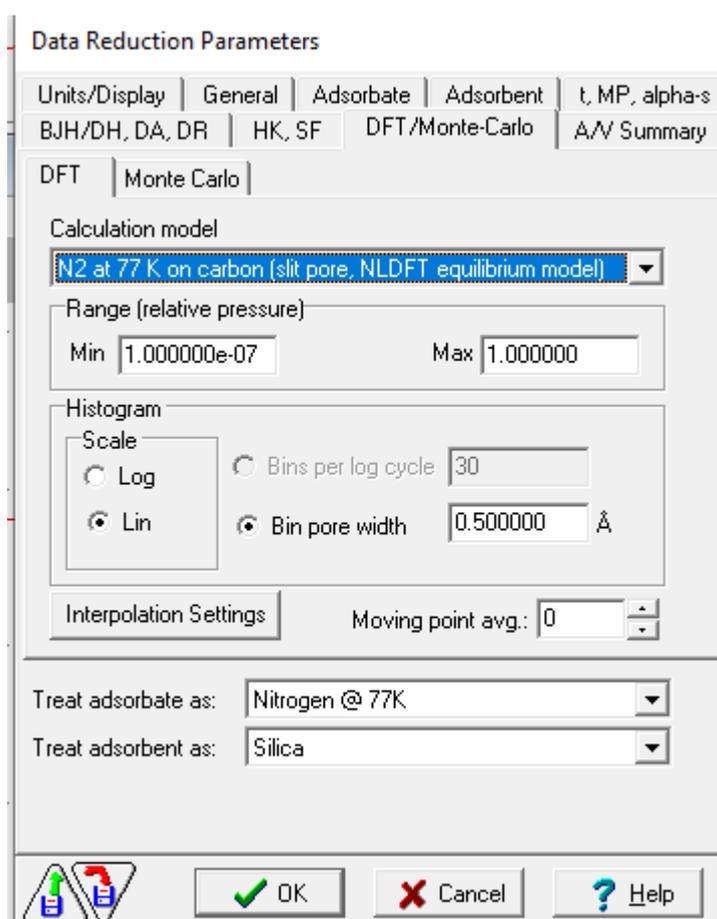


Figura 3.6 – Configuração dos parâmetros para o modelo de DFT empregado pelo *software* de análise de adsorção gasosa da *Quanta Chrome*.

4 Resultados e Discussões

Em primeiro lugar, é pertinente justificar a escolha da carga de hidroxiapatita como 40% em volume para a fabricação das amostras produzidas. Os corpos verdes com 30% de carga de sólido apresentaram dificuldade de se manterem íntegros com a adição de titanato de bário e zinco metálico, sugerindo que possivelmente houve interações entre os precursores que modificaram a dinâmica de liofilização das amostras com BT e Zn. Logo, descartou-se a utilização dessa carga de sólido. Para uma carga de sólido de 50%, a quantidade de material era consideravelmente maior do que para 40%, e não houve diferença significativa em termos de porosidade e resistência para as amostras de 40%. Por fim, a densificação de amostras com 50% promoveram um aumento na formação de trincas, o que acarretou numa redução da resistência à compressão mecânica. Portanto, a carga de 40% de hidroxiapatita na suspensão precursora mostrou-se a mais eficiente em termos de propriedades morfo-mecânicas.

4.1 Amostras HPA e HPA+BT

4.1.1 Caracterizações Físico-Químicas

A primeira etapa para melhor elucidar as propriedades das amostras produzidas é compreender a dinâmica de formação de fases nas mesmas, e para tanto, os ensaios de Difractometria de Raios-X e Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier foram fundamentais no estudo dessa dinâmica. Os resultados de FTIR serão utilizados como forma de corroborar com os dados de DRX, que serão discutidos a seguir.

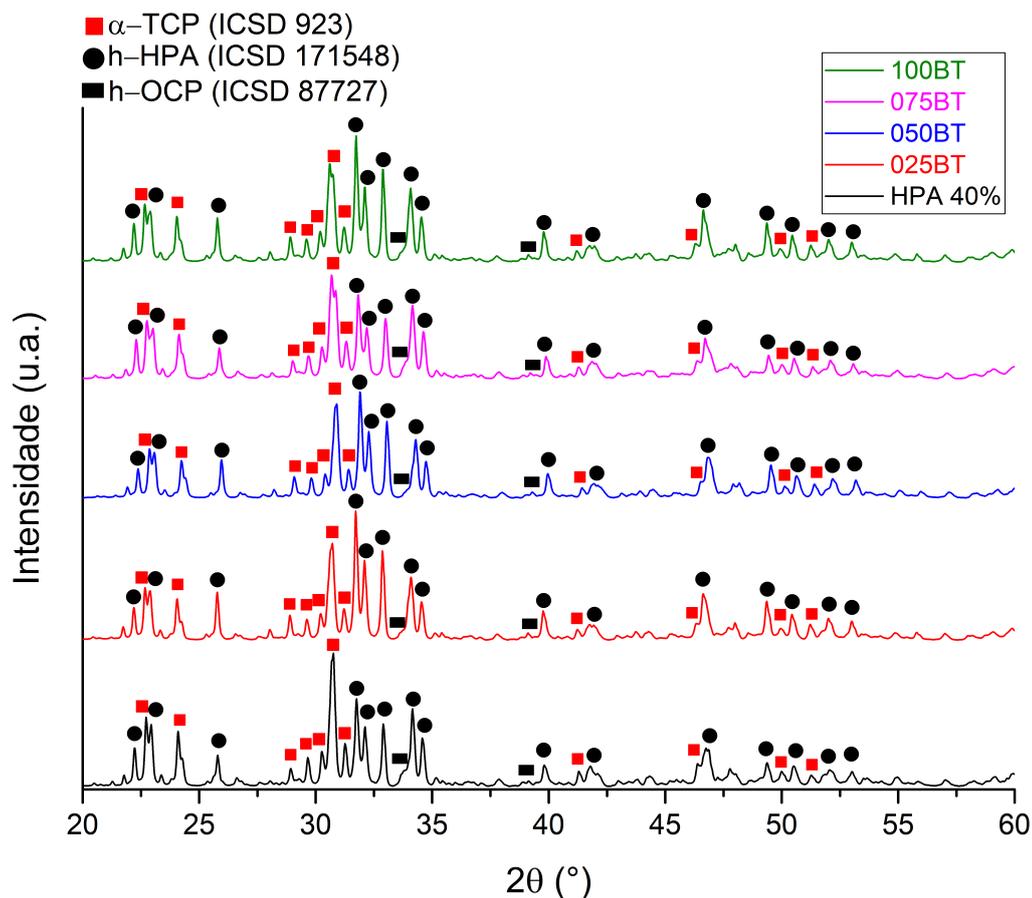


Figura 4.1 – Difratoogramas das amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.

A Figura 4.1 apresenta as amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT, em que os picos principais das fases encontradas estão destacados. Para esse conjunto de amostras, observou-se a formação das fases hidroxiapatita hexagonal (h-HPA), código ICSD 171548, evidente pelos picos em $25,9^\circ$, $28,95^\circ$, $31,7^\circ$, $32,2^\circ$, $33,0^\circ$, $34,2^\circ$ e $46,8^\circ$ (picos de maior relevância). O trifosfato de cálcio alfa (α -TCP, monoclinico), código ICSD 923, fora evidenciado pelos picos em $22,4^\circ$, duplete em $22,8^\circ$ e $22,9^\circ$, $30,2^\circ$, duplete em $30,6^\circ$ e $30,7^\circ$, $31,3^\circ$ e duplete em $46,4^\circ$ e $46,7^\circ$. Por fim, a oxiapatita hexagonal (h-OCP), código ICSD 87727, fora observada devido aos picos em $31,8^\circ$, $32,2^\circ$, $32,8^\circ$ e $39,9^\circ$, além do típico perfil que assemelha-se a ruído. Especificamente na amostra com 0,75 wt.% de titanato de bário não possível identificar a presença de h-OCP.

Nas amostras contendo apenas titanato de bário, não foi possível a identificação de fase relativa a este material por DRX. Isto se deve à baixa concentração utilizada nas modificações, mas conforme abordado previamente, o titanato já é conhecidamente um material altamente promissor em bioaplicações. Dessa maneira, do ponto de vista de formação de fases, as amostras de HPA tanto contendo como não contendo titanato representam biocompósitos em potencial.

Além dos picos característicos, outras características dos difratogramas na Figura

4.1 se destacam, como o fato de todas as amostras apresentarem intensidades semelhantes. É possível observar um pequeno deslocamento dos picos da amostra 025BT em relação à HPA 40%, que também pode ser percebido nas amostras 050BT, 075BT e 100BT. Esse deslocamento sugere que possa ter havido interação química entre BaTiO₃ e HPA. Para concentrações de 10% ou superior de titanato de bário, não se encontram evidências de interação química entre o titanato de bário e a hidroxiapatita (JIAO et al., 2017; JIAO et al., 2020), o que sugere que esses valores podem ultrapassar o limite de solubilidade do titanato na hidroxiapatita.

Para as amostras HPA+BT, em acordo com a Tabela 2, a composição de fases das amostras foi basicamente α -TCP, h-HPA e h-OCP, com exceção da amostra com 0,75% BT, que conforme discussão prévia, não apresentou h-OCP. Notadamente, a amostra de controle (HPA 40%) apresentou a maior concentração de α -TCP com 76% dessa fase, seguida pela amostra 075BT, com 73% de α -TCP. A diferença entre essas duas amostras, além da fase h-OCP, reside na quantidade de h-HPA formada, com 27% contra apenas 5% da amostra de controle. Similarmente, as amostras com 0,25, 0,50 e 1,00 wt.% de titanato de bário apresentaram de 64 a 65% de α -TCP, ao passo que a quantidade de h-HPA ficou em 32, 33 e 29%, respectivamente.

Amostra	Composição Refinada	Parâmetros de Rede (nm)	Tamanho de Cristalito (nm)	χ^2 (-)
HPA 40%	76% m-alpha-TCP 19% h-OCP 5% h-HPA	a = 0,943 c = 0,694 (h-HPA)	70,7	1,89
025BT	64% m-alpha-TCP 32% h-HPA 4% h-OCP	a = 0,941 c = 0,689 (h-HPA)	52,9	1,72
050BT	64% m-alpha-TCP 33% h-HPA 3% h-OCP	a = 0,942 c = 0,690 (h-HPA)	53,0	1,57
075BT	73% m-alpha-TCP 27% h-HPA	a = 0,943 c = 0,691	60,6	2,19
100BT	65% m-alpha-TCP 29% h-HPA 6% h-OCP	a = 0,943 c = 0,690 (h-HPA)	52,6	1,89

Tabela 2 – Tabela contendo detalhes dos resultados mais importantes obtidos através da técnica de refinamento de Rietveld para os sistemas de amostras HPA e HPA+BT.

Como citado, não há evidência de formação de fases intermediárias entre BaTiO₃ e HPA por DRX, entretanto, ao observar quantitativamente a formação de fases, é possível observar que o titanato de bário promoveu uma maior manutenção da fase h-HPA em detrimento da formação, principalmente, da fase h-OCP. Isto pode ocorrer devido a interações entre BaTiO₃ e HPA preferencialmente entre os oxigênios do titanato e o grupo hidroxila da HPA. Não se descarta a possibilidade, entretanto, da indução de dipolo elétrico na HPA promovida pela ferroeletricidade do BaTiO₃. Como abordado no Capítulo

2, a fase h-OCP surge da desidroxilação da hidroxiapatita e culmina em α -TCP com o aumento da temperatura. O fato de observar-se uma redução na formação tanto de h-OCP quanto de α -TCP, ao passo em que aumenta-se a quantidade de h-HPA, indica que houve uma menor quantidade de h-HPA disponível para desidroxilação, sugerindo que o titanato de bário possa ter estabilizado as hidroxilas em temperaturas mais altas. Esse aumento de energia necessário para a remoção de grupos OH^- da hidroxiapatita condiz com o possível surgimento de interações entre titanato de bário e hidroxilas de HPA. Esse mecanismo propõe um aumento na entalpia de remoção das hidroxilas, daí observa-se uma menor transformação de h-HPA em h-OCP e α -TCP, dada uma mesma temperatura de tratamento térmico.

Ainda referente à Tabela 2, pode-se observar uma pequena variação no parâmetro de rede "a" das amostras com titanato de bário, de 0,941 nm na 025BT a 0,943 nm tanto na 075BT como na 100BT. Por outro lado, observou-se uma maior variação no parâmetro "c" das amostras com titanato em relação ao controle, em que o maior valor observado fora na amostra de controle, com 0,694 nm, em contraste com os valores de 0,689, 0,690, 0,690 e novamente 0,691 nm para as amostras com 0,25, 0,50, 0,75 e 1,00 wt.% de titanato de bário, respectivamente. Tal contração do parâmetro "c" é condizente com o reportado na literatura (JIAO et al., 2017; JIAO et al., 2020).

Do ponto de vista do tamanho de cristalito referente às amostras HPA+BT, foi possível observar uma redução expressiva de 70,7 nm na amostra de controle até cerca de 52,6 nm para a amostra 100BT, que foi o menor valor para este grupo de amostras. A amostra 075BT apresentou um valor menor do que a amostra de controle, porém maior do que as demais amostra HPA+BT, com $d = 60,6$ nm.

Alterações nos parâmetros de rede e tamanho de cristalito da hidroxiapatita são reportados na literatura quando adiciona-se o titanato de bário à HPA (JIAO et al., 2017; ZHANG et al., 2019). O mecanismo responsável pela redução de tamanho de cristalito baseia-se na diferença energética de superfície dos cristais de hidroxiapatita quando introduz-se o titanato de bário. Cristalitos de titanato de bário podem atuar como agentes nucleadores, reduzindo-se a energia necessária para nucleação heterogênea e promovendo a formação de novos núcleos de HPA.

Para maior elucidação da dinâmica de fases, os espectros de FTIR serão de grande auxílio. Como é possível notar na Figura 4.2, no tocante às amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT, as bandas de transmissão em torno 523 cm^{-1} são pertinentes ao estiramento da ligação Ti-O (JIN et al., 2009) na amostra de titanato de bário puro. Por outro lado, as bandas em 469 cm^{-1} (modo de simetria flexional, ν_2), 553 e 633 cm^{-1} (modo flexional fora de plano, ν_4), 960 e 1088 cm^{-1} (estiramento assimétrico, ν_3) são as bandas características do grupo PO_4^{3-} , que é o grupo principal das fases h-HPA, α -TCP e h-OCP (PRAMANIK et al., 2007). Não foi possível observar influência clara do titanato de bário nas amostras contendo apenas BT, potencialmente por existir sobreposição da banda de Ti-O com o modo ν_2 do grupo fosfato.

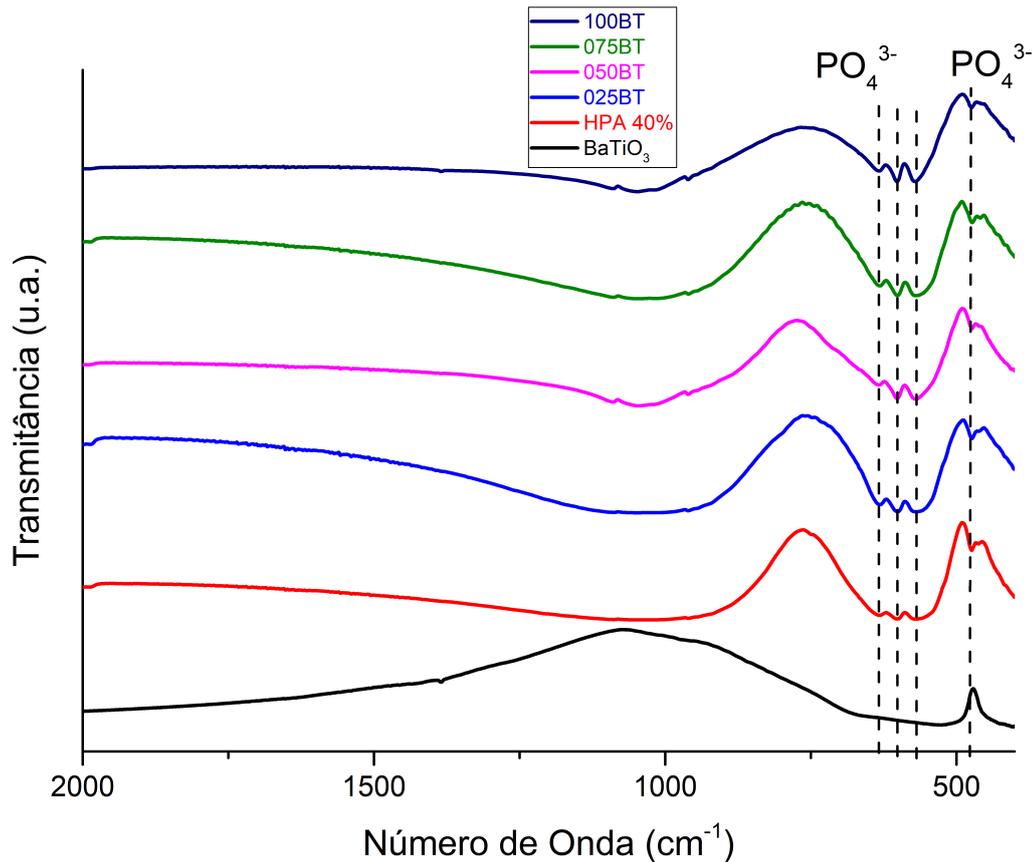


Figura 4.2 – FTIR das amostras de controle e modificadas com variadas concentrações de titanato de bário.

A Figura 4.2 é essencial para a compreensão dos mecanismos de estabilização da fase h-HPA promovida pelo titanato de bário. A pequena variação na intensidade transmitida pode ser reflexo da pequena quantidade de titanato presente nas amostras. Por outro lado, a diminuição dessa banda pode simbolizar uma distribuição não homogênea de titanato de bário no pó analisado, visto que espera-se um aumento de intensidade dessas bandas. Outro fator que pode estar relacionado com a redução na transmissão, dado o aumento da concentração de titanato, é o fato de o titanato apresentar uma alta absorvância, além, claro das propriedades das fases formadas.

Tanto os resultados de FTIR como de DRX corroboram para a ideia de que o aumento da concentração de BaTiO_3 não promove um crescimento linear na quantidade de fase HPA mantida nas amostras, e sim estabiliza-se. Isto sugere que há um limite a partir de 0,50 wt.% de BT em que não há mais a estabilização de hidroxilas. Há também a possibilidade de este ser um fenômeno dependente da área superficial específica do titanato, que será abordado adiante. É possível também que uma maior quantidade de vacâncias de cálcio na estrutura da hidroxiapatita promova um encurtamento das células unitárias, dificultando eletrostaticamente a aproximação do BT às hidroxilas disponíveis (GOMES et al., 2011). Por fim, a homogeneidade das amostras é um último fator determinante na

dinâmica de formação de fases.

De forma resumida, o α -TCP é a fase de fosfato de cálcio estável acima de 1100 °C, porém discute-se acerca de sua estabilidade à temperatura ambiente quando comparada ao β -TCP (KREIDLER; HUMMEL, 1967). Entretanto, essa fase possui potencial para aplicações de reparo do tecido ósseo (XU et al., 2017; DOROZHKIN, 2010), apesar de que deve-se atentar a fatores como a acidez do meio em que a fase é empregada. No caso de meios ácidos, esta fase pode potencialmente ser citotóxica (MORENO et al., 2020), impondo certas restrições ao uso do material. Além disso, este material pode apresentar boas propriedades mecânicas em termos de enxertos ósseos (MONTUFAR et al., 2018). O ortofosfato de cálcio (oxiapatita) também é interessante do ponto de vista biomédico, uma vez que o uso deste material está relacionado com o aumento de ossificação, osseointegração e outros fenômenos relacionados à regeneração de tecido ósseo (DOROZHKIN, 2013; DOROZHKIN, 2015).

Outro aspecto importante para biomateriais diz respeito à área superficial específica e distribuição de mesoporos (referentes ao pó, para poros entre 20 e 80 nm), que foram obtidas por análise de adsorção gasosa. Estes parâmetros são essenciais para a compreensão das dinâmicas físico-química e morfo-mecânica das amostras, como será demonstrado.

Para a amostra de titanato, como observa-se na Figura 4.3, percebe-se um comportamento semelhante a um material mesoporoso (isoterma tipo IV com interação adsorbato-adsorvente). É possível verificar a interação química do adsorvente com o adsorbato pela ausência de "joelho" na curva de adsorção. Além disso, é possível identificar a histerese como tipo H1, atribuída à presença de poros de frasco de tinta (*ink-bottle*).

Relativo ao modelo de BET, os seguintes *T-plot* foram obtidos para a região de 0,05 a 0,30 de pressão relativa (região de BET), conforme a Figura 4.4.

