

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

GABRIELA DE SOUZA BALBINOT

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM VIDRO BIOATIVO COM ADIÇÃO DE  
PENTÓXIDO DE NIÓBIO

Porto Alegre

2015

GABRIELA DE SOUZA BALBINOT

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM VIDRO BIOATIVO COM ADIÇÃO DE  
PENTÓXIDO DE NIÓBIO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião-Dentista.

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Mezzomo Collares

Porto Alegre

2015

CIP - Catalogação na Publicação

DE SOUZA BALBINOT, GABRIELA  
SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO DE UM VIDRO BIOATIVO COM  
ADIÇÃO DE PENTÓXIDO DE NÍÓBIO / GABRIELA DE SOUZA  
BALBINOT. -- 2015.  
29 f.

Orientador: FABRICIO MEZZOMO COLLARES.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) --  
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade  
de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre,  
BR-RS, 2015.

1. TESTES DE MATERIAIS. 2. MATERIAIS  
BIOCOMPATÍVEIS. 3. VIDROS BIOATIVOS. 4. SOL-GEL. 5.  
PENTOXIDO DE NÍÓBIO. I. MEZZOMO COLLARES, FABRICIO ,  
orient. II. Título.

Aos meus pais, **Flavio** e **Sandra**, por me apoiarem em todas as situações, por estarem sempre ao meu lado mesmo que à distância e por serem meus maiores exemplos de dedicação, caráter e felicidade. Pela família maravilhosa que vocês me deram e por nunca permitirem que nada nos faltasse, principalmente amor. Aos meus irmãos, **Guilherme** e **Amanda**, por serem os melhores amigos que eu poderia ter na vida.

## AGRADECIMENTOS

Ao **Laboratório de Materiais Dentários (LAMAD)** da Faculdade de Odontologia, por permitir a realização deste trabalho e pela oportunidade de trabalhar com pesquisa em grande parte da minha graduação, contribuindo imensamente para a minha formação profissional e para o meu desenvolvimento pessoal. Ao Laboratório de Materiais Cerâmicos e Centro de Microscopia Eletrônica pela parceria na realização deste trabalho.

Ao meu orientador, professor **Fabício Mezzomo Collares**, pela orientação neste trabalho e durante toda a Iniciação Científica. Por dividir teu conhecimento e estimular a vontade de aprender, a capacidade de questionar e o gosto pela pesquisa.

Ao professor **Vicente Castelo Branco Leitune**, pela orientação na iniciação científica, pela disponibilidade e paciência de sempre na execução dos trabalhos.

À professora **Susana Maria Werner Samuel**, pelo exemplo de dedicação e conduta profissional e pela orientação durante a Iniciação Científica.

Aos **colegas antigos e atuais do LAMAD**, pela amizade e companheirismo, pela parceria no dia-a-dia do laboratório, por dividirem seus conhecimentos e experiências e pela ajuda em ensaios e trabalhos.

Ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** pelo apoio à pesquisa e por, juntamente com o programa **Ciências sem Fronteira**, ter me proporcionado a incrível experiência de realizar graduação sanduíche. Pela oportunidade de estudar em outro país e aprender muito além do que a sala de aula poderia ensinar.

À **Universidade Federal do Rio Grande do Sul** e à **Faculdade de Odontologia** pela oportunidade de ensino e formação de qualidade.

## RESUMO

BALBINOT, Gabriela de Souza. **Síntese e caracterização de um vidro bioativo com adição de Pentóxido de Nióbio**. 2015. 29 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

O objetivo desse estudo foi sintetizar e caracterizar um vidro bioativo produzido pelo método sol-gel com a incorporação de 2% de Pentóxido de Nióbio ( $Nb_2O_5$ ). Foram produzidos um grupo teste, com adição de  $Nb_2O_5$  e um controle, sem adição de  $Nb_2O_5$ , por meio da reação entre precursores (TEOS e TEP) e modificadores minerais ( $Ca(NO_3)_2$  e  $NaNO_3$ ). A estrutura química do material foi avaliada por difração de raios-X e espectroscopia Raman. A morfologia foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a composição química por espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDS). Foram também avaliadas a radiopacidade e o pH. Os resultados mostraram que a produção pelo método sol-gel resultou na formação de um vidro com predomínio da fase amorfa com alguns picos relacionados a fases cristalinas. As imagens obtidas por MEV mostram a superfície porosa dos vidros obtidos e na análise por EDS podem ser notadas a presença de Sílica, Cálcio e Sódio em ambos os vidros, enquanto o pico do Nióbio só foi observado no grupo teste. Nos espectros obtidos por meio de Espectroscopia Raman, são observados picos associados à presença de  $PO_4^{3-}$ ,  $CO_3^{2-}$ ,  $Si_2O$  e  $SiO_4^{4-}$ . Além disso, picos associados à ligações Nb-O-Nb podem ser observadas na faixa entre  $100$  e  $300\text{cm}^{-1}$ . A adição de  $Nb_2O_5$  não alterou estatisticamente a radiopacidade do material. O ensaio de pH demonstrou que a liberação de íons promoveu aumento do pH em ambos os grupos nas diferentes soluções testadas. Por meio destas metodologias é possível concluir que a produção por sol-gel gerou vidros com composição química e estrutura adequadas enquanto a incorporação de  $Nb_2O_5$  não resultou em ligações químicas com a matriz do vidro.

Palavras-chave: Materiais Biocompatíveis. Teste de Materiais

## ABSTRACT

BALBINOT, Gabriela de Souza. **Synthesis and characterization of bioactive glasses with Niobium Pentoxide**. 2015. 29 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2015.

The aim of this study was to synthesize and characterize bioactive glass produced by means of sol-gel method with 2% of Niobium Pentoxide ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) addition. For this purpose, one group test containing  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  and one control group were produced by reacting precursors (TEOS and TEP) and mineral modifiers ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  and  $\text{NaNO}_3$ ). Chemical structure was assessed by X-ray diffraction and Raman spectroscopy. To evaluate morphology, scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) were used. Radiopacity was measured and pH was evaluated so the ion dissolution in aqueous environment could be investigated. The sol-gel route led to the production of an amorphous glass with the presence of crystalline phases. SEM images have shown superficial porosity in both glasses and EDS results showed Si, Ca and Na peaks in both groups while Nb was only seen in the test group. In Raman spectra it can be seen that  $\text{PO}_4^{3-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{Si}_2\text{O}$  and  $\text{SiO}_4^{4-}$  peaks were found and Nb-O bonds can be found in test group in a spectral band between  $100$  and  $300\text{cm}^{-1}$ .  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  addition did not show statistically difference in radiopacity. Ion release was confirmed by risings in pH values in both groups, in all tested solutions. Sol-gel method resulted in glasses with suitable chemical compositions and adequate structure while  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  did not chemically bond to glass matrix.

Keywords: Biocompatible Materials. Materials Testing

-

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>8</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>9</b>
3.1	SÍNTESE DOS VIDROS BIOATIVOS.....	9
3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS VIDROS SINTETIZADOS.....	10
3.2.1	Difração de Raios-X.....	10
3.2.2	Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios X.....	10
3.2.3	Espectroscopia Raman.....	10
3.2.5	Radiopacidade.....	10
3.2.6	pH.....	11
<b>4</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>12</b>
4.1	DIFRAÇÃO DE RAIOS-X .....	12
4.2	MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPESIVA DE RAIOS-X.....	13
4.3	ESPECTROSCOPIA RAMAN .....	16
4.5	RADIOPACIDADE.....	18
4.6	PH .....	18
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	<b>21</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>26</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	<b>26</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>28</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de biomateriais que promovam a remineralização óssea é de grande interesse na Odontologia na reabilitação de áreas afetadas por neoplasias, traumatismos e perdas dentárias. (BELLUCCI et al., 2014; SIQUEIRA; PEITL; ZANOTTO, 2011). Dentre os materiais utilizados para este fim estão os vidros bioativos, materiais que possuem excelente bioatividade devido à sua reatividade e capacidade de promover deposição de tecido ósseo. (JONES, 2013).

A interação dos vidros bioativos com os tecidos vivos ocorre por meio da liberação de íons no momento da implantação do material, iniciando uma série de reações que culminarão na formação de uma camada superficial de apatita hidrocarbonada, análoga à fase mineral do tecido ósseo e que é capaz de estimular a deposição de tecido neoformado e a ligação entre os tecidos vivos e o implante. (ARCOS; VALLET-REGÍ, 2010; GROH; DÖHLER; BRAUER, 2014; HENCH; THOMPSON, 2010). Além deste mecanismo de interação, estudos demonstram que a dissolução de íons, assim como a topografia dos vidros bioativos são capazes de alterar a adsorção de proteínas e de regular a expressão de genes, alterando a expressão fenotípica de osteoblastos e sua proliferação, bem como a deposição de matriz extracelular. (HENCH; THOMPSON, 2010; LIN et al., 2011a; TSIGKOU et al., 2009).