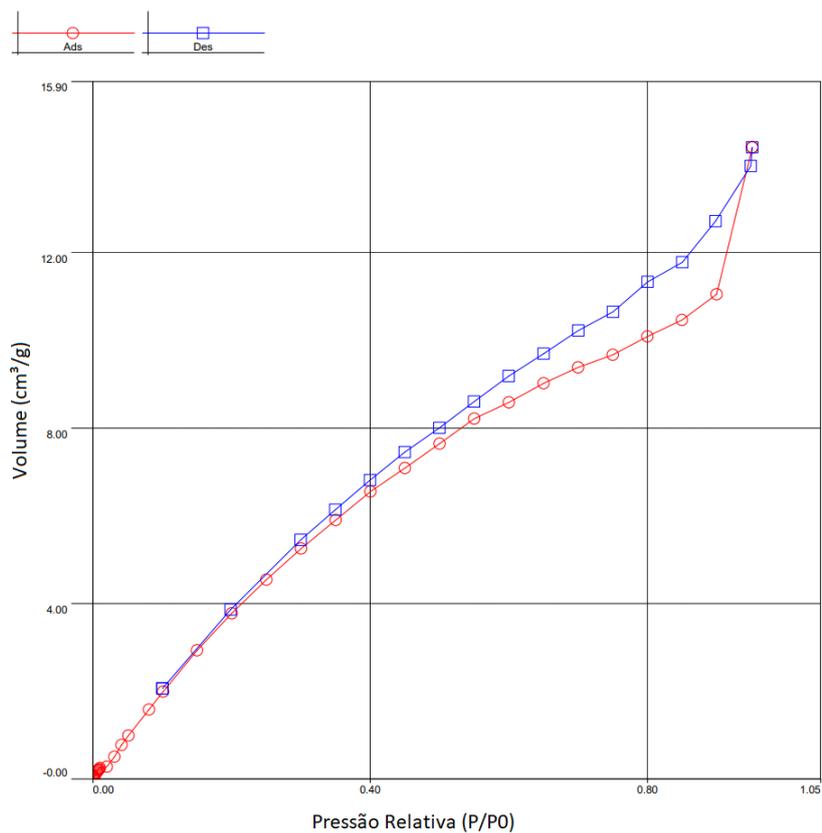


Figura 4.3 – Isotermas do titanato de bário puro. O ramo vermelho indica o ramo de adsorção e o ramo azul indica a dessorção.

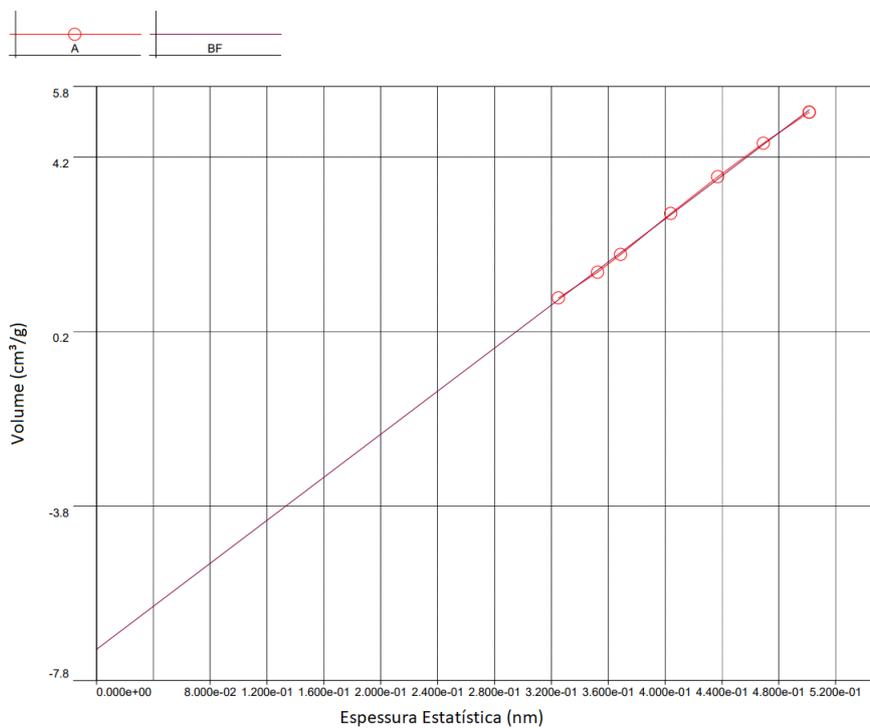


Figura 4.4 – Regressão linear (*T-plot*) pela equação de BET em comparação com os dados obtidos.

Com base nos dados fornecidos pela Figura 4.4, calculou-se uma área específica

31,98 m²/g, em que a constante C apresentou valor de 2,73, e o coeficiente de correlação foi de 0,9636. É possível que a área superficial do titanato de bário tenha relação com o percentual de hidroxiapatita que não se transforma após o tratamento térmico dos *scaffolds* HPA+BT. Considerando-se a estrutura mesoporosa, pode haver interação das hidroxilas da HPA com a superfície do titanato de bário, promovendo a estabilização da fase h-HPA, conforme previamente teorizado. Adiante, os sítios de interação entre HPA e BT podem também promover uma redução de energia livre de superfície, facilitando-se a nucleação heterogênea. Conseqüentemente, ao reduzir-se a energia necessária para nucleação, promove-se um menor crescimento de cristalito.

O modelo de DFT utilizado fora exposto em maior detalhamento no Capítulo 3. Essa modelagem permitiu obter uma área superficial, para o titanato de bário, no valor de 12,19 m²/g, tamanho médio de poro de 4,52 nm (mesoporo) e um erro de ajuste de 9,73%, fazendo com que a estimativa de área superficial por BET seja mais precisa do que DFT.

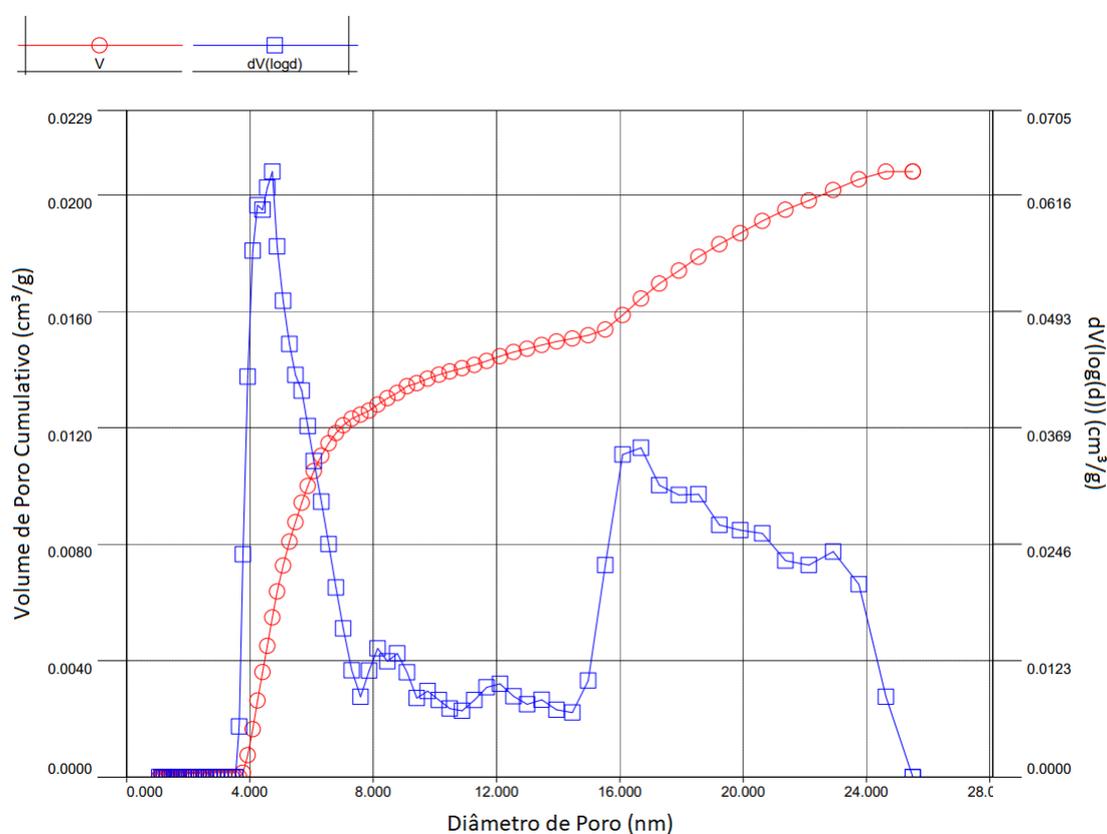


Figura 4.5 – Diagrama da distribuição de tamanho de poro por NLDFT da amostra BT puro.

Por fim, ressalta-se que a adsorção gasosa da hidroxiapatita fora dispensada, uma vez que o tamanho médio de poro obtido para os monólitos está na escala micrométrica, fazendo-se que técnica se torne inviável para este tipo de material, porém é interessante conhecer o potencial de adsorção dos materiais utilizados na modificação da hidroxiapatita, visto que não há uma maneira clara de separar isotermas de dois materiais diferentes em uma mistura, dada uma única análise.

4.1.2 Caracterização Morfo-Mecânica

Conforme explicitado na Subseção 3.3.3, as informações obtidas pela técnica de μ -CT se dividem em dois conjuntos, um contendo dados numéricos e gráficos, enquanto o outro conjunto agrupa as informações visuais obtidas através das projeções e reconstruções das amostras. Inicialmente, avaliar-se-ão os resultados numéricos acerca da porosidade e distribuição de tamanho de poros, dispostos na Tabela 3.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho Médio de Poro (μm)
HPA 40%	47,8	142,3
025BT	39,7	119,9
050BT	35,7	107,8
075BT	39,5	160,0
100BT	47,7	181,1

Tabela 3 – Porosidades percentuais aproximadas e tamanho médio de poro para as amostras HPA+BT obtidas por μ -CT.

Relativo às amostras 025BT e 075BT, observou-se um aumento do tamanho médio de poro de 119,9 μm para 160,0 μm respectivamente, ao passo que a porosidade volumétrica total manteve-se próxima de 39%. Tratando-se da 050BT, esta amostra foi a que apresentou a menor porosidade dentre as amostras apenas com titanato de bário, com 35,7%. Simultaneamente, esta amostra apresentou o menor tamanho de poro de todos os lotes produzidos, com 107,8 μm . A amostra 100BT, por outro lado, apresentou a maior porosidade dentre todas as amostras modificadas (tanto dos lotes com zinco quanto sem zinco), cerca de 47,7%, muito similar àquela calculada para a amostra HPA 40%.

O titanato, além de promover a estabilização da fase HPA e influenciar no tamanho de cristalito, também teve clara influência tanto na porosidade quanto no tamanho médio de poro das amostras HPA+BT. Ao adicionar titanato em 0,25 e 0,50 wt.%, nota-se uma redução de porosidade e redução de tamanho médio de poro, que acompanha a redução na formação das fases α -TCP e h-OCP. Simultaneamente, observou-se um pequeno aumento na manutenção da fase h-HPA. Essas evidências corroboram com a hipótese de que o titanato diminui a energia de nucleação tanto do cristalito, como no crescimento de grãos, promovendo uma maior densificação das amostras. Essa densificação é refletida numa menor porosidade e tamanho médio de poro. Por fim, ao aumentar a concentração para 0,75 e 1,00 wt.%, visualiza-se um aumento tanto de porosidade como de tamanho médio de poro. Isto ocorre por conta de um redirecionamento energético do tratamento térmico, que passa a promover menor crescimento de grãos, gerando lamelas com maior tamanho médio de poro. De fato, a fase α -TCP é mais densa do que a fase h-HPA, portanto modulações na concentração dessa fase podem corroborar com variações de porosidade e tamanho médio de poro. Dito isso, o titanato em maiores concentrações possivelmente reduz a densificação do α -TCP, daí observa-se aumento de porosidade espécimes 075BT e 100BT.

Na Figura 4.6, referente à distribuição de tamanho de poros das amostras HPA e HPA+BT, note que a diferença na quantidade/largura de cada barra depende do número de intervalos amostrais em utilizado pelo *software* Amira-Avizo 3D. Conforme elucidado no Capítulo 3, é interessante que se tenha um *scaffold* com uma gama de diferentes tamanhos de poro, como forma de propiciar o crescimento de diferentes estruturas necessárias à manutenção bioquímica e biomecânica do osso (YAO et al., 2021). Neste aspecto, a distribuição de tamanho de poros para sistemas HPA e HPA+BT mostra-se eficiente.

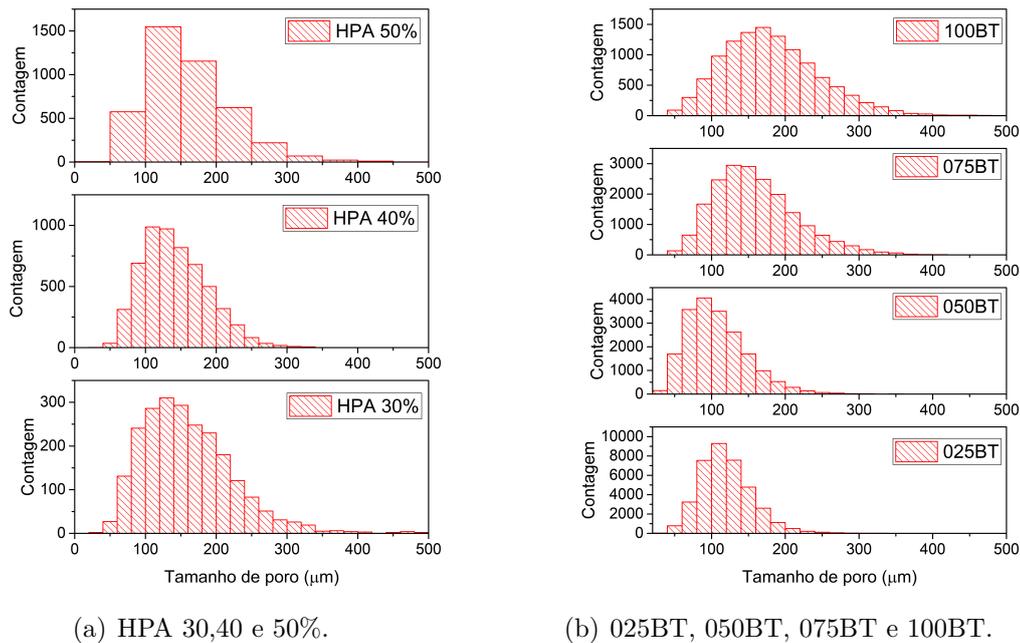
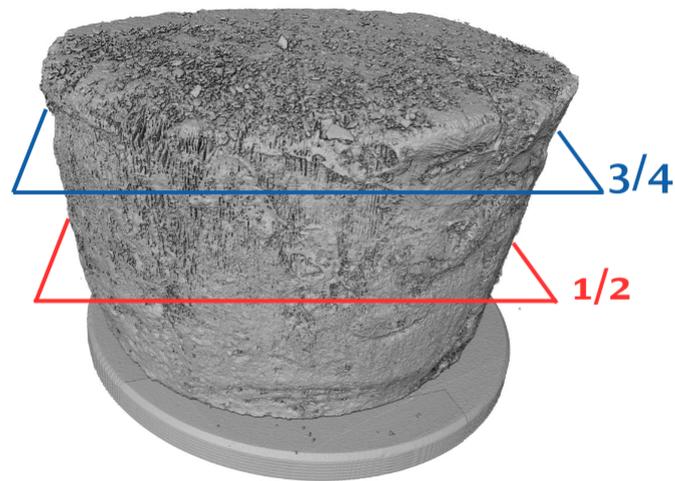


Figura 4.6 – Distribuição de tamanho de poro por μ -CT para as amostras contendo (a) apenas HPA com diferentes cargas de sólido e (b) HPA+BT.

Outra característica interessante observada foi a elevada interconectividade de poros, e essa é uma característica do método de fabricação, uma vez que mudados os solventes ou a carga de sólido, ainda observa-se altíssima conectividade entre os poros (FARIA et al., 2023). Esse fenômeno ocorre, entretanto, apenas para moldes com alta resistência térmica em relação à temperatura de solidificação do solvente, como é o caso do DSMO em Technyl. Os resultados presentes na Figura 4.6 corroboram com a hipótese de densificação reduzida promovida pelo aumento do titanato acima de 0,50 wt.%.

Do ponto de vista morfológico, o primeiro resultado de interesse reside nas projeções contendo os planos longitudinais e transversais das amostras, como forma de avaliar as regiões densa e porosa na amostra hidroxiapatita com 40% de carga em volume, bem como a orientação da estrutura de poros. Para melhor visualização das seções transversais e longitudinais doravante apresentadas, a Figura 4.7 exemplifica os cortes feitos em relação ao monólito em vista tridimensional.



(a) Cortes transversais.



(b) Corte longitudinal.

Figura 4.7 – Ilustração das seções transversais e longitudinal realizadas no *aofware* Avizo 3D.

A Figura 4.8 mostra como está orientado o crescimento da rede porosa da amostra HPA 40% em corte longitudinal. A morfologia da estrutura de poros é consequência da dinâmica de transferência de calor entre suspensão e *cold finger*. Inicialmente, o elevado gradiente térmico provoca uma baixa nucleação de cristais de DMSO (REUTER, 2017), e conseqüentemente há uma grande densificação do material. Quando a camada densa atinge um valor crítico de comprimento, a resistência térmica imposta por tal camada aumenta o gradiente térmico entre a frente de resfriamento e o *cold finger*. O aumento do gradiente térmico promovido por tal variação de resistência térmica permite a nucleação do solvente, fazendo com que haja crescimento aleatório de cristais. Por fim, ao atingir novamente determinada altura, a resistência térmica da camada sólida permite nucleação e crescimento de cristais, fazendo com que a estrutura de poros futura seja maior e mais alinhada nesta região.

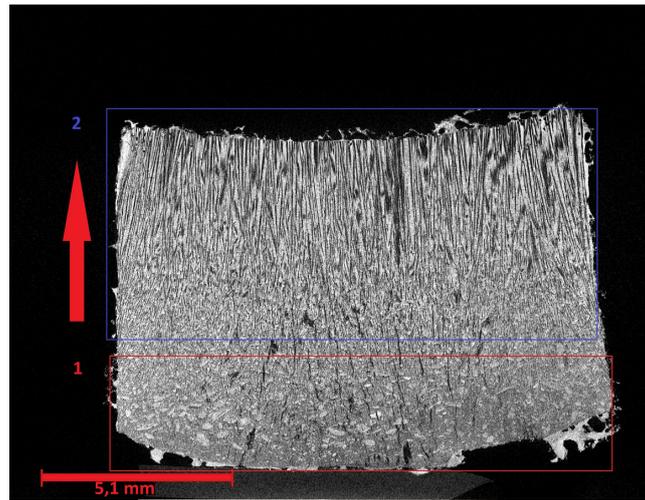


Figura 4.8 – Plano de corte longitudinal, realizado por μ -CT, na amostra HPA 40%. O retângulo vermelho, 1, referem-se à região densa da amostra, enquanto o retângulo azul delimita aproximadamente a área porosa de cada amostra. A seta vermelha indica a direção de avanço da frente de resfriamento.

As trincas na região densa e de crescimento aleatório, visíveis na Figura 4.8, evidenciam a formação de bolhas durante a liofilização do solvente. As bolhas tendem a se formar devido à expansão do solvente durante a sublimação, que em regiões de baixa porosidade podem se acumular. O aumento de pressão localizado provocado por essas bolhas pode promover o colapso das estruturas ao redor, gerando os defeitos de liofilização.

A Figura 4.9 exemplifica o crescimento em lamelas das estruturas porosas. Nesta Figura, é possível notar que há uma tendência de orientação radial da estrutura de poros, como resultado de um maior gradiente térmico nas paredes do molde. As paredes do molde promovem nucleação heterogênea, reduzindo-se a energia de nucleação, o que também pode contribuir para maior orientação radial da estrutura de poros. Por outro lado, ainda sobre a Figura 4.9, as regiões mais distantes do centro não apresentam orientação preferencial, em consequência do menor gradiente térmico. Outra característica passível de análise disposta pela Figura 4.9 é a formação de trincas. As trincas visíveis na região de crescimento lamelar ocorrem caracteristicamente no volume da amostra, como consequência do colapso de diversas lamelas.