A bioatividade desses materiais é dependente da sua composição química e microestrutura por isso o método de produção do vidro é determinante para o estabelecimento das suas propriedades. A fundição é o método utilizado para a produção dos vidros comerciais como o 45S5®, um vidro do sistema quaternário  $\text{SiO}_2\text{-Na}_2\text{O-CaO-P}_2\text{O}_5$ . Como alternativa, foi demonstrado que o método sol-gel pode ser utilizado na produção desses vidros uma vez que gera materiais com maior solubilidade devido à sua menor cristalinidade e com maior porosidade e área superficial, o que favorece a interação do material com o meio. (GROH; DÖHLER; BRAUER, 2014; JONES, 2013). Por esse método é possível obter partículas mais finas e homogêneas com composição controlada. (BELLUCCI et al., 2014). Além disso, vidros produzidos pelo método sol-gel necessitam menores temperaturas e menor número de componentes para seu preparo, o que facilita o processo de

produção. (JONES, 2013; PIRAYESH; NYCHKA, 2013; SIQUEIRA; PEITL; ZANOTTO, 2011).

A produção pelo método sol-gel permite a incorporação de componentes diferentes daqueles utilizados tradicionalmente a fim de melhorar as propriedades do material com mais facilidade. Dentre os componentes com potencial para utilização com esse fim está o Pentóxido de Nióbio ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ), que apresenta excelente biocompatibilidade demonstrada pela incorporação do mesmo a diversos materiais na área biomédica. (FOOLADI et al., 2013; LEITUNE et al., 2013). A incorporação do ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) está associada à redução da citotoxicidade, à indução de calcificação quando em contato com células humanas, e ao aumento da atividade da fosfatase alcalina. (KUSHWAHA et al., 2012; LOPES et al., 2014)

Um enxerto ósseo produzido com vidros bioativos pelo método sol-gel mostra-se, portanto, promissor para a utilização na área médica, uma vez que sua produção é mais simples e seu desempenho é satisfatório se controladas características como a sua estrutura química, a sua área de superfície e a sua microestrutura. Sendo assim, a incorporação de ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) poderia ser uma alternativa para a melhora das propriedades químicas e mecânicas de vidros bioativos produzidos pelo método sol-gel.

## 2 OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi sintetizar um vidro bioativo pelo método sol-gel com adição de 2% Pentóxido de Níbio ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) e caracterizá-lo quanto a sua composição química, estrutura cristalina, morfologia, radiopacidade e pH.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Materiais Dentários da Faculdade de Odontologia, no Laboratório de Materiais Cerâmicos da Faculdade de Engenharia e no Centro de Microscopia Eletrônica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

#### 3.1 SÍNTESE DOS VIDROS BIOATIVOS

Dois vidros bioativos foram produzidos de acordo com o método sol-gel, pela hidrólise e policondensação dos precursores e modificadores minerais, como estabelecido em estudo prévio, de composição 46.1% SiO<sub>2</sub>, 24.4% Na<sub>2</sub>O, 26.9% CaO, and 2.6 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> em mol%. (PIRAYESH; NYCHKA, 2013). A um dos grupos foi adicionado Pentóxido de Nióbio (Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) (BAG\_Nb) enquanto o outro foi feito sem a adição deste componente (BAG). Ambos os vidros são produzidos pela mistura de precursores e modificadores minerais. Tetraetilortosilicato (TEOS, Si(OCH<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>4</sub>) e Trietilfosfato (TEP, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>) foram utilizados como precursores enquanto Nitrato de Cálcio (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) e Nitrato de Sódio (NaNO<sub>3</sub>) foram usados como modificadores minerais. Para o preparo de 20 gramas de vidro bioativo pelo método sol-gel, 0,015mol (33,5ml) de TEOS foram adicionados a 250 ml de Ácido Nítrico 1M e esta solução foi mantida sob agitação constante durante 60 minutos. Os reagentes que completam a reação foram adicionados em sequencia com intervalos de 45 minutos entre si. Assim, 0,017mol (2,9ml) de TEP foram adicionados e, após, foi realizada a incorporação dos modificadores minerais nas quantidades de 0,085mol (20,13g) de (Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>) e 0,16 mol (13,52g) de NaNO<sub>3</sub>. A solução final foi armazenada durante cinco dias em temperatura ambiente para a formação do gel e então colocada em forno de 70°C para o processo de envelhecimento do gel para sua condensação durante 24h. Após esse período o gel permaneceu por mais 24h em forno a 120°C para secagem e, por fim, para estabilização e remoção de nitratos o gel foi mantido por 24 horas em forno a 700°C.

O grupo BAG\_Nb teve a adição de 2% em peso de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Neste caso, o processo de produção é semelhante ao descrito acima, no entanto, previamente à mistura dos precursores uma solução de Nb<sub>2</sub>O<sub>5</sub> foi preparada pela mistura de 0,4g de Cloreto de Nióbio (NbCl<sub>2</sub>) com 8,3ml de álcool etílico e 0,17ml de água destilada.

Essa solução foi adicionada à 250ml de Ácido Nítrico 1M e após isso a preparação seguiu como descrito para o grupo sem adição de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$

## 3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS VIDROS SINTETIZADOS

### 3.2.1 Difração de Raios-X

A análise de difração de raios-X foi utilizada para avaliar a fase cristalina das amostras. Para isso foi utilizado um difractor (X'PertPRO PANalytical MPD. PANalytical, Holanda) operado por radiação  $\text{CuK}\alpha$  em 40kV-40mA com uma faixa angular de  $5^\circ$  e  $100^\circ$ ,  $0,02^\circ$  de passo 2s.

### 3.2.2 Microscopia Eletrônica de Varredura e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X

A morfologia e composição foi avaliada por meio de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia de Energia Dispersiva de Raios-X (EDS). As amostras para o MEV foram cobertas com ouro para aumentar a condutividade e as amostras para EDS foram cobertas com carbono para a análise da composição. Ambas as amostras foram presas a suportes de alumínio utilizando fitas de carbono e para a análise foi utilizado um microscópio eletrônico (Jeol, JSM-6060) com 10kV de voltagem de aceleração no vácuo.

### 3.2.3 Espectroscopia Raman

As ligações químicas presentes no material foram avaliadas com espectroscopia Raman (SENTERRA model, Bruker Optics, Ettlingen, Alemanha). Um laser de comprimento de onda 785nm foi utilizado com 100mW de intensidade durante 5 segundos com 3 adições. A faixa de intensidades analisada foi de 400-1800 $\text{cm}^{-1}$ . As intensidades dos picos foram avaliadas e as diferentes ligações químicas identificadas através dos picos. Picos relacionados a ligações entre Si-O ( $\sim 630\text{ cm}^{-1}$ ) e  $\text{PO}_4^{3-}$  ( $\sim 940\text{ cm}^{-1}$ ) são esperados na estrutura do material.

### 3.2.5 Radiopacidade

Para estudo da radiopacidade dos vidros bioativos, o pó foi moído e peneirado em peneiras de 50 mesh ( $0,3\mu\text{m}$ ) para padronização do tamanho das partículas. O pó foi então colocado em uma matriz de polivinilsiloxano de 6 mm ( $\pm$

0.1 mm) de diâmetro e 1.0 mm ( $\pm 0.01$  mm) de espessura. Três tomadas radiográficas foram realizadas utilizando um aparelho de raios- (I Spectro 70X, Dabi Atlante, Ribeirão Preto, SP, Brasil) e para análise das radiografias foi utilizado um sistema digital com placas de fósforo (VistaScan; Durr Dental GmbH & Co. KG, Bietigheim-Bissingen, Alemanha) operando a 70kV e 8 mA. Cada imagem foi obtida com um distância de 400mm entre o filme e o emissor e o tempo de exposição foi de 0,4s. Uma escala de alumínio foi colocada junto à placa de fosforo e radiografada simultaneamente para future comparação. As imagens resultantes foram avaliadas por ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, EUA), e dessa forma a densidade de pixels na escala de cinza foi calculada, usando a densidade de pixels da escala de alumínio como comparação.