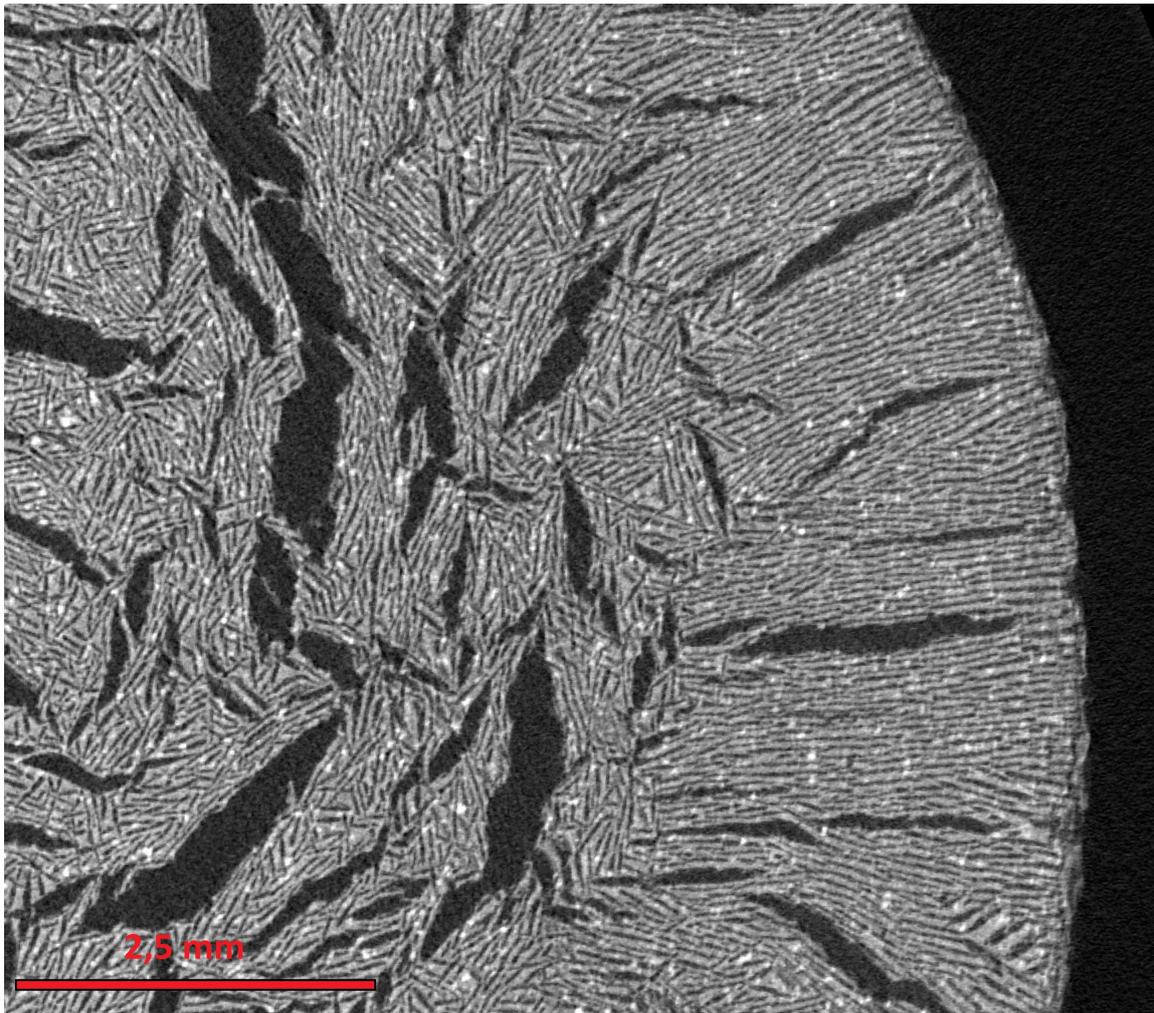
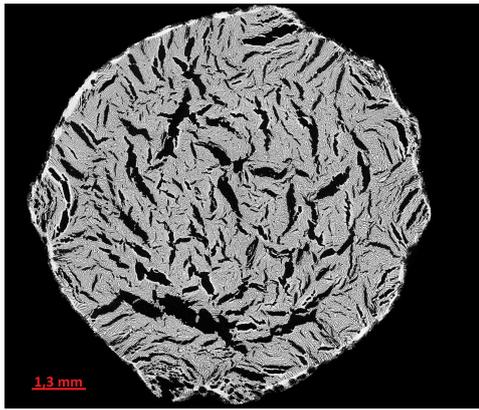


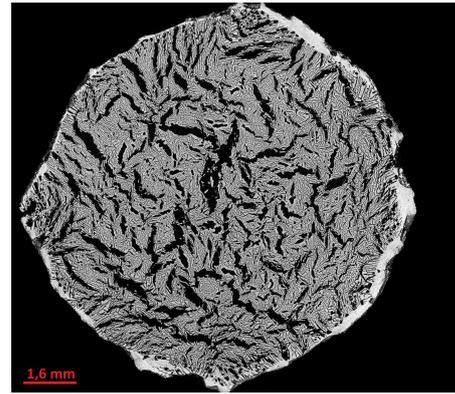
Figura 4.9 – Ampliação da região de crescimento lamelar, a 3/4 do topo de uma amostra do lote 075BT.

Sobre os cortes transversais no plano intermediário, foi possível identificar em determinadas amostras (050BT) o surgimento de trincas radiais, cuja formação aparenta decorrer de bolhas de liofilização, tal qual a Figura 4.10. Esta Figura apresenta um corte na seção média e outro próximo ao topo do monólito (região porosa) da 050BT. Além disso, nota-se uma diferença de espaçamento entre lamelas nas duas regiões de corte, condizente com a redução no tamanho médio de poro.

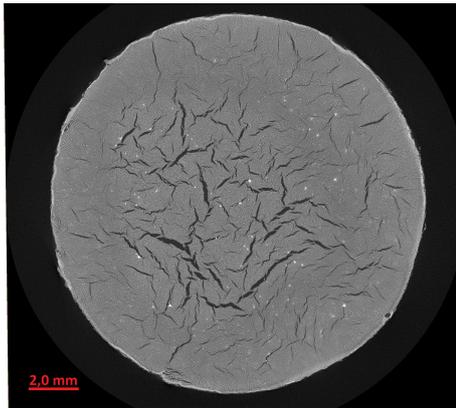
Pela Figura 4.10, é possível concluir que as lamelas a 3/4 do topo na amostra 075BT tendem a ser maiores e com orientação mais bem definida, o que corrobora com a ideia do crescimento lamelar promovido pelo titanato acima de 0,50 wt.%. Por outro lado, com 0,25 e 0,50 wt.% existe uma maior tendência de surgir lamelas do que o crescimento das existentes, daí a formação de lamelas menores e com orientação mais dispersa, em consequência do gradiente de calor. As Figuras 4.11 (a) e (b) corroboram com tal discussão.



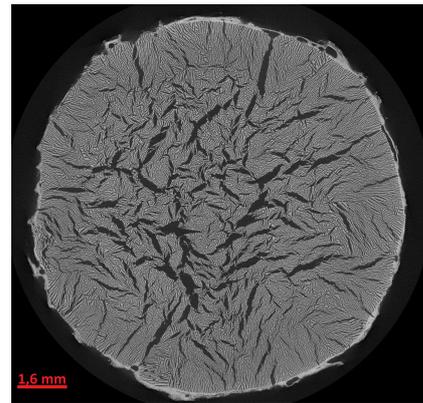
(a) Seção transversal mediana da 050BT.



(b) Seção transversal a 3/4 do topo da 050BT.



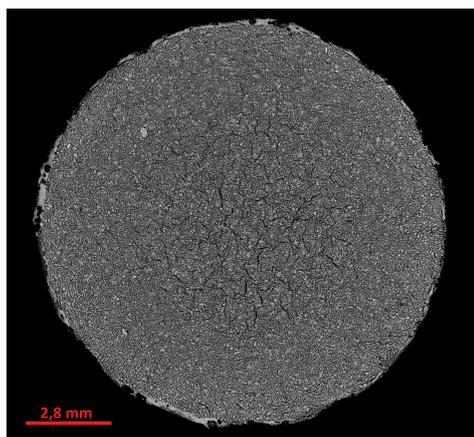
(c) Seção transversal mediana da 075BT.



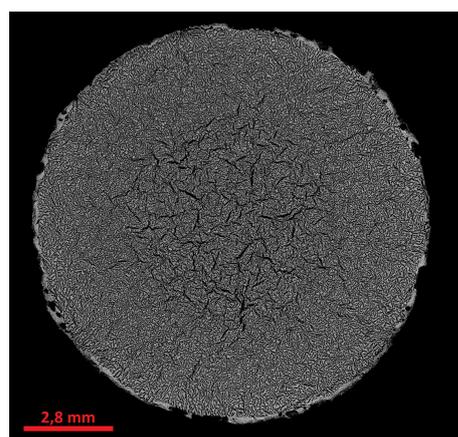
(d) Seção transversal a 3/4 do topo da 075BT.

Figura 4.10 – Planos de corte transversal no plano médio e a 3/4 do topo das amostra (a),(b) 050BT e (c),(d) 075BT.

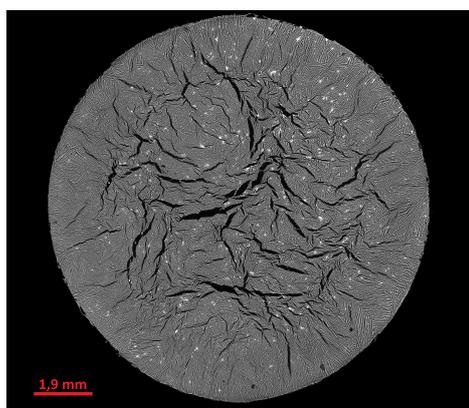
Por outro lado, as amostras 025BT e 100BT apresentaram uma maior integridade, no sentido de defeitos menores no plano médio da seção transversal, porém morfologias de poros bem diferentes, conforme é possível averiguar na Figura 4.11. Além de uma menor presença de trincas e bolhas, é também possível reparar uma mudança textural dos poros em ambas as amostras, sendo que a amostra 025BT apresentou poros mais aleatórios próximo ao topo do monólito, em contraste com a amostra 100BT, que apresentou regiões maiores e orientadas em direções particulares. Também é interessante notar que há maior disposição radial de poros na amostra 100BT, que é particularmente interessante dos pontos de vista mecânico e biológico, já que podem se assemelhar aos canais de Havers em um osso natural. Foi possível notar que este comportamento de crescimento radial de poros aumenta conforme a carga de titanato de bário aumenta nas amostras HPA+BT.



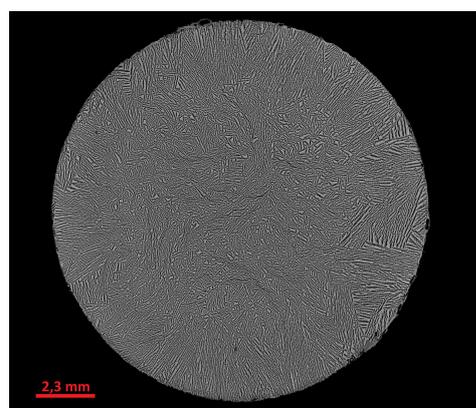
(a) Seção transversal mediana da 025BT.



(b) Seção transversal a 3/4 do topo da 025BT.



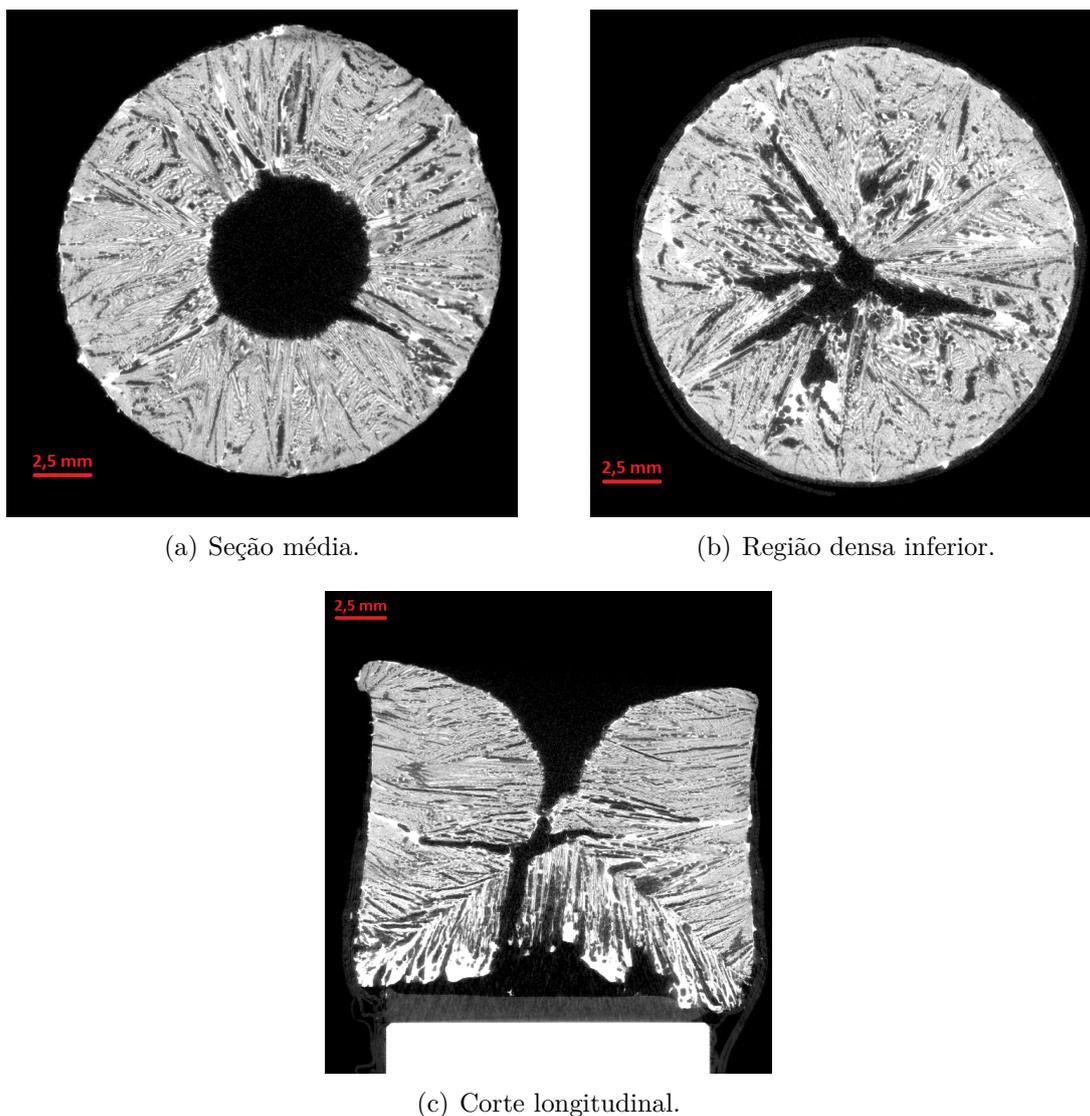
(c) Seção transversal mediana da 0100BT.



(d) Seção transversal a 3/4 do topo da 100BT.

Figura 4.11 – Planos de corte transversal das amostras (a), (b) 025BT e (c), (d) 100BT.

Tentativas com molde de cobre foram realizadas, porém observou-se que camadas densas eram formadas em contato com as paredes do molde de cobre. Isso se deve por conta de um gradiente de calor muito maior entre as paredes do molde de cobre e a suspensão do que aquele observado nas paredes do molde de Technyl. Conseqüentemente, fazendo-se com que apenas o topo das amostras em molde de Cu possuísse uma região porosa em contato com a região exterior, reduzindo-se assim a porosidade. Além disso, devido também à temperatura de $-130\text{ }^{\circ}\text{C}$, que provoca um elevado gradiente térmico tanto nas paredes do molde como no *cold finger*. Esse elevado gradiente provoca rápida contração da fase líquida ao congelar em contato com as superfícies metálicas, enquanto a região mais central continua líquida. Essa defasagem entre as frentes de resfriamento das paredes do molde e do *cold finger* causam então o rechupe. Esse defeito, acarretou em uma abrupta queda na resistência mecânica devido a enormes trincas propagadas do rechupe, tal qual exibido nas Figuras 4.12 (a), (b) e (c). É possível ver que o rechupe formado é cônico e produz um furo passante na amostra, além das trincas no plano médio da amostra. A única vantagem com relação a este tipo de molde é no quesito morfológico de poros, que passam a ter forte orientação radial em conjunto com a orientação axial na região inferior.



(a) Seção média.

(b) Região densa inferior.

(c) Corte longitudinal.

Figura 4.12 – Diferentes seções de uma amostra de HPA 30% produzida em molde de cobre.

Para os demais monólitos é interessante apresentar alguns dos defeitos mais comumente encontrados nas amostras, como bolhas e aglomerados, além de outras características, tais como a geometria da região porosa e a rede de poros referente ao volume das amostras.

Dentre as amostras contendo apenas titanato de bário, a amostra 025BT não apresentou a formação visível de aglomerados, enquanto na amostra 50BT pequenos aglomerados começam a ser evidenciados, conforme a Figura 4.13 (a). A amostra 075BT apresentou morfologia semelhante à 050BT em termos de aglomeração, porém com a formação de pequenos aglomerados na região densa. Por fim, na amostra 100BT nota-se um aumento mais proeminente na formação de aglomerados entre a base e o meio do corpo de prova. Essas partículas aglomeradas são mais densas do que o material ao redor, e tenderam a ficar abaixo da porção superior dos espécimes, além de apresentarem maior intensidade de cor branca, o que sugere que as partículas de titanato se aglomerando são mais densas do que o restante do volume na suspensão precursora durante o congelamento.

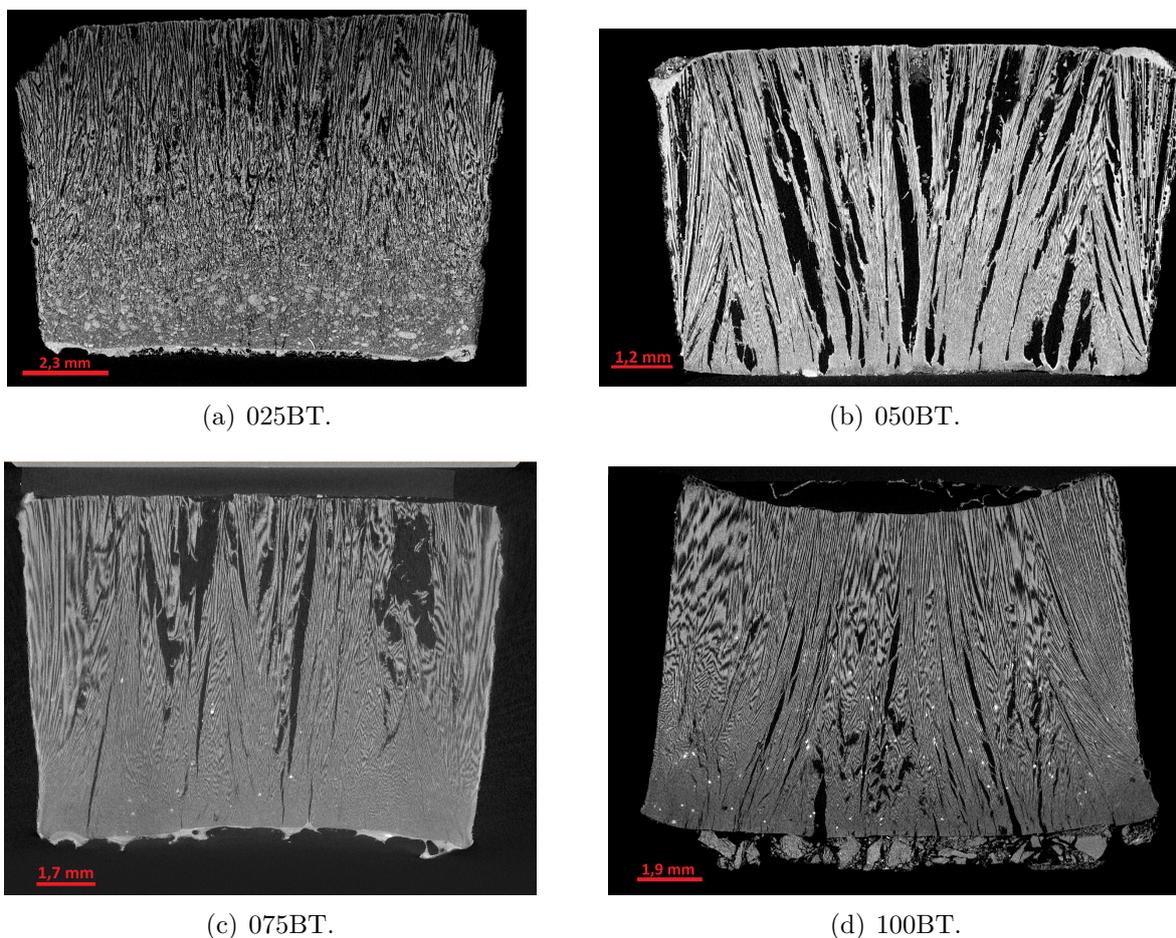
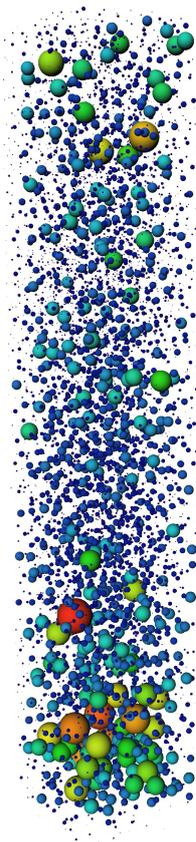


Figura 4.13 – Corte longitudinal das amostras (a) 025BT, (b) 050BT, (c) 075BT e (d) 100BT evidenciando o surgimento de partículas com maior densidade (azul, branco e cinza claro).

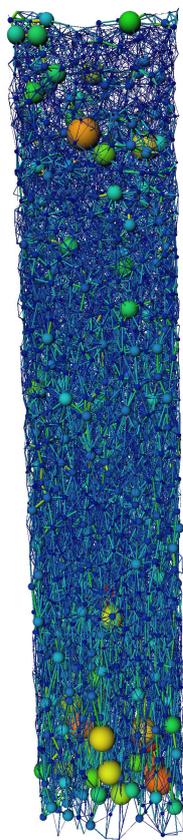
No caso da amostra 25BT, é possível verificar a formação de aglomerados de tamanho considerável na região densa da amostra, de modo que a suspeita principal é a formação de grãos de trifosfato de cálcio na região inferior, cuja densidade é superior a da hidroxiapatita, porém inferior àquela do titanato de bário.

A modelagem da rede de poros de espécimes pertencentes a cada lote permitiu um vislumbre da distribuição de poros nas amostras. Para uma melhor compreensão, foram realizadas duas imagens de rede de poros para cada amostra, uma apenas com os poros em escala de cor por volume, e outra contendo tanto os poros como os canais que os conectam, porém em escala de cor por área interna. A Figura 4.14 apresenta tais imagens para a amostra HPA 40%.

Ainda sobre a Figura 4.14, é possível notar que, assim como observou-se para todas as outras amostras (Figura 4.15), há uma grande conectividade entre os poros, além de um visível alinhamento longitudinal de porosidade. Algumas amostras são consistentes com a morfologia de bolhas e trincas no plano transversal mediano, como é o caso das amostras 075BT e 100BT (Figuras 4.15 (e) a (h)) e em consonância com o que se observou nas Figuras 4.13 (c) e (d).



(a) PNM sem *display* de conexões.



(b) PNM com *display* de conexões.

Figura 4.14 – Modelagem da rede de poros da amostra HPA 40%.

Conforme previamente abordado, o *software* Avizo desconta defeitos da amostra em sua modelagem à medida que tais defeitos são ordens de grandeza maior do que o tamanho médio de poro (vide Figura 4.15 (f)). Entretanto, quando defeitos (bolhas e trincas) assumem valores razoavelmente próximos ao espaçamento interlamelar, estes defeitos tenderão a ser contabilizados como poros, e isto explica a representação de poros na região densa das amostras na Figura 4.15. Portanto, a representação de poros na região densa não é fiel com relação ao observado nas Figuras 4.8 e 4.13. Além disso, é importante notar que os poros representados tem formato esférico e se conectam por canais cilíndricos, e esta é uma representação puramente matemática, baseada no volume interno dos poros e área superficial interna dos canais. Na realidade, os poros possuem geometria de folhas com estricções que podem ou não se fechar, porém apresentam os mesmos volume e área superficial das esferas e cilindros representados pelo *Avizo 3D*.

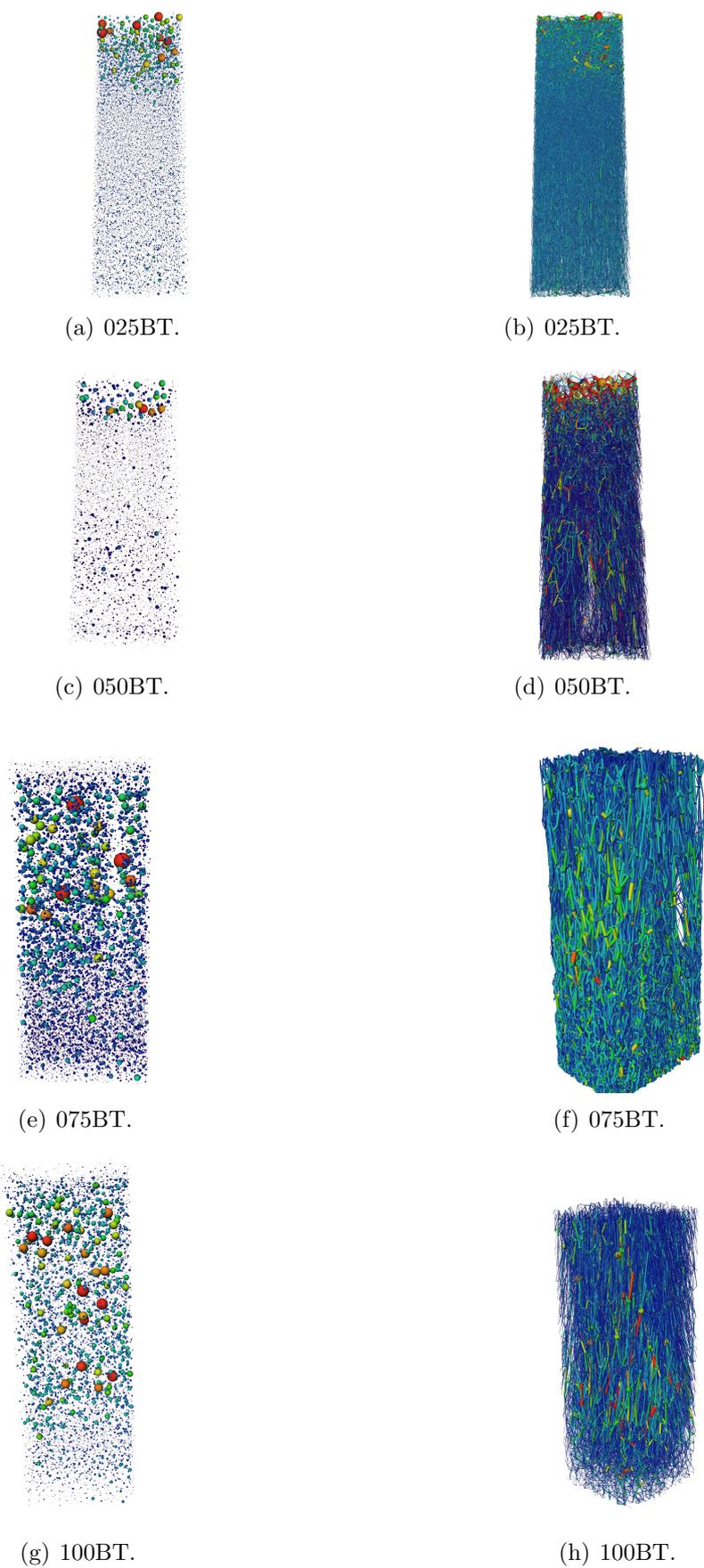


Figura 4.15 – Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas apenas com titanato de bário.

De maneira a obter maiores esclarecimentos acerca das propriedades dos *scaffolds* modificados e não modificados produzidos, os ensaios de compressão mecânica foram de grande importância.

Ao observar os diagramas de Tensão VS Deformação para amostras HPA+BT, bem como para a amostra HPA 40%, na Figura 4.16, é possível notar uma diferença no comportamento das curvas. Por um lado, a amostra HPA 40% apresentou um gráfico mais ruidoso, com maior variação na tensão para valores crescentes de deformação. Por outro lado, a amostra 025BT apresentou um diagrama mais bem definido. Este comportamento relaciona-se com diversos fatores, como a presença de defeitos (aglomerados, trincas e bolhas), composição de fases e condição de preparo para análise.

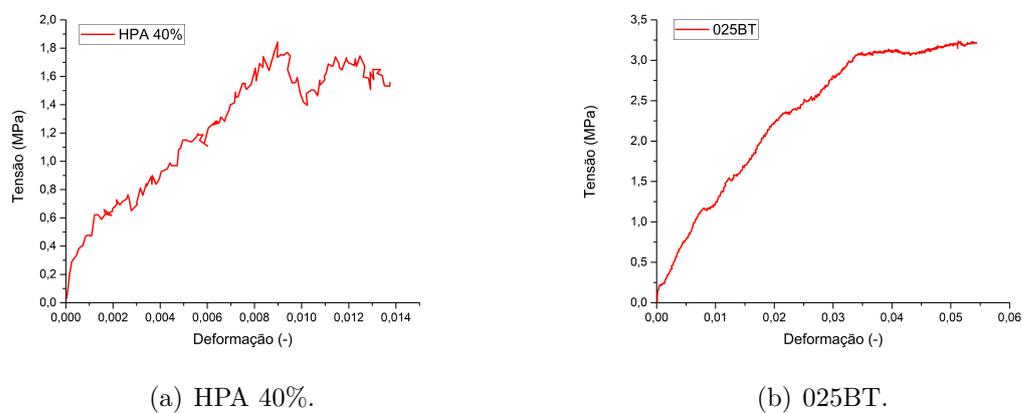


Figura 4.16 – Diagramas de tensão deformação das amostras mais interessantes: (a) a amostra de controle HPA 40%, (b) a amostra com maior resistência à compressão, 025BT.

A Figura 4.17 apresenta os valores médios de tensão de ruptura para amostras dos lotes HPA 40% e HPA+BT. Pela Figura 4.17, é possível notar que os primeiros dois lotes, referentes às amostras HPA 40% e 025BT, apresentaram os maiores valores de desvio padrão, evidenciando possíveis defeitos de fabricação presentes nos *scaffolds*. Ademais, apesar de serem os lotes mais heterogêneos, tanto a HPA 40% como o 025BT demonstraram as maiores capacidades de suportar compressão. A amostra de maior resistência foi do tipo 025BT, que resistiu mais de 7,1 MPa (representada pela barra vertical superior). Por outro lado, nota-se que a pior amostra (representada pela barra vertical inferior à caixa) deste lote apresentou resistência de apenas um pouco mais que 0,5 MPa, reiterando-se a questão da elevada heterogeneidade deste lote.

Sugere-se que o desvio padrão da amostra 025BT apresentou valor elevado como consequência do surgimento de aglomerados de α -TCP e h-OCP nos monólitos deste lote, como ilustrado na Figura 4.8. Esses aglomerados de maior densidade podem ter sido responsáveis por maior concentração de tensões durante as análises de compressão. Para amostras com aglomerados menores e com melhor distribuição, observou-se maiores tensões de resistência à compressão. Por outro lado, aqueles com trincas prévias causadas

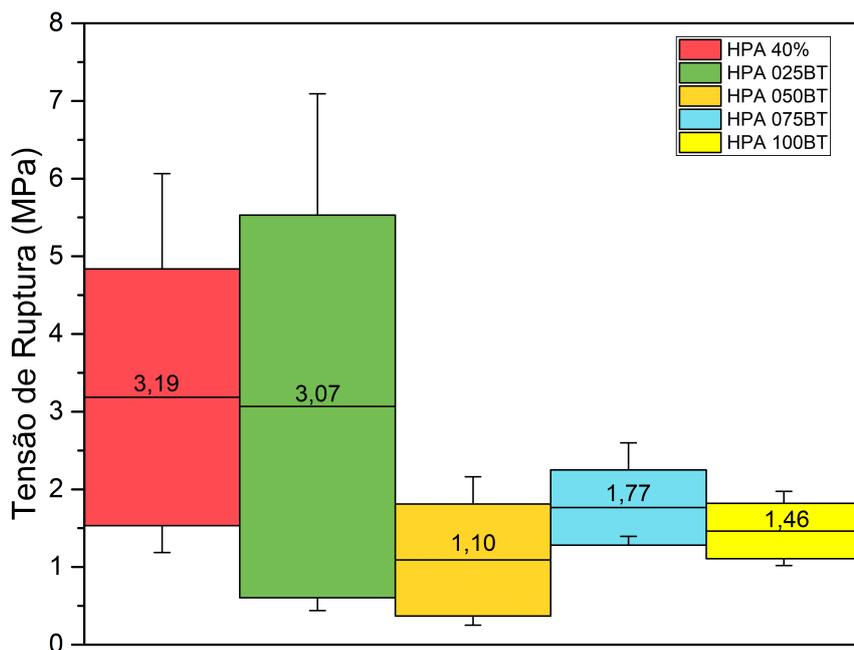


Figura 4.17 – Gráfico de caixas para resistência à compressão dos lotes produzidos, em que a tensão média de cada lote está representada acima da linha média de cada caixa. As linhas verticais marcam os valores máximo e mínimo de cada tensão, enquanto o comprimento das caixas são referentes ao desvio padrão de cada lote de amostras.

por aglomerados menos homogêneos apresentaram menor resistência à compressão. Como o processo de formação de aglomerados é caótico e sem tendência aparente, um grande desvio padrão surge como consequência.

Todavia, pode-se argumentar que, como o titanato promove uma maior estabilização da hidroxiapatita, os locais com aglomerados de α -TCP e h-OCP são regiões com ausência de titanato de bário. Isso sugere que algumas amostras do lote 025BT tiveram uma melhor dispersão pela região lamelar do que outras. Isso pode ser observado, também, pela redução da porosidade em função do aumento de titanato até 0,50 wt.% de BT, conforme ilustram as Figuras 4.18 e 4.19. A amostra 050BT, apesar de apresentar a menor porosidade e baixo tamanho de cristalito, foi a que apresentou maior manutenção de h-HPA. Além disso, a amostra 050BT apresentou menor resistência mecânica, como consequência de uma estrutura defeituosa. Esses defeitos podem surgir de interações entre o titanato de bário, o DMSO, o PVA e a hidroxiapatita durante os processos de moagem, congelamento e liofilização, permitindo o surgimento de bolhas e trincas na região lamelar.

Uma vez saturado na região de poros alinhados, o titanato tende a se alojar na região mais inferior do *scaffold*, como ilustram as Figuras 4.10, 4.11, 4.18 e 4.19. Isso

promove uma menor densificação da região lamelar, refletindo em uma maior porosidade e menor resistência mecânica.

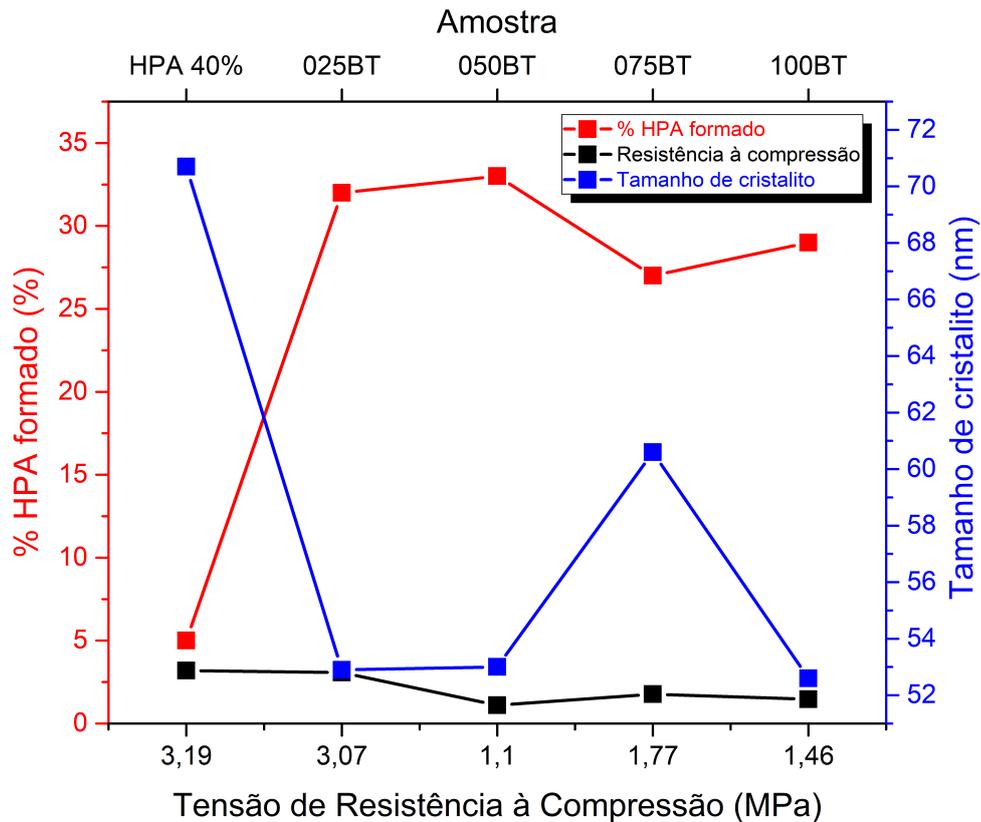


Figura 4.18 – Correlação entre o percentual de hidroxiapatita, tamanho de cristalito da hidroxiapatita e tensão de resistência à compressão para as amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.

Então, é possível concluir que entre 0,50 e 0,75 wt.% de BaTiO₃ na suspensão precursora de *freeze-casting*, há a ultrapassagem do limite de solubilidade do titanato na suspensão, que provoca a precipitação do mesmo. Este fato contribui também para a hipótese de que há ligações entre o titanato de bário e a hidroxiapatita antes mesmo do congelamento da suspensão. Tais interações potencialmente tem origem durante o processo de moagem da suspensão precursora (ZHANG et al., 2014).

A Figura 4.19 apresenta o diagrama de correlação entre porosidade, resistência mecânica e quantidade de titanato de bário para os lotes HPA 40% e modificados com titanato.

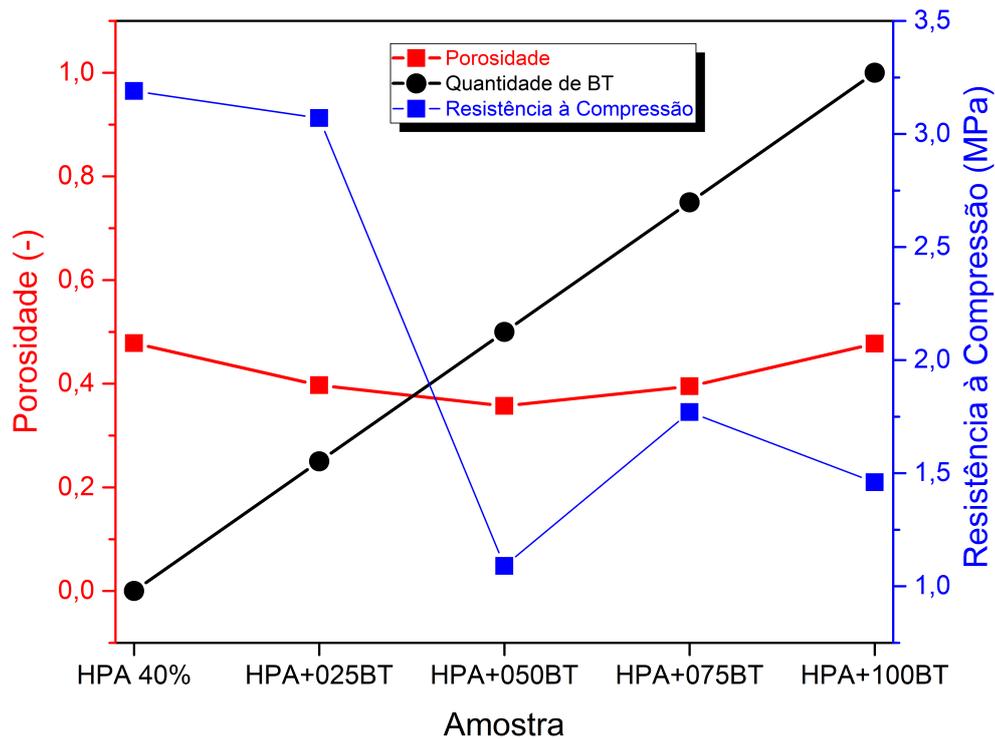


Figura 4.19 – Gráficos de correlação entre porosidade, resistência mecânica e composição das amostras HPA 40%, 025BT, 050BT, 075BT e 100BT.

Donde segue que, com o aumento do titanato de bário partindo-se de 0,75 wt.%, é possível observar uma recuperação na porosidade, de 39,5 para 47,7%. Simultaneamente, a resistência à compressão aumenta para 1,66 MPa e decai novamente para 1,46 MPa na amostra 100BT. O fato de a resistência à compressão decair uma última vez (entre a 075BT e a 100BT) é consequência direta do aumento da porosidade dos *scaffolds*, podendo estar relacionado também com o surgimento de defeitos provenientes de aglomerados menos homogêneos de titanato de bário, α -TCP e h-OCP (ZHANG et al., 2019).

4.2 Amostras BT/Zn/HPA

4.2.1 Caracterizações Físico-Químicas

Para as amostras modificadas com zinco metálico e titanato, foram observadas as formações de fases diferentes daquelas formadas nas amostras HPA+BT. Duas fases identificadas em todas as amostras foram o óxido de zinco na fase ZnO hexagonal, cujo código PDF é 04-003-2106, evidente pelos picos característicos em 34,4, 36,2, 47,5 e 56,6°, e a fase de hidroxiapatita hexagonal dopada com zinco, código ICSD 183743. Acerca desta última fase, os picos característicos estão dispostos em 25,7, 31,8, 32,1, 32,9, 39,8, 46,6

e 49,3°. A Figura 4.20 representa as fases principais encontradas em tais amostras. É importante ressaltar que as amostras de 5Zn+059BT e 10Zn+075BT mostraram a presença de α -TCP, tal qual as amostras HPA 40% e HPA+BT.

Comparando-se a amostra HPA 40% com as demais amostras do tipo BT/Zn/HPA, é possível perceber que há uma visível diferença tanto na intensidade dos picos como no FWHM, podendo caracterizar um indicativo de maior cristalinidade por parte das amostras BT/Zn/HPA. Além disso, os difratogramas com aspecto mais "limpo" se deve ao fato de as fases α -TCP e OCP apresentarem vários pequenos picos ao longo do intervalo avaliado. Com isso, pode-se concluir que as amostras HPA+BT apresentaram uma maior cristalinidade.

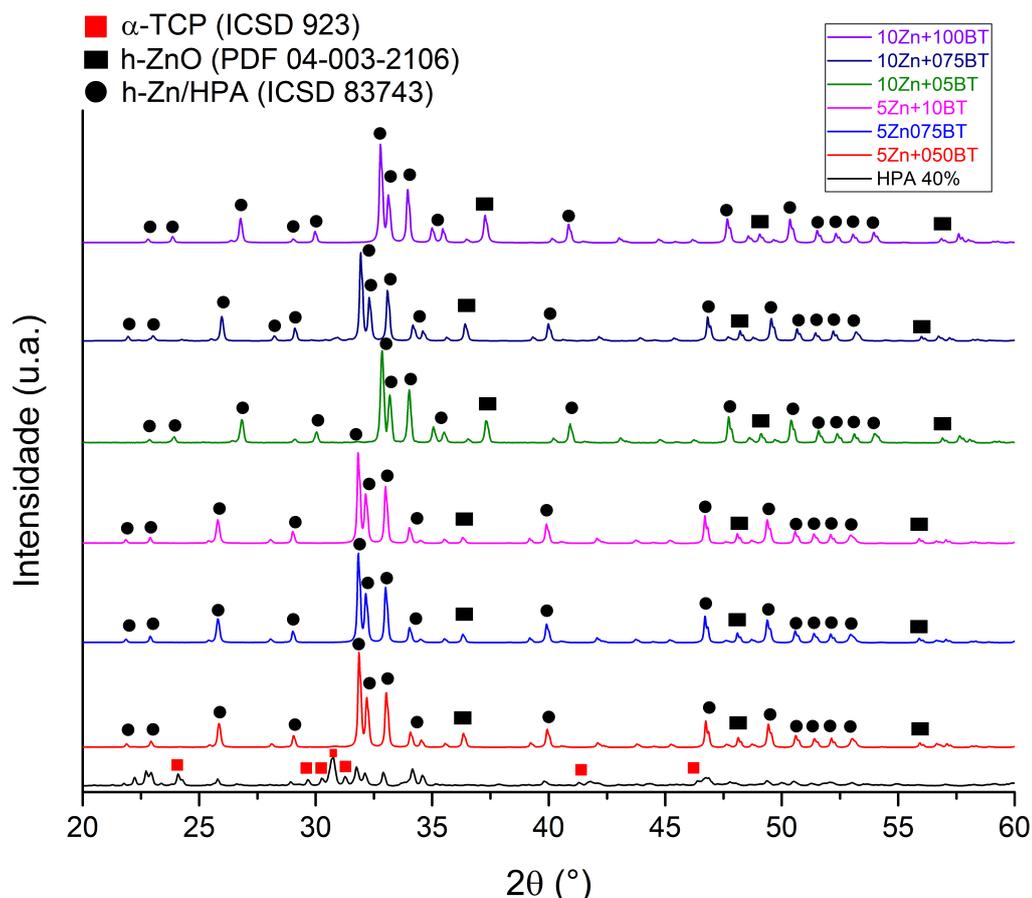


Figura 4.20 – Difratogramas das amostras com 5 e 10 wr.% de Zn e variados conteúdos de BaTiO₃.