### **3.2.6 pH**

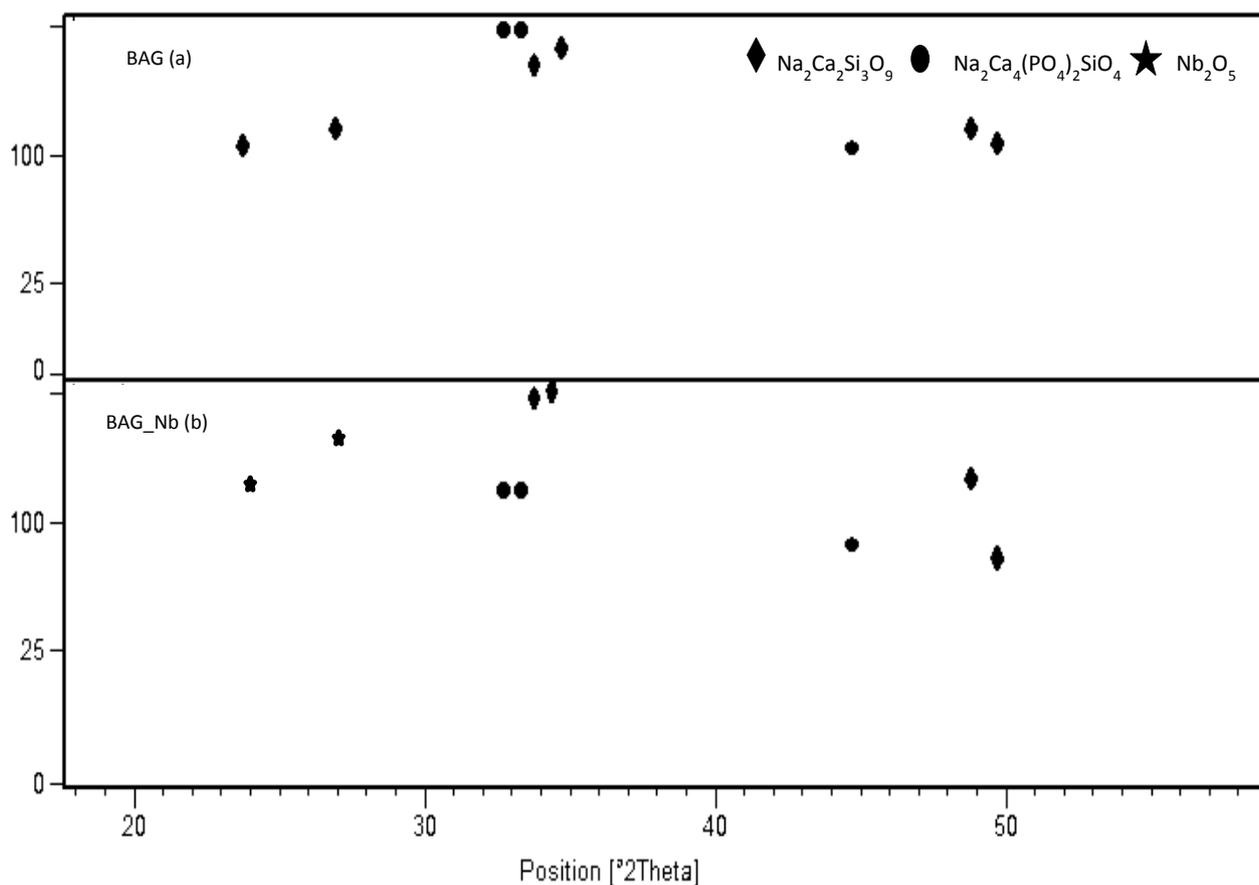
A variação do pH foi medida a fim de avaliar a dissolução de íons dos vidros em diferentes soluções. Para isso 200 ml de uma solução tampão (pH inicial ~7,4) e 200ml de água deionizada (pH inicial ~6,0) foram utilizadas como meio, e 0,3g dos vidros em tamanho padronizado (0,3 $\mu$ m) foram adicionados a essas soluções. A solução tampão foi preparada com 24,62g de tris(hidroxi-metil)aminometano em 200 ml de água deionizada. O pH inicial da solução foi ajustado com Ácido Clorídrico 1M. Após a imersão do pó, as soluções foram mantidas sob agitação em temperatura ambiente e para aferição do pH 10 ml da solução foram retirados em diferentes tempos. A solução removida foi filtrada em filtro de 0,22 $\mu$ m para que a solução e o pó fossem mantidos separados. Um pHmetro digital (DM-22, Digimed, São Paulo, Brasil) foi utilizado para medir o pH das soluções em 0,5, 1, 2, 5, 15, 30, 60, 120, 240 e 360 minutos; 1, 2, 7 e 14 dias

## 4 RESULTADOS

### 4.1 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os resultados do ensaio de difração de raios-X são mostrados na Figura 1. Nos difractogramas de ambos os grupos pode-se observar o predomínio da fase amorfa. Fases cristalinas podem ser observadas nos picos relacionados à presença de  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  (PDF#075-1687) e de  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$  (PDF#032-1053). Nos picos entre o 31 e 34 a presença destas fases apresenta intensidades diferentes, sendo no grupo BAG\_Nb observada a presença de menor intensidade de  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$  (picos 31 e 32) e maior intensidade dos picos relacionados à  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$  (picos 33 e 34). O contrário é observado no grupo BAG. Outra diferença entre os difractogramas poder ser observada no grupo BAG\_Nb onde os picos próximos aos ângulos 24 e 27 apresentam maior intensidade quando comparados aos mesmos picos no grupo BAG, podendo estarem associados à presença de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  (PDF#37-1468).

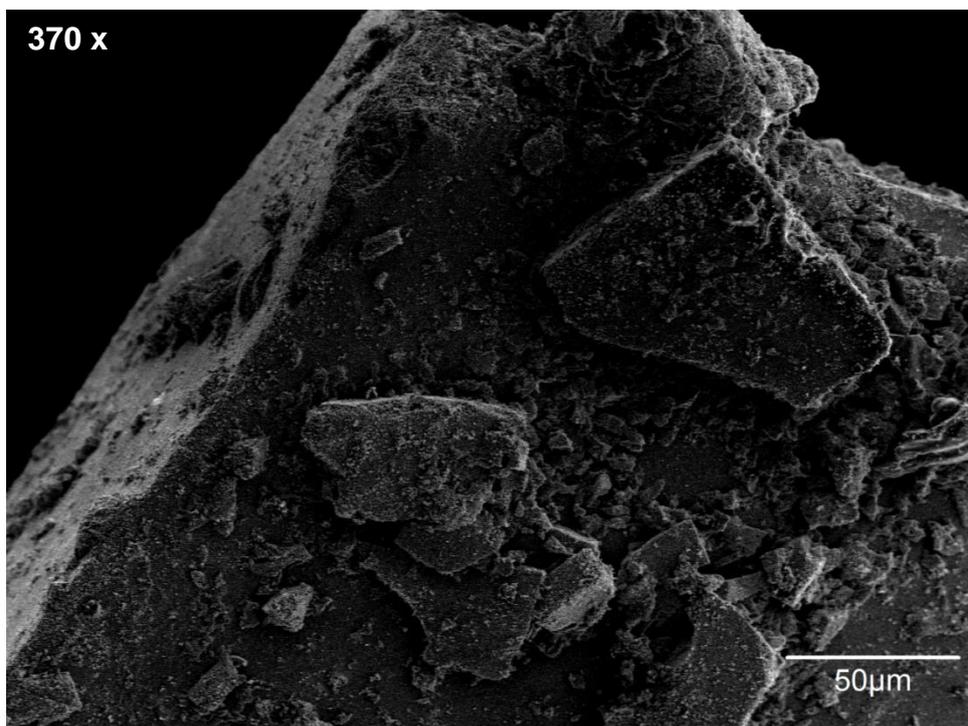
Figura 1 - Análise por DRX dos vidros BAG (a) e BAG-Nb (b).



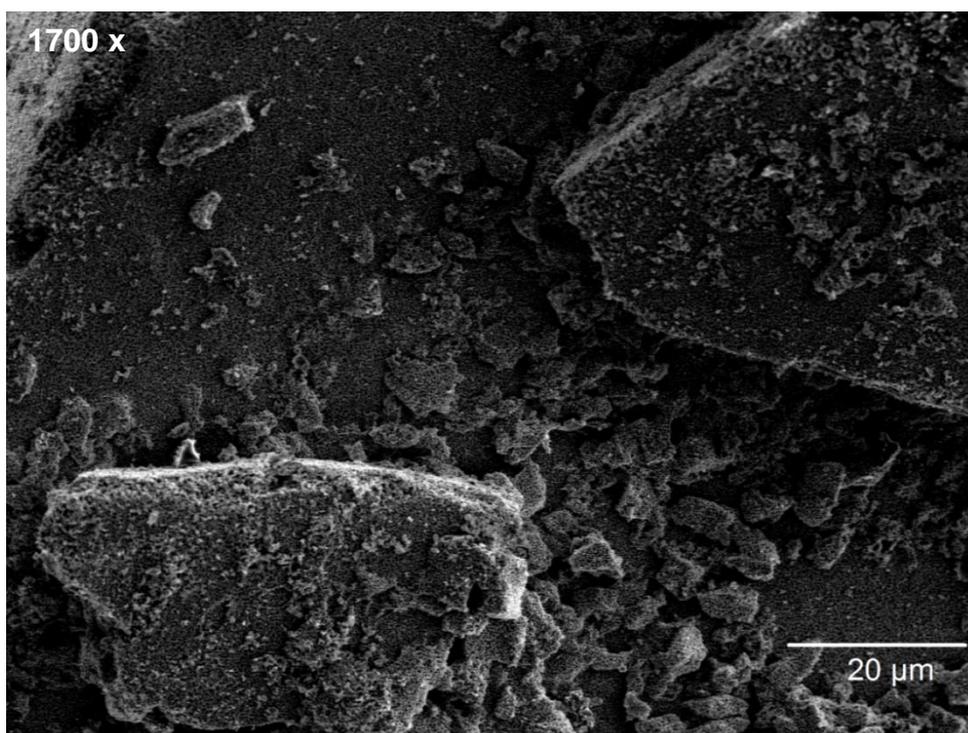
## 4.2 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA E ESPECTROSCOPIA DE ENERGIA DISPERSIVA DE RAIOS-X

Figura 2 - Imagens obtidas por meio da análise por Microscopia Eletrônica de Varredura do grupo BAG nas escalas de 50 $\mu$ m (a), 20 $\mu$ m (b) e 5 $\mu$ m (c).