Diante da Tabela 4, nota-se que apenas as amostras 5Zn+050BT e 10Zn+075BT apresentaram formação de α -TCP, e em baixas concentrações quando comparadas com a HPA 40% e as demais amostras HPA+BT. Em compensação, formou-se óxido de zinco em todas as amostras contendo zinco metálico na suspensão precursora, bem como a fase de hidroxiapatita dopada com zinco. A fase Zn/HPA pode ser uma fase de relativa dificuldade de obtenção, dependendo do método de fabricação (LI et al., 2008), mas mostrou-se efetiva e relativamente simples por meio do moinho de bolas.

Amostra	Composição Refinada	Parâmetros de Rede (nm)	Tamanho de Cristalito (nm)	χ^2 (-)
HPA 40%	76% m-alpha-TCP 19% h-OCP 5% h-HPA	a = 0,943 c = 0,694 (h-HPA)	70,7	1,89
5Zn+05BT	85% h-Zn/HPA 4% h-ZnO 11% m-alpha-TCP	a = 0,937 c = 0,688 (h-Zn/HPA)	70,7	1,61
5Zn+075BT	96% h-Zn/HPA 4% h-ZnO	a = 0,941 c = 0,691 (h-Zn/HPA)	70,7	1,64
5Zn+100BT	98% h-Zn/HPA 2% h-ZnO	a = 0,941 c = 0,691 (h-Zn/HPA)	70,7	1,80
10Zn+05BT	90% h-Zn/HPA 10% h-ZnO	a = 0,937 c = 0,688 (h-Zn/HPA)	47,1	2,00
10Zn+075BT	86% h-Zn/HPA 7% m-alpha-TCP 6% h-ZnO	a = 0,941 c = 0,690 (h-Zn/HPA)	60,7	1,83
10Zn+100BT	90% h-Zn/HPA 10% h-ZnO	a = 0,940 c = 0,691 (h-Zn/HPA)	60,7	2,32

Tabela 4 – Tabela contendo detalhes dos resultados mais importantes obtidos através da técnica de refinamento de Rietveld para os sistemas com 5% Zn e 10% Zn.

Pela Tabela 4, é possível notar que em relação à hidroxiapatita hexagonal dopada com zinco, a formação percentual desta fase variou de 85 a 96% nas amostras 5Zn+050BT e 5Zn+0750BT, respectivamente. Ao passo que o óxido de zinco manteve-se em 4% para as amostras com 5Zn+050BT e 5Zn+075BT, houve redução para 2% na amostra 5Zn100BT. Ademais, nas amostras com 10 wt.% Zn, observou-se uma maior formação de h-ZnO, de 10% para 10Zn+050BT e 10Zn+100BT, e redução para 7% na amostra 10Zn+075BTBT. Neste aspecto, o espécime 5Zn+100BT foi a que apresentou maior quantidade formada da fase Zn/HPA, tendo apenas 2% de fase secundária (h-ZnO). Por fim, apenas as amostras 5Zn+050BT e 10Zn+075BT apresentaram um percentual de α -TCP, nos valores de 11% e 6%, mostrando uma significativa redução na formação dessa fase em comparação com a HPA 40% e todas do tipo HPA+BT.

O fato de apenas duas amostras apresentarem a formação de trifosfato de cálcio pode estar relacionado com a distribuição de óxido de zinco nos *scaffolds*, daí o aparecimento dessa fase apenas na 5Zn+05BT, e não na 10Zn+05BT. Com uma distribuição não uniforme de zinco metálico no corpo verde, é possível que regiões pobres em Zn para dopagem surjam, e nessas regiões deve-se observar o processo usual de transformação da hidroxiapatita em trifosfato de cálcio, conforme supracitado.

Provavelmente existem flutuações de quantidade de ZnO nos monólitos com 10 wt.% de zinco metálico, visto que essas amostras apresentaram os maiores valores de χ^2 . Ademais, é visível pelos resultados de DRX (Figura 4.20 e Tabela 4) que o aumento da

quantidade de BT promove um aumento na formação da fase de Zn/HPA nas amostras com 5 wt.% Zn. Isto sugere uma maior estabilização dessa fase por parte do titanato de bário, de acordo com o que fora observado e discutido para os espécimes do tipo HPA+BT (Figura 4.1 e Tabela 2). Os mecanismos são potencialmente iguais tanto para os sistemas HPA+BT quanto para o Zn+BT, e potencialmente tem relação com a área superficial de BET do BaTiO₃. Por outro lado, com o aumento significativo de zinco metálico na suspensão precursora, não há aumento da quantidade de Zn/HPA formada, em consonância com a Tabela 4, por conta de uma menor estabilização promovida pelo BT na presença de 10 wt.% de Zn. Isto pode ser constatado ao averiguar igual formação de fases entre espécimes 10Zn+05BT e 10Zn+100BT na Tabela 4.

No tangente aos tamanhos de cristalito presentes na Tabela 4, foi possível observar um comportamento diferente do esperado, uma vez que todas as amostras de 5% Zn apresentaram o mesmo tamanho de cristalito, $d = 70,7$ nm, que corresponde também ao valor da amostra de referência (HPA 40%). Por outro lado, dos sistemas com 10% Zn, um apresentou uma redução expressiva, cujo menor valor fora de 47,1 nm (10Zn+050BT), enquanto os outros dois assumiram o valor de 60,7 nm. Tais tamanhos de cristalito foram calculados levando-se em consideração possíveis deslocamentos instrumentais.

A adição de 5% de zinco não modificou o tamanho de cristalito de Zn/HPA em relação à HPA 40%. Como sugerido, a fase Zn/HPA pode ser mais estável termicamente como um todo, daí a menor quantidade de α -TCP formada. Sendo assim, há também maior facilidade de nucleação, o que promove um direcionamento energético contra o crescimento dos cristais de Zn/HPA (TANK et al., 2011; DING et al., 2018). Ademais, a adição de 10 wt.% de zinco metálico provocou uma maior concentração de óxido de zinco, e conseqüentemente o óxido de zinco pode ter atuado como redutor de energia livre de superfície, daí facilita-se a nucleação em detrimento do crescimento de cristalito. Dessa maneira, o óxido de zinco só promove esse fenômeno em maiores quantidades, portanto maiores concentrações de zinco metálico são necessárias nas suspensões precursoras para que se obtenha este efeito, similar àquele observado na presença apenas de BaTiO₃.

Referente aos parâmetros de rede das fases HPA e Zn/HPA, na Tabela 4, nos espécimes contendo zinco e titanato, observou-se uma pequena mudança em ambos os parâmetros "a" e "c". De acordo com os dados apresentado nesta Tabela, o parâmetro "a" variou de 0,937 nm para a 5Zn+050BT até 0,941 nm para a 5Zn+075BT e a 5Zn+100BT. Relativo ao parâmetro "c", este variou de 0,688 a 0,691 nm nas amostras 5Zn+050BT a 5Zn+100BT respectivamente. Para as amostras 10Zn, os valores de "a" foram de 0,937 nm no espécime 10Zn+050BT a 941 nm na amostra 10Zn+075BT. Já o parâmetro "c" foi de 0,688 nm na 10Zn+050BT a 0,691 nm na 10Zn+100BT. Dessa forma, é visível que a substituição do zinco promoveu uma redução nos parâmetros de rede, que é uma evidência da dopagem de Zn²⁺ por meio da substituição do cálcio. Mais especificamente, a substituição ocorre potencialmente no sítio Ca2 em detrimento do sítio Ca1, aproximando-se os grupos hidroxila (TANG et al., 2009; GOMES et al., 2011), conforme o observado no

FTIR das amostras na Figura 4.21.

O mecanismo de incorporação do zinco à estrutura da hidroxiapatita é bastante interessante, podendo este átomo ser adsorvido pela superfície da hidroxiapatita ou realizar uma substituição em um dos dois sítios cristalográficos do Ca^{2+} (GOMES et al., 2011). Porém, o zinco preferencialmente promove substituições de cálcio na estrutura da h-HPA (MATSUNAGA et al., 2010), conforme mencionado.

Para enfatizar a discussão acerca de propriedades biológicas das fases encontradas, é importante destacar que a fase Zn/HPA apresenta vantagens em aplicações na Engenharia de Tecido Ósseo (OFUDJE et al., 2019), uma vez que há evidências que comprovam o aumento da contagem celular mesenquimal *in vitro* e *in vivo* em testes realizados (LI; SHI; LI, 2017), bem como propriedades antibacterianas e ausência de citotoxicidade em relação ao hospedeiro (SIRAJUNISHA; SAKTHIVEL; BALAKRISHNAN, 2021).

A Figura 4.21 apresenta os espectros FTIR para as amostras com 5 e 10 wt.% de Zn. Como as principais bandas referentes ao grupo fosfato foram mostradas na Figura 4.2, apenas as mudanças foram ressaltadas na Figura 4.21. As bandas em 729 e 813 cm^{-1} são referentes as ligações do tipo Zn-OH (TANK et al., 2011). Essas ligações ocorrem uma vez que o Zn^{2+} substitui o Ca^{2+} em seu sítio catiônico. A redução do raio iônico provocada por essa substituição é compensada por íons OH^- ou HPO_4^{2-} , daí o surgimento das interações Zn-OH (ELLIOTT, 1969). Além disso, uma mudança no modo de vibração nas bandas 553 e 633 cm^{-1} foi observada, condensando-se três bandas (HPA) em apenas duas.

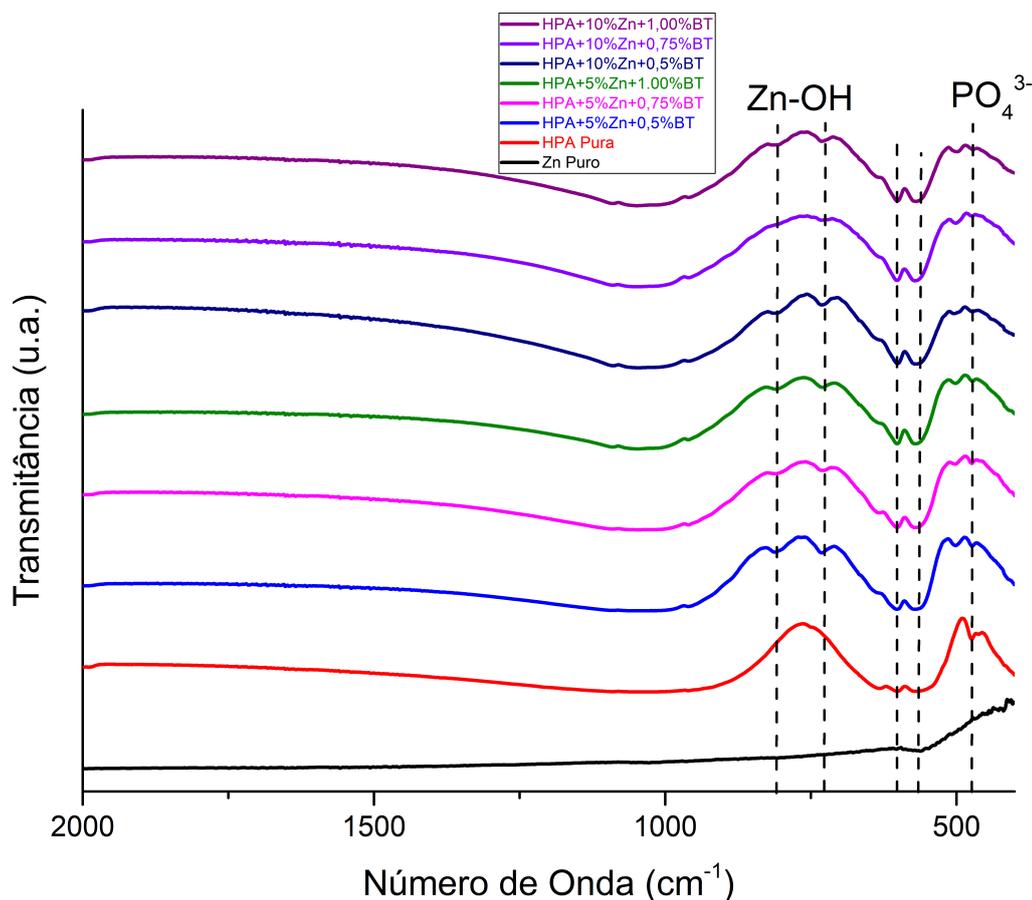


Figura 4.21 – FTIR das amostras modificadas com 5% e 10% de Zn e variadas concentrações de BaTiO₃.

O fato de praticamente não haver a presença de α -TCP e a ausência de h-OCP evidenciam que o mecanismo de substituição de Ca²⁺ por Zn²⁺, que provoca a formação de grupos do tipo Zn-OH e Zn-HPO₄²⁻, prevenindo a transformação da hidroxiapatita em α -TCP e/ou h-OCP (TANK et al., 2011; ELLIOTT, 1969). Comparativamente, o titanato de bário promove uma maior manutenção da fase h-HPA, porém o α -TCP mantém-se majoritário nas amostras apenas com titanato.

Não foi possível calcular a área superficial específica do ZnO por BET, levando a crer que sua área superficial seja muito inferior ao valor de 31,98 m²/g obtido para o BaTiO₃ por BET. Lançou-se mão, então, do modelo de DFT, que foi o mesmo daquele empregado para o titanato de bário. Os resultados encontram-se ilustrados pela Figura 4.22. Para o óxido de zinco, diferentemente da abordagem de BET, foi possível estimar a área superficial específica de 0,20 m²/g, com tamanho médio de poro de 12,55 nm e erro de ajuste de apenas 2,90%. Daí, conclui-se que o mecanismo de redução de tamanho de cristalito na HPA pelo ZnO ocorre a partir de concentrações de 10 wt.% de Zn na suspensão precursora, que por consequência forma uma maior quantidade de ZnO. Como a área superficial do BaTiO₃ é bem maior do que a do ZnO, então é natural que se necessite de menos titanato do que ZnO para que ocorram interações de superfície BaTiO₃-HPA

semelhantes àquelas em ZnO-HPA.

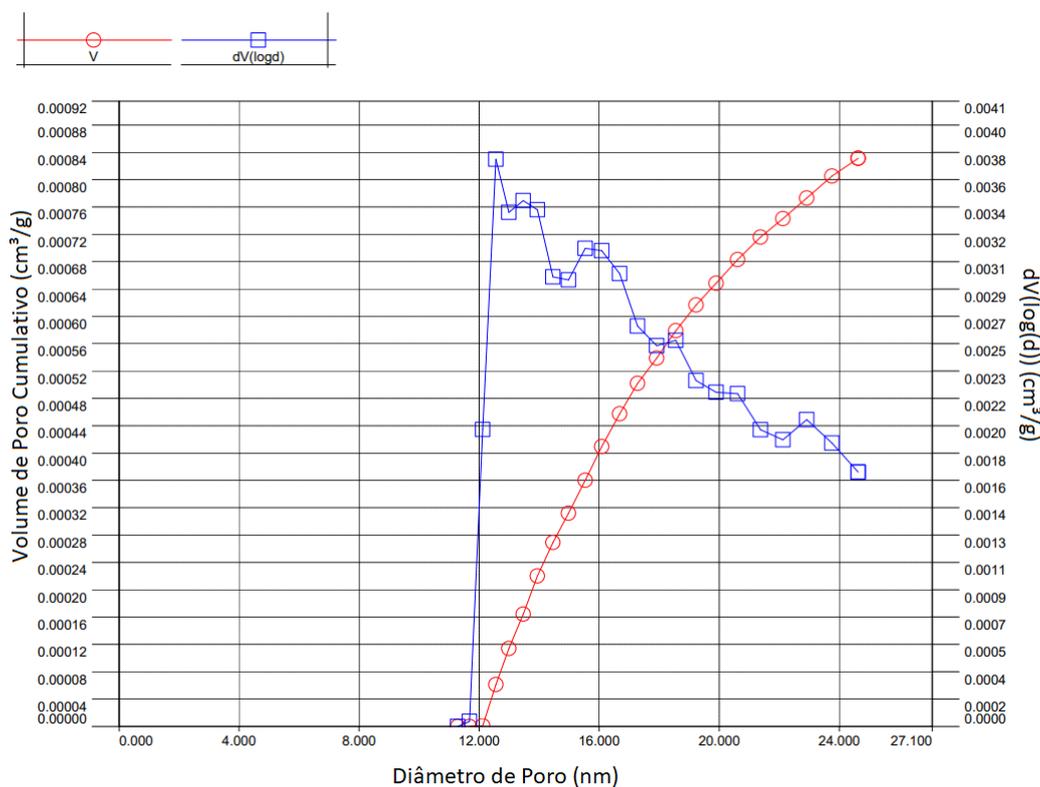


Figura 4.22 – Diagrama da distribuição de tamanho de poro por NLDFT da amostras de ZnO puro.

Finalmente, conclui-se que a contração promovida pelo zinco nos parâmetros de rede da hidroxiapatita podem levar a uma maior dificuldade de interação da Zn/HPA com o titanato de bário, ao passo em que a baixa área superficial do ZnO não promove redução significativa na energia de nucleação quando em concentração de 5 wt.%. A dificuldade na interação da Zn/HPA com o titanato de bário se relaciona com a aproximação dos grupos hidroxila, que é consequência da introdução do Zn^{2+} na rede da HPA, conforme previamente mencionado (TANG et al., 2009). Consequentemente, há um aumento na intensidade do dipolo elétrico necessário para a interação das duas espécies.

4.2.2 Caracterização Morfo-Mecânica

Assim como o procedimento abordado para amostras HPA 40% e HPA+BT, as amostras BT/Zn/HPA terão suas características morfo-mecânicas avaliadas, inicialmente, pelos resultados de porosidade e tamanho médio de poros. Por meio dos resultados de μ -CT, expostos na Tabela 5, dentre as amostras com 5 wt.% de Zn, aquela com maior porosidade e simultaneamente menor tamanho médio de poro fora a 5Zn+050BT. Esta amostra, conforme a Tabela 5, exibiu 43,3% de porosidade e tamanho médio de poro de 152,2 μ m. Por outro lado, ainda pela Tabela 5, as amostras 5Zn+075BT e 5Zn+100BT apresentaram porosidade, ambas próximas a 36%, e tamanho médio de poros de 160,7 e

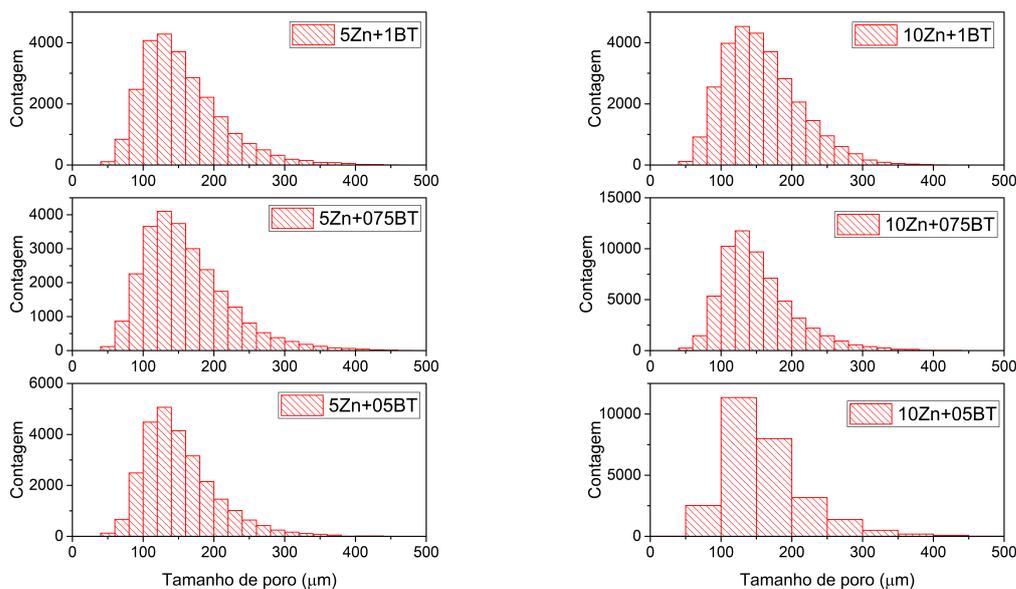
155,6 μm , respectivamente. Dentre as amostras com 10 wt.% de Zn, o tamanho de poros foi de 160,8, 152,2 e 127,8 μm , respectivamente. A porosidade variou de 34,1% na amostra 10Zn+05BT, a menor porosidade dentre todos os 13 lotes fabricados, até 42,3% na amostra 10Zn+75BT, enquanto a porosidade da amostra 10Zn+100BT fora de 39,8%.

Amostra	Porosidade (%)	Tamanho Médio de Poro (μm)
HPA 40%	47,8	142,3
5Zn+050BT	43,3	152,2
5Zn+075BT	35,7	160,7
5Zn+100BT	36,1	155,6
10Zn+05BT	34,1	160,8
10Zn+075BT	42,3	152,1
10Zn+100BT	38,9	157,8

Tabela 5 – Porosidades percentuais aproximadas e tamanho médio de poro para as amostras de 5 e 10% Zn.