(a)



(b)



(c)

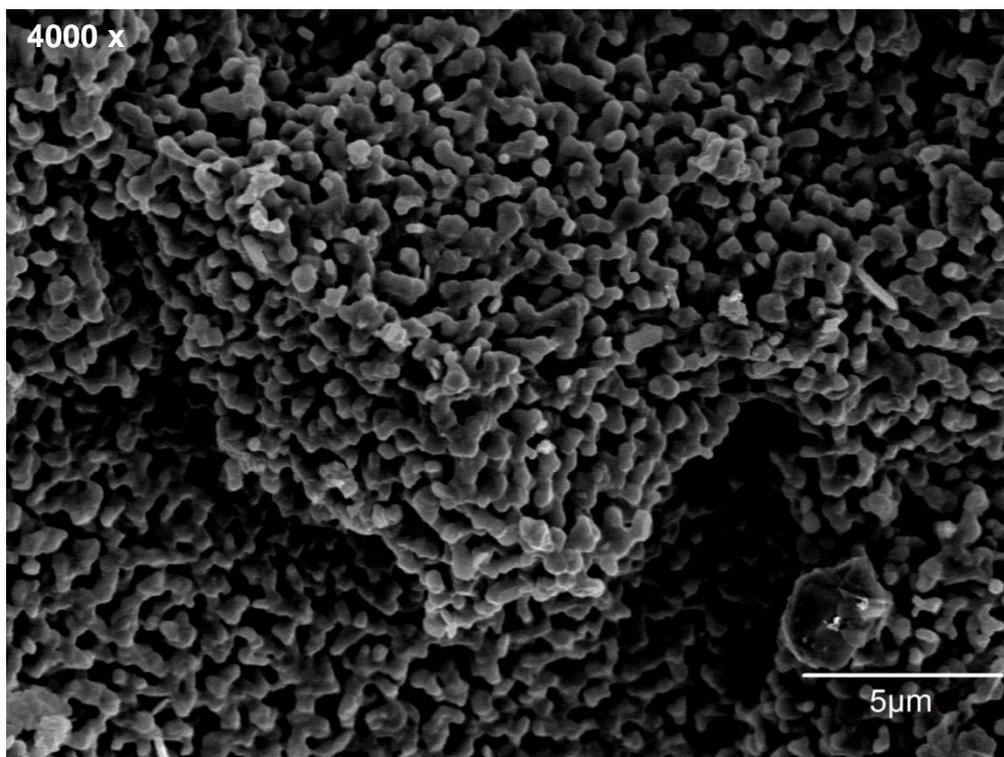
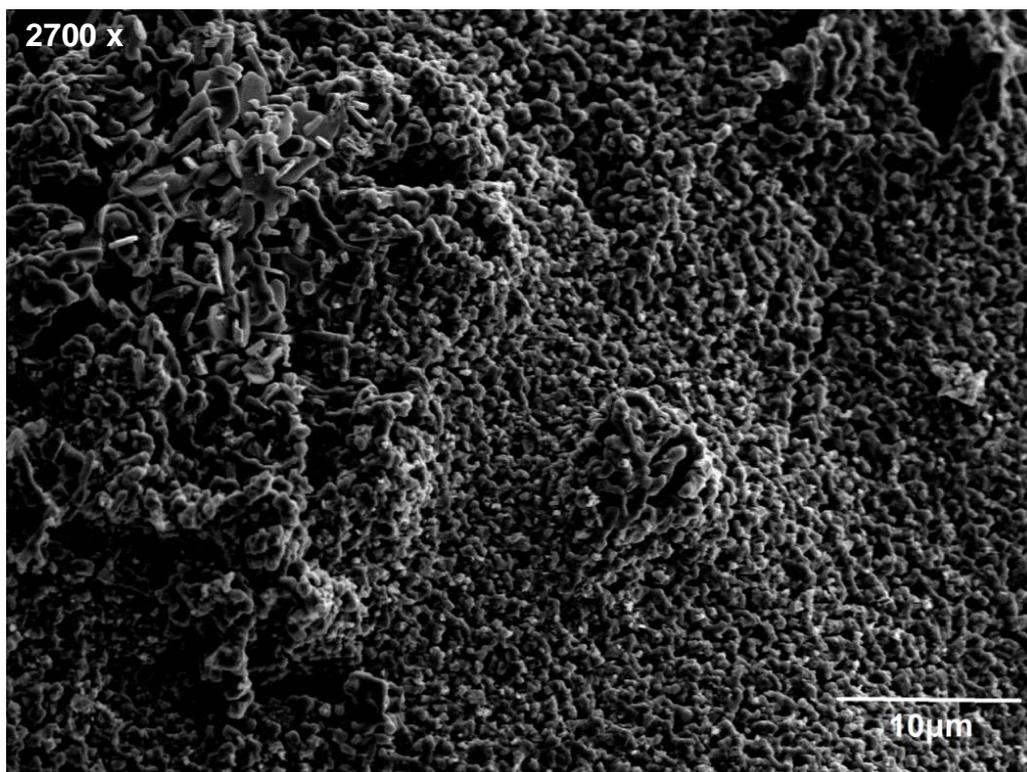


Figura 3- Imagens obtidas por meio da análise por Microscopia Eletrônica de Varredura do grupo BAG\_Nb nas escalas de 50µm (a), 10µm (b) e 5µm (c).

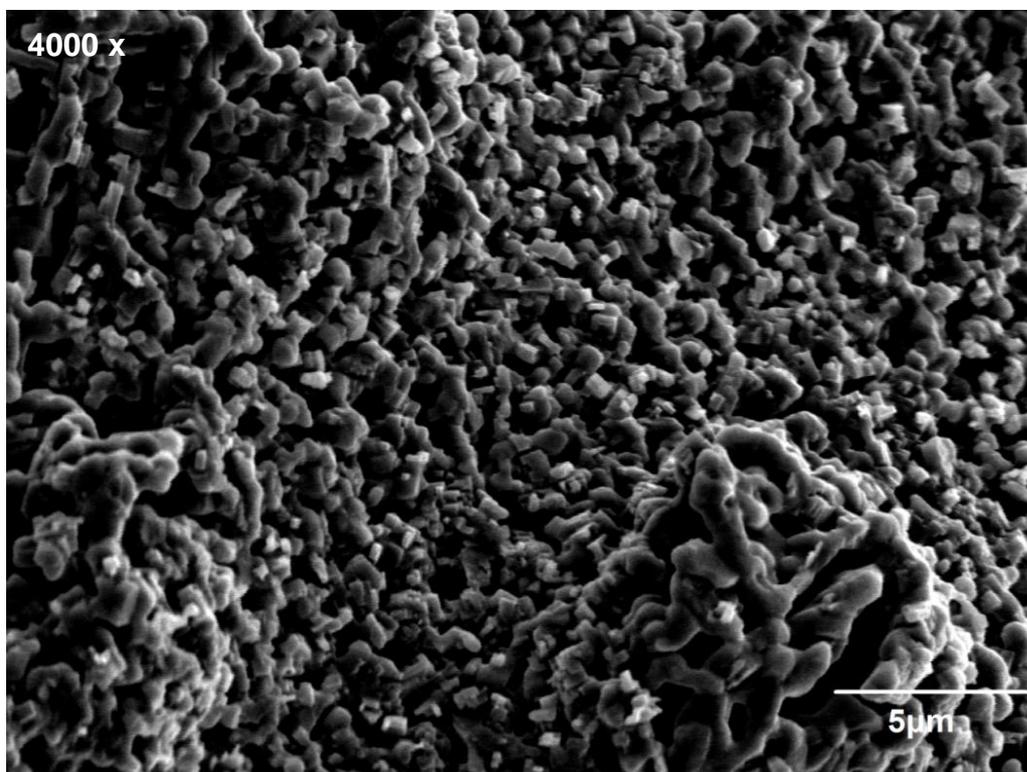
(a)



(b)