Ainda avaliando-se a Tabela 5, nota-se que, para 5 wt.% de zinco, o titanato promove uma redução de porosidade em comparação com a amostra HPA 40%, assim como o que fora observado para as amostras sem Zn. Novamente, observam-se mudanças de comportamento na porosidade e no tamanho de poro entre a 5Zn+050BT e a 5Zn+075BT, e entre a 5Zn+075BT e a 5Zn+100BT. A redução na porosidade e o aumento do tamanho médio de poro é explicado, conforme supracitado, por meio da saturação do titanato de bário em concentrações de 0,75 wt.% e o início de um novo comportamento para as amostras em 1,00 wt.%. Neste caso, porém, o tamanho de cristalito se mantém igual ao da amostra HPA 40%, sugerindo que o óxido de zinco formado com 5 wt.% de Zn possa ter influenciado na nucleação e crescimento de grãos, e não dos cristalitos. Essa evidência corrobora com a ideia de que, em determinadas proporções de ZnO para BT, pode haver anulamento mútuo do efeito de redução de cristalito. Isso explica também a redução no tamanho de cristalito dos sistemas 10Zn, cujo mecanismo preferencial de redução de cristalito é promovido pelo ZnO. Ressalta-se que a dinâmica de nucleação e crescimento de grãos relaciona-se com a dinâmica de nucleação e crescimento de cristalitos.

As distribuições de tamanho de poro para todas as amostras contendo zinco e titanato de bário podem ser observadas na Figura 4.23. As análises que serão extraídas são análogas às aquelas obtidas para sistemas de HPA e HPA+BT.



(a) 5Zn+050BT, 5Zn+075BT e 5Zn+100BT. (b) 10Zn+050BT, 10Zn+075BT e 10Zn+100BT

Figura 4.23 – Distribuição de tamanho de poro para as amostras com (a) 5 wt.% de Zn e (b) 10 wt.%.

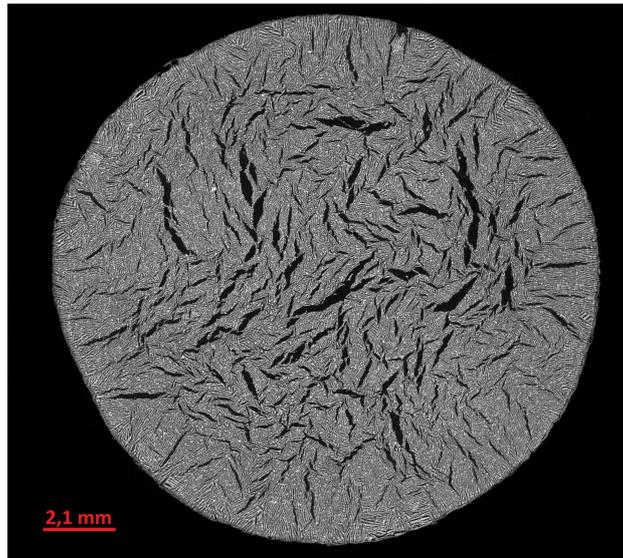
Tal qual o observado para amostras HPA 40% e HPA+BT, a distribuição de tamanho de poros apresenta uma gama de valores, o que é interessante para aplicações em regeneração de tecido ósseo. Isso decorre do fato de ossos de mamíferos apresentarem distribuição de poros ampla, permitindo o crescimento de estruturas condronais em poros de 20 a 80 μm , estruturas ósseas em poros de 80 a 200 μm e tecido vascular acima de 200 μm (YAO et al., 2021).

Para maiores elucidacões morfo-mecânicas, é necessário avaliar a formação de trincas e aglomerados nos lotes 5Zn e 10Zn. Primeiramente, os cortes transversais das regiões lamelares das amostras 5Zn serão apresentados, conforme a Figura 4.24.

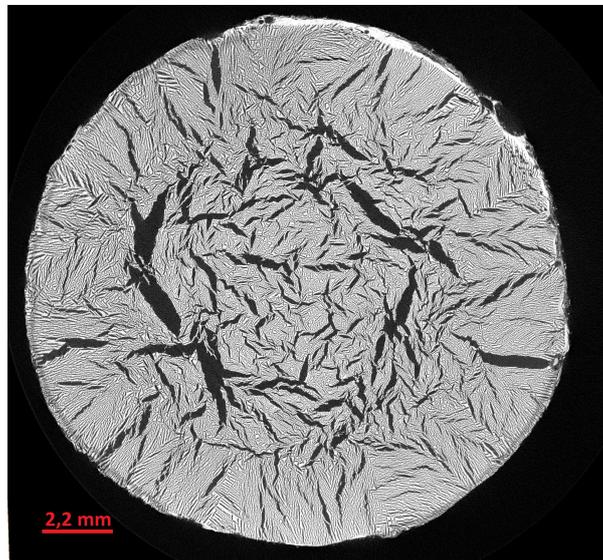
Obsevando-se a Figura 4.24, nota-se que a menor quantidade de trincas é vista na amostra 5Zn+100BT, seguido por 5Zn+050BT. A amostra com pior performance fora, em termos de trincas, a 5Zn+075BT, e essa tendência pôde ser observada nos sistemas HPA+BT, nas Figuras 4.10 e 4.11. Entretanto, com a adição de 5 wt.% de zinco, foi possível observar um aumento das trincas no volume da região lamelar da 5Zn+075BT, conforme visível na Figura 4.24. Todavia, essas trincas aparentam ser menos numerosas do que aquelas formadas na 5Zn+050BT. Esse comportamento pode sugerir dois fenômenos distintos: uma maior solubilização do titanato de bário na suspensão precursora modificada com Zn (o que sugere também que a dopagem com Zn pode ocorrer ainda no processo de moagem durante o preparo); ou pode sugerir que a densidade da suspensão precursora aumentou com a formação da fase Zn/HPA, e assim uma maior quantidade de titanato pode ser dispersa na região lamelar antes que se observe uma precipitação considerável.

Decerto, visto que as hidroxilas da fase HPA tendem a se aproximar com as substituições de zinco (TANG et al., 2009; GOMES et al., 2011), é mais provável que a explicação do aumento da densidade seja mais fiel à realidade. Tal hipótese também tem como fundamentação a redução nos parâmetros de rede proporcionados pela substituição de Ca^{2+} por Zn^{2+} , além de promover um aumento na massa atômica total da célula unitária. Uma maior massa atômica total de uma célula unitária provoca uma maior massa específica do material (CALLISTER, 2019). Há também a redução no volume da célula unitária, como reflexo das contrações dos parâmetros de rede dispostos na Tabela 4. A redução do volume da célula unitária também provoca aumento na massa específica do material.

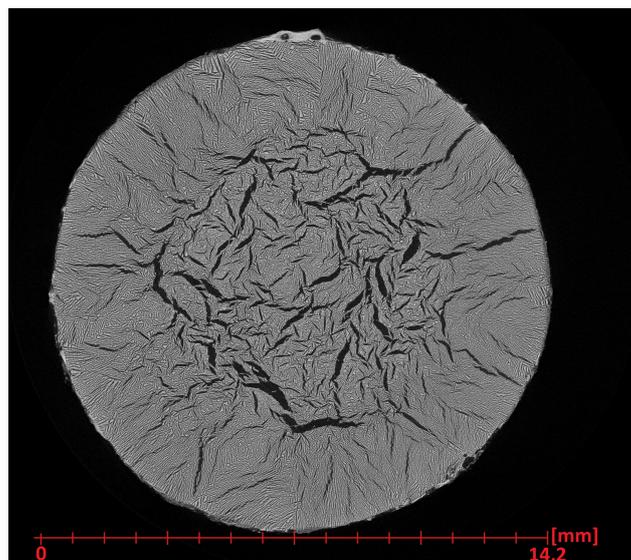
Ao prosseguirmos para as amostras do sistema 10Zn, como ilustra a Figura 4.25, é possível ver que, diferentemente do observado no sistema 5Zn, a amostra com menor quantidade e tamanho de trincas fora a 10Zn+075BT. Denotando-se que o efeito do titanato de bário previamente discutido é reduzido quando se dobra de 5 para 10 o percentual em massa de Zn na suspensão precursora. Isso pode ter ocorrido, tanto nas amostras 5Zn como 10Zn, devido ao fato de que o PVA liga-se à hidroxiapatita através dos grupos hidroxila de ambos os materiais (SHALYGINA et al., 2024). Então, a aproximação das hidroxilas da fase Zn/HPA reduz a interação entre esta fase e o PVA, o que fragiliza o corpo verde durante a liofilização. Uma vez mais, assim como o observado para os espécimes dos lotes HPA+BT, trincas de liofilização resultam na morfologia observada nas Figuras 4.24 e 4.25. Daí, diferentes formas de aumentar a interação entre o PVA e a Zn/HPA devem ser buscadas para maiores investigações acerca de propriedades morfo-mecânicas.



(a) Amostra 5Zn+050BT.

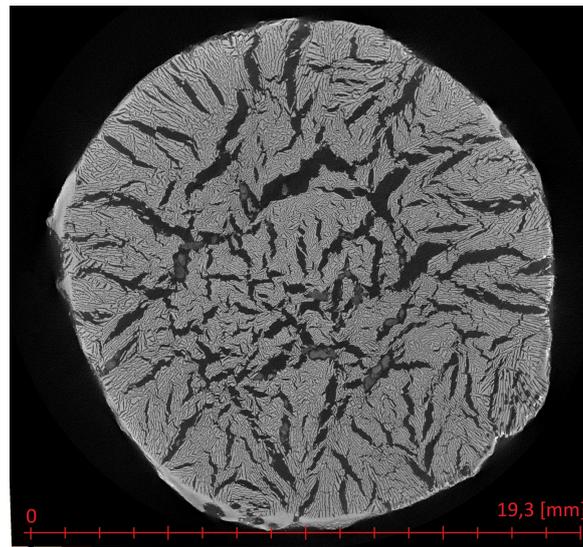


(b) Amostra 5Zn+075BT.

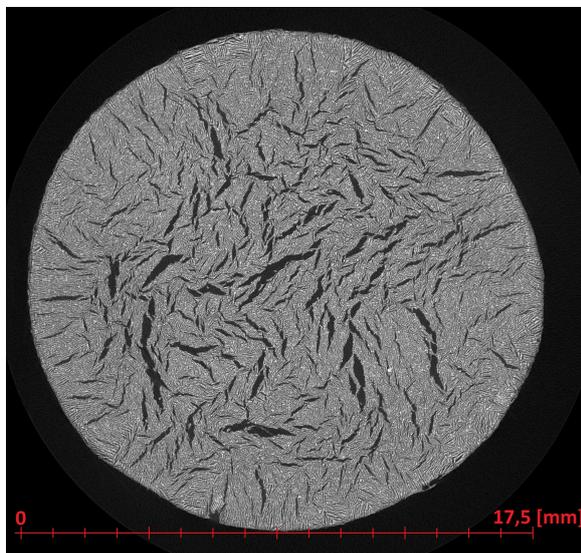


(c) Amostra 5Zn+100BT.

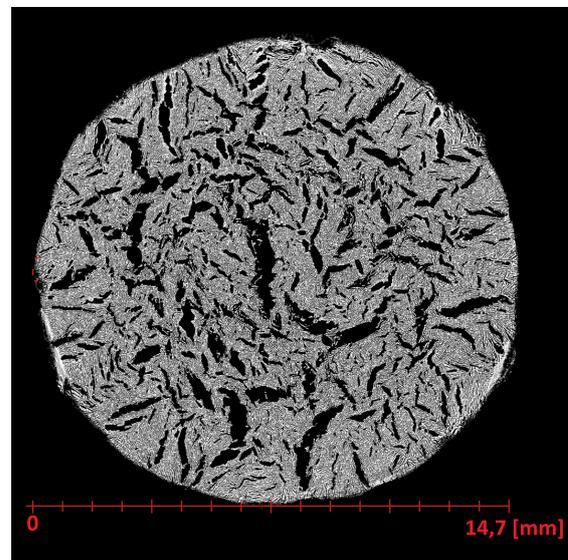
Figura 4.24 – Corte transversal da seção lamelar das amostras (a) 5Zn+050BT, (b) 5Zn+075BT e (c) 5Zn+100BT.



(a) Amostra 10Zn+050BT.



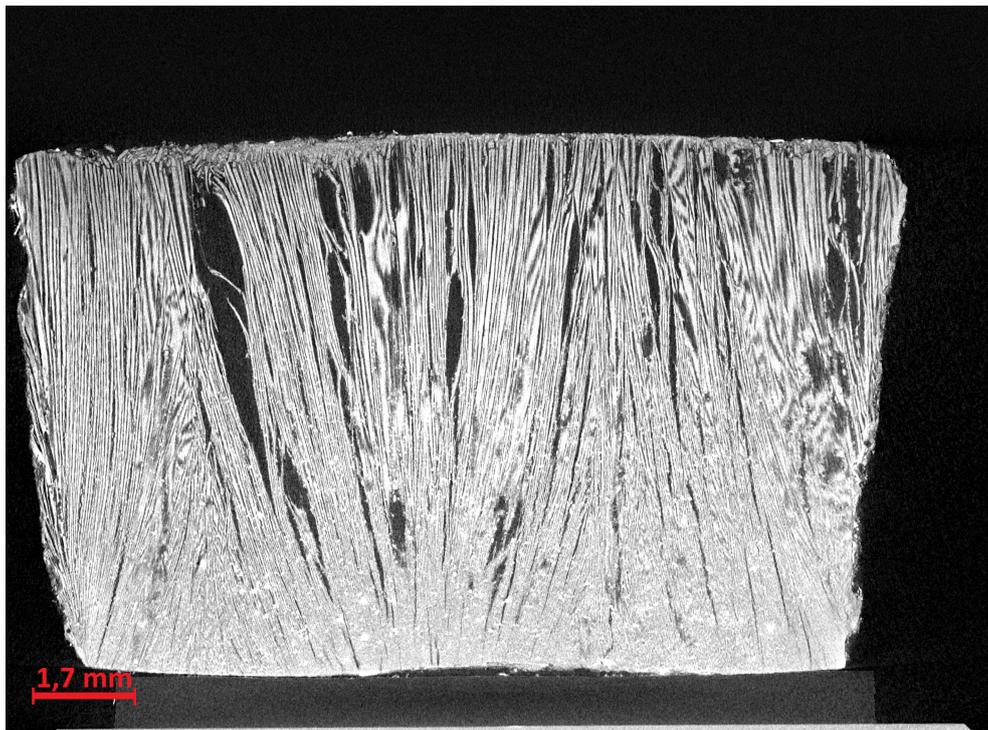
(b) Amostra 10Zn+075BT.



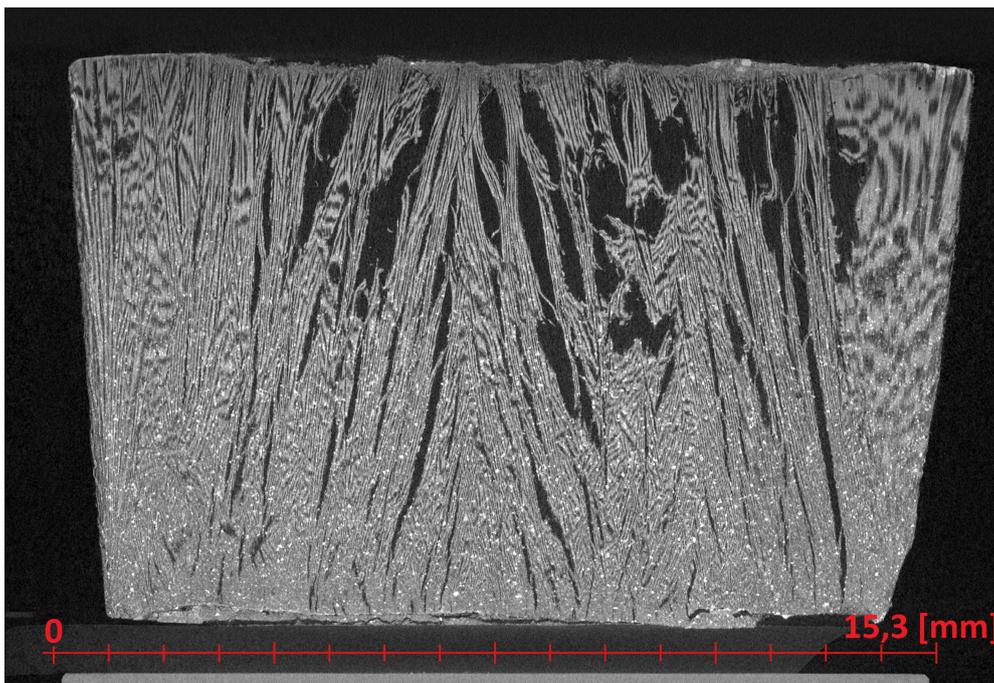
(c) Amostra 10Zn+100BT.

Figura 4.25 – Corte transversal da seção lamelar das amostras (a) 10Zn+050BT, (b) 10Zn+075BT e (c) 10Zn+100BT.

Para avaliar a influência da adição de zinco metálico na formação de aglomerados, a Figura 4.26 representa as amostras 5Zn+075BT e 10Zn+075BT. É visível há maior formação de aglomerados naquela com 10 wt.% de zinco, evidência que corrobora na identificação de fases feita por DRX, já que o óxido de zinco é mais denso do que as demais fases de fosfato de cálcio formadas. De fato, há a presença de titanato de bário nos aglomerados, mas que mantém-se igual em ambas as amostras.



(a) Amostra 5Zn+075BT.



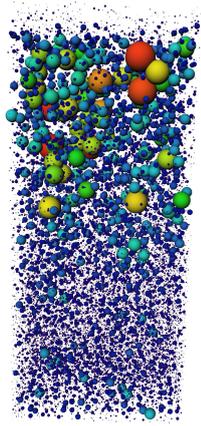
(b) Amostra 10Zn+075BT.

Figura 4.26 – Comparação de aglomerados nas amostras (a) 5Zn+075BT e (b) 10Zn+100BT em corte longitudinal.

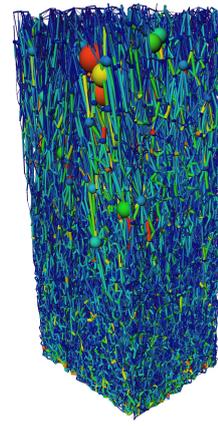
Ainda sobre a Figura 4.14, é possível notar que, assim como observou-se para todas as outras amostras (Figuras 4.15, 4.27 e 4.28), há uma grande conectividade entre os poros. Também é visível um alinhamento longitudinal de porosidade, característico do crescimento lamelar. Algumas amostras são consistentes com a morfologia de bolhas e trincas no plano transversal mediano, como é o caso da BT075 e da BT100 (Figuras 4.15

(e) a 4.15 (h)), e em consonância com o que se observou nas Figuras 4.26 (a) e (b). É possível reparar em alguns casos, como para a HPA 40%, 10Zn+050BT e a 10Zn+100BT (Figuras 4.14 (a) e (b) e Figuras 4.28 (a), (b), (e) e (f)), que há a presença de defeitos na região inferior dos sub-volumes em análise. Sabendo-se que os sub-volumes foram extraídos do centro da amostra, do topo à base, na mesma orientação em que o modelo dos monólitos se encontrava, pode-se inferir que esses defeitos pertencem à região densa das mesmas.

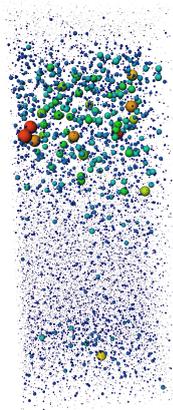
Dessarte, as Figuras 4.26 (a) e (b) também ajuda a elucidar a representação do PNM de poros na região densa dos monólitos 10Zn+050BT, 10Zn+075BT e 10Zn+100BT. Conforme previamente mencionado, esses defeitos surgem da mudança da interação com o PVA promovida pelo zinco na estrutura da HPA, que afeta a estrutura obtida após a liofilização, gerando trincas e bolhas. Estes defeitos, quando possuem ordem de grandeza similar ao espaçamento interlamelar pode ser contabilizado como um poro efetivo na modelagem de rede de poros, daí surge a representação de poros em região não porosa. Claramente, alguns desses defeitos podem ser observados nas Figuras 4.24 e 4.25.



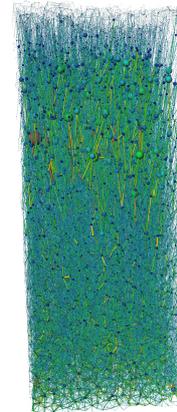
(a) 5Zn+050BT.



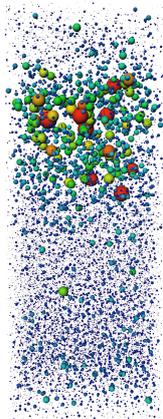
(b) 5Zn+050BT.



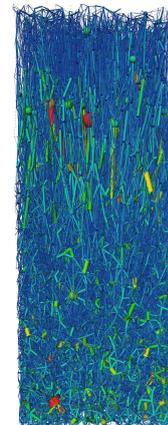
(c) 5Zn+075BT.



(d) 5Zn+075BT.



(e) 5Zn+100BT.



(f) 5Zn+100BT.

Figura 4.27 – Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas com 5% zinco metálico e titanato de bário.