(c)

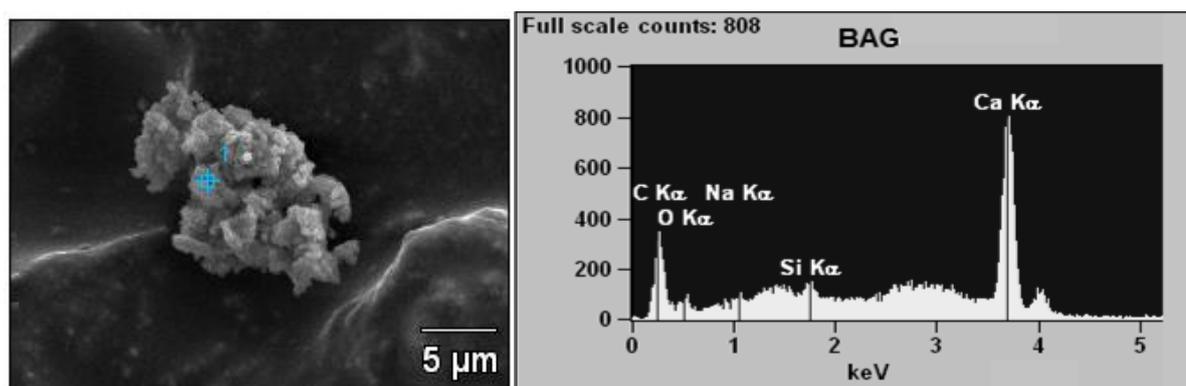


As imagens obtidas pelo MEV mostram a estrutura superficial do pó obtido nos dois vidros produzidos. É possível observar que a estrutura apresenta

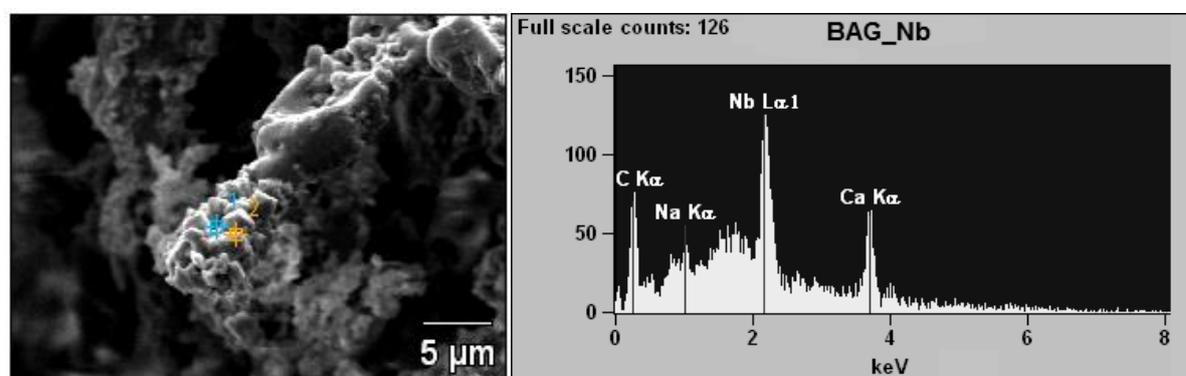
porosidade superficial, especialmente nas imagens em maior aumento. Na Figura 2 (c) e na Figura 3(c) além da porosidade é possível observar a presença de estruturas irregulares que podem estar associadas à presença de cálcio ou nióbio, como pode ser observado nas imagens obtidas por meio de EDS (Gráfico 1).

Gráfico 1 - Componentes da estrutura observados na análise por EDS para os grupos BAG (a) e BAG\_Nb (b).

(a)



(b)

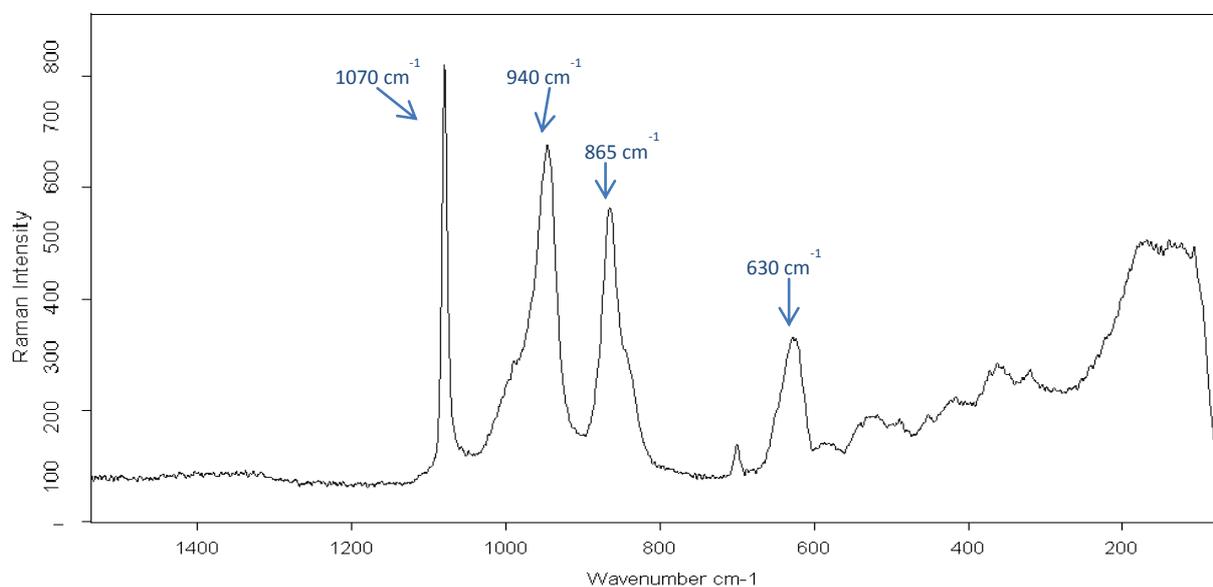


Os resultados da análise por espectroscopia de energia dispersiva de raios-x podem ser observados no Gráfico 1. Os componentes esperados para os vidros podem ser observados nos picos do Na, Ca, P e Si. No grupo em que foi adicionado (Gráfico 1-b)  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  é possível observar um pico correspondente ao Nb, provavelmente sobrepondo os picos da Si e P (Gráfico 1-a).

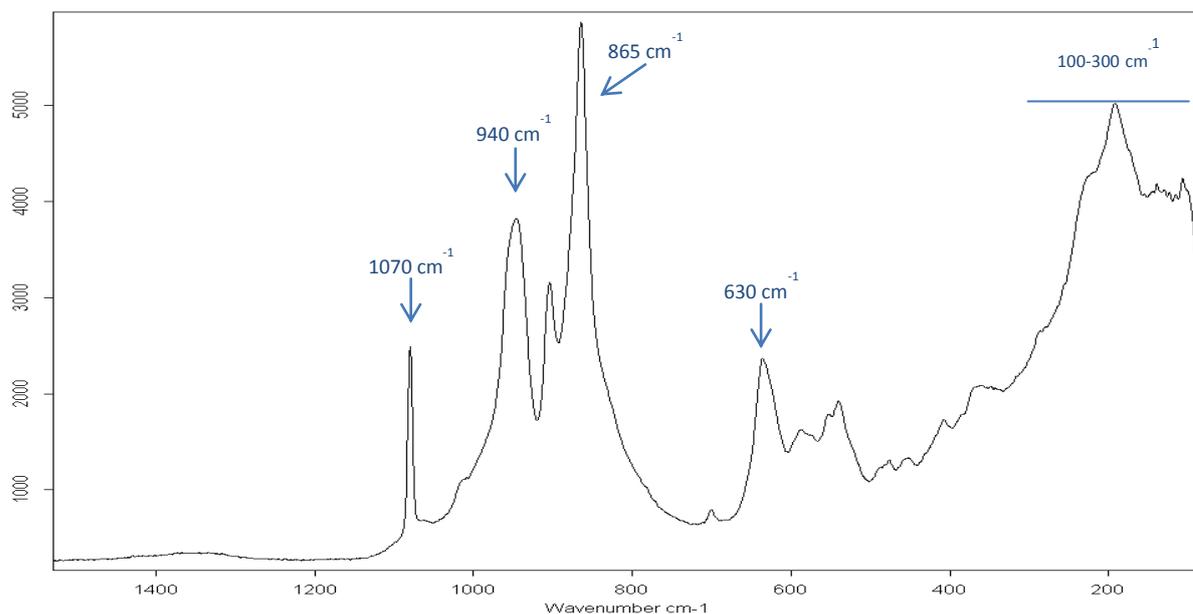
#### 4.3 ESPECTROSCOPIA RAMAN

Figura 4 - Espectros Raman dos Vidros Bioativos BAG (a) e BAG\_Nb (b)

(a)



(b)



A análise da espectroscopia Raman mostrou semelhança entre os espectros dos dois grupos. Ambos apresentam picos semelhantes em torno de 940 cm<sup>-1</sup>, associados à presença de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> na estrutura e próximo a 1070 cm<sup>-1</sup> associado a vibrações dos íons CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>. Ligações Si-O-Si podem ser identificados nos picos próximos a 630 cm<sup>-1</sup> e ligações de Si com oxigênios não ligantes (SiO<sub>4</sub><sup>4-</sup>) estão presentes no pico da região de 865 cm<sup>-1</sup>. Na região entre 100cm<sup>-1</sup> e 300cm<sup>-1</sup> podem

ser observados picos associados a ligações Nb-O com assimetrias pela mobilidade do oxigênio.