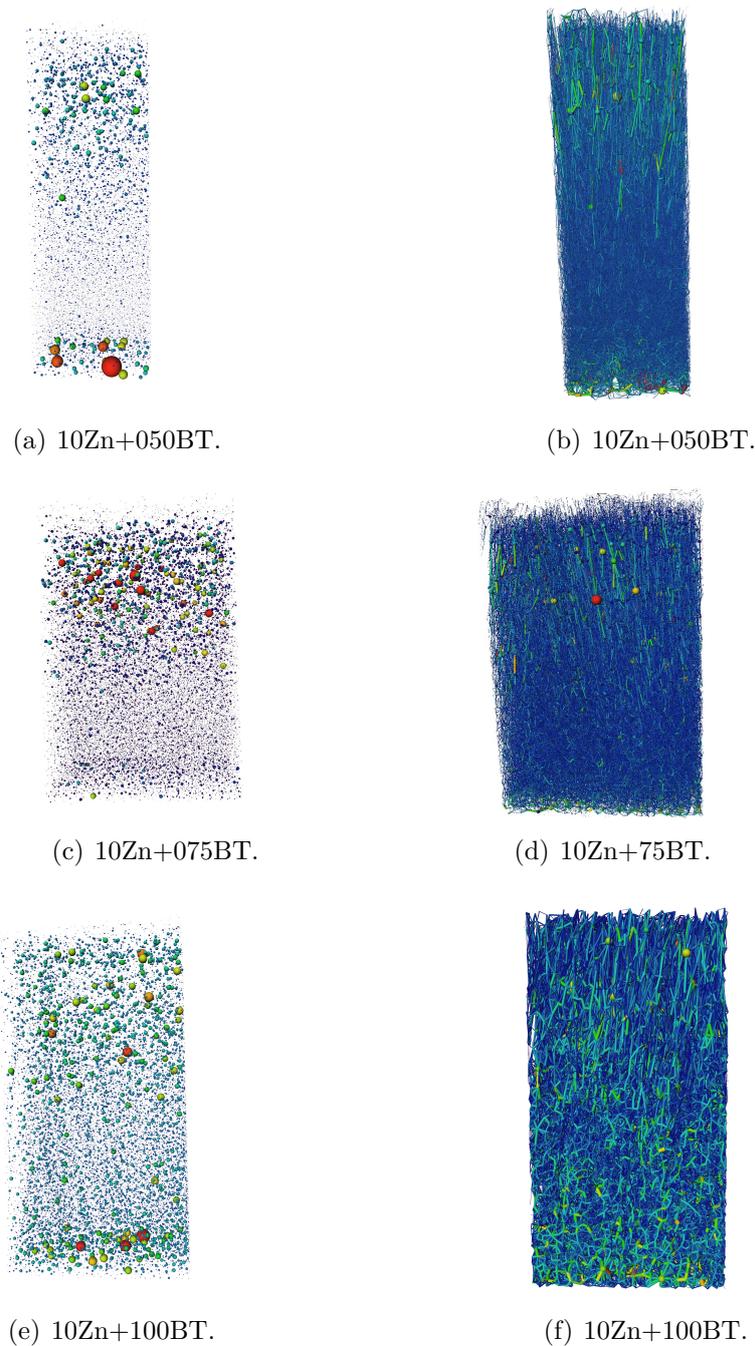
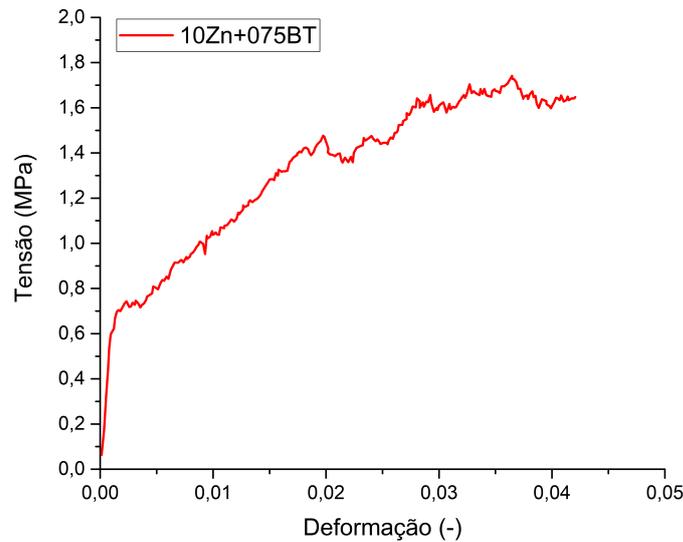


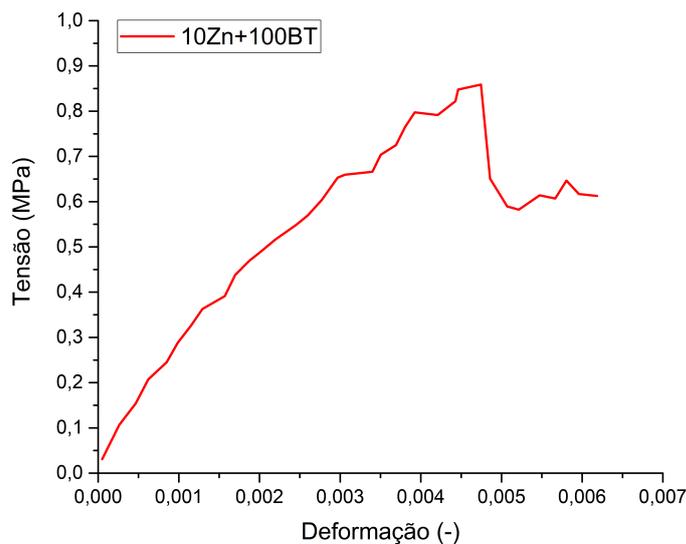
Figura 4.28 – Modelagem de rede de poros com e sem a visualização de canais de conexão entre poros, para as amostras modificadas com 10% zinco metálico e titanato de bário.

Em seguida, para compreender a influência do zinco nas amostras de HPA+BT, faz-se necessário avaliar o comportamento sob compressão mecânica das amostras BT/Zn/HPA. A Figura 4.29 mostra dois exemplos de curvas Tensão VS Deformação, no caso, para a 10Zn+075BT e a 10Zn+100BT. Neste exemplo, é interessante observar que o comportamento das amostras muda sob compressão, o que pode ser um indicativo de alterações estruturais promovidas pelo aumento de titanato de 0,75 para 1,00 wt.% com zinco a 10 wt.%. Os espécimes 10Zn+075BT apresentaram menor formação da fase Zn/HPA, apresentando também um percentual de α -TCP. Por outro lado, o espécime do lote 10Zn+100BT

mostrou maior percentual de Zn/HPA e ZnO.



(a) Amostra do lote 10Zn+075BT.



(b) Amostra do lote 10Zn+100BT.

Figura 4.29 – Diagramas de Tensão VS Deformação das amostras (a) 10Zn+075BT e (b) 10Zn+100BT.

Uma possível explicação para a diferença na resistência mecânica reside na morfologia dessas amostras, conforme explicitado na Figura 4.25. A maior presença de trincas reduz a tensão de resistência à compressão. Para maiores fins comparativos, a Figura 4.30 apresenta os valores médios de tensão de ruptura para amostras dos diversos lotes produzidos. Nesta imagem verifica-se que não há diferença significativa de resistência à compressão entre 10Zn+050BT, 10Zn+075BT e 10Zn+100BT. Isso leva a crer que as diferenças observadas nos diagramas de Tensão VS Deformação se devem a discrepâncias

de fabricação entre os corpos de prova de um mesmo lote, já que não houve mudança na resistência de compressão com o aumento da concentração de BT nos sistemas do tipo 10Zn.

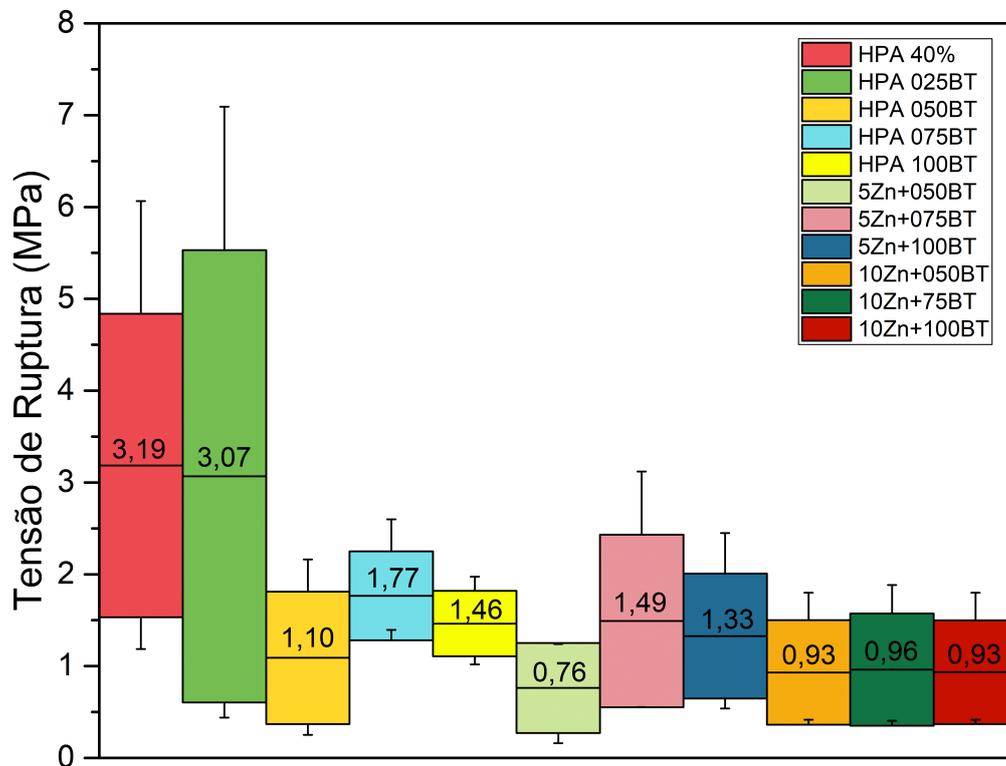


Figura 4.30 – Gráfico de caixas para resistência à compressão dos lotes produzidos, em que a tensão média de cada lote está representada acima da linha média de cada caixa. As linhas verticais marcam os valores máximo e mínimo de cada tensão, enquanto o comprimento das caixas são referentes ao desvio padrão de cada lote de amostras.

Por outro lado, ao adicionar-se 5 wt.% Zn nas suspensões com 0,50 wt.% BaTiO₃, observou-se uma redução considerável na resistência à compressão em comparação com a 050BT. Isso pode ser explicado pelo fato de defeitos maiores e mais numerosos surgirem mais frequentemente neste tipo de lote do que nas amostras do lote 050BT. Possivelmente, esses defeitos são consequência de uma menor homogeneidade do titanato ou devido às interações reduzidas com o PVA (SHALYGINA et al., 2024).

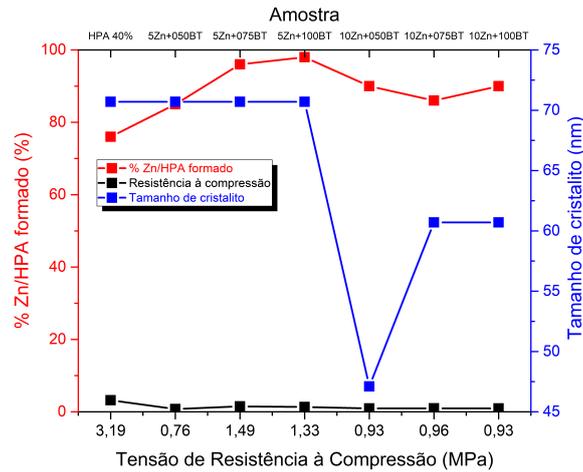
Com o aumento da adição de BT para 0,75 wt.% nos sistemas de 5Zn, observa-se um aumento de 0,76 MPa para 1,49 MPa, possivelmente como consequência de uma maior homogeneidade estrutural promovida pelo titanato. Entretanto, a concentração ainda não é alta o suficiente para reduzir consideravelmente o desvio padrão, fazendo com que surjam amostras com resistências consideravelmente menores e consideravelmente maiores. Daí, ao aumentar novamente o BaTiO₃ para 1,00 wt.% percebe-se uma redução na tensão média de resistência à compressão, ao passo em que diminui-se o desvio padrão. Nesse caso, como não há uma variação considerável na formação de fases, a redução da tensão média de compressão reduz como em consequência da maior concentração de titanato na

região densa da amostra. A deficiência de titanato na região lamelar promove uma menor densificação dessa região, e conseqüentemente menor resistência mecânica.

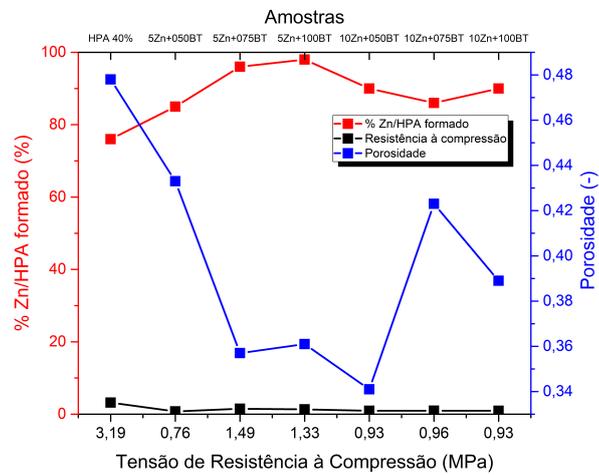
Há evidências de que a composição ZnO+HPA pode formar um material resultante com maior resistência à compressão e maior dureza, para o caso de nanopartículas de ZnO (HEIDARI et al., 2020), entretanto, a observação de uma redução significativa da resistência à compressão nos lotes contendo 5 e 10 wt.% de zinco indicam duas possibilidades: a interação precária entre PVA e Zn/HPA na suspensão precursora provocou defeitos estruturalmente comprometedores; O comportamento do material sólido difere daquele observado em nanopartículas por Heidari (HEIDARI et al., 2020).

De fato, a tensão de compressão é dependente da força aplicada e da área na qual aplica-se a força. Daí, algumas explicações podem surgir para a variabilidade das amostras dentro dos lotes, como a qualidade do lixamento em termos de planicidade, variações no diâmetro dos monólitos e defeitos de fabricação. Foi observado que, de forma geral, as amostras com 10 wt.% de zinco apresentaram uma estreita variação de diâmetro, de forma que a maioria dos monólitos medidos apresentaram cerca de 12,3 mm, em comparação com o lote HPA 40%, cujos diâmetros variaram entre 11 e 14 mm. Esse fenômeno evidencia que há uma maior confiabilidade em termos estatísticos nos lotes do tipo 10Zn. Observou-se também que monólitos com 10 wt.% de Zn apresentaram aspecto mais homogêneo em relação aos demais lotes produzidos.

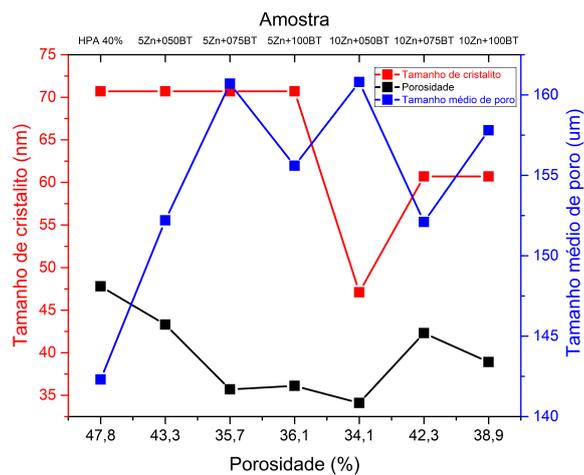
Para maior compreender a correlação entre propriedades nas amostras fabricadas, a Figura 4.31 apresenta os diagramas de correlação entre porosidade, resistência mecânica, tamanho médio de poro e percentual de Zn/HPA formada. É interessante ressaltar que, apesar de a literatura mostrar que tanto o titanato quanto o ZnO promovem redução de tamanho de cristalito (TANK et al., 2011; JIAO et al., 2020), as amostras 5Zn apresentaram mesmo tamanho de cristalito que a HPA 40%, que fora explicado como um mecanismo mutuamente excludente quando se misturam ambos Zn e BaTiO₃ em determinadas concentrações, conforme previamente abordado. Ademais, a correlação entre porosidade e resistência mecânica aparenta ter um comportamento inversamente proporcional, em acordo com a expectativa. O comportamento do tamanho de poro é dependente da homogeneidade do BaTiO₃ e do ZnO na estrutura dos *scaffolds* produzidos, que também relaciona-se com a densidade da suspensão precursora, consonante com o prévio exposto neste trabalho.



(a) Correlação % Zn/HPA - Tensão de Compressão - Tamanho de cristalito.



(b) Correlação % Zn/HPA - Tensão de Compressão - Porosidade.



(c) Correlação Tamanho de cristalito - Porosidade - Tamanho médio de poro.

Figura 4.31 – Gráficos de correlação (a) % Zn/HPA - Tensão de Compressão - Tamanho de cristalito, (b) Tamanho de cristalito - Porosidade - Tamanho médio de poro e (c) Tamanho de cristalito - Porosidade - Tamanho médio de poro.

5 Conclusões

Diante dos resultados expostos e das discussões propostas no Capítulo 4, é possível extrair algumas conclusões para o presente trabalho desenvolvido. Primordialmente, frisa-se que monólitos de hidroxiapatita foram fabricados. Do ponto de vista do custo-benefício, as amostras contendo uma carga de hidroxiapatita de 40% de volume em relação ao volume total da suspensão precursora demonstrou-se a melhor opção, visto que a porosidade manteve-se adequada para aplicações de regeneração de tecido ósseo, com um valor médio de 47%, tamanho de poro de 142,3 μm e resistência à compressão de 3,19 MPa. Não foram identificadas fases potencialmente prejudiciais ou inertes na fabricação dessas amostras por *freeze-casting*, sendo assim, dados os devidos estudos biológicos, este pode configurar um material passível de protagonizar a fabricação enxertos ósseos.

Além da avaliação da melhor carga de hidroxiapatita nos monólitos puros, foi possível avaliar também a fabricação de monólitos por *freeze-casting* utilizando-se moldes de cobre. Estes moldes se mostraram inadequados para a fabricação à temperatura de -130 °C dos pontos de vista de morfologia da rede de poros e resistência mecânica, uma vez que a alta densificação nas laterais e inferior dos monólitos produziram uma rede de poros menos conectada, que em conjunto com os pronunciados defeitos decorrentes do rechupe produziram amostras frágeis e com baixa qualidade geral.

Em seguida, a adição de titanato de bário mostrou-se efetiva em relação à formação da fase hidroxiapatita. De fato, a amostra HPA 40% demonstrou uma boa resistência mecânica quando comparada às demais amostras, entretanto, identificou-se baixa manutenção de hidroxiapatita, com preferência pela transformação de h-HPA em h-OCP e α -TCP. Além disso, a adição de 0,25 wt.% titanato de bário gerou a melhor dentre as amostras em termos de compressão mecânica. Em outras palavras, a amostra 025BT apresentou resistência à compressão média de 3,07 MPa, e o melhor espécime superou os 7 MPa, com porosidade média de 39,7% e tamanho médio de poro de 119,9 μm . Acima de 0,25 wt.% de BaTiO₃, as amostras aumentaram gradativamente a porosidade o tamanho médio de poros, e a 100BT apresentou o maior tamanho de poro dentre todos os espécimes fabricados, com 181,1 μm . Daí, conclui-se que o aumento da quantidade de titanato reduz a degradação da HPA acima de 1100 °C e aumenta tanto a porosidade quanto o tamanho médio de poros. As propriedades obtidas pelos sistemas contendo HPA+BT demonstram potencial para utilização em biomateriais em termos físico-químicos e morfo-mecânicos,

necessitando-se de maiores caracterizações biológicas para que se prossiga com testes *in vitro*.

Por fim, com relação à adição de zinco, alguns fenômenos interessantes foram observados: houve uma maior constância nos diâmetros dos monólitos produzidos, bem como na homogeneidade dos mesmos em comparação com todos os outros lotes, apesar de ter sido observado uma brusca queda na resistência à compressão mecânica, principalmente nas amostras com 10 wt.% de zinco. Essa queda de resistência mecânica discorda do que é abordado na literatura, e muito provavelmente se deve à morfologia dos monólitos produzidos, e não sobre algum mecanismo microestrutural de fragilização de amostras. Essa queda acompanha a brusca mudança de fases observadas nessas amostras, as quais formaram majoritariamente HPA dopada com zinco, resíduos de óxido de zinco e α -TCP. É possível que a fase Zn/HPA possua uma menor resistência à compressão em ensaios do tipo *quasi*-estáticos, necessitando-se de outras taxas de avanço para extrair maiores conclusões. Observou-se, também, que o aumento da concentração de zinco promove uma gradual redução de porosidade nos espécimes. Como o ZnO é um potencial biomaterial, porém com devidos resguardos em relação à citotoxicidade atrelada ao tamanho de partícula, é possível que mais estudos acerca da melhoria resistência à compressão sejam realizados em monólitos produzidos via *freeze-casting*.

Por fim, observou-se que pode existir um mecanismo de anulamento mútuo no efeito de redução de tamanho de cristalito para certas proporções de óxido de zinco e titanato. Além disso, observou-se que a adição de zinco provoca mudança nas interações entre a hidroxiapatita dopada e o ligante PVA. Como foi possível incorporar o zinco à hidroxiapatita, o sistema dopado que apresenta maior potencial em aplicações para Engenharia de Tecido Ósseo foi o sistema 5Zn+100BT, que apresentou valores razoáveis tanto de resistência à compressão como desvio padrão para a fabricação de enxertos cerâmicos, além de apresentar baixa formação de fase secundária (2% de ZnO).

Dessarte, é possível propor uma série de investigações visando o aperfeiçoamento das técnicas aqui empregadas, tais como: estudar outras possíveis configurações para o aparato de *freeze-casting*; analisar concentrações de titanato de bário no intervalo de 0 a 0,25 wt.% de BaTiO₃, como forma de investigar o comportamento da porosidade e da resistência à compressão mecânica; a observação do efeito da taxa de carregamento no ensaio de resistência mecânica dos monólitos fabricados com as concentrações sugeridas neste trabalho; Avaliar a influência da temperatura de sinterização na resistência mecânica e na porosidade dos monólitos produzidos por *freeze-casting*, bem como a dinâmica de formação de fases em cada temperatura; buscar por possíveis novos materiais ou otimizar as concentrações aqui sugeridas, de modo a incrementar a resistência à compressão dos espécimes contendo a fase Zn/HPA; por último, detalhar o comportamento biológico, bioquímico e biofísico das amostras produzidas no presente trabalho.

Enfim, pode-se propor inúmeros estudos acerca da hidroxiapatita modificada com titanato de bário e zinco metálico, e o fato de não se descartar tais combinações

imediatamente, ou em segunda análise (físico-química e morfo-mecânica), demonstra que há um potencial de aplicação em Engenharia de Tecido Ósseo para os novos materiais apresentados neste trabalho, porém é necessário sanar dúvidas que foram levantadas ao longo da execução da investigação aqui relatada, antes de cogitar escalar a tecnologia aqui desenvolvida para testes *in vivo* e posteriormente testes clínicos em humanos.

Referências

- ACS, Z. J. et al. Entrepreneurship, economic development and institutions. *Small Business Economics*, v. 31, 2008. ISSN 0921898X. Citado na página 1.
- AHN, A. C.; GRODZINSKY, A. J. Relevance of collagen piezoelectricity to “wolff’s law”: A critical review. *Medical Engineering Physics*, Elsevier, v. 31, p. 733–741, 9 2009. ISSN 1350-4533. Citado na página 16.
- ALMEIDA, G. N. et al. The influence of the synthesis method on the characteristics of batio3. *Materials*, v. 16, 2023. ISSN 19961944. Citado na página 15.
- ANDRADE, H. R. C. S. A. et al. Study of the structure and mechanical properties of hexagonal batio3 thin films prepared by sol–gel processing. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, v. 64, p. 543– 548, 2012. ISSN 1573-4846. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1877705817335166>>. Citado 2 vezes nas páginas 18 e 25.
- BESSA, P. C. et al. *Bone morphogenetic proteins in tissue engineering: The road from the laboratory to the clinic, part I (basic concepts)*. 2008. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 8.
- BRODY, P. S. High voltage photovoltaic effect in barium titanate and lead titanate-lead zirconate ceramics. *Journal of Solid State Chemistry*, v. 12, 1975. ISSN 1095726X. Citado na página 15.
- BRYSON, D. J. et al. The incidence of vitamin d deficiency amongst patients with a femoral neck fracture: Are current bone protection guidelines sufficient ? *Acta Orthopaedica Belgica*, v. 79, 2013. ISSN 00016462. Citado na página 1.
- CALLISTER, W. D. *Materials science and engineering : An introduction, 10th australia and new zealand edition*. [S.l.: s.n.], 2019. v. 12. ISSN 02613069. Citado 3 vezes nas páginas 20, 21 e 68.
- CAPLAN, A. I. Mesenchymal stem cells. *Journal of Orthopaedic Research*, v. 9, 1991. ISSN 1554527X. Citado 2 vezes nas páginas 6 e 7.
- CHANG, B. S. et al. Osteoconduction at porous hydroxyapatite with various pore configurations. *Biomaterials*, v. 21, 2000. ISSN 01429612. Citado na página 17.
- CHO, Y. S. et al. Evaluation of the antibacterial activity and cell response for 3d-printed polycaprolactone/ nanohydroxyapatite scaffold with zinc oxide coating. *Polymers*, v. 12, 2020. ISSN 20734360. Citado na página 12.
- CORK, J. M. The cost and mortality of periprosthetic fractures. *Osteoarthritis and Cartilage*, v. 25, 2017. ISSN 10634584. Citado na página 1.

- DAMIEN, C. J.; PARSONS, J. R. *Bone graft and bone graft substitutes: a review of current technology and applications*. 1991. Citado na página 2.
- DAVE, B. C.; LOCKWOOD, S. B. Sol-gel method. In: _____. *Encyclopedia of Nanotechnology*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2012. p. 2459–2470. ISBN 978-90-481-9751-4. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-90-481-9751-4_359>. Citado na página 17.
- DENNISON, E. M. et al. *Early development and osteoporosis and bone health*. 2010. Citado na página 1.
- DEVI, M.; RAWAT, S. *A comprehensive review of the pyrolysis process: From carbon nanomaterial synthesis to waste treatment*. 2021. Citado na página 3.
- DEVILLE, S. Freeze-casting of porous ceramics: A review of current achievements and issues. In: . [S.l.: s.n.], 2008. v. 10. ISSN 14381656. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.
- DEVILLE, S. et al. Freeze casting of hydroxyapatite scaffolds for bone tissue engineering. *Biomaterials*, v. 27, 2006. ISSN 01429612. Citado 2 vezes nas páginas 6 e 20.
- DHARMADHIKARI, V. S.; GRANNEMANN, W. W. Photovoltaic properties of ferroelectric batio3 thin films rf sputter deposited on silicon. *Journal of Applied Physics*, v. 53, p. 8988–8992, 1982. Citado na página 15.
- DIMITRIOU, R. et al. *Current concepts of molecular aspects of bone healing*. 2005. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 8.
- DING, M. et al. Synthesis and properties of ha/zno/cnt nanocomposite. *Ceramics International*, v. 44, 2018. ISSN 02728842. Citado na página 62.
- DONG, R. et al. *Conductive biomaterials for muscle tissue engineering*. 2020. Citado na página 5.
- DONNALOJA, F. et al. *Natural and synthetic polymers for bone scaffolds optimization*. 2020. Citado na página 6.
- DOROZHKIN, S. V. *Calcium orthophosphates as bioceramics: State of the art*. 2010. Citado na página 41.
- DOROZHKIN, S. V. *Calcium orthophosphate-based bioceramics*. 2013. Citado na página 41.
- DOROZHKIN, S. V. *Calcium orthophosphate bioceramics*. 2015. Citado na página 41.
- ELLIOTT, J. C. *Recent progress in the chemistry, crystal chemistry and structure of the apatites*. 1969. Citado 2 vezes nas páginas 63 e 64.
- FARIA, A. C. B. de et al. Control of pore morphology and mechanical strength of alumina ceramics produced by freeze-casting. *Ceramics International*, Elsevier, 12 2023. ISSN 0272-8842. Citado na página 45.
- FLORY, J. P. *Principles of Polymer Chemistry*. [S.l.: s.n.], 1953. Citado na página 17.
- GARG, P. et al. *Prospective Review of Mesenchymal Stem Cells Differentiation into Osteoblasts*. 2017. Citado na página 6.

- GAVAZZO, P. et al. Biophysical phenotyping of mesenchymal stem cells along the osteogenic differentiation pathway. *Cell Biology and Toxicology*, v. 37, 2021. ISSN 15736822. Citado 2 vezes nas páginas 6 e 7.
- GOMES, S. et al. Unexpected mechanism of zn^{2+} insertion in calcium phosphate bioceramics. *Chemistry of Materials*, v. 23, 2011. ISSN 08974756. Citado 4 vezes nas páginas 40, 62, 63 e 68.
- GOMI, K. et al. Effect of mixing condition on sol-gel synthesis of barium titanate ultrafine particles. *KONA Powder and Particle Journal*, v. 22, 2004. ISSN 21875537. Citado na página 19.
- GONÇALVES, F. et al. A comparative study of bulk-fill composites: degree of conversion, post-gel shrinkage and cytotoxicity. *Brazilian Oral Research*, v. 32, 2018. ISSN 18073107. Citado na página 1.
- GUIMARAES, R. P. et al. Study of the treatment of femoral head fractures. *Revista Brasileira de Ortopedia (English Edition)*, v. 45, 2010. ISSN 22554971. Citado na página 2.
- HALES, T. C. Historical overview of the kepler conjecture. *Discrete and Computational Geometry*, v. 36, 2006. ISSN 14320444. Citado na página 22.
- HALIM, N. A. A. et al. *Nanomaterials-upconverted hydroxyapatite for bone tissue engineering and a platform for drug delivery*. 2021. Citado na página 10.
- HANNA, H. et al. In vitro osteoblastic differentiation of mesenchymal stem cells generates cell layers with distinct properties. *Stem Cell Research and Therapy*, v. 9, 2018. ISSN 17576512. Citado na página 8.
- HE, J. et al. *Scaffolds for central nervous system tissue engineering*. 2012. Citado na página 5.
- HEIDARI, F. et al. Nano-hydroxyapatite and nano-hydroxyapatite/zinc oxide scaffold for bone tissue engineering application. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, v. 17, 2020. ISSN 17447402. Citado na página 77.
- HENCH, L. L.; WEST, J. K. The sol-gel process. *Chemical Reviews*, v. 90, 1990. ISSN 15206890. Citado 2 vezes nas páginas 17 e 18.
- HOLLINGER, J. O. et al. Bone tissue engineering. *Bone Tissue Engineering*, Woodhead Publishing, p. 1–21, 1 2011. ISSN 2198-6428. Citado na página 5.
- HOLLISTER, S. J. *Porous scaffold design for tissue engineering*. 2005. Citado na página 2.
- HUSSAIN, A. et al. Biogenesis of zno nanoparticles using: Pandanus odorifer leaf extract: Anticancer and antimicrobial activities. *RSC Advances*, v. 9, 2019. ISSN 20462069. Citado na página 12.
- ITO, A. et al. Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research*, v. 50, 2000. ISSN 00219304. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 13.
- JIAO, H. et al. Hydrothermal synthesis and properties characterization of barium titanate/hydroxyapatite spherical nanocomposite materials. *Journal of Alloys and Compounds*, v. 715, 2017. ISSN 09258388. Citado 2 vezes nas páginas 38 e 39.

- JIAO, H. et al. An investigation of the electrical, mechanical and biocompatibility properties of barium titanate / hydroxyapatite bulk ceramics. *Materials Chemistry and Physics*, v. 243, 2020. ISSN 02540584. Citado 3 vezes nas páginas 38, 39 e 77.
- JIN, X. et al. Investigation on ftir spectra of barium calcium titanate ceramics. *Journal of Electroceramics*, v. 22, 2009. ISSN 13853449. Citado na página 39.
- KAČAREVIĆ Željka P. et al. *An introduction to bone tissue engineering*. 2020. Citado 2 vezes nas páginas 6 e 16.
- KOCH, D. et al. Evolution of porosity by freeze casting and sintering of sol-gel derived ceramics. In: . [S.l.: s.n.], 2003. v. 26. ISSN 09280707. Citado na página 20.
- KREIDLER, E. R.; HUMMEL, F. A. Phase relations in the system sro-p2o5 and the influence of water vapor on the formation of sr4p2o9. *Inorganic Chemistry*, v. 6, 1967. ISSN 1520510X. Citado 4 vezes nas páginas 10, 11, 12 e 41.
- KUSHIOKA, J. et al. *Bone regeneration in inflammation with aging and cell-based immunomodulatory therapy*. 2023. Citado na página 2.
- LANGER, R.; VACANTI, J. P. Tissue engineering. *Science*, v. 260, p. 920–926, 1993. ISSN 00368075. Citado na página 5.
- LEGEROS, R. Z. Calcium phosphate-based osteoinductive materials. *Chemical Reviews*, v. 108, p. 4742–4753, 11 2008. ISSN 00092665. Citado na página 9.
- LI, M. et al. Structural characterization of zinc-substituted hydroxyapatite prepared by hydrothermal method. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 19, 2008. ISSN 09574530. Citado na página 60.
- LI, Y. et al. Zinc-containing hydroxyapatite enhances cold-light-activated tooth bleaching treatment in vitro. *BioMed Research International*, v. 2017, 2017. ISSN 23146141. Citado na página 63.
- LIAO, C. et al. *Interactions of zinc oxide nanostructures with mammalian cells: Cytotoxicity and photocatalytic toxicity*. 2020. Citado 2 vezes nas páginas 12 e 13.
- MAIMAITI, B. et al. Stable zno-doped hydroxyapatite nanocoating for anti-infection and osteogenic on titanium. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 186, 2020. ISSN 18734367. Citado na página 12.
- MATSUNAGA, K. et al. Mechanism of incorporation of zinc into hydroxyapatite. *Acta Biomaterialia*, v. 6, 2010. ISSN 17427061. Citado 2 vezes nas páginas 14 e 63.
- MEGAW, H. D. *Crystal structure of barium titanate [9]*. 1945. Citado na página 15.
- MIAO, X. et al. Mechanical and biological properties of hydroxyapatite/tricalcium phosphate scaffolds coated with poly(lactic-co-glycolic acid). *Acta Biomaterialia*, v. 4, 2008. ISSN 17427061. Citado na página 12.
- MINARY-JOLANDAN, M.; YU, M. F. Nanoscale characterization of isolated individual type i collagen fibrils: Polarization and piezoelectricity. *Nanotechnology*, v. 20, 2009. ISSN 09574484. Citado na página 16.
- MONTUFAR, E. B. et al. High strength, biodegradable and cytocompatible alpha tricalcium phosphate-iron composites for temporal reduction of bone fractures. *Acta Biomaterialia*, v. 70, 2018. ISSN 18787568. Citado na página 41.

MORENO, D. et al. Solid-state synthesis of alpha tricalcium phosphate for cements used in biomedical applications. *Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, v. 59, 2020. ISSN 21730431. Citado 2 vezes nas páginas 10 e 41.

MOSSET, A. et al. Sol-gel processed batio₃: Structural evolution from the gel to the crystalline powder. *Journal of Non-Crystalline Solids*, v. 100, p. 339–344, 1988. Citado na página 17.

NASCIMENTO, R. C. R. M. do et al. Polypharmacy: A challenge for the primary health care of the brazilian unified health system. *Revista de Saude Publica*, v. 51, 2017. ISSN 00348910. Citado na página 2.

NEWMAN, M. D. et al. *The safety of nanosized particles in titanium dioxide- and zinc oxide-based sunscreens*. 2009. Citado na página 12.

OFUDJE, E. A. et al. Synthesis and characterization of zn-doped hydroxyapatite: scaffold application, antibacterial and bioactivity studies. *Heliyon*, Elsevier, v. 5, p. e01716, 5 2019. ISSN 2405-8440. Citado 2 vezes nas páginas 14 e 63.

PARK, J. B. et al. Mechanical property changes of barium titanate (ceramic) after in vivo and in vitro aging. *Biomaterials, Medical Devices, and Artificial Organs*, v. 5, 1977. ISSN 00905488. Citado na página 16.

PEPPIN, S. S. et al. Solidification of colloidal suspensions. *Journal of Fluid Mechanics*, v. 554, 2006. ISSN 14697645. Citado 2 vezes nas páginas 20 e 21.

PIRES, A. L. R. et al. biomateriais tipos e aplicações e mercado. *Quimica Nova*, v. 38, 2015. ISSN 16787064. Citado na página 2.

PRADO, L. R. et al. Influence of the synthesis method on the preparation of barium titanate nanoparticles. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, v. 103, 2016. ISSN 02552701. Citado na página 16.

PRAMANIK, S. et al. Development of high strength hydroxyapatite by solid-state-sintering process. *Ceramics International*, v. 33, 2007. ISSN 02728842. Citado na página 39.

QU, H. et al. *Biomaterials for bone tissue engineering scaffolds: A review*. 2019. Citado na página 17.

RAJABI, A. H. et al. *Piezoelectric materials for tissue regeneration: A review*. 2015. Citado na página 16.

REIS, N. T. de A. et al. Use of platelet-rich fibrin for bone repair: a systematic review and meta-analysis of preclinical studies. *Brazilian oral research*, v. 36, 2022. ISSN 18073107. Citado na página 2.

RESEARCH, I. *Worldwide Container as a Service (CaaS) Market - By Application(Orchestration, Monitoring, Security, Networking Data Management, CI/CD) Deployment (Public, Private, Hybrid) Verticals(BFSI, IT Telecom, ME, Healthcare, Education, Retail) Regions: Drivers, Opportunities, Trends and Forecasts, 2016-2023*. 2017. Acessado em: 01/02/2024 às 18:13h. Disponível em: <<https://www.foholicresearch.com/report/container-as-a-service-caas-market-forecast-2017-2023/>>. Citado na página 3.

- REUTER, H. Structural parameters of dimethyl sulfoxide, DMSO, at 100K, based on a redetermination by use of high-quality single-crystal X-ray data. *Acta Crystallographica Section E*, v. 73, n. 10, p. 1405–1408, Oct 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1107/S2056989017012464>>. Citado na página 46.
- RING, M. E. Dentistry: an illustrated history. (*No Title*), 1985. Citado na página 9.
- ROBERT, A. W. et al. *Adipogenesis, Osteogenesis, and Chondrogenesis of Human Mesenchymal Stem/Stromal Cells: A Comparative Transcriptome Approach*. 2020. Citado 2 vezes nas páginas 7 e 8.
- ROUX, S. et al. The world health organization fracture risk assessment tool (frax) underestimates incident and recurrent fractures in consecutive patients with fragility fractures. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, v. 99, 2014. ISSN 19457197. Citado na página 1.
- SCHLICKWEI, C. W. et al. *Current and future concepts for the treatment of impaired fracture healing*. 2019. Citado na página 1.
- SHAFIEE, P. et al. Sol-gel zinc oxide nanoparticles: advances in synthesis and applications. *Synthesis and Sintering*, v. 1, 2021. ISSN 2564-0186. Citado na página 12.
- SHALYGINA, K. et al. Composite cryogels based on hydroxyapatite and polyvinyl alcohol and the study of physicochemical and mechanical properties. *Materials*, v. 17, n. 2, 2024. ISSN 1996-1944. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/1996-1944/17/2/403>>. Citado 2 vezes nas páginas 68 e 76.
- SHAVANDI, A. et al. Synthesis of nano-hydroxyapatite (nha) from waste mussel shells using a rapid microwave method. *Materials Chemistry and Physics*, v. 149, 2015. ISSN 02540584. Citado na página 9.
- SIDDIQI, K. S. et al. *Properties of Zinc Oxide Nanoparticles and Their Activity Against Microbes*. 2018. Citado na página 12.
- SILVA, A. M. et al. Effect of titania addition on the properties of freeze-cast alumina samples. *Ceramics International*, v. 41, 2015. ISSN 02728842. Citado na página 3.
- SILVA, A. M. et al. The influence of fe₂o₃ doping on the pore structure and mechanical strength of tio₂-containing alumina obtained by freeze-casting. *Ceramics International*, v. 41, 2015. ISSN 02728842. Citado na página 3.
- SINGH, M. R.; RAMKRISHNA, D. Dispersions in crystal nucleation and growth rates: Implications of fluctuation in supersaturation. *Chemical Engineering Science*, v. 107, 2014. ISSN 00092509. Citado na página 21.
- SIRAJUNISHA, H. et al. Structural, photoluminescence, antibacterial and biocompatibility features of zinc incorporated hydroxyapatite nanocomposites. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, v. 32, 2021. ISSN 1573482X. Citado 3 vezes nas páginas 12, 13 e 63.
- SMITH, J. H. W. F. *Fundamentos de Engenharia e Ciências dos Materiais*. [S.l.: s.n.], 2012. ISSN 8580551145. Citado na página 2.
- SOARES, D. S. et al. Fraturas de fêmur em idosos no brasil: Análise espaço-temporal de 2008 a 2012. *Cadernos de Saude Publica*, v. 30, 2014. ISSN 16784464. Citado na página 1.

- STAIGER, M. P. et al. *Magnesium and its alloys as orthopedic biomaterials: A review*. 2006. Citado na página [2](#).
- SUN, Y. et al. *Mechanical Stimulation on Mesenchymal Stem Cells and Surrounding Microenvironments in Bone Regeneration: Regulations and Applications*. 2022. Citado 2 vezes nas páginas [7](#) e [8](#).
- TANG, Y. et al. Zinc incorporation into hydroxylapatite. *Biomaterials*, v. 30, 2009. ISSN 01429612. Citado 4 vezes nas páginas [14](#), [62](#), [65](#) e [68](#).
- TANK, K. P. et al. Ftir, powder xrd, tem and dielectric studies of pure and zinc doped nano-hydroxyapatite. *Crystal Research and Technology*, v. 46, 2011. ISSN 02321300. Citado 4 vezes nas páginas [62](#), [63](#), [64](#) e [77](#).
- TARÌ, G. et al. Influence of the stabilising mechanism and solid loading on slip casting of alumina. *Journal of the European Ceramic Society*, v. 18, 1998. ISSN 09552219. Citado na página [3](#).
- TURNER, C. H.; BURR, D. B. *Basic biomechanical measurements of bone: A tutorial*. 1993. Citado na página [6](#).
- TõNSUAADU, K. et al. A review on the thermal stability of calcium apatites. In: . [S.l.: s.n.], 2012. v. 110. ISSN 13886150. Citado na página [12](#).
- WANG, X. et al. Biomineralization of calcium phosphate revealed by in situ liquid-phase electron microscopy. *Communications Chemistry*, v. 1, 2018. ISSN 23993669. Citado na página [9](#).
- WENISCH, S. et al. In vivo mechanisms of hydroxyapatite ceramic degradation by osteoclasts: Fine structural microscopy. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, v. 67, 2003. ISSN 00219304. Citado na página [14](#).
- XU, H. H. et al. *Calcium phosphate cements for bone engineering and their biological properties*. 2017. Citado na página [41](#).
- YAO, Y. tong et al. Effects of pore size and porosity on cytocompatibility and osteogenic differentiation of porous titanium. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, v. 32, 2021. ISSN 15734838. Citado 3 vezes nas páginas [17](#), [45](#) e [67](#).
- ZARKOUB, H. et al. The effect of piezoelectricity on the mineralization of calcium phosphate in piezoelectric biomaterials. *Advanced Science Letters*, v. 19, 2013. ISSN 19366612. Citado na página [2](#).
- ZHANG, Y. et al. Aligned porous barium titanate/hydroxyapatite composites with high piezoelectric coefficients for bone tissue engineering. *Materials Science and Engineering C*, v. 39, 2014. ISSN 09284931. Citado 2 vezes nas páginas [33](#) e [58](#).
- ZHANG, Y. et al. *Polymer Fiber Scaffolds for Bone and Cartilage Tissue Engineering*. 2019. Citado 3 vezes nas páginas [6](#), [39](#) e [59](#).