#### 4.5 RADIOPACIDADE

Os resultados do ensaio de radiopacidade são mostrados na tabela 4. Os dois grupos apresentaram radiopacidade abaixo de 1mmAl, sem diferença estatística entre os valores, em mmAl, obtidos para os dois grupos.

Tabela 1 - Radiopacidade dos Vidros Bioativos

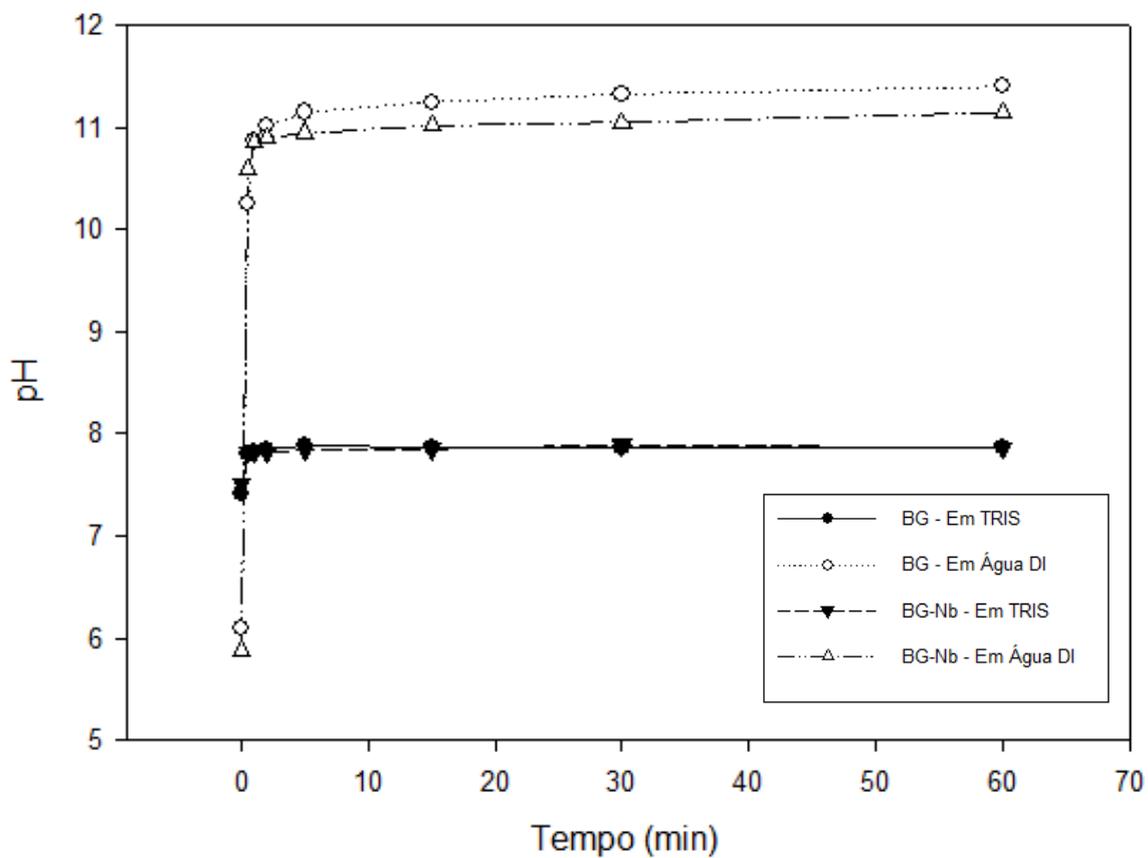
	Radiopacidade (mmAl)
<b>BAG</b>	0,69 (+- 0,20) mmAl <sup>A</sup>
<b>BAG_Nb</b>	0,76 (+- 0,18) mmAl <sup>A</sup>

Letras iguais nas colunas indicam ausência de diferença estatística entre os grupos  $p > 0,05$ .

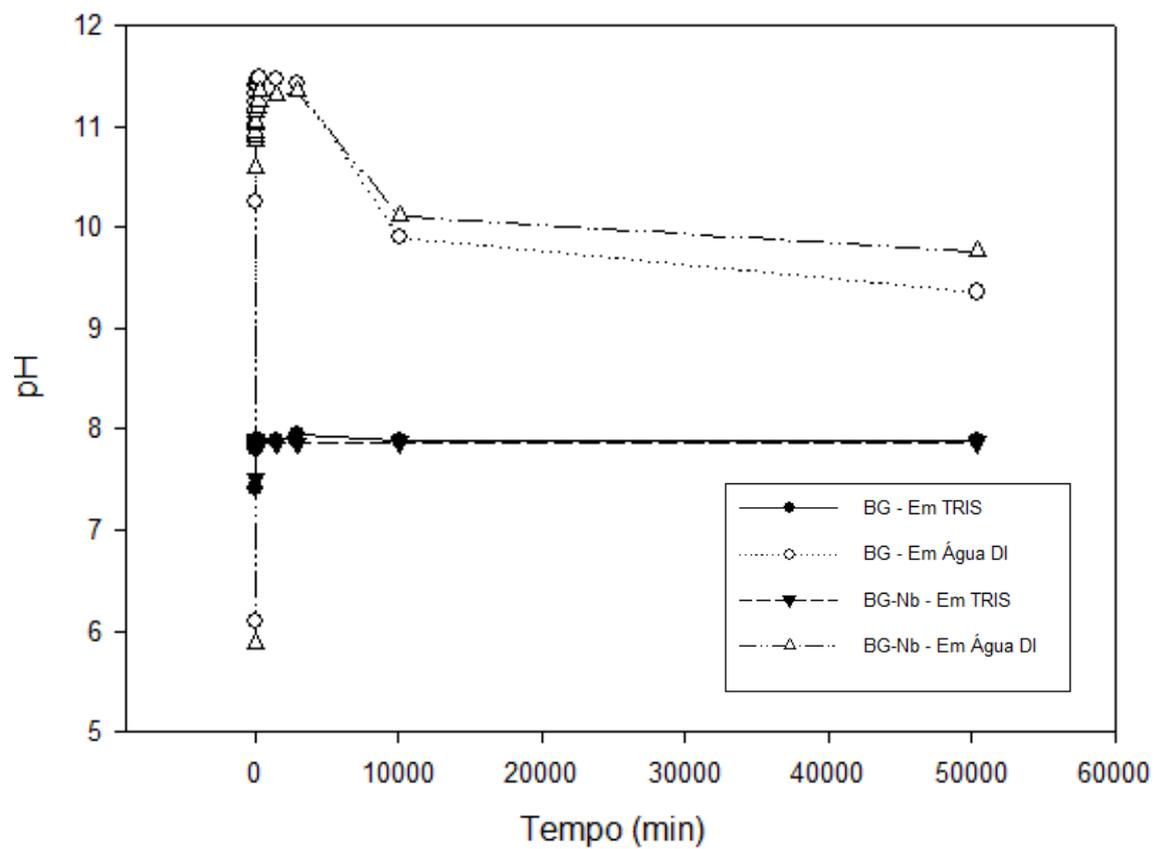
#### 4.6 pH

Os resultados do pH são apresentados no Gráfico 1. Em todos os tempos a imersão do material resultou em aumento do pH da solução. Os maiores resultados foram observados nos grupos em que o pó foi adicionado à água deionizada. Pela capacidade limite de tamponamento da solução tampão, o pH apresentou menor aumento nessa solução comparando com a imersão em água deionizada. O aumento do pH ocorreu imediatamente após a imersão principalmente nos primeiros 300s, seguido de uma estabilização nos valores ao longo do tempo. Nos vidros imersos em água deionizada, após 7 e 14 dias foi observada redução no pH.

Gráfico 2 - Valores do pH dos vidros imersos em água deionizada (DI) e solução tampão (TRIS) em 1 hora (a) e 14 dias (b).



(a)



(b)

## 5 DISCUSSÃO

Neste estudo dois vidros bioativos foram produzidos e analisados quanto às suas características. A adição de 2%, em peso, de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  pode ser observada nos espectros obtidos pelo Raman (Figura 4) e na presença de Nióbio no gráfico de (Gráfico 1). Contudo, quando analisadas algumas propriedades do material a presença de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  nessa quantidade não alterou a radiopacidade e solubilidade. Outros estudos (LOPES et al., 2014) adicionam este óxido a vidros bioativos produzidos por fundição e observaram que com o aumento da concentração houve aumento da estabilidade e redução da solubilidade. Esta diferença pode ser explicada devido à quebra ligações Si-O-Si pelo Nb formando ligações Nb-O-Si o que aumentaria a estabilidade das cadeias. No presente estudo tal comportamento não foi observado conforme demonstram a Figura 1 e a Figura 4. Nos resultados da espectroscopia Raman é possível notar que os picos relacionados ao Nb são relacionados a ligações Nb-O-Nb apenas. Na análise por difração de raios-X (Figura 1) os picos relacionados à presença deste componente correspondem ao  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  na região dos ângulos 24 e 27, não sendo observados picos de ligações do Nióbio com a estrutura da matriz (BELLUCCI et al., 2014; PIRAYESH; NYCHKA, 2013; SIQUEIRA; PEITL; ZANOTTO, 2011)

A diferença entre a produção por fundição e por sol-gel se dá pela diferença entre as reações de formação do vidro e, principalmente, pela diferença entre as temperaturas utilizadas que alteram a estrutura do material, sua cristalinidade, densidade e reatividade. Apesar dos vidros bioativos comerciais serem produzidos pelo método de fundição, o método de produção por sol-gel permite a obtenção de vidros com características satisfatórias (BELLUCCI et al., 2014; JONES, 2013; LOPES et al., 2014; PIRAYESH; NYCHKA, 2013). Na formação do vidro por sol-gel a mistura dos precursores (TEOS e TEP) e dos modificadores minerais ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  e  $\text{NaNO}_3$ ) promove a formação de um gel inorgânico de sílica. A hidrólise do TEOS pelo ácido clorídrico é responsável pela formação de um gel pela condensação de nanopartículas. O aumento da temperatura faz com que as partículas continuem condensando-se e os solventes sejam removidos, assim como os nitratos presentes na solução. A remoção dos solventes permite que o espaço ocupado por estes permaneça vazio, resultando numa nanoarquitetura que viabiliza a resposta celular e

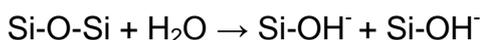
numa maior área de superfície que aumenta a reatividade do material com o meio. Nas Figura 2C e Figura 3C, esse porosidade pode ser observada nas superfícies dos pós submetidos a MEV sendo mais uma característica que diferencia os vidros produzidos pelo método sol-gel dos vidros produzidos pelo método de fundição, uma vez que os últimos apresentam maior densidade, menor área superficial e porosidade limitada (FAURE et al., 2015; JONES, 2013).

Enquanto os vidros bioativos fundidos necessitam de temperaturas maiores que 1300°C para serem produzidos, o método sol-gel utiliza temperaturas em torno de 700°C o que facilita sua produção (ARCOS; VALLET-REGÍ, 2010; PIRAYESH; NYCHKA, 2013). A queima do gel em temperaturas menores que a de fundição resulta na formação de um vidro com menor cristalinidade, o que pode ser observado nos espectros correspondentes à difração de raios-x (Figura 1). A temperatura em que ocorre o processo de produção é responsável pela transformação de fases do material. Outros autores (BELLUCCI et al., 2014; CACCIOTTI et al., 2012; PIRAYESH; NYCHKA, 2013) estudaram a relação entre o aumento da temperatura e a formação de fases cristalinas por meio de análise termogravimétrica. Quando em contato com temperaturas próximas a 600°C inicia-se a formação de estruturas cristalinas de  $\text{Na}_2\text{Ca}_2\text{Si}_3\text{O}_9$ , como as observadas na Figura 1. Com o aumento da temperatura (800°C- 1300°C) estes autores observaram o início da formação de  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ , uma fase rica em fósforo associada a redução da bioatividade do material resultante da redução do  $\text{PO}_4^{3-}$  disponível. No presente estudo a temperatura máxima utilizada para a queima foi de 700°C, o que garante a formação de um vidro predominantemente amorfo sem a formação de grande quantidade de fases cristalinas que poderiam ser prejudiciais às características do vidro. A incorporação de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  parece ter reduzido a formação da fase cristalina  $\text{Na}_2\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{SiO}_4$ . A menor intensidade dos picos relacionados a essa fase, como observado na Figura 1, sugere que a estrutura do vidro com adição de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  seja menos cristalina. O predomínio da fase amorfa faz com que a estrutura seja mais solúvel e o material mais reativo. Apesar disso, as propriedades mecânicas do material com essa estrutura não são as ideais, uma vez que apresentam maior fragilidade (RAHAMAN et al., 2011)

O método de produção determinará as ligações químicas presentes no material e suas consequências para as propriedades do mesmo. Na análise por

espectroscopia Raman (Figura 4), são observadas ligações Si-O-Si no pico  $630\text{cm}^{-1}$  formando a matriz do vidro e oxigênios não ligantes no pico  $865\text{cm}^{-1}$ . A presença de oxigênios não ligantes é uma característica que corrobora para a alta solubilidade do material. Esse tipo de ligação é encontrada em vidros com adição de elementos químicos alcalinos e alcalinos terrosos, nesse caso o Ca e o Na. A adição desses elementos à estrutura do vidro faz com que a rede formada pelas ligações de Si seja interrompida, resultando em ligações com os elementos alcalinos, como por exemplo, Si-O+Na. O aumento da quantidade desses elementos faz com que aumente o número de oxigênios não ligantes resultando em uma estrutura mais aberta, com mais volume vazio entre as cadeias (ŠESTÁK; LIŠKA; HUBÍK, 2011) Essa configuração faz com que a reatividade do material seja maior e permite que os íons dispersos na matriz, nesse caso o fosfato ( $940\text{cm}^{-1}$ ) e o nióbio ( $100\text{-}300\text{cm}^{-1}$ ) sejam também mais facilmente liberados em ambiente aquoso, bem como contribui para uma maior liberação de  $\text{Ca}^+$  e  $\text{Na}^+$  na reação do material na interface com tecidos vivos (ARCOS; VALLET-REGÍ, 2010; JONES, 2013)

A liberação de íons é responsável pela mais importante característica dos vidros bioativos: sua capacidade de incitar reações desejáveis quando em contato com tecidos humanos (bioatividade) estimulando a formação de tecido ósseo (osteoindução). Isso se dá imediatamente após a implantação do material, pela liberação de íons da matriz quando em contato com o meio, causando uma alteração do pH local, explicado principalmente pela troca entre íons  $\text{Na}^+$  e  $\text{Ca}^{2+}$  por íons  $\text{H}^+$  presentes no meio. Além destes íons, Si solúvel e  $\text{PO}_4^{3-}$  também são liberados na interface. Essa reação leva a formação de silanóis (Si-OH) criando uma camada rica em sílica com grande área de superfície. O aumento de  $\text{OH}^-$  resulta na quebra de ligações Si-O-Si formando ligações Si-OH $^-$  que também se depositam na interface entre o vidro e a solução.



A camada rica em sílica depositada sobre o material, por sua grande área de superfície disponibiliza grande número de sítios de nucleação e cristalização, dessa forma, a deposição de íons  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{PO}_4^{3-}$  do material e do meio migrem forma uma camada rica em óxidos ( $\text{CaO-P}_2\text{O}_5$ ) que, após a incorporação de hidroxilas e carbonatos torna-se uma camada de hidroxiapatita carbonatada. A formação desta

camada permite a adsorção de fatores de crescimento que influenciam na migração, adesão, proliferação e diferenciação das células responsáveis pela ligação entre o tecido e o implante e pela deposição de tecido ósseo (HENCH, 2006; HENCH; THOMPSON, 2010; JONES, 2013)

Como observado no Gráfico 2, o aumento do pH foi mais significativo imediatamente após a imersão o que pode estar associado à liberação de íons e dissolução da matriz. Após os primeiros minutos a estabilização observada pode ser associada à formação da camada rica em sílica que reduz a liberação de íons provenientes da estrutura do material (CERRUTI; GREENSPAN; POWERS, 2005; LOPES et al., 2014) O significativo aumento de pH na imersão dos vidros em água destilada pode ser explicado pela grande disponibilidade de íons  $H^+$  devido ao pH 6 da água deionizada enquanto o pH da solução tampão foi de 7,4. Além disso, a solução tampão possui uma capacidade de tamponamento devido ao seu  $pK_a = 8.1$ . Apesar do aumento do pH representar boas propriedades bioativas para os vidros, grandes variações no pH podem levar à morte celular (LOPES et al., 2014) e redução na adsorção de proteínas por forças de repulsão causadas pelas cargas elétricas presentes nas proteínas e na superfície do material (LIN et al., 2011) Reduções significativas no pH só foram observadas nos vidros imersos em água deionizada após 7 e 14 dias. Isso pode ser explicado pela precipitação de cálcio fosfatos e carbonatos, resultando na liberação de  $H^+$  e aumentando o pH da solução

O estímulo à deposição de tecido ósseo promovido pelos vidros bioativos pode ser acompanhado clinicamente por meio de exames de imagem. Radiografias são uma forma conveniente, não invasiva e de baixo custo para a avaliação do grau de formação do tecido ósseo e a reabsorção do material exertado. Assim, a radiopacidade do material deve ser avaliada para que se possa realizar a correta distinção entre o implante e o tecido ósseo adjacente, contudo, pela sua composição os vidros bioativos não apresentam adequada radiopacidade, com valores de  $mmAl$  abaixo dos normalmente encontrados para o tecido ósseo e para enxertos com outras composições (CHACKO et al., 2014; YANG et al., 2008). Para o aumento da radiopacidade faz-se necessário a incorporação de outros agentes com características químicas capazes de elevar a densidade elétrica do material e conseqüentemente elevar a sensibilidade aos raios-X. Óxidos de bismuto, bário, iodônio, ferro e itérbio já foram utilizados em diversos materiais da área biomédica

para esse fim conferindo melhor radiopacidade ao material sem alterar suas características de biocompatibilidade e bioatividade (COLLARES et al., 2010; PEKKAN; AKTAS; PEKKAN, 2012). Uma vez que o método sol-gel permite a incorporação de novos componentes à estrutura do vidro, agentes radiopacificantes poderiam ser adicionados sem prejuízos às propriedades do material.

## 6 CONCLUSÃO

Pode-se concluir com os resultados obtidos no estudo que a produção de vidros bioativos pelo método sol-gel gera materiais com composição química apropriada e estrutura adequada para a utilização do mesmo como material para estimular a deposição de tecido ósseo, principalmente quando considerado seu comportamento em meio aquoso e a dissolução de íons observada nos testes realizados. A incorporação de 2% em peso de  $\text{Nb}_2\text{O}_5$  reduziu a formação de fases cristalinas e manteve a reatividade do material, sendo possível, no futuro, avaliar a influência deste componente nas propriedades mecânicas e na bioatividade do material.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da estrutura e propriedades deste material permite que, com seu aperfeiçoamento, sejam ampliadas suas formas de uso. A produção de membranas estruturas porosas que buscam mimetizar a estrutura óssea guiando e estimulando a remineralização, são uma opção para a utilização destes vidros bioativos, sendo possível assim unir a bioatividade do material com a arquitetura favorável da membrana (BELLUCCI, et al., 2012). A síntese de membranas de vidros bioativos tem sido alvo de diversos estudos, no entanto, sua porosidade, decisiva para a migração celular e vascularização, e suas propriedades mecânicas, importantes para que o material suporte o osso neoformado, ainda são um desafio para a produção destes materiais. (CHEN; THOUAS, 2011; RAVARIAN; CRAFT; DEHGhani, 2015)

## REFERÊNCIAS

- ARCOS, D.; VALLET-REGÍ, M. Sol-gel silica-based biomaterials and bone tissue regeneration. **Acta Biomater.**, Kidlington, v. 6, no. 8, p. 2874–2888, Aug. 2010.
- BELLUCCI, D. et al. Sol-gel derived bioactive glasses with low tendency to crystallize: synthesis, post-sintering bioactivity and possible application for the production of porous scaffolds. **Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.**, Amsterdam, v. 43, p. 573–586, Oct. 2014.
- CACCIOTTI, I. et al. Sol-gel derived 45S5 bioglass: synthesis, microstructural evolution and thermal behaviour. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 23, no. 8, p. 1849–1866, Aug. 2012.
- CERRUTI, M.; GREENSPAN, D.; POWERS, K. Effect of pH and ionic strength on the reactivity of Bioglass 45S5. **Biomaterials**, Guilford, v. 26, no. 14, p. 1665–1674, May 2005.
- CHACKO, N. L. et al. A clinical and radiographic evaluation of periodontal regenerative potential of PerioGlas®: a synthetic, resorbable material in treating periodontal infrabony defects. **J. Int. Oral Health**, India, v. 6, no. 3, p. 20–26, June 2014.
- CHEN, Q.-Z.; THOUAS, G. A. Fabrication and characterization of sol-gel derived 45S5 Bioglass®-ceramic scaffolds. **Acta Biomater.**, Kidlington, v. 7, no. 10, p. 3616–3626, Oct. 2011.
- COLLARES, F. M. et al. Ytterbium trifluoride as a radiopaque agent for dental cements. **International Endodontic Journal**, PMID: 20579134, v. 43, no. 9, p. 792–797, sep. 2010.
- FAURE, J. et al. A new sol–gel synthesis of 45S5 bioactive glass using an organic acid as catalyst. **Mater. Sci. Eng. C Mater. Biol. Appl.**, Amsterdam, v. 47, p. 407–412, Feb. 2015.
- GROH, D.; DÖHLER, F.; BRAUER, D. S. Bioactive glasses with improved processing. Part 1. Thermal properties, ion release and apatite formation. **Acta Biomater.**, Kidlington, v. 10, no. 10, p. 4465–4473, Oct. 2014.
- HENCH, L. L. The story of Bioglass. **J. Mater. Sci. Mater. Med.**, London, v. 17, no. 11, p. 967–978, Nov. 2006.
- HENCH, L. L.; THOMPSON, I. Twenty-first century challenges for biomaterials. **J. Royal Soc. Interface**, London, v. 7, Suppl. 4, p. S379–S391, Aug. 2010.
- JONES, J. R. Review of bioactive glass: from Hench to hybrids. **Acta Biomater.**, Kidlington, v. 9, no. 1, p. 4457–4486, Jan. 2013.
- KUSHWAHA, M. et al. Differentiation of human mesenchymal stem cells on niobium-doped fluorapatite glass-ceramics. **Dent. Mater.**, Copenhagen, v. 28, no. 3, p. 252–260, Mar. 2012.

LIN, S. et al. Protein interactions with nanoporous sol–gel derived bioactive glasses. **Acta Biomater.**, Kidlington, v. 7, no. 10, p. 3606–3615, Oct. 2011.

LOPES, J. H. et al. Effect of Niobium Oxide on the structure and properties of melt-derived bioactive glasses. **J. Am. Ceram. Soc.**, Westerville, v. 97, no. 12, p. 3843–3852, Dec. 2014.

PEKKAN, G.; AKTAS, A.; PEKKAN, K. Comparative radiopacity of bone graft materials. **J. Craniomaxillofac. Surg.**, Edinburgh, v. 40, no. 1, p. e1–e4, Jan. 2012.

PIRAYESH, H.; NYCHKA, J. A. Sol–gel synthesis of bioactive glass-ceramic 45S5 and its in vitro dissolution and mineralization behavior. **J. Am. Ceram. Soc.**, Westerville, v. 96, no. 5, p. 1643–1650, May 2013.

RAHAMAN, M. N. *et al.* Bioactive glass in tissue engineering. **Acta Biomaterialia**, PMID: 21421084/PMCID: PMC3085647, v. 7, no. 6, p. 2355–2373, jun. 2011.

RAVARIAN, R.; CRAFT, M.; DEGHANI, F. Enhancing the biological activity of chitosan and controlling the degradation by nanoscale interaction with bioglass. **J. Biomed. Mater. Res. A**, Hoboken, Feb. 2015. doi: 10.1002/jbm.a35423.

ŠESTÁK, J.; LIŠKA, M.; HUBÍK, P. Oxide Glass Structure, Non-bridging Oxygen and Feasible Magnetic Properties due to the Addition of Fe/Mn Oxides. In: ŠESTÁK, J.; MAREŠ, J. J.; HUBÍK, P. (Org.). **Glassy, Amorphous and Nano-Crystalline Materials**: hot topics in thermal analysis and calorimetry. Netherlands: Springer, 2011. p. 199–216. Disponível em: <[http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-2882-2\\_12](http://link.springer.com/chapter/10.1007/978-90-481-2882-2_12)>. Acesso em: 2 maio 2015.

SIQUEIRA, R. L.; PEITL, O.; ZANOTTO, E. D. Gel-derived SiO<sub>2</sub>–CaO–Na<sub>2</sub>O–P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> bioactive powders: synthesis and in vitro bioactivity. **Mater. Sci. Eng. C**, Amsterdam, v. 31, no. 5, p. 983–991, July 2011.

TSIGKOU, O. et al. Differentiation of fetal osteoblasts and formation of mineralized bone nodules by 45S5 Bioglass® conditioned medium in the absence of osteogenic supplements. **Biomaterials**, Guildford, v. 30, no. 21, p. 3542–3550, July 2009.

YANG, Y. et al. X-ray imaging optimization of 3D tissue engineering scaffolds via combinatorial fabrication methods. **Biomaterials**, Guildford, v. 29, no. 12, p. 1901–1911, Apr. 2008.